

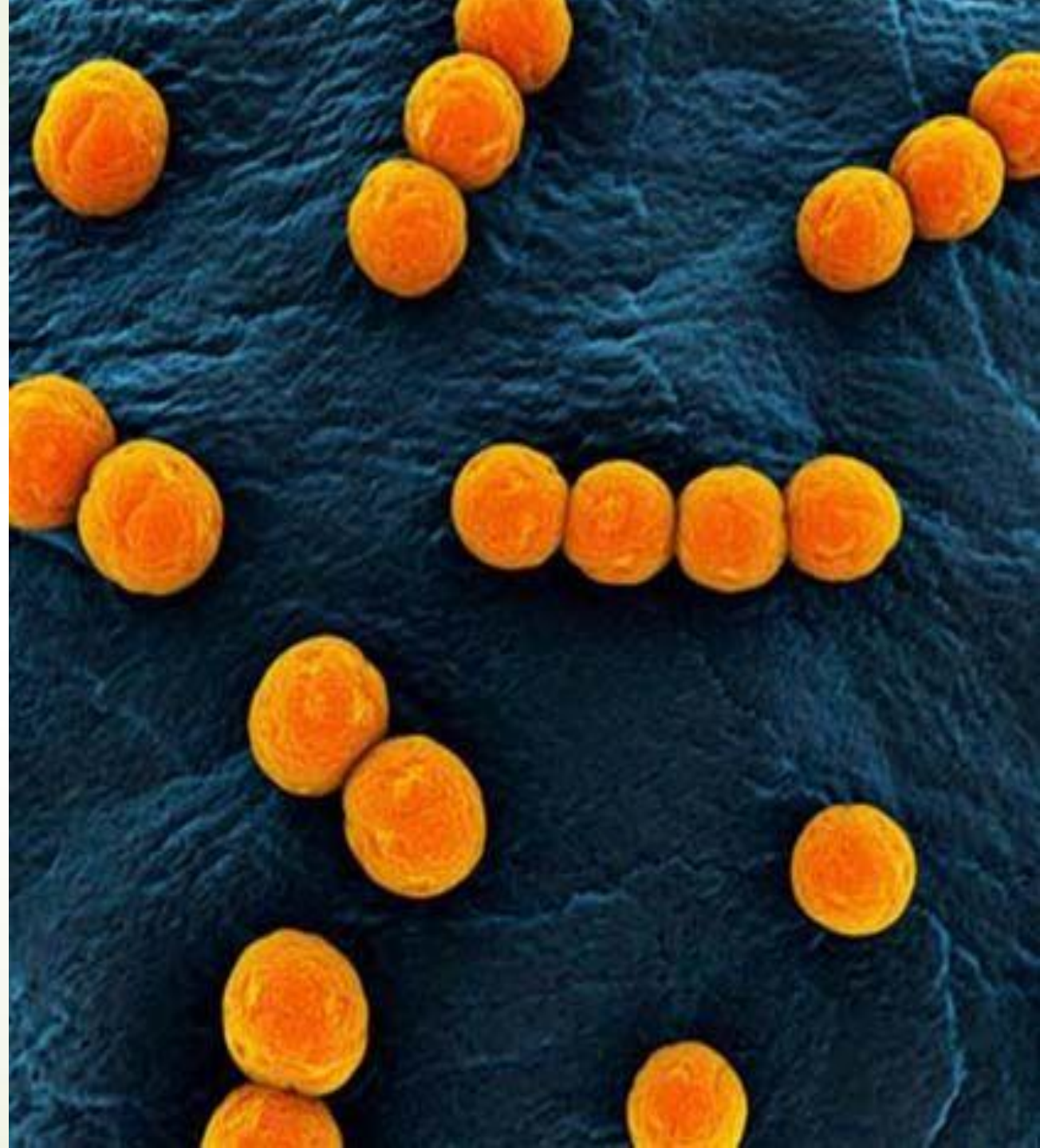
Pastırmada Enterokoklar


Özlem ERTEKİN¹ Güzin KABAN² **Mükerrem KAYA²**


¹Munzur Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, TUNCELİ

²Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ERZURUM

- Laktik asit bakterileri doğada yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır.
- Bu bakteriler insan tüketimi için güvenli, lezzetli ve raf ömrü uzun gıdalar için tarımsal birincil ürünlerin doğal dönüşümünde temel rol oynarlar .
- 19. yüzyıl sonlarında sütte fermentasyona ve koagülasyona yol açan bakteriler, laktik asit bakterisi olarak isimlendirilmiş ve sonraki yıllarda Lactobacillaceae familyası içinde sınıflandırılmıştır .



