



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
VBH-YL-2015-0002

**SICAK DUMANLANMIŞ VE VAKUM PAKETLENMİŞ
GÖKKUŞAĞI ALABALIK FİLETOLARINDA
SALMONELLA VE *LISTERIA MONOCYTOGENES*
VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

Mustafa ACARGİL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Sadık BÜYÜKYÖRÜK

AYDIN-2015

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
VBH-YL-2015-0002**

**SICAK DUMANLANMIŞ VE VAKUM PAKETLENMİŞ
GÖKKUŞAĞI ALABALIK FİLETOLARINDA
SALMONELLA VE *LISTERIA MONOCYTOGENES*
VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

Mustafa ACARGİL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Sadık BÜYÜKYÖRÜK

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

AYDIN

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Mustafa ACARGİL tarafından hazırlanan “Sıcak Dumanlanmış ve Vakum Paketlenmiş Gökkuşığı Alabalık Filetolarında *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Belirlenmesi” isimli tez 04.12.2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri yazılan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı:

Üniversitesi:

İmza:

1. Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

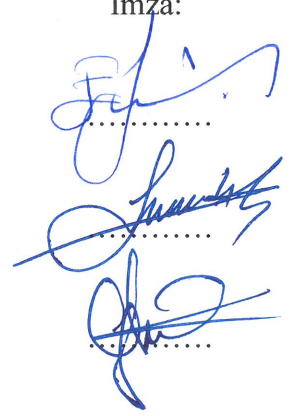
Adnan Menderes Üniversitesi

2. Yrd. Doç. Dr. Sadık BÜYÜKYÖRÜK

Adnan Menderes Üniversitesi

3. Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

Adnan Menderes Üniversitesi



Jüri Üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisan Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yaşamın devamı ve sağlıklı beslenmemiz için gerekli olan gıdaların hijyenik ve ekonomik olmasının yanı sıra, protein, yağ, karbonhidrat, vitaminler ve mineral maddeleri dengeli ve yeterli bir şekilde içermesi de arzu edilmektedir. İnsanların yeter ve dengeli beslenmesinde hayvansal kaynaklı gıdaların yeri ve önemi yadsınamaz bir gerçektir. Anne sütünden sonra en değerli besin kaynağı olarak kabul edebileceğimiz balık, başlıca protein, vitamin ve esansiyel yağ asitleri bakımından oldukça zengindir. Hatta Eskimoların kalp krizi geçirmeme nedeni olarak bu toplumun yüksek oranda balık tüketmesi ile ilişkilendirilmektedir.

Su ürünleri, özellikle balık ve balık etinden elde edilen ürünler günümüz şartlarında gerek sağlık yönünden gerekse çabuk bozulabilir özelliği nedeniyle diğer hayvansal kaynaklı gıdalardan daha önemli bir yere sahiptir. Su ürünlerinden daha hijyenik şartlarda yararlanabilmek için avlanmayı takiben kısa süre içinde tüketilmeli veya uygun koşullarda muhafaza edilerek tüketiciye en iyi kalitede ulaştırılması sağlanmalıdır. Bu muhafaza yöntemlerinden biri de ürüne biryandan aroma özellikleri katan dumanlamadır. Teknolojide dumanlama çeşitleri soğuk, ılık, sıcak ve çok sıcak gibi başlıklar altında incelenebilmekle birlikte soğuk ve sıcak dumanlama yöntemleri en çok tercih edilenlerdendir. Dumanlanan ürünün daha uzun süren bir raf ömrüne sahip olabilmesi için değişik paketleme yöntemlerine başvurulabilmektedir. Bunların başında modifiye atmosferde ve vakum ambalajda paketlemeler gelmektedir.

Listeria monocytogenes ise dumanlanmış balıklarda sıklıkla kontaminasyona neden olabilmekte ve dumanlanmış balıklarda birincil derecede ekonomik ve halk sağlığı sorunları oluşturabilmektedir. *Salmonella* spp. ise yıllardır gıdalarda yüksek derecede riskler yaratabilen, gıda enfeksiyon ya da toksikasyonlarında birincil derecede şüphelenen mikroorganizmaların başında gelmekte ve *Salmonella* spp. tüm dünyada gıda zehirlenmeleri bakımından ve yaşattığı ekonomik kayıplar ile ilk sıradaki yerini korumaktadır.

Bu çalışma dumanlanmış ve vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalık örneklerinden *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi amacıyla yapılmış olup Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Projeleri tarafından VTF-13026 nolu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1.Dumanın Renk Üzerine Etkisi	2
1.2.Dumanın Aroma Üzerine Etkisi	2
1.3.Dumanın Konserve Edici Etkisi	3
1.4. Vakum Paketleme	4
1.5. Modifiye Atmosfer Paketleme Gazları	4
1.6. Gıda Güvenliği	4
1.7. ISO 9000:2000-Kalite Yönetim Sistemi	5
1.8. HACCP-Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları	5
1.9. ISO 22000:2005-Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi	5
1.10. Sanitation Standard Operating Procedures, SSOP	6
1.11. GMP (Good Manufacturing Practice: İyi Üretim Uygulamaları)	6
1.12. Dumanlanmış Balık İçin Tehlikeler	8
1.12.1. <i>Clostridiumbotulinum</i>	9
1.12.2. Biyojenik Aminler	9
1.12.3. Nitrozaminler	10
1.12.4. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAHs)	11
1.12.4. <i>Listeria monocytogenes</i>	11
1.12.5. <i>Salmonella</i> spp	14
2. GEREÇ VE YÖNTEM	17
2.1. Gereç	17
2.2. Yöntem	17
2.2.1 <i>Salmonella</i> spp izolasyon ve İdentifikasyonu	17
2.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i> izolasyon ve identifikasyonu	17

3. BULGULAR	19
4. TARTIŞMA	20
5.SONUÇ	23
ÖZET	24
SUMMARY	26
KAYNAKLAR	28
ÖZGEÇMİŞ	37
TEŞEKKÜR	38

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points-Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizleri
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
FAO	: Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization)
GMP	: İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practice)
SSOP	: Sanitasyon Standart İşlem Prosedürleri (Sanitation Standard Operating Procedures)
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
GHP	: İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practice)
HBZ	: Histamin balık zehirlenmesi
ppm	: milyonda bir (parts per million)
IARC	: Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
ICMSF	: Uluslararası Gıdalarda Mikrobiyolojik Spesifikasyon Komisyonu
GRAS	: Genellikle Güvenli Olarak Kabul Edilen (Generally Recognized As Safe)
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TVB-N	: Toplam Uçucu Bazik Azot (Total Volatile Basic Nitrogen)
WHO	: Dünya Sağlık Teşkilatı (World Health Organization)

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. : Gökkuşığı alabalığının besin kompozisyonu	1
Çizelge 1.2. : Dumanlama Metotları	4
Çizelge 1.3. : Alabalık dumanlaması akış hattına göre kritik kontrol noktaları	7
Çizelge 1.4. : Balık ürünlerinde ortalama Nitrozaminlerin (NAs) düzeyi	11
Çizelge 1.5. : <i>Listeria monocytogenes</i> 'in üreme ve canlı kalması için gerekli koşullar	12
Çizelge 1.6. : <i>Salmonella</i> 'ların üreme ve canlı kalması için gerekli koşullar	15
Çizelge 3.1. : Sıcak Dumanlanmış ve Vakum Paketlenmiş Gökkuşığı Alabalık Filetolarındaki <i>Listeria</i> spp. ve <i>Salmonella</i> spp.'nin varlığı	19

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil1.1. : Balık çeşitlerine göre <i>Salmonella</i> kontaminasyonu	16

1. GİRİŞ

İnsanların yeter ve dengeli beslenmesinde hayvansal kaynaklı gıdalar önemli bir yer tutmaktadır (Önganer ve Kırbağ 2009). Bu gıdalardan biri olan balık, zengin besin içeriğinden dolayı farklı kültürlerde diyet ile alınmasında bir tercih nedeni olmaktadır. Esansiyel yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) içeren balık, insan sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir. (Akhtar ve ark. 1998). *Salmonidae* familyasında yer alan Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) önemli derecede ticari nitelikte bir tür olup, Avrupa’da yüksek oranda tüketilmektedir (Caklı ve ark. 2006). Gökkuşluğu alabalıkları yeter büyüklüğe hızlı ulaşmaları ve yüksek besin içeriğine sahip olmalarından dolayı bir çok ülkede, kültürü rağbet gören bir balık türüdür (Gokoglu ve ark. 2004, Fallah ve ark. 2011). Gökkuşluğu alabalığı yüksek oranda yağ içerdiği için bu balıkların bozulması başlıca depolama süresince bozulma yapıcı organizmaların etkinliğinden ve kimyasal olarak da lipidlerin oksidatif ransiditesinden kaynaklanmaktadır (Jasour ve ark. 2011). Gokoglu ve ark. (2004)’e göre gökkuşluğu alabalığının besin içeriği çizelge 1’de gösterilmektedir. Soğuk muhafazada aerobik olarak depolanan balık ve ürünlerindeki bakteriyel bozulma genellikle psikrofilik özellikteki *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Shewanella* ve *Flavobacterium* gibi mikroorganizmalar tarafından oluşturulmaktadır (Chytiri ve ark. 2004).

Çizelge 1.1.: Gokoglu ve ark. (2004), gökkuşluğu alabalığının besin kompozisyonu

Öge	Ürün
Rutubet	73.38
Protein	19.8
Kül	1.35
Yağ	3.44

1.1. Dumanın Renk Üzerine Etkisi

Su ürünlerinin içermiş olduğu yağ oranları, çok değişkenlik gösterirken bu oran %1-22 arasında değişmektedir. Bu oran canlının türüne, yaşına, cinsiyetine, mevsime ve beslenme durumuna göre değişebilmektedir. Bu tür gıdalarda bulunan yağ asitlerinin %20'si doymuş, %80'i ise doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır (Ünlüsayın ve ark. 2001).

Dünyadaki gelişmelere paralel olarak 80'li yıllardan itibaren Türkiye'de de kültür balıkçılığında önemli gelişmeler olmuştur. Ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli bir payı %70'lik oranla alabalık oluşturmaktadır. Su ürünleri üretiminde dünyada oldukça iyi konumda olan Türkiye'de gerek denizlerimizden, gerekse yetiştiricilikle elde edilen balıkların hemen hemen tamamı taze olarak pazarlanmaktadır, işlenmiş balık çok az bir kısmı oluşturmaktadır (Kolsarıcı ve Özkaya 1998). Taze olarak tüketime sunulmayan balıkların uzun süreli muhafazasında çeşitli işleme teknolojilerinden faydalanılmaktadır. Bu işleme teknolojilerden ise en yaygın kullanılanı dumanlamadır. Gıda ürünlerinin dumanlanmasında dumanlama işleminin; koruyucu etkisi, tat-aroma ve görünüş üzerindeki etkisi olmak üzere üç temel etkisi söz konusudur (Varlık ve ark. 2004). Dumanlamanın koruyucu işlevi, dumanlama öncesi yapılan tuzlama, dumanlama sırasında uygulanan ısıtma, kurutma işlemleri ve duman bileşimindeki antibakteriyel ve antioksidant özellikli bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Gökoğlu 2002). Dumanlama sonucu oluşan renk kısmen dumanın renk veren maddelerinden kısmen de duman içeriğinin besin elementleri ile yaptığı kimyasal bileşimlerden ileri gelmektedir. Dumanlanmış ürünlere özgü rengi veren maddeler azot oksitlerdir. Aromatik hidrokarbonlar ve fenolik bileşikler ise aromaya katkıda bulunmaktadırlar. Duman komponentlerinin besin bileşenleri ile verdiği kimyasal reaksiyonlar, enzimatik olmayan kahverengileşme reaksiyonu (Maillard reaksiyonu)'dur. Duman rengi tonu ve yoğunluğu, kullanılan odun türüne bağlı olarak açık sarıdan açık kahverengiye; koyu kahverengiden siyaha kadar değişebilmektedir. Bu hususta dumanlanacak ürünün rengi de önem taşımaktadır. Rengin yoğunluğu kuruma ile artmaktadır (Erol 2007).

