

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**NİSİN VE EDTA TUZLARININ TÜRK TİPİ KÖFTELERDE
ESCHERICHIA COLI O157:H7 VE STAPHYLOCCOCUS
AUREUS VARLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ**

SÜMEYRE İPEK TURGAY

**DANIŞMAN
DOÇ.DR.ÖMER ÇETİN**

**BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Programında Sümeyre İpek TURGAY tarafından hazırlanan "Nisin ve EDTA Tuzlarının Türk Tipi Köftelerde Escherichia coli O157:H7 ve Staphylococcus aureus'un Varlığı Üzerine Etkisi" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

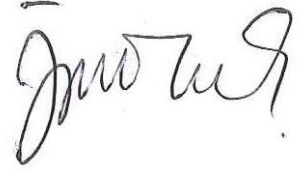
05 / 07 / 2013

Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|--|---|
| 1.Prof.Dr.Şahsen ANAR Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı |  |
| 2.Prof.Dr.Hilal ÇOLAK ÜZÜM İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı |  |
| 3.Doç.Dr.Özge ÖZGEN ARUN İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı |  |
| 4.Doç.Dr.Ömer ÇETİN İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (Danışman) |  |
| 5.Doç.Dr.Serkan İKİZ İ.Ü.Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı |  |

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

SÜMEYRE İPEK TURGAY

İTHAF

Bu tez çalışmamı sevgili eşime, biricik anneme ve canım babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında ve tezimin hazırlanmasında bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr.Ömer Çetin'e,

Değerli düşünce ve önerilerini benden esirgemeyen Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özer Ergün'e,

Laboratuvar çalışmalarında beni destekleyen ve bana yol gösteren Doç. Dr. Hilal Çolak, Dr. Barış Bingöl ve Uzm.Meryem Akhan'a,

Beni her konuda destekleyen ve her zaman yanımda olan sevgili eşime, biricik anneme ve canım babama en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 11331

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kıymanın Mikrobiyolojik Özellikleri	3
2.2. Köftenin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	5
2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.3.1. Genel Özellikleri	7
2.3.2. Stafilokokal Enterotoksinler	9
2.3.2.1. Genel Özellikleri	9
2.3.2.2. Stafilokokal Enterotoksinler ve Gıda Zehirlenmeleri	10
2.3.3. Gıdalarda <i>S. aureus</i> Varlığı.....	11
2.4. <i>E. coli</i> O157:H7	13
2.4.1. Genel Bilgiler.....	13
2.4.2. Gıdalarda <i>E. coli</i> O157:H7 Varlığı	14
2.4.3. <i>E. coli</i> O157:H7 Serotipinin Sebep Olduğu Hastalıklar	16
2.5. Bakteriyosinler ve Nisin	18
2.5.1. Bakteriyosinlerin Tanımı	18
2.5.2. Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması	20
2.5.3. Bakteriyosinlerin Sentezi ve Etki Mekanizması	21
2.5.4. Bakteriyosinlerin Gıdalarda Kullanımı	21
2.5.5. Nisinin Tanımı ve Kimyasal Yapısı.....	22

2.5.6. Nisinin Gıdalarda Kullanımı	25
2.5.7. Nisinin Diğer Maddeler ve Farklı Teknikler ile Birlikte Kullanımı	27
2.5.8. Nisin ve EDTA Tuzlarının Gıdalarda Birlikte Kullanımı.....	29
2.5.9. Patojen Bakterilerin Nisin Direnci	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Gereç	32
3.1.1. Köfte Hamuru İçeriği	32
3.1.2. Alet ve Cihazlar	32
3.1.3. Besiyeri, Kimyasal Madde ve Suşlar	33
3.2. Yöntem.....	34
3.2.1. <i>S. aureus</i> ATCC 25923 ve <i>E. coli</i> O157:H7 NCIMB 13861 Suşlarının Hazırlanması	34
3.2.2. Nisin Solüsyonunun Hazırlanması.....	34
3.2.3. EDTA Solüsyonunun Hazırlanması.....	34
3.2.4. Deneysel Köfte Örneklerinin Hazırlanması	34
3.2.5. Laboratuvar Analizleri	36
3.2.5.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı	36
3.2.5.2. Toplam Koliform Bakteri Sayımı	36
3.2.5.3. <i>E. coli</i> Sayımı	37
3.2.5.4. Küf-Maya Sayımı.....	37
3.2.5.5. <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı.....	37
3.2.5.6. <i>E. coli</i> O157:H7 Sayımı	37
3.2.5.7. <i>Salmonella</i> Sayımı	37
3.2.5.8. pH Tayini	38
3.2.5.9. Su Aktivitesi (a_w) Tayini	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Deneysel Köfte Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	39
4.1.1. Köfte Hamuru Başlangıç Florası.....	39
4.1.2. <i>S. aureus</i> Analiz Sonuçları.....	39
4.1.3. <i>E. coli</i> O157:H7 Analiz Sonuçları	42
4.1.4. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Analiz Sonuçları.....	45
4.2. Deneysel Köfte Örneklerinin Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları	48
4.2.1. Köfte Örneklerinin pH Değeri Analizi Sonuçları	48

4.2.2. Köfte Örneklerinin Su Aktivitesi (a_w) Analiz Sonuçları	48
5. TARTIŞMA	51
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	76

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Laktik Asit Bakterileri Tarafından Sentezlenen Bakteriyosinler ve Sınıfları	19
Tablo 2-2: Gıdalara Uygulanan Bazı Bakteriyosinler ve Etkileri.....	22
Tablo 2-3: Nisin Kullanımına İzin Verilen Gıdalar ve Limitleri (Codex Alimentarius)	27
Tablo 2-4: Nisin Kullanımına İzin Verilen Gıdalar ve Limitleri (Türk Gıda Kodeksi 2011).....	27
Tablo 2-5: EDTA Kullanımına İzin Verilen Gıdalar ve Limitleri (Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği 2011).....	30
Tablo 3-1: McFarland Standartlarına Karşılık Gelen Bakteri Yoğunluğu	34
Tablo 3-2: Deney Grupları.....	36
Tablo 4-1: Deneysel Köfte Örneklerinde Saptanan <i>S. aureus</i> Sayıları (kob/g).....	40
Tablo 4-2: Deneysel Köfte Örneklerinde Saptanan <i>E. coli</i> O157:H7 Sayıları (kob/g) ..	43
Tablo 4-3: Deneysel Köfte Örneklerinde Saptanan Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayıları (kob/g)	46
Tablo 4-4: Deneysel Köfte Örneklerinin pH Analizi Sonuçları	49
Tablo 4-5: Deneysel Köfte Örneklerinin a_w Analizi Sonuçları.....	50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Nisinin Kimyasal Yapısı	23
Şekil 2-2: Nisinin Amino Asit Yapısı (Koponen 2004)	23
Şekil 3-1: Deneysel Köfte Örneklerinin Hazırlık ve Analizi İş Akış Şeması.....	35
Şekil 4-1: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisinin <i>S. aureus</i> 'un Üremesi Üzerine Etkisi	40
Şekil 4-2: Deneysel Köfte Örneklerinde Farklı EDTA Miktarlarının <i>S. aureus</i> 'un Üremesi Üzerine Etkisi	41
Şekil 4-3: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin ve EDTA Kombinasyonlarının <i>S. aureus</i> 'un Üremesi Üzerine Etkisi.....	41
Şekil 4-4: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının <i>S. aureus</i> 'un Üremesi Üzerine Etkileri	42
Şekil 4-5: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisinin <i>E. coli</i> O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkisi	43
Şekil 4-6: Deneysel Köfte Örneklerinde Farklı EDTA Miktarlarının <i>E. coli</i> O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkisi.....	44
Şekil 4-7: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin ve EDTA Kombinasyonlarının <i>E. coli</i> O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkisi.....	44
Şekil 4-8: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının <i>E. coli</i> O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkileri	45
Şekil 4-9: Köfte Hamurunda Nisinin Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi	46
Şekil 4-10: Köfte Hamurunda Farklı EDTA Miktarlarının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi	47
Şekil 4-11: Köfte Hamurunda Nisin ve EDTA Kombinasyonlarının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi	47
Şekil 4-12: Köfte Hamurunda Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi	48
Şekil 4-13: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının pH Değeri Üzerine Etkisi.....	49
Şekil 4-14: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının a_w Değeri Üzerine Etkisi.....	50

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- aw : Su aktivitesi
EDTA : Etilendiamintetraasetikasit
EFSA : European Food Safety Authority
FDA : Food and Drug Administration
GRAS : Generally Recognized As Safe
IU : Internasyonel Ünite
KOB : Koloni oluşturan birim
LOG : Logaritma

ÖZET

TURGAY S.İ. Nisin ve EDTA Tuzlarının Türk Tipi Köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus* Varlığı Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2013

Bu çalışma, laktik asit bakterileri tarafından üretilen ve doğal bir antimikrobiyal madde olan nisin ve EDTA tuzlarının, gerek tek başlarına gerekse birlikte kullanımlarının, Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerine etkisinin tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla tüketicilerin en çok tercih ettiği gıdalar arasında yer alan köftede, nisin, EDTA ve kombinasyonlarının tüketici sağlığını tehdit eden *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 üzerine etkisi araştırılmıştır.

Deneysel olarak hazırlanan köfte örnekleri, biri kontrol grubu olmak üzere toplam altı gruba ayrılmıştır. Gruplarda *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* sayıları 10^7 kob/g, nisin ve EDTA konsantrasyonları ise 1. grupta nisin ve EDTA olmayacak şekilde, 2. grupta 1000 IU/g nisin, 3. grupta 10 mM EDTA, 4. grupta 50 mM EDTA, 5. grupta 1000 IU/g Nisin ile 10 mM EDTA ve 6. grupta 1000 IU/g Nisin ile 50 mM EDTA olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan köfte örnekleri porsiyonlanarak paketlenmiştir.

Deneysel köfte örnekleri 0., 2., 4., 6., 9. ve 12. günlerde, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* yönünden, *E. coli* O157:H7 ya da *S. aureus* inokule edilmeyen köfte örnekleri ise toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, pH ve a_w değerleri yönünden analiz edilmiştir.

Elde edilen bulgular kontrol grubu ile kıyaslandığında, nisin ve EDTA'nın birlikte kullanılmasının, Gram (+) bakteri olan *S. aureus* ve Gram (-) bir bakteri olan *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine engelleyici ve yavaşlatıcı bir etkisi olduğu, nisin ve EDTA'nın birlikte kullanılması kadar olmasa da EDTA'nın tek başına kullanılmasının da *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine engelleyici ve yavaşlatıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Tüketici sağlığı üzerine herhangi bir zararı olmayan ve gıdalarda kullanımına izin verilen nisin ile EDTA'nın başta köfte olmak üzere gıdalarda kullanımının yaygınlaştırılarak, koruyucu amaçla kullanılan sağlığa zararlı diğer kimyasal katkı maddelerinin kullanımının sınırlandırılabilmesi ve azaltılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Köfte, nisin, EDTA, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 11331

ABSTRACT

TURGAY S.İ. Effect of Nisin and EDTA on Presence of Escherichia coli O157:H7 and Staphylococcus aureus in Turkish Meatballs. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Food Hygiene and Technology, PhD Thesis.2013.

This study has been carried for the purposes of determining the effects of a natural antimicrobial substance nisin, produced by lactic acid bacteria, and EDTA – used either together or separately - on Gram (+) and Gram (-) bacteria. For this purpose, it has been intended to examine the effects of nisin, EDTA and the combination thereof on *S. aureus* and *E. coli* O157:H7 in meatballs, being one of the most preferred foods.

Meatball dough was contaminated with *E.coli* O157:H7 and *S.aureus* separately at concentration of 10^7 cfu/g. Experimentally contaminated meatball samples were divided into 6 equal groups. No nisin or EDTA were added in the group 1 – control group, nisin was added to group 2 with concentration of 1000 IU/g, 10 mM EDTA in group 3, 50 mM EDTA in group 4, combination of 1000 IU/g Nisin and 10 mM EDTA in group 5 and combination of 1000 IU/g Nisin and 50 mM EDTA was added to group 6. Prepared meatballs were portioned and packaged.

Experimentally contaminated meatball samples have been examined at 0, 2, 4, 6, 9 and 12th days for *E. coli* O157:H7 and *S. aureus*. Also aerobic mesophilic bacteria count and physico-chemical analyses (pH and a_w) have been carried out for the meatballs which does not contain *E. coli* O157:H7 or *S. aureus*.

When the findings were compared to the control group, it has been observed that, nisin and EDTA combinations are decreased both *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* count in the samples. Even if it is not effective as the combination of nisin and EDTA, EDTA being added separately was also decreased *E. coli* O157:H7 count.

It has been concluded that the use of other chemical preservative additives those are harmful to human health, can be limited by using nisin and EDTA more commonly in foods, especially in meatballs, both of which do not have any harmful effects on consumer health and are permitted to be used in foods.

Key Words: Meatballs, nisin, EDTA, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No.11331

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Özellikle büyük şehirlerde yoğun iş yaşamı sebebiyle “zaman” en önemli konu haline gelmiştir. Tüketiciler, zamandan tasarruf etmek amacıyla pratik hazırlanabilen ve aynı zamanda lezzetli olan gıda arayışına girmişlerdir. Her geçen gün, teknolojinin ilerlemesiyle bu talabe karşılık pek çok hazır gıda üretilmekte ve satışa sunulmaktadır. Türkiye’de, tüketicilerin çoğu et ve et ürünlerini kıyma formunda kullanmayı tercih ettiğinden, çeşitli tipteki pişmeye hazır köfteler, hazır gıda sektörünün önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ancak et ürünlerinde bulunabilen, *Escherichia coli* O 157:H7 ve *Staphylococcus aureus* gibi bazı patojen mikroorganizmalar tüketici ve halk sağlığını ciddi şekilde tehdit etmektedir (Blake ve ark. 1996; Sırıken 2004).

E. coli insan ve hayvanların bağırsaklarında doğal olarak bulunan Enterobacteriaceae familyasından, Gram (-), fakültatif anaerob çomaklardır (Uğur ve ark. 2001). *E. coli* O157:H7, ürettiği verotoksin ile kanlı diarenin yanı sıra hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom gibi ciddi hastalıklara sebep olabilen bir *E. coli* serotipidir (Griffin ve Tauxe 1991). İlk kez 1982 yılında Amerika’da çıkan salgın ile gıda kaynaklı bir patojen olduğu tespit edilmiştir (Doyle 1991). İyi pişirilmemiş köfteler, çiğ et, süt, salata sosları ve iyi yıkanmamış sebzeler insanlara bulaşma kaynağıdır (Neill 1989). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’nde, *E. coli* O157’nin 25 g üründe hiç bulunmaması gerektiği bildirilmektedir.

Tüketici sağlığı açısından tehlike arz eden diğer bir patojen bakteri de *S. aureus*’dur. *S. aureus* Gram (+), fakültatif anaerob, hareketsiz koklardır. Bazı suşları, ürettikleri enterotoksinler sebebiyle gıda zehirlenmesine sebep olabilmektedirler (Arbuthnott ve ark. 1990). Gıdalardaki *S. aureus* toksinleri, normal pişirme, pastörizasyon ve diğer basit ısı uygulamalarına karşı dirençlidir (Uğur ve ark. 2001). *S. aureus* zehirlenmeleri insanlarda abdominal kramp, bulantı, kusma ve intestinal kanalda oluşturdukları yangı sebebiyle diareye sebep olurlar (Yves Le Loir ve ark. 2003). Etken, hava, toz, su, atık su, insekt gibi kaynaklarda yaygın olarak bulunur. Ancak başlıca kaynak insandır. Sağlıklı insanların %30-50’si *S. aureus* taşır (Yves Le Loir ve ark. 2003). Burun-boğaz boşluğunda, deride, ellerde, enfekte yaralarda, dışkıda, apse ve sivilcelerde çok sayıda *S. aureus* bulunabilir. *S. aureus*’un sıklıkla izole edildiği gıdalar kırmızı et, balık, tavuk eti, ısı işlem görmüş ürünler, yumurtalı ve kremalı

ürünler ile meyve, sebze ve salatalardır (Uğur ve ark. 2001). Türk Gıda Kodeksi Çiğ Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği'nde (Tebliğ no: 2006/31), beş adet numunenin üç adedinde, numunenin 1 g'da bulunabilecek *S. aureus* miktarı en fazla 5×10^2 kob/g, iki adedinde ise 5×10^3 kob/g olarak belirlenmiştir.

Bahsi geçen patojen mikroorganizmalar köftelere, kontamine hammaddelerin ve baharatların üretimde kullanılması, üretimin hijyen kontrol programları çerçevesinde yapılmaması, personelin hijyen kurallarına gerekli önemi göstermemesi ve üretimde kullanılan alet-ekipmanın bakımsız ya da kötü şartlarda olması gibi çeşitli nedenlerde bulaşabilmektedirler (İnal 1992).

Gıdalarda patojenlerin kontaminasyonunu elimine etmek amacıyla çeşitli antimikrobiyal maddelerden faydalanılsa da, et ürünlerinde, nitrit, nitrat gibi antimikrobiyal maddelerin izin verilen dozların üzerinde katılmasının insan sağlığı üzerinde oluşturduğu olumsuz etkiler, bu gibi maddelerin serbestçe kullanımını engellemektedir (Hampikyan ve Çolak 2007).

Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından “Generally Recognized as Safe (GRAS)” statüsünde olduğu kabul edilen nisin (Millette ve ark. 2007), gerek mikroorganizmalar üzerine olan antimikrobiyal etkisi ve gerekse yapılan araştırmalar sonucunda insanlar için tamamen güvenilir bulunması nedeniyle çeşitli gıdalarda kullanım alanı bulmaktadır.

Nisin, laktik asit bakterilerinden (LAB) *Lactococcus lactis* tarafından üretilmekte ve Gram (+) mikroorganizmalar üzerine etki edebilmektedir (Delves Broughton ve ark. 1996). Ancak nisin, Gram (-) bakterilere karşı tek başına etkin olamamakta, ancak Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) tuzları ile kombine edilerek kullanıldığında Gram (-) mikroorganizmaları inhibe edebilmektedir (Economou ve ark. 2008).

Bu tez çalışmasında, nisin ve EDTA tuzlarının çeşitli kombinasyonlarının, türk tipi köftelere uygulanarak, mevcut *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* üzerine inhibe edici etkisinin araştırılması ve bunun neticesinde üretimde kullanılarak tüketici sağlığının korunması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kıymanın Mikrobiyolojik Özellikleri

Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği'ne göre; kemiklerinden ayrılmış etin kıyma makinesinden geçirilmesiyle elde edilen ete kıyma adı verilmektedir (Tebliğ No: 2012/74).

Kıyma haline getirilen etler, işlenmemiş etlere göre mikrobiyal bozulmaya daha elverişlidir ve yüksek risk taşır. Bunun sebebi etlerin kıyma haline getirilmesi ile birlikte etin iç kısımlarının hava ile temas etmesi, aerobik bir ortamın oluşması ve etin yüzey mikroflorasını oluşturan mikroorganizmaların çekim işlemi ile etin her tarafında dağılmasıdır (Jay 1970; Gökten ve ark. 1988; Sinell 1992).

Et ve et ürünlerin tüketilmesi ile meydana gelen zehirlenmeler ağırlıklı olarak *Salmonella* spp., *E. coli* O157, *S. aureus* ve *Clostridium perfringens* kaynaklıdır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda kıymalarda bu patojen bakterilerden önemli oranda tespit edilmiştir (Gökmen ve Alisharlı 2003).

Çetin ve arkadaşları (2010), İstanbul'un çeşitli bölgelerinde satışa sunulan 127 adet kıyma örneğini toplam aerobik mezofilik bakteri, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* yönünden incelemişler ve örneklerde sırasıyla 1.3×10^6 , 2.8×10^3 ve 3.1×10^3 kob/g seviyesinde üreme tespit etmişlerdir. Örneklerin 4 (%3.14) tanesi ise *Salmonella* spp. pozitif olarak tespit edilmiştir.

İstanbul Anadolu Yakasında satışa sunulan 27 kıyma numunesini içeren bir araştırmada, 3.1×10^4 ile 6.3×10^7 kob/g arasında toplam aerobik mezofilik bakteri, 3.3×10^3 ile 6.2×10^4 kob/g arasında koliform bakteri, $< 1.0 \times 10^4$ ile 1.4×10^4 kob/g arasında *E. coli* ve 8.0×10^2 ile 8.2×10^3 kob/g arasında koagülaz pozitif Stafilokok tespit etmişlerdir (Başkaya ve ark. 2004).

Gökmen ve Alisharlı (2003), Van'da kasap ve marketlerde tüketime sunulan 100 adet sığır eti ve 100 adet koyun eti olmak üzere toplam 200 adet kıyma örneğini, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ve *Bacillus cereus* varlığı yönünden araştırmışlardır. Sığır kıyma örneklerinin %3'ünde *Salmonella* spp., %22'sinde *L. monocytogenes*, % 15'inde *C. perfringens* ve %7'sinde *B. cereus* tespit edilmiştir. Benzer şekilde, koyun kıymalarının %4'ünde *Salmonella* spp., %11'inde

L. monocytogenes, %9'unda *C. perfringens* ve %5'inde *B. cereus* saptanmış ve sonuç olarak incelenen hazır kıymaların halk sağlığı açısından büyük bir risk taşıdığı belirlenmiştir.

Direkel ve ark. (2010), Mersin ilinde yapmış oldukları çalışmada örneklerin %6.9'unda *E. coli* O157:H7, örneklerin tamamında ortalama 5.8×10^4 kob/g *S. aureus*, 4.7×10^4 kob/g toplam aerobik mezofilik bakteri ve 4.8×10^4 kob/g maya saptanmış ve bu örneklerin Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olmadığını tespit etmiştir.

Tekinşen ve arkadaşlarının (1980) Ankara'da satışa sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesi ile ilgili yaptıkları çalışmada örneklerin %95'inde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 10^7 kob/g'dan fazla olduğu, örneklerin tamamında koliform bakteri sayısının 10^4 kob/g'dan, *Staphylococcus* spp. sayısının ise 10^3 kob/g'dan yüksek olduğu bulunmuştur.

Nussinovitch ve arkadaşları (2000), 57 adet donuk kıyma numunesinin 22'sinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını ortalama 1.1×10^6 log kob/g, 14'ünde koliform sayısını 2.5×10^3 log kob/g, 36'sında toplam stafilocok sayısını 1.5×10^2 log kob/g, 27'sinde toplam enterokok sayısını 3.0×10^3 log kob/g seviyelerinde tespit etmişlerdir.

Öztürk (2007), Antalya'da yaptığı tez çalışmasında incelenen 60 adet kıyma numunesinde ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı $5.22 \log_{10}$ kob/g, koliform bakteri sayısı $4.51 \log_{10}$ kob/g, *E. coli* $2.61 \log_{10}$ kob/g, koagülaz pozitif *S. aureus* $3.42 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edilmiştir.

Sırıken (2004), Aydın ve Afyon illerinde satışa sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitelerini incelediği çalışmada, numunelerin %79'unda toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 10^5 kob/g'in üzerinde, %44'ünde *Pseudomonas* spp. sayısının 10^4 kob/g'in üzerinde, %47'sinde enterobakter sayısının 10^3 kob/g'in üzerinde, %65'inde enterokok sayısının 10^3 kob/g'in üzerinde, %42'sinde mikrokok ve stafilocok sayısının 10^3 kob/g'in üzerinde, %64'ünde koliform sayısının 1100 MPN/g'in üzerinde olduğunu bildirmiştir. Örneklerin %21.4'ünün koagülaz pozitif stafilocok olduğunu ve bunların %5.7'sinde koagülaz pozitif stafilocok sayısının 10^3 kob/g'in üzerinde bulunduğunu, örneklerin %30'unun *E. coli* yönünden pozitif olduğunu ve bunların %20'sinde *E. coli* sayısının 9.44 MPN/g'in üzerinde olduğunu, örneklerin %10'unun ise *Salmonella* spp. pozitif olarak tespit edildiğini bildirmiştir.

Gönülalan ve Köse (2003), Kayseri ilindeki marketlerden toplanan 100 adet sığır kıyması örneğinde yürüttükleri çalışmada, koliform bakteri, *E. coli*, maya ve küf, aerob mezofilik-psikrofilik mikroorganizma, *Staphylococcus* spp., koagülaz pozitif stafilokok, sülfid indirgeyen anaeroblar ve *C. perfringens* yönünden incelemişler, örneklerdeki mikroorganizma sayılarını sırası ile 1.8×10^7 , 1.0×10^5 , 5.1×10^7 , 6.0×10^8 , 1.9×10^6 , 1.7×10^6 , 8.7×10^5 ve 1.8×10^4 kob/g düzeylerinde tespit etmişlerdir.

Erol (19979), Ankara'da çeşitli semtlerde satışa sunulan 120 adet kıyma numunesinin %3.3'ünde *Salmonella* spp. izole etmiştir.

Bayar (2007), İzmir ilinden topladığı 10 adet dana kıyma örneğinin 4'ünde *E. coli* O157:H7 tespit etmiştir.

Sancak ve ark. (1993), Van'da satışa sunulan kıymalarda toplam aerobik bakteri, *S. aureus*, koliform ve *E. coli* aramışlar ve sırasıyla, 2.3×10^5 - 1.4×10^{10} kob/g, $0-9.2 \times 10^6$ kob/g, 4×10^6 ve 4.1×10^5 kob/d düzeyinde tespit etmişlerdir.

