

2017

DOKTORA

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ

Sadık SAVAŞAN



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ DOKTORA PROGRAMI
VBH-2017-0001

**TAZE PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN *E.coli*
SUŞLARININ GENOTİPLENDİRİLMESİ**

Sadık SAVAŞAN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

AYDIN-2017

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ DOKTORA PROGRAMI**

**TAZE PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN *E.coli*
SUŞLARININ GENOTİPLENDİRİLMESİ**

**Sadık SAVAŞAN
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY**

AYDIN-2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Sadık SAVAŞAN tarafından hazırlanan "Taze Peynirlerden İzole Edilen *E.coli* Suşlarının Genotiplendirilmesi" başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/12/2017

Üye : Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Tarık Haluk ÇELİK

Ankara Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Şükrü KIRKAN

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU

Ankara Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Devrim BEYAZ

Adnan Menderes Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve tez çalışmam süresince ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen danışmanım Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY ile birlikte Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenimim boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen eşim Doç. Dr. Serap SAVAŞAN, Doç. Dr. Alper ÇİFTCİ ve tüm Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Araç. Gör. Pelin KOÇAK KIZANLIK ve Araç. Gör. H. Tuğba YÜKSEL'e ayrıca teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olup, desteklerini esirgemeyen annem Mürşide SAVAŞAN ve babam Erol SAVAŞAN'a şükranlarımı sunarım.

Bu süreçte yanımda olup, anlayış gösteren oğlum Alp SAVAŞAN'a sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Peynir	3
2.1.1. Peynirin Tarihçesi	3
2.1.2. Peynirin Tanımlanması	3
2.1.3. Dünyada ve Türkiye’de Peynir Üretimi ve Tüketimi	5
2.1.4. Peynirin Sınıflandırılması	8
2.1.5. Peynir Üretimi	10
2.1.5.1. Beyaz Peynir Üretimi	11
2.1.6. Gıdalarda Mikroorganizmalar	15
2.1.7. Peynirlerde Patojen Mikroorganizmalar	19
2.1.8. Süt İşletmelerinde İyi Hijyen Uygulamaları ve HACCP İlkeleri	23
2.1.8.1. Temel Hijyen Kuralları	23
2.1.8.2. Üretim Kuralları	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Gereç	29
3.1.1. Örnekler	29
3.2. Yöntem	29
3.2.1. <i>E.coli</i> İzolasyon ve İdentifikasyonu	29
3.2.2. <i>E.coli</i> Suşlarının PCR ile İdentifikasyonu	30
3.2.3. İzolatların Genotiplendirilmesi	31
4. BULGULAR	33

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları.....	33
4.2. PCR Bulguları	34
4.3. Genotiplendirme ve Filogenetik Analiz	34
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	57



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Bp	: Base pair (baz çifti)
DAEC	: Diffuz Adherent <i>E.coli</i>
EAEC	: Enteroagregatif <i>E.coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E.coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E.coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E.coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>E.coli</i>
FAO	: Food and Agriculture Organization
FDA	: Food and Drug Administration
GAP	: Good Agricultural Practices (İyi Tarım Uygulamaları)
GHP	: Good Hygiene Practices (İyi Hijyen Uygulamaları)
GMP	: Good Manufacturing Practices (İyi Üretim Uygulamaları)
HACCP	: Hazard Analysis Critic Control Point (Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi)
HUS	: Hemolitik Üremik Sendrom
LT	: Labile Toxin (Isıya dirençsiz toksin)
MUG	: 4- Methylumbellifery β-D-glucuronid
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
ST	: Stable Toxin (Isıya dirençli toksin)
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1:** İncelenen *E. coli* izolatlarının filogenetik yakınlık analizi sonucunda oluşturulan dendrogram (1 katsayı x 100 = % homoloji)35



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: <i>E. coli</i> 'nin EMB Agar'da Üremesi.....	33
Resim 2: <i>E. coli</i> PCR sonuçları.....	34
Resim 3: İncelenen <i>E.coli</i> izolatlarının RAPD profilleri	34



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Ülkemizde yaygın olarak tüketilen peynir türlerinin yapısı	4
Tablo 2: Ülkemizde yaygın olarak tüketilen peynirlerin sınıflandırılması.....	4
Tablo 3: Dünyada toplam süt arz ve kullanımı	5
Tablo 4: Türkiye süt üretimi ve sağılan hayvan sayısı	6
Tablo 5: Dünya toplam peynir arz ve kullanımı	7
Tablo 6: Türkiye’de peynir arz ve kullanımı	7
Tablo 7: Sertlik derecesine göre peynirlerin sınıflandırılması.....	9
Tablo 8: Olgunlaşma durumu ve yöntemine göre peynirlerin sınıflandırılması.....	9
Tablo 9: Peynirlerin süt yağı oranına göre sınıflandırılması	10
Tablo 10: Peynirlerin nem ve tuz içerikleri	10
Tablo 11: Peynirin üretim aşamaları.....	11
Tablo 12: Gıdaların patojen mikroorganizmalarla kontaminasyon kaynakları	17
Tablo 13: Türk Gıda Kodeksi peynir üretim hijyen kriterleri.....	18
Tablo 14: Patojenik <i>E. coli</i> alt grupları ile ilgili bazı özellik ve semptomlar	23
Tablo 15: <i>E. coli</i> izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu için kullanılan oligonükleotid primerler	31
Tablo 16: İncelenen peynir numunelerinin koliform bakteri sayısı sonuçları.....	33
Tablo 17: RAPD-PCR sonucunda saptanan genotiplerde yer alan izolatlar ve sayıları.....	35
Tablo 18: Belirlenen genotiplerin peynir örneklerine dağılımı	37

ÖZET

TAZE PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN *E.coli* SUŞLARININ GENOTİPLENDİRİLMESİ

Savaşan S. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Programı Doktora Tezi, Aydın, 2017.

Bu araştırmada, Aydın ilinde üretilen taze peynirlerden izole edilen *E.coli* suşlarının RAPD-PCR yöntemi ile genotiplendirilerek filogenetik yakınlıklarının ve ekolojik çeşitliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, Aydın ili ve çevresinde farklı mandıralarda üretilip, mandıra satış noktalarında, marketlerde ve semt pazarlarında satışa sunulan taze peynirler koliform bakteri sayısı ile *E. coli* varlığı yönünden incelenmiştir. Farklı satış noktalarından toplam 100 taze peynir numunesi, her bir numuneden 250 gram olacak şekilde steril poşetler içerisinde soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Taze peynir örneklerinin zenginleştirilmiş ve selektif besiyerlerine ekimlerini takiben izole edilen *E.coli* şüpheli bakterilerin biyokimyasal yöntemlerle identifikasyonu yapılmıştır. İdentifikasyon sonuçları PCR ile doğrulanmıştır. İzole edilen *E.coli* suşları RAPD-PCR yöntemi ile genotiplendirilmiştir.

Sonuç olarak araştırmamızda 77 adet taze peynir örneğinde ortalama 4,83 log kob/g koliform bakteri saptanmış, koliform bakteri saptanan 77 adet taze peynir örneğinin 22 sinden 44 adet *E.coli* izolatu elde edilmiştir. Elde edilen 44 adet izolat PCR yöntemi ile de *E.coli* olarak doğrulanmıştır. Bu izolatların RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi sonucu 22 farklı genotip belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Taze peynir, *E.coli*, RAPD-PCR, genotiplendirme

ABSTRACT

GENOTYPING OF *E.coli* STRAINS ISOLATED FROM FRESH CHEESE

Savaşan S. Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Food Hygiene and Technology Programme PhD Thesis, Aydın, 2017.

The aim of this study was to evaluate phylogenetic and ecological diversity of *E.coli* strains isolated from raw cheese samples produced in Aydın province, by genotyping with RAPD-PCR technique.

In this research, the fresh cheese materials produced at different dairy houses were obtained from dairy markets, local markets, district markets in and near Aydın province and they were investigated for colony forming unit of coliform bacteria and *E.coli* presence. 250 gr pieces of 100 fresh cheese samples that were obtained from different markets were taken in sterile bags and were brought to Adnan Menderes University. Veterinary Faculty, Food Hygiene and Technology Department laboratories in cold chain. After the enrichment and selective media processes, the isolated bacteria were identified by bio-chemical tests and PCR. After then, isolates were genotyped by using RAPD-PCR.

As a result, in our study, coliform bacteria found in 77 fresh cheese materials at the average level of 4,83 log cfu/g., 44 *E.coli* isolates were identified in 22 of the 77 coliform contaminated samples.. The obtained 44 isolates were also verified as *E.coli* by PCR. 22 different genotypes were determined by genotyping of these isolates using RAPD-PCR.

Key Words: Fresh cheese, *E.coli*, RAPD-PCR, genotyping

1. GİRİŞ

Süt ve süt ürünleri insanlar için yaşamsal öneme sahip besin öğeleridir. Süt içerdiği yüksek kaliteli hayvansal proteinlerden dolayı hem çocuklar hem de yetişkinler için en önde gelen besin kaynaklarından bir tanesidir (El Nahas ve ark, 2015).

Geleneksel bir süt ürünü olan peynir farklı çeşitleri ile hemen hemen bütün tüketim gruplarına hitap etmekte ve insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Peynirin günlük beslenmemizdeki önemi; kolay sindirilebilme özelliğinin yanı sıra, yapısında üretimde kullanılan sütteki yağı, çözünmeyen tuzları, koloidal maddelerin tümüne yakın miktarını bulundurması ve süt serumundaki çözünen tuzlar, vitaminler, serum proteinleri ve diğer besin unsurlarının da bir ölçüde peynirin yapısına girmesinden ileri gelir. Peynir, özellikle yüksek kalitede protein, yağ, A ve B2 vitaminleri yönünden oldukça zengindir. Türkiye’de yüksek teknolojiye sahip süt işleme tesislerinde yabancı kökenli birçok peynir de üretilmektedir. Sahip olunan geleneksel peynir çeşitlerinin kendine has özellikleri korunarak iç pazara sunulabileceği gibi, dış piyasalarda da yeni ihracat imkanları oluşturması açısından son derece önemlidir (Üçüncü, 2013).

Türkiye’de genel olarak beyaz peynir, kaşar, tulum, lor, otlu peynir, mihalliç, çeçil, çerkez peynirleri üretilmektedir, 2012 yılında toplam peynir üretim miktarı 2011 yılına göre % 8,3 artışla 563,480 ton miktarında, kişi başı yıllık peynir tüketimi de 14,7 kg miktarında gerçekleşmiştir (TUİK, 2013). 2014 yılında peynir üretiminde, toplam arz bir önceki yıla göre % 5 oranında artarak, 650 bin ton miktarında gerçekleşmiştir (Gülaç, 2015). Türkiye İstatistik Kurumu 2016 yılı süt ve süt ürünleri üretim verilerine göre, toplam peynir üretimi 657,694 ton miktarında gerçekleşmiş olup, bunun 635,191 ton miktarı inek sütünden yapılan peynir miktarı, 18,530 ton miktarı harmanlanmış süttten yapılmış peynir miktarı olarak belirtilmiştir (WEB_2, 2016).

Süt ve süt ürünleri patojen mikroorganizmalar dahil çeşitli mikroorganizmaların üremesi için iyi bir ortam oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar insan sağlığını tehdit ettikleri gibi fiziksel ve kimyasal değişiklikler *nedeniyle* ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Koliform grubu bakteriler gıdaların hijyenik kalitesinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Olası bir hijyenik tehlikenin boyutlarını tahmin edebilmek için, gıdalardaki belirli bulaşmaları işaret eden bu mikroorganizmaların varlığına dikkat edilmelidir. Bu grup bakteriler arasında *Escherichia coli* (*E. coli*) bakteriyel gıda infeksiyonlarının etkenlerindedir (Morgan ve ark, 1993; Headrick ve ark, 1998). Ülkemizde peynirlerin fekal

kontaminasyon ve patojen mikroorganizmalarla bulaşmasını, çiğ sütün toplam bakteri sayısı fazlalığına bağlı düşük kalitesi, sağım, taşıma, depolama aşamalarında ve işletmelerde, temizlik ve hijyen kurallarına yeterince önem verilmemesi, yeterli olgunlaştırma süresi dolmadan tüketime sunulması, uygunsuz koşullarda pazarlanması gibi faktörler olumsuz yönde etkilemekte, tüketici sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadırlar (Ergüllü, 1980; Heperkan ve ark, 1994; Tunail, 1999; Tan ve Ertürk, 2002).

Zorunlu bağırsak sakini olan koliform grubu bakterilerin gıdalarda bulunması fekal bir kirlenmeyi işaret ettiğinden indikatör mikroorganizmalar olarak değerlendirilirler. İndikatör mikroorganizmalar olarak genellikle koliform, fekal koliform, *E. coli*, Enterobacteriaceae ve enterokoklar kullanılır. *E. coli*, insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminde bulunan, Enterobacteriaceae familyasına ait predominant fakültatif anaerob olarak bilinen gram negatif bir basildir. Bu bakteri genellikle karakteristik biyokimyasal reaksiyonlar yardımıyla identifiye edilmektedir. *E. coli*'nin glukozu fermente etme yeteneği ve gaz oluşturması temel karakteristik özelliğidir. Genellikle konak hücreye zarar vermeden, doğumdan itibaren bebeklerin gastrointestinal sistemlerinde kolonize olmaktadır (Erol, 2007). Enterobacteriaceae (*E. coli* dahil) ısıya duyarlıdır ve 70°C'nin üstünde ısıtma ile yok edilebilir. Çiğ veya az pişmiş gıdalar, çapraz bulaşma (pişmiş gıdanın hammadde ile veya kontamine olmuş aletle temasa geçmesi) enfeksiyonun başlıca nedenleridir. Uygun pişirme ve gıdanın hijyenik işlenmesi enterobakteriyel enfeksiyonları yüksek oranda engellemektedir (Çakır, 2000). Etkenin peynirlerde saptanması, hijyen uygulamalarının, pastörizasyon işlemlerinin, pastörizasyon sonrası hijyen ve HACCP uygulamalarının yetersiz olduğunun göstergesidir (Nichols ve ark, 1996; Çakır, 2000; Tekinşen ve Tekinşen, 2005; Altun, 2011).

Bu araştırmada, Aydın ilindeki çeşitli mandıra ve peynir işletmelerinde üretilen, market, pazar ve mandıra satış noktalarında tüketiciye sunulan taze peynirlerde *E. coli* varlığının araştırılması ve izole edilen suşlar arasındaki ekolojik çeşitliliğin saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Peynir

Bir süt ürünü olan peynir insan beslenmesinde önemli yer tutar. Peynirin günlük beslenmemizdeki önemi; kolay sindirilebilme özelliğinin yanı sıra, yapısında üretiminde kullanılan sütteki yağı, znmeyen tuzları, koloidal maddelerin tümüne yakın miktarını bulundurması ve süt serumundaki znen tuzlar, vitaminler, serum proteinleri ve diğer besin unsurlarının da bir lde yapısına girmesinden kaynaklanır (Tan ve Ertürk, 2002).

2.1.1. Peynirin Tarihçesi

Peynir kökeni oldukça eskiye dayanan bir süt ürünüdür. Peynir üretimine dair elde mevcut en eski arkeolojik bulgular M 5000 yıllarına aittir ve günümüz Polonya'sında ortaya çıkarılmıştır. ıkış noktaları Orta Asya, Orta Doğu ya da Avrupa olarak tahmin edilmektedir. Yaygınlaşmasının Roma İmparatorluğu zamanında olduğu ancak ilk peynirin Orta Doğu insanları ve Orta Asya göçebe Türkleri tarafından yapıldığu dşnlmektedir. Yiyecekleri saklayıcı özelliği nedeniyle hayvanın derisinin ya da i organlarının kullanılması nedeniyle, bu i organlardan olan midede saklanan sütün buradaki enzimlerle (kültürle) mayalanması üzerine lor haline gelmesi peynirin ilk oluşumu hakkındaki teorilerden biridir (WEB_1, 2013).

2.1.2. Peynirin Tanımlanması

Peynir, Türk Gıda Kodeksi (2015) de hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permenantının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da eşnisiz olarak, tekniğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırdıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren süt ürünüdür şeklinde tanımlanmaktadır. Özetle sütün pıhtılaştırılmasını takiben peynir altı suyunun ayrılmasından sonra pıhtının farklı şekillerde işlenmesi sonucu elde edilen peynir, taze olabileceği gibi,

farklı tat, aroma, yapı kazanması, olgunlaştırılması sonucu da tüketime sunulabilmektedir (Koçak, 1994).

Ülkemizde yaygın olarak tüketilen peynir türlerinin yapısı ve enerji değerleri (Demirci, 1988; Tekinşen, 2000) Tablo 1’de özetlenmiştir;

Tablo 1. Ülkemizde yaygın olarak tüketilen peynir türlerinin yapısı (Demirci, 1988; Tekinşen, 2000).

Peynirler	Kurumadde	Protein	Yağ	Kül	Kcal/100g.
Beyaz	42,58	17,30	20,10	5,83	238
Kaşar	58,52	24,20	25,10	4,67	345
Mihaliç	65,37	26,50	30,60	8,51	383
Tulum	59,47	26,10	28,70	486	373
Otlu	46,78	22,60	22,90	6,85	246

Ülkemizde yaygın olarak tüketilen peynirlerin sınıflandırılması (Üçüncü, 2013) Tablo 2’de özetlenmiştir;

Tablo 2. Ülkemizde yaygın olarak tüketilen peynirlerin sınıflandırılması (Üçüncü, 2013).

Peynir Çeşidi	Su oranı % (en çok)	Tam yağlı (en az)	Yağlı (en az)	Yarım yağlı (en az)	Az yağlı	Yağsız (en çok)	Kurumadde tuz % (en çok)	Titre.asitliği % Laktik asit (en çok)
Beyaz Peynir	60	45	30	20	10 (en az)	10	10	3
Olgun Kaşar	40	45	30	20	-	-	-	-
Taze Kaşar	45	45	30	20	-	-	-	-
Salamura Tulum P.	50	42	30	20	20 (ençok)	-	6 (1.sınıf) 10 (2.sınıf)	3
Tulum Peyniri	40	45	30	20	-	-	6 (1.sınıf) 8 (2.sınıf)	1,5 (1.sınıf) 2,5 (2.sınıf)
Dil Peyniri	45	45	30	20	-	-	3	0,5 (1.sınıf) 1,0 (2.sınıf)
Eritme Peyniri	60	45	30	20	10 (en az)	-	7	5,5 (pH)

2.1.3. Dünyada ve Türkiye’de Peynir Üretimi ve Tüketimi

Dünyada toplam süt üretimi 2013 yılında 2012 yılına göre % 1,4 artarak 552,1 milyon ton, inek sütü üretimi ise % 1 artarak 468,4 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (Tablo 3) (Ataseven ve Gülaç, 2014).