1.2. Dumanın Aroma Üzerine Etkisi

Duman aroması, dumanın içerdiği komponentlerden ileri gelen kompleks bir lezzettir. Tipik duman aroması, fenolik bileşikler tarafından sağlanmaktadır. Uzun zincirli

karbon asitleri de, ürünlerdeki proteinler ile reaksiyona girerek aromaya katkıda bulunmaktadır (Erol 2007).

1.3. Dumanın Konserve Edici Etkisi

Dumanın tek başına konserve edici etkisi az olduğu için dumanlama; genel olarak kürleme, fermentasyon, kurutma, ısı işlemleri uygulamaları gibi diğer muhafaza yöntemleri ile kombine olarak kullanılmaktadır. Dumanın mikroorganizmalar üzerine inhibitör etkisi; selüloz, hemiselüloz ve kısmen ligninden ortaya çıkan formaldehit, kreozoller (guyakol, metilguyakol, krezen ve ksilonen karışımı) ve fenoller tarafından sağlanmaktadır. Dumanın konserve edici etkisi bu maddelerin en yoğun olarak bulunduğu dış yüzeyde en üst seviyededir. Dumanın bazı bileşenleri (fenoller ve çok az miktarda organik asitler), antioksidatif etkiye sahip olup et ve et ürünlerinde yağların oksidasyonunu önleyerek muhafaza süresini uzatmaktadır (Erol 2007). Et, süt, yumurta, balık gibi çabuk bozulan gıdaların raf ömürleri aerobik mikroorganizmaların gelişimi ve zararlılar nedeniyle kısıtlanmaktadır. Bu faktörlerin her biri tek başına veya birbiri ile bağlantılı olarak renk, tat ve kokuda değişiklikler meydana getirerek gıdaların kalitesinde bozulmaya neden olurlar. Gıdaların bozulması geciktirilerek taze olarak muhafaza edilmesinde en uygun ve etkin yöntem soğukta muhafaza tekniğidir. Ancak soğukta muhafaza tekniklerinin yanında ambalajlama tekniklerinin de uygulanması gıdaların tazeliklerinin daha uzun süre korunmasında giderek artan bir uygulama alanı bulmuştur (Kılınç ve Çaklı 2001). Son yıllarda soğutulmuş gıda ürünlerinde raf ömrünü artırmaya yönelik yeni gelişmeler kaydedilmiştir. Tüketiciler, bu tip gıdaları katkı maddesi içermedikleri için tercih etmektedirler. Vakum paketlenme de bu tercihi yaratan paketlenme çeşitlerinden birisidir (Swiderski ve ark. 1997).

Çizelge 1.2. : Dumanlama Metotları, Erol (2007)'e göre

Metot	Sıcaklık(⁰ C)	Süre	Ürün
Soğuk Dumanlama	18(12-24)	Bir haftaya kadar	Fermente sucuk, çiğ kürlenmiş ürün, haşlanmış pişmiş et
Islak Dumanlama	30'a kadar	2-3 gün	Hızlı olgunlaştırılmış fermente sucuk
Ilık Dumanlama	50'ye kadar	1-3 saat	Büyük kalibreli haşlanmış ürünler
Sıcak Dumanlama	60-100	20-60 dakika	Haşlanmış pişmiş ürünler

1.4. Vakum Paketleme

Et ve et ürünlerinde kalitenin korunması ve raf ömrünün uzatılması amacıyla en sık başvurulan yöntemlerden biridir. Gıdanın, oksijen (O₂) geçirgenliği düşük bir paketleme materyali içerisine yerleştirilerek içerisindeki havanın uzaklaştırılması ile anerobik ortamın sağlanması ile aerobik bozulmalara neden olan mikroorganizma ve özellikle yağların oksidatif bozulmasının önüne geçilmesi ile ürünün raf ömrü uzatılmaktadır (Hecer 2012). Vakum paketlemede vakum içerisinde çok az miktarda da olsa O₂ kalmaktadır. Ancak bu düşük miktar kısa sürede aerobik mikroorganizmalar tarafından kullanılmakta ve karbondioksit (CO₂) üretilmektedir (Vermerien ve ark. 1999). Paket içerisinde kalan O₂ miktarı %1'den düşük miktarda olup oluşan CO₂ miktarı %10-20'leri bulmaktadır (Sürengil ve Kılıç 2011).

1.5. Modifiye Atmosfer Paketleme

Modifiye atmosfer paketlemede O₂, azot (N₂) ve CO₂ olmak üzere 3 tip gaz kullanılmaktadır. Bu gazların iki veya üç farklı kombinasyonu ürün ihtiyacına göre tercih edilmektedir. Anaerobik ortam için genellikle %30-60 CO₂ kalanı saf N₂, aerobik ortam için ise %5 CO₂, %30'lara varabilecek oranda O₂ ve kalan kısmı N₂ olacak şekilde paketleme yapılabilmektedir (Sivertsvik ve ark. 2002).

1.6. Gıda Güvenliği

Gıda güvenliği sağlıklı gıda üretimini sağlamak amacıyla gıdaların üretim, işleme, saklama, taşıma ve dağıtım aşamalarında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması

olarak tanımlanmakta ve sağlıklı, sağlığa yararlı ve sağlıklı durumu korunmuş gıda kavramlarını içermektedir. Gıdalardan kaynaklanan riskler gıdanın üretimden tüketim aşamasına kadar geçirdiği işleme, taşıma, depolama, satın alma, saklama, hazırlama, pişirme aşamalarında ayrı ayrı değerlendirilmekte ve fiziksel, kimyasal ve biyolojik riskler olarak gruplandırılmaktadır (Giray ve Soysal, 2007.)

1.7. ISO 9000:2000-Kalite Yönetim Sistemi

ISO 9000:2000 Kalite Yönetim Sistemi herhangi bir işletmenin iç maliyetlerinin azaltılmasına, etkinliğini, verimliliğini artırmasına katkıda bulunmakta ve toplam kalite yönetimi ışığında kalitenin sürekli iyileştirilmesi yönünde uygulama yöntemidir. ISO 9000:2000 Kalite Yönetim Sistemi, müşteri şartlarını karşılamak amacı ile müşteri tatminini arttırmak için kalite yönetim sisteminin geliştirilmesi, uygulanması ve etkinliğinin iyileştirilmesinde proses yaklaşımını teşvik etmektedir (ISO 1999).

1.8. HACCP-Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points-Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizleri) gıda güvenliğini satın alma, üretim ve dağılımın tüm aşamalarında, hammaddeden son ürünün tüketilmesine kadar fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikeleri belirleyerek kontrol altına alan ve sürekliliği sağlayan bir yönetim sistemidir. HACCP; Bir gıda ürününün farklı proses aşamalarında olabilecek tehlikelerin belirlenmesine ve analiz edilmesine, bu tehlikelerin önlenmesi için gerekli faaliyetlerin belirlenmesine, bu faaliyetlerin etkili bir şekilde onaya konulduğunu takip etmeye yarayan bir metottur (TSE, 2003, FAO 1998).

1.9. ISO 22000:2005-Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi

ISO 22000 tarıma yönelik ihtiyaçlar ile gıda imalatçılara, üreticilerden toptancı ve perakendecilere, paketlenme ve üretim malzemeleri üreticilerinden, ulaşım ve temizlik servislerine kadar gıda tedarik zinciri içinde yer alan tüm direkt ve dolaylı operatörlere uygulanabilen bir standart olarak Eylül 2005'te yayımlanmıştır. Standart tüketim aşamasına kadar gıda tedarik zincirinde güvenliği sağlayan ve tüm ilgili kısımlarla etkili bir iletişim oluşturan; kontrol otoritesi, yönetim sistemi, süreç kontrol, Codex Alimentarius koşullarına

uygulanmış, HACCP ile GMP (İyi Üretim Uygulamaları) gibi zorunlu programlar, zarar verici etken takibi, temizleme, dezenfeksiyon prosedürleri gibi birçok konuyu kapsamaktadır. Standardın ISO 9000:2000 Kalite yönetim sistemi ile entegrasyonu temel yapı bileşenleri ile sağlanmaktadır. ISO 9000:2000 Kalite Yönetim Sistemi ve ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi standartları incelendiği zaman sistem bileşenleri arasında çok kuvvetli bir birliktelik söz konusudur. Önceki HACCP belgelendirme sürecindeki standart seçimi, uygulamadaki farklılıklar ve ön koşul programlarındaki belirsizlikler gibi karşılaşılan sorunlar bu standart ile uluslar arası bir belgelendirme izlenebilirliğine kavuşmuştur (ISO 2005).

