T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ET VE BAZI ET ÜRÜNLERİ İLE SOĞUK HAVA DEPOLARINDA *Pseudomonas* TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim Mustafa AKAN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ (Vet) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ

KONYA-2009

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ET VE BAZI ET ÜRÜNLERİ İLE SOĞUK HAVA DEPOLARINDA *Pseudomonas* TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim Mustafa AKAN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ (Vet) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202018 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2009

ii.ÖNSÖZ

Gıda bozulmaları karmaşık reaksiyonların oluşturduğu bir süreçtir. Günümüzde modern gıda muhafaza tekniklerine rağmen kayda değer miktardaki gıdalar, bozulmalar sebebiyle tüketime uygun olmayan duruma gelmektedirler. Bununla beraber bazı bakteriler, gıdalarda herhangi bir bozulma belirtisi göstermeden bulunabilmekte ve halk sağlığı açısından büyük riskler oluşturmaktadırlar. Yetersiz hijyen uygulamaları ve kontamine materyalden kaynaklanan gıdalardaki kontaminasyon sürecinde bir çok bakteri görev almaktadır. Bu bakterilerden bazılarının (Örneğin; *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus)* gıda maddeleri ile olan ilişkilerini ortaya koyan çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen bazı türlerin gıdalar ile ilişkilerini ortaya koyacak yeterli sayıda çalışma yapılmamıştır.

Pseudomonas türleri, gıdalarla olan ilişkileri son yıllarda irdelenmeye başlanmış ve hakkında henüz yeterli sayıda çalışma yapılmamış önemli türlerdendir. *Pseudomonas* türleri klinik mikrobiyoloji alanında uzun yıllardır çalışılan türler olmalarına rağmen gıda mikrobiyolojisi alanında oldukça geri planda kalmışlardır. *Pseudomonas* cinsi üyeleri arasında psikrofilik türler de bulunmaktadır. Bu türler düşük sıcaklıklarda saklanan gıdalarda dahi bozulmaya neden olmaktadırlar. Bu nedenle *Pseudomonas* cinsi, gıda güvenliği açısından göz önünde bulundurulması gereken önemli türleri içermektedir. *Pseudomonas*' lar proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olmalarından dolayı özellikle süt, süt ürünleri, et, et ürünleri, tavuk ve balık gibi yüksek protein ve yağ içeriği olan gıdalarda bozulmaya neden olmaktadırlar. Gıdalarda *Pseudomonas* kontaminasyonu gıda yüzeyinde kaygan bir yapı oluşumuyla karakterizedir.

Bu araştırma; Konya ilinde tüketime sunulan bazı et ve et ürünlerinin mikrobiyolojik nitelikleri; toplam mezofilik aerobik bakteri ve *Pseudomonas* türlerinin varlığının belirlenmesi ile bu ürünlerin depolandıkları soğuk depoların toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam psikrofilik aerobik bakteri ve *Pseudomonas* türleri yönünden incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yüksek Lisans tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Prof.Dr.Ümit GÜRBÜZ'e, Konya İl Kontrol Laboratuvarı Müdürü

Dr.M.Kürşat IŞIK'a, Mikrobiyoloji Laboratuvar Şefi Emrah TORLAK'a, Mukadderat GÖKMEN'e ve diğer çalışma arkadaşlarıma, tezin çalışma ve yazım aşamalarında desteklerini esirgemeyen Eşim Sümeyye AKAN ve Kızım Hilal Beyza AKAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

"Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202018 proje numarası ile desteklenmiştir".

iii.İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR……iv

1.GİRİŞ 1
1.1. *Pseudomonas'* ların Genel Özellikleri 7
1.1.1. *Pseudomonas'* ların virülans faktörleri.....12
1.1.2. Halk Sağlığı Açısından Önemli Bazı *Pseudomonas* Türleri 13
Pseudomonas aeruginosa 13
Pseudomonas fluorescens 16
Pseudomonas putida.....16
Pseudomonas mallei.....17
Pseudomonas pseudomallei 17
Pseudomonas maltophilia.....18
Diğer *Pseudomonas'*lar 18
1.2. Toplam Mezofilik ve Psikrofilik Aerobik Bakteriler.....19

2.GEREÇ VE YÖNTEM 24
2.1. Gereç 24
2.2. Yöntem 24
2.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı 24
2.2.2. *Pseudomonas* İzolasyon ve İdentifikasyonu 25
Cins düzeyinde identifikasyon ve sayım 25
Oksidaz testi.....25
Kligler agar 25
Sayım ve hesaplama 26
Tür düzeyinde identifikasyon 26
VITEK 2 Compact ile identifikasyon.....26
2.2.3. Soğuk Hava Depolarının *Pseudomonas* ve Toplam Bakteri Yükünün Belirlenmesi.....28
Hava örneklemenin yapılması.....28
Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri Sayımı.....28
2.2.4. İstatistiksel Metot 29

3. BULGULAR 30

4. TARTIŞMA.....35

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 47

6. ÖZET.....48

7. SUMMARY.....49

8.KAYNAKLAR 50

9. EKLER.....55
EK A. Etik Kurul Formu 55

10. ÖZGEÇMİŞ.....56

iv.SİMGELER VE KISALTMALAR

a_w: Su aktivitesi.

Cfu/kob: Koloni oluşturan birim.

EBK: Et ve Balık Kurumu.

Eh: Redoks potansiyeli.

FDA BAM: US, Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual

GN ID kart: Gram negatif identifikasyon kartı.

HACCP: Kritik kontrol noktalarında tehlike analizi.

ISO: International Organization for Standardization (Uluslar arası Standart Organizasyonu).

kGy: Kilo Gray (Işın birimi).

MPN/EMS: En muhtemel sayı.

MRD: Maximum Recovery Diluent.

PAB: *Pseudomonas* Agar Base.

PCA: Plate Count Agar.

ppm: Milyonda bir.

TAMB: Toplam aerobik mezofilik bakteri.

TAPB: Toplam aerobik psikrofilik bakteri.

TS: Türk Standartları.

TSE: Türk Standartları Enstitüsü.

1.GİRİŞ

Hayvansal besinler içerisinde üretimi nispeten kolay, beslenme hastalıklarını çabuk önleyen, yüksek biyolojik değerde, doyurucu, iştah açıcı, lezzetli, yüksek değerli protein ve hayati öneme sahip B kompleksi vitaminler ile bazı mineral maddeler yönünden zengin, kesim hayvanlarının iskelet kaslarının tamamına et denilmektedir (İnal 1992, Gürbüz 2009).

Genel olarak yenilebilir tüm hayvansal dokular et olarak tanımlanmaktadır. Yani et; kasaplık hayvanların, kanatlıların, balıkların ve av hayvanlarının yenilebilir iskelet kaslarından elde edilmektedir. Bu tanımlamalardan da anlaşılacağı üzere etin çoğunluğunu kas doku oluşturmakta bununla birlikte kan, epitel, sinir, yağ ve bağ dokularını da yapısında barındırmaktadır (İnal 1992, Gürbüz 2009).

Et, yüksek biyolojik değerde oluşu, doyuruculuğu ve tad maddelerini içermesi nedeniyle beslenmede önemli bir yer tutmaktadır. Et, insan organizması tarafından sentezlenemeyen ve dışarıdan besinlerle alınması zorunlu olan eksojen aminoasitleri yeterli ve dengeli bir biçimde içerdiğinden, organizmada sarf edilen proteinlerin %100'e yakın bir kısmını karşılamaktadır (İnal 1992, Gürbüz 2009).

Beslenmede büyük önem taşıyan kırmızı ve beyaz et sağlıklı hayvanlardan elde edilmez, hijyenik şartlara sahip mezbahalarda kesilmez ve uygun muhafaza koşullarında saklanmaz ise insan sağlığı açısından potansiyel tehlikeler oluşturabilmektedir (Ok Anadut ve Gümüşsoy 2005).

Mikrobiyal yüzey kontaminasyonu, çiğ etteki başlıca bozulma sebebidir ve bu şekildeki kontaminasyonun ana kaynağını, toprak ve mezbahadaki çiftlik hayvanlarının beraberinde getirdiği dışkılar oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar daha sonra, kesim ve hayvanın karkasının yüzülmesi esnasında ete geçmektedir. Çoğu modern mezbahaların kalite standartlarının kontrol altında tutulmasıyla bu gibi bozulmalar seyrek olarak meydana gelmektedir (İnal 1992, Whitfield 1998).

Aerobik olarak dondurulup saklanan etlerde bozulmanın fiziksel olarak algılanmasında kokuşma önemli bir yer tutmaktadır. Kokuşma; sütümsü, yağımsı, peynirimsi, tatlımsı, meyvemsi gibi normal olmayan kokuların sırasıyla oluşmasıyla ortaya çıkmaktadır. Etlerde genellikle kokuşma bu sırayla oluşurken, bu kokuların

oluşması baskın mikrobiyal floranın gösterdiği değişiklikten kaynaklanmaktadır. Bu kokulardan sorumlu olan bileşikler *diacetyl (2,3-butanedione), ace-toin (3-hydroxy-2-butanone), 3-methylbutanol* ve *2-methylpropanol*'dur. Değişimlerin meydana gelmesinde bir dizi diğer faktörlerin de payı bulunmaktadır. Isı derecesinin yanı sıra relatif rutubet önemli rol oynamaktadır. Sonuçta önce etin kalitesi düşmekte, sonra bozulma emareleri görülmektedir (İnal 1992, Whitfield 1998).

Bozulma olayının son aşamalarından olan tatlımsı ve meyvemsi kokuların oluştuğu dönemlerde sorumlu olan bileşikler asetik, butanoik ve heksanoik asitlerin etil esterleridir. Bu bileşikler *Pseudomonas spp.* ve özellikle *Pseudomonas fragi* tarafından glukozdan oluşturulmaktadırlar. Bu mikroorganizmalar aynı zamanda çiğ etin en önemli kontaminantlarındandır (Whitfield 1998).

Erdoğrul (2005) Kahramanmaraş' ta kemiksiz koyun etlerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için yaptığı çalışmada süpermarket, yerel market ve kasaplardan aldığı örneklerin *Pseudomonas* sayılarını sırasıyla ortalama 4,79 $\log_{10}$ kob/g, 4,83 $\log_{10}$ kob/g ve 4,59 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde belirlemişlerdir.

Sağun ve ark (2006) Van'da ızgaralık etlerin hijyenik kalitesini belirlemek amaçlı yaptıkları çalışmada Tavuk but, tavuk göğüs, tavuk kanat, kuşbaşı et ve köfte örneklerindeki *Pseudomonas* sayılarını sırasıyla ortalama olarak 1,73; 1,05; 1,57; 1,81; 1,22 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Et bozulmasının son aşaması, hissedilebilen çeşitli kokuların alınmasıyla karakterizedir. Bazen sarımsak ve soğan gibi de tanımlanabilen bu kokular, sülfür bileşikleri, *methanethiol* ve *dimethyl disulfide* oluşumundan kaynaklanmaktadır. Bu gibi sülfür bileşikleri genellikle sadece, et yüzeyinden glukozun tüketiminden sonra ve amino asit metabolizmasının başlamasıyla ortaya çıkmaktadır. *Pseudomonas spp*., aerobik koşullar altında et üzerinde bu bileşiklerin üretiminden sorumlu olan asıl mikroorganizma grubudur. Çünkü oluşturdukları bakteriosinlerle diğer bakterilerin üremesini kısmen engellemekte, hatta bunları yok etmektedirler. Örneğin *S. aureus*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris, Lactococcus acidophilus* ve *L. casei* gibi mikroorganizmalar bakteriosinden etkilenmektedirler. Bu nedenle psikrofiller arasında *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* soğutulmuş etlerde genellikle dominanttırlar (İnal 1992, Whitfield 1998, Erol 2007).

Etlerin normal soğuk depolama süreleri dışında bozulmalarına neden olan psikrofil bakterilerin başında *Pseudomonas'*lar ve az olarak *Achromobacter* gelmektedir. Aerob koşullannda depo edilen soğutulmuş etlerde *Pseudomonas'*lar aktif olarak çoğalmakta ve aynı sıcaklıkta üreyebilen diğer mikroorganizmaların çoğalmalarını önleyici etki yapmaktadırlar. Donmuş etlerin depolanmalarında, çözünmelerinde veya çözülmüş etlerin saklanmalarında da *Pseudomonas'*lar görülmektedir. Bu bakterilerin psikrofil özellikleri uzun zamandan beri bilinmektedir. Ette çoğalmalarıyla sümüksel tabaka oluşturmaları, tanınmalarını kolaylaştırmaktadır (Yıldırım 1992). Mikroorganizmaların soğutulmuş etlerin yüzeyinde üremesiyle "yapışkanlık" oluşturmaktadırlar. Bu dönemde cm^2 de $10x10^6 – 30x10^6$ mikroorganizmanın belirlenmesi etin bozulmakta olduğunun bir işareti olarak kabul edilmektedir. Mikroorganizma oranının $10^9/cm^2$ basamağına eriştiği durumlarda etin yüzeyi kalın bir muköz tabaka ile örtülmektedir. *Pseudomonaslar* etin yüzeyinde +100 / +500 mV düzeyindeki Eh (Redoks Potansiyeli) değerinde gelişerek müköz bir yapı ve kötü koku oluşturmaktadırlar. Muköz tabaka altında kalan et kısımlarında ileri derecede, koku ve lezzet değişimi meydana gelmektedir. Soğutulmuş et, bu durumda genellikle tüketilmeyecek kadar bozulmuştur. Bu etlerden çeşitli ürünler de yapılamaz. Çünkü oluşan parçalanma ürünleri, yapılacak olan et ürünlerinin koku ve lezzetini de etkilemektedir (İnal 1992, Whitfield 1998, Erol 2007).

Elmalı ve Yaman (2005) sığır eti ve köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada ortalama *Pseudomonas* sayılarını ette $9,2x10^3$ kob/g; köftede ise $7,9x10^3$ kob/g olarak bildirmişlerdir.

Elmalı ve ark (2005) Kars'ta tüketilen emülsifiye et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesini araştırdıkları çalışmalarında vakum paketlenmiş salam ve frankfurter tipi sosislerde *Pseudomonas* sayısını $<2,0x10^2$ kob/g olarak bulmuşlar; paketlenmemiş sosis örneklerinde ise *Pseudomonas* sayısını $6,0x10^4$ kob/g düzeyinde saptamışlardır.

Soğuk koşullarda saklanan ette mikroflora belli bir süre (lag fazı) kalitatif ve kantitatif olarak değişmeden kalmaktadır. Lag fazı sonunda ette bulunan bakteriler, saklanma koşullarına bağlı (soğuk veya donmuş) olarak çoğalmaya başlar. Etlerin yüzeyinde kuru bir tabakanın bulunması lag safhasının uzamasını sağlar. Teknolojik kurallara uygun olarak soğutulmuş kaliteli gövde etin, soğuk depolanmasında mikrofloranın çoğalması ancak 3-5

gün önlenebilir. Eğer et, kesim esnasında büyük oranda mikroorganizmalarla bulaşık ise, o zaman bakterilerin lag fazı çok daha kısa olmaktadır. Lag fazı sona erdikten sonra bakteriler çoğalmaya başlarlar. Bu sırada çoğalamayan bakteriler ise yavaş yavaş ölmeye başlamaktadırlar. Soğuk koşullarda saklanan ette ölen bakteriler yalnız mezofiller olmayıp, psikrofil bakteriler de ölmektedir (Yıldırım 1992).

Aerob koşullarda saklanan soğutulmuş etlerde, *Pseudomonas-Achromobacter* grubu bakterileri zamanla et mikroflorasına hakim olacak şekilde çoğalmaktadır. Bu durum özellikle *Pseudomonas'* lar için söz konusu olup, küfler ve mantarlarda gözden uzak tutmamak gerekmektedir. *Pseudomonas'* ların ette üreyerek sayılarının artması, yalnız kendine benzer olmayan diğer bakterilerin çoğalmasını önlemekle kalmayıp (örneğin, fakültatif anaerob psikrofil bakteriler), *Achromobacter* gibi kendine benzeyen bakterilerin çoğalmalarını da engellemektedir. Yeteri derecede rutubet ve 0 °C nin üstündeki ısıda küf ve mantarların çoğalmaları dahi engellenmektedir (Yıldırım 1992).

Champomier-Verges ve Richard (1994) et orijinli *Pseudomonas'*ların birbirleri üzerindeki baskılayıcı özelliklerini araştırdıkları çalışmada izole ettikleri 750 türden 450'sini taze etten (sığır, domuz, balık ve tavuk) saptadıklarını ve etteki en büyük bozulma kaynaklarından birinin *Pseudomonas* türleri olduğunu bildirmişlerdir.

Nortje ve ark (1990) soğukta depolanan ette aerobik psikrofil florayı belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada, mezbaha ve toptancıda karkaslar üzerinden toplam 42 adet *Pseudomonas spp*. izolatı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Perakendecilerden temin ettikleri kıymalardan da toplam 192 adet *Pseudomonas spp*. izolatı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar toplam mikrobiyal floranın % 32,2 sini *Pseudomonas* türlerinin oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir.

Pseudomonas-Achromobacter bakterilerinin soğutulmuş ette maksimum seviyelerine kadar çoğalmaları, depolama başlangıcındaki sayılarına bağlı olarak değişmektedir. Eğer, taze etten yapılan kıymada *Pseudomonas-Achromobacter* bakterilerinin oranı mikrofloranın % 40'ını oluşturuyorsa, aynı etin 0 °C de 98 saat saklanması sonunda bu oran % 90'a ve 2,5 °C de aynı süre sonunda *Pseudomonas-Achromobacter* oranı % 100'e erişmektedir. 0–2 °C ler arasında saklanırken bozulan ette bulunan bakterilerin % 90'ını *Pseudomonas* cinsi mikroorganizmalar oluşturmaktadır (Yıldırım 1992).

Pseudomonas bakterileri daha çok soğutulmuş etin yüzeyinde çoğalmaktadırlar. Başlangıçta et yüzeyi kuru ise, *Pseudomonas'* ların çoğalmaları yavaş olmaktadır ve oluşan koloniler et yüzeyinde tek tek görülebilir durumdadır. Et yüzeyinin rutubetli olduğu durumlarda, *Pseudomonas'* lar çok çabuk çoğalır ve etin yüzeyinin sümüksü ince bir tabaka ile kaplanmasına ve rengin, griden koyu yeşile kadar değişmesine neden olurlar. Etlerin soğuk depolanması esnasında görülebilen aksaklıklar (çok yavaş soğutma, çok büyük et parçaları v.s.) bakterilerin etin iç kısımlarına kadar nüfus etmesine ve orada çoğalmalarına neden olabilmektedir(Yıldırım 1992).

