





## Microbial Quality of Frozen Retail Squid (*Todarodes pacificus*)

Halil YALÇIN<sup>1</sup>  Özlem Pelin CAN<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Burdur, Turkey

<sup>2</sup> Cumhuriyet University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Sivas, Turkey

Received: 24.09.2019

Accepted: 08.05.2020

### ABSTRACT

In this study, cleaned and frozen squid (*Todarodes pacificus*) samples were examined for *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *L. monocytogenes* and coagulase (+) *S. aureus*. One hundred ring-shaped squid samples, which were frozen in styrofoam plates, were collected from different sale points and brought to the laboratory under the cold chain. Each styrofoam dish containing approximately 500 g of ring squids in 6-8 cm diameter was regarded as one sample. In the study, 7 samples of *E. coli* (7%), 10 samples of *Pseudomonas* spp. (10%), 8 samples of coagulase (+) *S. aureus* (8%) and 5 samples of *L. monocytogenes* (5%) were determined in all samples examined. The highest number of *E. coli*, *Pseudomonas* spp. and coagulase (+) *S. aureus* in squid samples were  $4.7 \times 10^3$  cfu/g,  $7.0 \times 10^2$  cfu/g and  $8.9 \times 10^2$  cfu/g, respectively. Results indicate that, some of the squid samples were contaminated with bacteria that would endanger public health. It has been showed that microbiological controls of squid sold in the market should be performed frequently and precautions should be taken to prevent contamination during production.

**Keywords:** Squid, Microbial Quality, Hygiene, Public Health, *S. aureus*

### ÖZ

### Dondurularak Satılan Kalamarların (*Todarodes pacificus*) Mikrobiyal Kalitesi

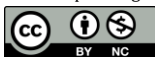
Bu çalışmada, temizlenmiş ve dondurulmuş kalamar (*Todarodes pacificus*) örnekleri *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *L. monocytogenes* ve koagülaz (+) *S. aureus* açısından incelenmiştir. Halka şekli verilen ve strafor tabaklarda dondurularak satılan 100 adet kalamar örneği farklı satış noktalarından toplanarak, soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Yaklaşık olarak 500 g ağırlığında ve içerisinde 6-8 cm çapında halka kalamar bulunan her strafor tabak bir örnek olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada incelenen örneklerin 7'sinde (%7) *E. coli*, 10'unda (%10) *Pseudomonas* spp., 8'inde (%8) koagülaz (+) *S. aureus* ve 5'inde (%5) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Kalamar örneklerinde en yüksek *E. coli*, *Pseudomonas* spp. ve koagülaz (+) *S. aureus* sayısı sırasıyla,  $4.7 \times 10^3$  kob/g,  $7.0 \times 10^2$  kob/g ve  $8.9 \times 10^2$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda, kalamar örneklerinin bir kısmının halk sağlığını tehlikeye sokacak bakterilerle kontamine olduğu belirlenmiştir. Piyasada satılan kalamarların mikrobiyolojik kontrollerinin sıklıkla yapılması ve üretim sırasında kontaminasyonun önüne geçecek tedbirlerin alınması gerektiği ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kalamar, Mikrobiyal Kalite, Hijyen, Halk Sağlığı, *S. aureus*

### GİRİŞ

Su ürünleri, insanların sağlıklı beslenmesi açısından gerekli bileşenleri istenilen düzeyde bulundurmaları yanı sıra iyi bir protein (%13.0-19.2) kaynağıdır (Deng ve ark. 2012). Kalamarlar, *Cephalopoda* sınıfından olup *Teuthoidea* takımında yer alan ülkemiz sularında önemli bir potansiyele sahip yumuşakçalardır. Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre kalamar üretimimiz 523 ton (TÜİK 2019). Diğer kafadan bacaklılarda olduğu gibi, kalamarların da manto ve kolları yenmektedir. Isıl işlem uygulanarak hazırlanmasının yanında çiğ ve yarı kuru halde de tüketilmektedir. Avcılığın yoğun yapıldığı dönemlerde elde edilen deniz ürünleri sonraki süreçlerde satılmak için donmuş olarak depolanmaktadır (Deng ve

