

TÜRK SALAMURA BEYAZ PEYNİRİNİN YAPIMI VE OLGUNLAŞMASI SIRASINDA *E. COLI* 0157:H7'NİN CANLI KALABİLME YETENEĞİNİN ARAŞTIRILMASI¹

Özlem KÜPLÜLÜ²

Aylin KASIMOĞLU³

Sadi AKGÜN⁴

Survival of E. coli 0157:H7 during the manufacturing and ripening of the Turkish white brined cheese

Summary: This study was conducted to determine the survival of *E. coli* 0157:H7 during the cheese manufacturing and ripening periods, thus to indicate a potential public health hazard.

For this purpose, *E. coli* 0157:H7 was inoculated at the level of 10^2 , 10^4 and 10^6 cfu/ml to pasteurized milk (72°C for 2 min). Chr.Hansen R 707 cheese starter culture (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) and Chr.Hansen YC 350 Yoghurt starter culture (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) were added to the pasteurized milk at the rate of 2 % and 0.5 %, respectively. All cheese samples were ripened for 120 days in 13 % NaCl at 4°C.

The samples were taken from milk, curd and the 1st, 7th, 15th, 30th, 60th, 90th and 120th days of ripening period of cheese and analysed for the numbers of *E. coli* 0157:H7. The population of *E. coli* 0157:H7 increased 1 log cfu/g in curd and first day of manufacturing with all of the inoculated levels. In the 90 day of ripening period, *E. coli* 0157:H7 decreased from 10^2 cfu/ml to 0.7 MPN/g; from 10^4 cfu/ml to 4 MPN/g and from 10^6 cfu/ml to 5.3×10^1 MPN/g in cheese samples. After 120 days, *E. coli* 0157:H7 was not detected in cheese samples, inoculated with the level 10^2 cfu/ml and 10^4 cfu/ml; on the other hand, it was detected at 1.5×10^1 MPN/g in cheese samples inoculated with the level 10^6 cfu/ml (pH 4.6, NaCl (m/m) : % 6.3 ± 0.2).

In conclusion, it was decided that, Turkish white brined cheese contaminated with *E. coli* 0157:H7, could have a potential public health risk and serve as an important vehicle of transmission of infection to man.

Key words: *E. coli* 0157:H7, white cheese

Özet: Bu çalışma, Türk salamura beyaz peynirinin yapımı ve olgunlaşması sırasında *E. coli* 0157:H7'nin canlı kalma süresinin belirlenerek, potansiyel halk sağlığı riski oluşturup oluşturmadığını saptamak amacıyla yapıldı.

Bu amaçla, pastörize süte (72°C, 2 dak) 10^2 kob/ml, 10^4 kob/ml ve 10^6 kob/ml düzeylerinde *E. coli* 0157:H7 inokule edildi. Starter kültür olarak, % 2 oranında

1. Bu çalışma, Ankara Üniv. Araştırma Fonu (Proje no: 98-10-00-04) tarafından desteklenmiştir
2. Araş.Gör.Dr., Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Dışkapı-Ankara
3. Araş.Gör.Dr., Kırıkkale Üniv. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kırıkkale
4. Prof.Dr., Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Dışkapı-Ankara

Chr.Hansen R 707 peynir starter kültürü (Lactococcus lactis subsp. lactis , Lactococcus lactis subsp. cremoris) ile % 0.5 oranında Chr.Hansen YC 350 yoğurt starter kültürü (Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus) kullanıldı. Bütün peynir grupları 4°C'de, % 13 NaCl içeren salamurada, 120 gün muhafaza edildi.

E. coli O157:H7'nin canlı kalma süresini belirlemek için süttten, telemeden ve olgunlaşmanın 1., 7., 15., 30., 60., 90. ve 120. günlerinde peynirlerden örnekler alındı. Tüm inokulasyon düzeylerinde teleme aşamasında ve 1. gün 1 log'lık bir artış saptandı. Olgunlaşmanın 90. günü 10² kob/ml inokulasyon düzeyinde, E. coli O157:H7 sayısı 0.7 MPN/g'a, 10⁴ kob/ml düzeyinde, 4 MPN/g'a, 10⁶ kob/ml düzeyinde ise 5.3 x 10¹ MPN/g'a düşmüştür. 120. Gün 10² kob/ml ve 10⁴ kob/ml düzeylerinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında E. coli O157:H7 tespit edilemezken, 10⁶ kob/ml düzeyinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında, ortalama 1.5 x 10¹ MPN/g E. coli O157:H7 saptanmıştır.

Sonuç olarak, E. coli O157:H7 ile kontamine olan Türk salamura beyaz peynirinin, enfeksiyonun insanlara geçişinde önemli bir aracı olduğu ve potansiyel sağlık riski taşıdığı görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *E. coli O157:H7, beyaz peynir*

Giriş

Günümüzde en önemli gıda patojenlerinden biri olarak kabul edilen ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) grubunda yer alan *E. coli O157:H7*, ilk defa 1982 yılında hemorajik kolitisle (HC) karakteristik salgınlardan izole edilerek, insan patojeni olarak tanımlanmıştır (27). *E. coli O157:H7*, verotoksinleri (VT1, VT2) ile HC'nin yanı sıra, hemolitik üremik sendrom (HUS) ve HUS'un komplikasyonu olan trombotik trombositopenik purpura'ya (TTP) neden olmaktadır. HC, tüm yaş gruplarında görülmesine karşılık, HUS, daha çok 10 yaşın altındaki çocuklarda görülmektedir. Gastrointestinal semptomların görülmesinden 1 hafta sonra başlayan HUS'da ciltte sarılık, eritrositlerin yıkımlanması, trombositopeni, oligo veya anüri, ödem ve akut böbrek yetmezliği karakteristik semptomlardır. HUS'lu hastaların yaklaşık yarısının diyalize ihtiyaç duyduğu, ölüm oranının ise % 3-5 olduğu bildirilmektedir. İyileşme görülen kişilerin % 15'inde kronik böbrek yetmezliği meydana gelmektedir. Özellikle yetişkinlerde görülen TTP'da ise böbrek hasarına daha az rastlanmakta, bununla birlikte beyinde kanama odakları sonucu, ciddi merkezi sinir sistemi bozuklukları gelişerek sıklıkla ölümler

sonlanmaktadır. Enfeksiyonu geçiren kişiler etkeni intestinal sistemlerinde taşımaktadırlar. Her 3 klinik tabloda da minimal enfeksiyon dozu oldukça düşük olup, 2-2000 kob/g arasında değişmektedir (9,16,28,29,30).