2.2. Köftenin Mikrobiyolojik Özellikleri

Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde köfte, kıyılmış büyükbaş ve küçükbaş hayvanların biri veya birkaçının etlerinin karışımına, istenildiğinde aynı tür hayvanların yağları, lezzet vericiler ile diğer gıda bileşenlerinden biri veya birkaçı ilave edilerek çeşitli şekillerde hazırlanan pişirmeye hazır kırmızı et karışımı veya pişirilmiş et ürünü olarak tanımlanmıştır (Tebliğ No: 2012/74).

İnegöl Köfte, Tekirdağ Köfte, İzmir Köfte, Akçaabat Köfte, Satır Köfte gibi çeşitler başta olmak üzere ülkemizde çok sayıda farklı köfte çeşitleri yapılmaktadır. Hazır gıda sektöründe de hazır köfteler hem çeşitliliği hem de kolay hazırlanabilmesi sebebiyle çok tercih edilen gıdalar arasında yer almaktadır (Kaymaz 1987).

Köftenin hammaddesi olan kıyma, yapısı gereği mikroorganizmaların kolayca üreme ortamı bulduğu bir gıdadır. Gerek kıyma, gerekse içine giren baharatlar ve diğer ingredientler sebebi ile köfte, hızlı bozulabilen ve içerisinde halk sağlığı açısından risk oluşturabilecek patojen mikroorganizmaları ihtiva edebilen bir et ürünüdür (Çetin ve Bostan 2002).

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımlarında, beş adet köfte numunesinin hiçbirinin 25 g'ında *Salmonella* spp. ve *E. coli* O157 bulunmamalı, *S. aureus* sayısı ise 5 numunenin

2'sinde 5×10^3 kob/g'in üzerine çıkmamalıdır. Ancak ülkemizde yapılan pek çok çalışmada, sonuçların bu değerlerin üzerinde olduğu görülmektedir (Kaymaz 1987; Çetin ve Yücel 1992; Sarımeahmetoğlu ve ark. 1998; Kıvanç ve Kunduhoğlu 1996; Kök ve ark. 2007).

Ankara'da tüketime sunulan hamburgerlerde (iğ ve pişmiş) halk sağlığı yönünden önemli olan bakterilerin varlığını saptamak amacıyla 22 adet çiğ, 22 adet pişmiş hamburger numunesi toplanmıştır. Çalışmada iğ numunelerin %77.2'sinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 10^7 kob/g'dan, %100'nde koliform sayısı 10^3 kob/g, %86'sında *E. coli* 10^2 kob/g'dan, %95.54'nde fekal streptokokların sayısı 6×10^2 kob/g'dan ve %27.3'nde koagulaz pozitif stafilokok sayısı 1×10^2 kob/g'dan fazla tespit edilmiştir. Pişmiş numunelerde ise %27.3'nde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 10^7 kob/g'dan, % 4.54'nde toplam koliform sayısı 10^3 kob/g'dan , %4.54'nde *E. coli* 10^2 kob/g'dan, %9'unda fekal streptokokların sayısı 2×10^2 kob/g'dan ve %27.3'nde koagulaz pozitif stafilokok sayısı 1×10^2 kob/g'dan fazla tespit edilmiştir (Kaymaz 1987).

Sarımeahmetoğlu ve arkadaşları (1998), Ankara'da tüketime sunulan 100 hamburger ve 100 İnegöl Köfte numunesinde yaptıkları çalışmada, hamburger örneklerinin %2'sinde, İnegöl Köfte rneklerinin ise %5'inde *E. coli* O157 tespit etmişlerdir.

Bursa'da kasap köfte örneklerinde yapılan bir çalışmada, ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 1.11×10^6 kob/g, koliform bakteri 1.4×10^5 kob/g, *E. coli* 1.75×10^4 kob/g, *S. aureus* 1.78×10^4 kob/g ve *Salmonella* spp. (3 örnek) 7.0×10^1 kob/g olarak tespit edilmiştir (etin ve Yücel 1992).

Bitlis'de sunulan pişmemiş köfte örnekleri üzerine yapılan çalışmada, toplam aerobik mezofilik bakteri, stafilokok ve mikrokok, *S. aureus*, enterobacteriaceae, koliform bakteriler, enterokoklar, *Pseudomonas* spp., *B. cereus*, küf-maya, *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 analizleri yapılmış ve sırasıyla ortalama 4.3×10^6 , 1.0×10^5 , 6.3×10^3 , 4.8×10^5 , 1.7×10^4 , 3.1×10^5 , 7.9×10^3 , 1.5×10^1 , 6.7×10^5 , 1.2×10^3 ve $< 2.0 \times 10^2$ kob/g olarak tespit edilmiştir. Örneklerin %36'sında (18 adet) ise *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Elmalı ve Yaman 2005).

Kök ve arkadaşlarının (2007), Aydın ili ine ilçesinde, ine köftelerinin mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesine yönelik yaptıkları çalışmada, ine köfte

örneklerinin, toplam mezofilik toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı bakımından %30'nun, *S. aureus* bakımından %68'nin, toplam maya ve küf bakımından %56'sının, *Salmonella* spp. bakımından % 18'inin, Çiğ Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği'ne (Tebliğ no: 2006/31) uymadığı tespit edilmiştir.

Kıvanç ve Kunduhoğlu'nun (1996), Eskişehir'de satışa sunulan köftelerde yaptıkları çalışmada, pişmiş ızgara köftelerin %20 sinde, çiğ ızgara köftelerin ise %48 inde *E. coli*, pişmiş örneklerin 1'inde, çiğ örneklerin ise 5'inde *Salmonella* izolasyonu yapılmıştır. Çiğ ızgara köftelerin %50 si, pişmiş ızgara köftelerin ise %5 inde stafilokok sayıları standartların üzerinde bulunmuştur. Çiğ örneklerin 7'sinde, pişmiş örneklerin ise 1'inde kuagülaz pozitif *S. aureus* saptanmıştır.

Katynna ve ark. (2002), Venezuela'da satışa sunulan dondurulmuş sığır hamburgerlerinde ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını $16.02 \pm 0.69 \log_{10}$ kob/g, koliform sayısını $8.88 \pm 0.49 \log_{10}$ kob/g, fekal koliform sayısını $8.12 \pm 0.47 \log_{10}$ kob/g ve *E. coli* sayısını $4.02 \pm 0.68 \log_{10}$ kob/g olarak bulurken örneklerdeki *S. aureus* sayısını 20 kob/g'dan az bulmuşlardır.

2.3. *Staphylococcus aureus*

2.3.1. Genel Özellikleri

Staphylococcus aureus, *Staphylococcaceae* familyası içerisinde yer alan, Gram pozitif, fakültatif anaerob, katalaz pozitif, oksidaz negatif, hareketsiz ve spor oluşturmeyen bakteridir. İlk kez, 1882 yılında Sir Alexander Ogston tarafından bulunmuş ve iki yıl sonra Rosenbach, saf kültür izole ederek, *Staphylococcus aureus* adını vermiştir. Bu isim, bakterin düzensiz kümeler halinde ve üzüm salkımına benzeyen üreme şekilleri nedeniyle eski Yunanca'da üzüm salkımı anlamına gelen “*staphyle*” den esinlenerek konmuştur (Çayan 2000; Whitman 2009).

Seçici olmayan besiyerinde 0.5-1.5 µm çapıda, düzgün, parlak, konveks koloniler oluştururlar. Griden sarı turuncuya kadar değişen pigmentasyon özelliği gösterirler (Medvedova ve Valik 2012).

S. aureus suşlarında lesitinaz aktivitesi yüksektir. Besiyerine yumurta sarısı katıldığında suşların ürettikleri lesitinaz, yumurta sarısındaki lesitini hidrolize ederek koloni etrafında parlak bir zon oluşturarak tanımlamayı kolaylaştırır. *S. aureus*

bakterileri aynı zamanda termonükleaz pozitifler ve sıcaklığa karşı dayanıklı termonükleaz salgırlar (Beckers 1988).

Staphylococcus aureus, başta ısı işleme olmak üzere, mikroorganizma sayısının azaltılmasına yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek duyarlılık göstermekte, ancak insanlarda zehirlenmeye neden olan ve ısı işleme dayanıklı enterotoksinler üretebilmektedir (Tükel 2000). Rekabetçi özelliği zayıf bir bakteridir. Gelişimi, karışık kültürlerde diğer mikroorganizmalar tarafından kolayca baskılanır. Gıdalardaki başlangıç sayısının yüksek olmadığı durumlarda iyi gelişemez (Erol 2007; Whitman 2009). Gelişimleri için, B vitaminine (tiamin ve nikotinik asit), nitrojen kaynağı olarak inorganik tuzlar ve arjinin, sistin, prolin, valin gibi amino asitlere ihtiyaç duyarlar (Medvedova ve Valik 2012). %10 NaCl konsantrasyonunda iyi gelişim gösterirken %15 NaCl konsantrasyonunda gelişimleri zayıftır (Demiret ve Karapınar 2000). Aerob gelişme için, optimum pH 7-7,5'tur. Ancak 4,0-9,3 pH sınırları arasında da gelişmelerini sürdürürler. Optimum gelişim sıcaklığı 30-40 °C'dir. Donmaya dirençlidir. Ette, -18 °C de en az 6 ay süre ile mevcut sayılarında hiçbir değişiklik olmadan varlıklarını sürdürebilirler. Optimum su aktivite değeri ise $a_w = 0,83-0,86$ 'dır (Demiret ve Karapınar 2000; Whitman 2009; Medvedova ve Valik 2012). Anaerobik şartlarda ki gelişme için, aerobik şartlardaki gelişmeye göre, daha yüksek su aktivite değerine ve pH'a ihtiyaç duyarlar. Gıdalarda toksin oluşturabilmek için minimum pH istekleri vejetatif gelişme isteklerinin biraz üzerindedir. Benzer durum su aktivitesi (a_w) değerlerinde de görülür. Toksin oluşturmak için daha yüksek su aktivitesi değerlerini tercih ederler. Düşük su aktivitesi ile bakterinin gelişme hızları ve enterotoksin oluşumu azalır (Atıcı 1999; Tunail 2000; Reginald ve ark. 2001; Medvedova ve Valik 2012).

Staphylococcus aureus, insanlarda hastalık etkeni olarak sık rastlanan, virülanı yüksek bir bakteridir (Dündar 2000). Bu sebeple gıda kaynaklı patojenler arasında önemli bir yere sahiptir. İnsan ve hayvanların deri ve mukozalarında bulunan ve normal florayı oluşturan bakterilerden olmasına rağmen insan ve hayvanlarda, deride iltihaplı yaralar, loğusa humması, menenjit, septisemi ve gıda zehirlenmesi gibi çok çeşitli hastalıklara sebep olabilirler. Ciddi enfeksiyonlara yol açan *S. aureus*'un toplumun %30'unda sağlıklı bireylerin nazofarenks ve burnunda lokalize olduğu bildirilmiştir (Ünal ve Akhan 1996). Bu bakterilerin enterotoksin üretebilen ve üretemeyen iki alt türü bulunmaktadır. Gıda zehirlenmeleri bakterinin kendisi ile değil, salgıladığı

enterotoksinler sebebiyle meydana gelmektedir. Enterotoksijenik *S. aureus* taşıyıcısı olan, gıdaların üretimi, muhafazası, taşınması, hazırlanması ve servisi işlemlerinin herhangi bir aşamasında gıdaya direkt temas eden personelin, stafilokokal gıda zehirlenmelerinin önemli kaynağı olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple gıdalarda bu bakterilerin varlığı, genellikle gıda üretiminde çalışan personelin deri, ağız ve solunum yollarından kaynaklanan kontaminasyonun göstergesi olarak dikkate alınmaktadır (Tunail 2000; Tükel ve ark. 2000). Et, süt, peynir gibi hayvansal gıdalarda, toprak, hava ve doğal su kaynaklarından da izole edilebilmektedirler (Tunail ve Köşker 1989).

2.3.2. Stafilokokal Enterotoksinler

2.3.2.1. Genel Özellikleri

Stafilokokal Enterotoksinler (SE), moleküler ağırlığı 26.000 ile 29.000 arasında değişen tek zincirli proteinlerdir. SEA, SEB, SEC1,2,3, SED, ve SEE olmak üzere beş ana enterotoksin tipi mevcuttur (Erol ve İşeri 2004). Günümüzde tespit edilmiş 21 çeşit SE mevcuttur (Ono ve ark. 2008). En yaygın olanı enterotoksin A'dır (Whitman 2009). SEA ve SED özellikle gıda zehirlenmelerinden sorumludur (Bostan ve ark. 2006). Daha önce F tipi olarak adlandırılan toksinin, enterotoksin olmadığına anlaşılması üzerine Toksik Şok Sendrom Toksin 1 (TSST-1) olarak adlandırılmıştır (Erol 2007). İnsanlardan izole edilen suşlarda daha çok A, B, C tiplerine, sığırlardan ve koyunlardan izole edilen suşlarda özellikle C tipine, tavuklardan izole edilen *S. aureus* suşlarında ise D tipi enterotoksine rastlanmaktadır (Yüce 1992). ABD'de zehirlenmeye neden olan gıdaların %77.8'inde SEA ve %10'unda SEB tespit edildiği bildirilmiştir (Balaban 2000).

Stafilokokal enterotoksinlerin en önemli özelliği ısıya karşı dirençli olmalarıdır. Yapılan çalışmalar sonucunda 100°C'de 10 dakika ısı işlemi ile toksinlerin aktivitelerini %50 oranında korudukları ancak 121°C'de 1-2 dakikalık ısı işlemi sonucu inaktif hale geldikleri tespit edilmiştir (Yaygın ve Milci 2006). *S. aureus* enterotoksinlerinin inaktivasyonu için gerekli sıcaklık derecesi 100 °C'de 1-3 saat veya 120 °C'de 10-40 dakika olarak da verilebilmektedir (Tunail 2000).

Toksinler, sıcaklığın yanı sıra tripsin ve pepsin gibi proteolitik enzimlere karşı da dirençlidirler. Bu nedenle sindirim dokularından etkilerini yitirmeden geçebilmektedirler (Yaygın ve Milci 2006).

2.3.2.2. Stafilokokal Enterotoksinler ve Gıda Zehirlenmeleri

Stafilokokal gıda zehirlenmesi, enterotoksijenik stafilokoklar tarafından gıdada oluşturulan toksinlerin alimenter yolla alınması sonucu oluşur (Erol ve İşeri 2004). Stafilokokal enterotoksinlerin toksikasyon dozu 1 µg'dan azdır. Duyarlı bireylerde 100-200 ng enterotoksinin de zehirlenmeye sebep olabildiği gözlenmiştir. Gıdada enterotoksinlerin oluşabilmesi için, *S. aureus* bakterisi sayısının gıdada 10⁵ kob/g'ın üzerinde olması gerekmektedir (Bennet ve Hait 2012). Gıdalarda enterotoksin üretimi, gıdanın kompozisyonu, sıcaklık, diğer fiziksel ve kimyasal parametrelere bağlı olarak değişiklik gösterir (Karapınar ve Gönül 1999, Erol 2007). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde stafilokokal enterotoksinlerin, 5 gıda numunesinin hiçbirinin 25 g'ında bulunmaması gerektiği belirtilmektedir (Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği 2011, Ek 1).

Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin önde gelen iki klinik sendromu kusma ve ishaldir. Stafilokok enterotoksinleri, insan beynindeki kusma merkezini uyararak öğürmeye neden olduklarından aynı zamanda nörotoksin etkisi de gösterirler (Marth and Halpindohnalek 1989). Zehirlenme semptomları, gıda ile alınan toksin miktarına, bireysel özellikler ve duyarlılık gibi faktörlere bağlı olarak, enterotoksinli gıdanın alınmasından 1-7 saat sonra oluşur. Zehirlenme semptomları, bulantı, öğürme, abdominal kramp, kusma ve ishaldir. En yaygın komplikasyon kusma ve ishale bağlı dehidrasyondur (Bennet ve Hait 2012). Semptomlar 24-48 saat sürmekte, bu süre zarfında hızlı bir iyileşme gözlenmektedir (Erol ve İşeri 2004). Ölüm nadiren görülmektedir. Çocuklar ve yaşlılarda ölüm oranının %0.03'ten %4.4'e kadar değişebildiği bildirilmiştir (Yüce 1992).

İlk stafilokokal gıda zehirlenmesi 1884 yılında ABD'de görülmüştür. Cheddar peynirinin tüketiminden sonra çeşitli hastalık vakaları ortaya çıkmış ve analizler sonucunda peynir örneklerinden yüksek düzeyde stafilokok türleri izole edilmiştir (Küçükçetin ve Milci 2008).

Türkiye'de gıda zehirlenmeleri ile ilgili resmi raporlar yetersizdir. Ancak çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda, gıda zehirlenmesi vakalarının yaklaşık üçte birinin *S. aureus* enterotoksinleri ile kontamine gıdaların tüketilmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar içinde *S. aureus* zehirlenme oranının ABD'de %45, Japonya'da %25-30 ve Macaristan'da %40 olduğu tahmin

edilmektedir. ABD’de stafilokokal gıda zehirlenmeleri sebebiyle her yıl 241.188 kişi hastalanmakta, 1.064 kişi hastanelik olmakta ve 6 kişi hayatını kaybetmektedir. Toplamda 1.5 milyar dolarlık ürün kaybı ve tedavi giderlerinin meydana geldiği belirtilmektedir (Küçükçetin ve Milci 2008; Bennet ve Hait 2012).

1990 yılında Rhode Island’da 100 öğrenci, okullarında yedikleri öğle yemeğinden zehirlenmiştir. Alınan 7 yemek örneğinin 5’inde 2×10^6 kob/g’ın üzerinde *S. aureus* tespit edilmiş, *S. aureus* tespit edilemeyen 2 yemek örneğinde ise stafilokokal enterotoksin tespit edilmiştir (Richards ve ark. 1990).

ABD’de 1993-1997 yılları arasında *S. aureus*’tan kaynaklanan 42 zehirlenme vakası meydana gelmiş ve bunlardan biri ölümle sonuçlanmıştır (Olsen ve ark. 2000).

Londra’da bulunan Gıda Hijyeni Laboratuvarı’nın resmi rakamlarına göre 1969 ve 1990 yılları arasında *S. aureus* enterotoksinlerinin neden olduğu 359 adet gıda zehirlenme vakası tespit edilmiştir (Wieneke ve ark. 1993).

1999 yılının şubat ve mayıs aylarında Brezilya’da görülen gıda zehirlenme vakalarının ilkinde 50 kişi peynir, ikincisinde ise 328 kişi çiğ süt tüketimi sonucu, zehirlenme belirtisi ile hastaneye kaldırılmış ve şüpheli gıdalarda 2.4×10^3 - 2×10^8 kob/g seviyesinde *S. aureus* bulunduğu ve örneklerin enterotoksin içerdiği tespit edilmiştir (Carmo ve ark. 2002).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi’nin, 27 Avrupa Birliği Ülkesi’nden elde ettiği verilere göre, 2008 yılında bildirilen gıda zehirlenme vakalarında, *S. aureus* zehirlenmeye sebep olan etkenler arasında 4.sırada yer almaktadır (European Food Safety Authority 2010).

2.3.3. Gıdalarda *S. aureus* Varlığı

Yapılan çalışmalar *S. aureus* ve toksinlerinin, kırmızı et, köfte, tavuk eti, domuz eti, balık, süt ve süt ürünleri, sebze, salata, çorba, yumurtalı ürünler ve pasta gibi pek çok çiğ ya da tüketime hazır gıdada bulunduğunu göstermektedir (Sokari 1991; Álvarez-Astorga ve ark. 2002; Alisharlı ve ark. 2003; Arıcı ve ark. 2003; Kitai ve ark. 2005; Bostan ve ark. 2006; Topçu 2006; Önganer ve Kırbağ 2009; Waters ve ark. 2011; Korkmaz 2012).

İstanbul’da çeşitli satış noktalarındaki pişmeye hazır köfte ve beyaz peynirlerde *S. aureus* ve toksinlerinin tespitine yönelik yapılan çalışmada, 30 köfte örneğinin

%43'ünde *S. aureus* miktarının 5×10^3 kob/g'ın, 30 beyaz peynir örneğinin %63'ünde $< 10^2$ kob/g'ın üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Bostan ve ark. 2006).

Erzurum ilinde üç farklı toplu yemek üretimi yapan firmadan alınan çeşitli gıda örneklerinin tümünde, *S. aureus* sayısı < 2 log kob/g bulunurken, mikrokok - stafilokok sayısı çiğ sebzede $5,12 \pm 0,67$, çiğ ette $6,01 \pm 0,87$, köftede $2,09 \pm 1,58$ ve çorbalarda ise $2,83 \pm 1,49$ log kob/g olarak belirlenmiştir. Köftelerin 2 tanesinde SEA (%25), 3 tanesinde SEB (%37,5), 3 tanesinde SEC (%37,5) ve 3 örnekte ise SED (%37,5); çorbaların 2 tanesinde SEA (%25), 2 tanesinde SEB (%25), 1 tanesinde SEC (%12,5) ve 3 örnekte ise SED (%37,5) tespit edilmiştir (Korkmaz 2012)

Diyarbakır'da ambalajsız olarak satışı sunulan çökeleklerin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 30 numunede $6,0-10,28 \times 10^6$ kob/g arasında *S. aureus* tespit edilmiştir (Önganer ve Kırbağ 2009).

Ankara merkezde, çeşitli büfe ve lokantalarda tüketime sunulan dönerlerin mikrobiyolojik kalitesini belirlemeye yönelik yapılan çalışmada, 25'i çiğ ve 25'i pişmiş olmak üzere toplam 50'şer adet et ve tavuk döneri incelenmiştir. Çiğ et döner örneklerinin %32'sinde (8 adet), pişmiş et döner örneklerinin %20'sinde (5 adet), çiğ tavuk döner örneklerinin %24'ünde (6 adet), pişmiş tavuk döner örneklerinin ise %16'sında (4 adet) *S. aureus* tespit edilmiştir (Topçu 2006).

Amerika'da tavuk, hindi ve dana etlerinin *S. aureus* kontaminasyonunu incelemek üzere yapılan çalışmada, 136 numunenin 64'ünde (%47) *S. aureus* izole edilmiştir (Waters ve ark. 2011).

Japonya'da perakende olarak satılan tavuk etlerinde yapılan bir çalışmada, 292 örnekten 131'inde (%65,8) *S. aureus* izole edilmiştir (Kitai ve ark. 2005).

İspanya'da perankende satışı yapılan tavuk ve ürünleri üzerinde yapılan çalışmada, 30 örneğin %13,3'ünden *S. aureus* izole edilmiş ve tespit edilen *S. aureus* miktarının ulusal standartta belirtilen limit seviyenin üzerinde olduğu belirtilmiştir (Álvarez-Astorga ve ark. 2002).

Sokari, Nijerya'da yaygın olarak tüketilen kırmızı et, balık ve sebzedden oluşan 880 gıda örneğinden izole ettiği 552 (%62) koagülaz pozitif *S. aureus* suşundan 269'unun (%48) enterotoksijenik olduğunu bulunmuştur (Sokari 1991).

Alişarlı ve ark. 2003, 100 adet puding türünün 10 (%10)'undan ve 75 adet kremalı pasta türünün 20 (%27)'sinden *S. aureus* izole etmişlerdir.

Hazır salataların hijyenik durumunun incelendiği bir çalışmada, 22 yarı hazır salata örneğinin 15'inde $12-2,8 \times 10^3$ kob/ g arasında değişen sayılarda *S. aureus* bulunduğu tespit edilmiştir. Toplam 14 adet mayonezli salata örneğinin 10 tanesinde ise $32-3,0 \times 10^2$ kob/g arasında değişen miktarda *S. aureus* bulunmuştur (Arıcı ve ark. 2003).

2.4. *E. coli* O157:H7

2.4.1. Genel Bilgiler

Enterobacteriaceae familyasına ait *E. coli*'nin özel bir serotipi olan O157:H7 serotipi, son yılların en önemli gıda kaynaklı patojeni olarak kabul edilmektedir (Noveir ve ark. 2002). Gram negatif fakültatif anaerob, sporsuz, çomak şeklinde bir bakteridir. Flagellaları aracılığıyla hareket ederler ancak hareketleri yavaştır (Bilgehan 2004).

E. coli'nin Enterohemorajik (EHEC) grubunda yer alır (Halkman ve ark. 2001). *E. coli* O157:H7 serotipi Shiga like toxin 1; SLT-1 olarak adlandırılan (yeni terminolojide Stx 1 ve Stx 2) toksinler üretmektedir (Coşansu ve Ayhan 2000). Flagellar (H) ve somatik (O) antijenlere sahiptir (Erol 2007). *E. coli* O157:H7 serotipi glikozdan gaz oluşturur, üreazı yoktur ve H₂S oluşturmaz. Optimal üreme sıcaklığı 37 °C, optimal aw değeri 0.99, optimal pH'ı 7-7,2'dir (Leyer ve ark. 1995). *E. coli* O157:H7'yi diğer *E. coli* suşlarından ayıran başlıca özellikleri; sorbitolü fermente edememesi, 4-methylumbelliferongluconide'i (MUG) hidrolize eden β-glukorinidaz enzim aktivesine sahip olmaması ve 44-45 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda gelişmemesidir (Leyer ve ark. 1995).