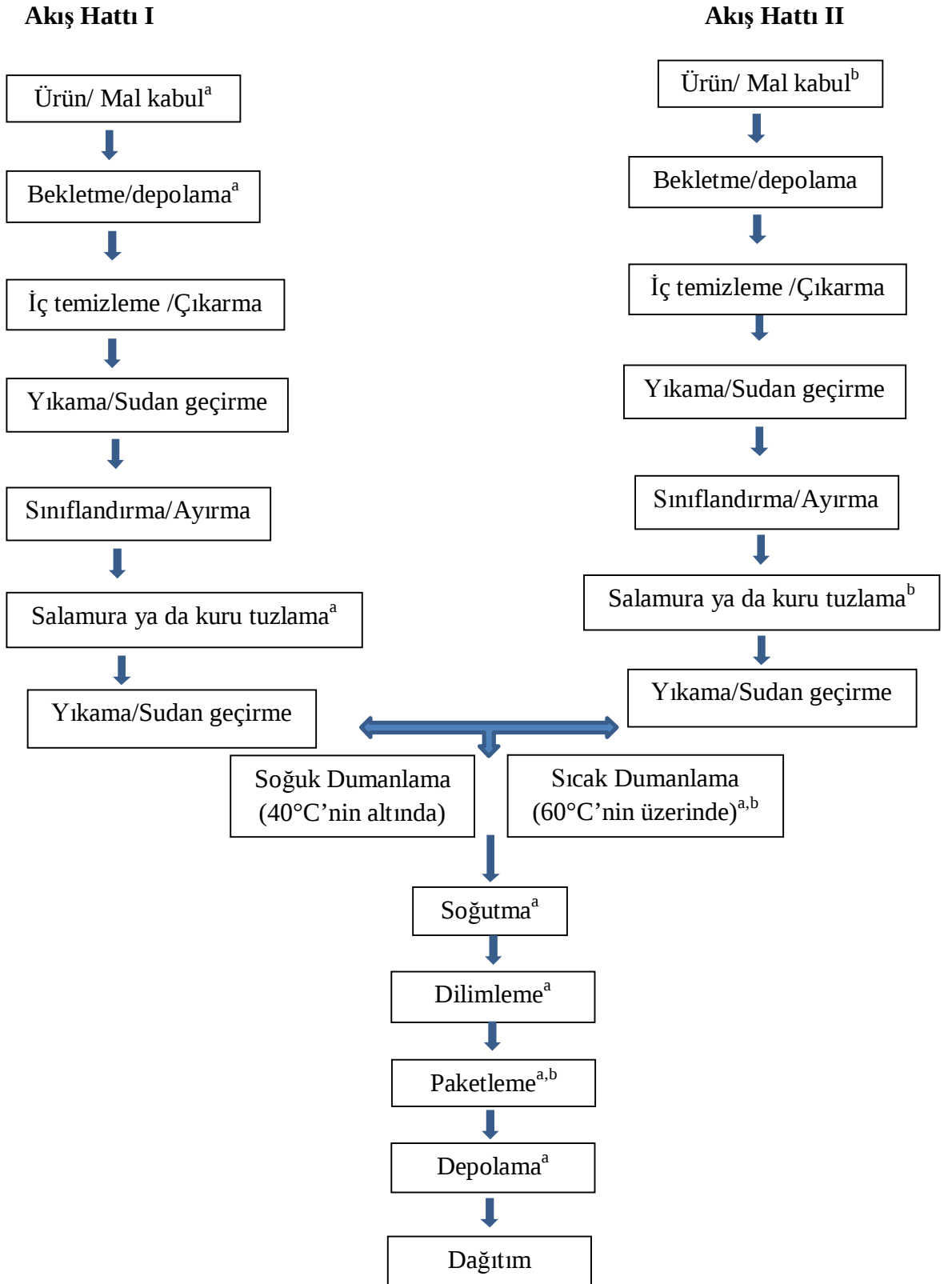
1.10. Sanitation Standard Operating Procedures, SSOP

SSOP (Sanitasyon Standart İşlem Prosedürleri), gıda işletmelerinde sanitasyon koşullarının sağlanmasının yanı sıra sağlıklı ve güvenli ürün elde edilmesi için hijyen koşullarının tanımlanmasına yönelik yazılı prosedürlerdir. Bu kapsamda, yönetim tarafından “hijyen kontrol” programları oluşturulmalı ve yapılan hijyen kontrolleri kayıt altına alınmalıdır. Temizlik maddeleri ve dezenfektanların gıda maddelerine herhangi bir yolla bulaşmasının önlenmesi için, ortamdaki zemin, duvarlar, gıda maddeleriyle her türlü temas eden alet ve ekipmanlar düzenli olarak iyice temizlenmeli ve sadece mikrobiyolojik yönden değil aynı zamanda kimyasal ve fiziksel yönden de kontrol altında tutulmalıdır (Baş ve ark 2007)

1.11. GMP (Good Manufacturing Practice: İyi Üretim Uygulamaları)

Gıdaların güvenliğini ve besin değerlerini kontrol altına alan uygulama olarak tanımlanan “İyi Üretim Uygulamaları”, ilk kez 1967 yılında FDA (Food and Drug Administration) tarafından gıda ürünleri için önerilmiştir. Bu program, gıda ürünlerinde kaliteyi sağlamak için son ürünün iç ve dış kaynaklardan kontamine olma ihtimalini önlemek amacına hizmet etmektedir (El-Hofi ve ark., 2010), Bu program kapsamında üretim ortamı, çevre, proses ile alet ve ekipman, hammadde ve son olarak da personel olmak üzere ürün kalitesi ve güvenliği açısından etkileri tanımlanarak, riskler dokümanite edilerek önlemler alınmaktadır (Baş ve ark., 1999).

Çizelge 1.3.: Arvanitoyannis (2007)'e göre alabalık dumanlaması akış hattına göre kritik kontrol noktaları



^{a, b}: Sistemlere göre CCP (kritik kontrol noktası)

Akış hattı I ve II alabalık dumanlama işletmesinde sırası ile HACCP ve ISO 22000'e göre kritik kontrol noktalarının belirlendiği diagramdır (Arvanitoyannis ve ark. 2009). Bu diagrama göre HACCP işletim sistemine sahip bir kuruluş için 8 adet Kritik Kontrol Noktası varken, bu sayı ISO 22000 standardını uygulayan bir sistemde 4'e düşmüştür. Bunun sebebi, ISO 22000 gıda güvenliği sisteminin altında, İyi Üretim Uygulamaları ve İyi Hijyen Uygulamalarının bir ön gereksinim olması yatmaktadır.

1.12. Dumanlanmış Balık İçin Tehlikeler

Patojen mikroorganizmalar ile kontamine gıdaların tüketilmesi, hastalıklara, ekonomik kayıplara ve hatta ölümlere sebep olabilmektedir (Yoon ve ark, 2008). Gastro intestinal semptomlar ile seyreden hastalıklar tüm dünyada oldukça yaygın bir insidenste seyretmesinin yanı sıra, bunlar genellikle yumuşak huylu karakterde olduğu için çoğu zaman bir doktora danışılmamakta, fekal örnekler çok nadir incelenebilmekte ve birçok vaka salgın olarak kayıtlara geçememektedir (Evans ve ark. 2006). Çiğ balığın sahip olduğu mikroflora başlıca balığın yaşadığı çevre ile alakalı olmakla birlikte, predominant olarak *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Aeromonas* spp. ve *Vibrio* spp. gibi psikrofilik ve/veya psikrotrofik Gram negatif bakteriler oluşturmaktadır. Bunun dışında *C. botulinum* tipleri özellikle tip E ve *Listeria monocytogenes* yüksek konsantrasyonlarda izole edilebilmektedir (Arvanitoyannis ve ark. 2009). Laktik asit bakterileri genellikle güvenli olarak kabul edilmektedir. Gancel ve ark. (1997), dumanlanmış ringa balığından izole ettikleri Laktobasillerin, yüksek oranda Hidrojen peroksit (H_2O_2) ürettiklerini bildirmişlerdir (Gancel ve ark. 1997). Balık kaynaklı riskler arasında *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* da sıralanabilmektedir (Arvanitoyannis ve ark. 2009). Dumanlanmış balık kaynaklı riskler arasında biyogenik aminler de yer alabilmekte ve ayrıca balıkların yaşadığı çevreye bağlı olarak ağır metaller de önemlilik arz etmektedir. Şu her zaman hatırlanmalıdır ki, eğer bu bahsedilen bu durum çiğ balıkta varsa dumanlama ile bunun önüne geçmek mümkün değildir. Bu ağır metaller ilk olarak intestinal organlarda biriktiği için balıkların iç çıkarma (eviserasyon) işlemleri, GMPs, GHPs uygulamaları göz önüne alınarak yapılmalıdır. Adekunle ve ark. (2004), ayrıca dumanlama ünitesinin kendisinden kaynaklanabilecek ağır metal kontaminasyonuna dikkat çekmiştir. Bu ünitelerde kullanılan kömür ya da köz, gaz yağı ya da benzin, bir miktar kurşun (Pb) kontaminasyonuna neden olabilmektedir (Adekunle ve Akinyemi 2004). Bununla birlikte dumanlanmış balık

ürünlerinde başlıca tehlikeler *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* ve biyojen aminler olarak belirtilmiştir (FDA 2001).

1.12.1. *Clostridium botulinum*

Gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan vakum paketlenme ve modifiye atmosferde paketlenme yöntemleri, bu gıdalarda beraberinde botulismus riskini getirmiştir (Gibbs ve ark. 1994). Nispeten nadir fakat gıda kaynaklı botulismus neurotoksinlerinin ciddiyeti bu etkeni oldukça önemli kılmıştır. Yıl genelinde botulismus salgınları ile dünya genelinde ortalama 450 salgın bildirilmekte, bunların da yaklaşık %12'sinden psikrotrofik karakterde olan *serotip E* sorumlu tutulmaktadır. Serotip E kaynaklı bu salgınların kaynağı genellikle balık kaynaklıdır (Hyytia ve ark. 1999).

Clostridium botulinum, Gram pozitif, anaerobik, spor oluşturan bir bakteri olup neurotoksin oluşturmaktadır. Bu toksinler (aynı zamanda organizma)'ın A, B, C, D, E, F, ve G tipleri bulunmakadır. *Clostridium botulinum* type E, 3.0–3.3°C'de ya da %5 NaCl varlığında gelişebilmekte ve toksin oluşturabilmektedir. Farklı *C. botulinum* suşlarının oluşturulan toksinler ısıya karşı dirençsizdir. *C. botulinum* type E toksininin ısıya dirençliliğini belirleyen en önemli etmen pH'dır. Bu toksin, nötral pH'larda ısıtma ile yıkımlanabilirken pH 4,0-5,0 düzeylerinde daha fazla direnç göstermektedir. Toksin, 60°C'de (pH 7.5) ve 62°C'de (pH 6.2) 5 dakikada yıkımlanabilmektedir. Birçok çalışma bu etkenin gelişmesi ve toksin oluşturma için sıcak ya da soğuk dumanlanmış balıkların iyi bir ortam olduğunu ortaya koymuştur (FDA 2001).

1.12.2. Biyojenik Aminler

Kadaverin, putresin ve histamin aminoasit dekarboksilasyonu ile post mortem oluşabilen diaminlerdir. Bu karboksilasyon prosesi endojen (balık dokusunda doğal olarak bulunan) ya da eksojen (birtakım mikroorganizmalarca oluşturulan enzimlerce) şekillenebilmektedir. Endojen yol ile şekillenen diaminler, eksojen yol ile şekillenenlere oranla önemsizdirler (FDA 2001). Tiramin ve histamin, gıdalarda bakteriler tarafından oluşturulan en önemli iki biyojenik aminlerdir (Bover-Cid ve Holzapfel 1999). Histamin balık zehirlenmesi (HBZ), gıda kaynaklı kimyasal balık zehirlenmesi olup histidin aminoasidini yüksek oranda içeren balık türlerinin tüketilmesi ile şekillenebilmektedir. Depolama sırasında histidin, bakteriyel dekarboksilasyon ile histamine dönüştürülebilir.