E. coli O157:H7'den ileri gelen salgınlarda çoğunda sorumlu gıdaların yetersiz ısı işleme uygulanmış sığır orijinli et ve ürünleri ile süt ve ürünleri olduğu bildirilmektedir (9,23). Elma suyu ve çiğ sebze'nin neden olduğu *E. coli O157:H7* salgınlarda da sözkonusu gıdaların sığır kökenli bir fekal bulaşma sonucu etkenle kontamine olabileceği ileri sürülmektedir (19,32). *E. coli O157:H7*'nin elma suyu (6,35), yoğurt (25), fermente et ürünleri (27,29) gibi yüksek asitliğe sahip, mikrobiyel açıdan güvenilir olarak kabul edilen gıdalarda bulunarak salgınlara sebep olmasının epidemiyolojik açıdan ayrı bir önemi vardır.

Süt inekleri başta olmak üzere, sığırların birinci derecede *E. coli O157:H7* rezervuarı olduğu, bunu koyun ve domuz gibi hayvanların izlediği bildirilmektedir (7,10,34,36). Yapılan klinik çalışmalarda, *E. coli O157:H7*'nin sağlıklı görünen sığırların intestinal sistemlerinde, verotoksin oluşturma yeteneğini yitirmeden uzun süre canlı kalabildiği saptanmıştır (8,13,32). Portör durumunda olan bu sığırlar,

diğer sağlıklı sığırları ve çevreyi kontamine ederek mikroorganizmanın kontrolünü güçleştirmektedir. Türkiye’de yapılan bir çalışmada (2), mezbahaya getirilen 60 sığırın dışkı örneğinden % 5 oranında *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda da sağlıklı görünen sığırlardan *E. coli* O157 veya *E. coli* O157:H7 izole edildiği bildirilmiştir. Bu çerçevede, İngiltere’de sığır dışkılarından % 1 (20), sığır rektal swaplarından % 4 (10) oranında *E. coli* O157 izole edilmiştir. A.B.D.’de süt sığırları üzerine yapılan bir çalışmada (36), 14 sürünün 7’sinde *E. coli* O157:H7 olgularına rastlanmış, 1 gün ile 3 ay arasındaki buzağuların % 2.9’u, danaların ise % 5.3’ü *E. coli* O157:H7 pozitif bulunmuştur. Chapman ve ark.(11), bir çiftliğe ait 105 süt ineğinden 10’unun *E. coli* O157:H7 pozitif bulunduğunu ve bu ineklere ait çiğ süt örneklerinin 1’inden de *E. coli* O157:H7 izole edildiğini bildirmektedir.

Özellikle süt ineklerinin *E. coli* O157:H7 rezervuarı olması, inek sütünün de potansiyel bir tehlike oluşturmasına neden olmaktadır. Süt, portör ineklerin sağılması esnasında, sağım hijyenine dikkat edilmemesi sonucu *E. coli* O157:H7 ile kontamine olabilmektedir. *E. coli* O157:H7 ile kontamine bu sütlerin, çiğ olarak ve/veya ısı-zaman parametrelerine gerekli özen gösterilmeden pastörize edilerek üretimde kullanılması sonucu elde edilecek ürünler de *E. coli* O157:H7 ile kontamine olarak salgınlara neden olabilmektedir (11,25,28).

Çiğ süt tüketiminin neden olduğu *E. coli* O157:H7 vakasının, ilk defa 1986 yılında, ABD’de meydana geldiği, 5 aylık ve 13 aylık iki bebekte, çiğ süt tüketimi sonucu trombositopeni, anemi ve böbrek yetmezliği ile karakteristik HUS geliştiği bildirilmektedir (23). Yine 1986 yılında, Kanada’da pastörize edilmeyen süt tüketimi sonucu yaşları 4 ile 5 arasında değişen 60 çocuk ve 14 yetişkin kişinin 48’inde enfeksiyon meydana gelmiş, 3 çocukta HUS gelişmiş ve 43’ünden *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir (7).

İngiltere’de, 1994 yılında meydana gelen ve 100’den fazla kişinin etkilendiği bir salgında

sorumlu gıdanın şişe ve kutularda satılan pastörize süt olduğu, sütlerin doldurulduğu makinelerden *E. coli* O157:H7 izole edildiği, yetersiz pastörizasyonun ve/veya pastörizasyon sonrası kontaminasyonun bu salgına neden olduğu belirlenmiştir (31). Yine İngiltere’de 1991 yılında, yoğurt tüketimi sonucu 9 çocukta *E. coli* O157:H7’den ileri gelen enfeksiyon gelişmiştir (25).