E. coli O157:H7, aside toleranslıdır. Bu tolerans sayesinde midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçebilmektedir. Bakterinin asit direnci, insanlarda enfeksiyon dozunun çok düşük olmasını etkileyen bir faktör olarak kabul edilmektedir. 1- 2 pH olan insan midesinde yaklaşık 3 saat süren sindirim sırasında canlı kalabilmesi ve buradan bağırsağa geçmesi bu ilişkiyi açıklamaktadır. Benzer şekilde mayonez, fermente etler, cottage peyniri gibi asitli gıdalarda diğer patojenler inhibe olurken, *E. coli* O157:H7 rahatlıkla gelişebilmektedir. Bu özelliği ile elma suyu ve geleneksel olarak güvenli kabul edilen fermente et ürünlerinde de canlılığını koruyabilmektedir (Halkman ve ark. 2001).

E. coli O157:H7 serotipi, yüksek tuz konsantrasyonlarına da direnç göstermektedir. *E. coli* O157:H7' nin %6,5 NaCl'de gelişebildiği, NaCl'nin inhibisyon etkisinin %8,5 oranında başladığı, 200 ppm nitrit ve %4,0 NaCl içeren, pH'ı 5,6 olan sıvı besiyerinde gelişebildiği, %3,5 NaCl ve 69 ppm sodyum nitritli ve pH'ı 4,8 olan fermente sucukta indirgendiği ancak 40 °C'de 2 ay süren depolama sırasında kullanılan starter kültüre bağlı olmaksızın tümüyle inhibe olmadığı tespit edilmiştir (Glass ve ark. 1992).

E. coli O157:H7, ısıya duyarlıdır. Pastörizasyon işlemi ile inaktive olur. Bir gıdada ki 10^4 kob/ml bakterinin ölmesi için 72°C pastörizasyon sıcaklığı 16-20 saniye yeterli bulunmaktadır. Soğuğa ise dirençlidir. Dondurulmuş gıdalarda -20 °C'de (kıymalarda) canlılığını korur ve pH 5,7-7,5'de iyi ürer. Bununla beraber pH'ı 3,6 olan ve buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen gıdalarda da canlılığını koruyabilmektedir (Wang ve ark 2000).

2.4.2. Gıdalarda *E. coli* O157:H7 Varlığı

Gıdalarda *E. coli* O157:H7 serotipi ilk kez ABD'de 1982 yılında 2 salgında 47 vaka ile görülmüştür (Noveir ve ark. 2002).

Bu bakterinin başlıca kaynağı daha çok sığırlar olmak üzere koyun, keçi, geyik, tavuk, köpek, domuz ve martılardır. Genelde dışkıdaki yaygınlığı %0-10 oranında değişmekle beraber, genç hayvanlarda daha fazla olduğu, sığır dışkısında 5 °C'de 70 güne kadar canlılığını koruyabildiği ve verotoksin üretme kapasitesini kaybetmediği ortaya konulmuştur (Temelli 2002). Çeşitli araştırmalar, bu bakterinin başta süt inekleri olmak üzere sıcak kanlı hayvanlar olarak tanımlanan memeli ve kanatlı hayvanların dışkıları ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısıyla tüm çevreye yayıldığını göstermiştir (Halkman ve ark. 2001).

Salgınlara yol açan bu patojen, en yaygın olarak et ürünlerinde bulunmakla birlikte, çeşitli peynirlerde, çiğ sütte, genel olarak patojenler açısından güvenilir bir gıda olarak tanımlanmasına karşın yoğurt gibi süt ürünlerinde, çeşitli su kaynaklarında, salatalar ve salata soslarında, evde yapılan sandviç, turp filizi, pastörize edilmemiş elma şarabı ve taze sıkılmış elma sularında da bulunabilmektedir (Özalp ve Kaymaz 1992).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi verilerine göre, 2011 yılında 9485 verotoksijenik *Escherichia coli* enfeksiyonu vakası bildirilmiş ve vakaların çoğunda

etken serogrubunun O157 olduğu tespit edilmiştir (European Food Safety Authority 2013).

Chapman ve ark. 2000, bir yıl süren çalışmalarında 5093 adet dana ve kuzu eti ürünlerinde *E. coli O157* varlığını araştırmışlar ve örneklerin 72 adedinde *E. coli O157* izole edildiğini bildirmişlerdir.

Rahimi ve ark. 2012, İran'da yürüttükleri çalışmada inek, deve, manda, koyun ve keçilerden topladıkları toplam 734 adet çiğ süt örneğinin 17'sinde (%2.3) *E. coli O157* tespit etmişlerdir.

Willshaw ve ark. 1994, İngiltere'de 134 kıyma, 52 sosis ve 124 hamburger örneğinden toplam 5 örnekte (%1.6) verotoksin oluşturmayan *E. coli O157* tespit etmişlerdir.

Vernazy-Rozand ve ark. 1997, Fransa'da yürüttükleri bir çalışmada, toplam 250 adet tavuk, sosis ve sığır kıymasında *E. coli O157* aramışlar ve 4 tavuk, 1 sosis ile 1 kıyma örneğinde verotoksin oluşturmayan *E. coli O157* tespit etmişlerdir.

Mabrouk 2001, Mısır'da yürüttüğü çalışmada, 19 sığır eti örneğinin 1'inde (%5.26), 20 adet inek sütü örneğinin 1'inde (%5), 21 adet manda sütü örneğinin 1'inde (%4.76), 20 adet kırmızı et örneğinin 1'inde (%5), 25 hamburger numunesinin 1'inde (%4), 20 tavuk örneğinin 1'inde (%5), 20 hindi eti örneğinin 1'inde (%5) *E. coli O157:H7* tespit etmiştir.

Doyle ve Schoeni 1987, inceledikleri 263 hindi ve broyler budunda %1.5 oranında *E. coli O157:H7* bulmuşlardır.

Samadpour ve ark. 1994, ABD'de satış noktalarından aldıkları hindilerin %7'sinde, broylerlerin ise %12'sinde *E. coli O157:H7* saptamışlardır.

Diyarbakır'da 105 adet örgü peyniri örneğinin % 7.62'sinde *E. coli O157* tespit edilmiştir (Vural ve ark. 2010).

Alışarlı ve Akman 2004, Van'da yürüttükleri çalışmada 150 dana kıymasının 7'sinde (%4.6) ve 150 koyun kıymasının 3'ünde (%2) *E. coli O157* bulmuşlardır.

Halkman ve ark. 1998, çeşitli gıdalarda yaptıkları bir çalışmada, *E. coli O157*'yi 255 adet çiğ kıyma, 50 adet hamburger ve 101 adet sucuk örneğinin 1'inde tespit etmişlerdir.

Sarımeahmetoglu ve ark. 1998, 100'er adet hamburger ve İnegöl köftesi üzerinde yaptıkları çalışmada, İnegöl köftelerinin %5'inin ve hamburgerlerin %2'sinin *E. coli* O157 ile kontamine ve izolatların ise tümünün verotoksijenik özellikte olduklarını bildirilmişlerdir.

Afyonkarahisar'da yürütölen çalışmada analize alınan 100 adet çig süt örneğinin 3'ünde (%3) ve 100 adet peynir örneğinin 1'inde (%1) *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Akkaya ve ark 2007).

Konya ilinde, pazarlarda açıkta satılan küflü peynirler üzerine yapılan bir çalışmada, 234 adet küflü peynir örneğinin %2.5'üğundan *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir (Akçamlı 2008).

Erzurum ili ve ilçelerinde yürütölen çalışmada, toplanan sığır eti numunelerinin % 1,6'sında, tavuk ve hindi eti numunelerinin ise %0,9'unda *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Ünsal 2007).

Balpetek ve Gürbüz 2010, Konya ilinde yürüttükleri çalışmada kıyma numunelerinin 2 tanesinde (%8.1), soğutulmuş hamburger köftelerinin ise bir tanesinde *E. coli* O157:H7tespit etmişlerdir.

2.4.3. *E. coli* O157:H7 Serotipinin Sebep Olduğu Hastalıklar

E. coli O157:H7 serotipi, insanlarda kolon mukoza hücrelerinin sitolizine (Hemorajik Kolit-HC), Hemolitik Üremik Sendroma (HUS) ve Trombotik Trombositopenik Purpuraya (TTP) neden olduğu için halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Buchanan ve Doyle 1997).

Etkenin minimal enfeksiyon dozu 10 ile 100 kob/g arasındadır (Coia 1998). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde, *E. coli* O157:H7 ile ilgili bir kriter yoktur. Ancak yönetmelikte *E. coli* O157'nin 25 g üründe hiç bulunmaması gerektiği bildirilmektedir (Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği 2011).

Escherichia coli O157:H7, ilk kez ABD'de 1982 yılında hemorajik kolitli hastalarda tespit edilmiştir (Riley ve ark. 1983). Ancak, 1993 yılında bir fast food restoran zincirindeki az pişmiş köftelerin tüketimi sonucu meydana gelen toplu zehirlenme sonrasında halk sağlığını tehdit eden önemli bir patojen olduğunun farkına varılmıştır (Bell ve ark. 1994).

ABD’de 1983 ve 1997 yılları arasında toplam 6.899 *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu vakası bildirilmiştir. Bu vakaların 2.035’i hastanede tedaviye alınmış, 57’si ise hayatını kaybetmiştir (Mead ve ark. 1999).

İngiltere’de sadece 1996 yılında 506 vakanın ortaya çıkmasına (Reilly 1994), İskoçya’da 1990-1996 yılları arasında 700 kişinin hastalanmasına (Cowden 1997), Japonya’da da 7000 okul çağındaki çocuğun zehirlenmesine neden olmuştur (Watanabe 1996).

E. coli O157:H7 serotipinin sebep olduğu hastalıklarda tipik belirtilerden biri olan hemorajik kolitin ortaya çıkmasına, invaziv bakteriler tarafından oluşturulan sitotoksin neden olmaktadır (Öksüztepe ve ark. 2010). Semptomlar genellikle etken vücuda alındıktan 3-4 gün sonra gözlenmektedir. Şiddetli karın ağrısı ve sulu ishal, daha sonraki günlerde dışkısız kan şekline dönüşen ishal ve ateşin olmaması en belirgin klinik bulgulardır. Hastalık genelde 2-9 gün içinde kendiliğinden iyileşir. Ciddi komplikasyonların olduğu durumlarda nadiren ölüm görülebilir (Özbaş ve Aytac 1995). Eğer 6-10 gün içerisinde iyileşme görülmezse enfeksiyon, ekstra intestinal komplikasyonlardan “Hemolitik Üremik Sendroma” (HUS) yol açar (Öksüztepe ve ark. 2010).

Hemolitik üremik sendromda, hemolitik anemi, trombositopeni, akut böbrek yetmezliği ve kanlı ishal önemli klinik bulgulardır. Hastalık çocukları ve yaşlıları daha fazla etkiler. Ölüm oranı çocuklarda %10, yaşlılarda %50 olarak bildirilmiştir. Hastalığın patogenezinin endotelial hücreleri hasara uğratan ve pıhtılaşma mekanizmasını bozan toksinle ilgili olduğu, mikrotrombusların böbrek veya diğer organlardaki kılcal damarları tıkayarak kanda artık ürünlerin birikimine yol açtığı bildirilmiştir (Willshaw ve ark. 1994). Hastalarda sıklıkla kuvvetli kronik böbrek yetmezliği ortaya çıkabilmekte ve hasta ömür boyu diyaliz cihazına bağımlı yaşayabilmektedir (Öksüztepe ve ark. 2010).

Etkenin sebep olduğu Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) tablosunda ise klinik belirtiler genelde HUS’a benzerlik gösterir. Ancak TTP’de daha çok merkezi sinir sistemi etkilenir. Ateş, hemolitik anemi, trombositopeni ve nörolojik belirtiler tipik klinik bulgulardır. Beyinde oluşan kan pıhtıları nedeniyle ölüm oranı oldukça yüksektir (Willshaw ve ark. 1994).

2.5. Bakteriyosinler ve Nisin

2.5.1. Bakteriyosinlerin Tanımı

Bakteriyosinler, bakteri ribozomları tarafından sentezlenen, protein yapısındaki antimikrobiyal bileşenlerdir. İnhibisyon etkileri, sentezlendikleri bakteri türlerine yakın olan türler üzerinedir (James ve ark. 1996).

Bakteriyosinlerin tanımlanmasına yönelik ilk çalışma 1925'te *E. coli* tarafından sentezlenen kolisin tespitini ile başlamıştır. İleri ki dönemlerde *E. coli* suşlarının yanı sıra *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus* ve *Enterococcus* gibi birçok mikroorganizmanın da bakteriyosin ürettiği tespit edilmiştir (Chen ve Hoover 2003). Ancak daha çok, gıdalarda güvenli olduğu düşünülen laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde araştırma yapılmakta ve gıdalarda bu bakteriyosinler kullanılabilir. Bu nedenle laktik asit bakterileri, özellikle de *Lactobacillus* ve *Lactococcus* tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde önemle durulmaktadır (Kurt ve Zorba 2005).

Bakteriyosin sentezleyen laktik asit bakterileri ve sentezlenen bakteriyosinler Tablo 2-1'de verilmiştir (Parada ve ark. 2007).

Tablo 2-1: Laktik Asit Bakterileri Tarafından Sentezlenen Bakteriyosinler ve Sınıfları

Sentezleyen Bakteri	Bakteriyosin	Etki Spektrumu	Sınıfı
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	Nisin	Gram pozitif bakteriler	I.Grup Lantibiyotik
	Lacticin 3147	<i>Clostridium sp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Propionibacterium acne</i> <i>Streptococcus mutans</i>	I.Grup Lantibiyotik
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	Lactococcin B	<i>Lactobacillus</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Acidocin CH5	Gram pozitif bakteriler	II.Grup Bakteriyosin
	Lactacin F	<i>Lactobacillus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	II.Grup Bakteriyosin
	Lactacin B	<i>Lactobacillus debrueckii</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus.</i> <i>Lactococcus lactis.</i>	III.Grup Bakteriyosin
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	Lactobin A	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Lactobacillus casei</i>	Lactocin 705	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Leuconostoc gelidum</i>	Leucocin A	<i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Mesentericin Y105	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Pediocin F	Gram pozitif bakteriler	II.Grup Bakteriyosin
	Pediocin PA-1	<i>Listeria monocytogenes</i>	II.Grup Bakteriyosin
	Pediocin AcH	Gram pozitif ve negatif bakteriler (Stres faktörleri altındaki)	II.Grup Bakteriyosin
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Pediocin A	<i>Lactobacillus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Pediococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Listeria</i> <i>Clostridium</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Enterococcus faecium</i>	Enterocin A	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Pediococcus</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Lactobacillus sake</i>	Lactocin S	<i>Lactobacillus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Pediococcus</i>	I.Grup Lantibiyotik
	Sakacin P	<i>Listeria monocytogenes</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Curvacin A	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	II.Grup Bakteriyosin
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Helveticin J	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactococcus lactis</i>	III.Grup Bakteriyosin

2.5.2. Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması

En fazla bakteriyosin üreten bakteri grubu laktik asit bakterileridir. Laktik asit bakterileri arasında ise en fazla bakteriyosin üreten gruplar Laktobasiller ve Laktokoklardır. Bu sebeple bu bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin yapıları, sınıflandırmada temel olarak alınmıştır. Klaenhammer'ın sınıflandırma konusunda yaptığı etkin çalışmalar sebebiyle "Klaenhammer Sınıflandırması" esas olarak kabul edilmektedir. Bu sınıflandırma, gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinlerin kimyasal yapılarına, molekül büyüklüklerine, termostabilitelerine, etki mekanizmalarına ve enzim hassasiyetlerine göre yapılmaktadır. Sınıflandırma dört gruptan oluşmaktadır (Kuleaşan ve Çakmakçı 2003).

I.Grup Bakteriyosinler: Yapılarında bulunan modifiye amino asitler (lantiyonin ve β -metillanlantiyonin) sebebiyle lantibiyotikler olarak adlandırılırlar. Lantibiyotikler yapısal özellikleri ve antimikrobiyel özelliklerine göre A ve B olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Tip A lantibiyotikler hedef hücrenin sitoplazmik zarını depolarize ederek etkilerini gösterirler. Ortalama büyüklükleri 21-38 amino asittir. Bu grubun en bilinen üyesi Nisin'dir. Tip B lantibiyotikler, Tip A lantibiyotiklerden oldukça küçüktür. Büyüklükleri 19 amino asiti aşmamaktadır. Tip B lantibiyotikler konakçı hücre enzimlerini inhibe ederler (Guder ve ark. 2000).

Lantibiyotikler Gram pozitif bakterileri inhibe edebilmekte fakat Gram negatiflere karşı etki edememektedirler (Lücl ve Jager 1997).

II.Grup Bakteriyosinler: Bu gruptaki bakteriyosinler I.Grup'dan farklı olarak modifiye amino asit içermezler. Ayrıca, molekül ağırlıkları 10kDa'dan daha düşük olup, ısı stabilitesine sahiptirler. Bu gruptaki bazı bakteriyosinler 100 °C'den 121 °C'ye kadar olan sıcaklıklara karşı stabildirler. Antimikrobiyal aktiviteleri, membran aktif olmalarından kaynaklanmaktadır. Çok sayıda bakteriyosin içeren bu grup A, B ve C olmak üzere 3 alt gruba ayrılmaktadır (De Martinis ve ark. 2002).

III.Grup Bakteriyosinler: Bu grupta yer alan bakteriyosinler büyük (>30kDa) ve ısıya duyarlı proteinlerdir (De Martinis ve ark. 2002).

IV.Grup Bakteriyosinler: Bu gruptaki bakteriyosinler ise büyük ve kompleks moleküller olup, aktiviteleri için karbonhidrat veya lipid bileşenlerine gereksinim duymaktadırlar (Chen ve Hoover 2003).

2.5.3. Bakteriyosinlerin Sentezi ve Etki Mekanizması

Bakteriyosinler farklı genetik determinantlara sahip olmakla birlikte, sentezlerindeki temel proses aynıdır. RNA tarafından kodlanan polipeptid dizisi öncü protein olarak ayrıldıktan sonra moleküler sinyalizasyona tabi tutulmakta, çeşitli modifikasyonları takiben yapısındaki sistein sayısına göre son şeklini kazanmakta ve sec-dependent (sekresyon) mekanizması yardımı ile hücre dışına salgılanmaktadır (Parante 1999). Bazı bakteriyosinlerin üretimlerinin ise daha gelişmiş sistemlerle (katabolik represyon, spesifik reseptör bölgeleri) regüle edildiği belirlenmiştir (Eijsink 1998).

Bakteriyosinler duyarlı mikroorganizmalar üzerinde farklı etki mekanizmalarına sahiptirler. Laktik asit bakteriyosinleri pozitif yüklü moleküllerdir ve hidrofobik kısımlara sahiplerdir. Duyarlı hücre zarında bulunan negatif yüklü fosfat gruplarının etkisiyle ortaya çıkan elektrostatik etkileşim sonucu bakteriyosin hücre zarına tutunmaktadır. Hücre zarına tutunan bakteriyosin, hidrofobik kısım aracılığıyla zar yapısının içine girer ve zarı porlar oluşturur. Düşük molekül ağırlığına sahip hücre bileşenleri bu porlardan hücre dışına sızar. Bununla birlikte, iyonların ve hücre içi pH dengesinin korunmasında etkili olan K^+ iyonunun hücre dışına sızması, hücrede enerji tüketimine neden olmaktadır. Hücrede meydana gelen bu değişimler, DNA ve RNA gibi hücre için hayati önemi olan makro moleküllerin degradasyonuna, bu moleküllerle birlikte protein ve peptidoglikan gibi biyolojik proseslerin inhibisyonuna yol açmaktadır (Kurt ve Zorba 2005).

2.5.4. Bakteriyosinlerin Gıdalarda Kullanımı

Patojen olmayan mikroorganizmalar ile metabolitlerinin, gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların üremesini engellemek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılması biokoruma olarak adlandırılmıştır (De Martinis ve ark. 2001). Laktik asit bakterilerinin geçmişten beri geleneksel fermente gıdaların oluşturulmasında güvenilir şekilde kullanılması ve bakteriyosinlerin büyük çoğunluğunun laktik asit bakterileri tarafından üretilmesi sebebiyle, bu bakteriler biokoruma amacıyla kullanımda da tercih sebebi olmuşlardır (Parada 1984; Caplice ve Fitzgerald 1999).

Gıdalara uygulanan bazı bakteriyosinler ve oluşturdukları etki Tablo 2-2'de verilmiştir (Cleveland ve ark. 2001).

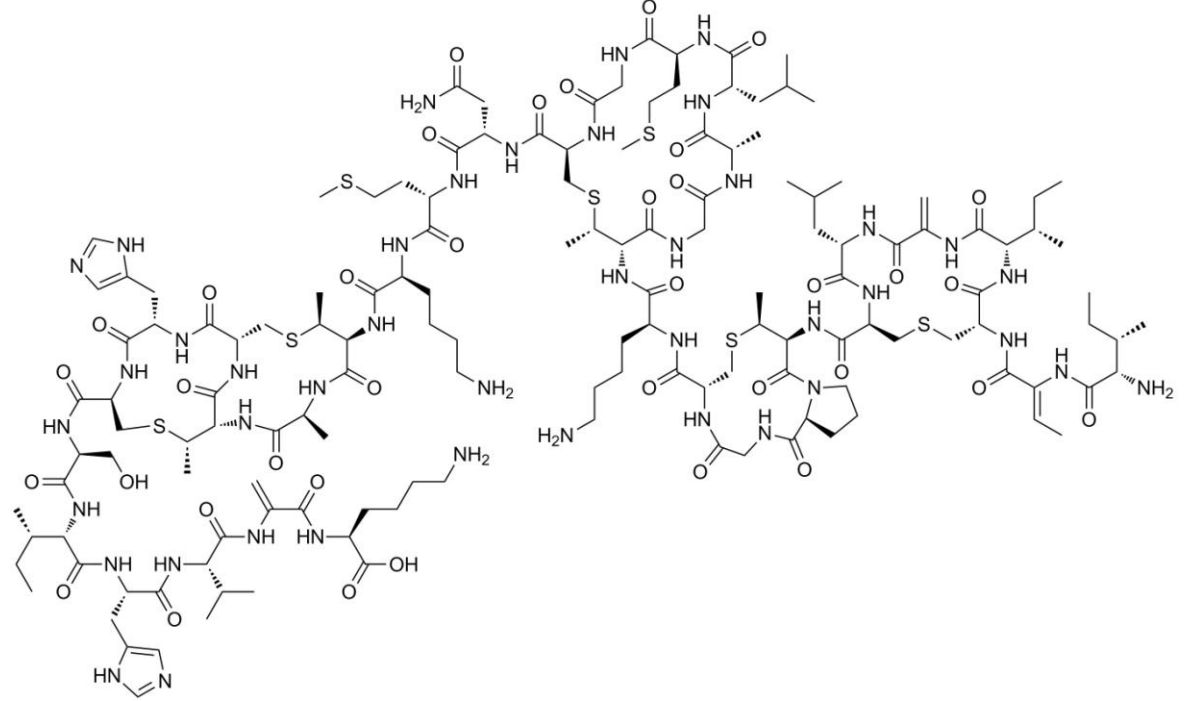
Tablo 2-2: Gıdalara Uygulanan Bazı Bakteriyosinler ve Etkileri

Bakteriyosin	Uygulanan gıda	Etkileri
Nisin A	Yeniden şekillendirilen et ürünleri (formed meat products)	Bakteriyel inaktivasyon
Nisin A	Ricotta peynirinde <i>L. monocytogenes</i> 'in kontrolü için kullanılmıştır	<i>L. monocytogenes</i> 'i 8 hafta etkili bir şekilde inhibe etmiştir
Pediocin AcH	Pediocin AcH sentezleyen <i>L. plantarum</i> WHE 92, olgunlaşmanın başlangıcında Munstar peynirinin yüzeyine spreyleneştir	<i>L. monocytogenes</i> 'in gelişimini engellemiştir
Enterocin 4	Enterocin sentezleyen <i>E. faecalis</i> INIA4, Manchego peyniri üretiminde kullanılmıştır	<i>L. monocytogenes</i> Ohio'yu inhibe ederken, <i>Listeria monocytogenes</i> Scott A'yı inhibe etmemiştir
Linocin M-18	<i>B. lines</i> kırmızı peynir üretiminde starter olarak kullanılmıştır	<i>L. ivanovi</i> ve <i>L. monocytogenes</i> 'te 2 log düşüşe neden olmuştur
Piscicolin 126	Jambonda <i>L. monocytogenes</i> kontrolü için kullanılmıştır	Ticari bakteriyosinlerden daha etkili bulunmuştur
Leucocin A	<i>L. gelidium</i> UAL187 vakum paketlenmiş sığır etinde bozulma kontrolü için kullanılmıştır	<i>L. sake</i> 'nin de etkisiyle bozulma 8 haftaya kadar geciktirilmiştir.
Lactocin 705	Kıyılmış sığır etinde <i>L. monocytogenes</i> 'in gelişimini önlemek için kullanılmıştır	<i>L. monocytogenes</i> 'in kıyılmış etlerde gelişimini önlemiştir.
Pediocin AcH	Tavuk eti sosisinde <i>L. monocytogenes</i> 'i inhibe etmek için pediosin üreten <i>P. acidilactici</i> (Ped ⁺) kullanılmıştır	Etkili bir şekilde <i>L. monocytogenes</i> sayısını azaltmıştır.
Pediocin	Şarap ve fırıncılık ürünlerinde kullanım potansiyeli araştırılmıştır	Bu tür ürünlerde kullanım potansiyeli olduğu belirlenmiştir
Pediocin AcH	Tavuk etine pediosin preparatı ilave edilmiştir	5 °C'de 28 gün <i>L. monocytogenes</i> gelişimini kontrol etmiştir
Pediocin PA-1	Fermente sosiste starter olarak <i>P. acidilactici</i> (Ped ⁺) kullanılmıştır	<i>L. monocytogenes</i> 'i etkili bir şekilde kontrol etmiştir.
Enterocin	Jambon, domuz eti, tavuk göğüs eti, pate ve sosis'te kullanılmıştır	Çeşitli şartlar altında <i>L. monocytogenes</i>

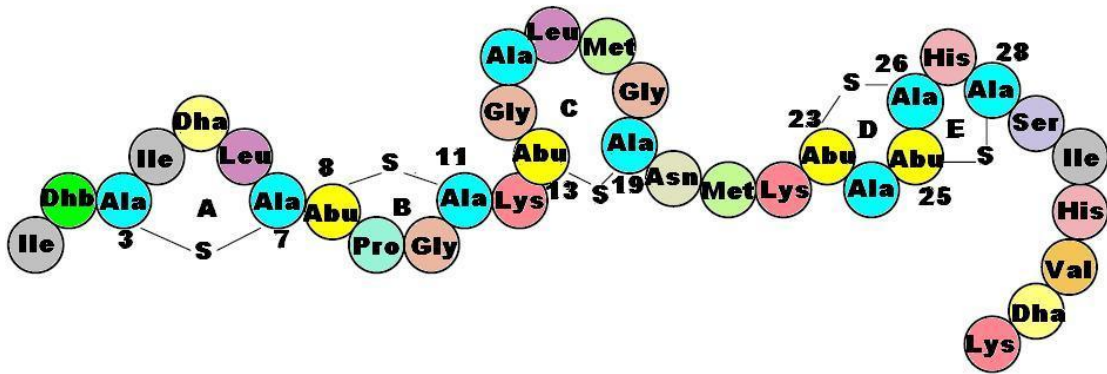
2.5.5. Nisinin Tanımı ve Kimyasal Yapısı

Nisin, laktik asit bakterilerinden (LAB) *Lactococcus lactis subsp. lactis*'in doğal suşları tarafından süt veya şeker besiyerinin fermentasyonu sırasında üretilen bir bakteriosindir. Molekül formülü C₁₄₃H₂₃₀N₄₂O₃₇S₇ ve molekül ağırlığı 3354.12 Da'dır (Şekil 2-1). Beyaz renklidir (Türk Gıda Kodeksi, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Safılık Kriterleri 2012). Yapısında 34 adet aminoasit bulunur (Şekil 2-2). Nisin, yapısındaki 27. aminoasidin türüne göre 2'ye

ayrılır. 27. aminoasit aspartik asit ise Nisin A, Histidin ise Nisin Z olarak adlandırılır (Wessels ve ark. 1998; Koponen 2004).