ark. 2012). Bakteriyel, viral, paraziter ya da kimyasal faktörlerle gıdaların kontamine olmasıyla insanlarda ortaya çıkan hastalıklar dünyada geniş bir yelpaze içinde yer almaktadır (Teplitski ve ark. 2009). Taze kalamar %80'den fazla su içerdiğinden mikrobiyal faaliyete oldukça uygundur ayrıca işlenmesinde elle müdahale olduğundan patojen bakterilerce kontaminasyonu büyük risk teşkil etmektedir (Choi ve ark. 2012). Gıda sanayiinin gıda güvenliği konusunda ilerlemesine ve bilinçli tüketici kitlesinin oluşmasına rağmen deniz ürünlerinde *Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve patojenik vibrio türleri gibi bakteriler tespit edilmektedir (EFSA 2010; Beleneva 2011). Buna sebep olarak, gıdaların daha az işlenmesi ile ilgili taleplerin artması, global pazarların oluşması, uzun nakliye



ihtiyaçları, soğuk zincirin kırılması, patojen bakterilerin varlığına ve çoğalmasına sebep olacak yeni faktörlerin (antibiyotik kullanımı vs.) şekillenmesi gösterilmektedir (Rendueles ve ark. 2011; Vázquez-Sánchez ve ark. 2012). Su ürünleri, kaynağında ya da taşıma ve işleme sırasında birçok mikroorganizmayla kontamine olabilir. Önemli bir hijyen faktörü olan *E. coli* bağırsak kökenlidir. Bu bakterinin gıdalarda varlığı işleme sırasında yetersiz hijyeni veya işlem sonrasında çapraz bulaşmayı gösterir. Deniz ürünleri, insan listeriozisinin ve stafilokokkal infeksiyonlarının sebeplerinden biri olarak görülmektedir (Liston 1990; Rocourt ve Cossart 1997). İnsan eliyle yetiştirilmekte olan kültür balıklarının %80'nin *L. monocytogenes* ile kontamine olabileceği belirtilmiştir (Fenlon 1999). Araştırmacılar tarafından deniz suyu ve deniz canlılarında *L. monocytogenes*'in çoklu direnç gösteren suşlarının varlığı rapor edilmiştir (Rodas-Suárez ve ark. 2006).

*S. aureus* dünya genelinde insanlarda gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan bakterilerin başında gelmektedir (EFSA 2010; Bogdanovicova ve ark. 2017). Güney Kore'de kurutulmuş kalamarlarda *S. aureus* (1.00 log kob/g) ve koliform (0.90 log kob/g) bakterileri tespit edilmiş ve bunların kaynağının ham madde ve hijyen kurallarına dikkat edilmeden yapılan işleme sürecinde olabileceği ileri sürülmüştür (Lee ve ark. 2015). Vázquez-Sánchez ve ark. (2012), satış noktalarından temin ettikleri deniz ürünlerinin ortalama %25'nin *S. aureus* ile kontamine olduklarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar (Herrera ve ark. 2006) bu oranın taze ürünlerde %43, donmuş ürünlerde ise %30'lara kadar çıktığını ortaya koymuşlardır. Stafilokokkal infeksiyonların yaygınlığında bu bakterinin antibiyotik ve antimikrobiyal ilaçlara karşı dünya genelinde oldukça fazla direnç geliştirmiş olması etkili olabilir (Kérouanton ve ark. 2007).

Yüzeyde yapışkanlık oluşturarak gıdaları bozan ve düşük sıcaklıkta üreyebilen *Pseudomonas* spp. deniz ürünlerinde baskın florayı oluşturabilirler (Erkman 2013). Bir çok araştırmacı *Pseudomonas* spp.'nin kalamar dâhil deniz ürünleri için risk olabileceğini bildirmişlerdir (Vaz-Pires ve Barbosa 2004; Vaz-Pires ve ark. 2008). Balık etinde bulunan proteinler, bakteri kaynaklı proteazlar tarafından kolaylıkla parçalandığından birçok bakterinin gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Araştırmacılar taze palamutta toplam mezofilik aerobik bakteri 3.14 log kob/g, toplam maya-küf 2.92 log kob/g, toplam koliform bakteri 2.71 log kob/g düzeyinde, taze hamside ise aynı sıra ile 5.37 log kob/g, 2.81 log kob/g, 2.79 log kob/g seviyesinde tespit etmişlerdir (Çorapçı 2018). Gou ve ark. (2010), kalamar (*Todarodes pacificus*) örneklerinde genel hijyen için çok önemli bir belirteç olan toplam bakteri sayısını 3.91 log kob/g olarak belirlemişlerdir. Ülkemizde diğer deniz ürünlerine göre daha az avlanan kalamarın mikrobiyal kalitesine yönelik çalışmaların yetersiz kaldığı ve bu alandaki verilerin zenginleştirilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma, Mersin ve Sivas illeri ve çevresinde tüketime sunulan temizlenmiş ve dondurulmuş halde satılan kalamar örneklerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek ve sonuçları halk sağlığı açısından değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Bu çalışmada Mersin ve Sivas illerindeki perakende satış noktalarından alınan ve soğuk zincirle laboratuvara

getirilen 100 adet donmuş kalamar örneği (yaklaşık olarak 500 g ağırlığında, 6-8 cm çapında), 4±1 °C'de çözdürüldükten sonra standart metotlar kullanılarak *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas* spp. açısından incelenmiştir.