Türkiye’de süt inekçiliğinin aile işletmeciliği düzeyinde olduğu, sağım hijyenine gerektiği kadar dikkat edilmediği bilinmektedir. Yaygın olarak tüketilen fermente süt ürünlerinden salamura beyaz peynir, üretimde, çiğ ya da yetersiz pastörize edilen ve/veya hijyen koşullarının yetersiz olması nedeniyle pastörizasyon sonrası kontamine olan süt kullanılması durumunda, *E. coli* O157:H7 taşıyabilecektir. Bu çalışma, Türk salamura beyaz peynirinin yapımı sırasında ve olgunlaşma periyodu süresince, *E. coli* O157:H7’nin canlı kalabilme yeteneğinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada, A.Ü. Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nden temin edilen, antibiyotik içermeyen inek sütüne, pastörizasyonu takiben, çeşitli düzeylerde *E. coli* O157:H7 inokule edildikten sonra üretilen beyaz peynir örnekleri materyal olarak kullanıldı.

E. coli O157:H7 Test suşu: Çalışmada, Japonya Akita Public Health Institute’den temin edilen *E. coli* O157:H7 (EDL 931, VT 1,2 (+)), test suşu olarak kullanıldı.

Starter Kültür: Chr. Hansen R 707 peynir starter kültürü (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*-*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) ile Chr. Hansen YC 350 yoğurt starter kültürü (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*-*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) kullanıldı.

Metot

A.Ü. Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden temin edilen 100 litre inek sütüne; 72°C'de 2 dakika süre ile pastörize edildikten ve 32°C'ye soğutulduktan sonra, % 2 oranında R 707, % 0.5 oranında YC 350, % 0.02 oranında CaCl₂ ilave edildi ve her biri 25'şer litre olmak üzere 4 gruba ayrıldı. 1. grup *E. coli O157:H7* içermeyen kontrol grubunu oluştururken, 2. gruba 10² kob/g düzeyinde, 3. gruba 10⁴ kob/g düzeyinde, 4. gruba 10⁶ kob/g düzeyinde *E. coli O157:H7* inokule edildikten sonra standard yöntem ile beyaz peynir (KM % 44 ± 1) yapıldı. Bu amaçla, peynir mayası olarak, hayvansal kökenli 1/10 000 kuvvetindeki kimozi (20 ml/100 kg) kullanıldı. Yeterli derecede sertlik kazanması için 60 dakika bekletilen pıhtı 2x2x2 cm boyutlarında kesildikten sonra, cendere bezinde 2 saat süreyle baskı altında süzüldü. Teleme grupları, 8x8x8 cm ebadında kesilerek, ayrı ayrı kaplarda % 13'lük NaCl içeren salamura içerisinde 12 saat bekletildi. Salamuralardan alınan peynirler, yine ayrı ayrı % 13 NaCl içeren salamura içerisine konarak tenckelendi. 120 günlük olgunlaşma periyodu boyunca 4°C'de muhafaza edildi (1). Deneysel peynir yapımı 3 kez tekrar edildi.

E. coli O157:H7'nin peynir örneklerinde gelişimini saptamak amacıyla, her bir gruptan ayrı ayrı olmak üzere aseptik koşullarda, 0., 1., 7., 15., 30., 60., 90. ve 120. günlerde örnek alındı.

E. coli O157:H7 İzolasyonu: Süt ve peynir örneklerinden *E. coli O157:H7* izolasyon ve identifikasyonunda Ansay ve Kaspar (4) tarafından önerilen metot kullanılırken, *E. coli O157:H7*'nin peynir örneklerinde olgunlaşma periyodu boyunca seyri Most Probable Number Tekniğine (14) göre belirlenmiştir. Bu çerçevede, belirtilen günlerde, her bir gruptan aseptik koşullarda steril naylon torbalara ayrı ayrı alınan 10'ar gramlık dört örnek üzerine 90'ar ml novobiocin içeren modifiye EC broth (mEC+n) ilave edilerek, yaklaşık 2-3 dakika süre ile homojenize edildi. Homojenatlardan üçü MPN'in 10'ar gramlık ilk basamağını oluştururken, dördüncüsü daha sonraki di-

lüsyonların hazırlanması için kullanıldı. Dilüsyon yapılan tüpler 37°C'de 24 saat aerob şartlarda inkube edildi. İnkubasyon sonunda, mEC+n kültürlerinden bir öze dolusu alınarak 0.05 mg/l cefixime ve 2.5 mg/l potasyum tellürit içeren Sorbitol Mac Conkey Agar'a (CT+SMAC, OXOID CM 813) ekimleri yapılarak 37°C'de 18-24 saat inkube edildi.

Kolonilerin Değerlendirilmesi: CT+SMAC Agarda 37°C'de 24 saatlik inkubasyon sonrası üreyen sorbitol negatif kolonilerden EMB Agara (DIFCO 0076-01-8) ve 4-methyl umbelliferyl-β-D glucuronide (MUG) içeren Violet Red Bile Agara (VL, OXOID CM 107) ekim yapılarak 35°C'de 24 saat inkube edildi. β-glucuronidase aktivitesi negatif olan, EMB'de tipik *E. coli* morfolojisi göstererek üreyen ve IMViC testinde tipik biyokimyasal özellikleri (+++-) gösteren kültürlerle *E. coli O157:H7* antiserumu (DIFCO 2970-47-7) ile lamda aglutinasyon testi uygulandı. Aglutinasyon veren izolatlara *E. coli* H Antiserum H7 (DIFCO 2159-47-0) ile hareketlilik testi yapıldı (17) ve hareketlilik pozitif izolatlar *E. coli O157:H7* olarak değerlendirildi.

Tuz ve pH Tayini: Peynir örneklerinin tuz miktarları FIL/IDF'in (3) standard metoduna göre, pH değerleri ise elektronik pH metre (pH 900 NEL) ile saptandı.

Bulgular

E. coli O157:H7'nin peynir üretimi ve olgunlaşma periyodunca seyri: Her üç üretimde kullanılan çiğ süt örnekleri mikrobiyolojik yönden analize alınmış ve *E. coli O157:H7* içermedikleri saptanmıştır.

