

# Van'da Tüketime Sunulan Kremalı Pastalarda *Listeria* Türlerinin Varlığının Belirlenmesi

Yakup Can SANCAK<sup>1</sup>

Özgür İŞLEYİCİ<sup>1</sup>

Cihangir ELİBOL<sup>2</sup>

Kamil EKİCİ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>YYÜ Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-VAN

<sup>2</sup>YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü-VAN

## ÖZET

Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan bu araştırmada; 12'si sade, 14'ü meyveli ve 24'ü kakaolu olmak üzere toplam 50 adet kremalı pasta örneği analiz edilmiştir. *Listeria* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonunda Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration/FDA) tarafından önerilen metottan yararlanılmıştır. Kremalı pasta örneklerinden 12'si (%24) *Listeria* spp. yönünden pozitif bulunurken, 8 adedi (%16) *L. monocytogenes*, 4 adedi de (%8) *L. innocua* olarak identifiye edilmiştir. Sonuç olarak, Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin, özellikle de patojen olan *L. monocytogenes*'in izole edilmesi bu ürünlerin halk sağlığı açısından bir risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, *L. monocytogenes*'den kaynaklanabilecek potansiyel tehlikeyi en aza indirmek için üretim ve satış sırasında gerekli hijyenik tedbirler alınarak rutin kontroller yapılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kremalı pasta, *Listeria* spp., *L. monocytogenes*.

## An Investigation on the Presence of *Listeria* Species in Retail Cream-Pastries Consumed in Van City Center

## SUMMARY

In this study 50 cream-pastry samples (Butter-creme 12, fruit-creme 14, chocolate-creme 24) collected from pastry-shops in Van were investigated in respect of *Listeria* species. For *Listeria* isolation and identification, the method recommended by FDA (Food and Drug Administration) was used. Of the cream-pastries samples, 12 samples (24%) were found to be positive with regard to *Listeria*; 8 (16%) were *L. monocytogenes*, 4 (8%) *L. innocua*. As a conclusion, the isolation of *Listeria* species, particularly pathogenic *L. monocytogenes* from cream-pastries consumed in Van indicated that these products could create a serious risk for public health. Therefore to reduce risk posed by *L. monocytogenes* to minimum level, necessary precautions have to be taken and routine controls have to be done both during production and marketing.

**Key Words:** Cream-pastries, *Listeria* spp., *L. monocytogenes*.

## GİRİŞ

*Listeria*'lar düşük pH'ya, sıcaklığa, tuza toleranslı bakteriler olup, psikrofilik karakterleri nedeniyle soğukta muhafaza edilen gıdalarda birçok mikroorganizmaya göre daha iyi çoğalabilirler (4,27,30). *Listeria*'ların, özellikle de insanlarda hastalık yapan *L. monocytogenes*'in bir gıda patojeni olduğu çok yakın tarihlerde anlaşılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kanada'da 1980'li yıllarda görülen ve ölümlerle sonuçlanan *Listeria* salgınlarından sonra bu mikroorganizmanın gıdalardaki varlığı ve yaygınlığı üzerine araştırmalar artmıştır (3,13,16,20,22).

Araştırmalar, listeriosis vak'alarına en fazla süt ve süt ürünlerinin sebep olduğunu göstermiştir (7,8,11,14,18,21,22,23). 1983 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde pastörize süt içilmesine bağlı olarak ölümlere yol açan epidemilere rastlanmıştır (16,23). Kanada'da yapılan araştırmalarda, çiğ süt tanklarında %12 oranında *Listeria* türlerine rastlanmış, bunlardan %1.3'ü *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* olarak identifiye edilmiştir (14). Greenwood ve ark. (17) 48 adet çiğ krema örneğinin 2'sinde *L. monocytogenes*, 2'sinde *L. innocua*, 1'inde *L. ivanovii*, 1'inde de *L. monocytogenes* haricinde hemolitik *Listeria* türlerini bulmuşlar ve 40 pastörize krema örneğinde ise hiç *Listeria* türü tespit edememişlerdir.