### Mikrobiyolojik Analizler

Örneklerde *E. coli* tespiti için, hazırlanan seri dilüsyonlardan Chromocult TBX (Tyrptone Bile X-glucuronide Agar; Merck, Darmstadt, Germany) agara yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyerindeki mavi-yeşil renkli koloniler *E. coli* olarak değerlendirilmiştir (ISO 2001). Çalışmamızda, *S. aureus*'u belirlemek için Baird Parker Agara (Merck, Darmstadt, Germany) seri dilüsyonlardan ekim yapılarak 35±1 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılan petrilere gelişen tüm tipik koloniler sayılmıştır. Tipik kolonilere doğrulama amacı ile koagülaz (Bactident® Coagulase rabbit, Merck, Darmstadt, Germany) testi uygulanmıştır. Gözle görülebilen bir aglütinasyon oluşturan koloniler koagülaz (+) *S. aureus* kabul edilmiştir (Halkman 2005). *L. monocytogenes* analizi, PALCAM (Merck, Almanya) ve OXFORD (Merck, Almanya) agar besiyerleri kullanılarak FDA-BAM metoduna göre yapılmıştır (US-FDA-BAM 2017). Tipik koloniler sayılarak seçilen kolonilerin doğrulaması Mini Vidas (Biomerieux, Fransa) cihazı ile yapılmıştır (Anonim 2017). *Pseudomonas* spp. sayımı için Cetrimide ilave edilmiş *Pseudomonas* Agar Base (Oxoid CM0559, İngiltere) besiyeri kullanılmıştır. Ekimi yapılan petrilere 25±1°C'de 2 gün inkübasyona tabi tutulmuş ve değerlendirilmiştir (Mendes ve ark. 2011).

## BULGULAR

Temizlenip, dondurularak satışa sunulan 100 adet halka kalamar örneğinin 25 tanesinde *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *L. monocytogenes* ve koagülaz (+) *S. aureus*'a rastlanmıştır. Bakteri tespit edilen örneklere ait değerler Tablo.1'de verilmiştir. Çalışmamızda örneklerin 10'unda (%10) *Pseudomonas* spp., 7'sinde (%7) *E. coli*, 5'inde (%5) *L. monocytogenes* ve 8'inde (%8) koagülaz (+) *S. aureus* tespit edilmiştir. Kalamar örneklerinde en yüksek *E. coli*, *Pseudomonas* spp. ve koagülaz (+) *S. aureus* sayısı sırasıyla, 4.7x10<sup>3</sup> kob/g, 7.0x10<sup>2</sup> kob/g ve 8.9x10<sup>2</sup> kob/g olarak tespit edilmiştir. Kalamarların üç tanesinde (%3) *Pseudomonas* spp. ve koagülaz (+) *S. aureus*'a, başka iki (%2) örnekte ise *Pseudomonas* spp. ve *E. coli*'ye birlikte rastlanmış olup, diğer örneklerde etkenler ayrı ayrı belirlenmiştir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Deniz ürünleri ile ilgili araştırma yapan Da Silva ve ark. (2010) Brezilya'da, Oh ve ark. (2007) Kore'de satış noktalarından sağlanan taze deniz ürünlerini, Simon ve Sanjeev (2007) Hindistan'da satılan donmuş ve kurutulmuş balıkçılık ürünleri çalışmışlardır. Araştırmamızda ise ülkemizdeki iki şehirden sağlanan ve dondurularak satılmakta olan kalamarların mikrobiyal kalitesi ortaya konulmuştur. Analize alınan ve mikrobiyal üreme tespit edilemeyen kalamarların, yakalama ve depolama şartlarının iyi olduğu, üretim aşamasında hijyen kurallarına dikkat edildiği ve sonrasında rekontaminasyon olmadığı, üretimin her aşamasındaki personelin kişisel hijyene dikkat ettiği ve uygulanan iyi bir gıda güvenliği sisteminin olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda, kontamine gıdalardan kaynaklanan birçok hastalık görülmekte ve bu hastalıklar özellikle hassas gruplarda (yaşlılar, çocuklar vb.) ölümlerle sonuçlanabilmektedir.