Her üç üretimde, üç farklı inokulasyon düzeyine ait bulgular Tablo 1'de ve ortalama değerlerin seyir grafikleri Grafik 1'de verilmiştir. Bu çerçevede, peynir sütlerine ortalama 2.3x10² kob/ml, 2.2x10⁴ kob/ml ve 2.4x10⁶ kob/ml düzeylerinde *E. coli O157:H7* inokule edilmiş ve tüm gruplarda üretimin teleme aşamasında yaklaşık 1 log'luk artışlar meydana geldiği, 1. günde de aynı düzeyde kaldığı gözlenmiştir.

Tablo 1. Peynir gruplarında *E. coli O157:H7*'nin seyri.
Table 1. Survival of *E. coli O157:H7* in all of the groups of cheese.

Örnek	<i>E.coli O157:H7</i> 'nin İnokulasyon Düzeyi												PH Ort.	Sıcaklık °C	Tuz %Ort
	10 ²				10 ⁴				10 ⁶						
	1. üretim MPN/g	2. üretim MPN/g	3. üretim MPN/g	\bar{x}	1. üretim MPN/g	2. üretim MPN/g	3. üretim MPN/g	\bar{x}	1. üretim MPN/g	2. üretim MPN/g	3. üretim MPN/g	\bar{x}			
Süt	3.2x10 ²	2.4x10 ²	1.6x10 ²	2.3x10 ²	4.3x10 ⁴	2.2x10 ⁴	1.2x10 ⁴	2.2x10 ⁴	3.2x10 ⁶	1.8x10 ⁶	2.0x10 ⁶	2.4x10 ⁶	6.7	32°C	-
Teleme	4.0x10 ³	1.5x10 ³	9.0x10 ²	1.7x10 ³	1.5x10 ⁵	9.0x10 ⁴	5.0x10 ⁵	1.8x10 ⁵	2.1x10 ⁷	2.0x10 ⁷	2.3x10 ⁷	1.9x10 ⁷	5.2	32°C	-
1.gün	1.1x10 ³	2.0x10 ³	9.0x10 ²	1.2x10 ³	1.1x10 ⁵	7.0x10 ⁴	2.0x10 ⁵	1.1x10 ⁵	3.2x10 ⁷	1.1x10 ⁷	1.5x10 ⁷	1.6x10 ⁷	4.8	25°C	-
7.gün	9.0x10 ²	4.0x10 ²	1.1x10 ²	3.4x10 ²	7.0x10 ³	9.0x10 ²	2.3x10 ³	2.4x10 ³	5.0x10 ⁵	2.0x10 ⁴	3.2x10 ⁵	3.2x10 ⁵	4.6	4°C	6.3±0.2
15.gün	1.1x10 ²	9.0x10 ¹	7.0x10 ¹	8.7x10 ¹	2.1x10 ³	7.0x10 ²	1.1x10 ³	1.1x10 ³	9.0x10 ⁴	2.1x10 ⁵	2.3x10 ⁵	1.6x10 ⁵	4.6	4°C	6.3±0.2
30.gün	1.1x10 ¹	9	2.0x10 ¹	1.2x10 ¹	4.0x10 ²	9.0x10 ¹	7.0x10 ²	2.9x10 ²	1.0x10 ³	1.1x10 ³	9.0x10 ³	2.1x10 ³	4.6	4°C	6.3±0.2
60.gün	2.0x10 ¹	1.1x10 ¹	9	1.2x10 ¹	5.0x10 ¹	4	2.3x10 ¹	1.6x10 ¹	1.1x10 ²	9.0x10 ²	1.1x10 ³	4.7x10 ²	4.6	4°C	6.3±0.2
90.gün	0.4	0.9	0.9	0.7	7	2.1	2.8	4	1.1x10 ¹	7.0x10 ¹	2.0x10 ²	5.3x10 ¹	4.6	4°C	6.3±0.2
120.gün	<0.030	<0.030	<0.030	<0.030	<0.030	<0.030	<0.030	<0.030	7	1.1x10 ¹	5.0x10 ¹	1.5x10 ¹	4.6	4°C	6.3±0.2

\bar{x} : 1., 2. ve 3. üretimlerin ortalaması

Not: İnokulasyon düzeylerine ve süt örneklerine ait *E. coli O157:H7* değerleri kob/ml'dir.

İnokulasyon düzeyleri, ortalama 2.3×10^2 kob/ml olan gruplarda, *E. coli O157:H7* düzeyi beyaz peynirin olgunlaşmasının 7. gününde yaklaşık 1 log'luk bir düşüşle ortalama 3.4×10^2 MPN/g, 15.günde yaklaşık 2 log'lık azalmayla ortalama 8.7×10^1 MPN/g, 30. ve 60. günde aynı düzeyde kalarak ortalama 1.2×10^1 MPN/g, 90. günde ortalama 0.7 MPN/g düzeyinde olduğu saptanmıştır. Örneklerden 120.günde yapılan analizlerde *E. coli O157:H7* izole edilememiştir (<0.030 MPN/g).

Ortalama 2.2×10^4 kob/ml düzeyinde inokulasyon yapılan gruplarda ise, olgunlaşmanın 7. gününde *E. coli O157:H7* düzeyinde yaklaşık 2 log'lık bir azalma meydana gelmiş ve 15.günde de aynı düzeyde olduğu gözlenmiştir. Olgunlaşma periyodunun, 30. ve 60. günlerinde 1'er log'lık düşüşle, sırasıyla ortalama 2.9×10^2 MPN/g, 1.6×10^1 MPN/g ve 90. günde de ortalama 4 MPN/g düzeyinde *E. coli O157:H7* saptanmıştır. 120. günde örneklerden yapılan analizlerde *E. coli O157:H7* izole edilememiştir (<0.030 MPN/g).

