

İSTANBUL PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN TÜRK TİPİ BEYAZ VE KAŞAR PEYNİRLERİNDE YERSİNİA ENTEROCOLİTİCA'NIN VARLIĞI*

Dr. Emrullah SAĞUN*, Dr. Özen ERGUN**

* Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

** İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada İstanbul piyasasında toplanan 84'ü taze kaşar, 44'ü eski kaşar ve 41'i de salamura beyaz peynir olmak üzere toplam 169 adet peynir örneği *Yersinia enterocolitica*'nın varlığı yönünden incelenmiştir. CIN ve MacConkey Agar'da üreyen şüpheli kolonilerin kesin teşhisi için, çok sayıda biyokimyasal testler uygulanmıştır. Sonuçta 4 taze kaşar, 2 eski kaşar ve 1 adet de beyaz peynir örneğinde olmak üzere toplam 7 peynir örneğinden *Y. enterocolitica* izole edilmiştir.

Biyotip tayinlerinde; 7 şuştan ikisi biyotip 1, 3'ü biyotip 3, 1'i de biyotip 5 olarak tesbit edilirken 1 suş da atipik olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Yersinia enterocolitica*, beyaz peynir, kaşar peyniri

SUMMARY

Presence of Yersinia enterocolitica in Turkish Style White and Kaşar (Kosher) Cheese Consumed in İstanbul Market

In this study, 84 unripened Kaşar (Kosher), 44 ripened Kaşar (Kosher) and 41 pickled white cheese, totaly 169 cheese samples has been examined for the presence of *Yersinia enterocolitica*. Several biochemical tests were applied for the decisive diagnose of suspected colonies growing in CIN and MacConkey Agar. In conclusion, *Yersinia enterocolitica* has been isolated from 4 unripened Kaşar, 2 ripened Kaşar and 1 white cheese samples, totaly 7 cheese samples.

In determination of biotypes: as two out of seven with biotype 1, three with biotype 3, one with biotype 5, one strain was found to be atypic.

Key Words: *Yersinia enterocolitica*, white cheese, Kaşar (Kosher) cheese

GİRİŞ

Yersinia enterocolitica zoonotik bir etken olarak hem evcil hem de yabani hayvanlarda bulunur. Sağlıklı konakçılarda inatçı bir şekilde kalabilen ve zaman zaman da salgınlar yapabilen bu patojen mikroorganizmanın insanlara bulaşması bu hayvallardan elde edilen ürünler aracılığı ile olmaktadır (1, 2, 3, 4).

Hayvanlarda patojen ve potansiyel patojen olarak bulunması hayvansal ürünlerle insanlara geçmesi ve soğukta üreyebilmesi gibi özellikleriyle halk

sağlığını yakından ilgilendiren *Yersinia enterocolitica*'nın ülkemiz gıdalarındaki varlığı ve yaygınlığı 대해서 hakkında hemen hemen hiç bir bilimsel veriye sahip olmadığımız görülmektedir. Bu çalışma ile de konuya ilk adım atılmak istenmiş ve *Yersinia enterocolitica*'nın ülkemizde çokca tüketilen hayvansal kökenli bir gıda maddesi olan peynirlerde varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yersinia enterocolitica Enterobacteriaceae Familie'sinin *Yersinia* cinsinde yer alan Gram negatif, kokobasil görünümünde ve fakultatif anaerob bir bakteridir (5).

* Bu araştırmanın yapılmasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Fonu bizi maddi olarak desteklemiştir.
Haberleşme Adresi: Dr. Emrullah SAĞUN, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, VAN

Yersinia enterocolitica'nın komşu ülkelerimizde ve çok sayıda dünya ülkelerinde her türden yabani ve evcil memeli hayvanlar ile kuşlardan izole edildiği bildirilmiştir (6,7,8,9,10).

Yüzey suları *Yersinia enterocolitica* için hayvan ve insan konakçılarının dışında önemli bir rezervuar teşkil ederken (11), kuşlar ve sinekler de taşıyıcı olarak rol oynamaktadır (12,13).