Su ürünleri yakalanması, üretilmesi, depolanması ve satışı sırasında mikrobiyal risklere açıktır (Ito ve ark. 2015). Bu nedenle düşük sıcaklıkta depolama işlemiyle mikrobiyal bozulma engellenerek ürünün raf ömrü uzatılabilir (Wang ve ark. 2003). Nitekim kalamar (*Todarodes pacificus*) örneklerinin soğuk muhafaza şartlarında 12 gün depolanmasıyla toplam bakteri sayısı 3.37 log kob/g artabilmektedir (Gou ve ark. 2010). Satış noktalarında kalamarların soğutulmuş olarak değil de dondurularak satılması ve bunun kontrol edilmesi gıda kalitesi ve güvenliği, halk sağlığı ve işletme ekonomisi açısından önem arz etmektedir.

*L. monocytogenes* soğuk muhafazaya alınan gıdalarda da üreyebildiği için deniz ürünleri sanayi açısından risk teşkil etmektedir. Bu nedenle birçok ülkede gıdalarda hiç bulunmaması yönünde kararlar alınmıştır. Deniz suyu ve deniz canlılarında *L. monocytogenes* ve *S. aureus* kontaminasyonu ciddi boyutlara ulaşmıştır. Son yıllarda Japon Denizi ve Güney Çin Denizi'nde; deniz suyu ve canlılarında *L. monocytogenes* sayısı sırasıyla, %5.9 ve 5.8

oranında tespit edilmiştir, *S. aureus* sayısı ise sırasıyla, %9.3 ve %20.4 olarak belirlenmiştir (Beleneva 2011). Çalışmamızda incelediğimiz örneklerin 5'inde (%5) *L. monocytogenes* ve 8'inde (%8) koagülaz (+) *S. aureus* tespit edilmesi kontaminasyonu ortaya koymaktadır. *L. monocytogenes* dondurulmuş ürünlerin çözündürülüp dondurulması ya da raflarda ısı suistimalinin olması durumunda çoğalabildiğinden gıda sektörü açısından önem arz etmektedir (Atasever 2011).

EFSA'nın 2010 yılında yayınladığı rapora göre *S. aureus*, Avrupa Birliği'nde balık ve balıkçılık ürünlerinde en fazla gıda salgınına sebep olan üçüncü bakteridir (EFSA 2010). Gıda ve çevre örneklerinde sıkça rastlanan *S. aureus* gıda işletmelerinde çalışan kişilerin saç ve derilerinden aynı zamanda ağız ve burunlarından ürünlere bulaşabilmektedir. *S. aureus* çevresel şartlara dayanıksız olmasına rağmen, bu bakteri tarafında üretilen toksinler başta ısı olmak üzere birçok faktöre karşı dayanıklıdır (Omoe ve ark. 2005).

**Tablo 1.** Dondurulmuş kalamar (*Todarodes pacificus*) örneklerinin mikrobiyolojik analiz bulguları (n=100)

**Table 1.** Microbiological analysis findings of frozen squid (*Todarodes pacificus*) samples (n=100)

	<i>E. coli</i> (kob/g)	<i>Pseudomonas</i> (kob/g)	spp.	Koagülaz (+) <i>S. aureus</i> (kob/g)	<i>L. monocytogenes</i> (Var-Yok/25 g)
1	<10	<10		<10	<b>Tespit edildi</b>
2	<10	5.0x10 <sup>1</sup>		4.4x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
3	4.2x10 <sup>3</sup>	7.0x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
4	<10	<10		<10	<b>Tespit edildi</b>
5	<10	<10		4.0x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
6	2.2x10 <sup>2</sup>	<10		<10	Tespit edilemedi
7	<10	1.0x10 <sup>2</sup>		4.0x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
8	<10	<10		7.1x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
9	5.5x10 <sup>2</sup>	<10		<10	Tespit edilemedi
10	<10	2.0x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
11	<10	2.0x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
12	<10	3.3x10 <sup>2</sup>		5.0x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
13	<10	<10		<10	<b>Tespit edildi</b>
14	1.7x10 <sup>3</sup>	3.0x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
15	<10	<10		1.6x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
16	9.4x10 <sup>2</sup>	<10		<10	Tespit edilemedi
17	<10	1.1x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
18	<10	<10		1.0x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
19	<10	<10		<10	<b>Tespit edildi</b>
20	<10	6.0x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
21	4.7x10 <sup>3</sup>	<10		<10	Tespit edilemedi
22	<10	<10		8.9x10 <sup>2</sup>	Tespit edilemedi
23	<10	<10		<10	<b>Tespit edildi</b>
24	<10	5.2x10 <sup>2</sup>		<10	Tespit edilemedi
25	5.0x10 <sup>2</sup>	<10		<10	Tespit edilemedi