İnokulasyon düzeyi ortalama 2.4×10^6 kob/ml olan peynir gruplarında, 7.günde yaklaşık 2 log'lık düşüşle ortalama 3.2×10^5 MPN/g bulunan *E. coli O157:H7* sayısı, 15. günde de hemen hemen aynı düzeyde kalmış, 30. günde yaklaşık 2 log daha azalarak ortalama 2.1×10^3 MPN/g, 60. ve 90. günlerde 1'er log'lık azal-

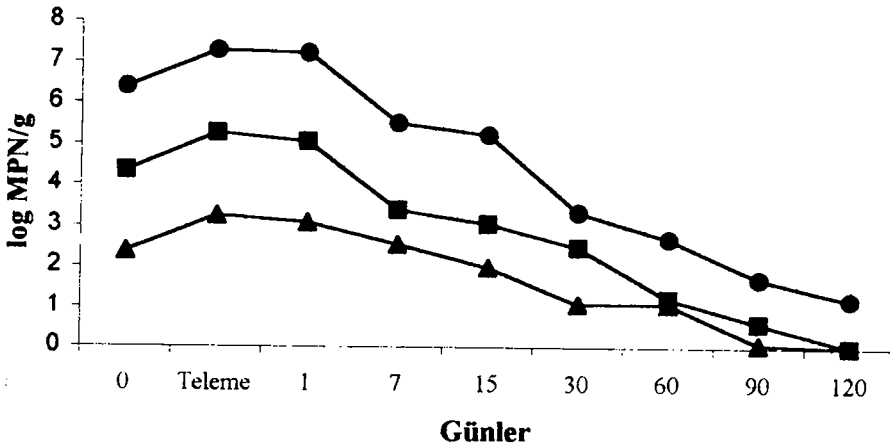
mayla, sırasıyla, ortalama 4.7×10^2 MPN/g ve 5.3×10^1 MPN/g düzeyinde olduğu saptanmıştır. 120. günde yapılan analizlerde, örneklerde, ortalama 1.5×10^1 MPN/g düzeyinde *E. coli O157:H7* olduğu belirlenmiştir.

pH değerlerinin seyri ve tuz miktarı: Peynir gruplarında pH değerlerinin seyri Tablo 1'de verilmiştir. Bu çerçevede, peynir yapımında kullanılan sütlerde ortalama pH'nın 6.7 olduğu, telemede 5.2-5.3 arasında değiştiği, 1.gün 4.8 olduğu ve olgunlaşmanın 7.günü 4.65'e düştüğü saptanmıştır. Tüm peynir üretimlerinde peynirlerdeki tuz miktarı ortalama % 6.3 ± 0.2 olduğu ve olgunlaşma periyodu boyunca değişmediği belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Başlıca rezervuarı, süt inekleri olan *E. coli O157:H7*, çiğ, yetersiz pastörize edilen veya pastörizasyon sonrası kontamine olan sütlerin üretimde kullanılması ile süt ürünlerini kontamine ederek, tüketim aşamasına kadar varlığını sürdürebilmektedir (24,25,26,31).

Türkiye'de yaygın olarak tüketilen salamura beyaz peynirde, *E. coli O157:H7*'nin 120 günlük olgunlaşma periyodu boyunca canlı kalma süresini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, 10^2 kob/ml, 10^4 kob/ml ve 10^6 kob/ml düzeylerinde süte inokulasyon yapılarak de-



İnokulasyon düzeyleri : ▽ 10^2 kob/ml, ◻ 10^4 kob/ml, ○ 10^6 kob/ml

Grafik 1. Beyaz peynirin yapımı ve olgunlaşması sırasında *E. coli O157:H7*'nin seyri
Graphic 1. Survival of *E. coli O157:H7* during manufacturing and ripening of white cheese

neysel olarak üretilen peynir gruplarının tamamında, teleme aşamasında yaklaşık 1 log'lık artış meydana gelmiş ve 1. günde de yaklaşık aynı seviyede kalmıştır. Bu durumun, sıcaklığın telemede 32°C, peynirde 25°C, pH'nın 5.2-6.5 değerleri arasında bulunmasından ve tuzun merkeze kadar işlememiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde, çeşitli peynirlerde yapılan dencysel çalışmalarda da peynir üretimini takip eden 24 saat içerisinde, süte inokule edilen düzeyden, daha fazla sayıda *E. coli* 0157:H7 saptandığı bildirilmektedir (5,26).

E. coli 0157:H7'nin inokulasyon düzeyi 10² kob/ml olan peynir üretimlerinde, 7. gün yapılan ekimlerde 1 log'lık, 10⁴ kob/ml ile 10⁶ kob/ml düzeylerinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında ise 2 log'lık düşüş meydana gelmiştir. Akgün (1) yaptığı çalışmada, olgunlaşma sırasında beyaz peynir katmanlarının fiziko-kimyasal özelliklerini her gün incelemiş, 1.günde peynirin dış katmanlarında tuz konsantrasyonunun çok fazla, asitlik düzeyinin çok düşük ve sıcaklığın 4°C olduğunu, bunun aksine merkezde, tuz miktarının çok düşük, asitliğin çok yüksek ve sıcaklığın ≈18°C olduğunu, 7. günde ise dengenin sağlandığını, tuz ve asitlik miktarlarının peynirin tamamında aynı düzeyde olduğunu saptamıştır. Dencysel olarak yaptığımız peynir örneklerinde de, *E. coli* 0157:H7 düzeyinde, 7. gün meydana gelen 1 log ve 2 log'lık azalmanın, peynirin sıcaklığının 4°C'ye kadar düşmesi ile asitliğin ve tuzun peynirin tamamında eşit düzeyde olması sonucu *E. coli* 0157:H7'nin baskılanmasından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