- 
- Yaygın olarak laktik asit bakterilerinin temsilciliğini *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus*' dan oluşan dört cinsin yaptığı kabul edilmektedir (Axelsson 1998; Halász 2009; Khalid 2011).
 - Laktik asit bakterileri Gram (+), genellikle hareketsiz, sporsuz kok veya çubuk şeklindedir. Genellikle mezofilik karakterde olan laktik asit bakterileri, 5°C gibi düşük sıcaklıklarda veya 45°C gibi yüksek sıcaklıklarda gelişebilen türleri içermektedir. Laktik asit bakteri suşları geniş bir pH aralığında da gelişebilmektedir. Bu mikroorganizmaların önemli bir kısmı pH 9,6'da, bazı suşları ise 3,2'de aktif olabilmektedir.

- 
- Önceleri *Streptococcus* cinsi içinde yer alan “fokal streptokoklar” veya Lancefield serolojik D grubu streptokoklar olarak adlandırılan bakteriler, daha sonra yapılan kemotaksonomik ve filogenetik çalışmalar sonucunda enterokok olarak adlandırılmıştır. Enterokoklara toprak, yüzey suları, bitki ve sebzelerde sıklıkla rastlanabilmekte ve süt ürünlerinden de izole edilebilmektedir. Ayrıca enterokoklar, ısıya karşı gösterdikleri direnç ile ekstrem pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilme veya canlılıklarını sürdürebilme özellikleri nedeni ile et ürünlerinde de bulunabilmektedir.
 - Son yıllarda yapılan araştırmalarda gıdalardan ve et ürünlerinden izole edilen enterokokların özellikle de *E. faecium*'un klinik suşlara göre daha düşük patojenite potansiyeline sahip olduğunun belirlenmesi enterokoklara olan ilgiyi artırmıştır (Hugas *et al.* 2003).

Enterokoklar;


- Gram-pozitif,
- spor oluşturmayan,
- pseudo-katalaz reaksiyonu gösteren bazı suşları olan,
- çoğunlukla katalaz negatif,
- oksidaz negatif,
- fakültatif anaerob,
- genellikle hareketsiz ve kok şeklinde bakterilerdir.
- Enterokoklar, homo-fermentatif karakterde olup optimum gelişme sıcaklıkları 35°C olmakla birlikte 10-45°C aralığında, %6,5 NaCl ve pH 9,6'da çoğalabilmekte ve 60°C'de 30 dakikalık ısıtma işlemde canlılıklarını sürdürebilmektedir.



- Son yıllarda enterokoklar, gıdaların organoleptik özelliklerine katkıda bulunmaları, patojenlere karşı bakteriyosin üretme yetenekleri ve probiyotik özellikleri nedeniyle bazı gıdaların üretiminde starter veya biyokoruyucu kültür olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu mikroorganizmaların GRAS (Generally Recognised as Safe) olarak düşünülmesi hala tartışılmaktadır.



Enterococcus faecium:

A Healthy Probiotic Strain

- 
- Geleneksel bir et ürünü olan pastırmadan enterokokların izolasyonu ve identifikasyonuna yönelik kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Pastırmada laktik asit bakterileri üretim koşullarına bağlı olarak 10^2 ile 10^8 kob/g arasında değişebilmektedir (Özdemir vd. 1999; Aksu ve Kaya 2001a; Kaban ve Kaya 2006; Kaban 2013). Pastırma ve benzeri ürünlerde her ne kadar gerçek bir laktik asit fermentasyonu sözkonusu olmasa da laktik asit bakterileri rekabet edici özellikleri ile bakteriyosin üretebilme yeteneklerinden dolayı büyük önem arz etmektedir.