Talon ve ark (2007) Akdeniz Ülkeleri ve Slovakya'da geleneksel kurutulmuş fermente sucuk üretilen küçük ölçekli işletmelerde yaptıkları çalışmada soğuk depolarda belirledikleri *Pseudomanas spp.* sayılarını; Yunanistan'da 3,1 $\log_{10}$ kob/cm^2, İspanya'da 2,8 $\log_{10}$ kob/cm^2, Fransa'da 1,5 $\log_{10}$ kob/cm^2, Portekiz'de 0,9 $\log_{10}$ kob/cm^2, İtalya ve Slovakya'da ise < 0,7 $\log_{10}$ kob/cm^2 olarak bildirmişlerdir.

Soğutulmuş etlerde bozulma belirtilerinin görülmesini aktif çoğalabilen psikrofil aerob bakterilerden kaynaklanmaktadır. Bu sayı 10^7 - 10^8 ml^{-1} veya 10^7 - 10^8 g^{-1} düzeyindedir. Et yüzeyindeki canlı bakterilerin sayısı cm^2 de 10^{10} miktara eriştiğinde, yüzeyde çok belirgin bir sümüksel tabaka oluşmaktadır. Soğukta depolanan etlerin yüzeyinde psikrofil aerob bakterilerinin sayısı cm^3 de $10^7 – 10^8$ veya 1 gramında $10^7 – 10^8$ miktara çıkması, büyük ölçüde bu bakterilerin depolama başlangıcındaki sayılarının yüksek olmasına ve depo sıcaklığına bağlıdır (Yıldırım 1992).

Babji ve ark (2000) vakum paketli ve normal ortamda soğutulup saklanan parça keçi etleri üzerine yaptıkları çalışmada *Pseudomonas spp.* sayılarını sırasıyla 7,6 $\log_{10}$ kob/g ve 9,0 $\log_{10}$ kob/g olarak saptamışlardır.

Tavuklarda psikrotrofik bakterilerin bulaşması; tüylerden, su kaynaklarından, soğutma tanklarından ve fabrikadaki işleme ekipmanlarından kaynaklanabilmektedir. Özellikle ekipmanların gün sonunda üzerinde kalan yağ, et ve kan kalıntıları mikroorganizmaların özellikle de *Pseudomonas'*ların çoğalması için iyi bir ortam oluşturmakta ve bu mikroorganizmalar ertesi gün işlenen ürüne geçebilmektedirler. Bu nedenle ekipmanların her gün temizlenip dezenfekte edilmesi gerekmektedir (Keskin 2007).

Arnout-Rollier ve ark (1999) tavuk etlerinden izole ettiği *Pseudomonas*' ların sayısal bir sınıflandırmasını yaptığı çalışmada 4 önemli türün öne çıktığını bildirmiştir. Bunların; *P. fragi, P. lundensis, P. fluorescens* biovarlarına ait bir suş ve *P. fluorescens* biovarlarına yüksek derecede benzerlik gösteren ancak tanımlanamayan bir suş olduğunu bildirmişlerdir.

Geornaras ve Holy (2000) tavuk ürünlerinin işlenmesi esnasında farklı zamanlarda yaptıkları örneklemeler ışığında *Pseudomonas* sayılarını tüy yolmadan sonra 3,30 $\log_{10}$ kob/g, kesim öncesi 3,80 $\log_{10}$ kob/g, kesim sonrası 3,80 $\log_{10}$ kob/g, sprey yıkama sonrası 3,60 $\log_{10}$ kob/g, soğutma işlemi sonrası 3,90 $\log_{10}$ kob/g ve paketleme sonrasında ise 5,0 $\log_{10}$ kob/g olarak bildirmişlerdir.

Efe ve Gümüşsoy (2005) Ankara Garnizonu'nda yaptıkları çalışmada Türk Silahlı Kuvvetleri'nin ihtiyacı için alımı yapılan dondurulmuş ve poşetlenmiş bütün tavuk etlerinden oluşan 50 adet numunenin but, deri ve göğüs kısımlarında mikrobiyolojik kontaminasyon düzeylerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, tavuk but, deri ve göğüs numunelerinde *Pseudomonas spp.* düzeylerini ortalama olarak sırasıyla $4,2x10^4$ kob/g (% 98); $4,3x10^4$ kob/g (% 96) ve $4,2x10^4$ kob/g (% 96) olarak belirlemişlerdir.

Charles ve ark (2006) farklı paketleme metotlarının tavuk göğüs etlerinin mikroflorasına olan etkisini araştırdıkları çalışmada *Pseudomonas* sayılarını başlangıçta en düşük 3,50 $\log_{10}$ kob/g, 1 ^oC de 8 günlük depolamanın sonunda en yüksek 9,25 $\log_{10}$ kob/g olarak gözlemlemişlerdir.

Gıdalar birçok hastalığın yayılmasında ve ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadırlar. Gıda kaynaklı hastalıklar; mikrobiyal, kimyasal, bitkisel veya hayvansal etkenlere bağlı oluşabilmektedirler. Gıda kaynaklı hastalıklar, enfeksiyon veya toksikasyon şeklinde ortaya çıkmaktadır ki mikroorganizmaların salgıladıkları toksinler, toksikasyon tipi hastalıklarda, hastalık etkenini oluştururken; gıda enfeksiyonlarında ise etken enterotoksijenik veya invazif mikroorganizmalardır (Keskin 2007).

Çoğalmaları için uygun şartların oluşmasıyla patojen hale geçebilen *Pseudomonas* türleri, normal florada denge içinde kaldıkları sürece zararsızdırlar. Vücut savunmasının azalması, kemoterapi vb. gibi hallerde fırsatçı patojen olarak rol

alan, iyileşmesi oldukça güç enfeksiyonlara neden olan *Pseudomonas'*lar bu özellikleriyle de insan sağlığı açısından ayrı bir önem arz etmektedirler (Keskin 2007).

İnsan sağlığı açısından bu denli önemli olan fırsatçı patojen *Pseudomonas'*ların, et ve et ürünlerindeki bozulma yoluyla ekonomik kayıplara neden olması ve ayrıca antibiyotiklerle dezenfektan maddelere dirençlilikleriyle iyileşmeyen enfeksiyonlara sebep olmaları bu mikroorganizmaların araştırılarak tür düzeyinde identifiye edilmesini, enfeksiyon ve bozulma kaynaklarının belirlenmesine yardımcı olması amacıyla bu çalışmanın yapılmasını elzem bir ihtiyaç olarak ortaya koymuştur.

İnsanımızın kaliteli gıda konusunda bilinçlendirilmesi, soğuk depoların ve et satış yerlerinin hijyen standartlarının belirlenmesi amacıyla çalışmanın sonuçlarının değerlendirilmesi ve soğuk depolarda da HACCP uygulamalarının gerekliliğinin ortaya konması gerçeğini gün yüzüne çıkarmıştır.

Ayrıca çalışmamızla bu konuda yeni yapılacak olan çalışmalara kaynak olmak amaçlanmıştır.

1.1. *Pseudomonas'* ların Genel Özellikleri

Pseudomonas cinsi bakteriler, *Pseudomonadaceae* familyası içerisinde yer alan, toprak, su ve çürümekte olan organik maddelerde bulunan, gram negatif, *Vibrio* ve *Proteus* türlerinde olduğu gibi polar flagellalı, hareketli ve şekerleri fermente etmeyen (non-fermentatif), sadece oksidatif yolla kullanabilen basillerdir. Zorunlu aerobturlar, sadece oksijenli ortamlarda ürüyebilirler. Ancak, ortamda nitrat varsa son elektron alıcısı olarak oksijenin yerine nitratları da kullanabildikleri için anaerob koşullarda da üreyebilirler (Carson ve ark 1973, Tünger ve ark 2000, Şen ve ark 2006).

Psikrofil mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas*'ların ayrı bir önem arz etmelerinin bir sebebi de diğer bakteri türlerine oranla büyük bir çoğalma özelliği göstermeleridir (İnal 1990). *Pseudomonas*'ların geniş bir yayılım göstermelerinin nedeni, çok basit gelişim ihtiyaçlarına gereksinim duymalarındandır. Minimal besin varlığında bile 4ºC ile 43ºC gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilirler. Cinsin bir

çok türünün gelişme gösterdiği optimum sıcaklık derecesi ise 30ºC'dir. Türlerin tamamı nötr veya alkali pH (7,0-8,5) aralığında daha iyi gelişmektedir (Cowan ve ark 1974).

Pseudomonas cinsindeki bakteriler 0,5-1,0x1,5-5,0 µm boyutlarında düz veya hafif eğimli basillerdir. *Pseudomonas* suşlarının, mikroskobik görünümleri nadiren büyük ve şekil olarak normalden çok farklı olabilirler. Bazı türlerin hücreleri oval şekilli olabilirken bazı bitki patojenlerinin hücreleri 4 µm'den daha uzundurlar. Sahip oldukları bir veya birden fazla polar flagella ile hareket ederler. Hareket için gerekli olan enerjiyi aerobik metabolizmadan sağlarlar. Nadiren hareketsiz olan *Pseudomonas* suşları da mevcuttur. Karbonhidratları parçalamaları oksidatiftir ve gaz oluşturmazlar (Cowan ve ark 1974, Bekar 2003).

Genellikle yeşilimsi, mavimsi, menekşe, leylak, sarı veya diğer renklerde besiyerlerine yayılan floresans pigment oluşturan bakterilerdir ve bu pigmentasyon *Pseudomonas* türlerinin ayrımında kullanılan önemli bir özelliktir (Bekar 2003, Keskin ve Ekmekçi 2003). *Pseudomonas*'ların ürettiği pigmentlerin antibiyotik ve bakteriyosin özelliği taşıdığı da belirtilmiştir (Vachee ve ark 1997). Bakteriyel pigmentlerin optimum şartları çok değişken olmakla beraber, bakterilerin ürettiği sekonder metabolitlerden olup, gelişme sıcaklığı, ortamı ve besiyeri içeriklerine bağlı olarak farklı renklerde oluşturulurlar (Kanner ve ark 1978).

Hassen ve ark (1998), çalışmalarında, *Pseudomonas* cinsine ait türlerin, çinko varlığında piyoverdin pigmentini daha fazla sentezlediklerini ve çinkonun pigment üretimini arttırdığını göstermişlerdir.

Bu pigmentler besiyerlerine yayılırlar; fakat bazen yayılma göstermeyen kırmızı veya sarı renkte pigment oluşturabilirler. Ayrıca pigment oluşturmayan birçok *Pseudomonas* türü de mevcuttur. Çoğu türleri saprofit olmakla beraber çok az sayıdaki türün patojen olmasıyla önemini korumaktadır (Bekar 2003).

Pseudomonas'ların birçok türü amonyum iyonları veya nitrat ile enerji veya karbon kaynağı olarak tek bir organik madde içeren çok basit mineral besiyerlerinde gelişebilmektedir (Baumann ve ark 1972). Virülans faktörü olarak hemolizine sahip olan *P.aeruginosa* suşları kanlı besiyerlerinde hemoliz oluştururlar. Glukoz ve bazı

karbohidratları oksidasyon yolu ile parçalayıp asit oluştururlar. Laktoz ve sukroza etki etmezler. İndol ve H_2S oluşturmazlar. Metil kırmızısı ve Voges proskauer testleri negatiftir. Çoğunluğu aerobik olup bazı türleri nitratı kullanarak anaerobik olarak gelişebilir. Üreyi amonyak haline ya da amonyağı üreye çevirebilirler ve bunları azot kaynağı olarak kullanabilirler. Birçoğu asidik ortamlarda gelişemezler. Oksidaz pozitif veya negatif olabilirler. Katalaz pozitif olup lizin ve ornitini dekarboksile etmezler. *Pseudomonas* türlerinin tek karbon kaynağı içeren basit besiyerlerinde gelişebilme yetenekleri karakterizasyon yapılması için temel oluşturmaktadır. Bu organik bileşiklerin sayı ve tiplerinin değiştirilmesi ile gelişmeyi sağlayan bileşikler tespit edilerek, sabit kimyasal içerikli besiyerlerine bu bileşiklerin ilavesi ile izole edilen türlerin tanımlanmasına önemli katkılar sağlanmıştır (Cowan ve ark 1974). Çizelge 1.1. de Bazı *Pseudomonas* türlerinin biyokimyasal ayrımları gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Bazı *Pseudomonas* türlerinin biyokimyasal ayrımı (Bekar 2003).

Tür	UV ışığında fluoresan	Oksidaz	Hareket	5 °C	42 °C	Jelatin	Üreaz	Glukoz	Laktoz	Maltoz	ADH	LDC	ODC
P. aeruginosa	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
P. fluorescens	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
P .putida	+	-	+	d	-	-	+	+	-	+	+	-	-
P. stutzeri	+	-	+	+	d	-	w	+	-	+	-	-	-
P. alcaligenes	+	-	+	-	+	d	-	-	-	-	+	-	-
P. cepacia	+	-	+	-	d	d	+	+	+	+	-	+	d
P. diminuta	+	-	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-
P.pseudomallei	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
P. mallei	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-

d: Değişken. w: Genelde pozitif.

Pseudomonas türlerinin en önemli özelliği çok farklı yapıdaki organik bileşikleri kullanacak metabolik mekanizmaya sahip olmalarıdır. Mikroorganizmanın bazı türleri proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptir (Ünlütürk ve Turantaş 1998). Bazı *Pseudomonas'*lar ise pektinolitik aktiviteye sahip olmalarından dolayı sebzelerde kök yumuşamasına neden olmaktadırlar (Keskin 2007). Lipazlar ve proteazlar en önemli endüstriyel enzim gruplarını oluşturmaktadır. Bu enzimler gıda sanayi, deterjan, kimya endüstrisi, biyolojik ve tıbbi bilimler gibi çok geniş kullanım alanına sahip enzimlerdir. Son zamanlarda fungal ve bakteriyel enzim eldesi biyoteknolojide büyük ilgi görmektedir. Lipaz üreten organizmalar arasında *Candida*, *Geotrichum*, *Rhizopus* ve *Thermomyces* cinsleri büyük önem görürken, bakteri grupları arasında ise *Pseudomonas* cinsi bakterilerin önem taşıdığı

bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada izole edilen tüm *Pseudomonas* suşlarının lipaz ürettiği bildirilmiştir (Arpigny ve Jaeger 1999).

Hoshino ve ark (1997) ise sıcaklık, pH ve kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olarak bazı *Pseudomonas* suşlarının proteaz da ürettiğini ileri sürmüşlerdir.

Gıdalarda bulunan psikrotrofların başında *Pseudomonas* soyunda yer alan bakteriler gelmektedir. Bazı aminoasitlerin *Pseudomomas spp.* tarafından tüketilmesi *S.aureus*'un gelişmesini geciktirir. *Pseudomonaslar* ayrıca deniz ürünlerinde *Vibrio parahaemolyticus* üzerine de inhibitörik etki göstermektedirler (Erol 2007).

Tetrodotoksin oluşturan bakteriler arasında *Pseudomonas*'lar da bulunmaktadırlar. Isıya dirençli ekstraselüler proteaz ve lipaz oluşturarak bozulmaya sebep olan psikrotroflardandırlar. Gıdalarda genel olarak proteolitik/lipolitik alkali flora predominanttır. Taze etlerde mikroflora büyük ölçüde psikrotrof proteolitlerden (*Pseudomonas* gibi) ve lipolitlerden oluşmaktadır. Pastörize sütlerde daha çok proteolitik etkili *Pseudomonas*'lar ve aerob sporlu mikroorganizmalar bulunmaktadır. Karkas et, taze balık, pastörize süt, yumurta ve çiğ sebzelerde bozulmaya sebep olan bakteri grupları arasında özellikle *Pseudomonas*' lar önemli bir yer tutmaktadırlar (Erol 2007).

Pseudomonas türleri insan, hayvan ve bitkilerde enfeksiyon etkenidirler. Bitki patojeni olan türler selülaz, pektinaz ve ksilinaz aktiviteleri göstermektedirler (Ünlütürk ve Turantaş 1998). İnsan patojeni olarak en önemli tür *P.aeruginosa;* hayvan patojenlerinin en önemlileri ise *P.aeruginosa* ile birlikte*, P.pseudomallei* ve *P.mallei*'dir. Bitki patojenlerinin en önemlileri ise *P.solanacearum, P.syringae, P.marginalis* ve *P.cepacia*'dır (Keskin 2007).

Mezofil, psikrofil veya psikrotrof türleri de bulununan bu bakteriler dış ortam koşullarına, dezenfektanlara ve antimikrobiyal ajanlara karşı oldukça dirençlidirler. Hal böyleyken su aktivitesi (a_w 0,97) değerinin düşmesine karşı son derece duyarlıdırlar. *Pseudomonas'* lar hastane ortamında kullanılan sular, yiyecekler, tıbbi cihazlar ve hatta dezenfektanlar içinde sıklıkla kolonize olabilirler. Bu durumda çok yüksek enfeksiyon oluşturma ve yayılma beklenirken, normal sağlıklı kişilerde kolonizasyon oranı oldukça düşüktür. Ancak bu oran hastanede yatan kişilerde

%40'a, immünsuprese veya yoğun bakım hastalarında ise %70'lere kadar çıkabilmektedir. Bu da bakterinin fırsatçı patojen olduğunun bir göstergesidir (Ünlütürk ve Turantaş 1998, Tünger ve ark 2000, Erol 2007).

Pratikteki uygulamalarda mikroorganizmalarda dezenfektanlara karşı direncin artması daha çok hastanelerde görülmektedir. Bu bağlamda özellikle *Pseudomonas*, formaldehit de dahil olmak üzere çoğu dezenfektanlara karşı direnç göstermekte hatta uzun süre bekletilmiş dezenfektan solüsyonlarından dahi izole edilmektedir (Erol 2007).

Birçok antimikrobiyal ajana karşı dirençli olmasına rağmen *Pseudomonas* enfeksiyonlarına karşı kullanılan antibiyotikler de mevcuttur. En önemli gruplar aminoglikozidler (gentamisin ve tobramisin gibi), yarısentetik penisilinler (karbenisilin, tikarsilin ve piperasilin gibi), üçüncü kuşak sefalosporinler (seftazidim ve sefoperazon gibi), quinolonlar (siprofloksasin) ve karbepenemlerdir (meropenem ve imipenem) (Hancock ve Speert 2000).

Genel olarak iyonize ışınlara en duyarlı olan bakteriler *Pseudomonas* gibi gram negatif çubukçuk formlulardır. Örneğin 16,30 kGy'lik bir doz, gram negatiflerden *Pseudomonas*'ların inaktivasyonu için yeterli olabilmektedir (Erol 2007).