90. gün ekimlerinde ise 10² kob/ml ile 10⁴ kob/ml düzeylerinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında *E. coli* 0157:H7 sayısının sırasıyla ortalama 0.7 MPN/g ve 4 MPN/g ile hemen hemen aynı seviyede olduğu gözlenmiş, 10⁶ kob/ml düzeyinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında ise ortalama 5.3 x 10¹ MPN/g'a düştüğü saptanmıştır. Benzer şekilde, Reitsma ve ark. (26) yaptıkları dencysel çalışmalarında cheddar peynir sütüne 1.0x10³ kob/ml ve 1 kob/ml düzeyinde *E. coli* 0157:H7 inokule etmişler ve 60. günde 10³ kob/ml düzeyindeki peynirde 2 log'lık azalma meydana gelirken, 1 kob/ml

düzeinin değişmeden kaldığını saptamışlardır. Massa ve ark. (24) yaptıkları çalışmada, yoğurt sütüne 3.52 log ve 7.08 log kob/ml *E. coli* 0157:H7 inokule edildiğini, 7. gün yapılan ekimlerde düşük inokulasyon düzeyinde 1 log, yüksek inokulasyon düzeyinde ise 2 log'lık düşüş meydana geldiğini bildirmektedirler.

Çalışmada, 30. gün yapılan analizlerde, 10² kob/ml, 10⁴ kob/ml ve 10⁶ kob/ml düzeyinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında *E. coli* 0157:H7 düzeyi sırasıyla ortalama 1.2 x 10¹ MPN/g, 2.9 x 10² MPN/g ve 2.1 x 10³ MPN/g olarak saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada (21), yapım tekniği bakımından Türk salamura beyaz peynirine benzeyen Feta peynir sütüne 1.0 x 10⁴ kob/ml *E. coli* 0157:H7 inokule edildiği ve peynirin 10°C'de % 7 salamura içerisinde muhafaza edildiği, pH'sının 4.8 olduğu, 27. gün yapılan analizlerde *E. coli* 0157:H7 sayısının 1.3 log kob/ml'nin altına düştüğü bildirilmektedir. Çalışmada, peynirlerin muhafaza edildiği salamuranın NaCl oranı % 13 ve pH 4.6 olmasına karşın ortalama 2.4 x 10⁴ kob/ml düzeyinde inokulasyon yapılan peynir gruplarında, 30. günde *E. coli* 0157:H7 düzeyinin 2.9 x 10² MPN/g'a düştüğü saptanmıştır. Bu durumun, peynirlerin muhafaza sıcaklığının 4°C olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. *E. coli* 0157:H7'nin canlı kalma yeteneği üzerine düşük muhafaza sıcaklıklarının, yüksek muhafaza sıcaklıklarına oranla daha olumlu etki yaptığı çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (12,19,33). Conner ve ark. (12) tarafından yapılan çalışmada, laktik asitle pH'sı 4.7'ye ayarlanan % 0.6 yeast extract içeren Trytic Soy Broth'a 10⁵ kob/ml düzeyinde *E. coli* 0157:H7 inokule edilmiş ve 4°C'de muhafazada 56. günün sonunda *E. coli* 0157:H7 düzeyinin değişmeden 10⁵ kob/ml olarak kaldığını, 10°C'de muhafazada ise aynı süre sonunda 2 log'lık azalma ile 10³ kob/ml'ye düştüğü saptanmıştır. Guraya ve ark. (19) sütün pH'sını laktik asitle 4.4 ve 4.7'ye ayarladıktan sonra, 4°C ve 12°C'de 35 gün muhafaza etmişler, *E. coli* 0157:H7 düzeyindeki düşmenin 12°C'lik muhafazada, 4°C'ye oranla daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır. Wcagant ve ark. (33) *E. coli* 0157:H7 inokule edilen, mayonez ve mayonezli sosları 5°C, 7°C ve 25°C'de muhafaza etmişler, 25°C'lik muhafazada 72 saat sonra *E.*

E. coli O157:H7'nin tamamen elimine olduğunu, 7°C'lik muhafazada 35 gün ve 5°C'lik muhafazada ise 35 günden daha fazla bir süre canlılığını sürdürdüğünü saptamışlardır.

Çalışmada, 90. gün yapılan ekimlerde her üç üretimde de tüm inokulasyon düzeylerinde *E. coli O157:H7*'nin varlığı belirlenmiş, 120. gün ise inokulasyon düzeyleri ortalama 10^2 kob/ml ve 10^4 kob/ml olan peynir gruplarında *E. coli O157:H7*'nin tamamen elimine olduğu, ortalama 10^6 kob/ml düzeyinde inokulasyon yapılan peynirlerde ise, ortalama 1.5×10^1 MPN/g düzeyinde *E. coli O157:H7* bulunduğu saptanmıştır. Bu konuda, yapılan çalışmalarda, farklı peynirlerin üretim koşullarının farklı olmasına bağlı olarak, *E. coli O157:H7*'nin üreme, canlı kalma ve eliminasyon süresinde farklılıklar bulunmaktadır. Hudson ve ark. (21) yaptıkları çalışmada, Colby ve Romano peynirlerine 1.0×10^4 kob/ml düzeyinde *E. coli O157:H7* inokule edildiğini ve *E. coli O157:H7* düzeyinin Colby ve Romano peynirlerinde sırasıyla 27. ve 30. günlerde saptama sınırının ($1.3 \log$ kob/ml) altına düştüğünü bildirmektedirler. Reitsma ve ark. (26) Cheddar peynir sütüne 1.0×10^3 kob/ml düzeyinde inokule edilen *E. coli O157:H7*'nin 158 gün boyunca canlı kalabildiğini saptamışlardır. Cheddar peynirinin % 2.75-3.76 NaCl içerdiği ve pH'sının da 4.95-5.2 arasında değiştiği ve 2°C'de muhafaza edildiği bildirilmektedir. Cottage peynirinde *E. coli O157:H7*'nin canlı kalma yeteneğini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada (5) peynir sütüne *E. coli O157:H7* inokule edilmiş, haşlama işlemine kadar geçen sürede *E. coli O157:H7*'nin sayısının yaklaşık 2 log arttığı, haşlama işleminden sonra tamamen elimine olduğu saptanmıştır.