Yersinia enterocolitica enfeksiyonlarının insanlara bulaşmasında en büyük rolü kontamine gıda maddeleri oynar. Özellikle batılı ülkelerde çiğ olarak tüketilen domuz eti ve ürünlerinin neden olduğu enfeksiyonların yanında (14), süt ve süt ürünlerleri, iyi pişmemiş deniz ürünleri, çiğ ve iyi pişmemiş et de önem taşır (1,2,15,16,17). Ayrıca hamburger, mantar salatası ve çeşitli sebzelerden de *Yersinia enterocolitica* izole edildiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (4,15,18,19).

Greenwood (3) yumuşak peynirlerden, Luppi (20) taze peynirlerden ve Schiemann (4) da lordan *Yersinia enterocolitica* izole etmişlerdir.

Yersinia enterocolitica'nın peynirlerde ne kadar süre ile canlı kalabildiği konusu çeşitli araştırmacılar tarafından farklı sonuçlarla gözlenmiştir. Ahmet (21), *Yersinia enterocolitica*'nın Damietta peynirinde 2 haftadan daha az bir süre canlı kaldığını; Karaoannoglou (22), Feta peynirinde 4 hafta; Schiemann (4), lorda 8 haftadan fazla; Bimet (23) ise bütün süt ürünlerinde 234 gün canlı kalabileceğini bildirmiştir. Bu farklılıklar peynir tipine, peynirin tuz oranına, depolanma sıcaklığına ve pH değerlerinin farklılığına dayandırılmıştır (21, 24, 25). Stern'e (26) göre *Yersinia enterocolitica* 3 °C'de ve % 5'lik tuz konsantrasyonunda üreyebilen tek enteropatojendir. Ayrıca Schiemann (4) peynirlerden izole ettiği *Yersinia enterocolitica* miktarını çiğ sütten izole ettiğinin yarısı kadar olduğunu bildirmektedir.

MATERIAL VE METOD

Materyal:

44 eski kaşar, 84 taze kaşar ve 41 adet de salamura beyaz peynir örneği İstanbul'un çeşitli bölgelerinde satışa sunulan peynirlerden toplanmıştır.

Metod:

Örneklerin hazırlanışı: 25 gr. peynir örneği iyice

ezilip PBS'e (0.067 M ve pH=7.3) katılarak homojenize edilmiştir.

Direkt ekim: Hazırlanan homojenizattan MacConkey Agar ve *Yersinia Selective Agar Base*'e (CIN Agar) yayma metoduyla direkt ekimler yapılmış, 25°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonucunda, 1,5-2 mm çapında olan, etrafi bulanık, ortası koyu kırmızı, "öküz gözü" diye amelan şüpheli koloniler biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur. Oksidaz (-), Üreaz(+), Simon's sitrat (-), Kligler Iron Agar'da H₂S ve gaz oluşturmayan, besi yerinin dip kısmında asit, eğik kısmında alkali reaksiyon gösterenler daha sonra dekarboksilaz besiyerlerine alınmıştır. Ornitin dekarboksilaz (+), lizin dekarboksilaz (-), arginin dihidrolaz (-) olanlar, fenilalanin deaminaz negatif, 22 °C'de hareketli, 37°C'de hareketsiz olan, laktoz değişken, maltoz ve sukroz (+) olanlar *Yersinia enterocolitica* olarak tanımlanmıştır (27, 28).

Soğukta zenginleştirme: 4°C'de bekletilen homojenizattan 7. ve 14. günlerde 0.1 ml alınarak MacConkey Agar ve *Yersinia Selective Agar Base*'e (CIN Agar) yayma metoduyla ekim yapılmış ve 25 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir (3). Şüpheli koloniler direkt ekimden sonra yapıldığı gibi biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur.

Biyotip tayini: *Yersinia enterocolitica* olarak izole edilen suşlardan yapılan biyotip tayinlerinde Nilehn ve Wauters'in biyotip şeması örnek alınmıştır (27).

pH değerleri kombine dijital bir pH metre ile ölçülmüş ve tuz tayini de Mohr metodu ile yapılmıştır (29).