HBZ, nispeten yumuşak seyir göstermekle birlikte yüzde kızarıklık, mide bulantısı, baş ağrısı ve bazen diare gibi alerji benzeri semptomlar göstermektedir. Bu zehirlenmenin şekillenebilmesi için 500-1000 mg/kg düzeyinde histaminin gıda ile birlikte alınması gerekirken (Emborg ve Dalgaard 2006). Auerswald ve ark. (2006), 50 ppm düzeyindeki histaminin dekompozisyon için indikatör bir limit olduğunu belirtmektedir. Ayrıca Avustralya 200 ppm, Avrupa Birliği 100 ppm ve Amerika 50 ppm üzerinde histamin içeren ürünlerin insan sağlığı için uygun olmadıklarını belirtmekte ve tüketimine izin vermemektedir. Balık eti doğal olarak aminoasitlerden zengin bir gıda olup bu içerik postmortem dönemde daha da artabilmektedir. İntestinal bölgedeki yüksek proteolitik enzimler, bu hızlı otolitik prosesten sorumludur ve balık ürünlerinde serbest amino asit düzeyinin yüksek olmasına sebep olmaktadır. Skombroidler gibi bazı balık türleri (ör; uskumru) bu tip bozulmalara özellikle duyarlı olup HBZ’i “skombroid balık zehirlenmesi” olarak da adlandırılmaktadır (Dondero ve ark. 2004). Auerswald ve ark. (2006), postmortem histamin oluşumu için gerekli olan şartları, yeter miktarda histidin aminoasidinin bulunması, bakteriyel histidin dekarboksilaz enziminin varlığı ve yüksek sıcaklık olarak sıralamışlardır. Kolodziezka ve ark. (2000), ise histamin oluşumunun 20-45°C arasında maksimum olduğunu belirtmekte ve oluşan bu histaminin sıcak dumanlama ile elemine edilemediğini belirtmektedir. Biyojenik amin oluşumunun önüne geçmek amacıyla ürün prosesi boyunca hijyenik tedbirlerin alınması, balıkların hızlı bir şekilde soğutmaya alınması ve tüketime kadar bu soğuk zincirin korunması ve beraberinde sıcaklığın devamlılıkla kontrol edilmesi gerekmektedir (FDA 2001).

1.12.3. Nitrozaminler

Nitrit, aminler ve amidler ile reaksiyona girerek karsinojenik *N*-nitroso bileşiklerinin oluşumuna neden olabilmektedir. Bundan başka tuz, tek başına bir karsinojen olmamasıyla birlikte mide mukozasına vermiş olduğu direk zarar (gastiritis ve hücre proliferasyonu ile sonuçlanır) ile mide kanseri riskini artırmaktadır. İki önemli nitrozamin; *N*-nitrosodietilamin ve *N*-nitrosodimetilamin, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından insan için muhtemel karsinojenik ajanlar olarak sınıflandırılmıştır. Dumanlanmış balık tüketimi mide kanseri görülmesi arasında pozitif bir korrelasyon görülmektedir (Jaksyn ve Gonzalez 2006). Yurchenko ve Molder (2006)’e göre işlenmiş balık çeşitlerinde nitrozamin düzeyleri çizelge 1.4’te gösterilmektedir.

Çizelge 1.4. : Yurchenko ve Molder (2006)'e göre balık ürünlerinde ortalama Nitrozaminlerin (NAs) düzeyi

Ürün	NAs, µg/kg
Soğuk Dumanlanmış Balık	1.92
Sıcak Dumanlanmış Balık	4.36
Kızartılmış Balık	8.29
Salamura Balık	5.37
Tuzlanmış Balık	3.16

1.12.4. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAHs)

Bu grupta birkaç güçlü karsinojenik etkiye sahip bileşik yer almakta ve bunlar, dumanlama prosesinde oluşabilmektedir. Dumanlama sonucu oluşan PAHs'ın konsantrasyonları dumanlama prosedürlerindeki farklılıklardan dolayı oldukça değişkenlik göstermektedir (Visciano ve ark. 2006).

1.12.5. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, Gram pozitif, fakültatif anaerob, sporsuz, kapsülsüz bir bakteri olup kısa, yuvarlak uçlu veya kokobasil (0.5-2.0µm uzunluğunda ve 0.4-0.5µm eninde) şeklindedir. Bakterinin peritrik flagellası olmasına rağmen, hareketliliği gelişme sıcaklığına bağlıdır; 20-25°C'de hareketli iken 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda hareket yeteneği azalmaktadır. Bu soy içerisinde 6 tür bulunmakta olup, bunlar *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* ve *L. grayi*'dir (Roche ve ark. 2009). *L. monocytogenes*, saprofitik bir mikroorganizma olup doğada oldukça yaygın bir şekilde bulunmaktadır. *L. monocytogenes*, buzdolabı sıcaklığı da olmak üzere çok geniş bir sıcaklık ve pH aralığında üreme ve biyofilm oluşturma yeteneğindedir. Doğada oldukça yaygın bulunması, çevreye adaptasyon yeteneği, bitki ve toprakta uzun süre canlı kalabilme

yeteneğinde olmasından dolayı gıda işletmelerinde kontaminasyon riski yaratması her zaman bulunmaktadır (Medrala ve ark. 2003). *L. monocytogenes* somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerine göre 13 farklı serotip içermekte, bunlardan 4b serotipi, hastane (klinik vaka) suşu, 1/2a ise gıda kaynaklı Listeriosis vakalarından dominant olan suştur (Liu 2006, Jamali ve Thong 2014).

L. monocytogenes düşük sıcaklıklara çok iyi adapte olabilen psikrotrofik bir bakteri olması yanında %10-15 NaCl konsantrasyonunda bile üremeye devam edebilmektedir. Bu organizmanın üreme ve canlı kalmaları için gerekli koşullar Çizelge 1.5’de belirtilmektedir (Erol 2007).

Çizelge 1.5. : *Listeria monocytogenes*’in üreme ve canlı kalması için gerekli koşullar (Erol 2007)

	Sınır Değerler	Optimal
Sıcaklık, (°C)	0-45	35-37
pH	4.3-9.6	7.0
a _w	0.92	0.97-0.99

L. monocytogenes’in insanlardaki enfeksiyon dozu tam olarak bilinmemekle birlikte (McLauchin ve ark 2004), kontamine gıda tüketimi ile düşük miktarlarda *L. monocytogenes* alımı, sağlıklı yetişkinlerde herhangi bir klinik belirtiyeye yol açmazken, çocuk ve bebek, yaşlı, hamile veya immun sistemi baskılanmış kişiler ile kanser hastalarında yüksek mortalite ile seyredebildiği bildirilmektedir (Goulet ve ark 2006, Neetoo ve Chen 2010). Listeriosis’de gıdanın tüketilmesinden 12 saat sonra ateş, karın krampları, diyare, yorgunluk, baş ağrısı ve kusma ile seyreden gastrointestinal bir sendrom meydana gelmektedir (Voetsch 2007).

L. monocytogenes, kontamine olmuş gıdalar ile alınmasını takiben bağırsakta kolonize olmaktadır. Mikroorganizma yüzeyinde bulunan internalin ile konak hücrenin epitel hücrelerine ve makrofajlara tutunmaktadır. Makrofajlar, etkeni fagosite etmesine karşın *L. monocytogenes* makrofajlarda yıkımlanamaz, burada çoğalmaktadır. Salgıladığı Listeriosin O (hemoliz) ile makrofaj membranında gözenekler (por) oluşturarak fagositlerin membranının depolarizasyonuna ve makrofajın apoptozisine neden

olmaktadır. Yani organizma, fagositik parçalanmaya uğramadan makrofajlardan serbest kalmaktadır. Fagositik parçalanmada etkenin katalaz, süperoksit dismutaz ve fosfolipaz enzimleri de rol oynamaktadır. Katalaz ve süperoksit dismutaz, oksidatif enzimleri ve serbest radikalleri nötralize ederek, fosfolipazlar ise membran lipidlerini parçalayarak bakterinin makrofaj içinde lize olmasını engellemektedir. *Act A* geni konak hücrenin aktin proteinlerinin polimerizasyonunu sağlayarak bakteri hücre yüzeyinin aktin flamentleri ile kaplanmasında ve bakterinin hücreden hücreye aktarılmasında itici bir güç olarak rol oynamaktadır (Ireton 2007).

Bu organizmanın izolasyonunda, nalidiksik asit ilave edilmiş PALCAM ve kanlı agarlar ve Oxford Listeria selektif agar kullanılmaktadır. Zenginleştirme ve ön zenginleştirme brotları 30°C'de 48 saat inkübe edilmektedir. Listeria selektif agarın selektivitesini besi yerine ilave edilen kolistin sülfat ve nalidiksik asit arttırmaktadır (Neamatallah ve ark. 2003). Meningitis ve sepsislerinin de semptomları arasında olduğu *L. monocytogenes* enfeksiyonları yüksek mortalite ile seyredebilmektedir. Amerika'da, gıda kökenli hastalıklardan kaynaklanan ölümlerde ilk sırada yer almaktadır (Nakamura ve ark. 2004, Klaeboe ve ark. 2004).

Listeria monocytogenes için D değeri, McCormick ve ark. (2002)'na göre D₆₅, 16.2 saniye olarak bildirilmiştir. Gene aynı çalışmacılar, ne dumanlama sıcaklığının, ne de tuz içeriği ile depolama sıcaklığının, *L. monocytogenes*'i inhibe etmek için yeterli olmadığını bildirmektedirler (Vaz-Velho ve ark. 2000). *L. monocytogenes*, soğuk dumanlanmış alabalıklardan, sıcak dumanlanmış balıklara oranla daha yüksek oranda izole edilmektedir (Jemmi ve Keusch 1992). Tome ve ark. (2006) da *L. monocytogenes*'i, soğuk dumanlanmış balıklardan rutin olarak tespit etmişlerdir. Aynı şekilde, laktik asit bakterilerinin, *L. monocytogenes*'in kontrolünde etkili rollerinin olduğu ileri sürülmüş ve bu inhibisyonda, laktik asit bakterilerinin ürettiği organik asitler, H₂O₂, diasetil ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyel bileşiklerin yanısıra ortak gıdaların tüketilmesi yattığını bildirilmiştir (Montville ve Chikindas 2007). Robertson ve ark. (2006), dumanlanmış ve vakum paketlenmiş tekir balıklarının irradiasyonu ile *L. monocytogenes* sayısında düşüş olduğunu belirtmiştir. Uygulanmış olan 2 kGr'lık bir iradiye işleminin sensory üzerinde herhangi bir değişiklik yaratmadan 10⁴ kob/g düzeyindeki *L. monocytogenes* sayısını tamamen elemine etmiştir. Vaz-Velho ve ark. (2006), Amerika'da 1997 yılında GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilen) olarak kabul edilmiş olan ozonun, 0.01 ppm düzeyinde uygulamasının Gram pozitif bakterilere daha etkili olmakla birlikte yeni uygulanabilecek bir teknik olarak bildirmiştir. Velho ve ark. (2006) ise 0.1 x 10³ g/lt düzeyinde gazeöz ozonun 20 dakika

uygulanması ile tüm mikrofloranın 3.5 log kob/mml düzeyinde azaldığını tespit etmişlerdir.

1.12.6. *Salmonella* spp.