E. coli O157:H7'nin inaktivasyonunda NaCl konsantrasyonu, muhafaza sıcaklığı ve süresinin sinerjistik etki yaparak rol oynadığı, pH 4.1-4.7 arasında tuzun inhibe edici etkisinin maksimum düzeye ulaştığı bildirilmektedir (19). Glass ve ark. (18) yaptıkları çalışmada, *E. coli O157:H7*'nin % 6.5 NaCl'li ortamda üreyebildiğini, bununla birlikte, süt ürünlerinde *E. coli O157:H7*'nin % 6 NaCl'de pH 5-5.4 ara-

sında üreyemediğini, fakat canlı kalabildiğini ortaya koymuşlardır. Çeşitli çalışmalarda *E. coli O157:H7*'nin düşük pH'da canlı kalabilme yeteneği farklı bulunmuştur. Glass ve ark. (18) laktik asitle pH'sı 4.5'e ayarlanmış Tryptic Soy Broth'da *E. coli O157:H7*'nin 7 gün sonra saptanamayacak düzeye düştüğünü, pH 3.5 ve 4.0'de ise tamamen elimine olduğunu bildirmektedir. Besser ve ark. (6) taze sıkılmış elma sularında pH 4'ün altında 8°C'de 20 gün canlı kaldığını, Guraya ve ark. (19) ise pH'sı 4.4-4.7'ye ayarlanmış süt içerisinde 4°C ve 12°C'lerde 35 gün canlı kalabildiğini bildirmektedirler. Leyer ve ark. (22) asit ortama adapte edilen ve asit ortama adapte edilmeyen *E. coli O157:H7* test suşlarını sucuk, salam ve meyve suyuna inokule etmişler, asit ortama adapte edilen test suşunun adapte edilmeyene oranla asitliğe daha dirençli olduğunu ve bu özelliğin canlı kalma yeteneği üzerinde önemli rol oynadığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca yapılan deneysel çalışmalarda (5,15,26), orijini farklı birden fazla *E. coli O157:H7* test suşu karışımının kullanıldığı bildirilmektedir. Çalışmamızda, asit ortama adapte edilmeyen, sadece bir *E. coli O157:H7* test suşu olarak kullanılmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışma ile önemli bir gıda patojeni olan *E. coli O157:H7*'nin, Türk salamura beyaz peynirinin 120 gün olgunlaşma periyodu boyunca, 10^2 ve 10^4 kob/ml düzeyinde kontamine olduğu zaman elimine olduğu, 10^6 kob/ml kontaminasyonda ise canlılığını sürdürdüğü saptanmıştır. Bu durumda, olası bir *E. coli O157:H7* kontaminasyonunda Türkiye'de, tüm yaş grupları tarafından yaygın olarak tüketilen, taze ve/veya olgunlaşma süresi kısa tutulan salamura beyaz peynir, halk sağlığı yönünden ciddi risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, peynir işletmelerinde HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) sisteminin uygulanarak, peynir yapımında kullanılan sütün pastörizasyon kontrolünde gereken özenin gösterilmesinin, pastörizasyon sonrası kontaminasyonun önlenmesinin ve oto kontrollerin yapılmasının, halk sağlığının korunmasında büyük önem taşıdığı sonucuna varılmıştır. *