Asetik asit ve tuzlarının % 0,01 – 0,5 konsantrasyonları *Pseudomonas* türlerine karşı etkilidir. Sorbik asit ve sorbatlar da *Pseudomonas putrefaciens* ve *P.fluorescens'*e etkilidir. Gıdalara 200 ppm gibi yüksek konsantrasyonlarda nitrit ilave edilmesi *Pseudomonas* üzerine inhibitör etki gösterir. Gram negatif mikroorganizmalar CO_2'e gram pozitiflerden daha duyarlı olup özellikle en önemli bozulma etkenlerinden biri olan *Pseudomonas spp.* CO_2'e çok duyarlıdır (Erol 2007).

1.1.1. *Pseudomonas'* ların virülans faktörleri

Pseudomonas türleri arasında çeşitli enfeksiyonlara sebep olabilen fırsatçı patojen bakteriler de mevcuttur. Bu mikroorganizmalar sahip oldukları toksin, enzim ve organeller yoluyla virülanslarını ortaya koymaktadırlar. Delden ve Iglewski (1998) *P.aeruginosa'* nın yaptığı enfeksiyonlar ve enfeksiyonları oluşturma yollarını

araştırdıkları çalışmalarında *Pseudomonas* türlerinin virülans faktörlerini ortaya koymuşlardır. Şekil 1.1.' de *Pseudomonas'* ların virülans faktörleri gösterilmektedir.

Fimbrialar: Bakterilerin solunum sistemi epiteline yapışmasını sağlarlar.

Polisakkarit Kapsül: Antifagositer özellik gösterir. Ayrıca *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları için risk faktörü olan kistik fibrozis ve kronik akciğer hastalıklarında bakterinin kolonizasyonunu kolaylaştırır.

Endotoksin: Diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi lipopolisakkarit yapıdaki endotoksin en önemli hücre duvarı antijenidir. Lipid A bölümü, sepsis için en önemli mediatördür.

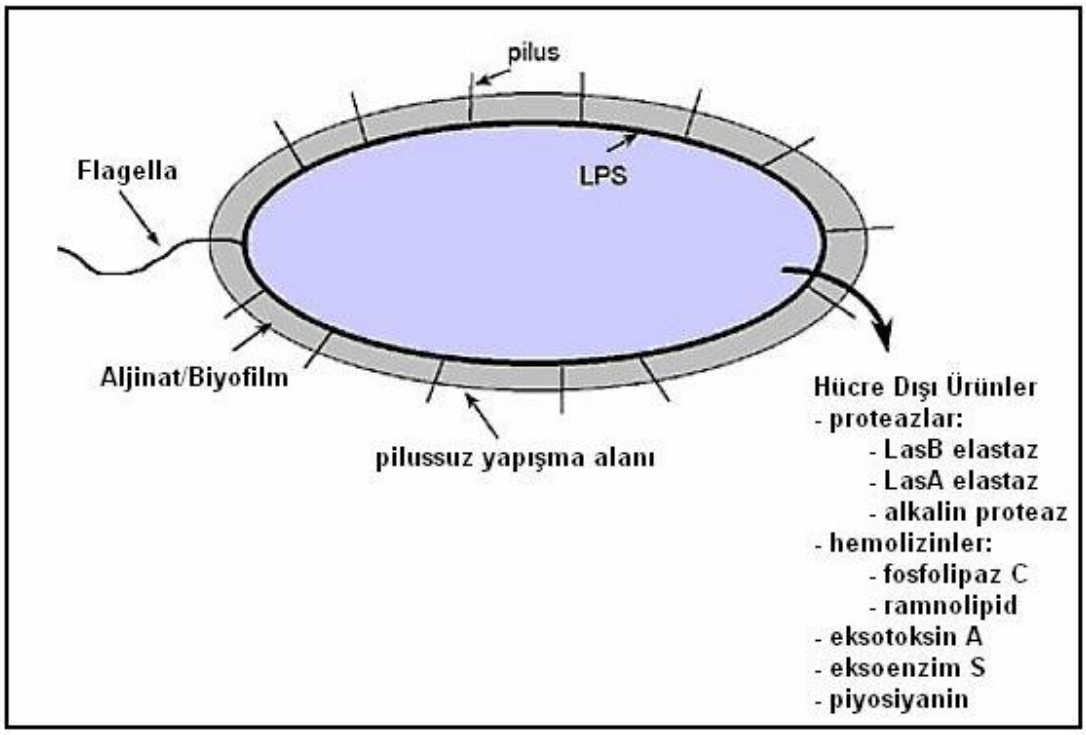
Eksotoksin A: *Pseudomonas aeruginosa'*da bulunur. Bir ADP-ribozil-transferaz enzimidir. Etki mekanizması difteri toksini ile aynıdır. Hücrede protein sentezini bloke eder.

Eksoenzim S: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının 1/3 ünde bulunur. Buda bir ADP- ribozil-transferaz'dır, ekzotoksin A' dan farkı ısıya dayanıklı olmasıdır.

Elastaz: Kan damarlarındaki elastik tabakayı tahrip eder. Dissemine *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarında görünen ve hemorajik lezyonlar olan ektima gangrenosumdan sorumludur.

Lökosidin: Nötrofil ve lenfositleri inhibe eder.

Fosfalipaz C: Lipid ve lesitini parçalayarak doku hasarına neden olur (Tünger ve ark 2000).



Şekil 1.1. *Pseudomonas'* ların virulans faktörleri (Delden ve Iglewski 1998).

1.1.2. Halk Sağlığı Açısından Önemli Bazı *Pseudomonas* Türleri

Pseudomonas aeruginosa

P.aeruginosa, sporsuz, kapsülsüz, basil şeklinde, genellikle bir ucunda bir veya daha fazla sayıda flagellaya sahip çok hareketli, gram negatif, 1,5-3 µm uzunluğunda ve 0,5 µm genişliğinde, çift veya kısa zincirler halinde görülen bakterilerdir. Genellikle 30 ^{o}C – 37 ^{o}C'de ürerler. 41^{o}C' de üremesi durumu ise *P.fluorescens*' den ayrılmasını sağlar. Buyyonda yüzeyde zar yaparak yoğun ve homojen bir üreme gösterir ve zarın hemen altında mavi-yeşil pigmenti belirir. Katı besiyerlerindeki Tip1 kolonileri yuvarlak, yumuşak, yassı, ortası kabarık ve beyazımsı renktedir. Floresans özelliği olan ve besiyerinin her tarafına yayılmış bulunan yeşil mavimsi pigmentler görülür. Ayrıca; kabarık, küçük ve koliform kolonilerine benzeyen R kolonileri vardır. Bazı kolonileri de mukoid görünümlüdür. Kültürlerde aromatik meyve, tatlımsı veya trimetil amin kokusuna benzer koku duyulur (mikrobiyoloji.org 2009).

P.aeruginosa'nın bazı özellikleri şöyledir; laktoz ve sakkaroza etkisiz fakat glikoz ve bazı karbonhidratları oksidasyon yoluyla parçalayıp asit oluştururlar.

Pyocianin, pyoverdin pigmentleri bulunur, oksidaz, katalaz, arginin dihidrolaz, jelatin hidrolizi testleri pozitiftir. Lizin ve ornitin dekarboksilaz, indol, H_2S oluşumu, metil kırmızısı ve VP (Voges Preskauer) testleri negatiftir (mikrobiyoloji.org 2009).

Pigmentleri oksijensiz ortamda görülmez, oda ısısı ve etüvde daha iyi oluşur. Genelde pyocianin ve pyoverdin veya fluorescein olmak üzere iki tip boya özelliği vardır. Pyocianin; suda ve kloroformda erir, mavimsi renk oluşturur ve *P.aeruginosa*'ya özgüdür. Pyocianin maddesinin antibiyotik özelliği bulunur. Bu nedenle; *Brucella, Shigella, B. anthracis, Bordetella, Vibrio* gibi mikroorganizmalara bakteriyostatik etki yapar. Pyoverdin sadece suda erir, yeşilimsi floresans renk meydana getirir. Ayrıca pyorubin ile kırmızı, pyomelaninin ile kahverengi-siyah pigmentleri gösterilmiştir (mikrobiyoloji.org 2009).

P.aeruginosa doğada yaygın olarak bulunabilen bir bakteri olduğu için, organik maddeler içinde, sularda uzun süre canlı kalabilmektedir. İnsan ve memeli hayvanların bağırsağında flora elemanı olarak bulunmaktadır. Yüksek ısı ve kuruluğa dirençsizdirler. Hastane ortamları organik madde (kan, irin, deri döküntüleri, vs.) yönünden zengin olduğu için ve direnç gösteren kökenlerin bu ortamlarda daha fazla görülmesi nedeniyle sık rastlanılan bir patojen olarak görülür (mikrobiyoloji.org 2009).

P.aeruginosa sığırların yetiştirildiği yerlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Sığırların yalak ve yemliklerinden, sağım alet ve makinelerinden, ahırların ıslak yerlerinden izole edilen *P.aeruginosa*'nın sütte bulunuşu sütün sağım ve elde edilişinde hijyenik eksiklikleri göstermektedir. *P.aeruginosa* bazen mastitislerin oluşumuna da neden olmaktadır. Termorezistansı düşük olduğundan pastörizasyonda bir problem oluşturmamaktadır. İnsanlar *P.aeruginosa'*yı çeşitli kaynaklardan (örn., yüzme havuzları, durgun sular, ıslak çayırlar v.s.) alabilmektedirler. Stafilokoklardan sonra insanlarda en çok görünen enfeksiyonlar *P.aeruginosa*'nın sebebiyet verdiği enfeksiyonlardır. Antibiyotiklere ve dezenfektan maddelere karşı yüksek rezistansı nedeniyle hijyen ve sağlık açısından önemli problemler oluşturmaktadırlar (İnal 1990).

P.aeruginosa fakültatif patojendir; yangıya hayvan vücudunda (örneğin barsak mukozasında veya prepusyumda) latent enfeksiyonun akut hale geçmesiyle

neden olur ve mavi-yeşil renkli irin oluşturur. *P. aeruginosa'* nın farklı canlı türlerinde yapmış olduğu hastalıklar Çizelge 1.2.' de gösterilmiştir. Vücut dışında toprakta, suda ve kanalizasyonlarda bulunur. Mastitis olaylarına karıştığı zaman işlenmemiş çiğ sütle gıda hijyeni bakımından önemlidir (Bekar 2003).

Alişarlı ve ark (2003) yaptıkları çalışmada meme başı derisi ile ilk sağılan çiğ sütün hem mikrobiyal kontaminasyon düzeylerini hem de bunların kontaminasyondaki rollerini belirlemek amacıyla, Van ili çevresindeki 5 farklı çiftlikten 100 adet sağmal süt ineğine ait meme başı derisi ve aynı ineklere ait çiğ süt örneğini mikrobiyolojik olarak incelemiştir. Bu kapsamda; çiğ süt örneklerinde *Pseudomonas* ortalama olarak 2,17, meme başı derisi örneklerinde 2,54 log kob/ml seviyesinde saptanmıştır. Buda sağım hijyenine dikkat edilmediğini göstermektedir.

Çizelge 1.2. *P. aeruginosa'*nın farklı canlı türlerinde yapmış olduğu hastalıklar gösterilmektedir (Öneş 1989 ve Bekar 2003).

Tür	Oluşturduğu Enfeksiyonlar
İnsan	Bakteriyemi, endokarditis, kemik ve eklem enfeksiyonları, göz ve kulak enfeksiyonları, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, solunum sistemi ve üriner sistem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kistik fibrozis
Sığır	Generalize hastalık, üreme organlarında enfeksiyonlar, solunum sistemi hastalıkları. enteritis, sinovitis, Ienfangitis, artritis, akciğer ve karaciğer apseleri
Koyun, keçi	Mastitis, pneumoni, akciğer apseleri
At	Üreme organlarında enfeksiyonlar, sterilite, abort ve taylarda ölüm, akciğer apseleri
Domuz	Enteritis, solunum sistemi enfeksiyonları, otitis
Köpek, kedi	Generalize hastalıklar, üreme organlarında enfeksiyonlar, pneumoni, otitis externa, endokarditis, konjunktivitis, uretroadenosistisis
Mink	Pneumoni, septisemi
Çinçilla	Generalize enfeksiyonla beraber konjunktivitis, otitis, pneumoni, enteritis, Üreme organlarında enfeksiyonlar
Laboratuvar hayvanları	Generalize enfeksiyonlar, pneumoni, enteritis

Pseudomonas fluorescens

Birçok özelliğiyle *P.aeruginosa*'ya benzemektedir. Çizelge 1.3.' de diğer bazı türlerle ayrım özellikleri gösterilmektedir. Kolonileri yuvarlak, nemli ve parlak yüzeylidir. Pigmenti sarımsı yeşil renktedir. Sadece pyoverdin oluştururlar.

P.fluorescens 41^{o}C' de üreyemez fakat 4^{o}C' de ürer. Biyokimyasal özelliğinde farklılıklardan dolayı 5 ayrı biyovar olarak tanımlanır. Fırsatçı patojen olarak birçok enfeksiyondan izole edilebilir (mikrobiyoloji.org 2009).

Arnout-Rollier ve ark (1999) tavuk etlerinden izole ettiği *Pseudomonas*' ların sayısal bir sınıflandırmasını yaptığı çalışmada 4 önemli türün öne çıktığını bildirmiştir. Bunların; *P.fragi, P.lundensis, P.fluorescens* biovarlarına ait bir suş ve *P.fluorescens* biovarlarına yüksek derecede benzerlik gösteren ancak tanımlanamayan bir suş olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 1.3. *P. aeruginosa, P. fluorescens* ve *P. putida*'nın ayrım özellikleri (özel testler) (Bekar, 2003).

Özellikler	***P.aeruginosa***	***P. fluorescens***	***P. putida***
Flagella şekli	Monotrik polar	Lofotrik polar	Lofotrik polar
22^{o} C' de üreme	+	+	+
37^{o} C' de üreme	+	-	-
42^{o} C' de üreme	+	-	-
Pyocyanin	+	-	-
Fluorescin	+	+	+
Jelatini eritme	+	+	-

Pseudomonas putida

Pseudomonas putida, toprakta yaşayan, nonfermentatif, fluoresan veren *Pseudomonas'* lar grubunda yer alan aerobik, gram negatif bir basildir. Değişken metabolik özellikleri olan ve ağır enfeksiyonlara neden olabilen saprofitik bir toprak bakterisidir. İnsan vücudunda normal florada yer almaz ve bilinen bir virulans faktörü yoktur. İnsanda idrar yolu enfeksiyonu, pnömoni, septisemi, yara yeri enfeksiyonu, peritonit ve menenjit gibi klinik tablolara neden olduğu bildirilmiştir (Öztoprak ve ark 2008).

Burkholderia (Pseudomonas) mallei

Yeni oluşturulan *Burkholderia* genusu içine alınmış ve ismi *Burkholderia mallei* olarak değiştirilmiştir. Bununla birlikte bakteriyolojik özelliklerinin bu sınıfa çok yakın olması ve *P.pseudomallei* ile antijenik ilişkisi, faj duyarlılığı, nükleik asit kompozisyonu bakımından yakın olmasıdır. Buna rağmen *P.mallei* hareketli olmayışı, zorunlu parazit olması ve kültürde yavaş üremesi ile *Pseudomonas'* lardan farklıdır (Bekar 2003, mikrobiyoloji.org 2009).

B. mallei düz veya kıvrık, gram negatif, klinik materyalde bazen lökositlerin içinde, 0,5x 1,5 – 4 μm boyutlarında, pleomorfik ve küçük basillerdir. Aerobtur, 41^{o}C'de ürer fakat 4^{o}C'de üreyemez. Hareketsiz, hücre dışı ve içi pigmentleri olmayan, oksidaz pozitif, arginin dihidrolaz pozitif, nişasta ve jelatin hidrolizi pozitif bir mikroorganizmadır (Bekar 2003, mikrobiyoloji.org 2009).

Tek tırnaklı hayvanlarda ruam adı verilen hastalığa neden olur. İnsanlarda meslek hastalığı olarak görülebilir (Bekar 2003, mikrobiyoloji.org 2009).

Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei

Burkholderia pseudomallei olarak yeniden isimlendirilmiştir. Gram negatif, aerob ve fakültatif anaerob, hareketli, yeşil-kahverengi pigmentli, küçük basiller olup 41^{o}C'de üreme özelliği gösterip 4^{o}C'de üreyemez. Kuruluğa dirençli fakat ısı ve dezenfektanlara duyarlıdır (mikrobiyoloji.org 2009).

Bu mikroorganizmalar 1,5 μm uzunluğunda, bir veya iki ucunda 2-3 flagellalı, bipolar basillerdir. Kültürlerinde 24 saatte nispeten büyük (5-10 mm çapında) nemli koloniler verir. 2-5 gün sonra radial kıvrımlar yapar ve kolonilerin rengi kahverengi veya kırmızıya döner (Bekar 2003).

Kemirici hayvanlarda görülen Mellioidoz adı verilen hastalığın etkenidir. İnsanlara kemirici hayvan ısırığı, hayvanların dışkılarıyla bulaşmış gıdaların tüketilmesi ve kemiriciyle temas etmiş sineklerin ısırığıyla bulaşır (mikrobiyoloji.org 2009).

Pseudomonas maltophilia

Stenotrophomonas maltophilia ve *Xanthomonas maltophilia* isimleri de kullanılır. Hareketli, gram negatif, besiyerlerinde kolay üreyebilen, sarı renkli koloniler yapan, zorunlu aerob, oksidaz negatif ve 41^{o}C'de üreyemeyen bakterilerdir. Doğada insan ve hayvan dışkıları, su ve sütte bulunduğu için yaptığı enfeksiyonlar çok çeşitlidir (mikrobiyoloji.org 2009).

Diğer Pseudomonaslar

Pseudomonas cinsine giren 140 tür doğada çok yaygındır. Bunlardan 25 kadarı insanlar için önemlidir (Halkman 2005).

Pigment madde yapıları ve biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar gösteren ayrıca fırsatçı patojen olarak tespit edilen birçok cins bulunur. Bunlar; *P. mendocina, P. stutzeri, Burkholderia cepacia, Burkholderia picketti*'dir (mikrobiyoloji.org 2009). Çizelge 1.4.' de bazı *Pseudomonas* türlerinin karakteristik özellikleri gösterilmektedir.

Çizelge 1.4. *Pseudomonas* türlerinin bazı özellikleri (Bekar 2003).