Tablo 3. Dünyada toplam süt arz ve kullanımı (Ataseven ve Gülaç, 2014).

ARZ (bin ton)	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Toplam süt	504,582	514,365	529,675	544,551	552,091	566,644
İnek sütü üretimi	435,112	441,957	453,727	464,464	468,411	478,853
İthalat	269	373	430	561	682	802
Toplam arz	504,851	514,738	530,105	545,112	552,773	567,446
KULLANIM						
Toplam yurtiçi kullanım	504,410	514,234	529,540	544,504	552,089	566,749
Hayvan beslemede kullanım	5,199	5,060	5,004	5,019	5,002	4,856
İçme sütü kullanımı	168,033	171,403	173,107	174,568	177,547	182,460
Sanayi kullanımı	331,178	337,771	351,429	364,917	369,540	379,433
İhracat	461	504	565	613	696	724
Toplam kullanım	504,871	514,738	530,105	545,117	552,785	567,473

Aynı çalışmada Türkiye’de süt üretiminin 2013 yılında 2012 yılına göre % 4,7 arttığı ve 18,2 milyon ton olarak gerçekleştiği belirtilmiş olup, toplam süt üretiminin % 91,4’ünün inek sütü, % 6’sının koyun sütü, % 2’sinin keçi sütü, % 0,3’ünün de manda sütü olduğu rapor edilmiştir. Türkiye’de süt üretimi ve sağılan hayvan sayısı Tablo 4’de özetlenmiştir (Ataseven ve Gülaç, 2014).

Tablo 4. Türkiye süt üretimi ve sağılan hayvan sayısı (Ataseven ve Glaç, 2014).

	2009	2010	2011	2012	2013
Sağılan sığır sayısı (adet)	4,133,148	4,361,841	4,761,142	5,431,400	5,607,272
Üretim (ton)	11,583,313	12,418,544	13,802,428	15,977,837	16,655,009
Verim (ton/baş)	2,8	2,8	2,9	2,9	3,0
Sağılan koyun-keçi sayısı (adet)	11,238,680	13,116,643	14,594,254	16,570,700	18,230,555
Üretim (ton)	926,429	1,089,643	1,231,410	1,376,436	1,516,756
Verim (ton/baş)	0,082	0,083	0,084	0,083	0,083
Sağılan manda sayısı (adet)	32,361	35,362	40,218	46,959	51,940
Üretim (ton)	32,443	35,487	40,372	46,989	51,947
Verim (ton/baş)	1,003	1,0	1,0	1,0	1,0
Toplam sağılan hayvan sayısı (adet)	15,404,189	17,563,350	19,395,614	22,049,059	23,889,767
Toplam süt üretimi (ton)	12,542,185	13,543,674	15,074,210	17,401,262	18,223,712

Türkiye’de 2013 yılında ticari süt işletmeleri tarafından toplanan inek sütü miktarı yaklaşık 7,9 milyon ton olmuştur. AB lkelerinde ise bu üretim yaklaşık 140,4 milyon tondur ve Türkiye bu üretimi ile AB lkeleri arasında 7. sırada yer almaktadır. Ülkemizde ticari işletmeler tarafından gerçekteştirilen içme sütü üretimi 2013 yılında bir önceki yıla göre % 3,8 oranında artarak yaklaşık 1,3 milyon ton olarak gerçekteşmiştir. AB lkelerinde ise içme sütü üretim miktarı yaklaşık 31 milyon ton olmuştur. Türkiye içme sütü üretimi sıralamasında AB lkeleri arasında 7. sırada bulunmaktadır (TK, 2014).

Dünyada peynir üretimi 2013 yılında 2012 yılına göre % 1 artarak 17,6 milyon ton olmuştur. Dünyada toplam peynir arz ve kullanımı Tablo 5’de özetlenmiştir (Ataseven ve Glaç, 2014).

Tablo 5. Dünya toplam peynir arz ve kullanımı (Ataseven ve Gülaç, 2014).

ARZ (bin ton)	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Başlangıç stokları	583	617	650	639	671	662
Üretim	16,326	16,772	16,929	17,473	17,608	17,837
İthalat	1011	1088	1093	1154	1194	1207
Toplam Arz	17,920	18,477	18,672	19,266	19,473	19,706
KULLANIM						
Yurtiçi kullanım	15,999	16,397	16,539	16,941	17,102	17,308
İhracat	1,304	1,429	1,494	1,654	1,709	1,765
Toplam Kullanım	17,303	17,826	18,033	18,595	18,811	19,073
Bitiş stokları	617	651	639	671	662	633

Türkiye’de 2013 yılında 2012 yılına göre peynir toplam arz miktarı % 6,4 artarak 621,318 ton, toplam yurtiçi kullanım % 6,1 artarak 571,176 ton olarak gerçekleşmiştir. Türkiye’deki peynir arz ve kullanımı Tablo 6’da özetlenmiştir (Ataseven ve Gülaç, 2014).

Tablo 6. Türkiye’de peynir arz ve kullanımı (Ataseven ve Gülaç, 2014).

ARZ (ton)	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Başlangıç stokları	10,747	10,726	11,746	12,579	12,854	13,326
Üretim	271,704	473,057	518,850	564,191	600,266	638,648
İthalat	6,139	5,357	6,080	7,061	8,198	9,518
Toplam Arz	288,590	489,140	536,677	583,830	621,318	661,492
KULLANIM						
Toplam yurtiçi kullanım	254,545	459,294	495,422	538,467	571,176	605,460
İhracat	23,319	18,099	28,676	32,509	36,817	41,696
Toplam kullanım	277,864	477,393	524,098	570,976	607,993	647,155
Bitiş stokları	10,726	11,746	12,579	12,854	13,326	14,336

Dünya peynir üretiminde Avrupa Birliği % 47, Amerika Birleşik Devletleri % 32’lik paya sahipken, bu ülkeleri % 4 ile Brezilya ve Arjantin takip etmektedir. ABD’de artan yurtiçi talebe bağlı olarak peynir üretimi 2009 yılına göre % 4 oranında artarak 2010 yılında 4,734 bin tona ulaşmıştır. Dünya peynir toplam arzı % 3 oranında artış göstererek 16,456 bin ton ve

toplam kullanım % 3 oranında artışla 15,830 bin ton, bitiş stokları ise % 4 artışla 626 bin ton olarak gerçekleşmiştir. Peynirde, AB % 44'lük ihracat pazar payı ile dünya pazarında lider tedarikçi konumunda yer almaktadır. 2010 yılında AB'den sonra dünyanın en büyük ikinci ihracatçısı % 19'lük payı ile Yeni Zelanda'dır. Diğer büyük peynir tedarikçisi ülkeler arasında % 13 pay ile ABD ve % 12 pay ile Avusturalya yer almaktadır. Dünya genelinde 2010 yılında peynir tüketimi artış göstermiştir. Kişi başına peynir tüketiminin en fazla olduğu ülkeler arasında ilk sıralarda Yeni Zelanda, AB, İsviçre, ABD yer almaktadır. Batı Avrupa'da tüketimin yüksek seviyelerde olduğu Almanya ve Hollanda gibi ülkelerde durgunluk ve yavaşlama gözlenirken, Fransa'da artış olmuştur (WEB_1, 2013).

Süt ürünleri üretimi içinde önemli yere sahip olan peynir üretimi Türkiye'de 2013 yılında bir önceki yıla göre % 6,4 oranında artarak yaklaşık 600 bin ton olmuştur. AB ülkelerinde ise bu üretim yaklaşık 8,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Türkiye bu üretimi ile AB ülkeleri arasında 6. sırada yer almaktadır. Peynir üretiminde Almanya 2,3 milyon ton, Fransa 1,8 milyon ton, İtalya 955 bin ton, Hollanda 793 bin ton ve Polonya 744 bin ton üretimle AB ülkeleri arasında ilk 5 sırayı paylaşmaktadır (TÜİK, 2014).

2.1.4. Peynirin Sınıflandırılması

Uluslararası Süt Federasyonu tebliğine göre dünyada 500 farklı şekilde ve cinsten peynir üretimi yapılmaktadır (Fox ve ark, 2000). Peynirlerin sınıflandırılmasında belli bir metot bulunmamakla birlikte, kullanılan sütün cinsi, içerdiği su oranı, yağ oranı gibi özellikler kullanılarak sınıflandırma yapılmaktadır (Tekinşen, 2000).

*Sütün cinsine göre;

Keçi, inek, koyun, manda peyniri vb.

*Pıhtının elde edilme yöntemine göre;

Peynir mayası ile pıhtılaştırma (Beyaz, Kaşar, Gouda)

Zararsız organik asitlerle pıhtılaştırma (Cottage, Quark)

Isıl işleme pıhtılaştırma (Lor)

*Kuru madde içeriğine göre;

Çok sert, sert, yarı sert, yarı yumuşak, yumuşak.

*Kuru maddedeki yağ içeriğine göre;

Tam yağlı, yarım yağlı, yavan (yağsız).

*Kullanılan kültüre göre;

Laktik asit bakterileri, Küfler, Laktik asit bakterileri ile birlikte diğer mikroorganizmalar.

*Peynir tekstürüne göre;

Açık tekstür, kapalı tekstür, granüler.

*Ülke kökenine göre; Türk, Fransız vb.

Ülkelerin, toplumların kendilerine has kültürel yapılarının, gelişim düzeylerinin çeşitliliğine paralel şekilde tükettikleri peynirlerde oldukça farklı çeşitlerde olabilmektedir. Türkiye’de ise yaygın olarak beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri tüketilmekte, bunları lor, çökelek, dil, otlu peynirler, Çerkez peyniri takip etmektedir (Özkaya ve ark, 2015).

Türk Gıda Kodeksi peynir tebliğinde (2015) peynir, sertlik derecesine göre (Tablo 7), olgunlaşma durumu ve yöntemine göre (Tablo 8), süt yağı miktarına göre (Tablo 9), nem ve tuz içeriğine göre (Tablo 10) sınıflandırılmaktadır.

Tablo 7. Sertlik derecesine göre peynirlerin sınıflandırılması (Türk Gıda Kodeksi, 2015).

Sertlik Derecesi	(PKYN) Yağsız peynir kitlesindeki nem oranı(%)	Tolerans
Ekstra sert	PYKN<49	±2
Sert	49≤PYKN<57	
Yarı sert	57≤PYKN<64	
Yarı yumuşak	64≤PYKN<70	
Yumuşak	PYKN≥70	

Tablo 8. Olgunlaşma durumu ve yöntemine göre peynirlerin sınıflandırılması (Türk Gıda Kodeksi, 2015).

Olgunlaşma		En az olgunlaşma süresi (gün)	
Olgunlaşma Yöntemi	Olgunlaşma Durumu	Ağırlık>1,5 kg	Ağırlık≤1,5kg
Olgunlaştırılmamış	Taze	-	-
Olgunlaştırılmış	Olgunlaştırılmış	90	45
Küf kültürleri ile olgunlaştırılmış	Olgunlaştırılmış	90	45
Salamurada olgunlaştırılmış	Olgunlaştırılmış	90	90

Tablo 9. Peynirlerin süt yağı oranına göre sınıflandırılması (Türk Gıda Kodeksi, 2015).

Sınıfı	Kuru maddedeki süt yağı (%)
Tam yağlı	45≤süt yağı
Yarım yağlı	25≤süt yağı<45
Az yağlı	10≤süt yağı<25
Yağsız	10>süt yağı

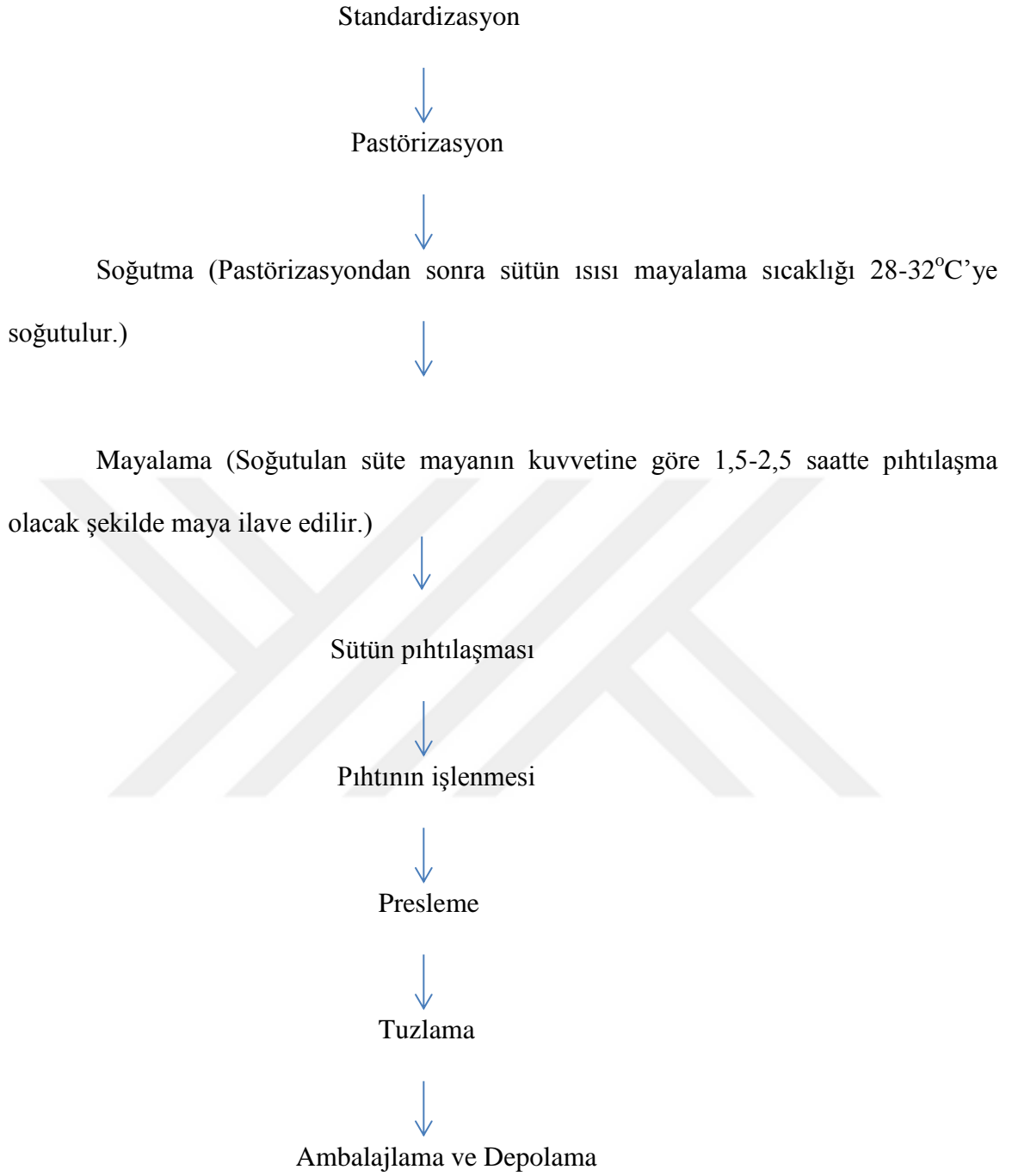
Tablo 10. Peynirlerin nem ve tuz içerikleri (Türk Gıda Kodeksi, 2015)

	Nem,% (m/m) En çok	Tuz (NaCl), kuru maddede % (m/m) En çok
Salamurada olgunlaştırılan peynirler	60	7,5
Küf kültürleri ile olgunlaştırılan peynirler	45	5,0
Küf kültürleri ile ve salamurada olgunlaşma yöntemi dışında olgunlaştırılan peynirler	45	4,0
Telemesi haşlanmış peynirler	45	4,0
Peyniraltı suyu peynirleri	75	6,0
Taze peynirler	80	4,5
Çeşnili taze peynirler	80	4,5
Olgunlaştırılmış beyaz peynir	60	6,5
Taze beyaz peynir	65	6,5
Kaşar peyniri (olgunlaştırılmış)	40	4,0
Taze kaşar peyniri	45	3,0
Eritme peyniri	60	4,5
Tulum peyniri	45	5,0

2.1.5. Peynir Üretimi

Peynir bilimsel yöntemlerle büyük işletmelerde 19. yüzyılın ortalarından itibaren üretilmeye başlanmıştır. Peynir yapım aşamalarının seyri, bakteri ve/veya enzimlerin aktivitelerine bağlı olup, bu aktivite üretim sırasında oluşan asiditeyi tayin ederek belirlenmektedir (Tekinşen, 2000). Peynirin üretim aşamaları Tablo 11’de özetlenmiştir.

Tablo 11. Peynirin üretim aşamaları (Küçüköner, 2011).



2.1.5.1. Beyaz peynir üretimi

Beyaz peynir ülkemizde daha çok Trakya, Orta Anadolu, Ege, Marmara bölgelerimizde üretilmekte olup, salamura, tenke, Edirne peyniri olarak da isimlendirilmektedir. Yarı sert peynir grubu içerisinde yer alır. Beyaz renkte, homojen, kabuksuz, deliksiz, salamurada bekletilerek olgunlaştırılan bir peynir çeşididir. Süt sanayii

üretimlerinde *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris* gibi mezofilik starter bakteriler kullanılsa da, geleneksel olarak üretilen Türk Beyaz Peynirinde starter kullanılmamaktadır. Bu tarz üretilen beyaz peynirlerde üretimin yapıldığı çevrede bulunan laktik floraya bağlı olarak, bu bölgeye has lezzet ve aroma oluşmaktadır (Hayaloğlu ve ark, 2002). Beyaz peynir üretiminde sütün pıhtılaştırılmasında buzağı rennetleri kullanılmaktadır, ancak günümüzde üretim artışına bağlı olarak mikroorganizmalardan elde edilen koagulant ajanlar sütün pıhtılaştırılmasında daha yoğun kullanım alanına sahiptir (Aksoydan, 1996).