Şekil 2-1: Nisinin Kimyasal Yapısı



Şekil 2-2: Nisinin Amino Asit Yapısı (Koponen 2004)

Dha = dehidroalanin, Dhb = dehidrobutirin, Abu = c-aminobutirik asit, Ala-S-Ala = mezo-lantiyonin, Abu-S-Ala = threo-metillantiyonin ve diğer L-amino asitler (İzolösin, Alanin, Lösin, Prolin, Glisin, Lizin, Metiyonin, Asparagin, Serin, Histidin, Valin)

Nisin ilk kez 1933 yılında Yeni Zelanda’da protein yapısında bir madde olarak tanımlanmış ve 1947 yılında nisin olarak isimlendirilmiştir. Nisinin ticari olarak kullanımına ise 1953 yılında ilk defa İngiltere’de başlanmıştır (Cotter ve ark. 2005). 1969 yılında Gıda ve Tarım Organizasyonu/Dünya Sağlık Organizasyonu tarafından gıdalarda katkı maddesi olarak kullanımının güvenli olduğu onaylanmış ve o zamandan beri E 234 numaralı gıda katkı maddesi olarak 50’yi aşkın ülkede kullanılmaktadır (Delves-Broughton 2005). İnsanlar dahil tüm memeliler için toksik etkisi olmadığı tespit edilmiş ve Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından “GRAS” (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilebilir Ürün) statüsünde kabul edilmiştir (Wessels ve ark. 1998; Bouttefroy ve Milliere 2000). Nisin ilk olarak pastörize peynirlerde Clostridium gelişimini engellemek üzere kullanılmıştır. Daha sonra sıvı yumurta ürünleri, salata sosları, konserve gıdalar, mayonezli ürünler, domates sosları ve etlerde de kullanılmıştır (Delves-Broughton 2005; Millette ve ark. 2007).

Nisinin etki spektrumu diğer birçok bakteriyosine kıyasla daha geniş olup, asidik gıdalarda ve Gram (+) mikroorganizmalar üzerinde oldukça etkilidir. Vegetatif hücrelerin yanı sıra bakteri sporları üzerinde de inhibisyon etkisi bulunmaktadır (Scott and Taylor 1981). Asidik ortamlarda yüksek stabilite ve çözünürlüğe sahiptir. pH yükseldikçe çözünürlük düşmektedir. Asidik ortamlarda yüksek sıcaklığa daha dayanıklıdır. pH 3.0-3.5 aralığında 121 °C de 5 dakika otoklavlandığında aktivitesinin sadece %10’unu kaybetmektedir. Peynir üretiminde, pastörizasyon sıcaklığında ve 5.6-5.8 pH aralığında aktivitesinin %20’sini kaybettiği tespit edilmiştir. Nisinin gıdalardaki stabilitesi, inkübasyon sıcaklığına, depolama süresine ve pH’a bağlıdır. Nisin düşük sıcaklıklarda daha stabildir. Nisin eklenen gıda yüksek sıcaklıkta depolanacaksa daha yüksek seviyede nisin kullanımına gereksinim vardır. Ortamda titanyum dioksit ve sodyum metabisulfit varlığı nisinin stabilitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Delves-Broughton 2005).

Nisin iki önemli etki mekanizmasına sahiptir. Bunlardan birincisi, hücre zarında porlar oluşturarak hücre içindeki organellerin, amino asitlerin, potasyumun, ATP’nin ve hücre için esansiyel diğer maddelerin dışarı akmasını sağlamak, ikincisi ise hücre zarında Lipid II molekülü ile kompleks oluşturmak suretiyle, Lipid II molekülünün peptidoglikan zincirine birleşmesini önleyerek hücre duvarı sentezini durdurmasıdır. Gram negatif bakterilere karşı etkisinin olmaması, Gram negatif bakterilerin hücre

zarının, Gram pozitif bakterilere göre çok daha az geçirgen olmasından kaynaklanmaktadır (Bauer ve Dicks 2005; Delves-Broughton 2005).

2.5.6. Nisinin Gıdalarda Kullanımı

Artan tüketici talebini karşılamak amacıyla her geçen gün yeni gıdalar geliştirilmektedir. Bu gıdaların geliştirilmesinde, gerek patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesi gerekse raf ömrünün uzatılması amacıyla çeşitli katkı maddelerinden faydalanılmaktadır. Ancak bu katkıların bazılarının sağlıksız oluşu, kullanım oranına bağlı olarak kanserojenik ve toksik etki yapabilmeleri, doğal ve güvenilir katkıların elde edilmesini ve kullanımını oldukça önemli hale getirmiştir (Kurt ve Zorba 2005).

Bu noktada, günümüzde ticari olarak üretilen gıdalarda kullanılmasına izin verilen bakteriyosinlerden nisin, herhangi bir toksik etkisi bulunmadığı, patojen ve bozulma etmeni organizmalara karşı etkili olduğu için bu isteklere hizmet etmekte ve çeşitli gıdalarda patojen mikroorganizmalara etkisi üzerine araştırmalara konu olmaktadır (Akkoç ve ark 2009).

Ruiz ve ark. 2009, nisinin hindi jambonda *Listeria monocytogenes* üzerine etkisini tespit etmek için yaptıkları çalışmada, *L. monocytogenes* inokule edilen hindi jambonlara %0.2, %0.3, %0.4 ve %0.5 nisin solüsyonları eklemiştir. Ürünler vakum paketlenerek +1 - +4 °C arasında 63 gün süre muhafaza edilmiştir. Tüm nisin uygulamalarında 0. gün 4 log düşüş gözlenmiştir.

Thomas ve ark. 2002, *Clostridium sporogenes* ve *Clostridium tyrobutyricum* sporlarını pişmiş patates püresine inokule ettikten sonra vakum paketlenme ve pastörizasyon işlemlerinden geçirmiş, 8 ve 25 °C sıcaklıkta inkube etmişlerdir. 25 °C’de inkube edilen patates pürelerinde, 6.25 µg/g nisin ilavesi ile raf ömrünün 58 güne, 8°C’de inkube edilen patates pürelerinde ise, 6.25 µg/g nisin ilavesi ile raf ömrünün 30 güne çıktığı tespit edilmiştir.

Aktürkoğlu ve Erol 1998, pastörize sütlerden üretilen beyaz peynirlerde, nisinin *Listeria monocytogenes* üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, beyaz peynirlerde 30 g/ml nisin kullanımı ile *L. monocytogenes* bakterilerinin 60. günde peynirlerden tamamen elimine olduğunu saptamıştır.

Nisin et ve et ürünlerinde birçok mikroorganizma üzerinde etkilidir. Bununla birlikte, en önemli özelliklerinden birisi, hastalık ve ölümlere yol açabilen *Listeria*

monocytogenes'i inhibe edebilmesidir (Pawar ve ark. 2000). Nisin yine, et ve et ürünlerinde oldukça tehlikeli bir patojen olan *C. botulinum* üzerine de etkilidir. Nisin, antimikrobiyal olarak nitrit için belli düzeylerde alternatif oluşturabilmektedir. Ayrıca nisinin *Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium divergens* ve *L. innocua* üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, karkas yüzeyine spreyleneceği ile bu mikroorganizmaların sayısını önemli düzeyde azalttığı görülmüştür. *Brochothrix thermosphacta* üzerinde etkili nisin seviyesinin 400 IU/ml olduğu da bildirilmektedir (Cutter ve Siragusa 1994).

Hampikyan ve Uğur 2007, fermente sucuklarda nisin kullanımının *L. monocytogenes* üzerine etkisini tespit etmeye yönelik yaptığı çalışmada, 100 µg/g nisin oranının *L. monocytogenes* üremesini engellediğini tespit etmiştir. Hampikyan 2009, yürüttüğü bir diğer çalışmada ise 150 µg/g nisinin, sucuk hamurunun fermantasyon ve depolama aşamalarında *S. aureus* gelişimini engellemek amacıyla kullanılabilirliğini bildirmiştir.

Reunanen ve Saris 2004, nisinin et ürünlerindeki etki süresi üzerine yaptıkları çalışmada, sosis örneklerine 0.9 µg/g oranında nisin ilave etmişler, 28. gün sonunda ilave edilen nisin miktarının % 68'inin üründe kaldığını ve nisinin uzun süre etkin dozda etki ederek, ürünün raf ömrünü uzatabildiğini bildirmişlerdir.

Çankaya ve ark. 2010, nisinin (250 ppm) tavuk kıymasında MAP ile kombinasyonunun soğuk depolamada *L. monocytogenes*'in kontrolünü sağladığını, 6 gün sonunda kontrol-aerobik örneklere göre bakteri sayısını 2,5 log₁₀ düşürdüğünü tespit etmiştir.

Economou ve ark. 2008, tavuk etlerine uyguladıkları 1500 IU/g nisinin, mezofilik bakteri, *Pseudomonas sp.*, *Brochothrix thermosphacta*, laktik asit bakterileri ve Enterobacteriaceae popülasyonuna karşı etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Codex Alimentarius ve Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği 2011 koruyucular bölümünde nisin kullanılmasına izin verilen gıda çeşitleri ve limitleri sırasıyla Tablo 2.3 ve Tablo 2.4'de belirtilmiştir.

Tablo 2-3: Nisin Kullanımına İzin Verilen Gıdalar ve Limitleri (Codex Alimentarius)

Gıda Katkı Maddesinin E Kodu ve Adı	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer
E 234 Nisin	Tahıl ve un bazlı tatlılar (ör; sütlaç, tapioca puding vb.)	3 mg/kg
	Peynir içeren gıdalar	12,5 mg/kg
	Olgunlaştırılmış peynir	12,5 mg/kg
	Kaymak	10 mg/kg

Tablo 2-4: Nisin Kullanımına İzin Verilen Gıdalar ve Limitleri (Türk Gıda Kodeksi 2011)

Gıda Katkı Maddesinin E Kodu ve Adı	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer
E 234 Nisin	İrmik ve tropik kök bitkisi/tapioca pudingleri ve benzeri ürünler	3 mg/kg
	Olgunlaştırılmış peynir ve işlenmiş peynir	12,5 mg/kg
	Kaymak	10 mg/kg
	<i>Mascarpone</i>	10 mg/kg
	Pastorize sıvı yumurta (beyaz, sarı veya bütün)	6,25 mg/L

2.5.7. Nisinin Diğer Maddeler ve Farklı Teknikler ile Birlikte Kullanımı

Nisin çok geniş bir yelpazede Gram pozitif bakterilere ayrıca klostridium ve basillus türlerinin sporlarına karşı bakterisidal etkiye sahipken, Gram negatif bakterilere, maya ve küflere karşı etkisizdir (Chen ve Hoover 2003).

Nisin, aktivitesinin ve etki spektrumunun genişletilmesi amacıyla EDTA, trisodyum fosfat, sodyum laktat, sodyum sitrat, sodyum klorid, potasyum sorbat, bazı organik asitler ve sarımsak ekstraktı gibi maddeler ile birlikte kullanılabilir (Denktaş 2010).

Ukuku ve Fett 2004, Salmonella inokule ettikleri bütün kavun üzerinde, nisin-EDTA, nisin-sodyum laktat, nisin-potasyum sorbat, nisin-sodyum laktat-potasyum sorbat kombinasyonlarını uygulamışlar ve 0. günde Salmonella miktarında yaklaşık 3 log kob/cm² düşüş tespit etmişlerdir.

Pawar ve ark 2000, çiğ manda eti kıymasında *L. monocytogenes*'in gelişimini engellemek üzere 400 ve 800 IU/g nisin ile birlikte %2 sodyum klorid kullanmışlar ve *L. monocytogenes*'in gelişiminin kontrol grubuna kıyasla ciddi şekilde engellendiğini gözlemlemişlerdir.

Singh ve ark. 2001, nisin ve sarımsağın listeria gelişimine etkisini humus üzerinde araştırmışlar ve kombinasyonun listeria gelişimini engellemede etkili olduğunu ayrıca sarımsağın, nisinin Gram pozitif bakteriler üzerine etkisini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Nisin/EDTA, nisin/asetik asit ve nisin/potasyum sorbat kombinasyonlarının kalsiyum aljinat jel içinde immobilizasyonunun, dana kıymada 10 °C'de *E. coli* O157:H7'nin gelişmesini büyük ölçüde önlediği bildirilmiştir (Fang ve Tsai 2003).

Bir diğer çalışmada, Rajkovic ve ark. 2005, *B. cereus* ve *B.circulans* ile kontamine ettikleri patates pürelerine çeşitli konsantrasyonlarda nisin ve corvacrol ilave ederek vakum paketlenmişler ve mikroorganizma sayılarında belirgin düşüşler saptamışlardır.

Nisinin etkisini artırmak için koruyucu katkıların yanı sıra yüksek basınç ve yüksek voltaj elektrik alan pulslarının (PEF) uygulanması önemli katkı sağlamıştır (Kurt ve Zorba 2005). Örneğin 100 IU/ml nisinle birlikte 155-400 MPa basınç uygulamasının *Escherichia coli*, *S.Enteridis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Staphylococcus aureus*' u inaktive ettiği saptanmıştır (Masschalck ve ark. 2001). Nisinle PEF'in etkisinin araştırıldığı çalışmalarda ise, 10, 100 IU/ml nisin ile birlikte farklı seviyelerde (30, 40, 50 kV/cm) PEF uygulamasının, yağsız süt ve sıvı yumurtada *L.innocua*'nın inaktivasyonunu artırdığı tespit edilmiştir (Calderón-Miranda ve ark. 1999a; 1999b).

Tavuk etlerindeki *Arcobakter* kontaminasyonunu önlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, %2 sodyum laktat ve 500 IU/g nisin kombinasyonu ile muamelenin tavuk etlerini sadece düşük sıcaklıkta depolamaktan daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Long ve Phillips 2002).

Lee ve ark. 2004, antimikrobiyal paketlemenin pastörize süt ve portakal suyuna etkisini ölçmek amacıyla paketlerde nisin ve/veya kitosan kullanmışlardır. Bu

paketlenmenin 3 ve 10 °C sıcaklıklarda pastörize süt ve portakal suyunun mikrobiyal stabilitesini ciddi şekilde sağladığını tespit etmişlerdir.

Nisin gıda yüzeyine uygulanan filmler ile de kullanılabilir. Bu tür antimikrobiyal biyofilmler, temas ettikleri gıda yüzeyinde mikrobiyal gelişimi etkileyebilmektedir. Nisin, kullanıldığı biyofilmlerden gıda yüzeyine belli oranlarda geçerek, yüzeyde mikrobiyal gelişimi engelleyebilmektedir (Kumar ve Anand 1998).

Millette ve ark 2007, 500 ve 1000 IU/mL nisin içeren filmleri dana eti dilimleri üzerine uygulamışlar ve *S. aureus* üzerine inhibe edici etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, 500 IU/mL nisin kullanılanlarda 0.91, 1000 IU/mL nisin kullanılanlarda ise 1.86 log kob/cm² düşüş tespit etmişlerdir.

2.5.8. Nisin ve EDTA Tuzlarının Gıdalarda Birlikte Kullanımı

Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), gıdalarda oksidasyonu ve metal iyonlar tarafından katalize edilen bozulma reaksiyonlarını önleme amacıyla kullanılan şelatörlerdir. Ayrıca, özellikle Gram (-) mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahiptirler (Belfiore ve ark. 2006).

Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği 2011, diğer katkı maddeleri bölümünde, E 385 kodu ile belirtilen EDTA'nın kullanılabilmesi için gıdalar ve kullanım miktarı Tablo 2.5'de belirtilmiştir.

Economou ve ark. 2008, çeşitli nisin ve EDTA kombinasyonlarının modifiye atmosfer paketlenme ile paketlenmiş taze tavuk etlerinin raf ömrü üzerine etkisini tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada, 500 IU/g-50 mM EDTA kombinasyonunun raf ömrünü 24 güne, 1500 IU/g-50 mM EDTA kombinasyonunun ise 20 güne kadar çıkardığını tespit etmişlerdir.

Stevens ve ark. 1991, nisin ve EDTA'nın çeşitli Salmonella türleri ve seçilen bazı Gram (-) bakteriler üzerine etkisini görmek amacıyla in vitro olarak yürüttükleri çalışmada, 50 µg/ml nisin ve 20 mM disodium EDTA ile 1 saatlik muamele sonrasında seçilen bakteriler üzerinde 37°C'de, 3.2 ile 6.9 log siklusu arasında düşüş gözlemlenmiştir.

Gill ve Holey 1999, jambon ve Bolonya sosleri üzerine lizozim, nisin ve EDTA kombinasyonları ile çalışmışlardır. Sonucunda, jambonda *E. coli* O157:H7 gelişiminin 4 hafta boyunca düştüğü, sosiste *Lc. mesenteroides* ve *L. monocytogenes*

gelişiminin 2 hafta boyunca düştüğü, her iki üründe ise *B. thermosphacta* ve *Lc. mesenteroides* popülasyonlarının düşüş gösterdiği tespit edilmiştir.

Zhang ve Mustapha 1999, nisin ve nisin-EDTA kombinasyonu ile taze kırmızı et üzerinde çalışmışlardır. Kuşbaşı etlere önce 7 log kob/ml *Listeria monocytogenes* ya da *Escherichia coli* O157:H7 inokule etmişlerdir. Arkasından nisin ya da nisin-EDTA kombinasyonu içeren solüsyonların içinde 10 dakika bekletip, 15 dakika dinlendirdikten sonra vakum paketlenerek 4°C'de 30 gün depolamışlardır. Nisin ve nisin-EDTA kombinasyonu, kontrol grubuna kıyasla *L. monocytogenes* popülasyonunu sırasıyla 2.01 ve 0.99 log kob/cm² düşürmüştür. *E. coli* O157:H7 popülasyonunda ise sırasıyla 1.02 log kob/cm² ve 0.8 log kob/cm² düşüş sağlamışlardır.

Natrajan ve Sheldon 2000, broyler tipi tavukların derilerindeki *Salmonella* inhibisyonu amacıyla yürüttükleri çalışmada; nisin konsantrasyonları (0, 100, 300 ve 500 µg/ml), 3% sitrik asit, 5.0 mM EDTA ve %0.5 Tween 80'den oluşan kombinasyonu %0.5 kalsiyum aljinat filme katmışlar ve *Salmonella* Typhimurium^{NAr} ile kontamine ettikleri deri örnekleri üzerine uygulamışlardır. 4°C'de 72 saatlik uygulamadan sonra derideki *Salmonella* Typhimurium^{NAr} popülasyonunda 1.98 ile 3.01 log siklusu arasında düşüş gözlemlenmiştir.

Tablo 2-5: EDTA Kullanımına İzin Verilen Gıdalar ve Limitleri (Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği 2011)

Gıda Katkı Maddesinin E Kodu ve Adı	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer
E 385 Kalsiyum disodyum etilen diamin tetra-asetat (Kalsiyum disodyum EDTA)	Emülsifiye edilmiş soslar	75 mg/kg
	Baklagil, mantar, enginar ve konservesi	250 mg/kg
	Kabuklu su ürünleri ve yumuşakça konserveleri	75 mg/kg
	Balık konservesi	75 mg/kg
	Sürülebilir margarin (yağ içeriği %41 veya az olanlar)	100 mg/L
	Dondurulmuş ve derin dondurulmuş kabuklular	75 mg/kg

2.5.9. Patojen Bakterilerin Nisin Direnci

Bakteriyosinlerin hedef aldığı bakterilerin zaman içerisinde o bakteriyosine karşı direnç geliştirme olasılıkları, bakteriyosinlerin gıda korunmasında etkin olarak

kullanımları konusunda bazı endişelere yol açmaktadır. Bu konudaki çalışmalar, özellikle nisin üzerinde yoğunlaşmaktadır (Akkoç ve ark. 2009).

Nisin direncini tespit etmeye yönelik yapılan çalışmalarda bazı *S. aureus* suşlarının nisine dirençli olduğu tespit edilmiştir (Martínez ve ark. 2008; Sudağıdan ve Yemenicioğlu 2012; Sudağıdan ve Aydın 2013).

Jarvis 1967, yürüttüğü bir çalışmada, *Bacillus* türlerinin nisini inaktive eden nisinaz enzimini ürettiğini tespit etmiştir.

L. monocytogenes suşlarında da nisine dirençli mutantların olduğu yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Harris ve ark. 1991; Davies ve Adams 1994).

Grade ve ark. 2004, sürekli nisine maruz kalan streptokok suşlarında hücre duvarının kalınlaşması sonucu nisine karşı direnç gelişiminin olduğu sonucuna varmışlardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Köfte Hamuru İçeriği

Köfte örnekleri İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi mezbaha ve et değerlendirme ünitesinden sağlanan 2-3 yaş arası sağlıklı kasaplık sığırların, usulüne uygun olarak kesilmesinden elde edilen etlerden çekilmiş kıymalardan hazırlanmıştır. Köfte hamurunun hazırlanması geleneksel tarife göre yapılmıştır ve içeriğinde %84 kıyma (%90 et ve %10 et yağı), %8 galeta unu, %3 soğan, %0,5 sarımsak, %0,4 kimyon, %0,1 karabiber, %2 kırmızı biber ve %2 tuz bulunmaktadır (Çolak 2008).

3.1.2. Alet ve Cihazlar

Deneysel köftelerin üretimi, mikrobiyolojik ve fiziksel analizleri İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında, aşağıdaki cihazlardan yararlanılarak yapıldı.

- Kıyma makinesi
- Hamur yoğurma makinesi
- Tabak kapatma makinası
- Hassas terazi
- Benmari
- Otoklav
- Etüv
- Manyetik karıştırıcı
- Otomatik pipet
- Vortex
- Lab Blender 400
- pH metre (Hanna HI 9321)
- Su aktivitesi ölçüm cihazı (Higrometre, Lufft)
- Cam malzemeler ve diğer laboratuvar malzemeleri
- Soğuk depo
- Çeker ocak ve UV sterilizatör

3.1.3. Besiyeri, Kimyasal Madde ve Suşlar

- *Staphylococcus aureus* subsp.aureus ATCC 25923 (MBL 0360)
- *E. coli* O157:H7 NCIMB 13861 (MBL NCIMB 13861)
- Baird Parker Medium Base (Oxoid CM 275)
- Egg Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid SR054)
- DNase Agar (Oxoid CM 321)
- Coagulase Plasma (Remel, RML 21060)
- Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 989)
- Sorbitol Mac Conkey Agar (Oxoid CM 813)
- Cefixime Tellurite Supplement (Oxoid SR 172)
- *E. coli* O157:H7 Rapid Latex Test (Remel, RML 30959601)
- Violet Red Bile Agar (VRB, Oxoid CM0107)
- TBX Agar (Oxoid CM0945)
- Chloramphenicol Selective Supplement (Oxoid SR0078)
- Tamponlanmış Peptonlu Su (Oxoid CM 009)
- Rappaport Vassiliadis Soya Broth (Oxoid CM 866)
- Brilliant Green Agar (Oxoid CM 263)
- Triple Sugar Iron Agar (Oxoid CM 277)
- Lysine Iron Agar (Oxoid CM 381)
- Salmonella Latex Test (Oxoid FT 203)
- DRBC Agar Base (Oxoid CM0727)
- Plate Count Agar (Oxoid CM0463)
- Nisin (Sigma – N5764)
- EDTA (Titriplex)

3.2. Yöntem

3.2.1. *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. coli* O157:H7 NCIMB 13861 Suşlarının Hazırlanması

S. aureus ATCC 25923 (MBL 0360) ve *E. coli* O157:H7 NCIMB 13861 (MBL NCIMB 13861) suşları McFarland standardına göre 10^8 /ml olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan süspansiyonun konsantrasyonu, spektrofotometrede Tablo 3.1’de belirtilen McFarland Standardı 0,5 değeri ile karşılaştırılarak doğrulandı (Bilgehan 2004).