- 
- 
- Mevcut bu çalışmada, *Enterococcus* sayısını belirlemek için u farklı besiyeri (*Enterococcus* Agar, Slanetz-Bartley Agar, KF *Streptococcus* Agar) kullanılmış ve ekim/inkübasyon aşamalarından sonra doğrulama testleri (Gram boyama, morfolojik görünüm, katalaz, PYR-testi, bile-esculin, %6,5 tuz) uygulanarak *Enterococcus* sayısı belirlenmiştir. Ayrıca pastırmanın genel özellikleri de tespit edilmiştir.

Materyal ve Yöntem

- Araştırmada, Kayseri, Afyon, Erzurum, Sivas, Kahramanmaraş, Elazığ ve İstanbul piyasalarından 20 farklı firmadan temin edilen pastırma örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Pastırma örnekleri farklı zaman dilimlerinde şansa bağlı olarak alınmıştır.
- Örneklerin pH ve nem değerleri belirlenmiş ve mikrobiyolojik analizler (laktik asit bakteri, *Micrococcus/Staphylococcus*, Enterobacteriaceae ve maya-küf) gerçekleştirilmiştir.
- Enterokokların belirlenmesinde üç farklı besiyeri (*Enterococcus* Agar (Merck), KF *Streptococcus* Agar (Merck) ve Slanetz-Bartley Agar (Oxoid)) kullanılmıştır. İnkübasyondan sonra doğrulama test sonuçları da (Gram boyama, morfolojik yapı, katalaz, %6,5 NaCl'de gelişme, safra eskulin ve PYR (L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide) hidrolizi) dikkate alınarak enterokok sayısı belirlenmiştir.



Sonuçlar

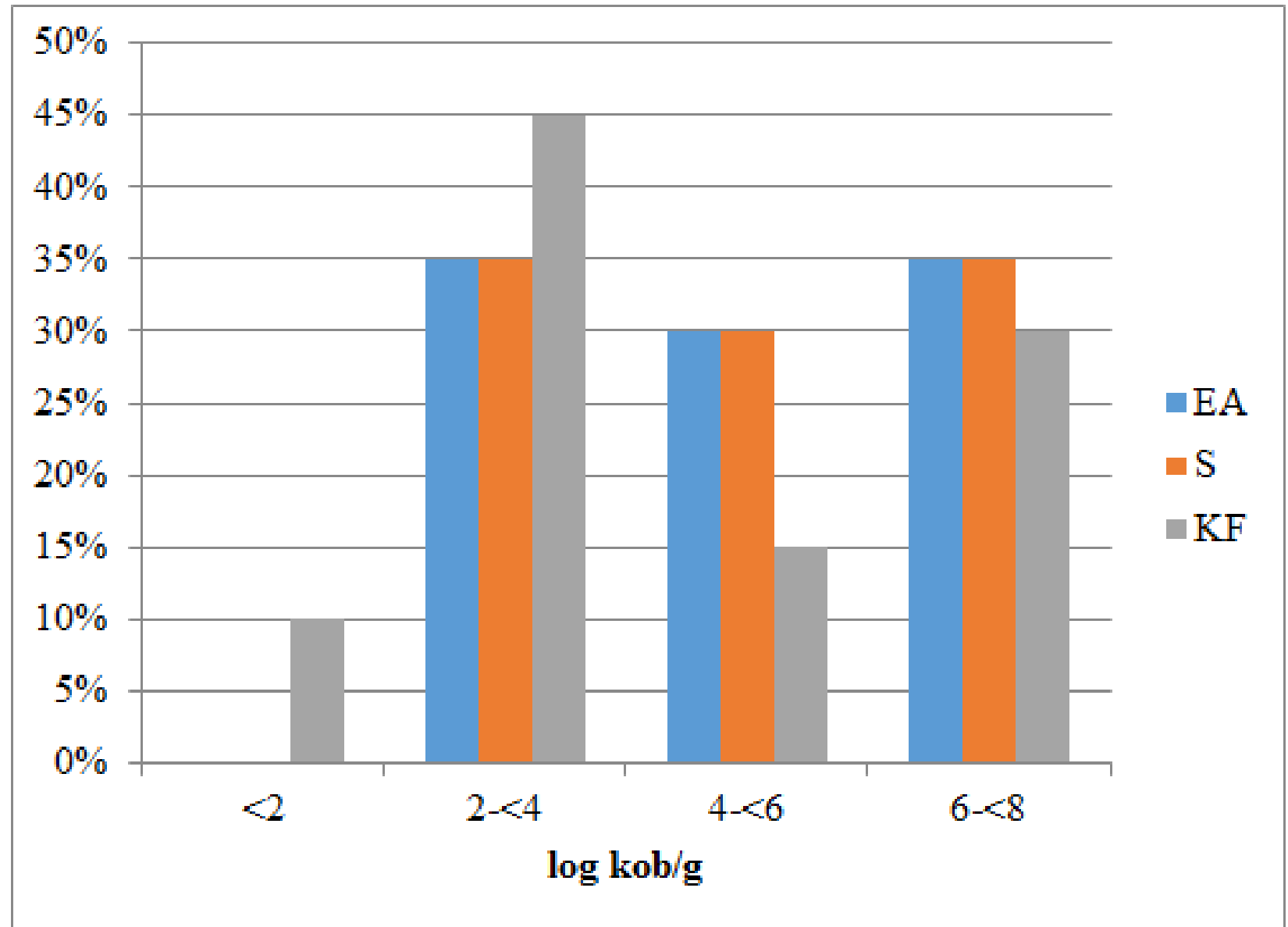
Tablo 1. Farklı firmalardan temin edilen pastırma örneklerinin bazı mikrobiyolojik özellikleri ile pH ve % nem değerlerine ait analiz sonuçları