Kaynaklar

1. Akgün,S., Anar,Ş. (1991) Vakum paketlenmiş beyaz peynirlerde tuzun difüzyonu üzerine araştırmalar. Gıda-Yem Derg. 1. 14-19.
2. Akkuş,F. (1996) Hazır sığır kıymalarında verotoksin oluşturan *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. Doktora Tezi. AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
3. Anon. (1972) Fromage: Determination de la teneur en chlorures. FIL/IDF. Norme 4.
4. Ansay,S.E., Kaspar,C.W. (1997) Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *E. coli* O157:H7. Lett Appl Microbiol, 25, 131-134.
5. Arocha,M.M., Mcvey,M., Loder,S.D., Rupnow,J.H., Bullerman,L. (1992) Behaviour of hemorrhagic *E. coli* O157:H7 during the manufacture of Cottage cheese. J Food Prot, 55, 379-381.
6. Besser,,R.E., Lett,S.M., Weber,J.T., Doyle,M.P., Barrett,T.J., Wells,J.G., Griffin,P.M. (1993) An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *E. coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. JAMA. 269. 2217-2220.
7. Borczyk,A.A.,Karmali,M.A., Lior,H., Duncan, L.M.C. (1987) Bovine reservoir for verotoxin producing *E. coli* O157:H7. Lancet, 337, 98.
8. Brown,C.A., Harmon,B.G., Zhao,T., Doyle,M.P. (1997) Experimental *E. coli* O157:H7 carriage in calves. Appl Environ Microbiol. 63, 27-32.
9. Buchanan,R.L., Doyle,M.P. (1997) Foodborne disease significance of *E. coli* O157:H7 and other Enterohemorrhagic *E. coli*. Food Technol, 51, 69-76.
10. Chapman,P.A., Siddons,C.A., Wright,D.J., Norman,P., Fox,J., Crick,E. (1992) Cattle as source verotoxigenic *E. coli* O157. Epidemiol Infect, 111, 439-447.
11. Chapman,P.A., Wright,D.J., Higgins,R. (1993) Untreated milk as a source of verotoxigenic *E. coli* O157. Vet Rec. 133. 171-172.
12. Conner,D.E., Kotrola,J.S. (1995) Growth and survival of *E. coli* O157:H7 under acidic conditions. Appl Environ Microbiol. 61. 382-385.
13. Cray,W.C., Moon,H.W. (1995) Experimental infection of calves and adult cattle with *E. coli* O157:H7. Appl Environ Microbiol. 61, 1586-1590.
14. De Man,J.C. (1983) MPN-tables corrected. J Appl Microbiol Biotechnol. 17:301-305. "Alınmıştır" Anon. (1984) General guidance for enumeration of presumptive *Escherichia coli*- Most Probable Number technique. ISO,7251.
15. Dineen,S.S., Takeuchi,K, Soudah,J.E., Boor,K.J. (1998) Persistence of *E. coli* O157:H7 in dairy fermentation systems. J Food Prot. 61, 1602-1608.
16. Doyle,M.P. (1991) *E. coli* O157:H7 and its significance in foods. Int J Food Microbiol, 12, 289-302.
17. Farmer,J.J., Davis,B.R. (1985) H7 antiserum sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J Clin Microbiol. 22. 620-625.
18. Glass,K.A., Loeffelholz,J.M., Ford,J.P., Doyle,M.P. (1992) Fate of *E. coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chlorid and in fermented dry sausage. Appl Environ Microbiol, 58, 2513-2516. In: Guraya,R., Frank,J.F., Hassan,A.N. (1998) Effectiveness of salt, pH and diacetyl as inhibitors for *E. coli* O157:H7 in dairy foods stored at refrigeration temperature. J Food Prot, 61, 1098-1102.
19. Guraya,R., Frank,J.F., Hassan,A.N. (1998) Effectiveness of salt, pH and diacetyl as inhibitors for *E. coli* O157:H7 in dairy foods stored at refrigeration temperature. J Food Prot. 61. 1098-1102.
20. Hancock,D.D., Rice,D.H., Thomas,L.A., Dargatz, D.A., Besser,T.E. (1997) Epidemiology of *E. coli* O157 in feedlot cattle. J Food Prot. 60. 462-465.
21. Hudson,L.M., Chen,J., Hill,A.R., Griffiths,M.W. (1997) Bioluminescence: A rapid indicator of *E. coli* O157:H7 in selected yoghurt and cheese varieties. J Food Prot. 60. 891-897.
22. Leyer,G.J., Wang,L.L., Johnson,E.A. (1995) Acid adaptation of *E. coli* O157:H7 increases survival in acidic foods. Appl Environ Microbiol. 61, 3752-3755.
23. Martin,M.L., Shipman,L.D., Wells,J.G., Potter, M.E., Hedberg,K., Wachsmuth,I.K., Tauxe,R.V., Davis,J.P., Arnoldi,J., Tilleli,J. (1986) Isolation of *E. coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of haemolytic uraemic syndrome. Lancet. 336,1043.
24. Massa,S., Altieri,C., Quaranta,V., De Pace,R. (1997) Survival *E. coli* O157:H7 in yoghurt during preparation and storage at 4°C. Lett Appl Microbiol. 24, 347-350.
25. Morgan,D., Newman,C.P., Hutchinson,D.N., Walker,A.M., Rowe,B., Majid,F. (1993) Verotoxin producing *E. coli* O157 infectious associated with the consumption of yoghurt. Epidemiol Infect. 111. 181-187.
26. Reitsma,C.J., Henning,D.R. (1996) Survival of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 during the manufacture and curing of cheddar cheese. J Food Prot. 59. 460-464.
27. Riley,I.W., Remis,R.S., Mcgee,H.B., Wells,J.G., Davis,B.R., Hebert,R.J., Olcott,E.S., Johnson,L.M., Haggrett,P.A., Blake,P.A., Cohen,M.L. (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare type *E. coli* serotype. N Engl J Med. 308. 681-685.
28. Ryser,E.T. (1998) Public Health Concerns. 318-323. In: E.H. Marth, J.L. Steele (Eds.): Applied Dairy Microbiology. Marcel Decker. Inc., New York.
29. Stavric,S., Speirs,J.I. (1989) *E. coli* associated with hemorrhagic colitis. Can Inst Sci Technol J. 22, 205-208.
30. Tarr,P.I. (1994) *E. coli* O157:H7: Overview of clinical and epidemiological issues. J Food Prot. 57. 632-636.
31. Upton,P., Coia,J.E. (1994) Outbreak of *E. coli* O157 infection associated with pasteurised milk supply. Lancet. 344. 1015.

32. Wang,G., Zhao,T., Doyle,M.P. (1996) Fate of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 in bovine feces. *Appl Environ Microbiol.* **62**, 2567-2570.
33. Weagant,S.D., Bryant,J.I., Bark,D.H. (1994) Survival of *E. coli* O157:H7 in mayonnaise and mayonnaise-based sauces at room and refrigerated temperatures. *J Food Prot.* **57**, 629-631.
34. Wells,J.G., Shipman,L.D., Greene,K.D., Sowers,E.G., Green,E.J., Cameron,D.N., Downes,F.P., Martin,M.L., Griffin,P.M., Ostroff,S.M., Potter,M.E., Tauxe,R.V., Wachsmuth,I.K. (1991) Isolation of *E. coli* serotype O157:H7 and other shiga-like-toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. *J Clin Microbiol.* **29**, 985-989.
35. Zhao,T., Doyle,M.P., Besser,R.E. (1993) Fate of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl Environ Microbiol.* **59**, 2526-2530.
36. Zhao,T., Doyle,M.P., Shere,J., Garber,L. (1995) Prevalence of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *Appl Environ Microbiol.* **61**, 1290-1293.

Yazışma adresi:

Araş.Gör.Dr. Özlem Küplülü
Ankara Üniversitesi Besin Hijyeni
ve Teknolojisi Anabilim Dalı
06110 Dışkapı-ANKARA