



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ENTEROBACTERIACEAE ANALİZİ İÇİN TEMPO CİHAZI İLE KLASİK
METODUN KARŞILAŞTIRILMASI: METOT VERİFİKASYONU VE ÖLÇÜM
BELİRSİZLİĞİ HESAPLAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman YAHYAOĞLU

**MAYIS 2019
GÜMÜŞHANE**

**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSİ ANABİLİM DALI

**ENTEROBACTERIACEAE ANALİZİ İÇİN TEMPO CİHAZI İLE KLASİK
METODUN KARŞILAŞTIRILMASI: METOT VERİFİKASYONU VE ÖLÇÜM
BELİRSİZLİĞİ HESAPLAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman YAHYOĞLU

**Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 16.05.2019
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 30.05.2019**

MAYIS 2019



KABUL ve ONAY



Prof. Dr. Ali GÜNDOĞDU danışmanlığında **Osman YAHYAOĞLU** tarafından hazırlanan **“ENTEROBACTERIACEAE ANALİZİ İÇİN TEMPO CİHAZI İLE KLASİK METODUN KARŞILAŞTIRILMASI: METOT VERİFİKASYONU VE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ HESAPLAMALARI”** isimli bu çalışma jürimiz tarafından Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği** Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak Oy Birliği ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Hüseyin SERENCAM

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Ali GÜNDOĞDU

Üye : Doç. Dr. Cemalettin BALTACI

ONAY

Bu tez 26/6/19 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ferkan SİPAHİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda tezin yazımına ait kurallara uygun olarak hazırladığım “Enterobacteriaceae Analizi İçin Tempo Cihazı ile Klasik Metodun Karşılaştırılması: Metot Verifikasyonu ve Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları” isimli yüksek lisans tezi çalışmasında; söz konusu tüm bilgi ve belgeleri genel akademik kurallara göre elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 16.05.2019



Osman YAHYAOĞLU

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ENTEROBACTERIACEAE ANALİZİ İÇİN TEMPO CİHAZI İLE KLASİK
METODUN KARŞILAŞTIRILMASI: METOT VERİFİKASYONU VE ÖLÇÜM
BELİRSİZLİĞİ HESAPLAMALARI**

Osman YAHYAOĞLU

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali GÜNDOĞDU

2019, 49 sayfa

Bu çalışmada, ISO 21528-2 standardının kullanıldığı klasik yöntem ve TEMPO hızlı test yöntemi olmak üzere iki farklı metotla çalışılarak Enterobacteriaceae analizi için metotların karşılaştırılması yapıldı. Hızlı test metodunun verifikasyon parametreleri ve ölçüm belirsizliği hesaplanarak alternatif metot olan TEMPO hızlı test yönteminin doğrulaması yapılmıştır. Tüm gıdaları temsilen standardın belirttiği gıda tiplerinden dört farklı matriks ile tekrarlanabilirlik, tekrarüretilebilirlik, geri kazanım, yeterlilik testi, logaritmik fark, ölçüm belirsizliği çalışmaları ve hesaplamaları yapılmıştır. Farklı 2 seviyede 6'şar tekrarlı ve 2 kişi tarafından çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda Tekrarlanabilirlik standart sapması S_r logaritmik olarak 0,05-0,25 değerleri arasında kalmıştır. Tekrarüretilebilirlik standart sapması S_R logaritmik 0,09

olarak hesaplanmıştır. Ölçüm belirsizliği değeri dört farklı gıda ve yem tipi için sırasıyla logaritmik 0,0673 – 0,0680 – 0,0810 – 0,0547 – 0,0352 olarak hesaplanmıştır. Metotlar arası karşılaştırmada klasik yöntem ve cihaz ile elde edilen sonuçlar arasındaki maksimum fark logaritmik olarak 0,44 olarak tespit edilmiştir. Metotlar arasındaki korelasyon değerleri; süt 0,9385, dondurma 0,9589, fındık 0,9318, peynir 0,9378 ve balık yağı 0,9603 olarak hesaplanmıştır. Tüm gıdalar ve yemdeki korelasyon değeri 0,9283'tür.