Firma	Laktik Asit Bakteri (log kob/g)	<i>Micrococcus</i> / <i>Staphylococcus</i> (log kob/g)	Enterobacteriaceae (log kob/g)	Maya-Küf (log kob/g)	pH	%Nem
1	3,82	8,63	<2,00	3,93	5,81	40,45
2	4,17	8,08	<2,00	3,97	6,02	34,92
3	6,04	7,92	<2,00	3,32	5,81	36,87
4	5,32	6,83	<2,00	2,60	5,83	39,20
5	3,60	7,11	<2,00	<2,00	6,49	51,01
6	7,47	5,30	5,41	6,60	4,77	51,83
7	5,32	5,89	<2,00	2,48	5,86	54,00
8	7,20	4,84	<2,00	5,41	5,19	50,27
9	4,88	4,88	<2,00	<2,00	5,97	51,07
10	6,85	7,20	<2,00	<2,00	5,99	48,20
11	7,95	8,00	3,72	6,90	5,36	54,24
12	5,17	5,67	<2,00	3,69	6,02	52,20
13	6,77	6,51	<2,00	3,69	5,69	50,20
14	5,60	6,97	<2,00	<2,00	5,71	52,60
15	7,30	7,36	2,60	5,23	5,95	55,40
16	6,39	7,04	<2,00	2,69	5,75	52,93
17	7,32	8,18	5,00	3,63	5,16	46,70
18	5,41	6,49	<2,00	3,41	5,84	52,70
19	7,36	7,92	3,46	3,89	5,93	54,80
20	8,41	6,99	<2,00	5,15	5,52	45,73


Tablo 2. Farklı firmalara ait pastırma örneklerinin farklı besiyerinde belirlenen *Enterococcus* sayıları (log kob/g)