Tablo 3-1: McFarland Standartlarına Karşılık Gelen Bakteri Yoğunluğu

McFarland Standardı	kob (x 10^8 /mL)	1% BaCl ₂ /1% H ₂ SO ₄ (mL)
0,5	1,5	0,05/9,95
1	3	0,1/9,9
2	6	0,2/9,8
3	9	0,3/9,7
4	12	0,4/9,6
5	15	0,5/9,5

3.2.2. Nisin Solüsyonunun Hazırlanması

Her bir çalışma için 9 g nisin (Sigma N5764) 200 ml 0.02 N HCl içinde çözüldü 0.22 µm membran filtreden geçirilerek steril edildi (Schillinger ve ark. 2001). Hazırlanan bu stok solüsyondan, 2., 5. ve 6. gruplara 1000 IU/g ilave edildi. 1. grup olan kontrol grubu ile EDTA içeren 3. ve 4. gruba ise herhangi bir nisin ilavesi yapılmadı.

3.2.3. EDTA Solüsyonunun Hazırlanması

Deneylerde 10 mM ve 50 mM EDTA solüsyonları kullanıldı. 10 mM EDTA solüsyonu için 18,67 g EDTA, 50 mM EDTA solüsyonu için 93,55 g EDTA 500 ml distile suda çözdürüldü, 0.22 µm membran filtreden geçirilerek steril edildi.

3.2.4. Deneysel Köfte Örneklerinin Hazırlanması

Deneysel köfte örneklerinin hazırlanmasından, analizlerin yapılmasına kadar geçen süreçte yapılan işlemler Şekil 3.1’deki iş akış şemasında gösterilmiştir. Gruplara Tablo 3.2’de belirtilen miktarlarda nisin ve EDTA konsantrasyonları eklenmiştir.



Şekil 3-1: Deneysel Köfte Örneklerinin Hazırlık ve Analizi İş Akış Şeması

Tablo 3-2: Deney Grupları

GRUPLAR	NİSİN VE EDTA KONSANTRASYONLARI
1.GRUP	Kontrol grubu (Nisin ve EDTA yok)
2.GRUP	1000 IU/g nisin; EDTA yok
3.GRUP	10 mM EDTA; nisin yok
4.GRUP	50 mM EDTA; nisin yok
5.GRUP	1000 IU/g nisin ve 10 mM EDTA
6.GRUP	1000 IU/g nisin ve 50 mM EDTA

3.2.5. Laboratuvar Analizleri

Laboratuvar analizleri Ocak-Haziran 2013 ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan köfte hamurunun başlangıç florasını belirlemek üzere; toplam aerobik mezofilik bakteri, *E. coli*, koliform, küf-maya, *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 analizleri yapıldı. Deneysel olarak hazırlanan köfte örnekleri ise, üretimden itibaren 0., 2., 4., 6., 9. ve 12. günlerde mikrobiyolojik (*S. aureus*, *E. coli* O157:H7 ve toplam aerobik mezofilik bakteri) ve fiziko-kimyasal (pH ve su aktivitesi) analizlere tabii tutuldu.

Tüm mikrobiyolojik analizlerde; köfte örneklerinden her grup için ayrı olmak üzere aseptik şartlarda steril poşetlere 25 gram numune alınarak, üzerine 225 ml steril peptonlu su ilave edildi ve stomacherde (Lab Blender 400) homojenize edildi. Elde edilen ana dilüsyondan, aynı sulandırıcı kullanılarak seri dilüsyonlar hazırlandı ve aranılan mikroorganizmalar yönünden analizler gerçekleştirildi (FDA 1995; Harrigan 1998; ISO 2001).

3.2.5.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının belirlenmesinde Standard Plate Count Agar (Oxoid CM0463) kullanıldı. Dökme yöntemiyle ekim yapılan plaklar 35 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı (Harrigan 1998).

3.2.5.2. Toplam Koliform Bakteri Sayımı

Koliform bakterilerin izolasyonu amacıyla Violet Red Bile Agar (VRB, Oxoid CM0107) kullanıldı. Çift tabaka dökme ekim yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra

petriler 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda 2-3 mm çapındaki kırmızı viyole renkli koloniler sayıldı (Harrigan 1998).

3.2.5.3. *E. coli* Sayımı

TBX Agar (Oxoid CM0945) besiyerine inoküle edilen örnek dilüsyonları 44°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra üreyen bütün tipik koloniler sayıldı (FDA 1995).

3.2.5.4. Küf-Maya Sayımı

Küf-maya sayımı için, hazırlanan dilüsyonların Chloramphenicol Selective Supplement (Oxoid SR0078) ilaveli DRBC Agar Base (Oxoid CM0727)’e yayma yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra 25 °C’de 5 gün inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonunda değerlendirmesi yapıldı (Harrigan 1998).

3.2.5.5. *Staphylococcus aureus* Sayımı

Staphylococcus aureus sayısının saptanması amacıyla Baird Parker Agar (BPA, Oxoid CM0275) besiyerine yayma plak ekim yöntemi ile ekim yapıldı ve 35 °C’de 24-48 saat inkübasyon sonrasında üreyen bütün tipik koloniler değerlendirildi. *S. aureus* şüpheli tipik koloniler DNase, koagulaz ve katalaz testine tabi tutuldu (FDA 1995).

3.2.5.6. *E. coli* O157:H7 Sayımı

E. coli O157:H7 tespitinde ön zenginleştirme için alınan 25 g örnek 225 ml Novobiyosin içeren Tryptone Soya Broth (TSB+n) içerisinde 37°C’de 24 saat süreyle zenginleştirme işlemine tabii tutuldu. Ön zenginleştirmenin ardından Cefixime Tellurit (Oxoid SR0172) ilaveli selektif besiyeri Sorbitol MacConkey Agar (SMAC, Oxoid CM0813) besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapıldı. Petriler 35 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. 1-2 mm çapındaki saman sarısı renğinde/renksiz koloniler değerlendirildi. Şüpheli koloniler *E. coli* O157:H7 Rapid Latex Testi (Remel, RML 30959601) ve flagellar H serum ile doğrulandı (Harrigan 1998 ; Hitchins ve ark.2000).

3.2.5.7. *Salmonella* Aranması

Salmonella spp. aranmasında, seçici olmayan ön zenginleştirme için alınan 25 g örnek 225 ml Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS, Oxoid CM 009) ile homojenize edilerek 37 °C’de 18 saatlik inkübasyona bırakıldı. Seçici zenginleştirme amacı ile inkübasyon sonunda ön zenginleştirme ortamından alınan 0.1 ml örnek, içlerinde 10 ml

Rappaport Vassiliadis Soya Broth (RVS, Oxoid, CM 866) bulunan tüplere inokule edilerek, 42 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonunda RVS broth'dan Brilliant Green Agar (BGA, Oxoid CM 263)'a geçilerek 37 °C'de 20-24 saat inkübe edildi. BGA'da etrafı parlak kırmızı alan ile çevrili pembe-kırmızı renkli koloniler *Salmonella* spp. şüpheli olarak değerlendirildi. *Salmonella* spp. şüpheli kolonilerden biyokimyasal doğrulama testleri yapılmak üzere Triple Sugar Iron Agar (Oxoid CM 277) ve Lysine Iron Agar (Oxoid CM 381) yatık agarlara ekimleri yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonunda renk değişimine göre tüplerin pozitiflik değerlendirilmesi yapıldı. Serolojik doğrulama ise Salmonella Latex Test (Oxoid, FT 203) kullanılarak yapıldı (I.C.M.F.S 1982).

3.2.5.8. pH Tayini

Homojenize edilmiş ve sulandırılmış (10 g/100 ml saf su) köfte örneklerinin pH değerleri TSE tarafından önerilen metoda göre dijital bir pH metre (Hanna HI 9321) kullanılarak saptandı (AOAC 1984).

3.2.5.9. Su Aktivitesi (a_w) Tayini

Köfte örneklerinin su aktivitesi higrometre (Lufft) ile ölçüldü (AOAC 1984). Cihaz skalasından a_w değeri okundu ve cihazın kullanma talimatında bildirilen prosedüre göre standart sapmalar hesaplanarak tam değer kaydedildi.

4. BULGULAR

Köfte hamurunun başlangıç florasını tespit etmek amacıyla; hazırlanan köfte hamuru, *E.coli* O157:H7 ve *S.aureus* suşları ile nisin-EDTA kombinasyonları köfte hamuruna katılmadan önce, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, *E. coli*, koliform, küf-maya, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. yönünden analiz edildi. Deneysel olarak hazırlanan köfte örnekleri ise, üretimden itibaren 0., 2., 4., 6., 9. ve 12. günlerde *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, pH ve su aktivitesi analizlerine tabii tutuldu. Nisin ve EDTA kombinasyonlarının katıldığı ancak *E.coli* O157:H7 ve *S.aureus* suşlarının eklenmediği köfte hamurunda ise toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı analizi yürütüldü.

4.1. Deneysel Köfte Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.1.1. Köfte Hamuru Başlangıç Florası

Köfte hamurunun başlangıç florasında; toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 4.3×10^4 kob/g, *E. coli* 2×10^2 kob/g, koliform bakterileri 4×10^3 kob/g, küf-maya 1×10^3 kob/g olarak tespit edilmiştir. *S. aureus*, *E.coli* O 157:H7 ve *Salmonella* spp. ise hiç bulunamamıştır.

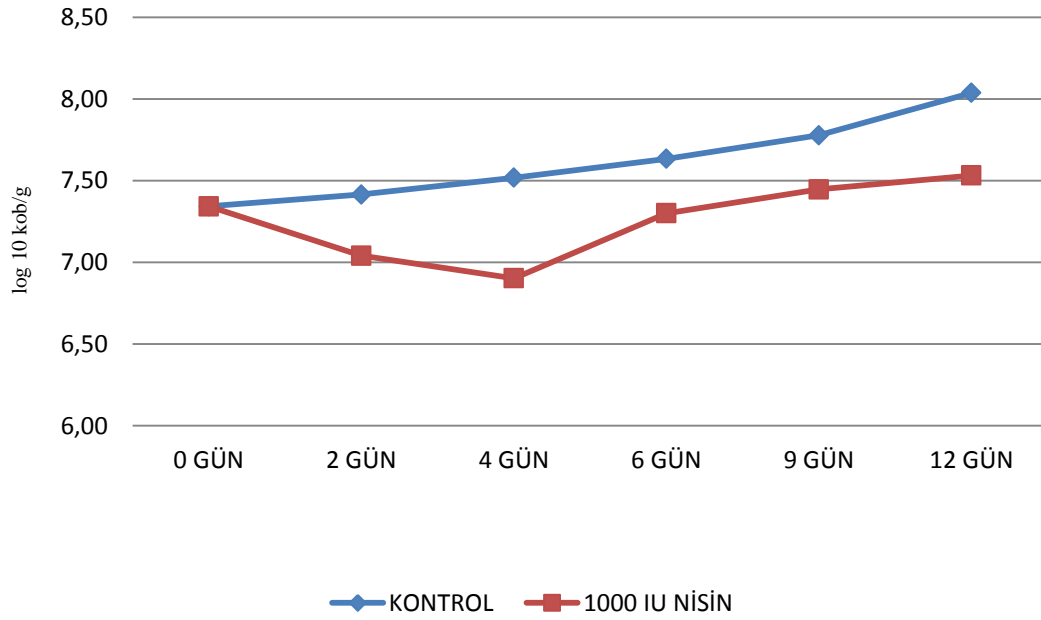
4.1.2. *S. aureus* Analiz Sonuçları

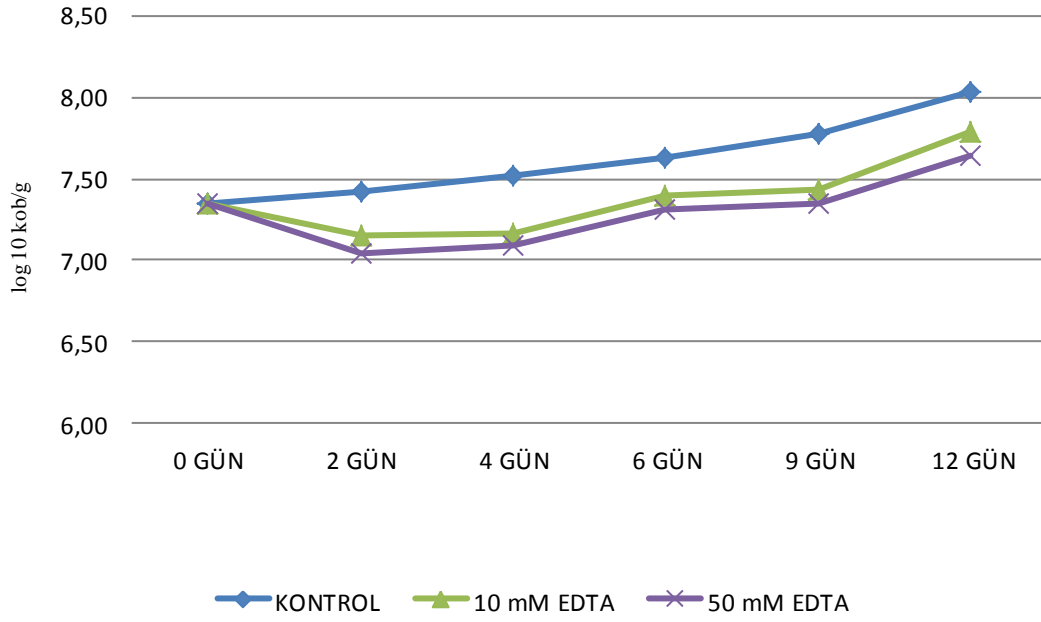
Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının eklendiği deneysel köfte örnekleri, 0., 2., 4., 6., 9., 12. günlerde üç paralel ekim yapılarak *S.aureus* analizine tabii tutulmuş ve saptanan *S. aureus* sayıları Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

Nisinin *S. aureus*’un üremesi üzerine etkisi Şekil 4-1’de, farklı miktarlarda kullanılan EDTA’nın *S. aureus*’un üremesi üzerine etkisi Şekil 4-2’de, nisin ve EDTA kombinasyonlarının *S. aureus*’un üremesi üzerine etkisi Şekil 4-3’de kontrol grubu ile birlikte belirtilmiştir. Şekil 4-4’de ise tüm grupların *S. aureus*’un üremesi üzerine etkisi topluca gösterilmiştir.

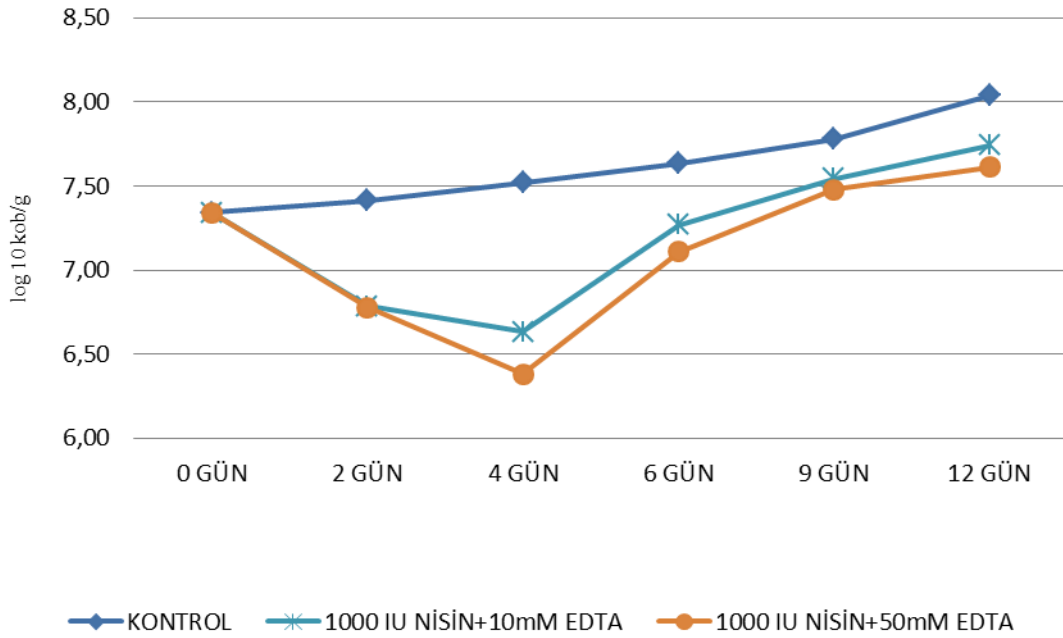
Tablo 4-1: Deneysel Köfte Örneklerinde Saptanan *S. aureus* Sayıları (log₁₀ kob/g)

GRUP	KOMBİNASYON	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	9. gün	12. gün
1	Kontrol	7,34	7,41	7,52	7,63	7,78	8,04
2	1000 IU/g nisin	7,34	7,04	6,90	7,30	7,45	7,53
3	10 mM EDTA	7,34	7,15	7,17	7,39	7,43	7,79
4	50 mM EDTA	7,34	7,04	7,09	7,31	7,35	7,64
5	1000 IU/g nisin ve 10 mM EDTA	7,34	6,79	6,63	7,27	7,54	7,74
6	1000 IU/g nisin ve 50 mM EDTA	7,34	6,78	6,38	7,11	7,48	7,61

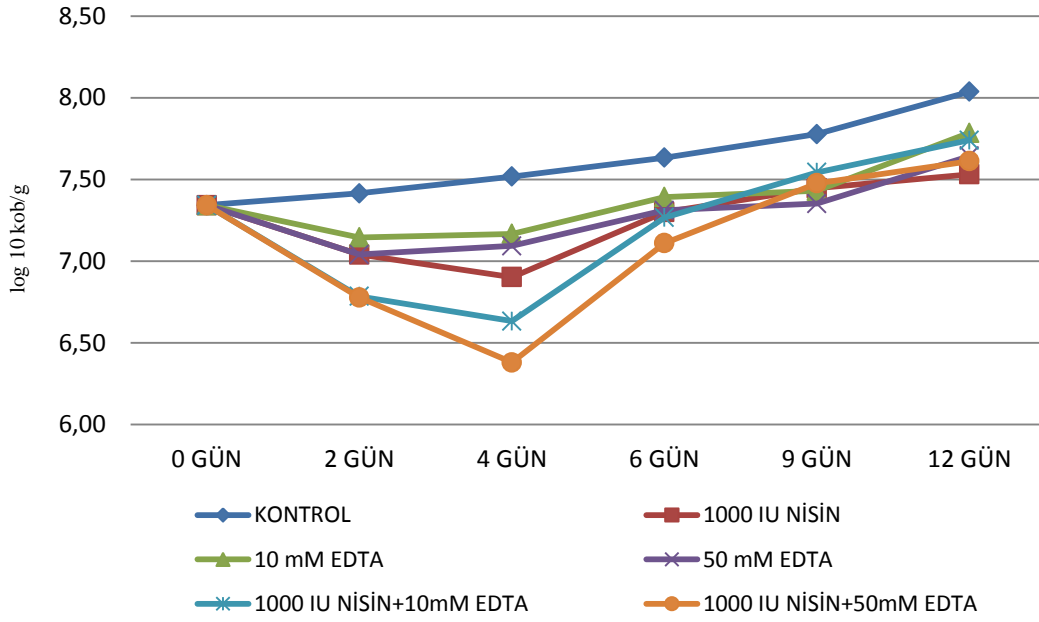
**Şekil 4-1: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisinin *S. aureus*'un Üremesi Üzerine Etkisi**



Şekil 4-2: Deneysel Köfte Örneklerinde Farklı EDTA Miktarlarının *S. aureus*'un Üremesi Üzerine Etkisi



Şekil 4-3: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin ve EDTA Kombinasyonlarının *S. aureus*'un Üremesi Üzerine Etkisi



Şekil 4-4: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının *S. aureus*'un Üremesi Üzerine Etkileri

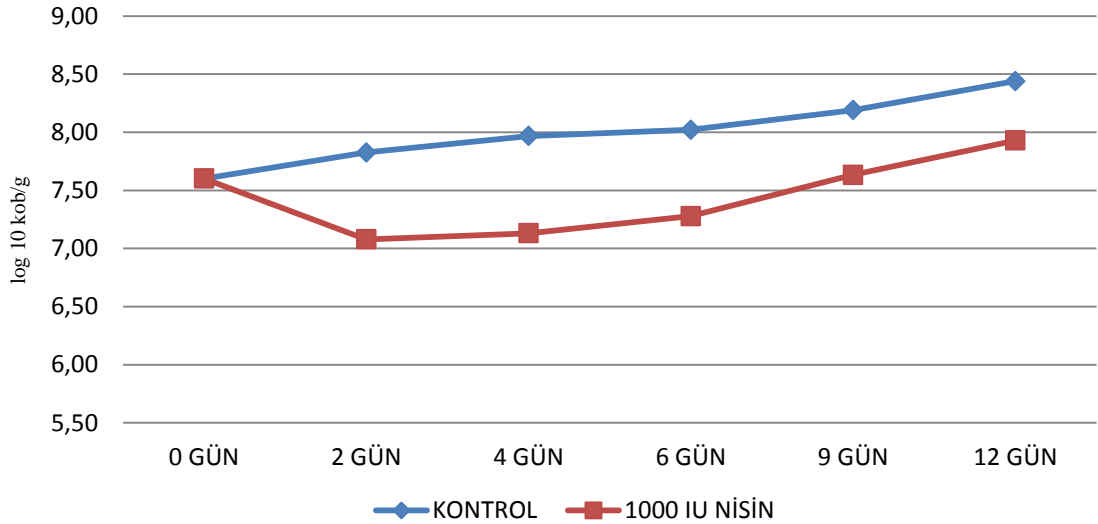
4.1.3. *E. coli* O157:H7 Analiz Sonuçları

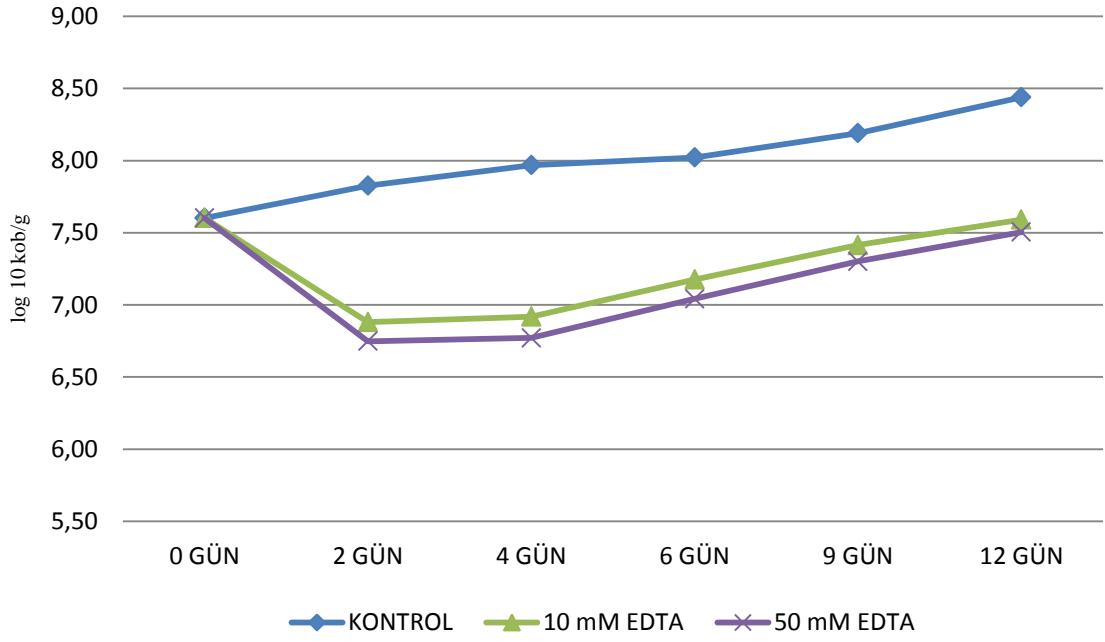
Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının eklendiği deneysel köfte örnekleri, 0., 2., 4., 6., 9., 12. günlerde üç paralel ekim yapılarak *E. coli* O157:H7 analizine tabii tutulmuş ve saptanan *E. coli* O157:H7 sayıları Tablo 4-2'de gösterilmiştir.