Salmonella, Gram negatif rod şeklinde, fakültatif intra sellüler bir mikroorganizma olup *Enterobacteriaceae* ailesine aittir (Coburn ve ark. 2007, Grassl ve Finlay 2008). Kapsülsüz, H₂S oluşturma yeteneğinde olan bu organizmada, katalaz pozitif, oksidaz, indol ve üre negatiftir. *Salmonella* Gallinarum ve *Salmonella* Pullorum hariç hareketli bakterilerdir. Genel olarak birçok karbonhidratı fermente ederek gaz oluşturlar, ancak laktozu ve sakkarozu fermente etmezler (Erol 2007). *Salmonella*'nın üreme ve canlı kalma koşulları Çizelge 1.6'da gösterilmiştir. *Salmonella*, konağın kendi kendine iyileşebildiği intestinal epitelyumun enfeksiyonu ile karakterize non-tifoid salmonellosis veya gastroenteritis ile tifoid ya da enterik ateş olarak bilinen ve ciddi seyreden sistemik bir enfeksiyona neden olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde oldukça az bir oranda olan tifoid salmonellosisin insidensi nispeten sabit seyretmekle birlikte, non-tifoid salmonellosis dünya genelinde artan bir ivmeye sahiptir (Portillo 2000). *Salmonella* Typhimurium (*Salmonella enterica* subspecies *enterica*, serovar Typhimurium), non-tifoid salmonellosis'e neden olmakta, enfeksiyonda ise abdominal ağrı, diare, ve mide bulantısı gibi semptomlar görülmektedir (Coburn ve ark. 2007, Grassl ve Finlay 2008). Non-tifoid salmonellosis, Amerika'da her yıl yaklaşık 40.000 vaka ile seyretmekte (Groseclose ve ark. 2004, Jajosky ve ark. 2006), fakat bu sayının kliniklere başvurulmayan vakalar ile birlikte yılda 1.4 milyon olabileceği tahmin edilmekte ve 400-600 arasında ölümler ile seyrettiği bildirilmektedir (Voetsch ve ark. 2004). Amerika'daki salmonellosis vakalarının yaklaşık %50'si *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Newport kökenli 3 serotip tarafından oluşturulduğu belirtilmiştir (Jajosky ve ark. 2006). *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Avrupa'da da predominant suşlar olup 2009 yılında 100.000'den fazla vaka bildirilmiştir (EFSA 2011).

Çizelge 1.6. : *Salmonella*’ların üreme ve canlı kalması için gerekli koşullar (Erol 2007)

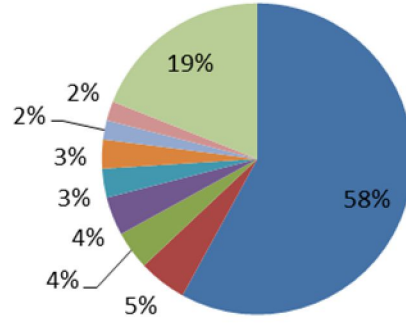
	Minimum-Maksimum	Optimal
Sıcaklık, (°C)	5.8-47	35-37
pH	4.0-9.5	6.5-7.5
a _w	0.94-0.99	0.99
D- değeri	65 60	0.02-0.25 dakika 0.2-6.5 dakika

Epidemiyolojik yönden *Salmonella*’lar konak spesifik olanlar ve konak spesifik olmayanlar olmak üzere ayrılmışlardır. Yalnızca insanlarda enfeksiyon oluşturan serotipler; *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, yalnızca hayvanlarda enfeksiyon oluşturan serotipler ise *S. Gallinarum*, *S. Dublin*, *S. Abortus-equi*, *S. Abortus-ovis* ve *S. Choleradis*’tir. Konak spesifik olmayan serotipler yani hem insan hem de hayvanda enfeksiyon oluşturan serotipler ise *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* gibi türlerin çoğunu kapsamaktadır (Erol 2007).

Salmonellaların gıda enfeksiyonlarında ilk sırada yer almasının en önemli nedenlerinden birisi, etkenin çevresel koşullara olan, yüksek dirençliliğinden ve gıdalarda uzun süre canlılığını koruyabilmesinden kaynaklanmaktadır. Etken, sütte 60-140 gün, peynirde ise 240 gün süreyle canlılığını koruyabilmektedir. (Erol 2007). *Salmonella* açısından riskli gıdalar arasında kanatlı hayvan etleri ve yumurta ile bunlardan yapılan ürünler, kırmızı et ve et ürünleri, kontamine süt ve süt ürünleri ile su ve kabuklu deniz ürünleri yer almakla birlikte (Mandell ve ark 2005); Allshouse ve ark. (2004), *Salmonella*’nın dominant olarak balık ve balık ürünlerinde izole edildiğini ileri sürmektedirler. Bu araştırmacılara göre balıklardaki *Salmonella* kontaminasyonunu dağılımı Şekil 1.1’de özetlenmiştir. *Salmonella*’ların enfeksiyon oluşturabilmesi için gerekli minimal enfektif doz 10^5 - 10^6 kob/g olarak bildirilmesine rağmen bu sayı, serotipin virulensine ve konakçının immun sistemine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (Hammack 2012).

Salmonella'nın deniz ürünlerindeki kontaminasyonu, %

■ Karides ■ Istakoz ■ Süt Balığı ■ Tilapya ■ İstiridye
■ Kalamar ■ Kedi Balığı ■ Yılan Balığı ■ Diğer



Şekil 1.1: Balık çeşitlerine göre Salmonella kontaminasyonu, (Allshouse ve ark. 2004)

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Çalışmada, Aydın ili Bozdoğan İlçesinde üretim yapan ve bunları ihraç eden bir firmadan Nisan-Eylül 2014 tarihlerinde temin edilen 60 adet sıcak dumanlanmış ve vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalık filetolarında *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* varlığı incelenmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. *Salmonella* spp. İzolasyon ve İdentifikasyonu

Aseptik olarak alınan, soğuk zincir altında laboratuara getirilen örneklerde *Salmonella* spp. varlığının tespiti TS EN ISO 6579'a göre yapıldı. Standartta belirtildiği üzere her bir örnekten steril stomacher torbalarına 25'er gram konularak 225 ml tamponlanmış peptonlu su (Oxoid CM509) içerisinde 2 dakika homojenize edildikten sonra 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edildi. Ön zenginleştirme aşamasını takiben, her bir örnek ön zenginleştirme sıvısından 0,1 ml alınarak Rappaport-Vassiliadis Soya Pepton Broth (Oxoid CM866) ve Selenit Sistein Broth (Oxoid CM0699) içeren tüplere inokule edildi ve sırası ile 42°C'de 24 saat ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her tüpten bir öze dolusu alınarak Xylose Lysine Deoxycholate Agar (Oxoid CM0469)'a ve Brilliant Green Agar (Oxoid CM0263)'a inokulasyonlar yapıldı ve inokule edilen petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda oluşan pembe renkli ve siyah merkezli şüpheli koloniler *Salmonella* Latex Test (Oxoid FT0203A) kiti kullanılarak değerlendirildi (TS EN ISO 6579, 2005). *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 pozitif kontrol olarak kullanıldı.

2.2.2. *Listeria monocytogenes* İzolasyon ve İdentifikasyonu

Aseptik olarak alınan soğuk zincir altında laboratuara getirilen örneklerde *L. monocytogenes*'in varlığı TS EN ISO 11290-1 standardı (2004) kullanılarak incelendi. Bu standart çerçevesinde steril stomacher torbasına konulan 25 gram örnek, 225 ml Half Fraser Broth (Oxoid CM895, supplement Oxoid SR166) içerisinde 2 dakika süre ile homojenize edilip, 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından her bir örnek için ön zenginleştirme solüsyonundan 0,1 ml alınarak içerisinde 10 ml Fraser Broth (Oxoid CM895, supplement SR156) bulunan tüplere inokule edildi ve tüpler 37°C'de 48

saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyon sonunda öze yardımıyla Oxford Agar (Oxoid CM856, supplement SR140) besiyerine çizme yöntemiyle inokulasyonlar yapıp petri kutuları 30°C’de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Oxford agarda görülen 2-3 mm çapında siyahımsı-yeşil renkli ve çökük merkezli, siyah kahverengi zonlu koloniler şüpheli olarak değerlendirildi. Şüpheli koloniler Microbact test kiti (Oxoid Microbact Listeria 12L Listeria Identification System MB1128) ile identifikasyona tabi tutuldu. *L. monocytogenes* ATCC 13932 (serotype 4b) ve ATCC 19111 (serotype 1/2a) pozitif kontrol olarak kullanıldı (TSE EN ISO 11290-1, 2004).

3. BULGULAR

Sıcak dumanlanmış ve vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalıklarındaki *Listeria* ve *Salmonella* türlerinin prevalansına ilişkin çalışmamıza ait sonuçlar Çizelge 3.1.'de gösterilmektedir. Buna göre *Listeria monocytogenes* 4 örneğimizde (%6.6), *Listeria welshimeri* 4 örneğimizde (%6.6), *Listeria innocua* 3 örneğimizde (%5), *Listeria grayi* 7 örneğimizde (%11.6), *Listeria ivanovii* ise 1 örneğimizde (%1.6) identifiye edilmiştir. 60 adet örneğimizin hiçbirisinden *Listeria seeligeri* ve *Salmonella* spp. izole edilmemiştir.

Çizelge 3.1.: Sıcak Dumanlanmış ve Vakum Paketlenmiş Gökkuşağı Alabalık Filetolarındaki *Listeria* spp. ve *Salmonella* spp.'nin varlığı

Mikroorganizma	Analiz Edilen Numune Sayısı ^a	Sayı, %Oran
<i>Listeria monocytogenes</i>	60	4, %6.6
<i>Listeria welshimeri</i>	60	4, %6.6
<i>Listeria innocua</i>	60	3, %5
<i>Listeria grayi</i>	60	7, %11.6
<i>Listeria ivanovii</i>	60	1, %1.6
<i>Listeria seeligeri</i>	60	TE
<i>Salmonella</i> spp.	60	TE

a: Var/Yok testlerine göre

TE: Tespit edilmedi

4. TARTIŞMA

Gıda kaynaklı hastalıklar dünya genelinde yayılma eğiliminde olup gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin her ikisinde kontamine gıdalar ile halk sağlığını etkilediği düşünülmektedir. Dünya genelinde insidensini tahmin etmek oldukça güç olsa da yazarlar genellikle gıda kaynaklı hastalıklardan etkilenen insanların sayısının popülasyonun yaklaşık %30'u olduğunda hemfikirdir (Garrido ve ark. 2013). Bu hastalıklar arasında önemli bir yere sahip olan *Listeria monocytogenes* (Neetoo ve ark. 2010), gıda kaynaklı bir patojen olup doğada oldukça yaygın bulunmakta ve hayatı tehdit edici bir hastalık oluşturmaktadır (Ryser ve Marth 2007).