Ülkemizde de süt ve süt ürünleri üzerinde yapılan araştırmalarda (9,10,25,26,29) *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Sharif ve Tunail (26) tarafından çiğ ve pastörize sütlerde yapılan bir çalışmada, 77 çiğ süt örneğinin 22'sinde

*L. monocytogenes* bulunmuş, pastörize sütlerde ise etkene rastlanmamıştır.

Kremalı pastalar içerdikleri zengin besin bileşimleri, uygun pH ve su aktiviteleri ile patojen mikroorganizmaların üremeleri için çok uygun ortamlardır (1,6,28).

Alişarlı ve ark. (2) Van'da yaptıkları bir çalışmada, kremalı pasta örneklerinin kontaminasyon düzeyini pudinglere göre daha yüksek bulmuşlardır. Araştırmacılar, kremalı pastaların mikrobiyolojik kalitelerinin istenilen standartlarda olmamasını, üretim ve satış sırasında gerekli hijyenik kurallara yeterince dikkat edilmemesine bağlamışlar ve iki ürün arasındaki farkı kremalı pastaların üretimindeki işlemlerin fazla olması ile açıklamışlardır. Erol ve ark. (12)'de Ankara'da tüketime sunulan kremalı pastalarda yaptıkları bir çalışmada genel olarak örneklerin hijyenik kalitesinin kötü olduğunu bildirmişlerdir.

Kremalı pastalarda *Listeria*'ların varlığı üzerine yapılan literatür taramalarında ülkemizde bir çalışma (28)'ya rastlanmış olup değişik ülkelerde de bu konuda az sayıda çalışma (5,15) bulunmaktadır.

Bu çalışma, Van şehir merkezinde bulunan pastanelerde satışa sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin, özellikle *L. monocytogenes*'in varlığını araştırmak amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Van il merkezinde bulunan pastanelerden alınan 12 adet sade, 14 adet meyveli, 24 adet de kakaolu olmak üzere toplam 50 adet kremalı pasta örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler steril cam kaplara aseptik

şartlarda alınarak soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve aynı gün içinde analize alınmıştır.

Örneklerin zenginleştirilmesinde ve *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda FDA (Food and Drug Administration) tarafından önerilen metot kullanılmıştır (19).

**Zenginleştirme:** Her bir kremalı pasta örneğinden aseptik şartlarda steril plastik torbalara 25'er g tartılarak üzerine 225 ml Enrichment Broth (Oxoid<sup>®</sup> CM897+SR141) ilave edilmiş ve stomacherde homojenize edildikten sonra 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (19).

**İzolasyon ve İdentifikasyon:** Zenginleştirme işlemine tabi tutulan homojenizattan bir öze dolusu alınarak Oxford Agar'a (Oxoid<sup>®</sup> CM856+SR140) ve Palcam Agar'a (Oxoid<sup>®</sup> CM877+SR150) çizme yöntemiyle ekim yapılmış ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

sonucunda 1-3 mm çapında ve etrafı siyah haleli olan tipik koloniler şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir. Her petriden tipik 5 koloni saflaştırma ve identifikasyon işlemleri için, %0.6 Yeast Extract (YE) (Oxoid<sup>®</sup> L21) içeren Tryptone Soya Agar'a (TSA) (Oxoid<sup>®</sup> CM131) koloniler tek düşecek şekilde çizilmiş ve 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreyen kolonilere Gram boyama, Henry'nin oblik aydınlatması, katalaz (%3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile), oksidaz (Oxoid<sup>®</sup> Oxidase Identification Stick BR64) ve

SIM Mediumda (Oxoid<sup>®</sup> CM435) üreme ve hareketlilik testleri yapılmıştır. Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve SIM Mediumda 25 °C'de 7 günde tipik şemsiye tarzında üreyen koloniler *Listeria* olarak tanımlanmıştır (19).

*Listeria* türlerinin identifikasyonunda yukarıdaki testlere ilaveten β-hemoliz, Metil Red, Voges-Proskauer, Nitrat redüksiyon ve CAMP testi ile karbonhidrat (Dekstroz, eskulin, maltoz, mannitol, L-ramnoz ve D-ksiloz) fermentasyon testleri yapılmıştır (19).