Nisinin *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine etkisi Şekil 4-5'de, farklı miktarlarda kullanılan EDTA'nın *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine etkisi Şekil 4-6'da, nisin ve EDTA kombinasyonlarının *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine etkisi Şekil 4-7'de kontrol grubu ile birlikte belirtilmiştir. Şekil 4-8'de ise tüm grupların *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine etkisi birarada gösterilmiştir.

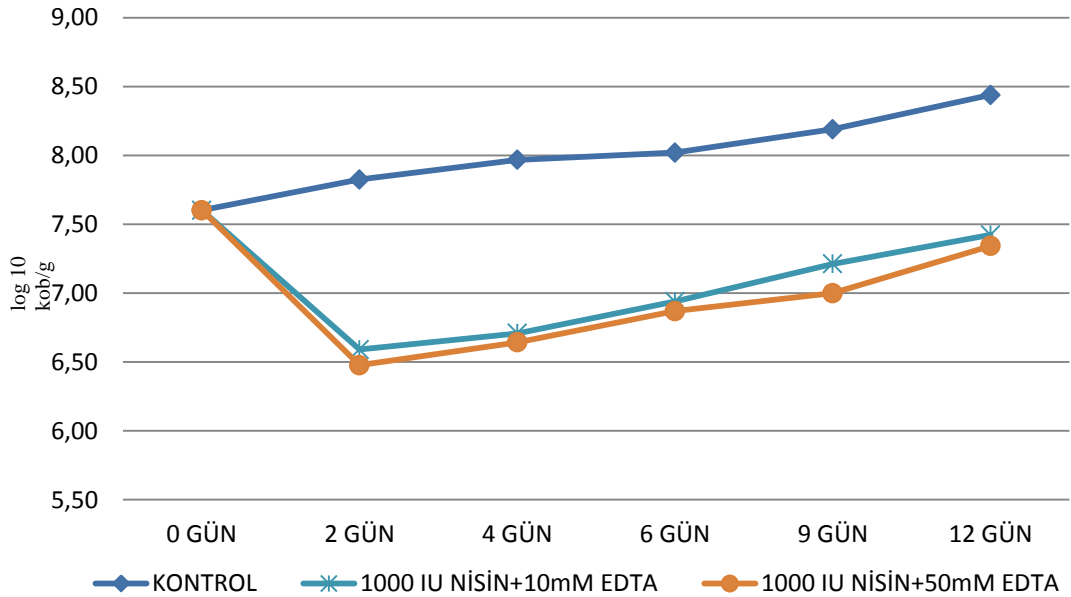
Tablo 4-2: Deneysel Köfte Örneklerinde Saptanan *E. coli* O157:H7 Sayıları (log₁₀ kob/g)

GRUP	KOMBİNASYON	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	9. gün	12. gün
1	Kontrol	7,60	7,83	7,97	8,02	8,19	8,44
2	1000 IU/g nisin	7,60	7,08	7,13	7,28	7,63	7,93
3	10 mM EDTA	7,60	6,88	6,92	7,18	7,41	7,59
4	50 mM EDTA	7,60	6,75	6,77	7,04	7,30	7,51
5	1000 IU/g nisin ve 10 mM EDTA	7,60	6,59	6,71	6,94	7,21	7,42
6	1000 IU/g nisin ve 50 mM EDTA	7,60	6,48	6,64	6,87	7,00	7,34

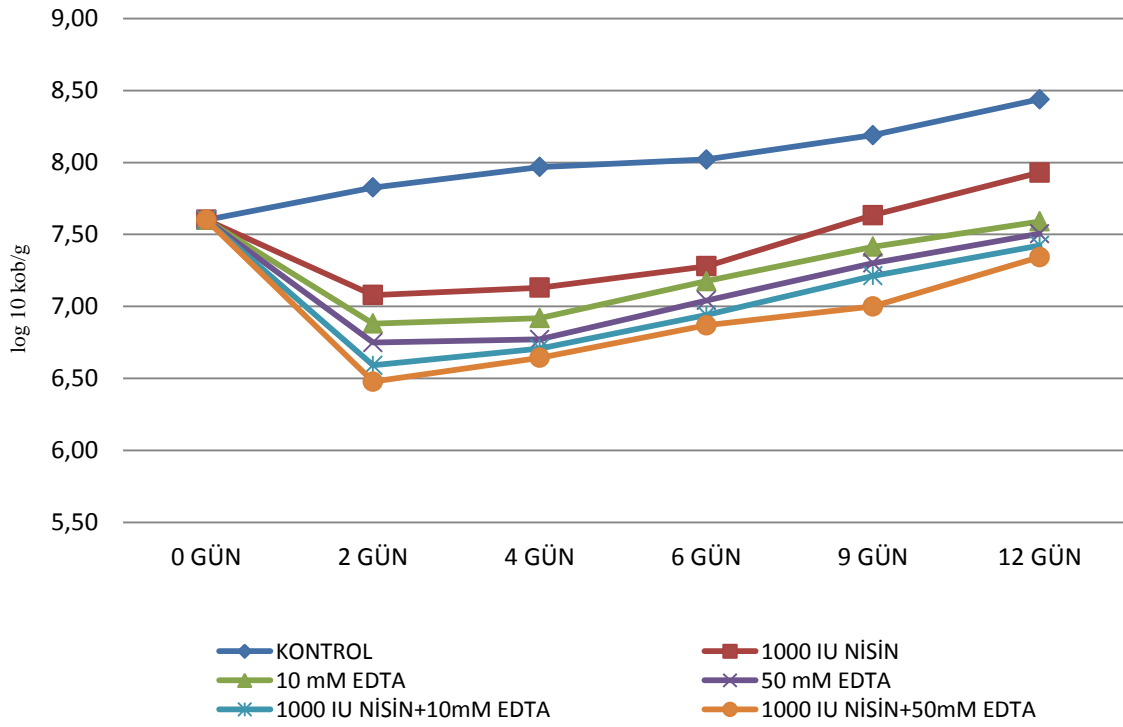
**Şekil 4-5: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisinin *E. coli* O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkisi**



Şekil 4-6: Deneysel Köfte Örneklerinde Farklı EDTA Miktarlarının *E. coli* O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkisi



Şekil 4-7: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin ve EDTA Kombinasyonlarının *E. coli* O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkisi



Şekil 4-8: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının *E. coli* O157:H7'nin Üremesi Üzerine Etkileri

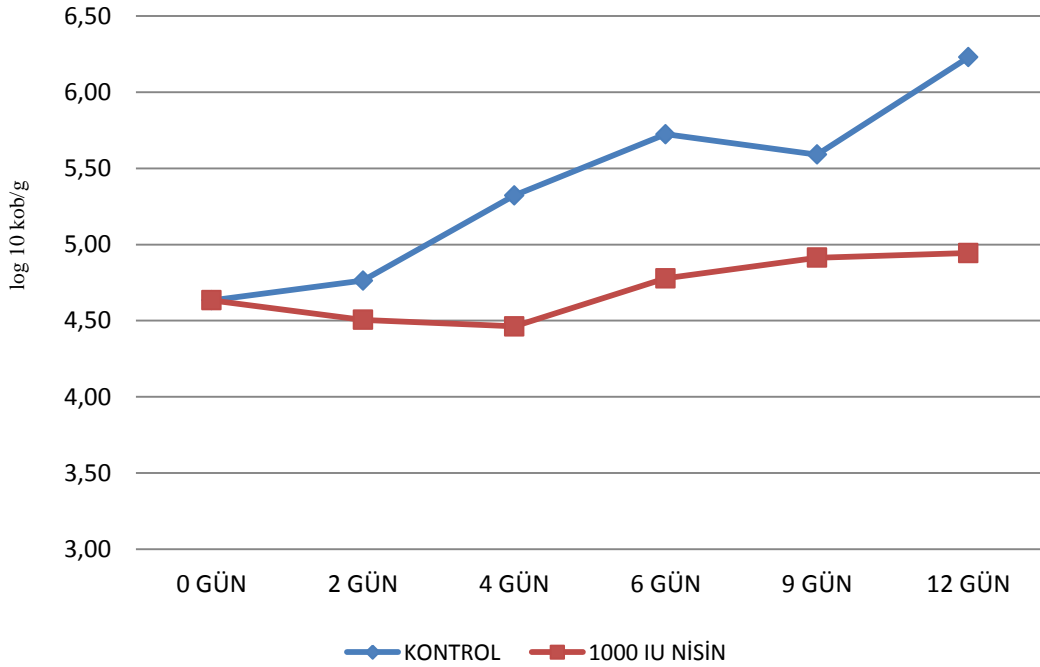
4.1.4. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Analiz Sonuçları

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı üzerine etkisini tespit etmek amacıyla bakteri inokule edilmemiş köfte hamuru, 0., 2., 4., 6., 9., 12. günlerde analize tabii tutulmuş ve saptanan toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları Tablo 4-3'de gösterilmiştir.

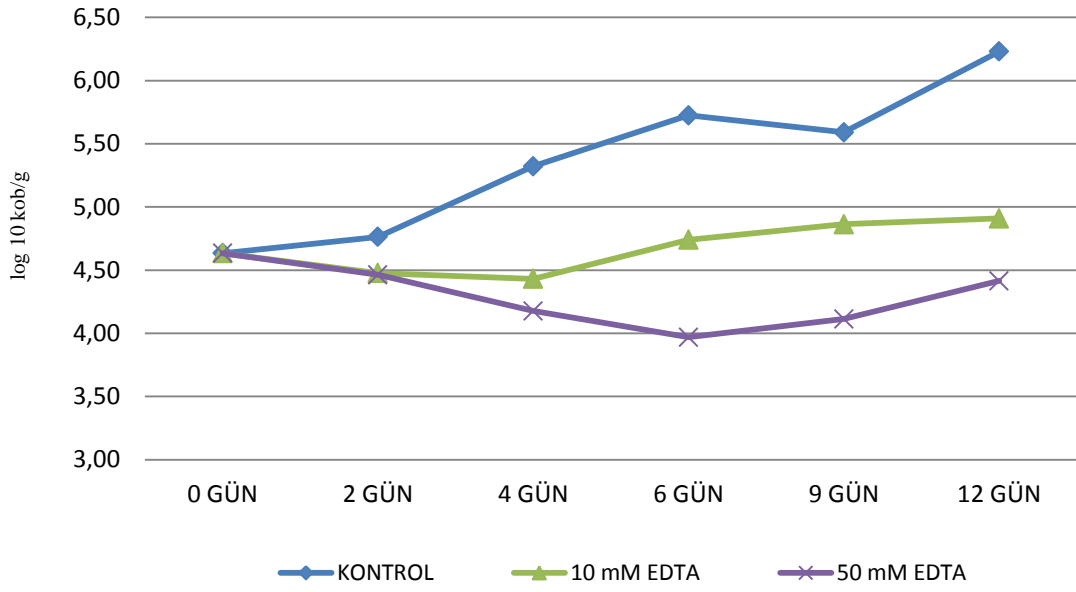
Nisinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı üzerine etkisi Şekil 4-9'da, farklı miktarlarda kullanılan EDTA'nın toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı üzerine etkisi Şekil 4-10'da, nisin ve EDTA kombinasyonlarının toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı üzerine etkisi Şekil 4-11'de kontrol grubu ile birlikte belirtilmiştir. Şekil 4-12'de ise tüm grupların toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı üzerine etkisi birarada gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Deneysel Köfte Örneklerinde Saptanan Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayıları (log₁₀ kob/g)

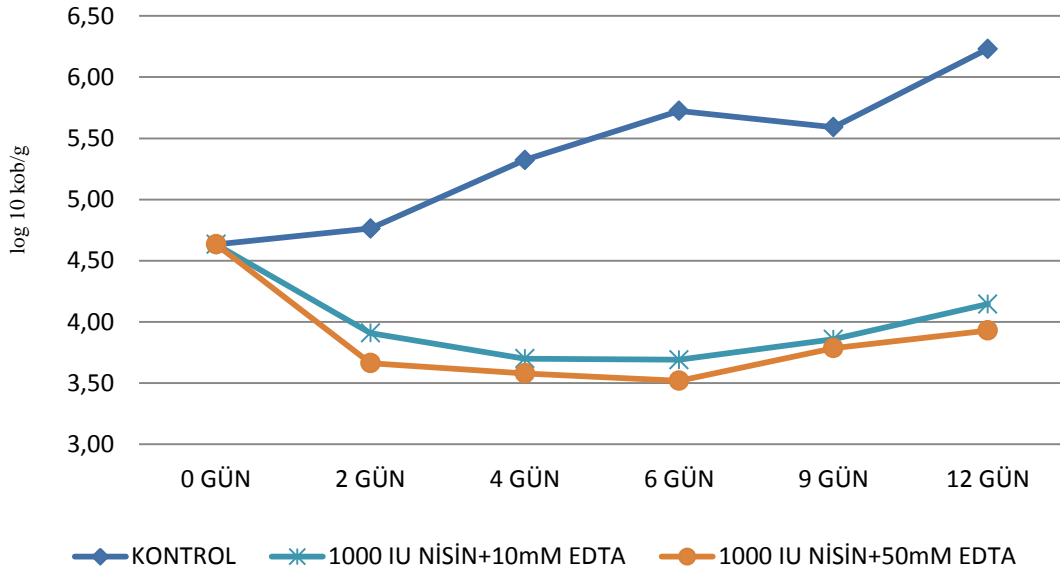
GRUP	KOMBİNASYON	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	9. gün	12. gün
1	Kontrol	4,63	4,76	5,32	5,72	5,59	6,23
2	1000 IU/g nisin	4,63	4,51	4,46	4,78	4,91	4,94
3	10 mM EDTA	4,63	4,48	4,43	4,74	4,86	4,91
4	50 mM EDTA	4,63	4,46	4,18	3,97	4,11	4,41
5	1000 IU/g nisin ve 10 mM EDTA	4,63	3,91	3,70	3,69	3,86	4,15
6	1000 IU/g nisin ve 50 mM EDTA	4,63	3,66	3,58	3,52	3,79	3,93



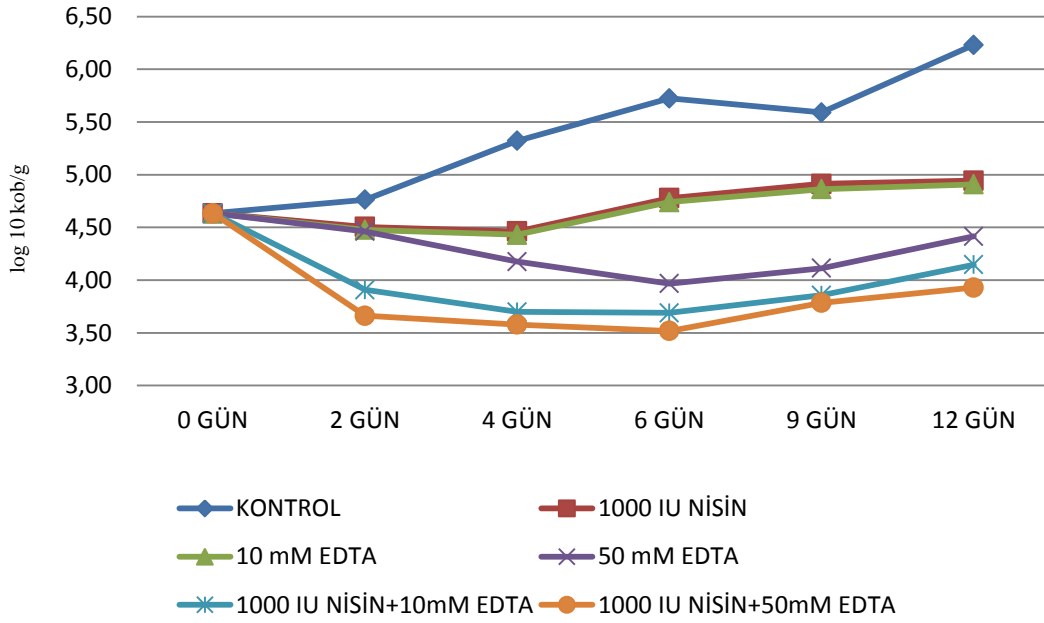
Şekil 4-9: Köfte Hamurunda Nisinin Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi



Şekil 4-10: Köfte Hamurunda Farklı EDTA Miktarlarının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi



Şekil 4-11: Köfte Hamurunda Nisin ve EDTA Kombinasyonlarının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi



Şekil 4-12: Köfte Hamurunda Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Üzerine Etkisi

4.2. Deneysel Köfte Örneklerinin Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları

4.2.1. Köfte Örneklerinin pH Değeri Analizi Sonuçları

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının deneysel köfte örneklerinin pH değerine etkisini tespit etmek amacıyla, örneklerin 0., 2., 4., 6., 9., 12. günlerde pH ölçümü yapılmış ve sonuçlar Tablo 4-4'de gösterilmiştir.

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının deneysel köfte örneklerinin pH değeri üzerine etkisi ise Şekil 4-13'de grafik olarak verilmiştir.

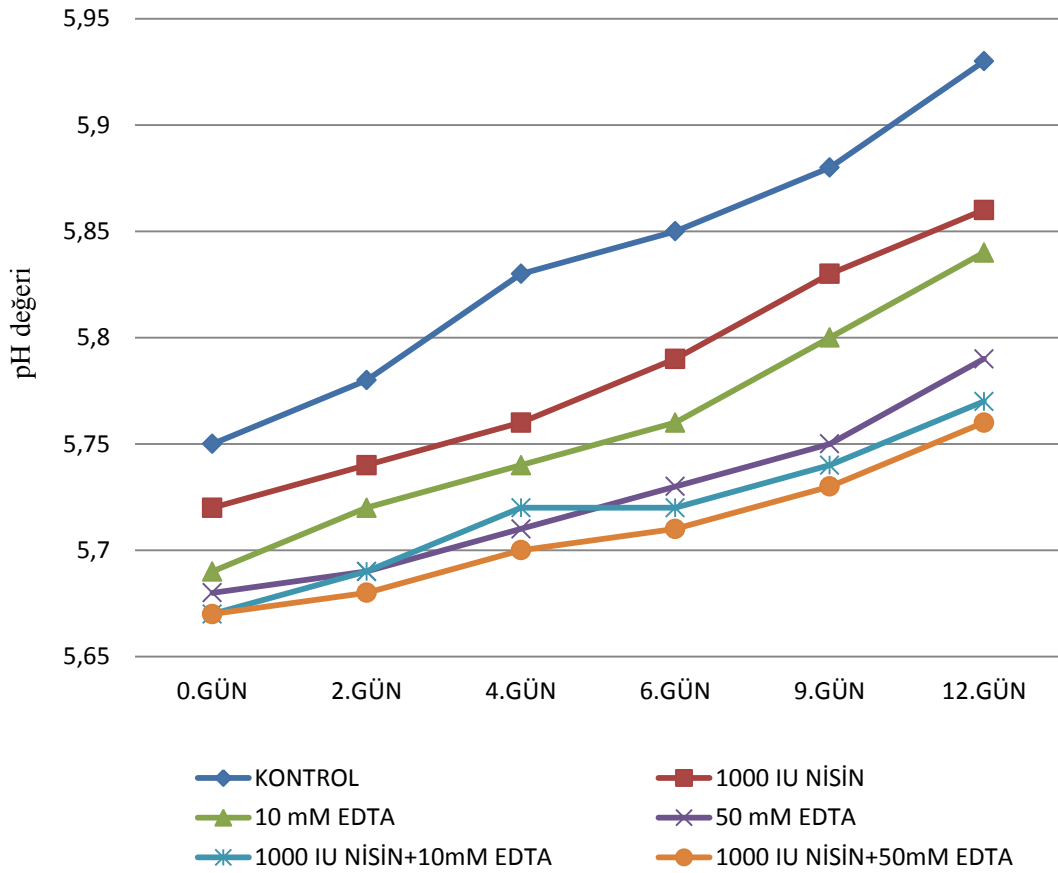
4.2.2. Köfte Örneklerinin Su Aktivitesi (a_w) Analiz Sonuçları

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının deneysel köfte örneklerinin a_w değerine etkisini tespit etmek amacıyla, örneklerin 0., 2., 4., 6., 9., 12. günlerde a_w analizi yapılmış ve sonuçlar Tablo 4-5'de gösterilmiştir.

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının deneysel köfte örneklerinin a_w değeri üzerine etkisi ise Şekil 4-14'de grafik olarak verilmiştir.

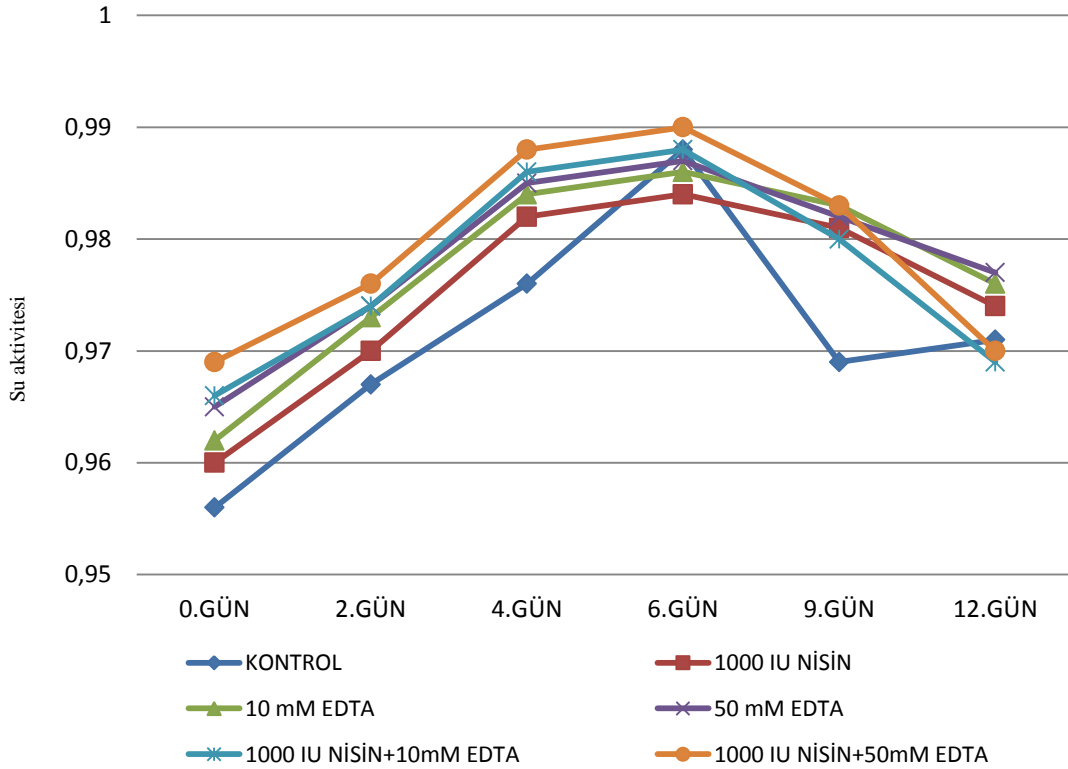
Tablo 4-4: Deneysel Köfte Örneklerinin pH Analizi Sonuçları

GRUP	KOMBİNASYON	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	9. gün	12. gün
1	Kontrol	5,75	5,78	5,83	5,85	5,88	5,93
2	1000 IU/g nisin	5,72	5,74	5,76	5,79	5,83	5,86
3	10 mM EDTA	5,69	5,72	5,74	5,76	5,80	5,84
4	50 mM EDTA	5,68	5,69	5,71	5,73	5,75	5,79
5	1000 IU/g nisin ve 10 mM EDTA	5,67	5,69	5,72	5,72	5,74	5,77
6	1000 IU/g nisin ve 50 mM EDTA	5,67	5,68	5,70	5,71	5,73	5,76

**Şekil 4-13: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının pH Değeri Üzerine Etkisi**

Tablo 4-5: Deneysel Köfte Örneklerinin a_w Analizi Sonuçları

GRUP	KOMBİNASYON	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	9. gün	12. gün
1	Kontrol	0,956	0,967	0,976	0,988	0,969	0,971
2	1000 IU/g nisin	0,96	0,97	0,982	0,984	0,981	0,974
3	10 mM EDTA	0,962	0,973	0,984	0,986	0,983	0,976
4	50 mM EDTA	0,965	0,974	0,985	0,987	0,982	0,977
5	1000 IU/g nisin ve 10 mM EDTA	0,966	0,974	0,986	0,988	0,98	0,969
6	1000 IU/g nisin ve 50 mM EDTA	0,969	0,976	0,988	0,99	0,983	0,97

**Şekil 4-14: Deneysel Köfte Örneklerinde Nisin, EDTA ve Kombinasyonlarının a_w Değeri Üzerine Etkisi**

5. TARTIŞMA

Türkiye’de, tüketicilerin çoğu et ve et ürünlerini kıyma formunda kullanmayı tercih ettiğinden çeşitli tipteki pişmeye hazır köfteler, hazır gıda sektörünün önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Sırıken 2004). Ancak et ürünlerinde bulunabilen, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* gibi bazı patojen mikroorganizmalar tüketici ve halk sağlığını ciddi şekilde tehdit etmektedirler (Blake ve ark. 1996). Bu bağlamda patojen mikroorganizmaların tüketici sağlığına etkisi düşünülerek, üretimde çeşitli kimyasal koruyucu ve katkı maddelerinden yararlanılmaktadır. Ancak kimyasal katkı maddelerinin tespit edilen zararları sebebiyle tüketiciler katkı maddesi içermeyen doğal gıdalara yönelmektedirler.