Geleneksel yöntemle beyaz peynir üretimi şöyledir (Üçüncü, 2013);

- Peynire işlenecek süt, 74°C’de 15 saniye ya da 65°C’de 20-30 dakika pastörize edilir.
- 30-32°C’ye soğutulur.
- % 1-2 starter kültür ilave edilir. Bu kültür *Lactococcus lactis*+*Lactobacillus casei* (2:1 oranında) ya da *Lactococcus lactis*+*Lactobacillus casei*+*Lactobacillus plantarum*’dan oluşabilir.
- Yaklaşık 30 dakika sonra süte % 0,02 oranında (20g/100 l) kalsiyum klorür ilave edilir.
- Starter kültür ilavesinden yaklaşık 45 dakika sonra süt 28-30°C’de mayalanır. İlave edilecek peynir mayası miktarı, sütün 80-90 dakikada pıhtılaşmasını sağlayabilecek ölçüde olmalıdır.
- Meydana gelen pıhtı, kesim olgunluğu belirlendikten sonra, tekne içerisinde, kenar uzunlukları 2-3 cm’lik küpler şeklinde kesilir, 5-10 dakika dinlendirildikten sonra üst kısımdaki peynir suyunun bir kısmı alınır. Pıhtı, içleri ıslatılmış, cendere bezi konmuş, kenarları delikli, 86x86x20cm boyutlarında, paslanmaz çelikten yapılmış peynir kalıplarına aktarılır. Tercihe göre, pıhtı tenekede kesilmeyip, 2-3 cm katmanlar halinde alıp peynir kalıplarına aktarıp, bu kalıplar içinde kesmek, ya da pıhtıyı kalıp üstüne konumlandırılmış 4-6 köşeli, 1-1,5 cm aralıklı tel eleklerden geçirmek de mümkündür.
- Cendere bezi pıhtı ile dolduktan sonra bezin karşılıklı uçları bağlanır, peynir suyunun ayrılması için 10-15 dakika bu şekilde bırakılır. Süre sonunda bez açılır, pıhtılar sıyrılır, iri pıhtı parçaları kırılır. Bez düzgün bir şekilde katlanır. Çelik şişlerle tutturulur. Kalıp kaldırılır, teleme üzerine kapak yerleştirilir. Basınç uygulanmadan peynir suyunun çıkması sağlanır.

- Telemenin kalıbın köşelerini iyice doldurması sağlandıktan sonra bez düzgün bir şekilde katlanır, üzerine kalıp kapağı yerleştirilir. Takiben 10-15 kg ağırlı konarak, 4-5 saat kademeli presleme yapılır. Presleme yapılan alanın sıcaklığı 14-16°C olmalıdır.
- Cendere bezi açılır, teleme 8-8,3 cm eninde kesilir.
- Bir süre (5-10 dakika) beklendikten sonra, soğutma, yapışmış kalıpları rahat çıkartma ve peynir suyunu uzaklaştırma amacıyla temiz soğuk su dökülür.
- Elle dikkatlice kalıplar çıkarılır, salamura öncesi pH 4,8'e gelene kadar kalıplar dinlendirilir.
- Peynirler salamuraya konulur. Salamura tuz konsantrasyonu % 14-16, sıcaklığı 15-16°C, asitliği 14-15°SH, pH değeri 4,7-4,8, tuzlama süresi 4-6 saat olmalıdır. Salamuraya % 0,02 CaCl₂ konabilir. Bununla peynir yüzeylerinde yumuşama önlenir. Tuzlama boyunca, peynirler ters yüz edilir, yüzeyde çıkıntı yapan peynir yüzeylerine tuz serpilir ya da salamura dökülür.
- Asitliği 65-80°SH olan peynirler, epon laklarla laklanmış tenekelere alınır.
- Tenekeler 14-16°C'de birkaç gün dinlendirilir, biriken peynir suyu süzülür, % 12'lik salamura ile doldurulduktan sonra tenekeler kapatılır ve olgunlaşma depolarına taşınır.
- Peynirler 1-3 ay olgunlaşmaya bırakılırlar.

Beyaz peynir üretiminde, "Bulgar Yöntemi" olarak adlandırılan yöntemde ülkemizde uygulanmaktadır. Süte 80-85°C'de 3-5 dakika ısısız işlem uygulanıp, peynir yapım işlemlerinin büyük bölümü tekne içinde gerçekleştirilmektedir. Yüksek ısı uygulamasına bağlı olarak serum proteinleri peynir suyuna geçmeyip, kazeinle birlikte tutulur, bu da randımanda artışı sağlar. Araç, işgücü kullanım maliyeti düşer, kontaminasyon riski azalır, aynı alanda daha yüksek miktarda süt işlenebilir. Bu yöntemle beyaz peynir yapım aşamaları kısaca şöyledir;

- Sütün yağ oranı standardize edilir.
- 80-85°C'de 3-5 dk, 70-72°C'de 10-15dk, 68°C'de 10 dk pastörizasyon uygulanır.
- Mayalama sıcaklığı olan 28-32°C'ye soğutulur ve pıhtılaştırma teknesine alınır. Süt tekneye aktarılmadan önce tekneye ılık su ile ıslatılmış cendere bezi serilir. Bez üzerine gıda tüzüğüne uygun plastik örtü konulur.

- Starter kültür (% 1-2, *Lactococcus lactis*+*Lactobacillus casei* 2:1 oranında) ilave edilir.
- Süt mayalanmadan 10-15 dk önce 100 litreye 20g CaCl₂ konulur.
- Starter kültür ilavesinden yaklaşık 45 dk sonra süt 28-30°C'de mayalanır. Peynir mayası miktarı sütün 90-110 dakikada pıhtılaşmasını sağlayacak şekilde olmalıdır.
- Pıhtı yatay ve dikey kesicilerle kazanın bir ucundan diğer ucuna olacak şekilde kesilir. Kesim işlemi sonrası 10-15 dk beklenir. Pıhtı suyunu salar ve pıhtı çöker. Plastiği kolay çıkarabilmek için plastik örtü ile cendere bezi arasına su dökülür. Plastik örtünün çıkarılması ile pıhtı ve peynir suyu cendere bezine aktarılmış olur.
- Teknenin alt vanası açılarak peynir suyu uzaklaştırılır. Cendere bezi üzerinde kalan pıhtı ve peynir suyu üzerine, 300 kg süte 2 teneke olacak şekilde 45-50°C sıcak su ilave edilir, iri pıhtılar kırılır.
- Cendere bezi teknenin bir tarafında toplanarak kenarlarına tutturulur. Böylece 10-15 dk pıhtının su salması sağlanır, bezin uçları teknenin diğer tarafına toplanarak bu işlem tekrarlanır.
- Pıhtı işleme, peynir suyunun ayrılması, presleme 4-6 saat sürer. Teleme yeterli sertliğe ulaştı ise baskı alınır, bez açılarak kesim işlemi uygulanır ve 5 dk kadar kendi haline bırakılır. Takiben peynirin üzerine soğuk su dökülerek soğuma ve kalan peynir suyunun ayrılması sağlanır.
- Peynirleri tekne tabanından 3-4 cm kaldırmak için tekneye salamura doldurulur. Cendere bezi dikkatlice alınır. Peynirlerin üzerine tuzlama yapılır.
- Peynirler plastik kaplara alınarak asitliğin artması, su salıp sertleşmenin sağlanması için 2 gün kadar dinlendirilir.

Tenekelere konularak 12 saatlik dinlendirilmenin ardından teneke ağızları kapatılır ve olgunlaşmaya bırakılırlar.

2.1.6. Gıdalarda Mikroorganizmalar

Gıdalara mikroorganizmaların (bakteri, küf, maya) bulaşma yolları, Ayhan (2000) tarafından aşağıdaki gibi belirtilmiştir;

- *Toprak ve su
- *Bitkisel ürünler ve bitkiler
- *İnsan ve hayvan bağırsak sistemi
- *Hayvan deri ve postları
- *Hayvan yemleri
- *Toz ve hava
- *Gıda kapları
- *İşletme personeli

Genel anlamda gıdalarda bulunabilecek mikroorganizmalar dört başlık altında incelenebilmektedir (Erol, 2007). Bunlar;

*Yararlı Mikroorganizmalar

Starter kültürler gibi gıda teknolojisinde önemli yeri, faydaları olan mikroorganizmalardır. Gıda ürünlerinin kendilerine has organoleptik, teknolojik özelliklerinin sağlanmasında önemli role sahiptirler. Patojenlerin baskılanması gibi faydaları da bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak, *Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Penicillium camamberti*, *Saccharomyces cerevisiae* sayılabilir (Erol, 2007).

*Bozulmaya Sebep Olan Mikroorganizmalar

Saprofit mikroorganizmalar olarak adlandırılan, gıdaların bozulmasında etkili olan ancak direkt hastalık yapıcı özellikleri olmayan mikroorganizmalardır. Bu saprofit mikroorganizmalara küf mantarları, maya mantarları örnek olarak verilebilir. Bunlar enzimatik ya da proteolitik etki ile gıdalarda bozulmaya sebep olurlar (Erol, 2007).

*İndikatör Mikroorganizmalar

Bu mikroorganizmalar gıdaların, hammadde kaynağı, üretim aşaması, saklama koşullarının genel hijyenik şartları hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlayan mikroorganizmalardır. Gıdalarda bulunmaları, patojen mikroorganizmalar ile bulaşma riskini ifade eder ve bu yüzden indikatör mikroorganizma olarak ifade edilirler. Bunlara koliform, fekal koliform, *E. coli*, enterekoklar, Enterobacteriaceae örnek verilebilir (Erol, 2007).

Enterobacteriaceae familyasında yer alan koliform grubu bakteriler, fakültatif anaerob, 35°C’de 48 saat içinde laktozdan asit ve gaz oluşturan, gram negatif, spor oluşturmeyen basillerdir. Bu basiller katalaz pozitif olup, nitratı nitrite indirgeme yeteneğine sahiptir (Çakır, 2000). Koliform grubu bakterilerden gıda mikrobiyolojisi için önemli olanlar, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* olarak kabul edilir (Kıvanç, 1990).

Koliform grubu bakteriler, süt ürünleri, yumurta, çiğ süt, sebzeler, kabuklu ve diğer su ürünleri gibi pek çok gıdada bulunabilmektedir. Koliform grubu bakterilerin gıdalarda bulunması, sanitasyon şartlarının yetersizliğinin, yetersiz ya da yanlış pastörizasyon uygulamalarının, üretim sonrası tekrar bulaşmaların varlığının bir göstergesi olarak kabul edilir (Tekinşen ve Tekinşen, 2005).

Koliform grubu bakteriler, patojen etkileri, laktozdan oluşturdukları gaz sebebiyle peynir yapısında bozulmalara neden olmaları, peynirlerin aroma ve tatlarını olumsuz etkilemeleri nedeniyle peynir teknolojisinde önemli sorunlara neden olmaktadır (Ergüllü, 1983).

Koliform grubu bakterilerin peynirlerde yüksek miktarda bulunması, peynirlerin aroma ve yapı bozukluklarının en önemli sebeplerindedir. Bu grup bakterilerin yağ parçalayıcı özellikleri peynirlerde acılaşmaya sebep olmaktadır. Ayrıca bu bakterilerin asetik asit oluşturmaları, *E. coli*’nin proteinlerden indol oluşturması, *Citrobacter freundii*’nin H₂S oluşturması, peynirlerde istenmeyen tat ve kokuya sebep olmaktadır (Kıvanç 1990, Tekinşen 2000).

Koliform grubu bakterilerin sütte yüksek miktarda bulunması, starter kültürlerin gelişimini ve asit oluşturmalarını kısıtlamakta, buna bağlı olarak da erken şişme oluşabilmektedir. Ayrıca bu grup bakterilerin penisiline karşı dirençli olmaları, peynir yapımında kullanılacak olan sütün antibiyotik içermesi durumunda, starter kültür aktivasyonunun penisilin etkisi ile baskılanmasına ve koliformların rahat bir şekilde gelişme şansı bulmasına neden olabilmektedir (Kaynar ve ark, 2005).

*Patojen Mikroorganizmalar

Patojen mikroorganizmalar gıda ve su ile canlıya geçerek, uygun şartlarda bakteriyel, viral, fungal ve paraziter gıda intoksikasyon ve infeksiyonlarına neden olurlar. Bu mikroorganizmalar, hayvanların dış ve mukozal yüzeylerinde, bitki yüzeylerinde farklı türden popülasyonlar halinde bulunabilirler ve uygun şartlarda infeksiyonlara neden olabilirler. Gıdaların patojen mikroorganizmalarla temel kontaminasyon kaynakları Tablo 12’de özetlendiği şekilde belirtilmiştir. Gıdalarda bulunmaları halinde, uygun ortam ve şartlarda

gıda zehirlenmelerine sebep olabilen bakterilere, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella*, *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Brucella*, *Vibrio cholera*, *V. parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Aeromona hydrophila*, *Bacillus cereus* örnek olarak verilebilir (Erol, 2007).

Tablo 12. Gıdaların patojen mikroorganizmalarla kontaminasyon kaynakları (Erol, 2007).

Hayvan Bağırsak Kanalı	Hayvan Dokusu ve Süt	Su,Balık,Kabuklu Deniz Hayvanları Bağırsak ve Dokusu	İnsan-Hayvan Ekstraktı	Toprak-Bitki
* <i>Campylobacter</i> spp. * <i>Clostridium perfringens</i> * <i>Clostridium botulinum</i> * <i>Escherichia coli</i> * <i>Listeria monocytogenes</i> * <i>Salmonella</i> spp. * <i>Yersinia enterocolitica</i>	* <i>Brucella</i> spp. * <i>Mycobacterium bovis</i> * <i>Corynebacterium ulcerans</i> * <i>Coxiella burnetii</i> * <i>Staphylococcus aureus</i> * <i>Streptococcus pyogenes</i> * <i>Streptococcus zooepidemicus</i> * <i>Toxoplasma gondii</i> * <i>Cysticercus bovis</i> * <i>Trichinella spiralis</i>	* <i>Aeromonas hydrophila</i> * <i>Clostridium botulinum</i> * <i>Vibrio cholerae</i> * <i>Vibrio parahaemolyticus</i> * <i>Vibrio vulnificus</i> * <i>Vibrio fluvialis</i> * <i>Anisakis</i> spp. * <i>Diphyllobothrium latum</i> * <i>Plesiomonas shigelloides</i> * <i>Cyanobacteria</i>	*Enterik bakteriler *Enterovirüsler *Hepatit A *Norwalk ve benzeri virüsler *Helmintler *Protozoonlar	* <i>Bacillus cereus</i> * <i>Bacillus subtilis</i> * <i>Clostridium botulinum</i> * <i>Listeria monocytogenes</i> *Mikotoksijenik küfler

Ülkemizde, 29 Aralık 2011 tarihli, 28157 sayılı Resmi Gazete yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne (Türk Gıda Kodeksi, 2011) göre peynir üretim hijyeni kriterleri şöyledir (Tablo 13).

Tablo 13. Türk Gıda Kodeksi peynir üretim hijyen kriterleri (Türk Gıda Kodeksi, 2011).

GIDA	Mikroorganizmalar/ toksinler metabolitler	Numune alma planı (1)		Limitler (2)		Referans metot (3)	Kriterin uygulama basamağı	Sonucun uygun çıkması halinde alınacak tedbirler
		n	c	m kob/g	M kob/g			
Isıl işlem uygulanmış süt veya peynir altı suyundan üretilen peynirler	<i>E. coli</i> (4)	5	2	10 ²	10 ³	ISO 16649-1/2	(5)	(9)
Çiğ süttten yapılan peynirler	Koagulaz pozitif stafilocoklar	5	2	10 ⁴	10 ⁵	EN/ISO 6888-2	(8)	(10)
Pastörizasyondan daha düşük sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanmış süttten üretilen peynirler (6) ve pastörizasyon veya daha yüksek sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanmış süt veya peynir altı suyundan üretilen olgunlaştırılmış peynirler(6)	Koagulaz pozitif stafilocoklar	5	2	10 ²	10 ⁴	EN/ISO 6888-1/2	(8)	(10)
Pastörizasyon veya daha yüksek sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanmış süt/ peyniraltı suyundan üretilen olgunlaştırılmamış yumuşak (taze) peynir (6)	Koagulaz pozitif stafilocoklar	5	2	10 ¹	10 ²	EN/ISO 6888-1/2	(7)	(10)

Tablo 13. Türk Gıda Kodeksi peynir üretim hijyen kriterleri (Devamı).

(1) n:Numune sayısı; c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı.
(2) m=M, kob: koloni oluşturan birim (katı besiyerinde).
(3) Bu yönetmelikte belirtilen standartların yayınlanmış en son halleri kullanılır.
(4) <i>E. coli</i> burada hijyen indikatörü olarak kullanılmaktadır.
(5) Numune üretim işlemi boyunca <i>E. coli</i> sayısının en yüksek olduğu tahmin edilen basamaktan alınmalıdır. <i>E. coli</i> sayısı genellikle, <i>E. coli</i> gelişimini desteklemeyen peynirler için, olgunlaşma periyodunun başında en yüksektir. <i>E. coli</i> gelişimini destekleyen peynirler için ise bu genellikle olgunlaşma periyodunun sonudur.
(6) Gıda işletmecisi tarafından Bakanlık yetkilisine gösterilmesi halinde; stafilokokal enterotoksin oluşum riski taşımayan peynirler hariç.
(7) Üretim işleminin sonunda.
(8) Üretim işlemi boyunca stafilokokların sayısının en yüksek olduğu tahmin edilen üretim basamağı.
(9) Üretim hijyeni ve hammaddenin seçimi iyileştirilmelidir.
(10) Üretim hijyeni ve hammaddenin seçimi iyileştirilmelidir. Eğer bu limit, 10^5 kob/g'ı aşarsa o parti, stafilokokal enterotoksin açısından analiz edilmelidir.

2.1.7. Peynirlerde Patojen Mikroorganizmalar

Peynir her ne kadar güvenli bir gıda ürünü olarak bilinse de, pek çok semptomlar ortaya çıkan gıda zehirlenmesi vakalarında kaynak olduğu saptanmıştır. Peynir kaynaklı gıda zehirlenmelerine yol açan patojenler, kirli çevre veya infekte hayvan kaynaklı bulaşmış çiğ süt, süt işletmesi florasının ya da bu floranın çiğ süt kaynaklı kirliliği, üretim aşamasında çalışanlar kaynaklı olabilmektedir (Kousta ve ark, 2010).

Ülkemizde, üretici bilinci, üretim yerleri, üretim şartları, hayvan bakım şartları ve sağlık durumları göz önüne alındığında süt kalitesi düşük, toplam bakteri sayısı oldukça yüksektir. Sağım, taşıma, depolama şartlarında hijyen kurallarına yeteri kadar önem verilmemesi de birçok mikroorganizmanın bulaşmasına neden olmaktadır. Peynirlerin yeterli olgunlaştırma süresi tamamlanmadan satışa sunulması da bakterilerin peynirde üreme, çoğalma ve gıda zehirlenmesi riski oluşturmasına neden olmaktadır (Ergüllü, 1980).

Türkiye’de hijyenik kalitenin istenen ve olması gereken düzeyde gelişmemiş olması, peynirlerde fekal bulaşma, bununla birlikte patojenlerle bulaşma riskini artırmaktadır (Heperkan ve ark, 1994). Peynirlerde *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* önemli patojen mikroorganizmalar olarak sayılabilir (Keskin ve ark, 2006).