## BULGULAR

İncelenen 50 adet kremalı pasta örneğinin 12'sinden (%24) *Listeria* türleri, 8'inden (%16) *L. monocytogenes*, 4'ünden (%8) ise *L. innocua* izole ve identifiye edilmiştir.

İncelenen kremalı pasta örneklerinden; sade, meyveli ve kakaolu kremalı pasta örneklerinde sırasıyla 3, 4 ve 5 adet *Listeria* spp. izole edilmiştir. *L. monocytogenes*, sade kremalı pasta örneklerinde 2, meyveli ve kakaolu kremalı pasta örneklerinde 3'er, *L. innocua* ise, sade ve meyveli kremalı pasta örneklerinde 1'er ve kakaolu kremalı pasta örneklerinde 2 örnekte identifiye edilmiştir (Tablo-1).

Tablo 1. Değişik tip kremalı pasta örneklerinde *Listeria* türlerinin dağılımı

Örnek Tipi	Örnek Sayısı	<i>Listeria</i> spp.		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. innocua</i>	
		n	%	n	%	n	%
Sade Kremalı Pasta	12	3	25	2	16.66	1	8.33
Meyveli Kremalı Pasta	14	4	28.57	3	21.42	1	7.14
Kakaolu Kremalı Pasta	24	5	20.83	3	12.50	2	8.33
Toplam	50	12	24	8	16	4	8

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma, Van'da satışa sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin özellikle de *L. monocytogenes*'in varlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, toplam 50 adet kremalı pasta (sade, meyveli ve kakaolu kremalı) örneği *Listeria*'lar yönünden analiz edilmiştir.

Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada, Şireli ve ark. (28) değişik pastanelerden aldıkları 30'ar adet sade, meyveli ve çikolatalı olmak üzere toplam 90 kremalı pasta örneğini incelemişler ve 3'ünde (%3.3) *Listeria* spp. saptamışlardır. Sade ve meyveli kremalı pasta örneklerinden izole edilen örneklerin 1'er tanesinden *L. innocua* ve *L. monocytogenes* birlikte, sade kremalı pasta örneğinin 1'inden yalnızca *L. innocua* identifiye etmişlerdir. Araştırmacılar, sade kremalı pasta örneklerinin 2'sinin (%6.6), meyveli kremalı pasta örneklerinin 1'inin (%3.3) *Listeria* spp. ile kontamine olduğunu, çikolatalı kremalı pasta örneklerinde ise *Listeria*'ların varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Ferron ve Michard (15), Batı Fransa'daki 100 farklı firmaya ait pastaneden aldıkları 300 adet kremalı pasta örneğinin %21.7'sinde *Listeria* türlerini, %13.7'sinde *L. monocytogenes*'i, %10'unda *L. innocua*'yı ve %2.3'ünde de *L. seeligeri*'yi identifiye etmişlerdir. 52 örneğin sadece 1 *Listeria* türü ile (30'u *L. monocytogenes*, 17'si *L. innocua*, 5'i *L. seeligeri*), 13 örneğinde 2 tür ile kontamine olduğunu (11

örnekte *L. monocytogenes* ve *L. innocua*, 2 örnekte *L. innocua* ve *L. seeligeri* birlikte) tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, kremalı pasta örneklerinden *Listeria* türleri %24 oranında izole edilmiş, *L. monocytogenes* ile kontaminasyon %16 olarak belirlenirken, *L. innocua* ile kontaminasyon %8 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler; Şireli ve ark. (28) tarafından bulunan sonuçlardan oldukça yüksek iken, Ferron ve Michard (15) tarafından saptanan araştırma sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Ancak Ferron ve Michard (15) bu türlere ilaveten *L. seeligeri*'yi de izole etmişlerdir.

Araştırmacılar kremalı pasta örneklerinin bazılarında *Listeria* türlerini aynı örnek içerisinde birlikte identifiye ederken; bu çalışmada, izole edilen örneklerin her birinden sadece bir *Listeria* türü identifiye edilmiştir.