Nisin, laktik asit bakterileri tarafından üretilen doğal bir antimikrobiyal madde olması, yapılan çeşitli bilimsel çalışmalarda özellikle Gram (+) patojen mikroorganizmalara, EDTA katkısı ile de Gram (-) mikroorganizmalara karşı inhibe edici ya da azaltıcı etkisinin tespit edilmesi ve GRAS statüsünde yer alan bir madde olması sebebiyle hem üretici ihtiyacını hem de tüketici talebini karşılamaya uygun bir antimikrobiyal madde olarak gözükmektedir (Scott ve Taylor 1981; Belfiore ve ark. 2006).

Bu tez çalışmasında, farklı konsantrasyonlardaki nisin, EDTA ve kombinasyonlarının Türk tipi köftelerde, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* üzerine etkileri araştırılmıştır. Deneysel olarak hazırlanan köfte örnekleri, biri kontrol grubu olmak üzere toplam altı gruba ayrılmıştır. Gruplarda *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* sayıları 10^7 kob/g, nisin ve EDTA konsantrasyonları ise 1. grupta nisin ve EDTA olmayacak şekilde, 2. grupta 1000 IU/g nisin, 3. grupta 10 mM EDTA, 4. grupta 50 mM EDTA, 5. grupta 1000 IU/g Nisin ile 10 mM EDTA ve 6. grupta 1000 IU/g Nisin ile 50 mM EDTA olacak şekilde ayarlanmıştır. Deneysel köfte örneklerinin hazırlık ve analiz iş akışı Şekil 3-1’de, deney grupları ise Tablo 3-2’de detaylı olarak verilmiştir.

Hazırlanan deneysel köfte örnekleri 0., 2., 4., 6., 9. ve 12. günlerde, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, toplam aerobik mezofilik bakteri, pH ve a_w değerleri yönünden analiz edilmiştir.

S. aureus inokule edilen deneysel köfte örneklerinin 0. gün analizlerinde etken tüm gruplarda $7,34 \log_{10}$ kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Tablo 4-1’den

gözlenebileceği gibi, 2. gün analizlerinde etken, 1. grup, 2. grup, 3. grup ve 4. grupta, 0. günle benzer düzeyde kalmış, nisin ve EDTA kombinasyonundan oluşan 5. ve 6. gruplarda ise 0,56 log₁₀ kob/g düşüş göstermiştir.

Kontrol grubu olan 1. grupta, etken analiz günlerinin hiçbirinde düşüş göstermemiş, 12. gün ise 8,04 log₁₀ kob/g düzeyine çıkmıştır.

1000 IU/g nisin içeren 2. grupta, etken sayısında 4. gün 0,44 log₁₀ kob/g azalma görülürken, 6., 9., ve 12. günlerde etken sayısı tekrar artış göstermiş ancak yine de son analiz gününde *S. aureus* sayısı kontrol grubuna göre 0,51 log₁₀ kob/g düşük kalmıştır.

10 mM EDTA içeren 3. grup ile 50 mM EDTA içeren 4. gruplarda sonuçlar birbirine çok benzer olup, tüm analiz günlerinde etken sayısı 10⁷ kob/g seviyesinde kalmış, artış ya da düşüş gözlenmemiştir. Son analiz gününde kontrol grubu ile kıyaslandığında *S. aureus* sayısının 0,39 log₁₀ kob/g daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Nisin ve EDTA kombinasyonlarını içeren 5. ve 6. gruplarda ise, etkenin 2. gün 0,56 log₁₀ kob/g seviyesinde bir azalma gösterdiği, 4. gün analizlerinde etkenin 0. güne göre; 5. grupta 0,71, 6. grupta 0,96 log₁₀ kob/g azalma gösterdiği tespit edilmiştir. 6. Gün ise etken sayısında tekrar artış gözlenmiş, 9. ile 12. günlerde etken sayısındaki artış devam etmiş ancak kontrol grubunun üzerine çıkmamıştır.

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, EDTA ile çalışılan gruplarda, EDTA'nın Gram (+) bir bakteri olan *S. aureus* bakterilerinin sayısında önemli bir düşüş sağlamadığı, EDTA miktarındaki artışın da *S. aureus* sayısında önemli bir değişime sebep olmadığı tespit edilmiştir.

Nisin ve EDTA kombinasyonlarının ise *S.aureus* sayısını azaltmada etkili olduğu gözlenmiştir.

Nisin, EDTA ya da kombinasyonlarının kullanıldığı tüm grupların son gün analizlerinde, etken sayısının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

E. coli O157:H7 inokule edilen deneysel köfte örneklerinde ise etken, 0. Gün analizlerinde tüm gruplarda 7,60 log₁₀ kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Tablo 4-2'den izlenebileceği gibi, 2. gün analizlerinde etken sayısında, kontrol grubu ve yalnızca 1000 IU/g nisin içeren 2. grupta önemli değişim gözlenmezken, EDTA içeren 3., 4., 5. ve 6. gruplarda sırasıyla 0,72, 0,85, 1,01 ve 1,12 log₁₀ kob/g seviyesinde düşüş göstermiştir.

Kontrol grubu olan 1. grupta, etken analiz günlerinin hiçbirinde düşüş göstermediği, 12. gün analizinde tespit edilen etken sayısının 0. güne göre 0,84 log₁₀ kob/g daha yüksek olduğu ve 8,44 log₁₀ kob/g seviyesinde varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir.

1000 IU/g nisin içeren 2. grup, kontrol grubu ile kıyaslandığında, nisinin Gram (-) bir bakteri olan *E. coli* O157:H7 sayısında önemli bir düşüş sağlamadığı, ancak son analiz gününde etken sayısının kontrol grubuna kıyasla 0,51 log₁₀ kob/g daha düşük olduğu gözlenmiştir.

10 mM EDTA içeren 3. grup ile 50 mM EDTA içeren 4. gruplarda sonuçlar birbirine benzer olup, etkenin 2. gün analizlerinde 3. ve 4. gruplarda sırasıyla 0,72 ve 0,85 log₁₀ kob/g azaldığı, 6. günden itibaren etken sayısının tekrar yükselmeye başladığı tespit edilmiştir. Son analiz gününde kontrol grubu ile kıyaslandığında etken sayısının 3. ve 4. gruplarda sırasıyla 0,85 ve 0,93 log₁₀ kob/g daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Nisin ve EDTA kombinasyonlarını içeren 5. ve 6. gruplarda ise, etken sayısının 2. gün sırasıyla 1,01 ve 1,12 log₁₀ kob/g azaldığı, 4. günden itibaren etken sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Son analiz günü olan 12. günde kontrol grubu ile kıyaslandığında 5. grupta etken sayısının 1,02, 6. grupta ise 1,10 log₁₀ kob/g daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Bulgular değerlendirildiğine, nisinin Gram (-) bir bakteri olan *E. coli* O157:H7 sayısında önemli bir düşüş sağlamadığı, ancak üremeyi yavaşlattığı tespit edilmiştir. EDTA ile çalışılan gruplarda ise EDTA'nın *E. coli* O157:H7'nin sayısını azalttığı ancak EDTA miktarındaki artışın bu bakterinin üremesinde önemli bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

EDTA ve nisinin birlikte kullanıldığı grupların ise, sadece EDTA kullanılan gruplara göre *E. coli* O157:H7 bakterilerinin sayısının azalmasında daha fazla etkili olduğu tespit edilmiştir.

Nisin ve EDTA'nın gıdalarda kullanımının *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 üzerine etkisini tespit etmeye yönelik yapılan çeşitli çalışmalarda, Stevens ve ark. 1991, *Salmonella* türlerini ve içerisinde *Escherichia coli* O157:H7'nin de bulunduğu diğer Gram (-) bakterileri 37 °C'de 1 saat 50 µg/ml nisin ve 20 mM disodyum EDTA

kombinasyonuna maruz bırakmışlar ve test ettikleri bakterilerin sayısında 3.2 ile 6.9 log arasında düşüş gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar nisin ya da disodyum EDTA'nın tek başına kullanılmasının test edilen Gram (-) bakteriler üzerine önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmişler ve ayrıca nisin ile EDTA kombinasyonunda kullanılan nisin miktarının 50 µg/ml'nin üzerine çıkarılarak gerek *Salmonella* türleri gerekse diğer Gram (-) bakterilerin üremeleri üzerinde daha fazla etki sağlanabileceğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile kıyaslandığında nisin-EDTA kombinasyonunun Gram (-) bir bakteri olan *E. coli* O157:H7'nin sayısında düşüş sağladığı yönünde paralellik gözlenmektedir. Ancak Stevens ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak, EDTA'nın tek başına kullanılmasının da Gram (-) bakteri popülasyonunda düşüş sağladığı gözlenmiştir.

Zhang ve Mustapha 1999, taze parça ette nisin ve nisin-EDTA kombinasyonunun *E. coli* O157:H7 üzerine etkisini tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada, parça etleri nisin ve nisin-EDTA kombinasyonundan oluşan solüsyonlara daldırmışlar, 10 dakika beklettikten sonra 15 dakika kurumaya bırakmışlardır. Arkasından vakum paketlenme yaparak 4 °C de 30 gün süre ile muhafaza etmişlerdir. Nisin ve nisin-EDTA kombinasyonunun *E. coli* O157:H7'nin sayısında sırasıyla 1.02 log kob/cm² ve 0.8 log kob/cm² düşüş meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Bulgularımız nisin ve EDTA kombinasyonunun *E. coli* O157:H7 sayısında düşüş meydana getirmesi bakımından paralellik göstermektedir. Ancak çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak nisinin tek başına kullanıldığı grupta *E. coli* O157:H7 sayısında önemli bir düşüş gözlenmemiştir.

Fang ve Tsai 2003, çeşitli antimikrobiyal maddelerin kıymadaki *E. coli* O157:H7 üzerine etkisini tespit etmek amacıyla 100, 1000 ve 10000 IU/g nisin kullandıkları çalışmada, yalnız nisin uygulamasının *E. coli* O157:H7 üremesi üzerine fark edilir bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada 0, 50, 100 ve 150 µg/g EDTA kullanılmış, kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece 100 ve 150 µg/g EDTA konsantrasyonunun 10 °C'de muhafaza edilmiş parça etlerdeki *E. coli* O157:H7 popülasyonu üzerine etkisi olduğu tespit edilmiştir. Nisin ve EDTA'nın birlikte kullanılmasının ise, *E. coli* O157:H7 popülasyonu üzerine etkisinin sadece EDTA ya da nisin kullanılmasından daha fazla olduğu bildirilmiştir. Çalışmamız Fang ve Tsai tarafından tespit edilen bulgular ile paralellik göstermektedir.

Cutter and Siragusa 1994, nisin ve nisin-EDTA kombinasyonunun *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* üzerine etkisinin kültürde, kırmızı ette göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Hampikyan 2009, yaptığı çalışma sonucunda 150 µg/g ya da daha yüksek miktarda nisinin sucuk hamuruna katılmasıyla *S. aureus* bakterilerinin üremesinin engellenebileceğini bildirmiştir. Çalışmamızda kullandığımız 1000 IU/g nisin köfte örneklerinde ki *S. aureus* sayısının düşmesini sağlamıştır.

Millette ve ark. 2007, 10^4 kob/g *Staphylococcus aureus* inokule edilmiş dilimlenmiş dana eti ve kıymaya, 500 ya da 1000 IU/mL nisin içeren aljinat film ile muamele etmişlerdir. 4°C'lik depolamanın 7. gününde dilimlenmiş dana etindeki *S. aureus* sayısında sırasıyla 0.91 ve 1.86 log kob/cm² azalma tespit etmişlerdir. Kıymada ise, *S. aureus* sayısının sırasıyla 2.2 ve 2.81 log kob/g azaldığını bildirmişlerdir.

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* suşları inokule edilmemiş köfte hamurundaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı üzerine etkisini görmek amacıyla, tüm gruplar 0.,2.,4.,6.,9. ve 12. günlerde toplam aerobik mezofilik bakteri yönünden analize tabii tutulmuştur. Tablo 4-3'de verilen bulgular doğrultusunda, 0. gün analizlerinde tüm gruplardaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 4,63 log₁₀ kob/g düzeyinde tespit edilmiştir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, kontrol grubunda 4. günden itibaren artış göstermiş, son analiz günü olan 12. günde 6,23 log₁₀ kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. Nisin ve EDTA'nın tek başına kullanıldığı 2., 3. ve 4. gruplarda ise toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında önemli bir düşüş gözlenmemiştir.

Nisin ve EDTA tuzlarının birlikte kullanıldığı 5. ve 6. gruplarda ise, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında 2. günden itibaren sırasıyla 0,72 ve 0,97 log₁₀ kob/g düzeyinde azalma gözlenmiş, son analiz gününde kontrol grubuna göre 5. grubun 2,08 log₁₀ kob/g, 6.grubun ise 2,30 log₁₀ kob/g daha az aerobik mezofilik bakteri içerdiği tespit edilmiştir.

Nisin, EDTA ya da nisin-EDTA kombinasyonlarının kullanıldığı tüm gruplarda, son analiz gününde kontrol grubuna göre toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının daha düşük olduğu gözlenmiştir. Buna göre nisin ve EDTA'nın tek başına kullanımının

bakterilerin üremesini yavaşlattığı, nisin ve EDTA'nın birlikte kullanımının ise bakteri sayısını azalttığı tespit edilmiştir.

Hampikyan ve Uğur 2007, fermente sucuklarda 5, 10, 25 ve 50 µg/g nisinin *L. monocytogenes* üzerine inhibe edici etkisini tespit etmeye yönelik olarak yürüttüğü çalışmada, farklı nisin konsantrasyonları kullanılan gruplar ile kontrol grubu arasında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı açısından önemli bir farklılık bulunamadığını belirtmiştir. Tespit edilen bulguların bizim bulgularımızla örtüşmemesi, kullanılan nisin miktarının bizim çalışmamıza göre düşük olmasından kaynaklanabileceği gibi, sucuk ve köfte mikrofloralarının farklılık arz etmesinden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Economou ve ark. 2008, nisin, EDTA ve nisin-EDTA kombinasyonlarının vakum paketlenmiş taze tavuk etlerinin raf ömrüne etkisini tespit etmeye yönelik bir çalışma yürütmüşlerdir. Buna göre, N1 (kontrol grubu, nisin ve EDTA yok), N2 (500 IU/g; EDTA yok), N3 (1500 IU/g; EDTA yok), N4 (500 IU/g-10 mM EDTA), N5 (1500 IU/g-10 mM EDTA), N6 (500 IU/g-50 mM EDTA), N7(1500 IU/g-50 mM EDTA), N8 (10 mM EDTA; nisin yok) ve N9 (50 mM EDTA; nisin yok) gruplarını oluşturmuşlardır. N3, N4, N5, N6 ve N7 gruplarının mezofilik bakteri, *Pseudomonas* sp., *Brochothrix thermosphacta*, laktik asit bakterileri ve Enterobacteriaceae popülasyonlarında düşüş sağladığını, N3 ve N4 gruplarının raf ömrünü 5-6 güne, N5 grubunun 9-10 güne, N6 grubunun 12-13 güne, N7 grubunun ise 14-15 güne uzattığını bildirmişlerdir. Sadece EDTA içeren N8 ve N9 gruplarının ise istatistiksel olarak önemli sayılabilecek bir değişiklik meydana getirmediğini tespit etmişlerdir.

Tüm gruplardaki deneysel köfte örnekleri, pH değerindeki değişimleri görmek amacıyla 0., 2., 4., 6., 9. ve 12. günlerde analiz edilmiş, ancak *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* bakterilerinin tüm gruplarda son analiz günü olan 12. güne kadar varlığını sürdürmesi sebebiyle nisin, EDTA ve kombinasyonlarının pH değeri üzerine etkisi saptanamamıştır.

Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının eklendiği köfte örnekleri, nisin ya da EDTA içermeyen kontrol grubu ile kıyaslandığında, pH değerlerinde belirgin bir farklılık olmadığı gözlenmiştir.

Huot ve ark. 1996, nisinin etkinliğini en iyi gösterdiği pH değerinin 5.8 olduğunu, pH değerinin 6.4 ve 7.2'ye çıkarılmasıyla, nisinin etkinliğinin sırasıyla % 1.4 ve % 49 oranında düştüğünü bildirmişlerdir.

Thomas ve Wimpenny 1996, yaptıkları çalışmada pH değerinin 7.9'dan 5.0'e indirilmesi ile nisin'in etkinliğinin arttığını tespit etmişlerdir.

Lima Grisi ve Gorlach-Lira 2005, nisin ve yüksek pH değerinin *S. aureus* ve *Salmonella* üzerine inhibisyon etkisini tespit etmeye yönelik yürüttükleri çalışmada, kültür ortamında *S. aureus* ve *Salmonella* inhibisyonunda etkili olan nisin'in, yengeç etinde her iki bakteri üzerine de etki gösterememesinin yüksek pH (pH 7.0-8.0) değerinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Zhang ve Mustapha 1999, ise kırmızı ette gerçekleştirdikleri çeşitli pH uygulamalarından sonra, nisin'in, bakteri üremesini önlemede pH değerinin ana faktör olmadığını bildirmişlerdir.

Mikroorganizma faaliyetlerinde önemli bir etken olan a_w , et ve et ürünlerinde kalite, dayanıklılık ve mikrobiyal güvence ile ilgili olarak mikrobiyolojik, enzimatik, kimyasal ve fiziksel reaksiyonları etkilemektedir (Özay ve ark.1993). Çalışmamızda nisin, EDTA ve kombinasyonlarının a_w üzerine etkisini tespit etmek amacıyla deneysel köfte örnekleri 0., 2., 4., 6., 9. ve 12. günlerde analiz edilmiştir. Nisin, EDTA ve kombinasyonlarının eklendiği köfte örneklerinin a_w değeri, nisin ya da EDTA içermeyen kontrol grubu ile kıyaslandığında, a_w değerinde belirgin bir farklılık olmadığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışma ile, nisin ve EDTA'nın birlikte (1000 IU/g nisin + 10 mM EDTA; 1000 IU/g nisin + 50 mM EDTA) kullanılmasının, Gram (+) bakteri olan *S. aureus* ve Gram (-) bir bakteri olan *E. coli* O157:H7 nin üremesi üzerine engelleyici ve yavaşlatıcı bir etkisi olduğu, nisin ve EDTA'nın birlikte kullanılması kadar olmasa da EDTA'nın tek başına kullanılmasının da *E. coli* O157:H7'nin üremesi üzerine engelleyici ve yavaşlatıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Tüketici sağlığı üzerine herhangi bir zararı olmayan ve gıdalarda kullanımına izin verilen nisin ile EDTA'nın gıdalardaki koruyucu etkileri üzerine bugüne kadar yapılmış ve ileride yapılacak çalışmaların ışığında nisin ve EDTA kombinasyonlarının çeşitli gıdalarda kullanımının yaygınlaştırılarak, koruyucu amaçla kullanılan sağlığa zararlı diğer kimyasal katkı maddelerinin kullanımının sınırlandırılabilmesi ve azaltılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abee, T., Krockel, L. ve Hill, C. (1995). Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal Food Microbiology*, 28:169-85.

Akçamlı, E. (2008). Konya İlinde Pazarlarda Açıkta Satılan Küflü Peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Suşunun Varlığının Araştırılması. *Selçuk Üniv. Sağlık Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi*.

Akkaya, L., Alishanlı, M., Kara, R. ve Telli, R. (2007). Afyonkarahisar’da Tüketime Sunulan Çiğ Süt ve Peynirlerde *E. coli* O157:H Varlığının Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18 (1),1-5.

Akkoç, N., Şanlıbaba, P. ve Akçelik, M. (2009). Bakteriyosinler: Alternatif Gıda Koruyucuları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25 (1-2) 59 – 70.

Aktürkoğlu, E. ve Erol, İ. (1999). Beyaz peynir üretiminde nisin kullanımı ile *L.monocytogenes*’in inhibisyonu. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 4, 785-792.

Alishanlı, M., Sancak, Y.C., Akaya, L. ve Elibol, C (2003). Bazı Sütlü Gıdalarda *S. aureus*’un İzolasyonu, Termonükleaz Aktivitesi ve Enterotoksijenik Özelliklerinin Araştırılması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27: 1457-1462.

Alishanlı, M. ve Akman, N. (2004). Perakende Satılan Kıymaların *Escherichia coli* O157 Yönünden İncelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (1-2):65-69.

Alveraz- Astorga, M., Capita, R. ve ark. (2002). Microbiological Quality Of Retail Chicken By Products In Spain. *Meat Science*, 62: 45-50.

Andrews, W.H., June, G.A., Sherrod, P.S., Hammack, T.S. ve Amaguana, R.M. (1995). *Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual*. (8th ed.). AOAC International, Gaithersburg, USA.

AOAC (1984). *Official Methods of Analysis*. Centennial Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C..

Arbuthnott, J.P., Coleman, D.C. ve de Azevedo, J.S. (1990). Staphylococcal toxins in human disease. *Society for Applied Bacteriology Symposium*, 19 (Suppl.): 101S-107S.

Arıcı, M., Gümüş, T. ve Şimşek, O. (2003). Hazır Salataların Hijyenik Durumu. *Gıda*, 28(6): 571-577.

Atıcı, G. (1999). *Staphylococcus aureus*'un Gelişimi Üzerine Sıcaklık, pH, Sodyum Klorür ve Koruyucuların (Asetik Asit, Sorbik Asit ve Tuzları) Birlikte Etkisinin Tepki Yüzey Yöntemi (Response Surface Model) ile Belirlenmesi. *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (basılmamış)*.

Balaban, N. ve Rasooly, A. (2000). Staphylococcal Enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 61: 1-10.

Balpetek, D. ve Gürbüz Ü. (2010). Bazı Et Ürünlerinde *E.coli* O157:H7 Varlığının Araştırılması. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 26, 1, 25-31.

Başkaya, R., Karaca, T., Sevinç, İ., Çakmak, Ö., Yıldız, A. ve Yörük, M. (2004). The histological, microbiological and serological quality of ground beef marketed in İstanbul. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*,15: 41-46.

Bauer, R. ve Dicks, L.M.T. (2005). Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 101(2):201-16.

Bayar, S. (2007). İzmir İli'nde Satışa Sunulan Et ve Et Ürünlerinde *Escherichia coli* O157:H7 Aranması ve Saptanması. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*.

Beckers, H.J. (1988). Incidence of Foodborne Diseases In The Netherlands. *Annual Summary*, 51 (4); 327-334.

Belfiore, C. Castellano, P. ve Vignolo, G. (2007). Reduction of *Escherichia coli* population following treatment with bacteriocins from lactic acid bacteria and chelators. *Food Microbiology*, 24, 223–229.

Bell, B.P., Goldoft, M., Griffin, P.M., Davis, M.A., Gordon, D.C., Tarr, P.I. ve ark. (1994). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. *The Washington Experience. JAMA*. 272:1349–53.

Bennet, R.W. ve Hait, J. (2012). *S.aureus*. İçinde Lampel, K.A (Ed.). *Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook*. (2nd ed.). Erişim Tarihi: 07.05.2012, <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook>

Bennett, R.W. ve Lancette, G.A. (2001). *Staphylococcus aureus*. İçinde Bacteriological Analytical Manual Online, Chapter 12. Erişim Tarihi: 12.10.2012, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>

Bilgehan, H. (2004). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. (4.baskı). İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları.

Blake, P., Toomey, K. ve Swinger, G. (1996). Interstate *Escherichia coli* O157:H7 infection outbreak associated with a fast-food hamburger chain, Georgia and Tennessee. *American Journal of Epidemiology*, 143 (11): 340-340 Suppl. S.

Bostan, K., Çetin, Ö., Büyükuşal, S.K. ve Ergün, Ö. (2006). The Presence Of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins In Ready-To-Cook Meatballs And White Pickled Cheese. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, 32 (3), 31-39.

Bouttefroy, A. ve Milliere, J.B. (2000). Nisin-curvaticin 13 combinations for avoiding the regrowth of bacteriocinn resistant cells of *L. monocytogenes* ATCC 15313. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 65-75.

Buchanan, R.L. ve Doyle, M.P. (1997). Food borne disease significance of *E. coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technology*, 51 (10): 69-76.

Calderón-Miranda, M.L., Barbosa-Cánovas, G.V. ve Swanson, B.G. (1999a). Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric fields and nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 51:7-17.

Calderón-Miranda, M.L., Barbosa-Cánovas, G.V. ve Swanson, B.G. (1999b). Inactivation of *Listeria innocua* in skim milk by pulsed electric fields and nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 51:19-30.

Caplice, E. ve Fitzgerald, G.F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131– 149.

Carmo, L.S., Dias, R.S., Linardi, V.R., Sena, J.M., Santos, D.A., Faria, M.E. ve ark. (2002). Food Poisoning Due To Enterotoxigenic Strains Of Staphylococcus Present In Minas Cheese And Raw Milk In Brazil. *Food Microbiology*, 19: 9-14.

Çetin, Ö., Bingöl, E.B., Çolak, H., Ergün, Ö. ve Demir C. (2010). The microbiological, serological and chemical qualities of mincemeat marketed in İstanbul. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 34(4): 407-412.

Chapman, P.A., Siddons, C.A., Cerdan Malo, A.T. ve Harkin, M.A. (2000). A one year study of *Escherichia coli* O157 in raw beef and lamb products. *Epidemiology and Infection*, 124, 207-213.

Chen, H. ve Hoover, D.G. (2003). Bacteriosins and their food applications. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety*, 2: 82-100.

Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. ve Chikindas, M.L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 1–20.

Coia, J.E. (1998). Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 20: 1-9.

Coşansu, S. ve Ayhan, K. (2000). Survival of Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Strains in Turkish Soudjouck During Fermentation, Drying Storge Periods. *Meat Science*, 54: 407-411.

Cotter, P.D., Hill, C. ve Ross, R.P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3(10):777-88

Cowden, J.M. (1997). Recent outbreaks of *E. coli* O157 in Scotland. *Suppl. SCIEH Weekly Report*. 97:6-7.

Cutter, C.N. ve Siragusa, G.R. (1994). Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer. *Food Microbiology*, 11: 481-489.

Çankaya, H., Aran, N. ve Güneş, G. (2010). Bazı doğal antimikrobiyal bileşiklerin *S. enteritidis*, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* üzerine etkinliğinin taze tavuk eti sisteminde incelenmesi. *İTÜ dergisi/d*, Cilt 9, Sayı 4.

Çayan, H.H. 2000. *Staphylococcus aureus* Toksinlerinden Alfa-Toksinin Yeni Kromatografik Yöntemlerle Saflaştırılması. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilim Uzmanlığı Tezi*.

Çetin, B. ve Bostan, K. (2002). Hazır Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi Ve Raf Ömrü Üzerine Sodyum Laktatın Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 26: 843-848.

Çetin, K. ve Yücel, A. (1992). Bursa'da Kasap Dükkanlarında Üretilen Kasap Köftenin Üretimi, Mikrobiyolojik ve Kimyasal Nitelikleri Üzerine Araştırma. *Gıda*,17 (4) 247-253.

Çolak, H., Hampikyan, H., Bingol, E.B. ve Aksu H. (2008). The effect of nisin and bovine lactoferrin on the microbiological quality of Turkish style meatball (Tekirdag köfte). *Journal of Food Safety*, 28(3), 355-375.

Davies, E.A. ve Adams, M.R. (1994). Resistance of *Listeria monocytogenes* to the bacteriocin nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 21(4):341-7.

De Martinis, E.C.P., Alves, V.F. ve Franco, B.D.G.M. (2002). Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. *Food Reviews International*, 18(2-3): 191-208.

Delves-Broughton, J. (2005). Nisin as a food preservative. *Food Australia*, 57, 525-527.

Demiret, N.N. ve Karapınar, M. (2000). Süt Ürünlerinde *Staphylococcus aureus*. *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı*. Tekirdağ: Rebel Yayıncılık.

Denktaş, Ş. (2010). Doğal antimikrobiyallerin ısıtma işlemi görmüş sucukların bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*.

Direkel, Ş., Yılmaz, Ç., Aydın, F.E. ve Emekdaş, G. (2010). Mersin İli Yenişehir İlçesi'nde Satışa Sunulan Çiğ Kıymaların Mikrobiyolojik Kalitesinin Değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2).

Doyle, M.P. ve Schoeni, J.L. (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(10): 2394–2396.

Doyle, M.P. (1991). *E.coli* O157:H7 and its significance in food. *International Journal of Food Microbiology*, 12, 289-30.

Dündar, V. (2000). Metisiline Dirençli Stafilokok İnfeksiyonları. *Klinik Dergisi*, 13 (1); 26-27.

Economou, T., Pournis, N., Ntzimani, A. Ve Savvaıdis, I.N. (2008). Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry*, 114; 1470–1476.

EFSA 2010. The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. Erişim Tarihi: 01.05.2012, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1496.pdf>

EFSA 2013. The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2010. Erişim Tarihi: 01.06.2013, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3129.pdf>

Eijsink, V.G., Skeie, M., Middelhoven, P.H., Brurberg, M.B. ve Nes, I.F. (1998). Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(9):3275-81.

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

Erol, İ. (1999). Ankara'da Tüketime Sunulan Kıymalarda Salmonellaların Varlığı ve Serotip Dağılımı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23: 321-325.

Erol, İ. ve İşeri, Ö. (2004). Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51, 239-245.

Erol, İ. (2007). *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. Ankara: Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti.

Fang, T.J ve Tsai, H.C. (2003). Growth patterns of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef treated with nisin, chelators, organic acids and their combinations immobilized in calcium alginate gels. *Food Microbiology*, 20; 243–253.

FDA (1995). *Bacteriological Analytical Manual*. Food and Drug Administration (6th ed.) AOAC Int. Gaithersburg.

Gill, A.O. ve Holley, R.A. (2000). Inhibition of bacterial growth on ham and bologna by lysozyme, nisin and EDTA. *Food Research International* 33, 83-90.

Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P. ve Doyle, M.P. (1992). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as Affected by pH or Sodium Chloride and in Fermented, Dry Sausage. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 2513-2516.

Gökmen, M. ve Alisharlı, M. (2003). Van İlinde Tüketime Sunulan Kıymaların Bazı Patojen Bakteriler Yönünden İncelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14 (1):27-34.

Göktan, D. ve Tuncel, G. (1988). Effect of Ingredients on Quantitative Recovery of Salmonella in Raw Meat Balls. *Meat Science*, 22: 1 – 6.

Gönülalan, Z. ve Köse, A. (2003). Kayseri İlinde Satışa Sunulan Sığır Kıymalarının Mikrobiyolojik Kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 17 (1), 49-53

Grade, S., Avila, M. ve Nunez, M. (2004). Fast induction of nisin resistance in *Streptococcus thermophilus* INIA 463 during growth in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 96, 165-172.

Griffin, P. ve Tauxe, R. (1991). The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, Other Enterohemorrhagic *E. coli* and The Associated Haemolytic Uremic Syndrome. *Epidemiologic Reviews*, 13:60-98.

Lima Grisi, T.C.S ve Gorlach-Lira, K. (2005). Action of nisin and high ph on growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp.* in pure culture and in the meat of land crab. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36:151-156.

Guder, A., Wiedemann, I. ve Sahl, H.G. (2000). Posttranslationally modified bacteriocins-the lantibiotics. *Biopolymers*, 55(1):62-73.

Halkman, A. K., Noveir, M. R. ve Doğan, H. B. (1998). Çeşitli hayvansal gıda ürünlerinde *E. coli* O157:H7 aranması. *TÜBİTAK*, Proje No: VHAG-1192.

Halkman, A. K., Noveir, M. R. ve Doğan, H. B. (2001). *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. Ankara: Sim Matbaacılık.

Hampikyan, H. ve Uğur M. (2007). The effect of nisin on *L. monocytogenes* in Turkish fermented sausages. *Meat Science*, 76(2), 327-332.

Hampikyan, H. ve Çolak, H. (2007). Nisin ve Gıdalardaki Antimikrobiyal Etkisi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6 (2).

Hampikyan, H. (2009). Efficacy of nisin against *Staphylococcus aureus* in experimentally contaminated sucuk, a Turkish-type fermented sausage. *Journal of Food Protection*, 72(8):1739-43.

Harrigan, W.F. (1998). *Laboratory Methods in Foods Microbiology*. California: Academic Press Ltd.

Harris, L.J., Fleming, H.P ve Klaenhammer, T.R. (1991). Sensitivity and Resistance of *L. Monocytogenes* ATCC 19115, Scott A and UAL500 to Nisin. *Journal of Food Protection*, Vol 54.

Health Protection Agency UK (2010). Foodborne Outbreak Surveillance And Risk Assessment. Erişim Tarihi: 10.01.2011, <http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/GastrointestinalDisease/EpidemiologicalData/FoodborneOutbreakSurveillanceAndRiskAssessment/>

Hitchins, A.D., Feng P., Watkins W.D., Rippey S.R. ve Chandler, LA. (2000). *Escherichia coli* and the coliform bacteria. *Food and drug administrations, 8th Edition*. Washington, DC: AOAC International, p. 4.01-4.29.

Huot, E., Barrena-Gonzalez, C. ve Petitdemange, H. (1996). Comparative effectiveness of nisin and bacteriocin J46 at different pH values. *Letters in Applied Microbiology*, 22, 76-79.

ISO 16649-2 (04/2001): Horizontal Method for the Enumeration of β -glucuronidase-positive *E. coli*.

İnal, T. (1992). *Besin Hijyeni*. İstanbul: Final Ofset.

James, R., Kleanthous, C. ve Moore G.R. (1996). The biology of *E. coli* colicins: paradigms and paradoxes. *Microbiology*, 142, 1569-1 580.

Jay, J. M. (1970). *Modern Food Microbiology*. New York, U.SA: Van Nostrand Reinhold Company.

Jarvis, B. (1967). Resistance to Nisin and Production of Nisin-Inactivating Enzymes by Several *Bacillus* Species. *Journal of General Microbiology*., 47, 33-48.

Karapınar, M. ve Gönül, Ş.A. (1999). Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar. *Gıda Mikrobiyolojisi*. İzmir: Mengi Tan Basımevi.

Katynna, P.Q., Piñero, M.P., Narvaez, C., Uzcátegui, S.B., Moreno, L.A. ve Huerta-Leidenz, N. (2002). Evaluation Of Microbiological And Physical-Chemistry Of Frozen Hamburger Patties Expended In Maracaibo, Zulia State, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 12, 715-720.

Kaymaz, Ş. (1987). Ankara'da Tüketime Sunulan Hamburgerlerde Halk Sağlığı Yönünden Önemli Bazı Bakterilerin Saptanması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 34(3):577-593.

Kıvanç, M. ve Kunduhoğlu, B. (1996). Eskişehir'de Tüketilen Köftelerin Mikrobiyolojik İncelenmesi ve Halk Sağlığı Açısından Önemi. *Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, Sayı 1.

Kitai, S. ve Shimizu, A. (2005). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67 (3): 269-274.

Koponen, O. (2004). Studies of producer self-protection and nisin biosynthesis of *Lactococcus lactis*. *Institute of Biotechnology and department of applied chemistry and microbiology, Helsinki/Finland, doktora tezi*.

Korkmaz, M.Y. (2012). Bazı Hazır Yemek İşletmelerinin Üretim Zincirinde *Staphylococcus aureus* ve Toksininin Aranması. *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*.

Kök, F., Keskin, D. ve Büyükyörük, S. (2007). Aydın Bölgesinde Üretilen Çine Köftelerinin Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4(1) 29-33.

Kuleaşan, H. ve Çakmakçı, M.L. (2003). Bakteriyosinlerin özellikleri, gıda mikrobiyolojisinde kullanım alanları ve ileri dönemlerdeki kullanım potansiyelleri. *Gıda*, 28(2): 123-129.

Kumar, C.G. ve Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 42: 9-2.

Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. (2005). Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (1):77-83.

Küçükçetin, A. ve Milci, S. (2008). *Staphylococcus aureus* ile Kontamine Olan Peynirlerden Kaynaklanan Gıda Zehirlenmeleri. *Gıda*, 33 (3) : 129-135.

Le Loir, Y., Baron, F. ve Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 31;2(1):63-76.

Lee, C.H., Park, H.J. ve Lee, D.S. (2004). Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice. *Journal of Food Engineering*, 65, 527–531.

Leyer, G.J., Wang, L.ve Johnson E.A. (1995). Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 Increases Survival in Acidic Foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(10), 3752-3755.

Long, C., Phillips, C.A. (2003). The effect of sodium citrate , sodium lactate and nisin on the survival of *Arcobacter butzleri* NCTC 12481 on chicken. *Food Microbiology*, 20: 495-502.

Lückl, E. ve Jager, M. (1997). Nisin. İçinde *Antimicrobial Food Additives*. Springer Berlin Heidelberg, pp 208-213.

Mabrouk, M. (2001). Search for *E. coli* O157:H7 in Egyptian foods and dairy products. Al-Azhar Üniversitesi, Doktora Tezi.

Marth, E.H. ve Halpindohnalek, M.I. (1989). Growth and Production of Enterotoxin-A by *Staphylococcus aureus* in Cream. *Journal of Dairy Science*, 72; 2266 – 2275.

Martinez, B., Obeso, J.M., Rodriguez, A. ve Garcia, P. (2008). Nisin-bacteriophage cross resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 22,253-258.

Masschalck, B., Houdt, R.V. ve Michiels, C.W. (2001). High pressure increases bactericidal activity and spectrum of lactoferrin, lactoferricin and nisin *International Journal of Food Microbiology*, 64:325-32.

Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C. ve ark. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5:607–625.

Medved'ová, A. ve Valík, L. (2012). *Staphylococcus aureus*: Characterization and Quantitative Growth Description in Milk and Artisanal Raw Milk Cheese Production. *Structure and Function of Food Engineering*, ISBN 978-953-51-0695-1.

Millette, M., Le Tien, C., Smoragiewicz, W. ve Lacroix, M. (2007). Inhibition of *Staphylococcus aureus* on beef by nisin-containing modified alginate films and beads. *Food Control*, 18, 878–884.

Natrajan, N. ve Sheldon, B.W. (2000). Inhibition of *Salmonella* on Poultry Skin Using Protein and Polysaccharide-Based Films Containing a Nisin Formulation. *Journal of Food Protection*, Volume 63, Number 9, pp. 1268-1272(5).

Neill, M.A. (1989). *E.coli* O157:H7 current concepts and future prospects. *Journal of Food Safety*, 10:99–108.

Noveir, M. R., Dogan, H. B.ve Halkman, A. K. (2002). Çeşitli Hayvansal Gıdalarda Enterobacteriaceae Üyelerinin Varlığı. *Gıda Dergisi*, 25(6), 423-428.

Nussinovitch, A. ve Peleg, M. (2000). Analysis Of The Fluctuating Patterns Of Microbial Counts In Frozen Industrial Food Products. *Food Research International*, 33(1): 53–62.

Olsen, S.J., MacKinon, L.C., Goulding, J.S., Bean, N.H. ve Slutsker, L. (2000). Surveillance For Foodborne Disease Outbreaks-United States 1993-1997. *Morbidity and Mortality Weekly Reports*, 49 (1) 1-51.

Ono, H.K., Omoe, K., Imanishi, K., Iwakabe, Y., Hu, D.L. ve Kato, H. (2008). Identification And Characterization Of Two Novel Staphylococcal Enterotoxins Types S and T. *Infection and Immunity*, 76(11):4999-5005.

Öksüztepe, G., Patır, B., Çalıcıoğlu, M., İlhak, O.İ. ve Dikici, A. (2010). Elazığ'da Satılan Kremalı Pastalarda *E. coli* O157:H7'nin Varlığı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (2): 307-311.

Önganer, A.N. ve Kırbağ, S. (2009). Diyarbakır’da Taze Olarak Tüketilen Çökelek Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25 (1-2) 24 – 33.

Özalp, E. ve Kaymaz, Ş. (1992). *Süt Ürünleri Teknolojisi*. Ankara,184-232.

Özbaş, Y. ve Aytaç, A. (1995). *Escherichia coli* O157: H7 epidemiyolojisi, gıdalarla ilişkisi, patogenitesi ve izolasyon yöntemleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 52(1): 47-53.

Öztürk, U. (2007). Antalya’da Tüketime Sunulan Kıyma Ve Kırmızı Et Preparatlarının Mikrobiyolojik Kalitesi. *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*.

Parada, J. L. (1984). Bacterias Lácticas y el mejoramiento de microorganismos de uso industrial. *La Alimentación Latinoamericana*, 146, 93-102.

Parada, J.L, Caron, C.R., Medeiros, A.B.P ve Soccol, C.R. (2007). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology, An International Journal*, Vol.50, n.3: pp.521-542.

Parente, E. ve Ricciardi A. (1999). Production recovery and purification of bacteriosins from lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52; 628-638.

Pawar, D.D., Malik, S.V.S, Bhilegaonkar, K.N. ve Barbuddhe, S.B. (2000). Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. *Meat Science*, 56: 215-219.

Rahimi, E., Khamesipour, F., Yazdı, F. ve Momtaz, H. (2012). Isolation and Characterization of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and EHEC O157:NM from Raw Bovine, Camel, Water Buffalo, Caprine and Ovine Milk in Iran. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18 (4): 559-564.

Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Courtens, M. ve Debevere, J. (2005). Antimicrobial effect of nisin and carvacrol and competition between *B.cereus* and *B.circulans* in vacuum-packed potato puree. *Food Microbiology*, 22:189-197.

Reilly, W.J. (1997). *E. coli* O157 in Scotland-an overview. *Suppl. to SCIEH Weekly Report*. 97: 4-5.

Reunanen, J. ve Saris, P.E.J. (2004). Bioassay for nisin in sausage; a shelf life study of nisin in cooked sausage. *Meat Science*, 6:515-518.

Richards, M.S., Rittman, M., Gilbert T.T., Opal, S.M., DeBuono, B.A., Neill R.J. ve ark. (1993). Investigation of a Staphylococcal Food Poisoning Outbreak in a Centralized School Lunch Program. *Public Health Reports*, Vol. 106 No. 6 765.

Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., ve ark. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *The New England Journal of Medicine*, 308:681-5.

Ruiz, A., Williams, S.K., Djeri, N., Hinton Jr., A. ve Rodrick, G.E (2010). Nisin affects the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat turkey ham stored at four degrees Celsius for sixty-three days. *Poultry Science*, 89:353-358

Samadpour, M., Ongerth, J.E., Liston, J., Tran, N., Nguyen, D., Whittam, T.S. ve ark. (1994). Occurrence of Shiga-like toxin producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Applied and Environmental Microbiology*, 60:1038-1040.

Sancak, Y.C., Boynukara, B. ve Ağaoğlu, S. (1993). The microbiological quality of ground meat marketed in Van. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4: 73-86.

Sarımehmetoğlu, B., Küplülü, Ö. ve Kaymaz, S. (1998). Hamburger ve İnegöl Köftelerde *E. coli* O157:H7 İzolasyonu. *Ankara Üni. Vet. Fak. Dergisi*, 45: 221-227.

Schillinger, U. ve Lücke, F.K. (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4(3), 199-208.

Scott, V.N., ve Taylor, S.L. (1981). Effects of nisin on the outgrowth of *Cl. Botulinum* spores. *Journal of Food Science*, 46: 117-120, 126.

Sırıken, B. (2004). The Microbiological Quality of Ground Beef in Aydın and Afyon Provinces, Turkey, *Revue de Medicine Veterinaire*, 155:(12), 632-636.

Sinell, H.J. (1992). Faktoren, Die Mikrobiellen Verderb Bestimmen. *Einführung in die Lebensmittelhygiene*, 85-105.

Singh, B., Bernadette, F.M. ve Adams M.R. (2001). Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. *Food Microbiology*, Vol. 18, No. 2, 133-139(7).

Sokari, T. (1991). Distribution Of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* In Ready-To-Eat Foods In Eastern Nigeria. *International Journal of Food Microbiology*, 12(2-3): 275-279.

Stevens, K.A., Sheldon, B.W., Klapes, N.A. ve Klaenhammer (1991). Nisin Treatment for Inactivation of *Salmonella* Species and Other Gram-Negative Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 3613-3615 Vol. 57, No. 12.

Sudağidan, M. ve Yemenicioğlu, A. (2012). Effects of nisin and lysozyme on growth inhibition and biofilm formation capacity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk and cheese samples. *Journal of Food Protection*, 75, 1627-1633.

Sudağidan, M. ve Aydın, A. (2013). Lizozim ve Nisinin Gıda Kaynaklı *Staphylococcus aureus* Suşlarında Gelişim ve Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 39(2), 254-263.

Tekinşen, O.C., Yurtyeri, A. ve Mutluer, B. (1980). Ankara`da Satılan Hazır Kıymaların Bakteriyolojik Kalitesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27. (1-2): 45-63.

Temelli, S. (2002). Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *Escherichia coli* O157:H7 ve Önemi. *Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 21, 133-138.

Thatcher, F.S ve Clark, D.S (Ed.). (1968). I.C.M.F.S. Microorganisms in foods: Their Significance and Methods of Enumeration. *University of Toronto Press*.

Thomas, L.V. ve Wimpenny, J.W. (1996). Investigation of the effect of combined variations in temperature, pH, and NaCl concentration on nisin inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 2006-2012.

Thomas, L.V., Ingram, R.E., Bevis, H.E., Davies, E.A., Milne, C.F. ve Delves-Broughton, J. (2002). Effective use of nisin to control Bacillus and Clostridium spoilage of a pasteurized mashed potato product. *Journal of Food Protection*, 65(10):1580-5.

Topçu, S. (2006). Ankara'da Satışa Sunulan Döner Kebap Çeşitlerinden *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* İzolasyonu Ve Çeşitli Antibiyotiklere Dirençlilikleri. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*.

Tunail, N. (2000). Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara: Sim Matbaacılık.

Tunail, N. ve Köşker, Ö. (1989). Süt Mikrobiyolojisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını*, No 1116. 138 s.

Tükel, Ç. ve Doğan, H.B. (2000). *S.aureus*. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Ankara: Sim Matbaacılık.

Türk Gıda Kodeksi (2006 Temmuz). *Çiğ Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği*. Erişim Tarihi: 05.06.2012. http://www.gidamo.org.tr/mevzuat/mevzuat_detay.php?kod=27

Türk Gıda Kodeksi (2011 Aralık). *Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği*. Erişim Tarihi: 03.03.2013. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm>

Türk Gıda Kodeksi (2011 Aralık). *Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği*. Erişim Tarihi: 03.03.2013. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-3.htm>

Türk Gıda Kodeksi (2012 Nisan). *Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Saflık Kriterleri Tebliği*. Erişim Tarihi: 12.01.2013. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/04/20120408-4.htm>

Türk Gıda Kodeksi (2012 Aralık). *Et ve Et Ürünleri Tebliği*. Erişim Tarihi: 12.01.2013.<http://www.mevzuat.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.16821&MevzuatTliski=0&sourceXmlSearch=et%20%FCr%FCnleri>

Türk Standartları Enstitüsü (1987 Aralık). Türk Standardı ICS 67.140.20, TS 5389.

Uğur, M., Nazlı, B. ve Bostan, K. (2001). *Gıda Hijyeni*. İstanbul: Teknik Yayınevi.

Ukuku, D.O ve Fett, W.F. (2004). Effect of nisin in combination with EDTA, sodium lactate and potassium sorbate for reducing *Salmonella* on hole and fresh-cut cantaloupe. *Journal Of Food Protection*, Vol 67, No 10, 2143-2157.

Ünal, S. ve Akhan, S. A. (1996). Stafilokok Enfeksiyonları. *İnfeksiyon Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.

Ünsal, C. (2007). Erzurum Bölgesinde Satışa Sunulan Etlerde *E. coli O157:H7*'nin Araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi*.

Vernazy-Rozand, C., Mazuy, C., Ray-Gurriot, S., Boutrand-Loei, S., Meyrand, A. and Richard, Y. (1997). Detection of *E. coli O157* in French food samples using on IMS method and the VIDAS *E. coli O157*. *Letters in Applied Microbiology*, 25: 442-446.

Vural, A., Erkan, M.E. ve Güran, H.Ş. (2010). The Examination of the Microbiologic Quality in Örgü Cheese (Braided Cheese) Samples. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*,16 (Suppl-A): S53-S58.

Wang, G., Zhao, T. ve Doyle, MP. (2000). Survival and Growth of *Escherichia coli O157:H7* in Unpasteurized and Pasteurised Milk. *Journal of Food Protection*, 60(6), 610- 613.

Watanabe, H., Wada, A. and Inagaki, Y. (1996). Outbreaks of enterohaemorrhagic *E. coli O157* infection by two different genotype strains in Japan 1996. *Lancet*, 348: 831-832.

Waters, A.E., Contente-Cuomo, T., Buchhagen, J. ve ark. (2011). Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US Meat And Poultry. *Brief Report*, 52: 1227-1230.

Wessels, S., Jelle, B. ve Nes, I.F. (1998). *Bacteriocins Of The Lactic Acid Bacteria: An Over Looked Benefit For Food*. Denmark: Danish Toxicology Center.

Whitman, W.B. (ED). (2009). *Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology Second Edition Volume 3 The Firmicutes*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer, 392-401.

Wieneke, A.A., Roberts, D. ve Gilbert, R.J. (1993). Staphylococcal Food Poisoning In The United Kingdom, 1969-90. *Epidemiology and Infection*, 110 (3) 519-531.

Willshaw, G.A., Thirlwell, J., Jones, A.P., Parry, S., Salmon, R.L. ve Hickey, M. (1994). Verotoxin-producing *E. coli* O157 in beefburgers linked to on outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic üremic syndrome in Britain. *Letters in Applied Microbiology*, 19: 304-307.

Yaygın, H. ve Milci, S. (2006). Peynirlerden Kaynaklanan *Staphylococcus aureus* Zehirlenmesi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildirisi*.

Yüce, A. (1992). İzmir Yöresindeki Mandıralardan Alınan Çiğ Sütlerde *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* aranması. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*.

Zhang, S. ve Mustapha, A. (1999). Reduction of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 Numbers on Vacuum-Packaged Fresh Beef Treated with Nisin or Nisin Combined with EDTA. *Journal of Food Protection*, Volume 62, pp. 1123-1127(5).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	SÜMEYRE İPEK	Soyadı	TURGAY
Doğ.Yeri	MÜNİH/ALMANYA	Doğ.Tar.	21.03.1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	10139166614
Email	ipekturgay@gmail.com	Tel	05326709351

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	-	-
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKULTESİ	2007
Lise	ÖZEL BAHÇEŞEHİR LİSESİ	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	DENETÇİ	AKADEMİK HİJYEN EĞİTİM DENETİM VE DANIŞMANLIK HİZ.	2012-Halen

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS/Windows	Çok iyi
MS/Office (Word/Excel/Power Point)	Çok iyi