BULGULAR

Peynir örneklerinde *Yersinia enterocolitica* : Alinan sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İncelenen Peynir Örneklerinde *Yersinia enterocolitica*'nın Varlığı

Peynirin türü	İncelenen peynir adedi	Y.e. izole edilen peynir adedi	Pozitif numune oranı *
Taze Kaşar	84	4	4.6
Eski Kaşar	44	2	4.5
Beyaz Peynir	41	1	2.4
Toplam	169	7	4.1

Biyotip tayinleri: İzole edilen suşlardan 2'si biyotip:1, 3'ü biyotip:3 ve 1'i biyotip: 5 olarak identifiye edilirken 1 suş da atipik olarak tanımlanmıştır.

pH değeri ve tuz oranları: Ortalama değerleri; taze kaşar örneklerinde tuz oranı % 2.7, pH 6.0; eski kaşar örneklerinde tuz oranı % 3.8, pH 5.9; beyaz peynir örneklerinde ise tuz oranı %4.5, pH 4.9 olarak bulunmuştur.

Yersinia enterocolitica izole edilen peynir örneklerinde ise; taze kaşarlarda tuz oranı % 2.8- 3.7 pH 5.4-6.2; eski kaşar örneklerinde tuz oranı % 4.2-4.9 pH 5.7-6.2: beyaz peynir örneklerinde de tuz oranı %5.1 ve pH 5.7 olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA ve SONUÇ

A.B.D. ve Avrupa ülkelerinde olduğu gibi yakın komşularımız olan İran, Sovyetler Birliği, Bulgaristan'da da (7,18) insan, hayvan ve besin maddelerinden *Yersinia enterocolitica* izole edildiği bildirilmiştir. Ülkemizde de ilk defa olarak yapılan bu çalışmada piyasa peynirlerinin % 4.1'inde *Yersinia enterocolitica* suşlarının izole edilmesi bu patojen bakterinin ülkemiz peynirlerindeki varlığını göstermektedir.

Literatür verilerinden; A.B.D'de yapılan bir araştırmada (30) çiğ süffen % 48.1; Kanada'daki bir araştırmada (20) yine çiğ sütlere % 18.2 ve peynirlerden % 9.2; Mısır'da yapılan bir çalışmada da (27) çiğ süffen % 10 ve peynirlerden % 6.7 oranında *Yersinia enterocolitica* izole edildiğini görmekteyiz. Bizim araştırmamızda da toplam 169 peynir örneğinin 7'sinde (4.1) *Yersinia enterocolitica* izole edilmiştir. Gerek bizim bulduğumuz ve gerekse çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen izolasyon oranları % 10'un altında olup yine de az çok farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıkların oluşmasında incelenen peynirlerin türü, taze veya olgunlaştırılmış olup olmadığı, tuz ve rutubet miktarları ile pH değerleri önemli rol oynamaktadır (21, 24, 25, 31). Çeşitli araştırmacılar *Yersinia enterocolitica'yı* sadece taze ve yumuşak peynirlerden izole ettiklerini bildirmiştir (4,20,25).

Karaioannoğlu (22) Yunanistan'da Feta peynirleriyle yaptığı bir çalışmada, pH değerinin 2-4 gün içinde 4.5'a düşmesi halinde *Yersinia enterocolitica*'nın inaktive olacağını, hatta tamamen yok olacağını; pH değerinin 4.5'un üstünde kaldığı sürece çok az miktarlardaki mikroorganizmaların bile çoğala-

bileceğini ve 30 gün dayanabileceğini bildirmiştir.

Schiemann'a (32) göre de *Yersinia enterocolitica* asidik ortamda üreyebildiği gibi alkali şartlara da iyi uyum sağlar ve 7.2- 7.9 pH değerleri arasında çok iyi gelişir. Çok sayıda diğer araştırmacılar da, *Yersinia enterocolitica*'nın 4.0-10.0 pH değerleri arasında üreyebildiğini ve % 5 tuzu tolere ederken, % 7 tuz konsantrasyonunda inaktive olduğunu bildirmiştir (5, 24, 26). Stern'e (26) göre *Yersinia enterocolitica* +3°C' de ve % 5 tuz konsantrasyonunda üreyebilen tek patojendir. Bizim çalışmamızda da *Yersinia enterocolitica* izole ettiğimiz peynirlerde bulduğumuz en düşük pH değeri 5.4 en yüksek pH değeri ise 6.2 iken tuz oranları ise % 2.8 ile % 5.1 arasında olmuştur. Bu değerler diğer çalışmalarında bulunan ve yukarıda bildirilen değerlerle paralellik arzetmektedir.