Nitelik	***P. aeruginosa***	***P. alcalenes***	***P.caryophylli***	***P. fluorescens II, III. P. aureofaciens***	***P. mallei***	***P. mendocina***	***P. pickettii***	***P. pseudoalcaligenes***	***P. pseudomallei***	***P. solanacearum***	***P. stutzeri***
Flagella sayısı	1	1	>1	>1	0	1	1	1	>1	>1	1
Poli-β-hidroksibutiratik asit biriktirme	-	-	+	-	+	-	+	d	+	+	-
40^{o} C' de üreme	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
Pyoverdin oluşturma	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pyocyanin oluşturma	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sarı hücresel pigment	-	d	-	-	-	+	-	-	d	-	-
Arjinin dihidrolaz	+	+	+	+	+	+	-	d	+	-	-
Nişastanın hidrolizi	-	-	-	-	d	-	-	-	+	-	+
Poli-β-hidroksibutirat' ın hidrolizi	-	-	-	-	d	-	-	-	+	-	-
D-ksiloz	-	-	+	d	+	-	+	-	-	-	-
Maltoz	-	-	-	-	d	-	-	-	+	-	+
Sakkarat	-	-	+	d	-	+	+	-	-	+	d
Mannitol	+	-	+	+	+	-	-	-	+	d	d
Etilen glikol	-	-	-	-	-	+	-	d	-	-	+
2,3-Butilen glikol	+	-	+	d	-	-	d	-	-	-	d
Geraniol	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Azelat	+	-	-	d	-	+	+	-	+	d	-
Levulinat	+	-	-	d	-	+	+	-	+	d	-
Glikolat	-	-	+	-	-	+	+	-	-	d	+
L-Serin	d	-	+	d	d	+	+	d	+	d	d
L-Arjinin	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
L-Histidin	+	d	+	+	+	+	d	d	+	+	-
Betain	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Sarkosin	+	-	-	+	d	+	-	d	d	d	-

d: değişken

1.2. Toplam Mezofilik ve Psikrofilik Aerobik Bakteriler

Tüketime sunulan bütün gıda maddeleri ele alındığında, sterilizasyon amacıyla ısıl işlem uygulanan sebze konserveleri ve salça ile uzun ömürlü olarak tanımlanan içme sütü gibi son derece az sayıda gıda maddesi steril kabul edilmekte, 100 ^{o}C ve daha altında ısıl işlem uygulanan bira, gazlı meşrubat, meyve suları gibi ürünler ise yüksek asitlik nedeni ile sterile oldukça yakın olarak üretilmektedir. Bu gibi gıdaların dışında kalanlarda belirli sayılarda mikroorganizma bulunması doğaldır. Genel bir gıda hijyeni yaklaşımı ile gıdalarda patojen mikroorganizma bulunmasına izin verilmez. Benzer şekilde patojen olmasa dahi fekal kontaminasyon göstergesi olan bakterilerin de gıdalarda bulunması kabul edilmez. Bu çerçevede steril olmayan gıdalarda bulunmasına izin verilenler sadece saprofit karakterli ve gıdada bulunması doğal olan mikroorganizmalardır. Bunlar arasında toplam mezofil aerob bakteri sayısı gıdalarda mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde indikatör olarak yaygın şekilde başvurulan kriterlerdir (Doğan ve Tükel 2000).

Gıdalarda toplam canlı bakteri, küf ve maya sayımları mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde yaygın olarak başvurulan mikrobiyolojik yöntemlerdir. Ancak bu indikatörler peynir ve sucuk gibi fermente ürünler ile doğal olarak olgunlaşma işlemine tabi tutulmuş gıdalarda pek anlam ifade etmezler. Toplam canlı bakteri, küf ve maya sayımları gıda işletmelerinde sanitasyonun yeterliliği ile gıdanın işlenmesi, taşınması ve depolanması sırasında uygun sıcaklıklarda tutulmadığının bir göstergesi olması bakımından önem taşırlar. Bu sayımlar ayrıca gıdada bozulmanın başlangıcı, gıdanın muhtemel raf ömrü, dondurulmuş gıdaların kontrolsuz çözündürülmesi, soğutmanın yetersizliği ve üretim aşamasındaki kontaminasyon düzeyi konularında da bilgi vererek gerekli önlemlerin alınmasında yardımcı olurlar (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

Çoğu zaman uluslararası ticarette "toplam bakteri" ya da "toplam canlı bakteri" olarak tanımlanan aslında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısıdır. Gıdaların mikrobiyolojik analizinde en önemli olan mezofil ve aerob sınırlarda gelişen bakterilerdir. Bunun nedeni gıdalarda bulunabilen bakterilerin büyük bir çoğunluğunun aerobik - mezofilik olarak tanımlanan sınırlar içinde gelişebilmesi, özel besin maddelerine gereksinim göstermemesi, gıdaların çok büyük bir çoğunluğunda olduğu gibi nötr - hafif asit ortamlarda gelişebilmesidir. Bu

çerçevede nötr pH'lı ve çoğu bakterinin gelişebileceği düzeyde yeterli besin maddesi içeren ancak, hiç bir inhibitör içermeyen bir genel besiyerinde mezofil ve aerob inkübasyon koşullarında gelişebilen bakteriler gıdalarda en çok rastlanan saprofit ve patojen bakterilerdir. Bu aşamada tartışılması gereken husus bunların cins ve türleri değil, bunların toplam sayısıdır. Bununla birlikte TAMB olarak değerlendirilen sayının içinde patojenlerin de bulunabileceği unutulmamalı ve patojen bakterilerin aranması veya sayılması ayrıca yapılmalıdır (Doğan ve Tükel 2000).

Kaymaz (1987) Ankara'da tüketime sunulan çiğ hamburgerlerin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amaçlı yaptığı çalışmada TAMB sayısını $1,3x10^{10}$ kob/g olarak saptamıştır.

Sancak ve ark (1993) Van ilinde kıymaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama $2,1x10^{9}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Güven ve ark (1997) Kars ilinde kıymaların mikrobiyolojik kalitesini belirmeye yönelik yaptıkları çalışmada TAMB sayısını $4,4x10^{6}$ kob/g düzeyinde bulmuşlardır.

Ağaoğlu ve ark (2000) ise Van'da hamburger köfteler üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama $3,8x10^{5}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ile gıda hammaddeleri, yardımcı maddeleri, ambalaj materyali, genel olarak işletme koşulları, işleme sonrası depolama ve taşıma koşulları hakkında bilgi edinilerek bunların asgari standartlara uyup uymadığı belirlenebilir, buna göre gıdada bozulmanın başlaması ve raf ömrü saptanabilir. Avrupa Topluluğu standartlarına göre çiğ sütlerin mikrobiyolojik kalitesi sadece toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ile kontrol edilmektedir (Doğan ve Tükel 2000).

Çetin ve Bostan (2002) hazır köftelerin raf ömrünü uzatma amaçlı yaptıkları deneysel çalışmada kontrol grubundaki köfte örneklerinin TAMB sayısının soğukta depolama boyunca arttığını tespit etmişlerdir.

Elmalı ve Yaman (2005) sığır eti ve köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını sırasıyla $3,4x10^4$ kob/g ve $4,3x10^6$ kob/g olarak saptamışlardır.

Erdoğrul (2005) Kahramanmaraş ilinde koyun etleri üzerine yaptığı çalışmada TAMB sayısını ortalama olarak 5,82; 5,70; 5,83 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde bulmuştur.

Sağun ve ark (2006) Van' da ızgaralık etlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını kuşbaşı et örneklerinde 6,84 $\log_{10}$ kob/g ve köfte örneklerinde 6,51 $\log_{10}$ kob/g olarak saptamışlardır.

Toplam canlı mikroorganizma sayımlarında besiyerinin kompozisyonu, inkübasyon sıcaklığı ve süresi ile çevredeki atmosfer koşulları (aerobik veya anaerobik koşullar) değiştirildiğinde farklı sonuçlar alınabilmektedir. Örneğin, soğukta muhafaza edilen gıdalarda genellikle psikrotrofik mikroorganizmalar bozulmaya neden olmaktadırlar. Bu noktalardan hareketle, plak sayımları genellikle "aerobik mezofilik bakteri sayımı", "anaerobik mezofilik bakteri sayımı", "termofilik bakteri sayımı" veya "psikrofilik bakteri sayımı" olarak yapılır. Gıda güvenliği ve sanitasyon indikatörü olarak çoğunlukla aerobik mezofilik bakteri sayımlarına başvurulmaktadır. Bunda en büyük etken, insan veya hayvan kaynaklı patojen mikroorganizmaların pek çoğunun mezofilik karakter göstermesi ile aerobik ya da fakültatif anaerobik oluşlarıdır. Bir üründe çok fazla sayıda mezofilik bakteri bulunması, ürünün insan veya hayvan kaynaklı patojenlerin de gelişmesine olanak sağlayacak koşullarda üretilip depolandığını ve bu üründe bu tür patojenlerin bulunma olasılığının yüksek olduğunu gösterir. Bunun da ötesinde genelde patojen kabul edilmeyen bazı mezofilik bakterilerin (*Proteus* türleri, *Enterococcus* türleri, mezofilik *Pseudomonas* türleri v.b) gıdada yüksek sayılarda bulunması durumunda hastalıklara neden olabilmektedirler. Ancak bu bakterilerin enteropatojeniteleri ile ilgili kanıtlar tam olarak ortaya konulamamıştır. Yine bir gıdada yüksek sayıda küf bulunması, o gıdada mikotoksin bulunma olasılığını ve dolayısıyla da enfeksiyon/toksikasyon riskini artırır. Diğer taraftan, işlem görmüş gıdalarda yüksek sayıda mikroorganizma bulunması; bu organizmalar patojen olmasa ya da gıdada hissedilir bir bozulma gözlenmese bile gıdanın kontamine olduğunun ve/veya uygun olmayan hijyenik koşullarda üretildiğinin veya depolandığının bir göstergesidir. Bu

durumda yüksek sayım sonuçları en azından gıdanın kısa sürede mikrobiyal bozulmaya uğrayabileceğinin veya gıdada yeni başlamakta olan bozulmanın bir indikatörüdür. Mikrobiyolojik olarak bozulmuş gıdalarda da genelde yüksek sayım sonuçları beklenir. Ancak organoleptik bozulmalara neden olacak mikroorganizma sayısı, büyük ölçüde gıdanın çeşidine ve özellikle de gıdada bulunan mikroorganizma tiplerine (proteolitik, pektolitik, lipolitik, vb. mikroorganizmalar) bağlıdır. Koku, tat veya yapı değişiklikleri şeklinde beliren mikrobiyolojik bozulmalarda, pek çok gıdada $l0^6$/g'dan daha yüksek düzeylerde mikroorganizma bulunur. Bazı gıdalar ise 10^7/g düzeyinde mikroorganizma ürediğinde kabul edilemez durumdadır. Ancak çok az sayıda gıda 10^8/g mikroorganizma düzeyine erişildiğinde dahi hala tüketilebilir durumdadır, fermente gıdalardan elde edilen yüksek sayım sonuçları, fermantasyonu gerçekleştirilen mikroorganizmaların mikrofloradaki diğer mikroorganizmalardan ayrılamaması nedeniyle çok büyük bir öneme sahip değildir. Isıl işlem görmüş, soğutulmuş ve dondurulmuş gıdalarda canlı mikroorganizma sayıları düşük alabilir. Bu durumda kültürel sayımlar işlem öncesindeki koşulları tam olarak göstermez. Böylesi durumlarda, söz konusu gıdaların işlem öncesinde yüksek organizma yüküne sahip olup olmadığını ortaya koyabilmek için direkt mikroskobik sayım yapılmalıdır. Bilindiği gibi, direkt mikroskobik sayım yönteminde örnekteki cansız mikroorganizmalar da sayılmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş 1998)

Tezcan ve Tekinşen (1976) Ankara'da EBK (Et ve Balık Kurumu) sosislerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amaçlı yaptıkları çalışmada TAMB sayısını taze örneklerde $1,47x10^2$ kob/g değerinden başlayarak 6 günlük depolamanın sonunda $2,25x10^7$ kob/g'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlarla sosis ürünlerinin muhafaza süresinin uzamasına dayanıksızlığını ortaya koymuşlardır.

Sancak ve ark (1996) Van ilinde yaptıkları çalışmada sucuklardaki TAMB düzeyini $3,3x10^8$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Çon ve Gökalp (1998) sucuklar üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama olarak 8,72 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Çon ve ark (2002) Afyonkarahisar'da sucukların mikrobiyolojik kalitelerini belirmek üzere yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama $2,9x10^7$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Aerobik sayımlar, daha kolay uygulanabilir inkübasyon koşulları gerektirdiğinden rutin analizlerde anaerobik sayımlara göre daha fazla tercih edilmektedir. Ancak gıdalarda anaerobik sayımların yapılmasını zorunlu kılan durumlarla da karşılaşılabilmektedir. Günümüzde anaerobik sayım sistemlerindeki son gelişmeler, bu sayım yöntemlerinin uygulanmasına belirli kolaylıklar getirmiştir (hafif plastikten yapılmış anaerobik jarlar, hazır indirgenmiş besiyerleri, geçirgen olmayan plastik torbalarda hazırlanmış derin agarlı besiyerleri, vb.). Anaerobik sayım yöntemlerine özellikle anaerobik mikroorganizmaların etken olduğu gıda zehirlenmesi vakalarında ve gıda bozulmalarında etken mikroorganizma ve sayısının belirlenmesi amacıyla başvurulabilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu çalışmada 16 adet parça et, 23 adet kıyma, 15 adet sosis, 15 adet tavuk but, 15 adet tavuk göğüs, 22 adet hamburger köfte, 15 adet inegöl köfte, 15 adet sucuk, 10 adet tavuk sosis, 10 adet tavuk hamburger ve 10 adet tavuk inegöl köfte olmak üzere toplam 166 adet et ve et ürünü kullanıldı. Çalışmada kullanılan örnekler Konya ilinde faaliyet gösteren kasap ve marketlerden sağlandı. Örneklerde *Pseudomonas* spp. analizleri Konya İl Kontrol Laboratuvarı' nda toplam bakteri sayımları ise Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Örnekler her iki laboratuvara da soğuk zincirde taşındı.

Ayrıca Konya ilinde faaliyet gösteren 6 adet süpermarket, kasap ve mezbahanın soğuk hava depolarından hava örnekleme cihazıyla 6 kez örnekleme yapıldı. Bu örneklerde, *Pseudomonas* izolasyon ve identifikasyonu ile toplam psikrofilik aeorbik ve toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları Konya İl Kontrol Laboratuvarında yapıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Toplam Bakteri Sayımı

Analiz FDA BAM (Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual)' e göre yapıldı (FDA 2001).

Aseptik şartlarda 10 g numune 90 ml MRD (Maximum Recovery Diluent, Oxoid-CM0733) ile homojenize edilirek, 1/10' luk dilüsyondan başlayarak numunede beklenen bakteri sayısına göre seri dilüsyonlar hazırlandı ve her dilusyondan 1 ml paralel olarak steril petrilere aktarıldıktan sonra üzerine, eritilip uygun sıcaklığa kadar soğutulmuş PCA (Plate Count Agar, Oxoid-CM0325B) besiyeri ilave edilerek 35 ^{o}C'de 48 saat inkübe (Heraeus, Almanya) edildi. İnkübasyon sonunda tüm bakteri kolonileri sayıldı ve sonuçlar aşağıdaki hesaplamalara göre yapıldı.

$$N= \sum C/[(1 \text{ X } n_1)+(0.1 \text{ X } n_2)] \text{ X } d$$

N: Koloni sayısı

∑C: Petrilerde sayılan kolonilerin toplam miktarı

n_1: Birinci dilüsyondaki petri sayısı

n_2: İkinci dilüsyondaki petri sayısı

d: İlk sayılan petrinin dilüsyon katsayısı

2.2.2. *Pseudomonas* İzolasyon ve İdentifikasyonu

Analiz, TS ISO 13720: Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas spp*. sayımı metoduna göre yapıldı (TSE 1997).

Aseptik şartlarda 25 g numune 225 ml MRD ile homojenize edildi, 1/10' luk dilüsyondan başlayarak numunede beklenen bakteri sayısına göre seri dilüsyonlar hazırlandı ve plate count tekniği ile her dilusyondan 0,1 ml paralel olarak PAB (Pseudomonas Agar Base, Oxoid-CM0559B) besiyerlerine inoküle edilerek 25^{o}C' de 48 saat inkübasyona (Binder, Almanya) bırakıldı. İnkübasyon sonunda şüpheli morfolojiye sahip kolonilerden 5 tanesi nutrient agarda (Merck 1.05450) 25°C' de 24 saat tekrar inkübe edilerek saflaştırıldı. İdentifikasyon için son inkübasyonun ardından nutrient agarda üreyen koloniler kullanıldı.

Cins düzeyinde identifikasyon ve sayım

Oksidaz testi

Oksidaz testi için kullanıma hazır test stripleri (Bactident oxidase, Merck 1.13300) kullanıldı. Striplerin reaktif bölgesi N,N-Dimethyl-1,4-phenylenediammonium chloride (0,1 µmol) ve α-naphthol (1,0 µmol) içermektedir. Test için, yoğun bakteri süspansiyonu öze ile strip test bölgesine aktarıldı ve 20-60 saniye içinde mavi-menekşe renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

Kligler agar

Oksidaz pozitif olan kolonilerden cam tüpler içinde yatık olarak hazırlanan Kligler agarın (Merck 1.03913) dip kısmına ve yüzeyine ekim yapıldı. Yalnızca yüzeyde üreme olması ve besiyerinde pH düşmesine bağlı olarak renk değişikliğinin olmaması aerobik ve non-fermentatif metabolizmayı gösterir. Oksidaz pozitif, aerobik ve non-fermentatif koloniler *Pseudomonas spp.* olarak değerlendirildi.

Sayım ve hesaplama

Tüm koloniler sayılarak, petrilerdeki koloni sayısı ile dilüsyon faktörü çarpıldı ve 1 g numunedeki *Pseudomonas spp.* bakteri sayısı hesaplandı (TSE 1997).

Tür düzeyinde identifikasyon

Tür düzeyinde identifikasyon aşamasında *Pseudomonas spp.* pozitif olan petrilerden alınan koloniler biyokimyasal testlerle identifikasyona tabi tutuldu. Bu petrilerden alınan koloniler VITEK 2 Compact tam otomatik biyokimyasal identifikasyon cihazının kolorimetrik GN ID kartı (gram negatif identifikasyon kartı) kullanılarak tür düzeyinde tanımlandı. Çizelge 2.1. de GN ID kart üzerinde bulunan kuyucuklar içerisindeki biyokimyasal testler; Çizelge 2.2. de ise *P. fluorescens'* in bu testlerle verdiği pozitif ve negatif reaksiyonlar örnek olarak verilmiştir (Biomerieux 2006).