Firma	<i>Enterococcus</i> Agar	Slanetz-Bartley Agar	KF <i>Streptococcus</i> Agar*
1	3,26	3,57	2,00
2	2,60	3,00	2,85
3	5,32	5,20	3,90
4	3,34	3,28	2,78
5	4,08	3,94	3,79
6	6,90	6,82	6,84
7	4,90	5,43	5,34
8	7,00	6,80	6,84
9	3,99	4,23	3,61
10	4,15	4,28	3,78
11	6,08	6,88	5,36
12	2,95	3,15	3,04
13	6,58	6,41	6,70
14	3,78	3,70	<2,00
15	5,48	3,88	<2,00
16	5,00	5,86	5,08
17	6,61	6,72	6,36
18	3,43	4,28	3,04
19	6,76	6,90	6,62
20	7,63	7,81	7,81
Ortalama	4,99	5,11	4,76

*KF *Streptococcus* Agarda 14 ve 15 no'lu örneklere ait sonuçlar ortalamaya dahil edilmemiştir.



Şekil 1. Pastırma örneklerinin enterokok sayılarına ait frekans dağılımı (EA: Enterococcus Agar, S: Slanetz- Bartley Agar, KF: KF Streptococcus Agar)

- 
- Doğrulama testleri sonucunda incelenen 352 izolattan 271 (%76,99) izolatin enterokok olduğu tespit edilmiştir. Bu 271 izolata farklı sıcaklıklarda gelişme, glukozdan gaz üretimi, farklı pH değerlerine gelişme, pigmentasyon, piruvat, hareket, hemoliz testleri uygulanmıştır
 - Enterokok izolatlarının tümü test edilen sıcaklıklarda (10°C ve 45°C) gelişme göstermiştir ki bu özellik enterokokların genel karakteristik bir özelliğidir.
 - Laktik asit bakteri grubu içerisinde yer alan enterokokların diğer bir özellikleri homofermentatif karakter göstermeleridir (Franz *et al.*2003, Domig *et al.* 2003). Mevcut araştırmada da izolatların glukozdan gaz üretme özellikleri incelenmiş ve hiçbir izolatin gaz üretmediği tespit edilmiştir. Enterokokların diğer bir özelliği ise pH 9,6'da dahi gelişebilme özellikleridir. Pastırmadan elde edilen izolatların tamamı pH 9,6'da gelişme gösterebilmiştir. Ancak hiçbir izolat pH 3,0'de zayıf bir gelişme dahi gösterememiştir. Bununla beraber starter kültür ve/veya koruyucu kültür olarak kullanılacak mikroorganizmaların aside dayanıklılıkları önemli bir faktör olarak ön plana çıkmaktadır.

Tablo 3. İzolatların genotipik ve fenotipik identifikasyon oranları

Suş adı	Genotipik identifikasyon		Fenotipik identifikasyon	
	İzolat sayısı	%	İzolat sayısı	%
<i>E. faecium</i>	80	80	70	70
<i>E. feacalis</i>	19	19	8	8
<i>E. gallinarum</i>	-	-	22	22
<i>E. hirae</i>	1	1	-	-
Toplam	100	100	100	100

Sonuç olarak;

- *Enterococcus* Agar ve Slanetz- Bartley Agar sonuçlarına göre pastırma örneklerinin %35'inde sayı 1×10^2 - $<1 \times 10^4$ kob/g aralığında yer alırken diğer %35'lik kısım ise 10^6 kob/g'dan daha yüksek sayılar vermiştir. KF *Streptococcus* Agar sonuçları da diğer besiyerlerine ait sonuçlara yakınlık göstermiştir.
- Pastırmada pH ve nem değerleri sırasıyla 4,77-6,49 ve %34,92-55,40 arasında değişim göstermiştir. Pastırma örneklerinin 10^4 - 10^8 kob/g düzeyinde *Micrococcus/Staphylococcus* içerdiği, LAB sayısının ise 10^3 - 10^8 kob/g arasında bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Maya-küf sayısı ise genellikle 10^2 - 10^6 kob/g düzeyinde bulunmuştur. Ayrıca pastırma örneklerinde Enterobacteriaceae sayısı genellikle saptanabilir sınırın altında değerler vermiştir.

TEŐEKKÜRLER

Bu araştırma, TÜBİTAK-1002 projeleri kapsamında desteklenmiştir
(Proje No:115O030)