Muhafaza koşulları bakterinin üremesinde çok etkili olduğundan depolama şartlarına dikkat edilmelidir. Zira bakteri sayısı  $10^6$  kob/g-ml düzeyine geldiğinde toksin üretilmektedir. Çalışmamızda örneklerin 8'inde (%8) koagülaz (+) *S. aureus* tespit edilmiştir. Ancak  $10^6$  kob/g düzeyine ulaşan bir kontaminasyon tespit edilememiştir. Bu sonuç kalamaların *S. aureus* açısından risk teşkil edebileceği anlamına gelmektedir. Öztürk ve Gündüz (2018a) analize aldıkları çiğ su ürünlerinin %58'inde, tüketime hazır su ürünlerinin ise %26'sında koagülaz pozitif *S. aureus* tespit etmişlerdir. González-Rodríguez ve ark. (2002), tütülenmiş-soğutulmuş ve vakum paketlenmiş tatl su balıklarında yaptıkları çalışmada 54 örneğin 3'ünün(%5.5) *S. aureus* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Normanno ve ark. (2005), çiğ tüketilen İtalyan balıkçılık ürünlerinde (mürekketbalığı vb.) bu oranı %10 olarak belirtmişlerdir. Araştırmaya konu olan su ürünlerinin farklılığı ve avlanma, işleme, muhafaza şartları gibi değişkenlerin oransal farklılığa etki ettiği düşünülmektedir. Bu riski elimine etmek için kurutulmuş kalamara "corona discharge plasma" tekniği uygulanmış ve *S. aureus* sayısında 0.9 log, toplam bakteride 2.0 log azalma sağlanmıştır (Choi ve ark. 2017).

Taze su ürünleri yakalandıkları ortama bağlı olarak değişik oranlarda bakteri ile kontamine olabilir. Ancak uygun şartlarda muhafaza edilmeleri ve işlenmeleri ile bu risk minimize edilebilmektedir (Herrera ve ark. 2006). Su ürünlerinin doğal floranın parçası olmayan stafilkokların varlığı yakalanma, üretim, işleme, paketlenme, satış ve servis aşamalarında kontaminasyonu işaret eder. Simon ve Sanjeev (2007), balıkçılık sektöründe çalışan işçilerin %62'sinin enterotoksijenik *S. aureus* yönünden pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Onmaz ve ark. (2015), satış noktalarından temin edilen balıklarda(hamsi, alabalık, çipura) bu oranı %30 olarak belirlemişlerdir. Herrera ve ark. (2006), *S. aureus* görülme sıklığını taze su ürünlerinde %43 donmuş su ürünlerinde ise %30 düzeyinde belirlemiştir. Zerai ve ark. (2012), dondurulmuş karides ve çiğ balık örneklerinin %17.5'inde *S. aureus* tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar tarafından taze ve dondurulmuş ürünlerin füme, tuzlanmış ve hazır pişmiş su ürünlerinden daha fazla *S. aureus* riski taşıdığı belirtilmiştir. Araştırmamızda ise kalamar örneklerinin %8'inde koagülaz (+) *S. aureus* tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların üretim tekniklerinden, numune sayısı ve izolasyon metodunun farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Öztürk ve Gündüz (2018b), ısı işlem görmüş midye dolmalarında *S. aureus* sayısının <math>2.00-5.04 \log \text{ kob/g}</math>, Kök ve ark. (2015) ise *S. aureus* sayısını 2-4.55 kob/g olarak belirlemişlerdir. Bir gıdada *S. aureus* varlığı, uygun olmayan işleme prosesine ve çapraz bulaşma olasılığına işaret ettiğinden (Kışla ve Üzgün 2008), örneklerimizin %8'inde koagülaz (+) *S. aureus* tespit edilmiş olması, işlem görmüş deniz ürünlerinde kontaminasyon olabileceğini ortaya koymaktadır. Buz ( $2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) içerisinde tutulan kalamaların başlangıçta  $10^2-10^3 \text{ kob/cm}^2$  olan genel canlı sayısı 12-13. günlerde  $10^4 \text{ kob/cm}^2$  sayısına ulaşmış, aynı şartlarda *Pseudomonas* ise  $4.5 \log \text{ kob/cm}^2$  düzeyinde tespit edilmiştir. Başlangıçta düşük seyreden genel canlı sayısının 10. günden sonra hızla arttığı *Pseudomonas*'ın ise depolamanın 6. gününden sonra ciddi düzeyde arttığı belirlenmiştir. Kalamar örneklerinde *Enterobacteriaceae* sayısının oldukça düşük ( $0.5 \log \text{ kob/cm}^2$ ) olduğu ve bunun da önemli olmadığı ifade edilmiştir (Vaz-Pires ve ark. 2008). Vaz-Pires ve Barbosa (2004), ahtapot örneklerinde  $2.7 \log \text{ kob/g}$  düzeyinde *Pseudomonas* belirlendiğini, bu sayının  $3 \log \text{ kob/g}$  düzeyine ulaştığında