VITEK 2 Compact ile identifikasyon

Son inkübasyondan sonra nutrient agarda üreyen kolonilerden 3-5 tanesi seçilerek, içerisine 3 ml steril salin (%0,45 - %0,50 NaCl' ün sudaki çözeltisi; pH 4,5–7,0) solüsyonu konulmuş tüplere steril öze ile alındı. Bu tüpler küçük bir vorteks yardımıyla homojenize edildikten sonra VITEK 2 DENSICHEK^{TM} cihazı ile mikroorganizma süspansiyonunun yoğunluğu 0,50 – 0,63 McFarlanda ayarlandı ve GN ID kart ile birlikte cihazın kasetlerine yüklendi. Tüplerdeki mikroorganizma süspansiyonunun üzerinde liyofilize besiyeri ve biyokimyasal testlerin olduğu GN ID karta yüklenmesi için VITEK 2 Compact cihazının dolum kısmına yerleştirildi. Dolum işleminin tamamlanmasının ardından GN ID kartlar identifikasyon için cihazın okuyucu bölümüne yerleştirildi ve 6-8 saat sonra sonuçlar alındı (Biomerieux 2006).

Çizelge 2.1. GN ID kart üzerindeki biyokimyasal testler.

Kuyucuk	Test	Kısaltma	Miktar
2	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	APPA	0.0384 mg
3	ADONITOL	ADO	0.1875 mg
4	L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	PyrA	0.018mg
5	L-ARABITOL	lARL	0,3 mg

Çizelge 2.1. (Devam) GN ID kart üzerindeki biyokimyasal testler.

Kuyucuk	Test	Kısaltma	Miktar
7	D-CELLOBIOSE	dCEL	0,3 mg
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036 mg
10	H2S PRODUCTION	H2S	0.0024 mg
11	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	0.0408 mg
12	Glutamyl Arylamidase pNA	AGLTp	0.0324 mg
13	D-GLUCOSE	dGLU	0.3 mg
14	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	GGT	0.0228 mg
15	FERMENTATION/ GLUCOSE	OFF	0.45 mg
17	BETA-GLUCOSIDASE	BGLU	0.036 mg
18	D-MALTOSE	dMAL	0.3 mg
19	D-MANNITOL	dMAN	0.1875 mg
20	D-MANNOSE	dMNE	0.3 mg
21	BETA-XYLOSIDASE	BXYL	0.0324 mg
22	BETA-Alanine arylamidase pNA	BAlap	0.0174 mg
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	0.0234 mg
26	LIPASE	LIP	0.0192 mg
27	PALATINOSE	PLE	0.3 mg
29	Tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA	0.0276 mg
31	UREASE	URE	0.15 mg
32	D-SORBITOL	dSOR	0.1875 mg
33	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	0.3 mg
34	D-TAGATOSE	dTAG	0.3 mg
35	D-TREHALOSE	dTRE	0.3 mg
36	CITRATE (SODIUM)	CIT	0.054 mg
37	MALONATE	MNT	0.15 mg
39	5-KETO-D-GLUCONATE	5KG	0.3 mg
40	L-LACTATE alkalinisation	lLATk	0.15 mg
41	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU	0.036 mg
42	SUCCINATE alkalinisation	SUCT	0.15 mg
43	Beta-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA	0.0306 mg
44	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL	0.036 mg
45	PHOSPHATASE	PHOS	0.0504 mg
46	Glycine ARYLAMIDASE	GlyA	0.012 mg
47	ORNITHINE DECARBOXYLASE	ODC	0.3 mg
48	LYSINE DECARBOXYLASE	LDC	0.15 mg
52	DECARBOXYLASE BASE	0DEC	NA
53	L-HISTIDINE assimilation	lHlSa	0.087 mg
56	COURMARATE	CMT	0.126 mg
57	BETA-GLUCORONIDASE	BGUR	0.0378 mg
58	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	O129R	0.0105 mg
59	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	GGAA	0.0576 mg
61	L-MALATE assimilation	lMLTa	0.042 mg
62	ELLMAN	ELLM	0.03 mg
64	L-LACTATE assimilation	lLATa	0.186 mg

Çizelge 2.2. *P. fluorescens'* in GN ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları.

Nr[1]	Test[2]	Rxn[3]	Nr	Test	Rxn	Nr	Test	Rxn	Nr	Test	Rxn	Nr	Test	Rxn	Nr	Test	Rxn
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	+	5	İARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	0129R	-	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa				

Nr[1] GN ID kart üzerindeki kuyucuk sıra numarası. **Test[2]** GN ID kart üzerindeki kuyucuklarda bulunan biyokimyasal test reaktifleri. **Rxn[3]** *P. fluorescens'* in biyokimyasal reaksiyonlara verdiği yanıt.

2.2.3.Soğuk Hava Depolarının *Pseudomonas* ve Toplam Bakteri Yükünün Belirlenmesi

Soğuk hava depolarının toplam bakteri ve *Pseudomonas* yükünün belirlenmesi amacıyla, "ISO 14698 Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü standardı" uyarınca validasyonu yapılmış olan, Şekil 2.1. de gösterilen hava örnekleme cihazı (Air İdeal, bioMeriéux) kullanıldı.

Pseudomonas için TS ISO 13720: Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas spp*. sayımı metodu; toplam mezofilik bakteri için FDA Bacteriological Analytical Manual ve toplam psikrofilik bakteri sayımı için ise ISO 17410 (6,5 ^{o}C'de 10 gün inkübasyon) referans alındı (TSE 1997, FDA 2001, ISO 2001 ve Biomerieux 2008).

Hava örneklemenin yapılması

Örnekleme için önceden steril şartlarda hazırlanıp petrilere dökülmüş PCA ve PAB besiyerleri kullanıldı. Soğuk hava depolarında cihazın vakumlayıcı yüzeyine bu petriler sırasıyla yerleştirilerek 200 litre hava vakumlatıldı. Ardından toplam mezofilik ve *Pseudomonas* için ayrı ayrı inkübasyon periyotları ve analiz aşamaları teker teker yerine getirildi ve *Pseudomonas* için gerektiğinde identifikasyona VITEK 2 Compact cihazı ile gidildi.

Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri Sayımı

Analiz ISO 17410 standardına göre yapıldı (ISO 2001).

Analizde önceden hazırlanıp, steril edilen PCA besiyeri kullanıldı. Toplam psikrofil sayımı için, hava örneklemenin yapıldığı depolarda hava örnekleme

cihazına yerleştirilen petrilere 200 litre hava vakumlatıldı. Ardından hızlıca laboratuvara getirilen petriler ISO 17410:2001 standardında belirtildiği üzere 6,5 ^{o}C de 10 gün inkübasyona (Nüve, Türkiye) bırakıldı. İnkübasyon periyodunun tamamlanmasının ardından petrilerde oluşan tüm koloniler sayıldı.

Örneklenen havanın her m^3 ündeki toplam bakteri ve *Pseudomonas* miktarı, cihazın vakumlama volümü ile alakalı olarak aşağıdaki formülle hesaplandı. Çıkan sonuçlar EMS/m^3 olarak değerlendirildi (Biomerieux 2008).

Bakteri Sayısı (EMS/m^3) = a X 1000 / V

a: kob/g olarak sayılan kolonilerin cihazın EMS tablosundaki karşılığı
V: Cihazla çekilen havanın hacmi



Şekil 2.1. Hava örnekleme cihazı (Air ideal)

2.2.4. İstatistiksel Metot

İncelenen özelliklerin geometrik artış gösteren mikroorganizma sayıları olması nedeniyle elde edilen verilerin variyansları çok yüksektir. Bu nedenle verilere non-parametrik testler uygulandı. Saptanan verilerin gruplar arası farklılıkların önemlilik kontrolü Kruskal-Wallis Testi ile % 95 güven aralığı ($P<0,05$) baz alınarak yapıldı. Kruskal-Wallis Testi sonucu önemli bulunan farklılıkların gruplar arası karşılaştırılmaları Mann-Whitney U testi ile yapıldı (Minitab 2005). Gruplar arası farklılıkların gösteriminde harflendirme metodu kullanıldı (İnal 2005).

3. BULGULAR

Kullanılan örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları çizelge 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4' de; identifiye edilen *Pseudomonas* türleri ve yüzde dağılımları çizelge 3.5 ve 3.6' da; soğuk hava depolarından elde edilen sonuçlar ise çizelge 3.7, 3.8 ve 3.9' da gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Et ve et ürünlerindeki Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sonuçlarının minimum, maksimum ve median değerleri (Log_{10} kob/g).

Mikroorganizma	Ürün	N	Min	Max	Median
TAMB					
	Parça Et	16	3,71	7,74	5,76a
	Sucuk	15	3,62	6,89	5,76a
	Sosis	15	3,89	7,64	5,79a
	Kıyma	23	4,34	8,97	7,86c
	Hamburger Köfte	22	5,23	7,72	6,41d
	İnegöl Köfte	15	4,36	7,62	5,89b
Genel Toplam		106			

N: Çalışılan örnek sayısı. a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan median değerler arası farklılıklar önemlidir ($P<0.05$).

Analize alınan et ve et ürünleri ürün grubunda TAMB (Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri) sayısı median değerler bakımından 5,76–7,86 log_{10} kob/g arasında bulunmuş ve istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük median değerlere parça et ve sucuk örneklerinin (5,76 log_{10} kob/g); en yüksek median değere ise kıyma örneklerinin (7,86 log_{10} kob/g) sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Tavuk eti ve ürünlerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri sonuçlarının minimum, maksimum ve median değerleri (log_{10} kob/g).

Mikroorganizma	Ürün	N	Min	Max	Median
TAMB					
	Tavuk But	15	5,38	7,85	6,72
	Tavuk Gögüs	15	4,77	7,74	6,70
	Tavuk Sosis	10	4,46	7,72	6,32
	Tavuk İnegöl K.	10	5,67	7,52	6,65
	Tavuk Burger K.	10	4,68	7,68	6,25
Genel Toplam		60			

N: Çalışılan örnek sayısı.

Analize alınan tavuk eti ve ürünleri ürün grubunda TAMB (Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri) sayısı median değerler bakımından 6,25–6,72 log_{10} kob/g arasında bulunmuştur. İstatistiksel açıdan önemli düzeyde farklılık tespit edilememiştir ($P>0,05$). En düşük median değere tavuk burger köfte örneklerinin (6,25 log_{10}

kob/g); en yüksek median değere ise tavuk but örneklerinin (6,72 $\log_{10}$ kob/g) sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Et ve et ürünlerinde *Pseudomoans spp.* sonuçlarının minimum, maksimum ve median değerleri ($\log_{10}$ kob/g) ile izolat ve identifiye edilen tür sayısı.

Mikroorganizma	Ürün	N	n	i	Min	Max	Median
Pseudomonas spp.							
	Parça Et	16	13	15	< 1	4,70	3,46b
	Sucuk	15	6	8	< 1	3,00	< 1a
	Sosis	15	12	12	< 1	4,69	3,60b
	Kıyma	23	21	24	< 1	6,70	4,89c
	Hamburger Köfte	22	16	18	< 1	5,60	4,69d
	İnegöl Köfte	15	9	9	< 1	4,87	3,18b
Genel Toplam		106	77	86			

N: Çalışılan örnek sayısı. n: İzolat sayısı. i: İdentifiye edilen tür sayısı. <1: Üreme olmadı. a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan median değerler arası farklılıklar önemlidir (P<0.05).

Pseudomonas izolasyonu ve identifikasyonu için analize alınan et ve et ürünleri ürün grubunda sonuçlar ortalama olarak <1 – 4,89 $\log_{10}$ kob/g arasında bulunmuş ve istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük üreme sucukta (<1 $\log_{10}$ kob/g) görülürken; en yüksek üreme düzeyine ise kıyma (4,89 $\log_{10}$ kob/g) örneklerinde rastlanmıştır.

Ayrıca sucukta 2 adette *Serratia liquefaciens* (3,36–3,49 $\log_{10}$ kob/g) identifiye edilmiştir.

Çizelge 3.4. Tavuk eti ve ürünlerinde *Pseudomoans spp.* sonuçlarının minimum, maksimum ve median değerleri ($\log_{10}$ kob/g) ile izolat ve identifiye edilen tür sayısı.

Mikroorganizma	Ürün	N	n	i	Min	Max	Median
Pseudomonas spp.							
	Tavuk But	15	12	14	< 1	4,90	4,32
	Tavuk Gögüs	15	12	16	< 1	4,67	3,60
	Tavuk Sosis	10	8	11	< 1	4,30	3,59
	Tavuk İnegöl K.	10	9	11	< 1	4,72	3,87
	Tavuk Burger K.	10	8	10	< 1	4,90	3,50
Genel Toplam		60	49	62			

N: Çalışılan örnek sayısı. n: İzolat sayısı. i: İdentifiye edilen tür sayısı. <1: Üreme olmadı.

Tavuk eti ve ürünleri grubunda *Pseudomonas spp.* sayılarını belirleme ve identifiye etmeye yönelik yapılan analizlerde sonuçlar median değerler olarak 3,50–4,32 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edilmiştir. En düşük median değere tavuk burger köfte (3,50 $\log_{10}$ kob/g) sahipken; en yüksek değer tavuk but (4,32 $\log_{10}$ kob/g)

örneklerinde saptanmıştır. Sonuçların birbirine yakın çıkması dolayısıyla istatistiki değerlendirmede önemli bir farklılık saptanmamıştır (P>0,05).

Çizelge 3.5. Et ve et ürünlerinden identifiye edilen *Pseudomonas* türleri ve yüzde dağılımları.

Ürün grubu	**i**	***P. luteola***	***P. fluorescens***	***P. oryzihabitans***	***P. aeruginosa***	***Serratia liquefaciens***
Parça Et	15	6 (40,00) *	4 (26,67)	3 (20,00)	2 (13,33)	
Sucuk	8	5 (62,50)			1 (12,50)	2 (25,00)
Sosis	12	12 (100,00)				
Kıyma	24	15 (62,50)	5 (20,83)	4 (16,67)		
Hamburger Köfte	18	11 (61,11)	3 (16,67)	4 (22,22)		
İnegöl Köfte	9	9 (100,00)				
Genel Toplam	86	58 (67,44)	12 (13,95)	11 (12,79)	3 (3,49)	2 (2,33)

*: Türün üründeki % oranı. i: *Pseudomonas spp*. izolat sayısı.

Et ve et ürünlerinde yapılan çalışmalarda toplam 86 adet izolat elde edilmiştir. Bu izolatlardan yapılan biyokimyasal identifikasyon testleri sonucunda 58 adet *P.luteola* (% 67,44), 12 adet *P.fluorescens* (% 13,95), 11 adet *P.oryzihabitans* (% 12,79) ve 3 adet *P.aeruginosa* (% 3,49) identifiye edilmiştir.

Ayrıca bu ürünlerde 2 adette *Serratia Luquefaciens* (% 2,33) saptanmıştır.

Çizelge 3.6. Tavuk eti ve ürünlerinden identifiye edilen *Pseudomonas* türleri ve yüzde dağılımları.

Ürün grubu	**i**	***P. putida***	***P. fluorescens***
Tavuk But	14	5 (35,71)*	9 (64,29)
Tavuk Gögüs	16	6 (37,50)	10 (62,50)
Tavuk Sosis	11	4 (36,36)	7 (63,64)
Tavuk İnegöl K.	11	6 (54,55)	5 (45,45)
Tavuk Burger K.	10	7 (70,00)	3 (30,00)
Genel Toplam	62	28 (45,16)	34 (54,84)

*: Türün üründeki % oranı. i: *Pseudomonas spp*. izolat sayısı.

Tavuk eti ve ürünlerinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda toplam 62 adet izolat elde edilmiştir. Bu izolatların 28 tanesi *P.putida* (% 45,16) ve 34 tanesi de *P.fluorescens* (% 54,84) olarak identifiye edilmiştir.

Çizelge 3.7. Soğuk hava depolarından yapılan örneklemeler sonucunda ortaya çıkan TAMB (EMS/m^3) sonuçları ve ortalama değerleri.

		Sonuçlar[1]						
No	**T (^{o}C)**	**n^1**	**n^2**	**n^3**	**n^4**	**n^5**	**n^6**	**Ortalama**
1	2,9	115	246	104	193	159	131	158
2	6,6	2074	1581	1174	2558	1666	1875	1821
3	3,7	667	626	797	1003	497	610	700
4	6,2	3529	1854	1517	1300	1091	1287	1763
5	5,5	962	806	650	1036	626	541	770
6	3,5	1248	549	684	419	511	406	636

[1]: EMS/m^3 (air IDEAL, 2001). n: Örnekleme sayısı. T: Ortalama depo sıcaklığı.

Soğuk hava depolarından hava örnekleme cihazıyla alınan örneklerin TAMB sonuçları hava örnekleme cihazının okuma tablosuna göre EMS/m^3 olarak değerlendirilmiştir. Buna göre TAMB sonuçları ortalamaları en düşük 158 EMS/m^3; en yüksek ise 1821 EMS/m^3 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.8. Soğuk hava depolarından elde edilen TAPB (Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri) (EMS/m^3) sonuçları ve ortalama değerleri.

		Sonuçlar[1]						
No	**T (^{o}C)**	**n^1**	**n^2**	**n^3**	**n^4**	**n^5**	**n^6**	**Ortalama**
1	2,9	41	82	15	88	56	46	55
2	6,6	468	264	534	634	289	392	430
3	3,7	165	109	246	352	187	153	202
4	6,2	399	333	372	240	199	541	347
5	5,5	333	170	211	193	131	176	202
6	3,5	412	308	270	165	72	228	243

[1]: EMS/m^3 (air IDEAL, 2001). n: Örnekleme sayısı. T: Ortalama depo sıcaklığı.

Soğuk hava depolarından hava örnekleme cihazıyla alınan örneklerin TAPB (Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri) sonuçları hava örnekleme cihazının okuma tablosuna göre EMS/m^3 olarak değerlendirilmiştir. Buna göre TAPB sonuçları ortalamaları en düşük 55 EMS/m^3; en yüksek ise 430 EMS/m^3 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.9. Soğuk hava depolarından yapılan örneklemeler sonucunda ortaya çıkan *Pseudomonas spp.* (EMS/m^3) sonuçları ve identifiye edilen türler.

No	T (^oC)	Sonuçlar[1]					
		n^1	**n^2**	**n^3**	**n^4**	**n^5**	**n^6**
1	2,9	-	-	-	-	-	-
2	6,6	10 (*E.aerogenes)** *5 (P.aeruginosa)*	5 (*P.aeruginosa)*	10 (*P.aeruginosa)*	5 (*P.aeruginosa)*	5 (*P.aeruginosa)*	10 (*P.aeruginosa)*
3	3,7	5 (*P.putida)*	-	-	-	-	-
4	6,2	10 (*P.aeruginosa)*	-	5 (*P.aeruginosa)* *5 (P.fluorescens)*	-	5 (*P.aeruginosa)*	5 (*P.fluorescens)*
5	5,5	-	5 (*P.aeruginosa)*	-	5 (*P.aeruginosa)*	-	5 (*P.aeruginosa)*
6	3,5	-	-	-	-	-	-

[1]: EMS/m^3 (Biomerieux 2001). n: Örnekleme sayısı. - : Üreme görülmedi. *: İdentifiye edilen tür. T: Ortalama depo sıcaklığı.