**Salmonella spp.*

Enterobacteriaceae familyasından olup, fakültatif anaerob, gram negatif, çubuk şeklinde bir bakteridir. Bu bakteri ile oluşan gıda zehirlenmeleri daha çok hayvansal gıdalar kaynaklıdır. İnsanlarda ateş, septisemi ve gastroenteritise neden olur. Çiğ süttten yapılmış peynirlerde daha çok saptanmaktadır. Peynirin karakteristik özelliklerini değiştirir, tüketimi sonucu zehirlenmeye sebep olur (Ünlütürk ve Turantaş, 2015; Özkaya, 2000). Bu mikroorganizma 60 gün 1,7°C’de canlı kalabilme özelliğine sahiptir. Soğuk ve kuru ortamlara, düşük PH’ya karşı dayanıklı olması, yeterli hijyenik tedbirlerin alınmadığı şartlarda üretimi yapılmış süt ürünlerinde bulunma riskini arttırmaktadır (Ünlütürk, 1998).

**Listeria spp.*

Gram pozitif, kokobasiller veya kısa çubukçuklar şeklinde mikroorganizmalardır. Gelişmeleri için optimum sıcaklık 30-37°C dir, ancak 1-45°C’de de gelişme yeteneğine sahiptir (Farber, 1991). En önemlisi *Listeria monocytogenes*’dir. Yumuşak peynirler *Listeria* kontaminasyonu açısından riskli olarak değerlendirilmektedir (Pini ve Gilbert, 1988). Süt üretiminde bakım ve barınak şartlarının, süt sağım, toplama yöntemlerinin, üretici, personel hijyenin yetersizliği, süt ürünlerinin üretimi noktasında HACCP kurallarının yetersiz uygulanması gibi faktörler bulaşmaya sebep olmaktadır. *Listeria*’nın doğada çok yaygın olması nedeni ile ancak hijyen ve HACCP kurallarına uyularak yapılan üretimler ile bulaşmanın önüne geçilebilir (Ekici ve ark, 2004).

**Staphylococcus aureus*

Micrococcaceae familyasından, gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, katalaz pozitif mikroorganizmalardır (Tükel ve Doğan, 2000). İnsan ve hayvanların deri ve mukozasında, doğada bulunabilen bir mikroorganizmadır. Süt ve süt ürünlerinde oluşturduğu kontaminasyonlar, infekte hayvanlar, üretim aşamalarındaki yetersiz hijyen, uygun olmayan saklama, depolama şartlarına bağlı olarak şekillenebilmektedir (Çelik ve Can, 2012). Pastörize edilmeden işlenen çiğ sütte yüksek miktarda bulunması, sütün pastörizasyon sonrası bulaşması, starter kültür aktivasyon zayıflığı, uygun olmayan şartlarda depolama gibi etkenler kontaminasyona sebep olur (Santos ve Genigeorgis, 1981). Stafilokok kaynaklı gıda zehirlenmeleri, *S. aureus* tarafından sentezlenen, sindirim sistemine etkili enterotoksinlerin gıdalarla alınması sonucu oluşur (Çelik ve Can, 2012).

**Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasından, sporsuz gram negatif, uçları yuvarlak çomak şeklinde, çoğunlukla hareketli, asidorezistans özelliği olmayan, insan ve pekçok sıcakkanlı hayvanın doğal barsak florasında bulunan, optimum gelişme sıcaklığı 37°C, optimum gelişme pH'sı 7,2 olan bir basildir (Dufty ve ark, 1999; Töreci, 2002). *E. coli*, insan ve bazı memelilerin barsak florasında bulunan ve burada zararsız olarak kabul edilse de, bazı tipleri gerek barsakta gerekse barsak dışı ortamlarda insanlarda hastalıklara sebep olabilmektedir (Kaper ve ark, 2004). Gıdalarda saptanması, saptanma miktarı, halk sağlığı yönünden önem arz eden enteropatojenik ya da toksinejik *E. coli* bulunma ihtimali açısından, fekal kontaminasyonu gösterme açısından indikatör bir mikroorganizma olarak kabul edilir (Pamela ve ark, 2008). Çok sayıda patojen *E. coli* grubu bulunmakla birlikte, enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) olmak üzere 4 grup önem arz etmektedir. Bu gruplar farklı *E. coli* serotipleri içermektedir. Bir başka sınıflandırma şeklinde ise bazı *E. coli* serotipleri verotoksijenik (VTEC) grubu içinde toplanır. Bu gruplar dışında Meksika'da çocuklarda hafif geçen bir diareye neden olan diffuse adhering *E. coli* (DAEC), çeşitli ülkelerde bebek ve çocuklarda kronik diareye neden olan entero-aggregative *E. coli* (EAggEC), ender rastlanan facultatively enteropathogenic *E. coli* (FEEC) grupları da mevcuttur. EAggEC serotipleri agregatif yapışma özellikleri ile diğer tüm *E. coli* serotiplerinden farklılık gösterir (Halkman, 2013).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) serotipleri, gastroenteritis ya da turist ishali olarak adlandırılan enfeksiyonlara neden olan serotiplerdir. Etken vücuda girdikten sonra ince barsaktaki mukozal hücrelere yerleşerek, ısıya dirençli (Heat Stable Toxin=ST) ya da ısıya dirençsiz (Heat Labile Toxin=LT) enterotoksin üretir. ST'ler 100°C'de 15 dakikalık ısı işlemi ve aside dirençli iken, LT'ler 60°C'de 30 dakikalık ısı işlemi ile tahribata uğrarlar, aside de duyarlıdırlar. Bu toksinler, keyifsizlik, hafif ateş, mide bulantısı, karın kasılmaları gibi semptomlarla ortaya çıkan, sert geçen sulu diareye sebep olurlar. Bu serotiplerin meydana getirdiği enfeksiyonlara, gelişmiş ülkelerde ve hijyen, HACCP kurallarının uygulama sistematığının yerleşmiş olduğu ülkelerde oldukça nadir rastlanır. O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O85, O115, O128ac, O148, O159, O167 serotipleri bu gruptadır (Abdullah ve Davies, 1999; Halkman, 2013).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) serotiplerinde ana kaynak insandır. İnatçı, kanlı, sulu diareye neden olur. Kanlı diare bakterinin oluşturduğu akut doku tahribatı ile *Shigella dysenteria* verotoksinine benzer bir toksin salgılaması nedeni ile oluşur. O55, O86, O111ab, O119, O125ac, O126, O128ab, O142 serotipleri bu gruptadır. Hijyen, sanitasyon, eğitim

yetersizliği gibi nedenlere bağlı olarak daha çok gelişmemiş ülkelerde rastlanır (Bilgehan, 1996; Halkman, 2013).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) serotipleri antijenik olarak *Shigella* türleri ile yakınlığa sahiptirler. İşhal ve basilli dizanteriye sebep olurlar. Enterotoksin retmezler. O28ac, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167 serotipleri bu grupta yer alır. Üşüme, kramp, ateş, işhal, kusma belirtilerine sebep olurlar. Özellikle ocuklarda enfeksiyonun ilerlemesine bağlı olarak hemolitik üremik sendroma neden olabilirler. Saptanması en zor gruptur. Hastalıklı kişiler ve kontamine sular bulaşma kaynaklarıdır (Donnenberg ve Nataro, 2000; Halkman, 2013).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) grubunu başlıca *E. coli* O157:H7 serotipi oluşturur. İlk defa 1982 yılında hemorajik kolitisle karakterize salgınlardan izole edilerek insan patojeni olarak tanımlanmıştır. *E. coli* O157:H7, verotoksinleri (VT1,VT2) ile hemorajik kolitisin yanısıra, hemolitik üremik sendroma ve buna bağlı olarak da trombotik trombositopenik purpuraya sebebiyet vermektedir. O157:H7 den sonra O126:H11, O103, O104, O111 serotipleri de bulunmuştur. Minimal enfeksiyon dozu oluka düşük olup, 2-2000 kob/g aralığındadır. Süt inekleri başta olmak üzere, sığırlar birinci derecede O157:H7 rezervuarıdır. Bu durum inek sütünün potansiyel bir tehlike oluşturmasına neden olmaktadır. Tüm EHEC suşları vero hücreleri doku kültürüne sitotoksik olan bir ya da daha fazla sayıda toksin (verotoksin, VT) veya *Shigella* benzeri toksinler (Shiga Like Toxin, SLT) retirler. 2011 öncesinde gıda kaynaklı tek VTEC serotipi O157:H7 olarak bilinirken, *E. coli* O104:H4'n büyük bir salgına neden olması önemli bir değişim olarak kabul edilmektedir. Yaşlılarda enfeksiyona bağlı olarak gelişen problemlere bağlı olarak ölüm görülebilmektedir. Hastalığın ortaya çıkması için 10 adet canlı hücrenin yeterli olduğu dşnlmektedir (Riley ve ark, 1983; Ryser, 1998; Turr, 1994; Halkman, 2013).

Patojenik *E. coli* alt grupları ile ilgili bazı özellikler ve semptomlar Tablo 14'de özetlenmiştir (Food and Drug Administration, 2016b).

Tablo 14. Patojenik *E. coli* alt grupları ile ilgili bazı özellik ve semptomlar (FDA, 2016b).

Özellikler/Semptomlar	ETEC	EPEC	EHEC	EIEC
Toksin	LT/ST	-	Shiga veya Vero toksin	-
İnvaziv	-	-	-	+
İntimin	-	+	+	-
Enterohemolizin	-	-	+	-
Dışkı	Sulu	Sulu ve Kanlı	Sulu, Çok Kanlı	Mukoid, Kanlı
Ateş	Düşük	+	-	+
Fekal lökosit	-	-	-	+
İlgili Barsak	İnce Barsak	İnce Barsak	Kolon	Kolon,kısmen ince barsak
Seroloji	Çeşitli	O26, O111 ve diğerleri	O157:H7, O26,O111 ve diğerleri	Çeşitli
I _D ^b	Yüksek	Yüksek	Düşük	Yüksek

LT=labile toxin (ısıya dirençsiz toksin), ST=stable toxin (ısıya dirençli toksin) I_d^b=infective dose (infektiv doz).

2.1.8. Süt İşletmelerinde İyi Hijyen Uygulamaları ve HACCP İlkeleri

Süt işletmelerinde kaliteli, hijyenik, standartlara uygun ürünler elde etmenin en önemli kriteri iyi hijyen uygulamaları ve HACCP ilkelerine dayalı prosedürleri eksiksiz yerine getirmektir. Bu prosedürler özetle şöyledir (Food and Agriculture Organization, 2003, 2004);

2.1.8.1. Temel hijyen kuralları

Gıdaların bakteri, maya, küf gibi mikroorganizmalarla bulaşmasının birincil faktörünün insan olması dolayısıyla bu işletmelerde çalışan ya da bu işletmelerle ilgisi bulunan kişilerin hijyen kurallarına uyması zorunludur. Bu işletmelerde üretim sonrası oluşan atıkların da gıda ürünlerinde bulaşmaya neden olabilecek mikroorganizmalar, diğer canlılar (haşere vb.) için iyi üreme kaynakları olacağı unutulmamalıdır.

*Yerleşim ve Bina Tasarımı

- İşletme çevresi zemini asfalt ya da beton kaplı olmalıdır.

- İşletme girişlerinde hijyen alanları oluşturulmalıdır (dezenfektanlı paspaslar, fotoselli veya ayak pedallı lavabolar vb.). Özellikle el temizliği yapıldıktan sonra musluk, kapı kolu, çöp kutusu gibi noktalara temas edilmemelidir.

- Haşere, kemirgen gibi canlıların yaşam alanları oluşturmalarının engellenmesi için gerekli tedbirler alınmalı, sık ve düzenli temizliğe önem verilmelidir.

- Üretimle direkt ya da indirekt bağlantılı su içme suyu kalitesinde, standardında olmalıdır.

- İşletmelerin temiz ve kirli alanları iş akışını engellemeyecek şekilde oluşturulmalı, bu alanlar arası geçişlerde hijyen kuralları eksiksiz uygulanmalıdır.

- İşletme içerisinde uygun yerlerde hijyen ve üretim kalitesine yönelik uyarıcı yazı ve fotoğraflar olmalıdır.

- İşletme giriş kapısı direkt olarak üretim faaliyeti olan alana açılmamalıdır. Kapı yüzeyleri düz, temizliği kolay, dezenfekte edilebilir yapıda olmalıdır.

- Pencere camları mümkünse plastik yapıda olmalı, cam kullanılmış ise kırılma halinde ürüne bulaşma riski olmamalıdır.

- Ekipmanlar, kir birikiminin engellenmesi, buldukları alanların ve kendilerinin temizliklerinin etkili şekilde yapılabilmesi için duvarlardan, diğer ekipmanlardan en az 60 cm, zeminden en az 15 cm mesafede konuşlandırılmalıdır.

- İşletme, uygun, yeterli, gün ışığına ya da buna eş değer aydınlıkta doğal ya da yapay yolla yeterince aydınlatılıyor olmalıdır. Aydınlatma ekipmanlarından düşebilecek yabancı maddelerin gıda maddelerini bulaştırmasını engelleyici tedbirler alınmalıdır.

- İşletme yeterli, uygun bir şekilde doğal ya da yapay olarak havalandırmaya sahip olmalıdır. Pozitif hava basıncı, temiz bölgeden kirli bölgeye doğru olmalıdır.

- Üretimde kullanılan su, içme suyu kalitesinde olmalıdır. Suyun sürekliliği ve yeterliliği önemli olup, depolanması, basınç ve sıcaklığının kontrolü için uygun sistemler bulunmalıdır. Su arıtma sistemleri ile ilgili kayıtlar düzenli tutulmalıdır.

- Atık su sistemleri, süt ve süt ürünlerini olumsuz etkilemeyecek şekilde tasarlanmış olmalı, kanal üzerleri ızgara sistemleri ile kapalı olmalı, bu sistemler kanalların periyodik temizlik ve dezenfeksiyonuna izin verecek şekilde oluşturulmalıdır..

*Temizlik ve Dezenfeksiyon

- Temizlik ve dezenfeksiyon, belirlenmiş programlar dahilinde düzenli olarak yapılmalı, yapılan tüm işlemler kayıt altına alınmalıdır.

- Temizlik ve dezenfeksiyon için uygun kimyasal ve ekipman seçilmeli, kullanılan ürünlerin uygulamaları öncesi üretici firmalarından dozaj, uygulanma sıcaklıkları, etki süreleri gibi bilgiler ve tavsiyeler alınmalıdır.

*Personel Hijyeni

- Üretimde çalışanların mevzuata göre düzenli sağlık kontrolleri (portör muayenesi, akciğer filmi, burun-boğaz kültürü, sarılık testleri) yapılmalıdır.

- Personel uygun ve temiz iş kıyafetleri ile gerektiğinde bone, galoş vb. koruyucu giysiler giymelidir. Sokak kıyafeti ve ayakkabılar çalışma sırasında giyilmemeli, iş kıyafetleri ise işletme dışında kullanılmamalıdır. İş kıyafetleri günlük olarak yıkanmalıdır.

- Alyans ve kol saati dahil hiçbir takı ile işleme girilmemelidir. El tırnakları kısa ve temiz olmalıdır. Oje ve parfüm kullanılmamalıdır.

- Tuvaletten çıktıktan sonra eller iyice yıkanmalı, dezenfekte edilmelidir. Eller en az 3 kez sabunlanmalı veya sabunlama süresi 25 saniyeden az olmamalıdır. Tekstil havlu kullanılmamalı, tek kullanımlık kağıt el havlusu veya tek kullanımlık bez havlu kullanılmalıdır.

- Personelle hijyen konularında eğitim verilmeli, bilinçlendirilmesi sağlanmalıdır. Bu eğitimler belli periyotlarda tekrarlanmalıdır. Bu eğitimleri işletme sorumlu müdürleri veya uzman eğitimciler verebilir.

- İşletmelerde her 10-12 kişiye 1 adet olacak miktarda tuvalet bulunmalıdır. Personel ıslak-kuru zemin farkı açısından klozet kullanmanın üstünlüğü konusunda bilgilendirilmeli, klozet kullanmaya zorlanmalıdır.

- El yıkama için kullanılan lavabolarda sıcak ve soğuk su, el temizleme malzemeleri, dezenfektanlı sıvı sabun, hijyenik el yıkama aletleri bulunmalıdır. El kurutma için kağıt havlu kullanılmalıdır.

- El yıkama lavabolarında kol ile itmeli ya da ayak ile basmalı dezenfektanlı sıvı sabunluk ve su akışı sağlayan sistemler olmalıdır.

*İşletme Hijyeni

- Süt işletmelerinde üretimin yapıldığı yerler, yeterli hijyeni sağlayacak ve üretimin olumsuz olarak etkilenmesini önleyecek şekilde tasarlanmalıdır.

- Çiğ süt ve ısıtılmış süt pompaları ayrı olmalıdır.

- Ünite girişlerinde dezenfektan havuzları olmalıdır. Ürünlerin direkt havayla temas ettiği yerlerde özel önlemler alınmalı, bu gibi yerlerde hava UV lamba gibi yöntemlerle dezenfekte edilmelidir.

- Üretim alanları ve gıda ile temasta bulunan tüm makine, alet ve ekipman için temizlik talimatları olmalı, bu talimatlarda kullanılan kimyasalın tipi, konsantrasyonu, uygulama sıcaklığı ve süresi, uygulama sıklığı ayrı ayrı belirtilmelidir.

- Peynir yapımında kullanılan cendere bezleri düzenli olarak, kullanım sonrası tozsuz ve temiz alanlarda deterjan kullanmadan yıkanmalı, durulanmalı ve kurutulmalıdır.

- Her üretim bitiminde temizlik, bir sonraki üretime başlamadan hemen önce de dezenfeksiyon yapılmalıdır. Bunun için planlar oluşturulmalıdır.

***Atık ve Çöp Kontrolü**

- Çevre yasalarında yapılan değişiklikler düzenli olarak izlenmeli, uygulanmalıdır.

- Katı atık, çöp toplama alanları çevresi haşere ve sinek birikimi olmayacak, insan sağlığını olumsuz etkilemeyecek şekilde oluşturulmalıdır.

- Çöp toplama alanı, hakim rüzgar yönüne göre işletmeye koku sinmeyecek bir yerde olmalıdır

***Haşere, Sinek, Kemirgen Kontrolü**

- Haşere mücadelesinde yazılı bir haşere kontrol programı oluşturulmalı, bu ilgili dosyada muhafaza edilmelidir.

- Üretim alanında hiçbir şekilde zehirli yem, canlı yakalama kapanı, yem istasyonu, kimyasal kemirgen kontrolü teknikleri kullanılmamalıdır. Bu amaçla elektrik ve ses dalgalı cihazlar tercih edilmelidir.

***Cam Kontrolü**

- İşletmeye hiçbir şekilde cam malzeme girmemesi için gerekli tedbirler alınmalıdır. Buna maya ve kültür kapları da dahildir. Zorunlu olarak işletmeye girmesi gereken cam malzemeler, yetkili personelin sorumluluğunda ve kırılmalara karşı olabildiğince tedbir alınarak sokulabilir.