Araştırmacıların tespit ettiği değerlerin bu çalışmada elde edilen sonuçlardan farklı olması, kremalı pasta örneklerinin toplandığı şehirlerde bulunan gıda imalathanelerinin ve kremalı pasta yapımında kullanılan süt, meyve, kakao, krema ve su gibi hammaddelerin kontaminasyon düzeylerinin farklılığından kaynaklanabilir.

*Listeria*'lar, gıdalara çeşitli yollarla bulaşır (24). Kremalı pastalardaki *Listeria* kontaminasyonunun kaynaklarından birisi kullanılan çiğ süt ve krema olmakla birlikte, üretim aşamasında da (toprak, feçes, su, işçiler, alet, malzeme vs.) kontaminasyon olabilmektedir (17,24).

Nitekim, Sağun ve ark. (25) Van otlı peynirlerindeki *Listeria* kontaminasyon düzeyini üretim aşamalarındaki bulaşmalara ve çapraz kontaminasyonlara bağlamışlardır.

İzolasyon oranının meyveli kremalı pastalarda, sade ve kakaolu kremalı pastalardan yüksek olması, çiğ süt ve kremayla birlikte, kullanılan meyveler ile meyvelerin hazırlanması ve katılması aşamasındaki işlemlerden kaynaklanmış olabilir. Birçok araştırmacı (5,7,31) *Listeria*'ların gıda işletmelerinde ve imalathanelerinde ekipman ve malzemeye yerleştiğini ve buradan gıdaları kontamine ettiğini bildirmektedirler.

Kremalı pastalardan yüksek oranda *L. monocytogenes* izole edilmesine rağmen şimdiye kadar Van'da gıda kaynaklı listeriozis olaylarının bildirilmemiş olması, listeriozisle ilgili vaka kontrol çalışmalarının yapılmaması ve epidemiyolojik yaklaşımdan daha çok semptomatik tedavilerle yetinilmesiyle açıklanabilir.