Peynir ve diğer gıda maddelerinden *Yersinia enterocolitica* izolasyonunda soğukta zenginleştirme yöntemi ve selektif besi yerlerinin seçiminin büyük önemi vardır.

Çalışmada uyguladığımız soğukta zenginleştirme yöntemi her ülkede çok sayıda araştırmacı tarafından kullanılmaktadır (1,16,23,33, 34,35). İncelenen peynirlerden izole ettiğimiz 7 *Yersinia enterocolitica* suşu için de PBS'de soğukta zenginleştirme ile olumlu sonuç alınmış olması bu yöntemin üstünlüğünü göstermektedir. Ancak anılan yöntemin en büyük dezavantajı izolasyon için 2-3 hafta gibi uzun bir zamana ihtiyaç göstermesidir.

Düger yandan Head ve arkadaşları (36) *Yersinia enterocolitica* için tavsiye edilen 6 çeşit değişik besiyerini denemişler ve sonuçta en iyi sonucu CIN Agar'ın, ikinci derecede iyi sonucu da MacConkey Agar'ın verdiği tesbit etmişlerdir.

Yersinia enterocolitica izolasyonunda iki ayrı besiyerinin kullanılması izolasyon şansını artırmaktadır. Kullanılan besiyerleri taze olmalı, hazırlanıktan sonra en geç 4-5 gün içinde kullanılmalıdır. Bu sürenin uzaması halinde besi yerlerinin pH'sının değişmesi ve antibiyotik aktivitesinin azalması neticesinde *Yersinia enterocolitica* dışındaki mikroorganizmaların inhibisyonu azaltmaktadır (37). Çalışmamızda da her iki besi yeri de taze olarak hazırlanıp kalite kontrolleri yapıldıktan sonra kullanılmışlardır.