2.1.8.2. Üretim kuralları

***Genel Kurallar**

- Süt günlük işlenecek ise 8°C'den fazla olmayan sıcaklıklara, günlük işlenmeyecek ise 6°C'den fazla olmayan sıcaklıklara hemen soğutulmalıdır. İşletmede bu sebeple yeterli kapasitede soğutucu ve tank bulunmalıdır.

- Her işletmenin kendine has, basit, anlaşılır bir iş akış şeması olmalıdır. Üretim bu şema ve açıklamalara uygun yapılmalıdır.

- Tüm üretim sürecini ve son üründe gerekli kontrolleri içeren kayıtlar tutulmalıdır.

*Ham Madde Kabulü

- Üretimde kullanılacak her türlü hammadde, yardımcı madde, ambalaj malzeme ürünleri fiziksel, kimyasal, biyolojik bulaşmaya neden olmayacak şekilde işletmeye ulaştırılmalıdır.

- Üretimde kullanılan süt, günlük olarak işletmeye getirilmelidir. Depolama koşulları sağlanırken, ürünün kalitesinin korunmasına dikkat edilmeli, mikrobiyal bulaşmadan kaçınılmalıdır.

- İşletmeye ilk giren hammaddenin ilk olarak kullanılmasına özen gösterilmeli, kayıtları tutulmalıdır.

- Mal kabul kontrolleri sırasında kusur tespit edilmesi durumunda, iade ve benzeri önlemler alınmalıdır. Bununla ilgili kayıtlar tutulmalıdır.

*Üretim, Ürün İşleme

- Sütün ön temizliği yapılmalıdır.

- Standardizasyon yapılmalıdır.

- Homojenizasyon işlemi uygulanmalıdır.

- Isıl işlem, pastörizasyon işlemi uygulanmalıdır.

- Dolum ve ambalajlama işlemi uygulanır.

- Soğutma işlemi uygulanır.

- Depolama ve sevkiyat işlemleri yapılır.

*Allerjen Bildirimi

- Bazı çeşit peynirlerde ya da meyveli yoğurtlarda çilek, fındık gibi bazı allerjen çeşni, hammadde ya da yardımcı katkıların kullanımı halinde ambalaj üzerinde bilgilendirme yapılmalıdır.

*İadelerle İlgili Uygulamalar

- İşletmeye gelen iade ürünlerle ilgili talimatlar bulunmalı, ayrı ayrı gruplandırılarak kayıt altına alınmalıdır.

*Yeniden İşleme Kuralları

- Raf ömrü bitmeden işletmeye herhangi bir şekilde iade edilen, bozulmamış, küflenmemiş, bozulma olmadığı, insan sağlığı açısından risk taşımadığı laboratuvar analizleri ile kanıtlanmış ürünler yeniden işleme kurallarına göre değerlendirilebilirler. Yeniden işlenen ürünlerle ilgili izlenebilirlik kayıtları tutulmalıdır.

*Laboratuvar

- Düşük kapasiteli işletmelerde laboratuvar bulunma mecburiyeti yoktur. Laboratuvar diğer bölümlerle tam olarak ayrılmış bir alanda olmalıdır. Cam kontrol sistemi kurulmuş olmalıdır.

*İzlenebilirlik

- İşletmeler tarafından hammadde, üretim, işleme, ambalajlama, depolama, dağıtım, satış ve tüketim aşamalarında izlenebilirlik sağlanmalı ve kayıtlar tutulmalıdır. İşletmeler aynı zamanda pazarladıkları ürünün ambalajı üzerinde üretim tarihi, son tüketim tarihi, parti-seri numarası yardımı ile pazarda izlenebilirliği sağlamalıdır.

*Geri Çağırma

- Ürün pazara sunulduktan sonra, ürünün insan sağlığı açısından tehlikeli olduğu belirlenirse ürün pazardan toplatılmalı ya da geri çağırılmalıdır. Bu tip durumlar için senaryo oluşturulmalı ve yılda bir kez geri çağırma tatbikatı yapılmalıdır. Bu tip durumlarda kayıtlar tutulmalı, oluşturulan dokümanlar ilgili kişi ve yerlerde bulunmalıdır.

Bu araştırmada, Aydın ilinde çeşitli mandıralarda ve peynir işletmelerinde üretilip, mandıra, market satış noktası ve pazarda satışa sunulan taze peynirlerde, koliform bakteri içeriğinin kantitatif olarak belirlenmesi, *E. coli* varlığının fenotipik ve genotipik olarak araştırılması, izole edilen *E. coli* suşlarının RAPD-PCR yöntemi ile genotiplendirilerek peynirlerde bulunan *E. coli*'lerin filogenetik yakınlıklarının ve ekolojik çeşitliliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler

Çalışmada, Aydın ili ve çevresinde farklı mandıralarda üretilip, mandıra satış noktalarında, marketlerde ve semt pazarlarında satışa sunulan taze peynirler koliform bakteri sayısı ile *E. coli* varlığı yönünden incelendi. Bu amaçla çeşitli satış noktalarından toplam 100 taze peynir numunesi, her bir numuneden 250 gram olacak şekilde steril poşetler içerisinde soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. *E. coli* İzolasyon ve İdentifikasyonu

Toplanan peynir örneklerinden aseptik şartlarda alınan 10'ar gram peynir numunesi stomacher torbalarına konulup, üzerine 90 ml steril fizyolojik peptonlu su (Oxoid LP0005, Fluka 70179) ilave edilerek Stomacherde (Bag mixer, Interscience, France) 2 dakika boyunca homojenize edildi. Elde edilen homojenizattan seri dilüsyonlar hazırlanarak Violet Red Bile Agar'a (Oxoid CM0107) çift katlı dökme plak yöntemi ile inokulasyonlar yapıldı ve takibinde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda besiyerinde oluşan 1-2 mm çaplı koyu kırmızı koloniler sayılıp, sonuçlar log₁₀ tabanına göre koloni oluşturan birim/gram (kob/g) olarak değerlendirildi (Roberts ve Greenwood, 2003; Halkman, 2005).

Koliform sayımından sonra VRB Agar'da üreyen kırmızı zonlu tipik kolonilerden 5 adet alınarak içerisinde Durham tüpü bulunan Lactose Broth'a (Oxoid CM0137) inokule edilip 44°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda gaz ve bulanıklık oluşturan tüplerden Eosine Methylene Blue Agar (EMB) (Oxoid CM0069) ve MUG supplement (Oxoid BR0071) içeren Violet Red Bile Agar'a (Oxoid CM0107) öze ile ekim yapılarak 37°C'de 24 saat bekletildi. EMB Agar'da metalik röfle ve MUG'lu VRB Agar'da uzun dalga boylu (366 nm) UV lambası ile floresan ışığa veren kolonilere identifikasyon için İndol, Metil Red, Voges Proskauer ve Citrate (IMViC) testleri uygulandı (Roberts ve

Greenwood, 2003; Halkman, 2005). Aynı peynir örneğinden izole edilen *E. coli* suşları aynı numara ve farklı harflerle kodlandırıldı.

İndol testi:

İçerisinde Tryptone Water (Oxoid CM0087) bulunan tüplere şüpheli kolonilerden yuvarlak uçlu öze yardımıyla inokulasyonlar yapılarak 37°C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonucu 0,5 ml Kovacs’ indol ayracı ilave edildi. Tüplerin üst kısmında kalıcı kırmızı halkanın oluşması pozitif, sarı-kahverengi halka ise negatif olarak değerlendirildi (Benner, 1984).

Metil Red (MR) testi:

MR/VP Medium (Oxoid CM0043) sıvı besiyeri kullanılan bu test uygulamasında şüpheli kolonilerden yuvarlak uçlu öze yardımıyla inokulasyonlar yapılarak 37°C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonucu üzerine birkaç damla metil red indikatörü ilave edildi. Besiyerinde belirgin kırmızı bir renk oluşumu pozitif, sarı veya turuncuya yakın bir renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi (Benner, 1984; Koneman ve ark, 1997).

Voges Proskover (VP) testi:

MR/VP Medium (Oxoid CM0043) sıvı besiyeri kullanılan bu test uygulaması için şüpheli kolonilerden yuvarlak uçlu öze yardımıyla inokulasyonlar yapılarak 37°C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası üzerine 5 ml % 40’lık sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ve 1-2 ml % 5’lik α -Naftol çözeltisi ilave edildikten sonra iyice karıştırarak 2 dakika içerisinde kırmızı pembe halka oluşumu pozitif, sarı halka oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi (Benner, 1984; Koneman ve ark, 1997).

Sitrat testi:

Tüplere yatık agar olarak hazırlanmış Simmons Citrate agar (Oxoid CM0155) besiyerine şüpheli kolonilerden iğne uçlu öze yardımıyla inokulasyonlar yapılarak 37°C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonucunda mavi renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilirken, yeşil renk oluşumu negatif olarak değerlendirildi (Benner, 1984; Koneman ve ark, 1997).

3.2.2. *E. coli* izolatlarının PCR ile identifikasyonu

DNA Ekstraksiyonu

PCR’da kullanılmak üzere *E. coli* izolatlarından total DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemi ile aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

* Şüpheli koloniler nutrient agara ekildi ve 37°C’de 24-48 saat inkübe edildi.

* Koloniler öze yardımı ile toplanarak, 500 µl DNase-RNase free ependorf tüpünde deiyonize su ile süspansiyon edildi ve 100°C’de 10 dk kaynatıldı.

* Daha sonra 10.000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek üstteki sıvı PCR’da hedef DNA olarak kullanılmak üzere saklandı (Çiftci ve ark, 2009).

PCR Amplifikasyonu

PCR identifikasyonunda Abd El-Razik ve ark (2010)’nın kullandıkları protokol modifiye ve optimize edildi. PCR amplifikasyonu 50 µl son hacim içinde gerçekleştirildi. Ekstrakte edilmiş 200 ng DNA, 2 mM MgCl₂, 1X PCR buffer, 1 µM primer, 0,2 mM dNTP ve 2 U Taq polimeraz içeren PCR karışımı hazırlandı. Amplifikasyon koşulları olarak 95°C’de 2 dk ilk denatürasyon, 35 siklus olmak üzere 94°C’de 45 sn denatürasyon, 57°C’de 45sn bağlanma, 72°C’de 45 sn uzama ve son siklustan sonra 72°C’de 10 dk son uzama aşaması olacak şekilde ayarlandı.

Tablo 15. *E. coli* izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu için kullanılan oligonükleotid primerler.

Hedef bakteri	Oligonükleotid primer dizilimi	Bant büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>E. coli</i>	F 5’-GCTTGACACTGAACATTGAG-3’ R 5’-GCACTTATCTCTTCCGCATT-3’	662	Abd El-Razik ve ark. (2010)

Amplikonların Görüntülenmesi

Amplifikasyon ürünleri etidium bromid (2µg/ml) içeren % 1,5’lik agaroz jel elektroforezi sonrasında UV transilluminatör ile görüntülendi.

3.2.3. İzolatların Genotiplendirilmesi

Tüm izolatların ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus)-2 (5’-AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G-3’) primeri kullanılarak RAPD-PCR profillerinin belirlenmesi amaçlandı. RAPD-PCR amplifikasyonu Versalovic ve ark (1991) tarafından bildirilen metodun modifiye edilmesiyle gerçekleştirildi. Bu aşamada deiyonize su, 1XPCR Buffer, 2,5 mM MgCl₂, 200 µM her bir dNTP, 2,5 U Taq DNA polimeraz, 25 pmol primer ve 5 µl template DNA içeren 25 µl’lik PCR karışımı oluşturuldu. Bu karışım 94°C’de 5 dk ön denatürasyonu takiben 94°C’de 1 dk denatürasyon, 40°C’de 1 dk bağlanma, 72°C’de 3 dk uzama olmak üzere 40 siklus ve 72°C’de 7 dk son uzama koşullarında amplifikasyon işlemine

tabi tutuldu. Amplifikasyon ürünleri etidium bromid (2µg/ml) içeren % 1,5'luk agaroz jel elektroforezi sonrasında UV transilluminatör ile görüntülendi. Oluşan RAPD paternlerinin dendrogramları UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) metodu ile Quantity One (BioRad) dendrogram ve görüntü analiz programı kullanılarak çizildi.



4. BULGULAR

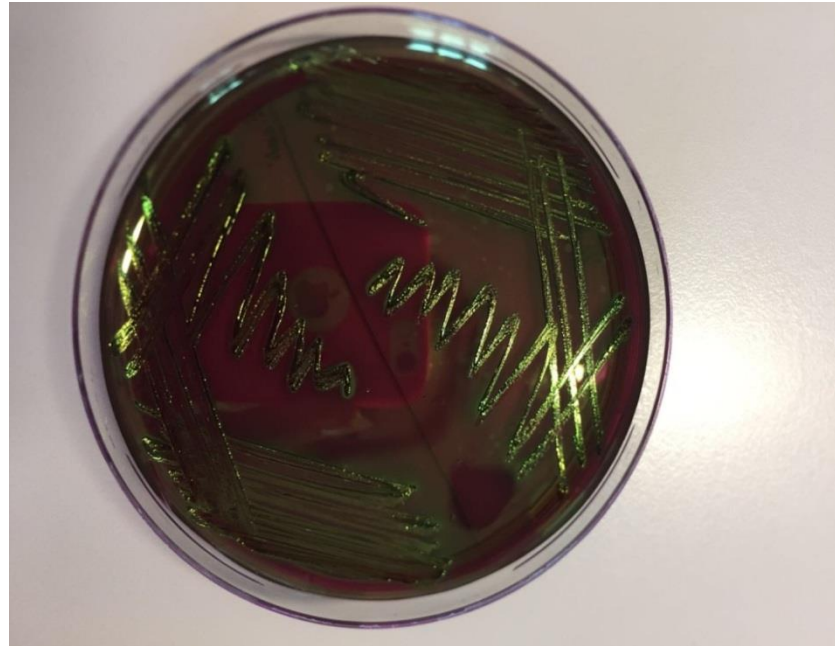
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon bulguları

Çalışmada, Aydın ili ve çevresinde farklı mandıralarda üretilip, mandıra satış noktalarında, marketlerde ve semt pazarlarında satışa sunulan 100 adet taze peynir numunesi incelendi.

Peynir numuneleri koliform bakteri sayısı açısından değerlendirildiğinde 100 adet peynir numunesinin 77 adetinde (% 77) belirlenen dilüsyonlarda üreme saptandı. İncelenen peynir numunelerinin koliform bakteri sayısı sonuçları Tablo 16’da belirtildiği şekildedir. İncelenen peynir numunelerinin 22 adetinde (% 22) *E. coli* varlığı tespit edildi. Pozitif olan numunelerden 44 adet *E. coli* izolatu elde edildi (Aynı peynir örneğinden izole edilen *E. coli* suşları aynı numara ve farklı harflerle kodlanarak gösterildi).

Tablo 16. İncelenen peynir numunelerinin koliform bakteri sayısı sonuçları.

Koliform Bakteri Pozitif Numune Sayısı (77)	Koliform Bakteri Sayısı (log ₁₀ kob/g)		
	Minimum	Maksimum	Ortalama
	2,47	6,54	4,83



Resim 1. *E. coli*'nin EMB Agarda Üremesi

4.2. PCR Bulguları

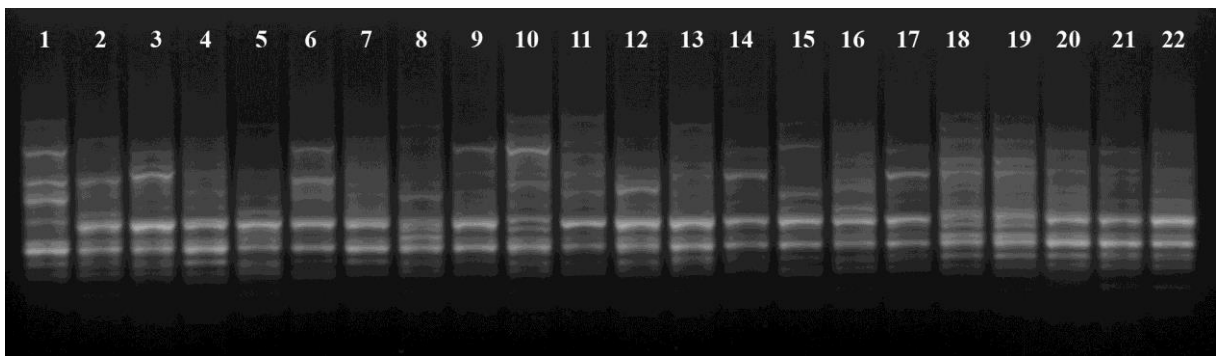
Fenotipik olarak *E. coli* şüpheli izolatların PCR ile analizi sonrasında 44 adet izolatın 662 bp.'lik ürün verdiği görüldü (Resim 2). İncelenen 44 adet izolat da *E. coli* olarak identifiye edildi.



Resim 2. *E. coli* PCR sonuçları. M: marker (100 bp, Fermentas); 1-19: *E. coli* (662 bp), 20: negatif kontrol (*Staphylococcus aureus*).

4.3 Genotiplendirme ve Filogenetik Analiz

E. coli olarak identifiye edilen 44 adet izolatın genotiplendirmesi amacıyla ERIC-2 primeri kullanılarak gerçekleştirilen işlem sonucunda 22 farklı RAPD-PCR profili tespit edildi (Resim 3). Onbir RAPD-PCR profiline tek bir izolat düşerken, diğer 11 profil içinde % 100 düzeyinde homoloji gösteren 2-6 izolat yer aldı.



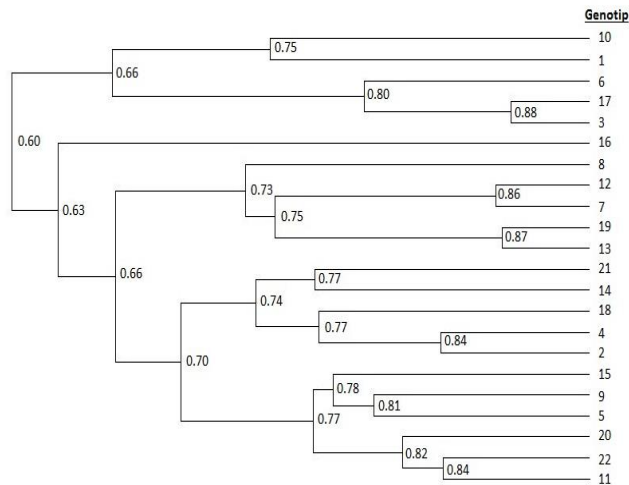
Resim 3. İncelenen *E. coli* izolatlarının RAPD profilleri.

Dendrogramın % 100 eşik değeri belirlenerek yapılan analizi sonucunda izolatların 11 adet tekli genotip ve 11 adet küme oluşturduğu belirlendi. Kümelerin 5 adetinin 2 izolat, 3 adetinin 3 izolat, 2 adetinin 4 izolat ve 1 adetinin de 6 izolattan oluştuğu saptandı (Tablo 17).