Soğuk hava depolarından *Pseudomonas* sayım ve identifikasyonu için hava örnekleme cihazıyla yapılan örneklemeler sonucunda 2 depoda hiçbir örneklemede üreme görülmezken, diğer 4 depoda farklı örneklemelerde farklı üremeler görülmüş ve bu örneklemeler sonucunda besiyerlerinde oluşan kolonilerden yapılan identifaksyon sonucu *Pseudomonas* türleri isimlendirilmiştir. Buna göre 2 nolu depoda 5 -10 EMS/m^3 aralığında *P.aeruginosa*'ya rastlarken; 10 EMS/m^3 düzeyinde de *Enterobacter aerogenes* saptanmıştır. 3 nolu depoda 5 EMS/m^3 düzeyinde *P.*putida; 4 nolu depoda 5 -10 EMS/m^3 aralığında *P.aeruginosa* saptanmış ve yine aynı depoda 5 EMS/m^3 düzeyinde *P.fluorescens* tespit edilmiştir. 5 nolu depoda ise farklı örneklemelerde 5 EMS/m^3 düzeyinde *P.aeruginosa* tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada materyal olarak Konya ilinde faaliyet gösteren market, kasap ve diğer et satış noktalarından tedarik edilen parça et, kıyma, sucuk, sosis, hamburger köfte, inegöl köfte, tavuk but ve göğüs eti, tavuk sosis, tavuk burger köfte ve tavuk inegöl köfte örnekleri kullanıldı. Aynı zamanda bu örneklerin depo edildiği ve satıldığı noktalardan hava örnekleri de alınarak analiz edildi. Toplam 166 adet et ve et ürünü analize alındı. Bütün örnekler toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve *Pseudomonas'* lar yönünden incelenerek istatistiksel olarak değerlendirildi. Ayrıca soğuk hava depolarından da toplam 36 örnekleme yapıldı. Bu örneklerde de toplam bakteri (toplam aerobik mezofilik ve toplam aerobik psikrofilik) ve *Pseudomonas* çalışmaları yapıldı.

Karkaslarda ve kıyılmış etlerdeki TAMB sayısı genellikle kesim ve kesim sonrası işlemler sırasındaki sanitasyon uygulamalarının bir göstergesidir. Parça etlerde mikrobiyolojik bozulma genellikle yüzeyde görülmektedir. Bozulmanın belirgin hale gelmesi için yüzeyde 1 cm^2 deki mikroorganizma sayısının 10^6-10^8 düzeylerine çıkması gerekmektedir (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

Canlı tavukların derisinde 1 cm^2 de yaklaşık $1,5x10^3$ adet bakteri mevcuttur. Bu popülasyon içerisinde hayvan derisinin normal florası yanında tüy, toz, toprak ve dışkı kaynaklı organizmalar da mevcuttur. Tavuklarda kesim, haşlama, tüylerin yolunması, yıkama, iç organların çıkartılması gibi işlemler sırasında deri ve vücut boşluğu birçok mikroorganizma ile bulaşmaktadır. Kontaminasyon düzeyi, örneğin tavuğun hangi kısmından ve işlemin hangi aşamasından alındığına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bakteriyel gelişme özellikle deride, karın boşluğunun iç yüzeyinde ve kesim yüzeylerinde meydana gelmektedir. Bakteriyel gelişme sonucu oluşan parçalanma ürünleri yavaş yavaş kas dokularına nüfuz etmekte ve deride 1 cm^2 deki bakteri sayısı yaklaşık 10^7-10^8 düzeylerine çıktığında kötü koku belirginleşmeye başlamakta ve bunu yüzeyde kaygan bir tabakanın oluşması izlemektedir (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

Analize alınan parça et, sucuk, sosis, kıyma, hamburger köfte ve inegöl köfte örneklerinde TAMB sayısı median değerler olarak sırasıyla 5,76; 5,76; 5,79; 7,86; 6,41 ve 5,89 $\log_{10}$ kob/g olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Bu sonuçlardan kıyma

örneklerine ait olanlar Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (2009/6)' ne göre yüksek bulunurken, parça et örneklerine ait olanlar kodeksin belirlediği limitler içerisinde kalmıştır. Ancak sucuk, sosis ve köfte örnekleri açısından TAMB sayısı, kodekste değerlendirmeye tabi tutulacak bir kriter olmadığından bu değerlendirmenin dışında kalmıştır. Sosis sonuçlarının düşük düzeyde bulunmasının sebebi muhtemelen üretim aşamasında ısıl işlem görmesinden kaynaklanmaktadır. Parça et ve sucuk örneklerinde de median TAMB değerlerinin orta seviyede olması sucukta nitrat ve nitrit kullanımından; parça ette ise başlangıç florasının düşük seviyede olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kıyma ve kıymadan elde edilen köftelerde bu sayıların yüksek olması, başlangıç mikroflorasında bulunan mikroorganizmaların etin kıymaya çevrilmesi suretiyle yüzey alanının arttırılmasının ardından kas dokulara daha kolay ve çabuk nüfuz ederek, daha hızlı bir logaritmik çoğalma göstermelerinden kaynaklanabilmektedir. Ayrıca üretim hanelerdeki alet-ekipman temizliği, personel hijyeni gibi unsurlarda TAMB sayısının fazla çıkmasında bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kaymaz (1987) Ankara'da tüketime sunulan çiğ hamburgerlerin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amaçlı yaptığı çalışmada TAMB sayısını $1,3x10^{10}$ kob/g olarak saptamıştır.

Sancak ve ark (1993) Van ilinde kıymaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama $2,1x10^{9}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Güven ve ark (1997) Kars ilinde kıymaların mikrobiyolojik kalitesini belirmeye yönelik yaptıkları çalışmada TAMB sayısını $4,4x10^{6}$ kob/g düzeyinde bulmuşlardır.

Ağaoğlu ve ark (2000) ise Van' da hamburger köfteler üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama $3,8x10^{5}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Soyutemiz (2001) inegöl köfteler üzerine yaptığı bir çalışmada TAMB sayısının 4 ^{o}C' de buzdolabında 7 gün muhafazasında göstermiş olduğu değişiklikler $2,6x10^{7}$ kob/g düzeyinden 7. günde $2,5x10^{5}$ kob/g düzeyine düştüğü bildirilmiştir.

Çetin ve Bostan (2002) hazır köftelerin raf ömrünü uzatma amaçlı yaptıkları deneysel çalışmada kontrol grubundaki köfte örneklerinin TAMB sayısının soğukta depolama boyunca arttığını tespit etmişlerdir. Çalışmada 2. gün (ilk örnekleme) yapılan TAMB sayımı sonucu 6,97 $\log_{10}$ kob/g düzeyindeyken 10. günde (son örnekleme) yapılan sayımda bu değer 9,59 $\log_{10}$ kob/g değerine kadar çıkmıştır.

Elmalı ve Yaman (2005) sığır eti ve köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını sırasıyla $3,4x10^4$ kob/g ve $4,3x10^6$ kob/g olarak saptamışlardır.

Erdoğrul (2005) Kahramanmaraş ilinde koyun etleri üzerine yaptığı çalışmada TAMB sayısını ortalama olarak 5,82; 5,70; 5,83 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde bulmuştur.

Sağun ve ark (2006) Van' da ızgaralık etlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını kuşbaşı et örneklerinde 6,84 $\log_{10}$ kob/g ve köfte örneklerinde 6,51 $\log_{10}$ kob/g olarak saptamışlardır.

Yapar (2006) yaptığı çalışmada kontrol grubundaki parça et örneklerinde TAMB sayısını $5,25x10^5$ – $9,6x10^5$ kob/g aralığında, kıyma örneklerinde ise $1,04x10^6$ – $1,19x10^6$ kob/g aralığında saptamıştır.

Hampikyan ve ark (2008) İstanbul'da ızgaralık et ve et ürünleri üzerine yaptıkları araştırmada ise ızgaralık ette TAMB sayısını $1,2x10^1$ – $2,5x10^4$ aralığında; köfte örneklerinde ise $1,6x10^2$ – $3,8x10^5$ aralığında tespit etmişlerdir.

Narasimha Rao ve Sreenivasamurthy (1985) koyun etlerinde mikrobiyal bulaşma üzerine yaptıkları bir çalışmada, başlangıçta karkastaki TAMB sayısını 5,6 $\log_{10}$ kob/g – 5,8 $\log_{10}$ kob/g arasında olduğunu, aynı örnekten 20 saat sonra yaptıkları sayımda ise sonuçlar 8,0 $\log_{10}$ kob/g – 9,0 $\log_{10}$ kob/g düzeyine çıktığını belirlemişlerdir. Taze koyun etlerinin raf ömrünün 19 saatten daha fazla olmaması gerektiğini bildirmişlerdir.

Nel ve ark (2004) kemik ayırma odasındaki kırmızı etin bakteri populasyonunu araştırdıkları bir çalışmada TAMB sayısını $1,7x10^7$ kob/g düzeyinde bulmuşlardır.

Bu çalışmada elde edilen değerler, Kaymaz (1987) ve Çetin ve Bostan (2002)'ın sonuçlarından düşük; Ağaoğlu ve ark (2000)'nın sonuçlarından ise yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler Soyutemiz (2001)'in sonuçlarıyla uyumludur. Aradaki bu farkın sebebi muhtemelen ürünün hazırlanması sırasında uygulanan üretim prosedürlerinin farklılığından kaynaklanmaktadır.

Araştırmacıların (Sancak ve ark 1993, Güven ve ark 1997, Erdoğrul 2005, Sağun ve ark 2006, Yapar 2006, Hampikyan ve ark 2008, Narasimha Rao ve Sreenivasamurthy 1985, Nel ve ark 2004) kıyma ve parça et üzerine yaptıkları çalışmalarda görülüyor ki sonuçlar kodeksin belirlediği üst sınırda veya daha yüksek olarak bulunmaktadır. Bu sonuçlar tez çalışmamızda saptadığımız TAMB sayılarıyla uyumludur. Ancak görüldüğü üzere et, kıyma ve hazır köfte örnekleri mikrobiyolojik kalite olarak oldukça düşük seviyededir. Bu sonuçlar kesimden itibaren, depolama ve satış noktalarında da hijyen kurallarına uyulmadığı, temizlik ve dezenfeksiyon adına gerekli tedbirlerin alınmadığının göstergesidir.

Sancak ve ark (1996) Van ilinde yaptıkları çalışmada sucuklardaki TAMB düzeyini $3,3x10^8$ olarak belirlemişlerdir.

Çon ve Gökalp (1998) sucuklar üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama olarak 8,72 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Çon ve ark (2002) Afyonkarahisar'da sucukların mikrobiyolojik kalitelerini belirmek üzere yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama $2,9x10^7$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Erdoğrul ve Ergün (2005) Kahramanmaraş ilinde sucukların mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını ortalama olarak $3,2x10^7$ kob/g düzeyinde tespit etmişlerdir.

Özkalp ve ark (2006) Konya ilinde sucukların mikrobiyolojik kaliteleri üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını $1,0x10^7$ kob/g; $6,8x10^6$ kob/g düzeyinde belirlemişlerdir.

Kök ve ark (2007) Aydın ilinde yaptıkları benzer bir çalışmada ise TAMB sonuçlarını 4,20 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde belirlemişlerdir.

Oluwafemi ve Simisaye (2006) Nijerya'da sucuklar üzerine yaptıkları çalışmada TAMB sayısını $2{,}06 \times 10^6$; $2{,}80 \times 10^6$ değerleri arasında bulmuşlardır.

Elde edilen sonuçlar Kök ve ark (2007)'nın sonuçlarından yüksek iken, diğer araştırıcıların (Sancak ve ark 1996, Çon ve Gökalp 1998, Çon ve ark 2002, Erdoğrul ve Ergün 2005, Özkalp ve ark 2006, Oluwafemi ve Simisaye 2006) sonuçlarından düşük seviyede kalmıştır. Bu sonuçlar ışığında geçen süreç içerisinde sucuk üretiminde, kaliteli hammadde kullanıldığı ve asgari hijyen şartlarına uygun üretim yapıldığı düşünülmektedir.

Tezcan ve Tekinşen (1976) Ankara' da EBK (Et ve Balık Kurumu) sosislerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amaçlı yaptıkları çalışmada TAMB sayılarını taze örneklerde $1{,}47 \times 10^2$ kob/g değerinden başlayarak 6 günlük depolamanın sonunda $2{,}25 \times 10^7$ kob/g'a kadar yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlarla sosis ürünlerinin muhafaza süresinin uzamasına dayanıksızlığını ortaya koymuşlardır.

Özdemir (1997), vakum paketlenmiş sosislerde TAMB sayısını ilk gün 3,90 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde bulurken, 60. gün bu değerin sayısal artış göstererek 8,30 $\log_{10}$ kob/g seviyesine çıktığını bildirmiştir.

Elmalı ve ark (2005) Kars ilinde yaptıkları çalışmada vakum paketlenmiş sosislerde TAMB sayısını ortalama olarak $1{,}3 \times 10^4$ kob/g olarak saptamışlardır.

Yapılan araştırmalarda (Tezcan ve Tekinşen 1976, Özdemir 1997, Elmalı ve ark 2005) elde edilen sonuçların bu çalışmayla uyumlu olması sosis örneklerinin ister vakum paketlenmiş, isterse açıkta satılan türden olması mikrobiyal bozulma açısından çokta farklı olmadığını ve kısa süre içerisinde tüketilmesi gerekliliğini göstermiştir. Sosis örnekleri de çalışmada analize alınan parça et ve sucuk örnekleriyle yakın sonuçlarda bulunmuş ve mikrobiyal kalite olarak analize alınan diğer ürünlerden daha üstün seviyede oldukları gözlemlenmiştir. Bu durum sosis üretiminde ısıl işlem uygulanması ve tüketim şeklinin farklı olmasıyla açıklanabilir

Analize alınan tavuk but, tavuk göğüs, tavuk sosis, tavuk burger köfte ve tavuk inegöl köftelerindeki TAMB sayıları (Çizelge 3.2.) median değerler olarak sırasıyla; 6,72 $\log_{10}$ kob/g; 6,70 $\log_{10}$ kob/g; 6,32 $\log_{10}$ kob/g; 6,25 $\log_{10}$ kob/g ve 6,65 $\log_{10}$ kob/g olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar kodeksin belirlediği üst sınır civarındadır. Örneklerden elde edilen bu değerler arasında istatistiki olarak farkın önemsiz ($P>0,05$) olduğu; tavuk but ve göğüs etlerinde kesimhanelerdeki hijyen standartlarına uyulmadığından değerler yüksek ve birbirine yakın çıkmıştır. Ürüne işleme aşamasındaki yetersiz hijyen uygulamaları sebebiylede tavuk burger köfte ve tavuk inegöl köfte örnekleri de yüksek değerlerde ve ürüne işlenmemiş olan tavuk but ve göğüs etlerine yakın değerlerdedirler. Ayrıca ısıl işlem uygulanmış olmasına rağmen yinede TAMB sayısı bakımından diğer çiğ örneklerden farklı sonuçlara sahip olmayan tavuk sosis örneklerinin bu bakteri yoğunluğunda olması da ürünün işleme aşamasından sonraki aşamalarda tekrar bulaşmalar olduğunu göstermektedir. Tavuk sosis örneklerindeki bu bulaşmanın kaynakları, depolamadan itibaren, taşıma ve satış yerlerindeki yetersiz hijyen uygulamalarından kaynaklanabilmektedir.

Tosun ve Tamer (2000) Manisa'da tavuk karkaslarının mikrobiyolojik kalitesini araştırdıkları çalışmada tavuk eti örneklerinin soğutma öncesi ve sonrasındaki TAMB değerlerini sırasıyla 8,54 $\log_{10}$ kob/g ve 8,32 $\log_{10}$ kob/g olarak saptamışlardır.

Coşansu (2004) kontrol grubu olarak kullandığı tavuk but ve göğüs eti örneklerinin depolama süresi boyunca TAMB sayılarını belirlemiş ve 10 günlük depolama boyunca tavuk but ve göğüs etlerinde TAMB sayısı olarak logaritmik bir artış olduğunu ortaya koymuştur. TAMB sayısı tavuk but etlerinde 4,89 $\log_{10}$ kob/cm^2 ile 9,01 $\log_{10}$ kob/cm^2 aralığında; göğüs etlerinde ise 4,38 $\log_{10}$ kob/cm^2 ile 9,04 $\log_{10}$ kob/cm^2 aralığında bulduğunu bildirmektedir.

Efe ve Gümüşsoy (2005) Ankara Garnizonu'nda yaptıkları çalışmada Türk Silahlı Kuvvetleri'nin ihtiyacı için alımı yapılan dondurulmuş ve poşetlenmiş bütün tavuk etlerinden oluşan 50 adet numunenin but, deri ve göğüs kısımlarında mikrobiyolojik kontaminasyon düzeylerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, tavuk but, deri ve göğüs numunelerinde TAMB düzeylerini sırasıyla $3,3x10^5$ $\log_{10}$ kob/g; $3,1x10^5$ $\log_{10}$ kob/g ve $6,3x10^5$ olarak tespit etmişlerdir.

Araştırmada elde edilen veriler, Tosun ve Tamer (2000)'in belirlediği değerlerden düşük; Coşansu (2004) ile Efe ve Gümüşsoy (2005)' un sonuçlarıyla benzer bulunmuştur. Bu farklılık muhtemelen Tosun ve Tamer (2000)' in tüm tavuk karkaslarını değerlendirmeye almalarından, üretim hattındaki hijyen koşullarının yetersizliğinden ve kesimhanenin kuru veya sulu sistem olmasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Salam ve ark (2004) tavuk sosislerde sarımsağın antioksidan ve antimikrobiyal etkisini araştırdıkları çalışmada TAMB sayısını 4,41 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde saptamışlardır.

Andres ve ark (2006) yağ seviyeleri farklı olan tavuk sosislerinin 50 gün soğukta muhafazası sırasında bazı kalite özelliklerinin değişimlerini belirlemişlerdir. Buna göre yağsız sosislerde 50 günün sonunda TAMB sayısı 6,00 $\log_{10}$ kob/g düzeyindeyken, az yağlı olanlarda 5,20 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde, yağlı sosislerde ise 4,50 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde belirlemişlerdir.

Liu ve ark (2009) Taiwan'da soğukta depolanan tavuk sosisleri üzerine yaptıkları çalışmada kontrol gruplarında TAMB sayısını başlangıç yükü olarak 4,20 $\log_{10}$ kob/g, 14 günlük soğukta muhafaza sonunda ise 6,10 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde tespit etmişlerdir.