KAYNAKLAR

1. Black RE, Jackson RJ, Tsai T, Medwesky M, Shayegani M. Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk. *N Engl Med* 1978; 298: 76-79.
2. Christensen SG. Psychotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. London: Academic Press, 1982: 439-445.
3. Greenwood MH, Hooper WL. *Yersinia* spp. in foods and related environments. *Food Microbiol* 1985; 2: 263-269.
4. Schiemann DA. Association of *Yersinia enterocolitica* with the manufacture cheese and occurrence in pasteurized milk. *Appl Environ Microbiol* 1978; 36: 274-277.
5. Bercovier H, Mollaret HH. Genus XIV. *Yersinia*. In: Krieg NR, ed. Bercey's manual of systematic bacteriology. London: Williams and Wilkins Co, 1984: 498-506.
6. Fantasia M, Mingrone MG, Crotti D, Boscato C. Isolation of *Yersinia enterocolitica* biotype 4 serotype O3 from canine sources in Italy. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 314-315.
7. Haghghi L. The first successful isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* in Iran. *Contr Microbiol Immun* 1979; 5: 206-211.
8. İstanbulluoğlu E. Hayvanlarda *Yersinia enterocolitica* infeksiyonları. Tümbay E, ed. *Yersinia enterocolitica*. İstanbul: Türk Mikr Cemiy Yay 1982: 61-72.
9. Lee WH. Testing for the recovery of *Yersinia enterocolitica* in foods and their ability to invade HeLa cells. *Contr Microbiol Immun* 1979; 5: 228-233.
10. Tsubokura M, Otsuki K, Kwaoka Y. Lysogenicity and phage typing of *Yersinia enterocolitica* isolated in Japan. *Jpn J Vet Sci* 1982; 44: 433-437.
11. Saari TN, Jansen GP. Waterborne *Yersinia enterocolitica* in the Midwest United States. *Contr Microbiol Immun* 1979; 5: 185-186.
12. Fukushima H, Ito T, Saito K, Tsubokura M, Otsuki K. Role of the fly in the transport of *Yersinia enterocolitica*. *Appl Environ Microbiol* 1979; 38: 1009-1010.
13. Kato Y, Ito K, Kubokura Y, Maruyama T, Kaneko K, Ogawa M. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in wild - living birds and Japanese serows. *Appl Environ Microbiol* 1985; 49: 198-200.
14. Ludes VA, Weiss R. Zum Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* bei Schafen. *Berl Münch Tierarztl Wschr* 1984; 97: 198-200.
15. Hughes D. Repeated isolation of *Yersinia enterocolitica* from pasteurized milk in a holding vat at a dairy factory. *J Appl Bact* 1980; 48: 383-385.
16. Tacket CO, Narain JP, Sattin R, Lofgren JP, Konigsberg C. A multistate outbreak of infections caused by *Yersinia enterocolitica* transmitted by pasteurized milk. *J Am Med Ass* 1984; 251: 483-486.
17. Tibana A, Warnken MB, Nunes MP, Ricciardi ID, Noleto ALS. Occurrence of *Yersinia* spp. in raw and pasteurized milk in Rio de Janeiro, Brazil. *J Food Prot* 1987; 50: 580-583.
18. Mollaret HH, Bercovier H, Alonso JM. Summary of the data received at the WHO reference center for *Yersinia enterocolitica*. *Contr Microbiol Immun* 1979; 5: 174-184.
19. Schiemann DA, Toma S. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw milk. *Appl Environ Microbiol* 1978; 35: 54-58.
20. Luppi A, Bucci G. Isolamenti di *Yersinia enterocolitica* da alimenti in Provincia di Ferrara. *Boll Ist Sieroter Milan* 1982; 61: 158-160.
21. Ahmed AA-H. Behavior of virulent *Yersinia enterocolitica* in Damietta Cheese. *Assiut Vet Med J* 1989; 22: 81-87.
22. Karaioannoglou P, Koidis P, Papageorgiou D, Mantas A. Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Feta Cheese. *Milchwissenschaft* 1985; 40: 204-206.
23. Fukushima H. New selective agar medium for isolation of virulent *Yersinia enterocolitica*. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1068-1073.
24. Brackett RE. Growth and survival of *Yersinia enterocolitica* at acidic pH. *Intern J Food Microbiol* 1986; 3: 243-251.
25. Moustafa MK. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw milk and soft cheese in Assiut City. *Assiut Vet Med J* 1990; 23: 106-109.
26. Stern NJ, Pierson MD, Kotula AW. Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures. *J Food Sci* 1980; 45: 64-77.
27. Morris GK, Feeley JC. *Yersinia enterocolitica*: a review of its role in food hygiene. *Bull Wld Hlth Org* 1976; 54: 79-85.
28. Oxoid manual of culture media, ingredients and other laboratory services. Hampshire: Oxoid Limited, 1982: 340-342.
29. Tolgay Z, Tetik İ. Gıda Kontrolü ve analizleri kılavuzu kitabı. Ankara: Ege Matbaası, 1964.
30. McManus C, Lanier JM, Salmonella, Campylobacter jejuni, and *Yersinia enterocolitica* in raw milk. *J Food Prot* 1987; 50: 51-55.

31. Moustafa MK- A, Ahmed AA-H, Marth HE. Behavior of virulent *Yersinia enterocolitica* during manufacture and storage of Colbylike cheese. *J Food Prot* 1983; 46: 318-320.
32. Schiemann DA. *Yersinia enterocolitica*: observation on some growth characteristics and response to selective agents. *Can J Microbiol* 1980; 26: 1232 -1240.
33. Felip GD, Orefice L, Croci L, Toti L, Gizzarelli Z. New method for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from food. *Arch Lebensmittelhyg*, 1985; 36: 125-148.
34. Lee WH. An assesment of *Yersinia enterocolitica* and its presence in foods. *J Food Prot* 1987; 40: 486-489.
35. Schiemann DA. Developman of two step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food. *Appl Environ Microbiol* 1982; 43: 14-27
36. Head CB, Whitty DA, Ratnam S. Comparative study of selective media for recovery of *Yersinia enterocolitica*. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 615-621.
37. Özsarı K. *Yersinia enterocolitica*'nın bakteri sistematığında yer, morfolojik ve kültürel özellikleri. In: Tümbay E, ed. *Yersinia enterocolitica*. İstanbul: Türk Mikro Cemiy Yay, 1982: 1-22.