Tablo 17. RAPD-PCR sonucunda saptanan genotiplerde yer alan izolatlar ve sayıları.

Genotip	Bakteri no.	n
1	20B3A	1
2	22B3A	1
3	25B2B	1
4	27B2B, 27B2A	2
5	25B3A, 27B3A	2
6	30B3B, 32B3A, 32B3B	3
7	33B2A	1
8	32B3A	1
9	35B3A, 35B3B, 37B2B, 37B3A	4
10	37B3B	1
11	44B3B, 44B4B, 44B3A, 73-3A	4
12	62B3A	1
13	63B3, 68B4	2
14	71-3A, 71-4A, 69-4A	3
15	73-3B	1
16	73-4A	1
17	75-3B, 75-4A, 75-4B, 78-3A, 78-3B, 78-4B	6
18	84-3A, 84-3B	2
19	84-4A	1
20	91-3A	1
21	99-4A,99-4B	2
22	100-3A,100-4A,100-4B	3

RAPD-PCR profillerinin UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) ile yapılan filogenetik analizlerinin sonucu Şekil 1’de gösterilmiştir. Buna göre, belirlenen 22 genotip arasında 0,60-0,88 katsayı (% 60-88) arasında homoloji görüldü.



Şekil 1. İncelenen *E. coli* izolatlarının filogenetik yakınlık analizi sonucunda oluşturulan dendrogram (1 katsayı x 100 = % homoloji).

Çalışmada 7 genotipte (1, 2, 7, 12, 20, 21, 22) sadece birer peynir örneğine ait suşlar yer aldı. Bununla birlikte 7 genotip içinde (5, 6, 9, 11, 13, 14, 17) farklı peynir örneklerinden izole edilen suşlar aynı genotip içinde yer aldı (Tablo 18).

Diğer bir açıdan değerlendirildiğinde 6 peynir örneğinden farklı genotiplerde yer alan farklı suşlar (25.örnek 3.ve 5. genotip, 27.örnek 4. ve 5. genotip, 32. örnek 6. ve 8. genotip, 37. örnek 9. ve 10. genotip, 73. örnek 11., 15. ve 16. genotip, 84. örnek 18. ve 19. genotip) elde edildi (Tablo 18).



Tablo 18. Belirlenen genotiplerin peynir örneklerine dağılımı.

GENOTİP*	PEYNİR ÖRNEK (BAKTERİ No.)																						
	20	22	25	27	30	32	33	35	37	44	62	63	68	69	71	73	75	78	84	91	99	100	
1	+																						
2		+																					
3			+																				
4				+																			
5			+	+																			
6					+	+																	
7							+																
8						+																	
9								+	+														
10									+														
11										+							+						
12											+												
13												+	+										
14														+	+								
15																	+						
16																	+						
17																		+	+				
18																				+			
19																				+			
20																					+		
21																						+	
22																							+

* 7 genotipte sadece birer peynir örneğine ait suşlar yer aldı. 7 genotip içinde farklı örneklerden izole edilen suşlar aynı genotip içinde yer aldı. 6 örnekten farklı genotiplerde yer alan farklı suşlar elde edildi.

5. TARTIŞMA

Beyaz peynir, hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı peynirdir (Türk Gıda Kodeksi, 2015).

İnsanların beslenmesinde önemli bir yere sahip olan ve “çiğ sütlerin veya karışımlarının pastörize edilmesi veya üretim tekniğine göre işlenmesi, üretim aşamasında gerektiğinde katkı maddesi ilavesi ve olgunlaştırılması sonucu elde edilen ürün" şeklinde tanımlanan beyaz peynir, tarihler boyunca ve günümüzde en fazla tüketilen gıda ürünlerindedir (Türk Standartları Enstitüsü, 1995; Tekinşen, 2000).

Ülkemizde çiğ sütün toplam bakteri sayısı fazlalığına bağlı düşük kalitesi, sağım, taşıma, depolama aşamalarında ve işletmelerde, temizlik ve hijyen kurallarına yeterince önem verilmemesi, yeterli olgunlaştırma süresi dolmadan tüketime sunulması sonucu peynirler fekal kontaminasyon, patojen mikroorganizmalarla bulaşma gibi risklere sahiptir (Ergüllü, 1980; Heperkan ve ark, 1994).

Peynir yapımında kullanılan sütte, *Salmonella* spp., *E. coli*, *Listeria monocytogenes* gibi patojen bakteriler bulunmamalı, toplam mezofil aerob mikroorganizma sayısı 1×10^5 kob/ml'den fazla olmamalıdır. Bununla beraber iyi kaliteli, hijyenik peynir elde etmek için etkili pastörizasyon prosedürlerinin uygulanması büyük önem arz etmektedir (Little ve ark, 2008).

Peynir üretiminde meydana gelen kontaminasyonların pek çoğu, pastörizasyon işlemi sonrası oluşmaktadır. Pastörizasyon sonrası aşamalarda, hijyen kurallarının, HACCP uygulamalarının yeterli ölçüde yerine getirilmemesi sonucu peynirde insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek patojen mikroorganizmalar üreyebilmektedir (Nichols ve ark, 1996; Altun, 2011).

Koliform grubu bakterilerin peynirde bulunması, hijyen uygulamalarındaki yetersizliğin, yanlış ya da yetersiz pastörizasyon işlemlerinin, pastörizasyon sonrası bulaşmaların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu gruptaki bakterilerden sadece *E. coli* insan ve sıcakkanlı hayvanların normal barsak florasında bulunan bir bakteri olup, gıdalarda fekal kontaminasyonun göstergesi olarak aranır, kabul edilir ve bundan dolayı da besin hijyeninde indikatör mikroorganizma olarak adlandırılır (Çakır, 2000; Tekinşen ve Tekinşen, 2005).

E. coli, Enterobacteriaceae familyasında, gram negatif, çoğunlukla hareketli, çubuk şeklinde, sporsuz, fakültatif anaerob bir bakteridir. Konakçı hücredeki toksin üretimi, yapışma şekli, etkileri ve yayılması gibi virulens faktörlerine göre 5 tipi bulunmaktadır. Bunlar, Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroinvasiv *E. coli* (EIEC), Enterotoksik *E. coli* (ETEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) ve Enteroaggregative *E. coli* (EAaggEC) olarak sınıflandırılmıştır (Murray ve ark, 1995). *E. coli*, hayvan ve insanların barsak florasında bulunmakta olup, hayvanlarda enterotoksinleri, sentezlediği kolisinler, sitotoksinler gibi çeşitli virulens faktörleriyle üriner sistem, enterik sistem enfeksiyonları, septisemiler gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Emery ve ark, 1992).

İnsan ve hayvanların barsak florasında bulunan *E. coli* o canlı için genellikle zararsız bir bakteri olmakla birlikte, bazı patojenik türleri gıdaları kontamine edebilmektedir. Son yıllarda artış gösteren salgınlarda, her yıl yüzbinlerce insanın etkilendiği, yüzlercesinin de öldüğü saptanmıştır. Bu gıda zehirlenmelerinde kaynak insan veya hayvan dışkıdır. Kontaminasyon yolu oldukça kompleks olabilmekte ve insanlar, hayvanlar, bitkiler ile tüm bunların ekosistemle etkileşimleri kaynak oluşturabilmektedir. Konakçı kaynak, sanitasyon ve hijyen düzeyleri, tarımsal sistemler, gıda üretim yöntemleri, bakterinin epidemiyolojisi üzerine etkili unsurlar olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Kontaminasyonların önlenmesi ve kontrolü, hammadde kaynağı olan hayvansal üretimde, gıda ürünlerinin üretiminde, İyi Tarım Uygulamaları (Good Agricultural Practices:GAP), İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practices:GMP), İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practices:GHP), Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi (Hazard Analysis Critical Control Point:HACCP) gibi multi-disipliner uygulamaların çiftlikten tüketiciye kadar her aşamada yerine getirilmesi ile sağlanabilir (Food and Agriculture Organization, 2011).

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 2014 yılında çiğ süttten yapılmış 60 günlük peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi amaçlı bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada 19 Şubat 2014 ile 3 Kasım 2015 tarihleri arasında 1606 adet peynir örneği toplanmıştır. Toplanan bu örneklerin 473 adetinin (% 29) yerli üretim tarzında üretildiği, 1133 adetinin (% 71) ise uluslararası peynir tiplerinden oluştuğu belirtilmiştir. Yerel peynir örnekleri üretim noktaları, depolar ve satış noktalarından, dış kaynaklı peynir örneklerinin ülkeye giriş noktası olan liman ve benzeri yerlerden, iç piyasaya sunulmadan önceki son kontrol noktalarından toplanmıştır. Uluslararası kaynaklı örneklerin 531 adeti Fransa, 145 adeti İspanya, 137 adeti İtalya kaynaklı, kalan miktarların da Belçika, Bulgaristan, Kanada, Macaristan, Türkiye, Portekiz, Hollanda, Danimarka, Polonya, Almanya, Meksika, Litvanya, İrlanda, İsviçre, Avusturya, İngiltere kaynaklı olduğu

bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, 1606 adet örneğin 87 adetinde *E. coli* saptandığı, bunun çalışmanın bütünündeki kontaminasyon oranının % 5.4'ü olduğu belirtilmiştir. *E. coli* saptanan örneklerden 18 adetinin yerel peynir, 69 adetinin dış kaynaklı peynir olduğu iletilmiştir. Toplam 1606 adet örneğin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 bulunmadığı bildirilmiştir. Araştırmada 1606 örnekten 11 adetinde Shiga toksin üreten *E. coli* saptandığı, bu 11 adet örnekten 1 adetinde de patojenik serotip O111:H8 bulunduğu bildirilmiştir (FDA, 2016a).

MacDonald ve ark (1985), 1983 Eylül'ünde Washington'da benzer gastrointestinal semptomlarla rahatsızlanan, sulu diare, karın krampları, baş ağrısı, ateş, mide bulantısı gibi semptomlar gösteren 45 kişinin ortak noktalarının ithal Fransız peyniri tükettiklerinden hareketle, hastalanan kişilerden ve aynı markalı peynirlerin Illinois, Wisconsin, Georgia ve Colorado'dan toplanan örneklerinden yaptıkları analizler sonucu hastalık etkeni olarak *E. coli* O27:H20 bulduklarını ve bu gıda zehirlenmesinin, yetişkinlerde, birçok eyalette oluşan O27:H20 kaynaklı bildirilen ilk salgın olduğunu bildirmişlerdir.

Madic ve ark (2011), çiğ süttten üretilen peynirlerde, Multiplex Real-Time PCR tekniğini kullanarak, 400 örnekte Shiga toksin üreten *E. coli* taraması yapmışlardır. Bu çalışmada 5 temel patojenik serotip olan O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 ve O157:H7 serotiplerini araştırmışlar, 26 örnekte (% 6,5) bu serotiplerde Shiga Toksin üreten *E. coli* bulduklarını bildirmişlerdir.

Rangel ve ark (2005), *E. coli* O157:H7'nin epidemiyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi için 1982-2002 yılları arasında Amerika'da Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerine bildirilen *E. coli* O157:H7 salgınlarını derlemişlerdir. Bu yıllar arasında 49 eyalette, 8598 adet vakayı kapsayan 350 adet raporda, vakaların 1493 adetinin (% 17) hastanede yatan, 354 adetinin (% 4) Hemolitik Üremik Sendromlu, 40 adetinin de (% 0,5) ölümlü olduğunu belirtmişlerdir. Bu vakalardaki bulaşma yollarının 183 adetinde (% 52) gıda, 50 adetinde (% 14) insandan insana, 31 adetinde (% 9) su, 11 adetinde (% 3) hayvan teması, 1 adetinde (% 0,3) laboratuvar kaynaklı olduğunu, 74 adetinin (% 21) kaynağının ise belirsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Quinto ve Cepeda (1997), yumuşak peynirlerde toksijenik *E. coli* insidensini araştırmak için yaptıkları çalışmada, 221 adet çiğ süttten yapılmış, 75 adet pastörize süttten yapılmış peynir örneklerini analiz ettiklerini, enterotoksijenik, verotoksijenik, nekrotoksijenik *E. coli* serotiplerini çalıştıklarını belirtmişlerdir. Pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde toksijenik *E. coli* izole etmediklerini, çiğ süttten üretilen peynir örneklerinin 3 adetinde (% 1,35) toksijenik *E. coli* saptadıklarını bildirmişlerdir.

Paneto ve ark (2007), Orta-Batı Bezilya'da satılan, çiğ süttten üretilmiş peynirlerde toksijenik *E. coli* varlığını araştırmak için planladıkları çalışmada, farklı marketlerden 50 adet örnek topladıklarını, analiz yöntemi olarak PCR (Polymerase Chain Reaction) tekniğini kullandıklarını bildirmişlerdir. Çalışma sonunda 48 adet (% 96) örnekte *E. coli* saptadıklarını, bunlardan % 6'sının O125, % 4'ünün O111, % 2'sinin O55, % 2'sinin O119 serotiplerinde olduğunu belirtmişlerdir.

Deschenes ve ark (1996), 2000 kişinin yaşadığı Fransa'daki bir yerleşim merkezinde, Mart 1992 ile Mayıs 1993 tarihleri arasında 1 kız ve 3 genç erkekte gözlenen hemolitik üremik sendrom (HUS) vakasına yönelik bir araştırma planlamışlardır. Hastalanan kişilerde, ateş, diare, akut renal yetmezlik, anemi, trombositopeni semptomları gözleendiği, 3 hastada peritonel diyalize başlandığı bildirilmiştir. PCR yöntemi ile yapılan analizler sonucunda, 2 hastanın dışkılarında verotoksijenik (VT2) *E. coli* saptandığı, hastalanan kişilerin yediği çiğ inek ve koyun sütü karışımından yapılmış peynir örneklerinde ve peynirin üretiminin yapıldığı çiftlikteki inek ve koyunların dışkısından da aynı etkenin saptandığını bildirmişlerdir. Bu izolasyonlara rağmen bu çiftlik çalışanlarının dışkı örneklerinde etkene rastlanmadığı da belirtilmiştir.

Little ve ark (2008), İngiltere'de 2004-2005 yılları arasında, 2004/24/EC ve 2005/175/EC no'lu Avrupa Birliği Tavsiyelerinin mikrobiyolojik kriterlerine göre, çiğ, ısıt işlem uygulanmış, pastörize edilmiş sütlerden üretilmiş, taze, olgunlaştırılmış ve yarı sert peynirlerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacı ile bir çalışma yapmışlardır. Çiğ, ısıt işlem uygulanmış süttten üretilmiş peynir örneklerinin (37/1819 örnek) ve pastörize süttten üretilmiş peynir örneklerinin (51/2618), tamamının % 2'sinin yetersiz mikrobiyolojik kalitede olduğunu saptamışlardır. Çiğ, ısıt işlem uygulanmış süttten üretilmiş, yetersiz mikrobiyolojik kalitede olduğu saptanan örneklerde *E. coli* düzeyinin $\geq 10^5$ kob/g, pastörize süttten üretilmiş, yetersiz mikrobiyolojik kalitede olduğu saptanan örneklerde ise *E. coli* düzeylerinin $\geq 10^3$ kob/g olduğunu bildirmişlerdir. Yetersiz mikrobiyolojik kalitede olan örneklerin alındığı yerlerde, tehlike analiz sistemleri uygulamalarının olması gerekenden düşük düzeyde, buralardaki yönetici ve çalışanların gıda hijyeni eğitimlerinin zayıf olduğunu bildirmişlerdir.

Hussein ve Sakuma (2005), insanlarda diareden hemolitik üremik sendroma (HUS) kadar pekçok sporadik vakaya sebep olan Shiga Toksin üreten *E. coli* (STEC) serotiplerinde, ineklerin rolünü inceleyen bir derleme çalışması yapmışlar ve pekçok vakanın inek dışkılarıyla kontamine olmuş süt ürünleri ile ilişkili olduğunu, bu ineklerin STEC kontaminasyonu için potansiyel rezervuar olduklarını, insan sağlığı için önemli risk oluşturduklarını bildirmişlerdir. Dünya çapında yapılan araştırmalarda, inek dışkılarında O157

STEC serotiplerinin bulunma aralığının % 0,2-48,8, O157 olmayan STEC serotiplerinin bulunma aralığının % 0,4-74 olduğunu bildirmişlerdir. İneklerden izole edilen 193 STEC serotipinden 24 adetinin de HUS'lu hastalardan izole edilen serotiplerle aynı olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonucun halk sağlığı için var olan riskleri gösterdiğini, hayvansal kökenli gıdaların güvenliği için uzun dönemli stratejilerin geliştirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Stephan ve ark (2008), İsviçre'de çiğ sütten üretilen peynirlerde STEC varlığını, serotiplerini saptamak amacıyla planladıkları araştırmada, ülke genelindeki üreticilerden Mart 2006-Aralık 2007 tarihleri arasında 796 adet örnek topladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, 2006 yılında toplanan 432 örnekten 16 adetinde (% 3,7), 2007 yılında toplanan 364 örnekten 23 adetinde (% 6,3) STEC saptadıklarını belirtmişlerdir.

Ahmed ve ark (1988), Mısır'da üretilen taze peynirlerde (Damietta ve Kareish) fekal koliform ve enteropatojenik *E. coli* varlığını araştırmak amacı ile 100 adet örnek topladıklarını, Damietta peynir örneklerinin % 2'sinde *E. coli* düzeyinin $\geq 10^3$ kob/g, Kareish peynir örneklerinin % 84'ünde *E. coli* düzeyinin $10-10^3$ kob/g olduğunu bildirmişlerdir. *E. coli* saptanan 46 adet Damietta ve Kareish peynir örneklerinin 15 adetinin O125:B15, O25:K11, O128:B12, O126:B16 ve O111:B4 enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir.

Ladan ve Reza (2006), İran yerel taze peynirlerinde enteropatojenik *E. coli* (EPEC) kontaminasyon varlığını araştırmak amacıyla güney-batı İran, Kerman bölgesindeki satış noktalarından 77 adet örnek topladıklarını bildirmişlerdir. Topladıkları 77 adet örnekten 76 adetinde (% 98,70) *E. coli* izole ettiklerini, bunlardan 15 adetinde de (% 19,48) enteropatojenik *E. coli* (EPEC) saptadıklarını bildirmişlerdir. O127 serotipinin en yoğun bulunan serotip olduğunu, bunu O128 ve O119 serotiplerinin takip ettiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar saptadıkları yüksek düzeydeki kontaminasyon oranlarının, sanitasyon uygulama yetersizlikleri ve üretimde pastörize süt kullanılmaması ile ilişkili olabileceğini, hijyen kontrollerinin yeterince uygulanması ve üretimde pastörize süt kullanılmasının, insanlarda gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilen *E. coli* ile peynirlerin kontaminasyonunun önlenebileceğini bildirmişlerdir.