duyusal bozukluğun başladığını belirtmiştir. Çalışmamızdaki kalamar örneklerinde bu düzeyin altında ( $1.0 \times 10^2-7.0 \times 10^2$ ) *Pseudomonas* spp. tespit edilmiştir.

Diğer deniz ürünlerinde olduğu gibi kalamarında satışında ve kabul edilebilirliğinde duyuşal mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri ön plana çıkmaktadır. Huss (1998)'e göre, bakterilerin balıkların kas dokusuna geçebilmesi için  $10^6 \text{ kob/cm}^2$  düzeyine ulaşması gerekmektedir. Kalamarın da içinde bulunduğu kafadan bacaklılarda enzimatik aktivite çok hızlı olduğundan bakteriler derin dokulara ulaşacak kadar çoğalamayabilir. Çalışmamızda bazı örneklerde bakterilerin çok az tespit edilmesi ya da hiç tespit edilememiş olması bu teori ile uyumludur. Kalamar örneklerinin mikrobiyal yükünün farklı olmasında, yakalandıkları ya da yetiştirildikleri suların yanı sıra depolama, işleme ve satış noktalarının farklı hijyenik şartlarda olması ve üretimde çalışan kişilerin temizlik anlayışlarının değişken olmasının etkisi olabilir (Vaz-Pires ve Barbosa 2004). Ayrıca kalamardaki yüksek su aktivitesi ( $\geq 0.98$ ) ve nötre yakın pH ( $\geq 6.0$ ) mikrobiyal gelişim için diğer deniz ürünlerinden daha uygun ortam oluşturmaktadır (Erol 2007; Erkman 2013). Deniz ürünlerinde hijyen, yakalandığı andan itibaren gemilerde başlayan ve işleme aşamalarını takiben satış noktalarında devam eden bir süreçtir. Kalamarlar mikrobiyal açıdan iyi olan sularda yakalanmış olsa bile işleme ve paketlenme sırasında sekonder ve çapraz kontaminasyonla başta *E. coli* olmak üzere birçok bakteri ile bulaşmış olabilir. *E. coli*, gıdaya üretim ve muhafaza sırasında personelden, hammaddeden, alet ve ekipmandan bulaşabilmektedir. Çalışmamızda incelenen dondurulmuş kalamaların %7'sinde ( $2.2 \times 10^2-4.7 \times 10^3$ ) *E. coli* tespit edilmiştir. Gıdalarda *E. coli* tespiti bağırsak kaynaklı kontaminasyona ve işletmelerde uygulanan sanitasyonun yetersiz olduğuna işaret etmektedir.

Dondurma işlemi ile balıktaki mikrobiyal yük azaltılmasına rağmen ürünlerde belirli sayıda bakteri bulunabilmektedir. Vaz-Pires ve ark. (2008) 13 gün boyunca buzda depolanan kalamarların (*Illux coindetii*) *Enterobacteriaceae* sayısının  $0.5 \log \text{ kob/cm}^2$ 'yi geçmediğini bildirmişlerdir. Dondurularak ( $-22 \text{ }^\circ\text{C}$ ) muhafaza edilen bazı deniz balıklarında (Hamsi ve Palamut) 12 aylık depolama sonunda dahi toplam mezofilik aerobik bakteri Palamutta  $2.90 \log \text{ kob/g}$ , hamside  $3.28 \log \text{ kob/g}$ , toplam maya-küf ise aynı sırayla  $2.69 \log \text{ kob/g}$ ,  $2.54 \log \text{ kob/g}$  düzeyinde belirlenmiştir (Çorapçı 2018). Ben-Gigirey ve ark.(1998),  $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de ve  $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 9 ay süreyle muhafaza edilen beyaz ton balıklarında (*Thunnus alalunga*) mikrobiyal yükte azalma olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda kullandığımız dondurulmuş kalamar örneklerinin  $\frac{1}{4}$ 'ünün değişik bakterilerle kontamine olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, her gıda maddesi gibi kalamarlarda üretim, depolama, satış ve servis sırasında değişik düzeylerde mikrobiyal kontaminasyona maruz kalabilmektedir. Elde edilen bulgularla kalamarlarda çapraz bulaşmaların olabileceği ve temas eden personelin kişisel temizliğine dikkat etmediği belirlenmiştir. Araştırma sonucunda kalamar örneklerinin patojen (%5 *L. monocytogenes*) bakteriler açısından risk taşıyabileceği ortaya konulmuştur. Mikrobiyolojik açıdan daha iyi dondurulmuş kalamar üretmek için işletmelerde gıda güvenliği sistemleri etkin bir şekilde uygulanmalı, çalışan personel gerekli hijyen bilgisi ile donatılmalı ve soğuk zincire dikkat edilmelidir. Halk sağlığı açısından risk grubu gıdalar içerisinde değerlendirebileceğimiz deniz ürünlerinin düzenli kontrollerinin sıklıkla yapılması ve tüketicinin