Deniz ürünlerinin besleyici değerliliğinin çok yüksek olmasının yanısıra bu ürünlerin potansiyel mikrobiyolojik kontaminasyon riski bulunmaktadır. *Salmonella* ile ilgili olarak Avrupa Birliği ülkelerinde (EFSA, 2010) ve Amerika'da (CSPI, 2009), su ürünlerinin aracılık ettiği salgınlar bildirilmiştir. FDA, çeşitli balık ve kabuklu deniz ürünleri ile tüketime hazır su ürünlerinin *Salmonella* ile kontamine olabildiğini bildirmiştir (Duran ve ark. 2005). Benzer şekilde Amagliani ve ark. (2012), deniz ürünleri ile ilişkili Salmonellosis olgularında dikkate değer bir epidemiyolojik değerlendirmenin bulunduğunu belirtmiştir. Balık ve kabuklu deniz ürünleri, *Salmonella* ile yaşamış olduğu kontamine çevreden ya da ürünlerin işlenmesi veya depolama koşullarında kontamine olabilmektedir (Panisello ve ark. 2000).

Bizim çalışmamızda *Listeria* spp. suşlarına ilişkin sonuçlar çizelge 3.1'de yer almaktadır. Buna göre *Listeria* türleri arasında *L. grayi* (7, %11.6) en yüksek oranda identifiye edilirken bunu 4'er izolat ile *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* (%6.6), *L. innocua* (3, %5), *L. ivanovii* (1, %1.6) oranlarında takip etmektedir. *L. seeligeri* ile *Salmonella* spp. test edilen 60 örneğimizin hiç birisinden tespit edilememiştir.

Heinitz ve Johnson (1998), 5 yıllık periyot boyunca analiz ettikleri su ürünlerinden *L. monocytogenes*'i, %14 (1080 örnek) oranında izole etmişlerdir. Bu oranda soğuk dumanlanmış ve sıcak dumanlanmış balık örneklerindeki etkileri sırasıyla %21.25 (240 örnek) ve %8.83 (215 örnek) olarak belirtilmektedir. Shin ve ark. (2008), sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalık filetolarının, nitrojen, vakum ya da bunların kombinasyonları şeklinde paketlemenin yapıldığı ve 3⁰C'de 30 gün boyunca depolandığı örneklerde *L. monocytogenes*, tespit edilemezken, sıcaklığın 7⁰C olması durumunda etkenin sayısının log₁₀7kob/g düzeylerine kadar arttığını bildirmektedirler. Doménech ve

ark. (2015), tüketime hazır gıdalardan *Listeria* ve *Salmonella* türlerini izole etmeye çalışmışlar ve *L. monocytogenes*, %3.8 ile en yüksek oranda dumanlanmış somonlardan tespit edilirken *Salmonella* spp ise tespit edilmemiştir. Dominguez ve ark. (2001), *L. monocytogenes*'i dumanlanmış balıklardan %22.3 (170 örnek) oranında tespit ederken bunu *L. innocua* (26 izolat), *L. grayi* (9), *L. welshimeri* (3), *L. seeligeri* (3) ve *L. ivanovii* (2) takip etmiştir. Miettinen and Wirtanen (2005), işlenmemiş taze gökkuşağı alabalıklarından *L. monocytogenes*'i %14.6 oranında tespit ederken Soultos ve ark. (2007), *L. innocua*'nın Yunanistan'da balıklardan en sık izole edilen *Listeria* türü olduğunu bildirmektedirler. Ülkemizde yapılmış olan bir çalışmada ise tatlı su ile marin balık örneklerinin sırası ile %30 ve %10.4 oranında *Listeria* türleri ile kontamine oldukları bildirilmekle birlikte izole *Listeria* türlerindeki sayıca bu farklılıkların, örneklerin tipine (balık, yengeç, istiridye, istakoz), örnek sayılarına, örnekleme ve deneysel metodlara, coğrafik bölgeye ve iklim koşulları ile iklimsel örneklemeye göre değiştiği belirtilmektedir (Yücel ve Balci 2010).

Oğuzhan ve Angiş (2012), %20'lik sodyum klorür ile tuzlanan (salamura ve kuru tuzlama) vakum veya modifiye atmosferde (%50 CO₂ + %50 N₂) ambalajlanıp 4±1°C'de 25 gün depolanan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine tuzlama ve paketlenme işlemlerinin etkisini inceledikleri çalışmada, modifiye atmosfer paketlenmenin vakum paketlenmeye göre daha iyi sonuç verdiğini tespit etmişlerdir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, salamurada tuzlanıp vakum paketlenmiş ve salamurada tuzlanıp modifiye atmosferde paketlenmiş gökkuşağı alabalığının raf ömrü sırası ile 15 ve 20 gün, kuru tuzlananlarda ise sırası ile 20 ve 25 gün olarak belirlenmiştir. Çok çeşitli gıdalardan izole edilebilen *L. monocytogenes*, Avrupa Birliği ülkelerinde en çok, tüketime hazır balıklardan izole edilmiştir (Doménech ve ark. 2015). Alak ve ark. (2010), kitosan kaplamanın veya modifiye atmosfer ve vakum ambalajlamanın 4±1°C'de 15 gün boyunca depolanan palamut balığı filetolarının mikrobiyolojik ve kimyasal (pH, TVB-N ve TBARS) parametrelerini belirlemek üzerine yaptıkları çalışmada, kitosan film ile paketlenmiş filetolarda aerobik bakterilerin gelişimi, kontrol ve vakum gruplarına göre daha yavaş olduğunu bulmuşlardır. Meloni ve ark. (2009), tüketime hazır 200 adet gıdayı *L. monocytogenes* varlığı yönünden incelemişler ve 42 suşu *L. monocytogenes* olarak tanımlayan ederken, bu sayının 21'ini dumanlanmış balıklardan izole edilen suşlar oluşturmaktadır. Benzer şekilde Kramarenko ve ark. (2013), *L. monocytogenes*'i soğuk dumanlanmış balıklarda %32.9 gibi yüksek bir oranda izole etmişlerdir. Uyttendaele ve ark. (2009) da, dumanlanmış balık örneklerinden *L.*

*monocyto*genes'i %27.8 (90 örnek) oranında tespit etmişler ve dumanlanmış balıkların halk sağılığı açısından yüksek oranda *L. monocyto*genes riski taşıdığını belirtmektedirler.

5. SONUÇ

Sıcak dumanlanmış ve vakum paketlenmiş gökkuşuğu alabalıklarında *Listeria* ve *Salmonella* türlerinin varlığına ilişkin sonuçlara göre 4 örnek *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* açısından, 3 örnek *L. innocua*, 7 örnek *L. grayi* ve 1 örnek ise *L. ivanovii* açısından pozitif sonuç vermiştir. Bununla birlikte iki balık örneği, *L. monocytogenes*, *L. welshimeri* ve *L. grayi* açısından; bir örnek *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* açısından ve bir örnek de *L. innocua* ve *L. grayi* açısından aynı anda pozitif sonuç vermiştir. 60 adet örneğimizin hiçbirisinden *Salmonella* spp. izole edilmemiştir.

Gıdaların raf ömürlerini uzatmak ve potansiyel gıda toksini/intoksikasyonlarına neden olabilecek mikroorganizmaların, gıdayı kontamine etmesinin önüne geçebilmek adına çeşitli teknolojik işlemlerden yararlanılmaktadır. Bunlardan bazıları dumanlama ve vakum ambalajda paketlemedir. Her ne kadar bu işlemlerin teknolojik önemi yadsınamaz bir gerçek ise de vakum paketlenmiş ve özellikle soğuk dumanlanmış tüketime hazır balıklar potansiyel *L. monocytogenes* riski taşımaktadır.

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın gıda kaynaklı ve su kaynaklı diareal hastalıklarının her yıl ortalama 2.2 milyon insanın ölümünden sorumlu olduğu düşünülürse gıdaların mikrobiyolojik kalitesi ve güvenliği, kritik kontrol noktalarında tehlike analizi, iyi üretim uygulamaları, iyi hijyen uygulamaları ve sanitasyon standart işlem prosedürleri ile gözetim altında tutulmalıdır.

ÖZET

Sıcak Dumanlanmış ve Vakum Paketlenmiş Gökkuşığı Alabalık Filetolarında *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Belirlenmesi

Gıda kaynaklı hastalıkların, halk sağlığını tehdit edici endişeleri hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır. Mikrobiyolojik olarak kontamine su ve gıdalar diareal hastalıkların başlıca kaynağını oluşturmaktadır. Hem *Listeria monocytogenes* hem de *Salmonella* spp., çok çeşitli kaynaklardan ve gıda ürünlerinden izole edilebilmekte ve gıda kaynaklı salgınlara neden olabilmektedir. Dünya genelinde balık ve balık ürünlerine artan bir talep bulunmaktadır. Balık, protein, Vitamin D ve E, selenyum ve omega-3 gibi uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir. Bu sebepten dolayı balık, sağlıklı bir dietin önemli bir kısmı olarak algılanmalıdır. Bununla birlikte, balık ve deniz ürünleri, gıda kaynaklı hastalıklar ve salgınlar ile listenin üst yerlerinde ilişkilendirilmektedir. Son 25 yıl boyunca gıda kaynaklı hastalıklar global olarak önemli derecede artış göstermekte, nerede ise popülasyonun çeyreği bu hastalıklar ile yüksek risk altında bulunmaktadır. Bugünlerde tüketiciler dünya genelinde yüksek kalitede ve güvenli gıda istemektedirler. Tüketicilerin bu isteklerine cevap vermek adına, su ürünleri endüstrisi dumanlanmış balık ürünlerinde güvenliğin ve kalitenin devamlılığını sağlamak adına pratik yöntemler bulmuşlardır. Vakum paketlenme, dumanlanmış balık üretiminde en son basamağı oluşturmaktadır. Dumanlama, balık ürünlerinin prezervasyonunu ve karakteristik aromasının kazandırılmasını da sağlamaktadır. Dumanlama teknolojisi, balıkların özellikle karakteristik organoleptik özelliklerinin kazandırılması ve raf ömürlerinin artmasını sağlamak üzere bugünlerde artan bir şekilde kullanılmaktadır. Bu prosesin avantajlarının yanı sıra dumanlanmış ürünlerin tüketilmesi ile ilişkili tehlikeler de bulunmaktadır. Dumanlanmış balık tüketimi ile ilgili başlıca tehlikeler; *L. monocytogenes*, *C. botulinum* ve biyogenik aminler olup son ikisi tuz içeriği ve sıcaklık kontrolleri ile kontrol altına alınabilirken *Listeria*, soğuk dumanlama işleminde yeterli bir şekilde kontrol altına alınamamaktadır. *Salmonella* Enterica, dünya genelinde insanları etkileyen en önemli gıda kökenli patojendir.