Martina ve ark (2009), mikrobiyolojik kalite açısından, sanayi tipi üretime göre daha riskli olarak görülen çiftlik yapımı peynirlerin mikrobiyolojik kalitelerini araştırmak amacıyla, İrlanda'da 15 peynir üreticisinden, 1 yıl boyunca her ay olmak üzere, toplam 351 adet örnek topladıklarını belirtmişlerdir. Yaptıkları araştırma sonucunda, örneklerde saptanan *E. coli* düzeyinin Avrupa Birliği limitlerinde olduğunu, bu sonuçlara göre de İrlanda'da çiftlik üretimi peynirlerin yüksek mikrobiyolojik kaliteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Afyonkarahisar'da tüketime sunulan çiğ süt ve peynirlerde *E. coli* O157:H7 varlığının belirlenmesi amaçlı bir çalışmada, semt pazarlarından toplanılan 100 adet beyaz peynir örneğinden 1 adetinde (% 1) *E. coli* O157:H7 izole edilmiş olup , bunun halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike olduğu bildirilmiştir (Akkaya ve ark, 2007).

Tekinşen ve Özdemir (2006), Van otlı peynirinde gıda kaynaklı patojenlerin varlığını araştırmışlar, bu amaçla olgunlaşmamış 50 adet peynir örneği topladıklarını belirtmişlerdir. Araştırma sonucunda, 31 adet (% 62) örnekte *E. coli* izole ettiklerini, kontaminasyon düzeyinin 3,68 log kob/g olduğunu, *E. coli* O157:H7 izole edilmediğini, bu sonuçların Van otlı peynirinin, halk sağlığı açısından potansiyel tehlike olduğunu gösterdiğini, peynir üretim tekniklerinde sanitasyon uygulamalarının yeterli düzeyde uygulanmasının gerekliliğini bildirmişlerdir.

Keskin ve ark (2006), semt pazarlarında satılan beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması amaçlı planladıkları çalışmada, İstanbul Üsküdar Belediyesine bağlı 20 semt pazarındaki 50 beyaz peynir satıcısından, 2004 yılı Ocak-Mart aylarında peynir örnekleri aldıklarını, örneklerin % 96'sında koliform bakteri, % 86'sında *E. coli* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu sonucun, bu satış noktalarındaki peynirlerin sağlığı tehdit edici düzeyde mikrobiyal kirliliğe sahip olduğunu, gıda mevzuatı yönetmeliklerine uygun olmadığını, üreticiden tüketiciye herkesin bilinçlendirilmesi gerekliliğini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Evrensel ve ark (2003), mandıra düzeyindeki işletmelerde beyaz peynir üretiminde kritik kontrol noktalarının belirlenmesi amacı ile planladıkları çalışmada, Bursa'da faaliyet gösteren bir mandıradan değişik zamanlarda, haber vermeksizin 10 defa giderek, sütün işletmeye kabulünden, üretimi yapılmış peynirlerin tenekelere konulup, soğuk depoda muhafazaya alınmasına kadarki her üretim aşamasından numuneler aldıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, işletmeye gelen çiğ sütün bulunduğu güğüm ve depolandığı tanktan aldıkları numunelerde, 10^5 - 10^6 kob/ml düzeyinde koliform bakteri izole ettiklerini bildirmişlerdir. Pastörize edilip, mayalama sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra tekne içinde toplanan süttten aldıkları numunelerde 10^2 - 10^4 kob/ml düzeyinde koliform bakteri izole ettiklerini belirtmişlerdir. Salamurada bir gece bekletilen peynir örneklerinde 10^5 - 10^7 kob/g düzeyinde koliform bakteri, $2,6 \times 10^6$ kob/g düzeyinde *E. coli* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, peynir teknelerinde $1,2 \times 10^6$ kob/cm² koliform bakteri, $1,1 \times 10^5$ kob/cm² *E. coli*, peynir teknesine serilen muşambalarda $2,1 \times 10^7$ kob/cm² koliform bakteri, $<1,0 \times 10^1$ kob/cm² *E. coli*, cendere bezlerinde $7,0 \times 10^4$ kob/cm² koliform bakteri, $2,6 \times 10^4$ kob/cm² *E. coli*, kesme bıçaklarında $3,3 \times 10^5$ kob/cm² koliform bakteri, $<1,0 \times 10^1$ kob/cm² *E. coli*, tahta kalıplarda

1,8x10¹ kob/cm² koliform bakteri, <1,0x10¹kob/cm² *E. coli*, tenekelerde <1,0x10¹ koliform bakteri, <1,0x10¹ kob/cm² *E. coli*, işçilerin ellerinde 2,0x10⁴ kob/ml koliform bakteri, <1,0x10¹ kob/ml *E. coli* saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, çiğ süt güğümlerinde 1,4x10⁷ kob/ml, çiğ süt tanklarında 4,4x10⁶ kob/ml koliform bakteri saptadıklarını, pastörizasyon sonrası ise koliform bakteri miktarını <1,0x10¹kob/ml düzeyinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çiğ süt güğümlerinde 2,0x10⁶ kob/ml, çiğ süt tanklarında 1,5x10⁵ kob/ml düzeylerinde saptadıkları *E. coli* düzeylerini, pastörizasyon sonrası <1,0x10¹ kob/ml düzeyinde bulduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, düşük mikrobiyolojik kalitedeki çiğ süttten elde edilen pastörize süttün de kalitesinin olumsuz yönde etkilendiğini, gıda işletmelerinde çalışan personelin hijyen konusunda eğitilmesi gerektiğini, alet ve ekipman temizlik ve dezenfeksiyonuna dikkat edilmesinin önemli olduğunu, salamuranın her parti peynir için yeniden hazırlanmasının gerekli olduğunu, starter kültürlerin steril odalarda, uzman kişiler tarafından hazırlanmasının önemli bir detay olduğunu, işletme pencerelerinde pozitif hava filtrelerinin olması gerektiğini vurgulamışlardır.

Kaynar ve ark (2005), Ankara piyasasında tüketime sunulan beyaz peynirlerin hijyenik kalitelerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları araştırmada, Ankara ili Ulus semtindeki marketlerden 30 adet peynir örneği aldıklarını, 21 adet örnekte koliform grubu bakteri izole ettiklerini, bu örneklerin 18 adetinde de 7,3x10¹-2,4x10² kob/g düzeyinde fekal koliform ve *E. coli* saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, beyaz peynir üretiminde hijyen kurallarına yeterince uyulmamasının, mikrobiyolojik kaliteyi olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir

Doğan ve ark (2001) çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform, *E. coli* varlığının araştırılması amaçlı yaptıkları çalışmada, topladıkları 97 adet peynir numunesinin % 78,4'ünde koliform bakteri, % 75,3'ünde fekal koliform, % 72,2'sinde *E. coli* izole ettiklerini, izole ettikleri koliform bakteri düzeyinin 1,8x10⁴ EMS/g, fekal koliform düzeyinin 1,7x10⁴ EMS/g, *E. coli* düzeyini 1,2x10⁴ EMS/g olduğunu, toplam 97 adet örneğin yalnızca 21 adetinde koliform bakteriye rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Bingöl ve ark (2012), İstanbul'da satılan peynirlerde enterotoksin ve verotoksin varlığının araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada, topladıkları 150 adet peynir numunesinden 55 adetinde (% 36,66) *E. coli* izole ettiklerini, 3 peynir örneğinde *E. coli* O157 saptadıklarını, hiçbir peynir örneğinde O157:H7 izole edilmediğini bildirmişlerdir. *E. coli* O157 izole edilen peynir örneklerinin verotoksin pozitif olduğunu belirtmişlerdir. Toplam 150 peynir örneğinin 25 adetinin de enterotoksin pozitif olduğunu, peynir örneklerinde bulunan mikroorganizma düzeylerinin hastalık oluşturabilecek oranda olmamasına rağmen, toksinlerin bulunmasının halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini bildirmişlerdir.

Yetişmeyen ve Yıldız (2003), Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal, duyuşal niteliklerinin saptamak amacıyla, Ankara ilinde satılan Urfa peynirlerinden 30 adet örnek topladıklarını, $3,5 \times 10^6$ EMS/g düzeyinde koliform bakteri, $1,1 \times 10^6$ EMS/g düzeyinde *E. coli* izole ettiklerini, toplanan 30 adet peynir örneğinin 11 adetinde *E. coli* izole edilmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bu bulgulara dayanarak, Urfa peynirlerinin standart bir kalite olmadığını, üretim ve pazarlama aşamalarında hijyen kurallarına uyulmadığını anlaşıldığını belirtmişlerdir.

Arslan ve Özdemir (2013), Türk ev yapımı beyaz peynirlerde *E. coli* O157'nin araştırılması amacıyla Bolu ilindeki açık halk pazarlarından, çiğ süttten ya da yetersiz pastörizasyon işlemi uygulanmış sütlerden üretilmiş, ev yapımı 245 adet beyaz peynir örneği topladıklarını belirtmişlerdir. Toplam 245 adet peynir örneğinin 21 adetinde (% 9,4) *E. coli* izole ettiklerini, hiçbir peynir örneğinde *E. coli* O157 izole edilmediğini, elde edilen bulguların sevindirici olduğunu bildirmişlerdir.

Gümüşsoy ve Gönülalan (2005), Kayseri ilinde köy pazarlarında satılan taze peynirlerde enterohemorajik *E. coli* O157:H7 suşunun araştırılması amacıyla, köy pazarlarından 100 adet taze peynir örneği topladıklarını, 58 adet taze peynir örneğinde fekal *E. coli*, $2,2 \times 10^1$ KMS/100g düzeyinde koliform bakteri izole ettiklerini, *E. coli* O157:H7 izole edilmediğini, *E. coli* O157:H7 izole edilmemesine rağmen, koliform ve fekal koliform gibi hijyen indikatörü mikroorganizma düzeylerinin kriterlerin üzerinde olduğunu ve tüketici açısından risk oluşturabileceğini bildirmişlerdir.

Mangia-Regua ve ark (2008), *E. coli* izolatlarının klonal ilişkisini ve genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla hareketsiz O157 variantı ile 3 adet O157:H7 EHEC izolatı ve 1 adet O55:H7 EPEC suşunun karşılaştırılmasını içeren bir çalışma planlamışlardır. *E. coli* O157:H7 suşlarından EDL933 ve B1/1'i sorbitol (-), diğer tüm çalışılan izolatları, O157:H7 serotip suşu GC148 dahil olmak üzere sorbitol (+) olarak saptamışlardır. Stx₁ ve stx₂ gen sekanslarının varlığını yalnızca O157:H7 izolatlarında bulduklarını belirtmişlerdir. B1/1 suşlarının yalnızca stx₂ genine sahip olduğunu saptamışlardır. HB101, O55:H7, O157:H- izolatlarının stx (-) olduğunu bildirmişlerdir. *E. coli* suşlarının benzerliğinin anlaşılması için zymovar analizleri yapıldığı, bu testler sonucu A ve B olarak 2 ana küme oluştuğu, A kümesinin ET1(O55:H7), ET2(O157:H7;B1/1), ET3(O157:H7;EDL933), B kümesinin ET4(O157:H-;116I), ET5(O157:H7;GC148) suşlarından oluştuğu belirtilmiştir. C kümesi olarak da tek izolat, tüm diğerlerinin sahip olduğu virulens faktörlerinden yoksun K12(HB101) belirtilmiştir. Tüm bu değerlendirmeler sonrası izolatlara 1254 (CCGCAGCCAA), 1253(GTTTCCGCCC), 1290(GTGGATGCGA), 1247(AAGAGCCCGT)

primerleri kullanılarak RAPD-PCR uygulanmış ve Molecular Analyst Fingerprint Plus Software (Bio-Rad) programı kullanılarak benzerlik dendrogramları oluşturulmuştur. ET2 ile ET4 arasında % 54, ET3 ile ET5 arasında % 72 benzerlik saptanmıştır. Diyareli bir çocuktan izole edilen, testlerle EPEC olarak tanımlanmış ET4 suşunun EHEC olarak tanımlanmış ET2 ile ilişkisi, benzerliği ortaya konulmuştur.

Bakteriyel izolatların moleküler olarak tiplendirilmesi kromozomal DNA yapısındaki varyasyonlara bağlı olarak yapılmaktadır (Goh ve ark, 1992; Carter ve ark, 2003). Moleküler tiplendirme sistemlerinin konvansiyonel metotlara göre yüksek performans göstermesi ve kolay uygulanabilirliği gibi birçok avantajı bildirilmiştir (Frenay ve ark, 1996). Moleküler tiplendirme yöntemlerinden Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) “altın standart” olarak kabul görmesine rağmen, PCR tabanlı yöntemler daha çabuk sonuç vermesi, kolaylığı ve ekonomik olması nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır (Sabat ve ark, 2006). PCR tabanlı metotlardan bir tanesi de RAPD-PCR’dir. RAPD tiplendirmesi rastlantısal olarak DNA’ya bağlanan primerler ve değişken reaksiyon koşullarında DNA’yı kısa bölümler halinde çoğaltma esasına dayanan bir tiplendirme metodudur. Bu metot izolatlar arasında genetik yakınlıkları belirlemek için sıklıkla kullanılmaktadır. Oluşan amplikonların primerin bağlandığı bölgelere bağlı olarak bakteri türlerinin karşılaştırmasının yapılmasını sağlamaktadır (Wassenaar ve Newell, 2000; Boxall, 2005).

Gelişmiş olan ülkelerde taze peynirlerde *E. coli* varlığının, düzeylerinin saptanması amacı ile yapılan çalışmalarla ilgili incelenen makalelerdeki bulgulara göre, araştırmacılar taze peynirlerde % 5-% 6,5 düzeylerinde *E. coli* saptadıklarını, elde edilen (FDA, 2016a; Madic ve ark, 2011) bu sonuçların bir kısmının insanlarda oluşan salgınlarla ilişkilerinin belirlendiğini bildirmişlerdir. *E. coli* saptanma oranlarının halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturduğunu, hammadde eldesinin, üretim aşamalarının, özellikle pastörizasyon işleminin önemli olduğunu bildirmişlerdir. Hammadde eldesinden, hayvan sağlığına, üretim aşamalarından tüketiciye sunum aşamalarına kadar her noktadaki iyi hijyen uygulamalarının ve HACCP kriterlerinin uygulanmasındaki eksikliklerin giderilmesinin ve ilgili kişilerin eğitiminin önemini vurgulamışlardır. Bu çalışmada taze peynir örneklerinde % 22 düzeyinde *E. coli* izole edilmiş olup, bu düzeyin gelişmiş olan ülkelerdeki saptanan düzeylere göre oldukça yüksek olduğu belirlendi. Bu sonuç, taze peynirlerde hijyen probleminin olduğunu ve elde edilen *E. coli* prevalansının halk sağlığı açısından önemli risk oluşturabileceğini gösterdi. Bu konuda etkin çalışma ve eğitimlerin yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Gelişmekte olan ülkelerde taze peynirlerde *E. coli* varlığının, düzeylerinin saptanması amacı ile yapılan çalışmalarla ilgili incelenen makalelerdeki bulgulara göre, araştırmacılar % 46-% 98 (Ahmed ve ark, 1988; Ladan ve Reza, 2006) düzeylerinde *E. coli* saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu saptanan düzeyler çalışmamızda saptadığımız % 22 *E. coli* düzeyinin oldukça üzerindedir. Bu sonuç, gelişmekte olan ülkelere göre peynir hijyeni ve teknolojisi açısından daha iyi bir noktada olduğumuzu göstermektedir.

Ülkemizde taze peynirlerde *E. coli* varlığının, düzeylerinin saptanması amacı ile yapılan çalışmalarla ilgili incelenen makalelerdeki bulgulara göre, Bolu ilinde yapılan çalışmada *E. coli* düzeyi % 9,4 olarak bildirilmiş (Arslan ve Özdemir, 2013), diğer çalışmalarda ise % 36 - % 86 düzeylerinde *E. coli* saptandığı bildirilmiştir (Bingöl ve ark, 2012; Keskin ve ark, 2006). İncelenen makalelerdeki çalışmaların yapıldığı iller ve sonuçlar karşılaştırıldığında, illerin coğrafi konumunun, ekonomik gelişmişliğinin saptanan *E. coli* düzeyleri üzerinde etkisinin olmadığı gözlemlendi. Bu çalışmada saptanan % 22 *E. coli* düzeyinin, ülkemizdeki sonuçlara göre düşük olduğu belirlenmiş ancak halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturabilecek düzeyde olduğu saptanmıştır.

Bu çalışma ile ilk kez Aydın ilinde taze peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının filogenetik analizleri yapıldı. İzole edilen *E. coli* izolatlarının RAPD-PCR ile genotiplendirilmeleri ve filogenetik yakınlık analizleri sonucunda izolatların 22 farklı genotipe sahip olduğu ve bu genotiplerin % 60-88 arasında benzerliklere sahip oldukları belirlendi. Dendrogramın değerlendirilmesi ile izolatların 11 adet tekli genotip, 11 adet küme içerisinde yer aldığı saptandı. Kümelerin 5 adetinin 2 izolat, 3 adetinin 3 izolat, 2 adetinin 4 izolat ve 1 adetinin de 6 izolattan oluştuğu görüldü. Halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturan *E. coli*'nin peynirlere bulaşma yollarının ve aşamalarının çok çeşitliliği, bu çalışmada 22 farklı genotip saptanması ile ortaya konuldu. RAPD-PCR sonucunda % 60-88 arasında benzerlik gösteren 22 farklı genotip tespit edilmesi bölgedeki peynirlerde bulunan *E. coli* suşlarının ekolojik çeşitliliğini gösterdi. Bu çeşitlilik *E. coli*'nin peynirlere bulaşma yollarının farklılığından kaynaklanabileceğini düşündürdü. Bu ekolojik çeşitlilik de halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturan *E. coli*'nin peynirlere bulaşma yollarının ve aşamalarının daha net saptanması ve kritik kontrol noktalarının daha etkin şekilde belirlenmesinin gerekliliğini göstermektedir.

Bu çalışma ile ortaya koyduğumuz sonuçlar, bölgemizdeki farklı satış noktalarından tüketime sunulan taze peynirlerde varlığı tespit edilen *E. coli* suşlarının farklı genotiplere sahip olduğunu gösterdi. Ayrıca aynı peynir örneğinde farklı genotiplere ait *E. coli* suşlarının bulunabileceği anlaşılmıştır. Genotiplerdeki bu farklılığın bulaşma yollarının çeşitliliğinden

kaynaklandığı düşünölmüştür. Halk sağlığı açısından önemli risk oluşturan bu durum, peynir yapımının her aşamasında olası kontaminasyon kaynaklarının genotiplendirme çalışmalarıyla incelenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Yapılan bu tez çalışması sonuçlarının bölgesel ve ulusal düzeyde yapılacak olan araştırmalara öncülük edeceği düşünölmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Aydın ili ve çevresinde, farklı mandıra ve süt işletmelerinde üretilmiş, mandıra satış yerleri, marketler, semt pazarlarında satışa sunulmuş taze peynirlerden 100 adet örnek toplanmış, bu örnekler koliform bakteri, *E. coli* yönünden incelenmiş, elde edilen *E. coli* izolatlarının genotiplendirilmesi yapılmıştır.