Bu sonuçların (Salam ve ark 2004, Andres ve ark 2006, Liu ve ark 2009) çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan daha düşük olması, kullandığımız örneklerin 14 günden fazla muhafaza edilmiş olabileceğini, üretim aşamasında uygulanan işlem prosedürlerinin farklı olabileceğini ve tavuk sosislerin üretimi sırasında ısıl işleme tabi tutulduğundan üretimden pazarlamaya kadar olan süreçte yeniden bulaşanlarla karşılaşmış alabileceğini akla getirmektedir.

Ette bozulmaya neden olan saprofit mikroflora, etin depolanma ve paketlenme şekline göre farklılık gösterebilmektedir. Soğukta saklanan etlerde bozulma genellikle *Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Alcaligenes, Flavobcıcieriuın* ve *Alîeromonas (Pseudomonas putrefaciens)* gibi aerobik psikrotrof bakterilerin metabolik aktivitesi sonucu meydana gelmektedir (Ünlütürk ve Turantaş 1998) .

Tavuklarda psikotrofik bakteriler, tüylerden, su kaynaklarından, soğutma tanklarından ve fabrikadaki işleme ekipmanlarından kaynaklanmaktadır. Özellikle ekipmanların gün sonunda temizlenip dezenfekte edilmemesi durumunda üzerinde kalan yağ, et ve kan kalıntıları mikroorganizmaların özellikle *Pseudomonas'*ların çoğalması için iyi bir ortam oluşturur ve bu mikroorganizmalar ertesi gün işlenen ürüne geçebilmektedir (Keskin 2007) .

Pseudomonas izolasyonu için analize alınan et ve et ürünleri ürün grubunda sonuçlar ortalama olarak <1 – 4,89 $\log_{10}$ kob/g arasında bulunmuş ve istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 3.3.). En düşük üreme sucukta (<1 $\log_{10}$ kob/g) görülürken; en yüksek üreme düzeyine ise kıyma (4,89 $\log_{10}$ kob/g) örneklerinde rastlanmıştır. Tavuk eti ve ürünleri grubunda *Pseudomonas spp.* sayılarını belirlemeye yönelik yapılan analizlerde sonuçlar median değerler olarak 3,50 – 4,32 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.). En düşük median değere tavuk burger köfte (3,50 $\log_{10}$ kob/g) sahipken; en yüksek değer tavuk but (4,32 $\log_{10}$ kob/g) örneklerinde saptanmıştır.

Özdemir (1997) vakumla paketlenmiş sosislerde mikrobiyal floranın gelişimini belirlemek amaçlı yaptığı çalışmada kullandığı sosis örneklerinde depolamanın ilk gününden 60. güne kadar *Pseudomonas spp.* sayısında bir artış olmadığını ve sayılarının 2,30 $\log_{10}$ kob/g değerinin altında kaldığını bildirmiştir.

Efe ve Gümüşsoy (2005) Ankara Garnizonu'nda yaptıkları çalışmada Türk Silahlı Kuvvetleri'nin ihtiyacı için alımı yapılan dondurulmuş ve poşetlenmiş bütün tavuk etlerinden oluşan 50 adet numunenin but, deri ve göğüs kısımlarında mikrobiyolojik kontaminasyon düzeylerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, tavuk but, deri ve göğüs numunelerinde *Pseudomonas spp.* düzeylerini ortalama olarak sırasıyla $4,2x10^4$ kob/g (% 98); $4,3x10^4$ kob/g (% 96) ve $4,2x10^4$ kob/g (% 96) olarak belirlemişlerdir.

Elmalı ve Yaman (2005) sığır eti ve köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada ortalama *Pseudomonas* sayılarını ette $9,2x10^3$ kob/g; köftede ise $7,9x10^3$ kob/g olarak bildirmişlerdir.

Elmalı ve ark (2005) Kars'ta tüketilen emülsifiye et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesini araştırdıkları çalışmalarında vakum paketlenmiş salam ve frankfurter tipi sosislerde *Pseudomonas* sayısını $<2,0x10^2$ kob/g olarak bulmuşlar; paketlenmemiş sosis örneklerinde ise *Pseudomonas* sayısını $6,0x10^4$ kob/g düzeyinde saptamışlardır.

Erdoğrul (2005) Kahramanmaraş' ta kemiksiz koyun etlerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için yaptığı çalışmada süpermarket, yerel market ve kasaplardan aldığı örneklerin *Pseudomonas* sayılarını sırasıyla ortalama 4,79 $\log_{10}$ kob/g; 4,83 $\log_{10}$ kob/g ve 4,59 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde belirlemişlerdir.

Sağun ve ark (2006) Van'da ızgaralık etlerin hijyenik kalitesini belirlemek amaçlı yaptıkları çalışmada tavuk but, tavuk göğüs, tavuk kanat, kuşbaşı et ve köfte örneklerindeki *Pseudomonas* sayılarını sırasıyla ortalama olarak 1,73; 1,05; 1,57; 1,81; 1,22 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlemişlerdir.

Samelis ve ark (1998) geleneksel yunan salamının mikrobiyolojik dayanıklılığını belirleme amaçlı yaptıkları çalışmada, 4 farklı grup salam örneği kullanmışlardır. Bu örneklerin başlangıç *Pseudomonas spp.* değerleri ortalama olarak 4,45 $\log_{10}$ kob/g düzeyindeyken 28 günlük fermantasyonun ardından 2,00 $\log_{10}$ kob/g düzeyinin de altına düştüğünü ileri sürmüşlerdir.

Babji ve ark (2000) vakum paketli ve normal ortamda soğutulup saklanan parça keçi etleri üzerine yaptıkları çalışmada *Pseudomonas spp.* sayılarını sırasıyla 7,6 $\log_{10}$ kob/g ve 9,0 $\log_{10}$ kob/g olarak saptamışlardır.

Geornaras ve Holy (2000) tavuk ürünlerinin işlenmesi esnasında farklı zamanlarda yaptıkları örneklemeler ışığında *Pseudomonas* sayılarını tüy yolmadan sonra 3,30 $\log_{10}$ kob/g, kesim öncesi 3,80 $\log_{10}$ kob/g, kesim sonrası 3,80 $\log_{10}$ kob/g, sprey yıkama sonrası 3,60 $\log_{10}$ kob/g, soğutma işlemi sonrası 3,90 $\log_{10}$ kob/g ve paketleme sonrasında ise 5,00 $\log_{10}$ kob/g olarak bildirmişlerdir.

Nel ve ark (2004) yüksek kapasiteli bir mezbahanın kemik ayırma odasındaki kırmızı etin bakteriyel yükünü araştırdıkları çalışmalarında *Pseudomonas spp.* sayısının $1,7x10^5$ kob/g düzeyinde olduğunu ifade etmişlerdir.

Charles ve ark (2006) farklı paketleme metotlarının tavuk göğüs etlerinin mikroflorasına olan etkisini araştırdıkları çalışmada *Pseudomonas* sayılarını başlangıçta en düşük 3,50 $\log_{10}$ kob/g, 1 ^{o}C de 8 günlük depolamanın sonunda en yüksek 9,25 $\log_{10}$ kob/g olarak gözlemlemişlerdir.

Talon ve ark (2007) geleneksel fermente sucukların mikrofloralarını belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada soğuk depolarda 1,5 $\log_{10}$ kob/cm^2; fermente sucuklarda ise 1,5 $\log_{10}$ kob/g ile 5,2 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlemişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen veriler bazı araştırmacıların (Geornaras ve Holy 2000, Charles ve ark 2006, Efe ve Gümüşsoy 2005) sonuçlarıyla benzerlik gösterirken; Sağun ve ark (2006) ile Elmalı ve Yaman (2005)'ın sonuçlarından daha yüksek; birçok araştırmacının (Nel ve ark 2004, Erdoğrul 2005, Elmalı ve ark 2005, Babji ve ark 2000, Talon ve ark 2007) elde ettiği sonuçlardan da daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu farklılıklar muhtemelen, bölgesel üretim prosesleri arasındaki değişik uygulamalardan, işletme ve hammaddelerin hijyen standartlarının farklı olmasından ve üretimden tüketiciye ulaşıncaya kadarki aşamalarda hijyen kurallarının uygulanıp uygulanmadığı gibi nedenlerden kaynaklanabilir.

Et ve et ürünlerinde yapılan çalışmalarda toplam 86 adet izolat elde edilmiştir (Çizelge 3.5.). Bu izolatlardan yapılan biyokimyasal identifikasyon testleri sonucunda 58 adet *P.luteola* (% 67,44), 12 adet *P.fluorescens* (% 13,95), 11 adet *P.oryzihabitans* (% 12,79) ve 3 adet *P.aeruginosa* (% 3,49) identifiye edilmiştir. Tavuk eti ve ürünlerinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda toplam 62 adet izolat elde edilmiştir (Çizelge 3.6.). Bu izolatların 28 tanesi *P.putida* (% 45,16) ve 34 tanesi de *P.fluorescens* (% 54,84) olduğu belirlenmiştir.

Shaw ve Latty (1982) aerobik şartlarda bozulmuş sığır ve domuz etlerinden izole ettikleri 110 *Pseudomonas* türünün 13 tanesini tanımlamışlardır. Bu türler; *P.aeruginosa, P. putida, P.fluorescens (biotype A), P.chlororaphis (P.fluorescens biotype D), P.aureofaciens (P.fluorescens biotype E), P.stutzeri, P.mendocina, P.pseudoalcaligenes, P.acidovorans, P.maltophilia, P.fragi, P.taetrolens, P.perolens* olarak belirlenmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar, vakum paketli sığır eti örneklerinden 1 adette *Serratia luquefaciens* türü saptamışlardır.

Champomier-Verges ve Richard (1994) et orijinli *Pseudomonas'* ların birbirleri üzerindeki baskılayıcı özelliklerini araştırdıkları çalışmada izole ettikleri 750 türden 450'sini taze etten (sığır, domuz, balık ve tavuk) saptadıklarını ve etteki en büyük bozulma kaynaklarından birinin *Pseudomonas* türleri olduğunu bildirmişlerdir.

Arnout-Rollier ve ark (1999) tavuk etlerinden izole ettiği *Pseudomonas*' ların sayısal bir sınıflandırmasını yaptığı çalışmada 4 önemli türün öne çıktığını bildirmiştir. Bunların; *P. fragi, P. lundensis, P. fluorescens* biovarlarına ait bir suş ve *P.fluorescens* biovarlarına yüksek derecede benzerlik gösteren ancak tanımlanamayan bir suş olduğunu bildirmişlerdir.

Bu araştırmada tavuk eti ürünlerinden izole edilen türler *P.putida* ve *P.fluorescens'* dir. Bu türlerden *P.putida* Arnout-Rollier ve ark (1999)'nın tavuk etlerinde elde ettiği *Pseudomonas* türlerinde bulunmazken; *P.fluorescens* çalışmamızda da saptanmıştır. Shaw ve Latty (1982)'nin identifiye ettikleri türlerden farklı olarak çalışmamızda *P.luteola* ve *P.orzihabitans* türleri saptanmıştır. Çalışmalarda identifiye edilen türlerin farklı olması bölgesel farklılıklardan ve bulaşma kaynaklarındaki olası farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca *Pseudomonas* cinsinin her yerde bulunabilen türlerden oluşan bir familya olması da bu durumu açıklayabilir. *Serratia luquefaciens* çalışmamızda da sucuk örneklerinde saptanmıştır. Bu türde gıdalarda bozulmaya sebebiyet verdiğinden ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ürünlerin mikrobiyolojik floralarının bu denli yüksek seviyeli olması hijyen standartlarının ne denli gerekli ve önemli olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle gıda maddelerinin üretiminden tüketiciye ulaştırılana dek her aşamada kontrolünün sağlanması ve HACCP prensiplerinin uygulanmasının gerekli olduğu kanısına varılmıştır.

Soğuk depolardan elde ettiğimiz sonuçlara bakıldığında (Çizelge 3.7., Çizelge 3.8. ve Çizelge 3.9.) 1 numaralı depoda ortam havasındaki ortalama TAMB sayısı 158 EMS/m^3 iken, TAPB sayısı ortalama olarak 55 EMS/m^3 olarak saptanmış ve bu değer çalışmaya konu olan depolardaki TAPB sayısı olarak en düşük seviyededir. Bu depoda *Pseudomonas spp.'*ye de rastlanmamıştır. Örneklemenin yapıldığı 1 numaralı depodan elde edilen bu sonuçlar bu depoda asgari hijyen şartlarına uyulduğu kanısını

uyandırmıştır. Aynı şekilde *Pseudomonas spp.'* ye rastlanmayan bir diğer depo da 6 numaralı depodur. Bu depoda da sonuçlar TAMB sayısı olarak 636 EMS/m^3 düzeyindeyken, TAPB sayısı ise 243 EMS/m^3 seviyesinde saptanmıştır.

Hava örneklemenin yapıldığı 2 numaralı depoda yapılan çalışmada ortalama olarak TAMB ve TAPB sonuçları diğer depolarla kıyaslandığında en yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. TAMB sayısı 1821 EMS/m^3 ve TAPB sayısı ise 430 EMS/m^3 olarak belirlenmiştir. Toplam psikrofil sayısındaki bu fazlalığa bağlı olarak ortam havasında *Pseudomonas* türlerine her örneklemede rastlanmış ve ayrıca *Enterobacter aerogenes* adında bir türde identifiye edilmiştir. 5 – 10 EMS/m^3 aralığında *P.aeruginosa* türü identifiye edilmiştir. "*P.aeruginosa* ağır seyirli hastane enfeksiyonları, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda hayatı tehdit eden enfeksiyonlar, kistik fibroz hastalarında kronik enfeksiyonlar oluşturan fırsatçı patojen bir bakteri" (Karatuna ve Yağcı 2008) olduğundan elde edilen bu verilerin insan sağlığının korunması açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Çizelge 1.2.'de bahsedilen enfeksiyonlar bu türün önemini gözler önüne sermektedir.

Diğer depolarda TAMB ve TAPB sayıları daha düşük düzeyde saptanırken, *P.aeruginosa* 4 ve 5 numaralı depolarda da saptanmıştır. Ancak farklı olarak 4 numaralı depoda *P.fluorescens* ve 3 numaralı depoda da yalnızca bir örneklemede *P.putida* saptanmıştır. *P. fluorescens* ve *P.putida* da *P.aeruginosa* gibi fırsatçı patojen türlerdendir ve klinik olarak birçok vakadan izole edilmişlerdir (Sutter 1968). Soğuk depolardan izole edilen türlerin fırsatçı patojen olmaları, bu depolarda bekletilip halkın tüketimine sunulan ürünlerin halk sağlığını tehdit edecek durumda olduklarını düşündürmektedir. İzole edilen türlerin halk sağlığını tehdit eden ve ürünlerde bozulmaya neden olan türler olması, ekonomik kayıplara neden olmakla beraber, soğuk depoların hijyen standartlarının düşüklüğünün de bir göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak;

Analize alınan ürünlerin hemen hepsinde tespit edilen toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının yüksek olması, *Pseudomonas spp.*'nin analiz materyallerinin tamamına yakınından izole edilebilmesi ayrıca et ve ürünlerinin depolandığı soğuk hava depolarının ikisi hariç diğerlerinde de *Pseudomonas* türlerinin saptanması, üretim, parçalama, paketleme, nakliye, depolama ve satış aşamalarında gerekli hijyenik tedbirlerin yeterli düzeyde sağlanamadığını, özellikle kontrolsüz üretim ve satış yapan küçük işletmelerde halk sağlığı açısından riskin daha da fazla olduğunu göstermektedir.

Bu araştırmanın sonuçları bir arada değerlendirildiğinde tüketime sunulan et, et ürünleri, tavuk eti ve ürünleri ile bu ürünlerin satış aşamasında depolandığı soğuk depoların mikroflorasının istenilen düzeyde olmadığı, halkın sağlığını tehdit edebilen fırsatçı patojenleri içerdiği görülmektedir. Bu bağlamda et ve et ürünleri ile ilgili üretim, satış ve depolama yerlerinde de HACCP'in uygulanabilir hale getirilmesi, gerekli eğitimlerin en kısa sürede verilmesi, kontrol ve denetim işlemlerinin de daha etkin hale getirilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Et ve Bazı Et Ürünleri ile Soğuk Hava Depolarında *Pseudomonas* türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

İbrahim Mustafa AKAN
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman
Prof.Dr. Ümit GÜRBÜZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA 2009

Bu çalışmada materyal olarak Konya ilinde faaliyet gösteren kasap ve marketlerden sağlanan parça et, kıyma, sosis, tavuk but, tavuk göğüs, hamburger köfte, inegöl köfte, sucuk, tavuk sosis, tavuk hamburger ve tavuk inegöl köfte kullanıldı. Toplam 166 adet et ve et ürünü analize alındı. Örneklerde *Pseudomonas* izolasyon ve idnetifikasyonu ile toplam bakteri sayımları yapıldı. Ayrıca Konya ilinde faaliyet gösteren 6 adet süpermarket, kasap ve mezbahanın soğuk hava depolarından hava örnekleme yapıldı. Toplam 36 örnekte de, *Pseudomonas* izolasyon ve identifikasyonu ile toplam psikrofilik aeorbik ve toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları yapıldı. Çalışma protokolü S.Ü. Veteriner Fakültesi etik kurulu tarafından onaylandı.

Parça et, kıyma, sosis, tavuk but, tavuk göğüs, hamburger köfte, inegöl köfte, sucuk, tavuk sosis, tavuk hamburger ve tavuk İnegöl köfte örneklerinde TAMB sayıları median olarak sırasıyla 5,76; 7,86; 5,79; 6,72; 6,70; 6,41; 5,89; 5,76; 6,32; 6,25 ve 6,65 $\log_{10}$ kob/g düzeylerinde belirlendi. Aynı sırayla *Pseudomonas spp.* sayıları ise median olarak 3,46; 4,89; 3,60; 4,32; 3,60; 4,69; 3,18; <1; 3,59; 3,50 ve 3,87 $\log_{10}$ kob/g düzeylerinde saptandı. Kırmızı et ve ürünleri grubunda identifiye edilen türler %67,44 *P.luteola*, %13,95 *P.fluorescens*, %12,79 *P.oryzihabitans* ve %3,49 *P.aeruginosa* olarak belirlenmiştir. Tavuk eti ve ürünlerinde ise %54,84 *P.fluorescens* ve %45,16 *P.putida* saptanmıştır. Soğuk hava depolarında yapılan 6'şar örnekleme sonucunda TAMB sayıları ortalama olarak 158; 1821; 700; 1763; 770 ve 636 EMS/m^3 olarak belirlenmiştir. Aynı depolarda TAPB sayıları ise 55; 430; 202; 347; 202 ve 243 EMS/m^3 olarak belirlenmiştir. 2 depoda *Pseudomonas spp*. üremesi görülmezken, diğer 4'ünde üreme saptanmıştır. Depolardan identifiye edilen *Pseudomonas* türleri ise *P.aeruginosa, P.fluorescens* ve *P.putida'* dır.