Sıcak dumanlanmış ve vakum paketlenmiş gökkuşığı alabalıklarında *Listeria* ve *Salmonella* türlerinin varlığına ilişkin yapılan bu çalışmaya göre 4 örnek *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* açısından, 3 örnek *L. innocua*, 7 örnek *L. grayi* ve 1 örnek ise *L. ivanovii* açısından pozitif sonuç vermiştir. Bununla birlikte iki balık örneği, *L.*

monocytogenes, *L. welshimeri* ve *L. grayi* açısından; bir örnek *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* açısından ve bir örnek de *L. innocua* ve *L. grayi* açısından aynı anda pozitif sonuç vermiştir. 60 adet örneğimizin hiçbirisinden *Salmonella* spp. izole edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı Alabalık, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*

SUMMARY

Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in Hot Smoked and Vacuum Packed Rainbow Trout Fillets.

Foodborne diseases are a widespread and growing public health concern affecting both developed and developing countries. Microbiologically contaminated food and water, being the major causes of diarrheal diseases. Both *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp., can be isolated from many environmental sources and food products and are the causative agent of several outbreaks of foodborne illnesses. There is an increasing demand for fish and fish products around the world. Fish is much known for its richness in several nutrients as protein, vitamins D and E, selenium and long-chain polyunsaturated fatty acids, such as omega-3. Thus fish is perceived as an important part of a healthy diet among nutrition. However, there is substantial evidence that fish and seafood are high on the list of foods associated with outbreaks of food borne diseases. Over the last 25 years, the global incidence of foodborne infections has markedly increased, with nearly a quarter of the population at a high risk of illness. Nowadays, consumers worldwide demand high-quality and safe food products. In reponse this changing demand, the seafood industry has been finding practical ways to ensure safety and quality of smoked fish products. Vacuum-packaging, the final step employed in the manufacture of smoked fish products. Smoking is also carried out to preserve fish products and impart a characteristic flavor. Smoking technology is increasingly used nowadays to impart particular organoleptic characteristics to fishes and as a means of maintaining and extending the shelf-life of these perishable products. Despite the obvious advantages of the process, there are also a number of hazards related to the consumption of smoked products. The main hazards from smoked fish consumption are due to *L. monocytogenes*, *C. botulinum*, and biogenic amines. The last two can be controlled by combing salt content and temperature. However, *Listeria* can not be adequately controlled in cold smoking. *Salmonella* Enterica, is the major foodborne pathogens, affecting people worldwide.

According to the study of presence *Listeria* and *Salmonella* spp in hot smoked and vacuum packaged rainbow trout, 4 samples of *L. monocytogenes* and *L. welshimeri*, 3 samples of *L. innocua* and 7 samples *L. grayi* and one sample yielded positive results in terms of *L. ivanovii*. However, two fish samples, contaminated with *L. monocytogenes*, *L. welshimeri* and *L. grayii*; in one sample, *L. monocytogenes* and *L. welshimeri*, and one

sample has also yielded positive results at the same time in terms of *L. innocua* and *L. grayi*. None of 60 samples was not *Salmonella* spp. was not isolated.

Keywords: Rainbow Trout, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*.

KAYNAKLAR

- Akhtar, P., Gray, J.L., Gornaa, E.A., Booren, A.M. 1998. Effect of dietary components and surface application of oleoresin rosemary on lipid stability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle during refrigerated and frozen storage. *Journal of Food Lipids*, 5: 43-58.
- Alak, G., Hisar S.A., Hisar O.,Kaban G., Kaya M. 2010. Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16: 73-80, 2010.
- Alejandro Garrido, María-José Chapela, Belén Román, Paula Fajardo, Jorge Lago, Juan M. Vieites, Ana G. Cabado 2004. A new multiplex real-time PCR developed method for *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* detection in food and environmental samples, *Food Control* 30 (2013) 76-85
- Adekunle, I.M., and Akinyemi, M. F. Lead levels of certain products in Nigeria: a case study of smoked fish foods from Abeokuta. *Food and Chemical Toxicology*, 42:1463–1468.
- Allshouse J., Buzby J., Harvey,D., Zorn D., 2004. United States Department of Agriculture Economic Research Service, Seafood Safety and Trade, *Agriculture Information Bulletin*, Number 789-7.
- Amagliani, G., Brandi, G., Schiavano G.F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety, *Food Research International*, 45: 780-788, 2012.
- Arvanitoyannis, I.S., Palaioikostas, C., Panagiotaki, P. A Comparative Presentation of Implementation of ISO 22000 Versus HACCP and FMEA in a Small Size Greek Factory Producing Smoked Trout: A Case Study Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 49:176–201, 2009.
- Auerswald, L., Morren, C., and Lopata, A. L. Histamine levels in seventeen species of fresh and processed South African seafood. *Food Chemistry*, 98: 231–239, 2006.
- Baş M, Yüksel M, Çavusoğlu T. Difficulties and barriers for the implementing of HACCP and food safety systems in food businesses in turkey, *Food Control*. 2007; 18: 129.

- Bioactive alginate coatings to control *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon slices and fillets, H. Neetoo, M. Ye, H. Chen., International Journal of Food Microbiology 136, 326–331, 2010.
- Bover-Cid S, Holzapfel WH. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol, 53: 33-41, 1999.
- Caklı, S., Kılınç, B., Dincer, T., Tolasa, S. 2006. Comparison of the shelf-lives of map and vacuum packaged hot smoked rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Eur. Food Res. Technol. 224:19–26.
- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aqua cultured rainbow trout. Food Microbiol., 21:157–65.
- Coburn, B., Grassl, G.A., Finlay, B.B. Salmonella, the host and disease: a brief review. Immunology and Cell Biology 85, 112–118, 2007.
- CSPI, Center for Science in the Public Interest, Outbreak alert. <http://cspinet.org/new/pdf/outbreakalertreport09.pdf>, 2009.
- Doménech, E., Belenguer A.J., Amoros J.A., Ferrus M.A., Escriche I., 2015. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain, Food Control, 47, 120-125.
- Dominguez C., Gomez I., Zumalacarregui J., 2001. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in smoked fish and pâté sold in Spain. J Food Prot. 64(12):2075-2077.
- Dondero, M., Cisternas, F., Carvajal, L., and Simpson, R. Changes in quality of vacuum- packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. Food Chemistry, 87: 543–550, 2004.
- Duran, G.M., Marshall, D.L. Ready to eat shrimp as an international vehicle of antibiotic resistant bacteria. Journal of Food Protection, 68, 2395-2401, 2005.
- EFSA, European Food Safety Authority, The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. The EFSA Journal, 8, 1496, 2010.

- El-Hofi M, El-Tanboly ES, Ismail A. Implementation of the hazard analysis critical control points (HACCP) system to of white cheese production line. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2010; 9(3): 331-342.
- Emborg, J., and Dalgaard, P. Formation of Histamine and Biogenic Amines in Cold-Smoked Tuna: An investigation of Psychrotolerant Bacteria from Samples Implicated in Cases of Histamine Fish Poisoning. *Journal of Food Protection*, 69: 897–906, 2006.
- Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif matbaacılık, Ankara 2007; 60-70s.
- Erol, İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif matbaacılık, Ankara, 291-293s, 2007.
- European Food Safety Authority, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA Journal* 9, 2011.
- Evans MR, Sarvotham T, Thomas DR, Howard AJ (2006): Domestic and travel-related foodborne gastrointestinal illness in a population health survey. *Epidemiol Infect*, 134, 686-693.
- Fallah, A.A., Saei-Dehkordi, S.S., Nematollahi, A. 2011. Comparative assessment of proximate composition, physicochemical parameters, fatty acid profile and mineral content in farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science and Technology*, 46:767–773.
- FAO, Food Quality and Standards Service Food and Nutrition Division (1998). *Food Quality and Safety Systems - A Training Manual on Food Hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization
- FDA 2001, Processing parameters needed to control pathogens in cold smoked fish
- Gancel, F., Dzierszinski, F., and Tailliez, R. Identification and characterization of *Lactobacillus* species isolated from fillets of vacuum- packed smoked and salted herring (*Clupea harengus*). *Journal of Applied Microbiology*, 82:722–728, 1997.
- Garcia del Portillo, F. Molecular and cellular biology of Salmonella pathogenesis. In: Cary, J.W., Linz, J.E., Bhatnagar, D. (Eds.), *Molecular Foodborne Diseases. Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis*. Technomic Publishing Company, Lancaster, PA, pp. 3–49, 2000.

- Gibbs, P.A., Davies, A.R., and Fletcher, R.S. Incidence and growth of psychrotrophic *Clostridium botulinum* in foods. *Food Control*, 5:1–7, 1994.
- Giray, H., Soysal, A. Türkiye’de Gıda Güvenliği ve Mevzuatı, Kor Hek, 6, 485-490, 2007.
- Gokoglu, N., Yerlikaya, P., Cengiz, E. 2004. Changes in biogenic amine contents and sensory quality of sardine (*Sardina pilchardus*) stored at 4 and 20°C. *Journal of Food Quality*, 27, 221–231.
- Goulet V, Jacquet C, Martin P, Vaillant V, Laurent E, Valk H. Surveillance of human listeriosis in France, 2001– 2003. *Euro Surveillance*, 2006; 11(6): 79–81.
- Gökoğlu, N., 2002. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, Su Vakfı Yayınları, İstanbul , 157s)
- Grassl, G.A., Finlay, B.B. Pathogenesis of enteric *Salmonella* infections. *Current Opinion in Gastroenterology* 24, 22–26, 2008.
- Groseclose, S.L., Brathwaite, W.S., Hall, P.A., Connor, F.J., Sharp, P., Anderson, W.J., Fagan, R.F., Aponte, J.J., Jones, G.F., Nitschke, D.A., Chang, M.H., Doyle, T., Dhara, R., Jajosky, R.A., Hatmaker, J.D. Summary of notifiable diseases-United States, 2002. *MMWR* 51, 1–84, 2004.
- Hammack T. *Salmonella* species. In: Lampel KA, editor. *Bad bug book e handbook of foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins*. 2nd ed. Washington DC: Food and Drug Administration; 2012 :6-12
- Hecer, C. Et Teknolojisinde Ambalajlama Yöntemleri, *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.* 31 (2012), 1: 57-61
- Heinitz, ML, Johnson, JM. 1998. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish *Journal Of Food Protection*, 61:3, 318-323.
- Hyytia, E., Hielm, S., Morkkila, M., Kinnunen, A., and Korkeala, H. Predicted and observed growth and toxigenesis by *Clostridium botulinum* type E in vacuum-packaged fishery product challenge tests. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 161–169, 1999.