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan peynirin, insan ve bazı memelilerin barsak florasında bulunan ve burada zararsız olarak kabul edilse de, bazı tipleri gerek barsakta gerekse barsak dışı ortamlarda insanlarda hastalık oluşturabilen ve fekal kontaminasyon açısından indikatör mikroorganizma olarak kabul edilen *E. coli* ile kontamine olmasının halk sağlığı açısından oluşturduğu tehlikeler, üzerinde durulması, araştırılması gereken önemli bir konudur.

E. coli'nin insanlar için patojen olduğu ve dünyada letal etkili bir çok salgına yol açtığı göz önüne alınırsa, sığır işletmelerinden başlayarak gıda üretim yerlerinde, hammaddeden son ürüne kadar genel hijyen kurallarının uygulanması ve çapraz kontaminasyonu önleyici tedbirlerin alınması oldukça önemlidir.

Peynirin *E. coli* ile kontaminasyonunda, toplumların gelişmişliği, eğitim ve kültür düzeyi önemli bir etkidir. Peynirin üretiminden, tüketimine kadar, ahır, meme, personel hijyeni, sütün muhafaza ve soğutma aşamalarının hijyeni, taşıma şartlarının hijyeni, peynir yapım aşamalarının hijyeni ve satış noktalarındaki hijyeni sağlamanın en temel şartı, hijyen, sanitasyon konusunda eğitilmiş ve bilinçli kişilerin, her aşamada belirlenmiş HACCP kurallarına uygun şekilde görevlerini yapmasıyla mümkün olup, bu şekilde *E. coli* kontaminasyonlarını azaltmak mümkündür. Bu amaçla, her aşamadaki ilgili kişi ve personele devamlılığı olan programlar şeklinde halk sağlığı, çevre sağlığı, HACCP, sanitasyon, hijyen ve mesleki eğitimler düzenli olarak verilmeli, her aşamada kontroller ve denetimler aksatılmadan uzman kişilerce yapılmalı, aksaklık ve eksiklikler yerinde tespit edilerek gerekli tedbirlerin alınması sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Razik KA, Abderrahman KA, Ahmed YF, Gomaa AM, Eldebaky HA.** Direct Identification of Major Pathogens of the Bubaline Subclinical Mastitis in Egypt using PCR. *Journal of American Science* 2010, 6(10), 652-660.
- Abdullah N, Davies R.** Growth and Toxin Production of Enterotoxigenic *E. coli*(ETEC) in the Presence of Sodium Chloride. *Journal of Applied Microbiology* 1999, 87(1), 15.
- Ahmed AH, Ahmed SH, Moustafa K.** Occurrence of Fecal Coliforms and Enteropathogenic *Escherichia coli*(EEC) in Egyptian Soft Cheese. *Journal of Food Production* 1988, 51 (6), 442-444.
- Akkaya L, Alisharli M, Kara R, Telli R.** Afyonkarahisar’da Tüketime Sunulan Çiğ Süt ve Peynirlerde *E. coli* O157:H7 Varlığının Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2007, 18(1), 1-5.
- Aksoydan M.** Beyaz Peynir İşlenen Sütlerde Protein-Yağ Oranlarının ve Olgunlaşmanın Peynirde Kalite ve Randımana Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana 1996.
- Altun İ.** Süt ve Süt ürünlerinde HACCP uygulaması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2011, 1(2), 63-67.
- Arslan S, Özdemir F.** Investigation of *Escherichia coli* O157 in Turkish homemade White cheese. *Istanbul University Faculty of Science Journal of Biology* 2013, 72(1), 45-51.
- Ataseven YZ, Gülaç NZ.** Durum ve Tahmin. Süt ve Süt Ürünleri. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, TEPGE yayın no:233 2014, 1-16.
- Ayhan K.** Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar ve Bulaşma Kaynakları. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, 2000, 2.bölüm, 1.kısım, 522.
- Benner DJ.** Bergey’s manual of systemic bacteriology. Editors, NR Krieg and JG Holt, Maryland, 1984, USA.
- Bilgehan H.** Klinik Mikrobiyoloji, 9. Baskı, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, 1996, İzmir, 5-15.
- Bingöl BE, Çetin Ö, Çolak H, Hampikyan H.** Presence of enterotoxin and verotoxin in Turkish cheeses sold in İstanbul. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2012, 36(4), 424-432.

- Boxall N.** The epidemiology of *Campylobacter jejuni* in commercial broiler flocks in New Zealand. PhD Thesis at Massey University, Palmerston North, 2005, New Zealand.
- Carter PE, Begbie K, Thomson FM.** Coagulase gene variants associated with distinct populations of *Staphylococcus aureus*. *Epidemiology and Infection* 2003, 130, 207–219.
- Çakır İ.** Koliform Grup Bakteriler ve *E. coli*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaacılık, 2000, 522.
- Çelik HT, Can YH.** Detection of the enterotoxigenic and antimicrobial resistant of *S.aureus* in Turkish cheeses. *Food Control* 2012, 24(1-2), 100-103.
- Çiftci A, Fındık A, Onuk EE, Savasan S.** Detection of methicillin resistance and slime factor production of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology* 2009, 40, 254-261.
- Demirci M.** Ülkemizin Önemli Peynir Çeşitlerinin Mineral Madde ve Kalori Değerleri. *Gıda* 1988, 13, 1.
- Deschenes G, Casenave C, Grimont F, Desenclos JC, Benoit S, Collin M, Baron S, Mariani P, Grimont PA, Nivet H.** Cluster of cases haemolytic uraemic syndrome due to unpasteurized cheese. *Pediatric Nephrology* 1996, 10(2), 203-205.
- Doğan BH, Çakır İ, Keven F, Coşansu S, Kıral N, Dağar İT, Gürsu G, Halkman KA** Çeşitli Gıdalarda Koliform, Fekal Koliform ve *E. coli* Varlığı. *Gıda* 2001, 6(2), 83-90.
- Donnenberg MS, Nataro JP.** The Molecular Pathogenesis of *Escherichia coli* infections. *Microbial Foodborne Diseases, Mechanism of Pathogenesis and Toxin Synthesis*. Eds. JW Cary, J Linz, D. Bhatnagar. Technomic Publishing Co Inc., Pennsylvania 2000, 550.
- Dufty G, Whiting R, Sheridan J.** The Effect of Competitive Microflora, pH and temperature on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology* 1999, 16, 299-307.
- Ekici K, İşleyici Ö, Sağun E.** Süt ve Süt Ürünlerinde *Listeria monocytogenes* Varlığı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004, 15(1-2), 97-101.
- El Nahas A, Mohamed HA, El Barbery HA, Mohamed HS.** Incidence of *E. coli* in raw milk and its products. *Benha Veterinary Medical Journal* 2015, 29(1), 112-117.
- Emery DA, Nagaraja KV, Shaw DP, Newman JA, Eells DG.** Virulens factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemic chickens and turkeys. *Avian Diseases* 1992, 36, 504-511.
- Ergüllü E.** Beyaz peynirlerin olgunlaşması sırasında mikrofloranın, özellikle gaz yapan bakterilerin değişimi üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 1980, s.21.

- Ergüllü E.** Koliform grubu bakteriler ve peynir teknolojisindeki zararlı etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 1983, 20(2), 93-99.
- Erol İ.** Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara 2007.
- Evrensel SS, Temelli S, Anar Ş.** Mandıra Düzeyindeki İşletmelerde Kritik Kontrol Noktalarının Belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science* 2003, 27, 29-35.
- Farber JM.** *Listeria monocytogenes*. *Journal of AOAC International* 1991, 74(4), 701-704.
- Food and Agriculture Organisation (FAO).** Preventing *E. coli* in Food, 2011, 231.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations.** Alimentarius. International Food Standards. Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene, 2003, CAC/RCP 1-1969, Rev. 4.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations.** Code of Hygienic Practice for milk and milk products, 2004, CAC/RCP 57.
- Food and Drug Administration (FDA).** FY 2014-2016 Microbiological Sampling Assigment. Summary Report: Raw Milk Cheese Aged 60 days. Office of Complience, Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2016a.
- Food and Drug Administration (FDA).** Diarrheagenic *Escherichia coli*. Authors: Peter Feng, Stephen D. Weagent, Karen Jinneman. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 4A, 2016b.
- Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH.** Fundamentals of Cheese Science 1st ed. Gaithersburg, Aspen Publishers, 2000, 19-44.
- Frenay HME, Bunschoten AE, Schouls LM.** Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of *protein A* gene polymorphism. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 1996, 15, 60–64.
- Goh SH, Byrne SK, Zhang JL, Chow AW.** Molecular typing of *Staphylococcus aureus* on the basis of coagulase gene polymorphisms. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30, 1642–1645.
- Gülaç NZ.** Durum ve Tahmin, Süt ve Süt Ürünleri. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, TEPGE yayın no:256 2015, 15.
- Gümüşsoy FG, Gönülalan Z.** Kayseri ilinde Köy Pazarlarında Satılan Taze Peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Suşunun Araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2005, 14(1), 13-19.
- Halkman KA.** Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık, Ankara, 2005, 141-182.

- Halkman KA.** Gıda Mühendisliği II. Ders Notları, Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 2013, 24-31.
- Hayaloğlu AA, Güven M, Fox PF.** Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal* 2002, 12, 635-648.
- Headrick ML, Korangy S, Bean NH, Angula FJ, Altekruse SF, Potter ME, Klontz KC.** The epidemiology of raw milk associated foodborne disease outbreaks reported in the United States through 1992. *American Journal of Public Health* 1998, 88, 1219-1221.
- Heperkan D, Sarıyar L, Aytekin A.** Peynirlerde *Escherichia coli* Gelişmesi ve Hijyenin Önemi. *Animal* 1994, 9, 87-95.
- Hussein HS, Sakuma T.** Invited review: Prevalence of Shiga Toksin Producing *Escherichia coli* in Dairy Cattle and their Products. *Journal of Dairy Science* 2005, 88(2), 450-455.
- Kaper JB, Natro JP, Mobely HLT.** Pathogenic *E. coli* Natural. Review. *Microbiology* 2004, 2, 123-140.
- Kaynar Z, Kaynar P, Koçak C.** Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Hijyenik Kalitelerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi* 2005, 62(1,2,3), 1-10.
- Keskin Y, Özyaral O, Başkaya R, Susur M.** Semt pazarlarında satılan beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2006, 36, 9-19.
- Kıvanç M.** Peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanımlanması. *Gıda Dergisi* 1990, 15(2), 93-99.
- Koçak C.** Mayalama teknikleri ve pıhtı işleme. Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları, 1994, 91-102.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Srechenberger PC, Winn WC.** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 1997, Pennsylvania, USA.
- Kousta M, Mataragos M, Skandomis P, Drosinos EH.** Prevalance and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control* 2010, 21(6), 808-815.
- Küçüköner E.** Peynir ve yoğurt oluşum mekanizması. Gıda Katkı Maddeleri: Sorun ve Çözüm Önerileri. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 28, 2011, Ankara.
- Ladan NM, Reza G.** A study on enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from domestic Iranian soft cheese. *The Journal of Veterinarski Arhiv* 2006, 76, 531-536.

- Little CL, Rhoadesa JR, Sagooa SK, Harrisa J, Greenwood M, Mithania V, Grantak, McLauchlina J.** Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology* 2008, 25, 304-312.
- MacDonald LK, Eidson M, Strohmeyer C, Levy EM, Wells GJ, Puhr DN, Wachsmuth K, Hargrett TN, Cohen LM.** A multistate outbreak of gastrointestinal illness caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in imported semisoft cheese. *The Journal of Infection Diseases* 151(4), 1985, 716-720.
- Madic J, Vingadassalon N, Garam P, Marault M, Sceutz F, Brugere H, Jamet E, Auvrey F.** Detection of Shiga Toxin Producing *Escherichia coli* Serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 and O157:H7 in Raw Milk Cheeses by Using Multiplex Real-Time PCR. *Applied and Environmental Microbiology* Mar. 2011, 2035-2041.
- Mangia-Regua AH, Androde JRC, Gonzalez AGM, Zahver V, Cerqueira AMF, Teixeira LM.** Genetic relatedness of a non-motile variant O157 enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) strain and *E. coli* strains belonging to pathogenic related groups. *Microbiology Research* 2008, 163(2), 225-23.
- Martina OB, Karen H, Sara McS, Kieran J.** Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. *Food Microbiology* 2009, 26(8), 910-914.
- Morgan D, Newman CP, Hutchinson DN, Walker AM, Rowe B, Majid F.** Verotoxin producing *Escherichia coli* O157 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiology and Infection* 1993, 111, 181-187.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover R.H.** Manual of Clinical Microbiology. In: Gray L.D., eds. *Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia*. ASM press, 1995, Washington DC., 450-452.
- Nichols G, Greenwood MH, Louvis J.** The microbiological quality of soft cheese. *PHLS Microbiology Digest* 1996, 13, 68-75.
- Özkaya D, Gün F, Anadol İ.** Anadolu'da Peynir Kültürü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu. 2015/01, 485-505.
- Özkaya FD.** Salmonella. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Kitabı. 2. Baskı, Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 2000.
- Paneto BR, Hurrino SRP, Macedo C, Santo E, Marin JM.** Occurrence of toxigenic *Escherichia coli* in raw milk cheese in Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 2007, 59(2).

- Pamela L, Rinemann D, Kathryn H.** The Effect of Milking Management on Microbial Quality Presented at XII. Curso. Novas Enfoques Na produçose reproduced de Bovinos, Uberlandia, Brazil, 2008.
- Pini PN, Gilbert RJ.** A Comparison of Two Procedures for the isolation of *L.monocytogenes* from Raw chicken and soft cheese. *Journal of Food Microbiology* 1988, 7, 331-337.
- Quinto EJ, Cepeda A.** Incidence of toxigenic *Escherichia coli* in soft cheese made with raw or pasteurized milk. *Letters in Applied Microbiology* 1997, 24, 291-295.
- Rangel MJ, Sparling HP, SwerdlowLD.** Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States 1982-2002. *Emerging Infectious Diseases* 2005, 11(4), 603-609.
- Riley IW, Remis RS, Megee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hagrett PA, Blake PA, Cohen ML.** Hemorrhagic colitis associated with rare type *E. coli* serotype. *New England Journal of Medicine* 1983, 308, 681-683.
- Roberts D, Greenwood M.** Practical Food Microbiology. 3rd edition, Blackwell Publishing, 2003, 150-170.
- Ryser ET.** Public Health Concerns. In: EH Marth, JL Steele (Eds): *Applied Dairy Microbiology* 1998, Marcel Decker Inc. New York, USA, 318-323.
- Sabat A, Malachowa N, Miedzobrodzki J, Hryniewicz W.** Comparison of PCR-based methods for typing *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 2006, 44, 3804–3807.
- Santos EC, Genigeorgis C.** Survival and growth of *Staphylococcus aureus* in commercially manufactured Brazillian Minos Cheese. *Journal of Food Production* 1981, 44(3), 177-184.
- Stephan R, Schumacher S, Corti S, Krause G, Danuser J, Beutin L.** Prevalence and Characteristics of Shiga Toxin Producing *Escherichia coli* in Swiss Raw Milk Cheeses Collected AT Producer Level. *Journal of Dairy Science* 2008, 91(7), 2561-2565.
- Tan S, Ertürk YE.** Peynir. *TEAE Bakış Dergisi* 2002, 1(11), 1-4.
- Tekinşen KK, Özdemir Z.** Prevalence of the foodborne pathogens in Turkish Van otlu (herb) cheese. *Food Control* 2006, 17(9), 707-711.
- Tekinşen OC.** Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Veteriner Fakültesi Yayını, Konya 2000.
- Tekinşen OC, Tekinşen KK.** Süt ve Süt Ürünleri Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya 2005, 222-231.
- Töreci K.** *Escherichia* türleri. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* 2002, 2.baskı, 1564-1574.

- Tunail N.** Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. In: Akçelik M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara 1999, 59-90.
- Turr PI.** E. coli O157:H7 Overview of clinical and epidemiological issues. *Journal of Food Protection* 1994, 57, 637-636.
- Tükel Ç, Doğan HB.** *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık, Ankara 2000, 357-366.
- Türk Gıda Kodeksi.** Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Resmi Gazete, 2011 sayı: 28157.
- Türk Gıda Kodeksi.** Peynir Tebliği, Tebliğ no:2015/6, 29261 sayılı Resmi Gazete, 08.02.2015.
- Türkiye İstatistik Kurumu.** Süt ve Süt Ürünleri Üretimi, 2013, sayı:1353014.
- Türkiye İstatistik Kurumu.** Basın Odası Haberleri, 06 Mart 2014, Sayı:2014/12.
- Türk Standartları Enstitüsü.** Beyaz Peynir, TS 591, 1995.
- Üçüncü M.** Süt ve Mamülleri Teknolojisi. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 2013.
- Ünlütürk A.** Süt ve süt ürünlerinde mikrobiyolojik bozulmalar, patojen mikroorganizmalar ve muhafaza yöntemleri. *Gıda Mikrobiyolojisi* 1998, 1.baskı, 289-307.
- Ünlütürk A, Turantaş F.** Gıda Mikrobiyolojisi. 4.baskı, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, 2015.
- Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR.** Distribution of repetitive DNA sequences to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 1991, 19(24), 6823-6831.
- Wassenaar TM, Newell DG.** Genotyping of *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 2000, 66(1), 1-9.
- WEB_1** (2013). Dünyada ve Türkiye’de Peynir Üretimi. http://ankaratb.org.tr/lib_upload/25202013 (08.07.2017).
- WEB_2** (2016) Türkiye’de 2016 yılı Süt ve Süt Ürünleri Üretimi. <http://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=85&locale=tr>. (24.10.2017).
- Yetişmeyen A, Yıldız F.** Urfa Peynirlerinin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması. *Gıda* 2003, 28(3), 287-294.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : SAVAŞAN Sadık
Uyruk : T.C.Vatandaşı
Doğum yeri ve tarihi : Ankara 31.08.1972
Telefon : 0(532) 417 61 83
E-mail : sadiksavasan@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	1997

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2001-2014	TAR-SAV Ltd. Şti.	Genel Müdür
2014-2017	Ege NTA Çiftliği AŞ	Kurucu ortak- işletme müdürü