Sonuç olarak, analize alınan ürünlerde tespit edilen toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının yüksek olması, *Pseudomonas spp.*'nin analiz materyallerinin çoğundandan izole edilebilmesi ayrıca et ve ürünlerinin depolandığı soğuk hava depolarının ikisi hariç diğerlerinde de *Pseudomonas* türlerinin saptanması, üretim, parçalama, paketleme, nakliye, depolama ve satış aşamalarında gerekli hijyenik tedbirlerin yeterli düzeyde sağlanamadığını, özellikle kontrolsüz üretim ve satış yapan küçük işletmelerde halk sağlığı açısından riskin daha da fazla olduğu kanaatini doğurmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Et ve et ürünleri; *Pseudomonas*; Soğuk hava deposu; Mikrobiyolojik kalite.

7. SUMMARY

SELCUK UNIVERSITY

HEALTHY SCIENCE INSTITUE

Isolation and Identification of *Pseudomonas species* in Meat and Meat Products and Cold Storage Depots

İbrahim Mustafa AKAN

Food Hygiene and Technology Science

Advisor

Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ

In this study, totally 166 meat and meat products's samples including boneless meat, minced meat, sausage, chicken tight, chicken breast, hamburger, Inegol meat ball, traditional Turkish sausage, chicken sausage, chicken burger and chicken Inegol meat ball obtained from butchers and markets in Konya region used as material. *Pseudomonas* isolation and identification from samples and total bacteria counts from samples were performed. In adition air sampling were performed from cold storage depots of supermarkets, butchers and abattoirs in Konya region. Totally 36 air samples from six different cold storage depots were analyzed for *Pseudomonas*, total mesophilic bacteria and total psychrophilic bacteria. The research protocol was approved by Ethic Committee of Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University.

Median values of total mesophilic bacteria counts from samples were determined as 5,76; 7,86; 5,79; 6,72; 6,70; 6,41; 5,89; 5,76; 6,32; 6,25 and 6,65 $\log_{10}$ cfu/g for boneless meat, minced meat, sausage, chicken tight, chicken breast, hamburger, Inegol meat ball, traditional Turkish sausage, chicken sausage, chicken burger and chicken Inegol meat ball respectively. Median values of *Pseudomonas* counts from samples were determined as 3,46; 4,89; 3,60; 4,32; 3,60; 4,69; 3,18; <1; 3,59; 3,50 and 3,87 $\log_{10}$ cfu/g for boneless meat, minced meat, sausage, chicken tight, chicken breast, hamburger, Inegol meat ball, traditional Turkish sausage, chicken sausage, chicken burger and chicken Inegol meat ball respectively. The identified specifies from red meat and red meat products were established as *P.luteola* (%67,44); *P.fluorescens* (%13,95*)*; *P.oryzihabitans* (%12,79) and *P.aeruginosa* (%3.49).The identified specifies from chicken meat and chicken meat products were established as *P.fluorescens* (%54,84) and *P.putida* (%45,16). According to results of air sampling total mesophilic bacteria counts of cold storage depots were calculated as 158; 1821; 700; 1763; 770 and 636 MPN/m^3 and total psychrophilic bacteria counts of cold storage depots were calculated as 55; 430; 202; 347; 202 and 243 MPN/m^3. *Pseudomonas* strains isolated from four cold storage depots were identified as *P.aeruginosa, P.fluorescens* and *P.putida.*

In conclusion, high total bacteria counts in all samples, presence of *Pseudomonas* in majority of sample and isolation of *Pseudomonas* in four cold storage depots indicates pour hygiene practices in production, packaging, transport, storage and marketing of meat and meat products. This results also indicates especially uncontrolled production and marketing in small sized enterprises are high risk for public health.

Key words: Meat and meat products, *Pseudomonas*, Cold storage depots, Microbiological quality.

8. KAYNAKLAR

1.Ağaoğlu S, Alişarlı M ve Alemdar S. Hamburger ve Piliçburgerlerin Mikrobiyolojik Kalitesi. YYÜ Veteriner Fak Derg. 2000; 11(1): 40-43.

2.Alişarlı M, Solmaz H ve Akaya L Süt ineklerinde meme başı derilerinin bazı mikroorganizmalar ve çiğ sütlerinin de mikrobiyolojik kalite yönünden incelenmesi. YYÜ Veteriner Fak Derg. 2003; 14(1):35-39.

3.Andres SC, Garcıa ME, Zaritzky NE ve Califano AN. Storage stability of low-fat chicken sausages. Journal of Food Engineering. 2006; 72, 311–19

4.Arnaut-Rollier I, Vauterin L,DeVos P, Massart DL, Devriese LA, De Zutter L ve Van Hoof J. A numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat, Journal of Applied Microbiology 1999; 87, 15–28.

5.Arpigny JL ve Jaeger KE. Bacterial Lipolitic Enzymes: Classification and Properties. Biochem J. 1999; 343: 177-83.

6.Babji Y, Murthy TRK ve Anjaneyulu ASR. Microbial and sensory quality changes in refrigerated minced goat meat stored under vacuum and in air. Small Ruminant Research. 2000; 36, 75-84.

7.Baumann L, Baumann P, Mandel M ve Allen RD. Taxonomy of Aerobik Marine Eubacteria. J Bacteriol. 1972; 110(1): 402-29.

8.Bekar M. Gram Negatif Mikroorganizmalar Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. Etlik Veteriner Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yayınları. 2003/2, Ankara.

9.Biomerieux, air IDEAL Reading Tables. Ref: 96310, version A, Marcy l'Etoile, France, 01/2001

10.Biomerieux, Vitek 2 technology. Online Software User Manual, 510773-3EN1, Marcy l'Etoile, France, 05/2006.

11.Biomerieux, air IDEAL®3P. User's Manual, Part 1, REF 96307, Version : E, Marcy l'Etoile, France, 03/2008

12.Carson LA, Favero MS, Bond WW ve Petersen NJ. Morphological, Biochemical and Growth Characteristics of *Pseudomonas cepacia* from Distilled Water. Appl. Microbiol. 1973; 25(3): 476-83.

13.Champomier-Verges M-C ve Richard J. Antibacterial activity among Pseudornonas strains of meat origin. Letters in Applied Microbiology. 1994; 18, 18-20.

14.Charles N, Williams SK ve Rodrick GE. Effects of Packaging Systems on the Natural Microflora and Acceptability of Chicken Breast Meat. Poultry Science. 2006; 85:1798–801

15.Coşansu S. Laktik Asit Ve Asetik Asit Kullanımının Tavuk Etlerinde Bazı Patojenler Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Ankara, 2004.

16.Cowan ST, Holt JG, Liston J, Murray RGE, Niven CF, Ravin AW ve Stanier RY. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. (co-eds.), 8th ed., The Williams and Wilkins Company. Baltimore, London, 1974; Part 7, p217-43.

17.Çetin B ve Bostan K. Hazır Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Raf Ömrü Üzerine Sodyum Laktatın Etkisi. Turk J Vet Anim Sci. 2002; 26, 843-48

18.Çon AH ve Gökalp HY. Türkiye Pazarındaki Sucukların Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Nitelikleri. Gıda. 1998; 23(5): 347-55.

19.Çon AH, Doğu M ve Gökalp HY. Afyon'da Büyük Kapasiteli Et İşletmelerinde Üretilen Sucuk Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Periyodik Olarak Belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci. 2002; 26, 11-16.

20.Delden CV ve Iglewski BH. Cell-to-Cell Signaling and *Pseudomonas aeruginosa* Infections. Emerging Infectious Diseases. October-December 1998; Vol. 4, No. 4, P. 551-60.

21.Doğan HB ve Tükel Ç. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Sim Matbaası, Ankara, 2000; 522 s 10. Bölüm.

22.Efe M ve Gümüşsoy KS. Ankara Garnizonunda Tüketime Sunulan Tavuk etlerinin Mikrobiyolojik Analizi. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2005; 14(3): 151-57.

23.Elmalı M ve Yaman H. Microbiological Quality of Raw Meat Balls: Produced and Sold in the Eastern of Turkey. Pakistan Journal of Nutrition. 2005; 4 (4): 197-201.

24.Elmalı M, Ulukanlı Z ve Yaman H. Kars'da Satışa Sunulan Emülsifiye Tipi Et Ürünlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2005; 2(1) 15-21.

25.Erdoğrul Ö ve Ergün Ö. Kahramanmaraş piyasasında tüketilen sucukların bazı fiziksel, kimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik özellikleri. İÜ Veteriner Fakültesi Dergisi. 2005; 31(1): 55-65.

26.Erdoğrul Ö. Microbiological Properties of Boneless Sheep Meat in Kahramanmaraş. Turk J Vet Anim Sci. 2005; 29, 145-50.

27.Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara, 2007.

28.FDA. US Food and Drug Administration. Center for Food Safety&Aplied Nutrition, Bacteriological Analytical Manual, January 2001

29.Geornaras I ve Holy AV. Bacterial counts associated with poultry processing at different sampling times. J Basic Microbiol. 2000; 40, 5–6, 343–49.

30.Gürbüz Ü. Mezbaha Bilgisi ve Pratik Et Muayenesi. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, Nisan 2009. Sayfa:1-3.

31.Güven A, Gülmez M ve Kamber U. Kars İlinde Tüketime Sunulan Kıymalarda Bazı Patojen Mikroorganizmaların Araştırılması ve Kıymaların Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi. Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 1997; Cilt:3 Sayı:1 Sayfa:57-65.

32.Halkman AK. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık, Ankara, 2005.

33.Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H ve Akhan M. İstanbul'da Tüketime Sunulan Bazı Izgara Tipi Gıdalar ile Salata ve Mezelerin Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2008; 38 (2) : 87-94.

34.Hancock REW ve Speert DP. Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and Impact on Treatment. Drug Resist Update. 2000; 3: 247-255.

35.Hassen A, Saidi N, Cherif M ve Boudabous A. Effects of Heavy Metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. Bioresource Technology. 1998; 65: 73-82.

36.Hoshino T, Ishizaki K, Sakamoto T, Kumeta H, Yumoto I, Matsuyami H ve Ohgiya S. Isolation of a *Pseudomonas* Species from Fish Intestine that Produces a Protease Active at Low Temperature. Letters in Applied Microbiology. 1997, 25: 70-72.

37.ISO, International Standart 17410:2001, Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. Cenevre, 2001.

38.İnal Ş. "Biyometri" S.Ü. Vet. Fak. Basım Ünitesi. Konya, 2005.

39.İnal T. Süt Ve Süt Ürünleri Hijyen Ve Teknolojisi. Final Ofset, İstanbul 1990.

40.İnal T. Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset, Genişletilmiş 2. baskı, İstanbul, 1992.

41.Kanner D, Gerber NN ve Bartha R. Pattern of Phenazine Pigment Production by a Strain of *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. 1978; 134(2): 690-92.

42.Karatuna O ve Yağcı A. *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörleri ve quorum sensing. Mikrobiyol Cem Derg. 2008; 38 (1):42-51.

43.Kaymaz Ş. Ankara'da tüketime sunulan hamburgerlerde halk sağlığı yönünden önemli bazı bakterilerin saptanması. AÜ Veteriner Fakültesi Dergisi. 1987; 34, 577-93.

44.Keskin D. *Pseudomonas* Türlerinin Gıdalardaki Önemi. Çukurova Ü. Tıp Fak. ARŞİV Kaynak Tarama Dergisi. 2007; Sayı 3 Cilt16: Sayfa 185

45.Keskin D ve Ekmekçi S. *Pseudomonas* türlerinin gıdalardan izolasyon ve tanımlanmasında kullanılan besiyerleri. Mikrobiyoloji Dergisi. 2003; 1(8): 29-33.

46.Kök F, Özbey G ve Muz A. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2007; Cilt 21, Sayı 6, Sayfa 249-52.

47.Liu D-C, Tsau R-T, Lin Y-C, Jan S-S ve Tan F-J. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. Food Chemistry. 2009; 117, 106–13.

48.mikrobiyoloji.org, *Pseudomonas.* http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/943104100.pdf , Erişim Tarihi: 01.01.2009.

49.Minitab 2005, MINITAB® Release 14.20. Statistical Software. Minitab Inc. 2005.

50.Narasimha Rao D ve Sreenivasamurthy V. A Note On Micobial Spolaige Of Sheep Meat At Ambient Temperature. Journal of Applied Bacteriology. 1985; 58, 457-460.

51.Nel S, Lues JFR, Buys EM ve Venter P. Bacterial Populations Associated With Meat From The Deboning Room Of A High Troughput Red Meat Abattoir. Meat Science. 2004; 66, 667-74.

52.Nortje GL, Nel L, Jordaan E, Badenhorst K, Goedhart E ve Holzapfel WH. The aerobic psychrotrophic populations on meat and meat contact surfaces in a meat production system and on meat stored at chill temperatures. Journal of Applied Bacteriology. 1990; 68, 335-44.

53.Ok Anadut F ve Gümüşsoy KS. Kayseride Tüketime Sunulan Kanatlı Etlerinden Arcobacter spp.' nin İzolasyonu. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences). 2005; 14(2) 125-31.

54.Oluwafemi F ve Simisaye MT. Extent of Microbial Contamination of Sausages sold in two Nigerian cities. African Journal of Biomedical Research. Vol. 9, 2006; 133 – 36.

55.Öneş Ü. Çocuk ve Erişkinlerde *Pseudomonas* İnfeksiyonları ve Tedavileri. Klinik Derg. 1989; Cilt:2 Sayı:2, s:110-13.

56.Özdemir H. Vakumla Paketlenmiş Sosislerde Mikrobiyel Floranın Gelişimi. AÜ Vet Fak Derg. 1997; 44, 127-36.

57.Özkalp B, Aladağ MO ve Çelik B. The Investigation Of Some Microbiologic Charactheristics Of Branded And Non-Branded Sausages Consumed In Konya, Turkey. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2006; 20 (40), 117-20.

58.Öztoprak N, Çelebi G, Bayar A ve Beğendik Cömert F. Travma sonrasında *Pseudomonas putida*'nın etken olduğu tibial osteomiyelit. Eklem Hastalıkları ve Cerrahisi - Joint Dis Rel Surg. 2008; 19(1): 41-44.

59.Sağun E, İşleyici Ö, Sancak YC ve Alişarlı M. Van'da Satışa Sunulan Izgaralık Etlerin Hijyenik Kalitesi. YYÜ Sağ Bil Derg. 2006; Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 47-54.

60.Sallam KhI, Ishioroshib M ve Samejima K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 2004; 37, 849–55.

61.Samelis J, Metaxopoulos J, Vlassi M ve Pappa A. Stability and safety of traditional Greek salami — a microbiological ecology study. International Journal of Food Microbiology. 1998; 44, 69–82.

62.Sancak YC, Boynukara B ve Ağaoğşu S. Van'da Tüketime Sunulan Kıymaların Mikrobiyolojik Kalitesi. YYÜ Vet Fak Derg. 1993; 4(1-2) 73-86.

63.Sancak YC, Kayaardı S, Sağun E, İşleyici Ö ve Sancak H. Van Piyasasında Tüketime Sunulan Fermente Türk Sucuklarının Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Niteliklerinin İncelenmesi. YYÜ Vet Fak Derg. 1996; 7(1-2): 67-73.

64.Shaw BG ve Latty JB. A numerical taxonomic study of *Pseudomonas* strains from spoiled meat. Journal of Applied Bacteriology. 1982; 52, 219-228.

65.Soyutemiz E. İnegöl Köftelerin 4 °C'de Buzdolabında Muhafaza İşleminin *Listeria monocytogenes*'in Yaşamı Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2001; 27(1),115-26.

66.Sutter VL. Identification of *Pseudomonas* Species Isolated from Hospital Environment and Human Sources. Appleid Microbiology. Oct. 1968; p. 1532-38.

67.Şen A ve Halkman AK. Çiğ Sütte *Pseudomonas aeruginosa* Sayılması için Yöntem Modifikasyonları Üzerine Çalışmalar. Mikrobiyoloji Dergisi. 2006; 4(02): 2-13.

68.Talon R, Lebert I, Lebert A, Leroy S, Garriga M, Aymerich T, Drosinos EH, Zanardi E, Ianieri A, Fraqueza MJ, Patarata L ve Laukova A. Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1: Microbial ecosystems of processing environments. Meat Science. 2007; 77, 570–79.

69.Talon R, Leroy S ve Lebert I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. Meat Science. 2007; 77, 55–62.

70.Tezcan İ ve Tekinşen OC. Et Balık Kurumu (Ankara Et Kombinası) Sosislerinin Bakteriyel Kalitesi Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi. 1976; Cilt: 23 Sayı: 1.2 Sayfa: 121-28.

71.Tosun H ve Tamer AÜ. Soğutma İşleminin Kanatlı Karkasının Mikrobiyal Kalitesine Etkisi ile Laktik Asitle Yüzey Dekontaminasyonu Üzerine Araştırmalar. Turk J Vet Anim Sci. 2000; 24, 517-21.

72.TSE, Türk Standardı, Et ve et ürünleri-*Pseudomonas* spp. Sayımı, TS ISO 13720, Ankara, 1997.

73.Tünger A, Çavuşoğlu C ve Korkmaz M. Mikrobiyoloji 2000. Asya Tıp Yayıncılık, İzmir, 2000.

74.Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Tebliğ No: 2009/6, Resmi Gazete: 06.02.2009-27133

75.Ünlütürk A ve Turantaş F. Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir, 1998.

76.Vachee A, Mossel DAA ve Leclerc H. Antimicrobial Activity Among *Pseudomonas* and Related Strains of Mineral Water Origin. J Appl Microbiol. 1997; 83: 652-658.

77.Whitfield FB. Microbiology of food taints. International Journal of Food Science and Technology 1998; 33, 31–51

78.Yıldırım Y. Et Endüstrisi. 3.Baskı, Yıldırım Basımevi, Ankara, 1992; Sayfa: 209-11; Sayfa:227-29.

79.Yapar F. Parça Et ve Kıymalarda Erik Ekşisi, Nar Ekşisi ve Limon Tuzunun Antibakteriyal Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2006.

10.ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Manisa'da doğdu. İlköğrenimini Ankara'da tamamlandı. Lise öğrenimini 1997 yılında Ankara Laborant Meslek Lisesinde tamamladı. 1998 yılında girdiği Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2006 yılında mezun oldu. 2007 yılında başladığı yüksek lisans eğitimi halen Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Vet) ABD'nda devam etmektedir.

1998 yılında Etlik Veteriner Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde Laborant olarak göreve başladı. 2000 – 2004 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesinde Laborant olarak görev yaptıktan sonra, 2004 yılında Konya İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü emrine atandı. Halen aynı kurumda Veteriner Hekim olarak görev yapan Akan evli ve 1 kız çocuk babasıdır.