deniz ürünlerinden kaynaklanabilecek sorunlarla ilgili bilgilendirilmesi önerilmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## KAYNAKLAR

- Anonim (2017).** VIDAS. Biomerieux Vidas protokolü. VIDAS LMO2 AFNOR BIO-12/11-03/04).
- Atasever MA (2011).** Kıymalarda bazı patojenlerin izolasyon ve identifikasyonu. Tez (Doktora). Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Beleneva IA (2011).** Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Mar Pollut Bull*, 62, 382-387.
- Ben-Gigirey B, Sousa JMVB, Villa TG, Barros-Velazquez J (1998).** Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *J Food Prot*, 61, 608-615.
- Bogdanovicova K, Necidova L, Harustiakova D, Janstova B (2017).** Milk powder risk assessment with *Staphylococcus aureus* toxigenic strains. *Food Control*, 73, 2-7.
- Choi KD, Park UY, Shin IS (2012).** Microbial contamination of seasoned and dried squid *Dosidicus gigas* during processing. *Korean J Fish Aquat Sci*, 45, 445-453.
- Choi S, Puligundla P, Mok C (2017).** Effect of corona discharge plasma on microbial decontamination of dried squid shreds including physico-chemical and sensory evaluation. *LWT - Food Sci Technol*, 75, 323-328.
- Çorapçı B (2018).** Ön işlemsiz donmuş depolanan (-22± 1 °C) hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının duyuşsal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda*, 43, 1075-1090.
- Da-Silva ML, Matté GR, Germano PML, Matté MH (2010).** Occurrence of pathogenic microorganisms in fish sold in São Paulo, Brazil. *J Food Safety*, 30, 94-110.
- Deng Y, Wang Y, Song X, Huang H, Qian B, Zhang H (2012).** Changes in soluble protein and antioxidant property of squid (*Illex illecebrosus* LeSueur) fillets dried in a heat pump dryer using far-infrared radiation. *Philipp Agric Sci*, 95, 386-393.
- EFSA (2010).** European Centre for Disease Prevention and Control, 2010. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA Journal*, 8, 1496.
- Erkman O (2013).** Gıda Mikrobiyolojisi. Efil Yayınevi, Ankara.
- Erol İ (2007).** Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara.
- Fenlon DR (1999).** *Listeria monocytogenes* in the natural environment. In "Listeria, Listeriosis and Food Safety", (Ed), Ryser ET, Marth EH, Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- González-Rodríguez MN, Sanz JJ, Santos JA, Otero A, García-López ML (2002).** Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level. *Int J Food Microbiol*, 77, 161-168.
- Gou J, Lee HY, Ahn J (2010).** Effect of high pressure processing on the quality of squid (*Todarodes pacificus*) during refrigerated storage. *Food Chem*, 119, 471-476.
- Halkman K (2005).** Merck Mikrobiyoloji El Kitabı. Başak Matbaacılık, Ankara.
- Herrera FC, Santos JA, Otero A, García-López ML (2006).** Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. *J Appl Microbiol*, 100, 527-536.
- Huss HH (1998).** El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. [FAO Documento Técnico de Pesca No. 348]. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- International Organization for Standardization (ISO 16649-2) (2001).** Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.
- Ito M, Shiozaki A, Shimizu M, Saito S (2015).** Hemolytic- uremic syndrome with acute encephalopathy in a pregnant woman infected with epidemic enterohemorrhagic *Escherichia coli*: characteristic brain images and cytokine profiles. *Int J Infect Dis*, 34, 119-121.
- Kérouanton A, Hennekinne JA, Letertre C, et al. (2007).** Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *Int J Food Microbiol*, 115, 369-375.
- Kışla D, Üzgün Y (2008).** Microbiological evaluation of stuffed mussels. *J Food Prot*, 71, 616-620.
- Kök F, Şahiner C, Koçak P, Göksoy EÖ, Beyaz D, Büyükyörük S (2015).** Determination of microbiological quality of stuffed mussels sold in Aydın and İzmir. *MANAS J Eng*, 3, 70-76.