Sonuç olarak, Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin, özellikle de patojen olan *L. monocytogenes*'in izole edilmesi bu ürünlerin halk sağlığı açısından bir risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, *L. monocytogenes*'den kaynaklanabilecek potansiyel tehlikeyi en aza indirmek için üretim ve satış sırasında gerekli hijyenik tedbirler alınarak ciddi bir kontrol sistemi kurulmasının ve özellikle personel ve işletme hijyenine önem verilmesinin gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Alisharlı M, Sağun E, Alemdar S, Akkaya L, (2002): Kremalı pastalarda enterotoksin oluşturan *Staphylococcus aureus* suşlarının çoğalması ve enterotoksin oluşturmaları üzerine etki yapan faktörler. Türk J Vet Sci, (Basımda).
2. Alisharlı M, Sancak YC, Akkaya L, Elibol C, (2002): Bazı sütlü tatlıların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Türk J Vet Sci (basımda).
3. Arumugaswamy RK, Ali GR, Abd Hamid SN, (1994): Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods in Malaysia. Int J Food Microbiol, 23, 1:117-21.
4. Brandshaw JG, Peeler JT, Corwin JJ, Hunt JM, (1987): Thermal resistance of *L. monocytogenes* in dairy products. J Food Prot, 50:534.
5. Caserio G, Garzarolli C, Gronchi C, (1991): Spread of *Listeria monocytogenes* in foods and working environment. Indust Alimentari, 30:129-138.
6. Catsaras M, Seynave R, Sery C, (1970): Pastry creams and public health. I. Outbreak of foodborne type A Staphylococcal enterotoxin poisoning caused by pastry cream. Ann Inst Pasteur, Lille, 21:177-192.
7. Charlton BR, Kinde H, Jensen H, (1990): Environmental survey for *Listeria* species in California milk processing plants. J Food Prot, 53, 3:198-201.
8. Cordano AM, Rocourt J, (2001): Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. Int J Food Microbiol, 70, 1-2:175-8.
9. Çetinkaya B, Ertas HB, Muz A, (1998): Süt ürünlerinden *Listeria* türlerinin izolasyonu. 3<sup>rd</sup> National Congress of Veterinary Microbiology. (With International Guest Speakers). September 23-25, Ankara, Turkey, Abstracts, p.176.
10. Çiftçiöglü G, Uğur M, (1991): Ülkemizde tüketilensalamura Beyaz peynirlerde *Listeria*'ların varlığı üzerine bir araştırma. Bursa 2. Uluslararası Gıda Sempozyumu.
11. Da Silva MCD, Hofer E, Tibana A, (1998): Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Jenerio, Brazil. J Food Prot, 61, 3:354-356.
12. Erol İ, Sırken B, Şireli UT, Kısa Ö, Albay A, Gün H, Kaymaz Ş, (1996): Kremalı pastaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. AÜ Vet Fak Derg, 43:413-420.
13. Farber JM, Sanders GW, Johnson MA, (1989): A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. J Food Prot, 52, 7:456-458.
14. Farber JM, Sanders GW, Malcolm SA, (1988): The Presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario. Can J Microbiol, 34:95-100.
15. Ferron P, Michard J, (1993): Distribution of *Listeria* spp. in confectioners pastries from western France: Comparison of enrichment methods. Int J Food Microbiol, 18, 4:289-303.
16. Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL, Brondum J, Hayes PS, Plikaytis BD, Holmes MB, Audurier A, Broome CV, Reingold AL, (1985): Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. N Eng J Med, 312:404-407.
17. Greenwood MH, Roberts D, Burden P, (1991): The occurrence of *Listeria* species milk and dairy products: A national survey in England and Wales. Int J Food Microbiol, 12: 197-206.
18. Hayes PS, Feley JC, Grawes LM, Ajello GW, Fleming DW, (1986): Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk. Appl Environ Microbiol, p:51 (2): 438-440.
19. Hitchins AD, (1998): *Listeria monocytogenes*. Chapter 10. In: FDA Bacteriological Analytical Manual. 8<sup>th</sup> ed. Revision A, U.S. Food&Drug Administration Center for Food Safety&Applied Nutrition. U.S.A.
20. Inoue S, Nakama A, Arai Y, Kokubo Y, Maruyama T, Saito A, Yoshida T, Terao M, Yamamoto S, Kumagai S, (2000): Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. Int J Food Microbiol, 59, 1-2:73-77.
21. Laciari AL, Vaca L, de Centorbi ON, (1999): *Listeria* spp. in food of animal origin. Rev Argent Microbiol, 31, 1:25-30.
22. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, Hird DW, Yonekura ML, Hayes P, Weaver A, Audurier A, Plikaytis BD, Fannin SL, Kleks A, Broome CV, (1988): Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. N Engl J Med, 319: 823-828.
23. Lovett J, Francis DW, Hunt JM, (1987): *Listeria monocytogenes* in raw milk. Detection, incidence and pathogenicity. J Food Prot, 50, 3:188-192.
24. Marth EH, (1988): Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*. Food Technology, p:165-168.
25. Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K, (2001): Vanve çevresi süt ve Otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. Tr J Animal Sci, 25, 1:15-19.

26. Sharif A, Tunail N, (1991): Çeşitli yörelere ait çiğ sütler ile Ankara piyasasında satılan pastörize sütlerde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunun araştırılması. Mikrobiyol Bült, 25:15-20.

27. Sorrels KM, Enigl DC, (1990): Effect of pH, acidulant, sodium chloride and temperature on the growth of *L. monocytogenes*. J Food Safety, 11:31-37.28. Şireli UT, Erol İ, Pehlivanlar S, (2000): Kremalı pastalardan *Listeria*'ların saptanması. AÜ Vet Fak Derg, 47:17-21.

29. Tümbay E, Seeliger HPR, İnci R, Coşar G, Langer B, (1988): Isolation of *Listeria* from cheese in Turkey. İnfeksiyon Derg, 2, 4:593-598.

30. Walker SJ, Archer P, Banks JG, (1990): Growth of *L. monocytogenes* at refrigeration temperatures. J Appl Bacteriol, 68:157-162.

31. Windrantz P, Arias ML, (2000): Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica. Arch Latinoam Nutr, 50, 3:301-3.