- Ireton K. Entry of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* into mammalian cells. Cellular Microbiology. 2007; 9: 1365–1375.
- ISO (1999), "ISO 9000:2000-Quality Management System: Requirements", International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 22000:2005-Food Safety Management Systems: Requirements, 2005. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Jajosky, R.A., Hall, P.A., Adams, D.A., Dawkins, F.J., Sharp, P., Anderson, W.J., Aponte, J.J., Jones, G.F., Nitschke, D.A., Worsham, C.A., Adekoya, N., Doyle, T. Summary of notifiable diseases-United States, 2004. MMWR 53, 1–79, 2006.
- Jaksyn, P., and Gonzalez, A. C.Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. World Journal of Gastroenterology, 27:4296–4303, 2006.
- Jamali, H., Thong, K.L 2014. Genotypic characterization and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* from ready-to-eat foods. Food Control, 44,1-6.
- Jasour, M.S., Rahimabai, E.Z., Ehsai, A., Rahnama, M., Arshai, A. 2011. Effects of refrigerated storage on fillet lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) supplemented by α -tocopheryl acetate through diet and direct addition after slaughtering. J. Food Process. Technol., 2:124
- Jemmi, T., and Keusch, A. Behavior of *Listeria monocytogenes* during processing and storage of experimentally contaminated hot-smoked trout. International Journal of Food Microbiology, 15: 339–346, 1992.
- Kılınç, B., Çaklı, Ş. 2001. Packaging technics, the effects on microbial flora of fish and shellfish. (In Turkish). E.Ü. Journal of Fisheries&Aquatic Sciences 18 (1/2) : 279-291.
- Klaeboe, H., Rosef, O., and Saebo, M. 2005. Longitudinal studies on *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in two salmon processing plants. International Journal of Environmental Health Research, 15: 71–77
- Kolodziejska, I., Niecikowska, C., Januszewska, E., and Sikorski, Z. E. The microbial and sensory quality of mackerel hot smoked in mild conditions. Lebensm.-Wiss. u.-Technol, 35: 87–92, 2002.

Kolsarıcı, N., Özkaya, Ö. Gökkuşığı Alabalığı (*Salmo gairdneri*)'nın Raf Ömrü Üzerine Tütsüleme Yöntemleri ve Depolama Sıcaklığının Etkisi Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences 22, 273-284, 1998.

Kramarenko T., Roasto M., Meremäe K., Kuningas M., Poltsama P., Elias T., *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods, Food Control, 30: 24-29.

Liu D. Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. Journal of Medical Microbiology. 2006; 55: 645–659

Mandell GL, Benett JE, Dolin R. Salmonella Species Including Salmonella Typhi. In: Peques, D.A., Ohl, M.E., Miller, S (eds.): Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. . 2005; 2: 2636-2654

McCormick, K., Han, I.Y., Acton J.C., Sheldon B.W. and Dawson P.L.: D- and z-Values for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium in Packaged Low-Fat Ready-to-Eat Turkey Bologna Subjected to a Surface Pasteurization Treatment, Poultry Science, 82: 1337-1342, 2003.

McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. International Journal of Food Microbiology. 2004; 92: 15-33.

Medrala, D., Dabrowski,W., Kolodziej, U. C., Kozon, E. D., Koronkiewicz, A., Augustynowicz, E., and Manzano, M. Persistence of *Listeria monocytogenes* strains isolated from products in a Polish fish-processing plant over a 1-year period. Food Microbiology, 20: 715–724, 2003.).

Meloni D., Galluzzo P., Mureddu A., Piras F., Griffiths M., Mazzette R., 2009. *Listeria monocytogenes* in RTE foods marketed in Italy: Prevalence and automated EcoRI ribotyping of the isolates International Journal of Food Microbiology, 129, 166–173.

Miettinen H.,Wirtanen G. 2005. Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. Int J Food Microbiol, 104(2): 135-143.) (Soultos N, Abraham A, Papageorgiou K, Steris V. 2007. Incidence of *Listeria* spp in fish and environment of fish markets in Northern Greece. Food Control, 18(5): 554-557.

Montville TJ, Chikindas ML. 2007. Biopreservation of foods. In: Doyle MP, Beuchat LR, editors. Food microbiology: fundamentals and frontiers. 3rd ed. Washington, D.C.: ASM Press. p 747–64.

Nakamura, H., Hatanaka, M., Ochi, K., Nagao, M., Ogasawara, J., Hase, A., Kitase, T., Haruki, K., and Nishikawa Y. 2004. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka City, Japan. International Journal of Food Microbiology, 94: 323–328.

Neamatallah, A. A. N., Dewar, S. J., and Austin, B. An improved selective isolation medium for the recovery of *Listeria monocytogenes* from smoked fish. Letters in Applied Microbiology, 36: 230–233, 2003.

Neetoo H., Ye M., Chen M., 2006. Bioactive alginate coatings to control *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon slices and fillets, International Journal of Food Microbiology 136, 326–331, 2010)

Oğuzhan, P., Angiş, S. 2012. Effect of Salting and Packaging Treatments on Fresh Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets During Storage at Refrigerator Temperatures, Kafkas Univ Vet Fak Derg, 18 (3): 443-448.

Önganer AN, Kırbağ S. Diyarbakır’da taze olarak tüketilen çökelek peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2009; 25(1-2): 24-33.

Panisello, P. J., Rooney, R., Quantick, P. C., & Stanwell-Smith, R. Application of foodborne disease outbreak data in the development and maintenance of HACCP systems. International Journal of Food Microbiology, 59, 221-234, 2000.

Robertson, C.B., Andrews, L.S., Marshall, D.L., Coggins, P., Schilling, M.W., Martin, R.E., and Collette, R. Effect of X-ray Irradiation on reducing the risk of listeriosis in ready-to-eat vacuum-packaged smoked mullet. Journal of Food Protection, 69: 1561–1564, 2006.

Roche SM, Kerouanton A, Minet J, Le Monnier A, Brisabois A, Velge P. Prevalence of low-virulence *Listeria monocytogenes* strains from different foods and environments. International Journal of Food Microbiology. 2009;130: 151–155.

Ryser, E.T., Marth, E.H., 2007. In: *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. CRC Press, Boca Raton, FL.

Shin, J.H., Kang, D.H., Rasco, B. 2008. Effect of Different Packaging Methods and Storage Temperatures on the Growth of *Listeria monocytogenes* in Raw and Hot Smoked Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Journal of Aquatic Food Product Technology, 17:2, 137-155.

Sivertsvik, M., J. T. Rosnes, H. Bergslin, 2002. Modified Atmosphere packaging, p.61-86. In: T. Ohlsson and N. Bengtsson Minimal Processing technologies in the food industry. CRC Press Boca Raton Boston New York Washington, DC.

Sürengil, G. ve Kılıç, B. Gıda- ambalaj sektöründe nanoteknolojik uygulamalar ve su ürünleri açısından önemi, Journal of Fisheries Sciences.com 5(4): 317-325, 2011.

Swiderski, F., S. Russel, B. Waszkiewicz-Robak, E. Cholewinska, 1997. Evaluation of vacuum-packaged poultry meat and its products. J. Sci. Food Agric. 48: 193-200.

Tome, E., Teixeira, P., and Gibbs, 2006. P. A. Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. Food Microbiology

TS EN ISO 6579, 2005, Gıda ve yem maddelerinin mikrobiyolojisi- *Salmonella* türlerinin belirlenmesi için yatay yöntem

TSE (2003), "TS 13001-Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktalarına (HACCP) Göre Gıda Güvenliği Yönetimi-Gıda Üreten Kuruluşlar ve Tedarikçiler için Yönetim Sistemine ilişkin Kurallar" Türk Standardları Enstitüsü.,

TSE EN ISO 11290-1 Gıda ve yem maddelerinin mikrobiyolojisi- *Listeria monocytogenes*'in aranması ve sayımı metodu bölüm 1: arama metodu 2004.

Uyttendaele M., Busschaert P., Valero A., Geeraerd A.H., Vermeulen A., Jacxsens L., Goh K.K., De Loy A., Van Impe J.F., Devlieghere F. 2009. Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007 International Journal of Food Microbiology, 133, 94–104.

Ünlüsayın, M., Aksoylar, M.Y., Gülyavuz H. Bazı Tatlısu Balıklarının Sıcak Dumanlama Sonrası Lipidlerindeki Kimyasal Değişimler, Turk J Vet Anim Sci 25, 341-348, 2001.

Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S., Baygar, T., 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, İstanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İstanbul. 491s.

- Vaz-Velho, M., Duarte, G., and Gibbs, P. Evaluation of mini-VIDAS rapid test for detection of *Listeria monocytogenes* from production lines of fresh to cold-smoked fish. *Journal of Microbiological Methods*, 40: 47– 151, 2000.
- Vaz-Velho, M., Silva, M., Pessoa, J., and Gibbs, P. Inactivation by ozone of *Listeria innocua* on salmon-trout during cold-smoke processing. *Food Control*, 17: 609–616, 2006.
- Vermerien, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., Kruijf, N., Debevere, J. Developments in the active packaging of foods, *Trends in Foods Sciences & Technology*, 10(3): 77-86, 1999.
- Visciano, P., Perugini, M., Amorena, M., and Ianieri, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fresh and cold-smoked Atlantic salmon fillets. *Journal of Food Protection*, 69:1134–1138, 2006.
- Voetsch AC, Angulo FJ, Jones TF. Reduction in the incidence of invasive listeriosis in foodborne diseases active surveillance network sites, 1996–2003. *Clinical Infectious Diseases*. 2007; 44: 513-520.
- Voetsch, A.C., Van Gilder, T.J., Angulo, F.J., Farley, M.M., Shallow, S., Marcus, R., Cieslak, P.R., Deneen, V.C., Tauxe, R.V. FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 38, 127-134, 2004.
- Yoon Y, Kim SR, Kang DH, Shim WB, Seo E, Chung DH (2008): Microbial assessment in the school foodservices and recommendations for food safety improvement. *J Food Sci*, 73, 304-313.
- Yurchenko, S., and Molder, U. Volatile N-Nitrosamines in various fish products. *Food Chemistry*, 96:325–333, 2006.
- Yücel N, Balci S. 2010. Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* species in fish used for human consumption in Turkey. *J Food Prot*, 73(2): 380-384.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İzmir ili Selçuk İlçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Selçuk'ta tamamladıktan sonra 1996 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde okumaya hak kazandım ve 2001 yılında mezun oldum. Aynı yıl askerlik görevimi yapmak üzere müracaat ettim ve Ağrı Doğubayazıt İlçesinde görevimi tamamladım. 2002 – 2005 yılları arasında özel sektörde besi sığırcılığı üzerine çalıştım. 2005 Yılıının Ekim ayında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Bitlis İl Müdürlüğü Mutki İlçe Müdürlüğü'ne Veteriner Hekim olarak atandım. Mutki İlçe Müdürlüğünde yaklaşık olarak 4 yıl görev yaptıktan sonra 2009 yılında İzmir - Tire İlçe Müdürlüğüne tayin oldum. Tire İlçe Müdürlüğünde 2 yıl hizmetimin ardından 2011 yılında Selçuk İlçesine atandım ve halen görev yapmaktayım. 2011 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programıma başladım. Evliyim ve 2 çocuk babasıyım.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü eksik etmeyen ve araştırmanın her aşamasında beni destekleyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Sadık BÜYÜKYÖRÜK'e teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY, Doç. Dr. Filiz KÖK, Yrd. Doç. Dr. Devrim BEYAZ, Araştırma Görevlileri Pelin KOÇAK ve Cemil ŞAHİNER'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayalim olan Yüksek Lisans yapmam konusunda beni teşvik eden, eğitim ve öğrenim sürecimde hiçbir zaman desteğini esirgemeyen sevgili eşim Fatma ACARGİL'e çok teşekkür ederim.