- Lee ES, Park SY, Ha SD (2015).** Effect of UV-C light on the microbial and sensory quality of seasoned dried seafood. *Food Sci Technol Int*, 22, 213-220.
- Liston J (1990).** Microbial hazards of seafood consumption toxins, bacteria and viruses are the principal causes of sea foodborne diseases. *Food Technol*, 44, 58-62.
- Mendes R, Silva HA, Anacleto P, Cardoso C (2011).** Effect of CO<sub>2</sub> dissolution on the shelf life of ready-to-eat *Octopus vulgaris*. *Innov Food Sci Emerg*, 12, 551-561.
- Normanno G, Firinu A, Virgilio S, et al. (2005).** Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol*, 98, 73-79.
- Oh SK, Lee N, Cho YS, Shin DB, Choi SY, Koo M (2007).** Occurrence of toxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat food in Korea. *J Food Protect*, 70, 1153-1158.
- Omoe K, Dong-Liang H, Takahashi-Omoe H, Nakane A, Shinagawa K (2005).** Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. *FEMS Microbiol Lett*, 246, 191-198.
- Onmaz NE, Abay S, Karadal F, Hizlisoy H, Telli N, Al S (2015).** Occurrence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in retail fish samples in Turkey. *Mar Pollut Bull*, 90, 242-246.
- Öztürk F, Gündüz H (2018a).** İzmir'de satışa sunulan su ürünlerinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus*'un insidansı ve antibiyotik direnci. *Gıda*, 43, 313-320.
- Öztürk F, Gündüz H (2018b).** Tüketime hazır midye dolmalarının mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Gıda*, 43, 745-750.
- Rendueles E, Omer MK, Alvseike O, Alonso-Calleja C, Capita R, Prieto M (2011).** Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: a review. *LWT - Food Sci Technol*, 44, 1251-1260.
- Rocourt J, Cossart P (1997).** *Listeria monocytogenes*. In: "Food Microbiology-Fundamentals and Frontiers", (Ed), Doyle MP, Buechat LR, Montville TJ, American Society for Microbiology (ASM) Press, Washington DC.
- Rodas-Suárez OR, Flores-Pedroche JF, Betancourt-Rule JM, Quiñones-Ramírez EI, Vázquez-Salinas C (2006).** Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from oysters, fish, and estuarine water. *Appl Environ Microb*, 72, 7410-7412.
- Simon SS, Sanjeev S (2007).** Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control*, 18, 1565-1568.
- Teplitski M, Wrigh AC, Lorca G (2009).** Biological approaches for controlling shellfish-associated pathogens. *Curr Opin Biotechnol*, 20, 185-190.
- Türkiye İstatistik Kurumu (2019).** Avlanan diğer deniz ürünleri (kabuklu, yumuşakçalar) miktarı.
- US-FDA (2017).** Bacteriological Analytical Manual, Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in foods and environmental samples, and enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods.
- Vázquez-Sánchez D, López-Cabo M, Saá-Ibuzquiza P, Rodríguez-Herrera JJ (2012).** Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). *Int J Food Microbiol*, 157, 286-296.
- Vaz-Pires P, Barbosa A (2004).** Sensory, microbiological, physical and nutritional properties of iced whole common octopus (*Octopus vulgaris*). *LWT - Food Sci Technol*, 37, 105-114.
- Vaz-Pires P, Seixas P, Mota M, et al. (2008).** Sensory, microbiological, physical and chemical properties of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*) stored in ice. *LWT - Food Sci and Technol*, 41, 1655-1664.
- Wang H, Liceaga-Gesualdo AM, Li-Chan ECY (2003).** Biochemical and physical characteristics of muscle and natural actomyosin isolated from young Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at 0 and 4 °C. *J Food Sci*, 68, 784-789.
- Zarei M, Maktabi S, Ghorbanpour M (2012).** Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in seafood products using Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Foodborne Pathog Dis*, 9, 108-112.