TEMPO hızlı test sisteminin klasik yöntemlerdeki gibi sonuçların doğru ve güvenilir olmasının yanı sıra çeşitli avantajları saptanmıştır. TEMPO hızlı test sistemi ile besiyeri hazırlama, ekim, sonuç değerlendirme ve hesaplama işlemlerinin cihazın kendi içinde yapılması ve bunların yanında doğrulama basamağının olmaması nedeniyle klasik metoda göre analiz süresinin kısaltılabilmesi ve çalışma kolaylığı sağlaması TEMPO test sisteminin önemli bir avantajı olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Doğruluk, Enterobacteriaceae, Kesinlik, Ölçüm belirsizliği, Standart sapma, Tekrarlanabilirlik, Tekrarüretilebilirlik, TEMPO, Verifikasyon

ABSTRACT

MS THESIS

COMPARISON OF TEMPO SYSTEM AND CLASSICAL METHOD FOR ENTEROBACTERIACEAE ANALYSIS: METHOD VERIFICATION AND MEASUREMENT UNCERTAINTY CALCULATIONS

Osman YAHYAOĞLU

Gümüşhane University

The Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ali GÜNDOĞDU

2019, 49 Pages

In this study, the methods of Enterobacteriaceae analysis were performed by using two different methods, namely the classical method using ISO 21528-2 and TEMPO rapid test method. Verification parameters and measurement uncertainty of the rapid test method were calculated and validation of the TEMPO rapid test method was performed. Repeatability, reproducibility, recovery, proficiency testing, logarithmic difference, measurement uncertainty studies and calculations were made with four different matrixes from the food types specified by the standard to represent all foods. 6 different replicates and 2 studies were carried out on 2 different levels.

Reproducibility standard deviation S_r remained logarithmically between 0.05-0.25. The standard deviation of reproducibility was calculated as S_R logarithmic 0,09. The measurement uncertainty value was calculated as logarithmic 0,0673 - 0,0680 - 0,0810 - 0,0547 - 0,0352 for four different food and feed types, respectively. In comparison between the methods, the maximum difference between the classical method and the results obtained with the device was determined logarithmically as 0,44. The values of correlation are calculated as; milk 0,9385, ice cream 0,9589, hazelnuts 0,9318, cheese 0,9378 and fish oil 0,9603. The correlation value of all foods and feed is 0,9283.

The results of the TEMPO rapid test system, as well as the classical methods, were found to be accurate and reliable, as well as several advantages. Due to the fact that the TEMPO rapid test system was used to prepare the media, sowing, result evaluation and calculation procedures within the device and also without the verification step, the analysis time according to the classical method and the ease of operation were determined as a significant advantage of the TEMPO test system.

Keywords: Accuracy, Enterobacteriaceae, Precision, Uncertainty, Standard deviation, Repeatability, Reproducibility, TEMPO, Verification.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmaya destek sağlayan Gümüşhane Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her zaman bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Sayın Hocam Prof. Dr. ALİ GÜNDOĞDU başta olmak üzere tezime katkılarından dolayı Doç. Dr. Cemalettin BALTACI, Doç. Dr. Osman ÜÇÜNCÜ ve Dr. Öğr. Üyesi Bülent AKAR hocalarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarını her zaman destekleyen Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvarı Müdürü Sayın Esra Gül KARANİS'e, laboratuvar çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'ne, çalışmalarımda bilgi ve deneyimlerimden faydalandığım iş arkadaşlarım Emine MERAL, Adem ADIGÜZEL, Kübra ÇAKIROĞLU ve çalışmalarımda yardımcı olan Gamze KARABAĞ ile Esmâ YILMAZ'a, tez yazım aşamasında desteğini eksik etmeyen değerli arkadaşım Yasemin YAVUZ'a teşekkür ederim.

Eğitim ve öğrenim hayatımda bana her zaman destek olan, tüm imkânlarıyla her an yanımda olan babam Ali YAHYAOĞLU, annem Feride YAHYAOĞLU, ablalarım Tuba KURAL ve Sabire GÜRSES'e, yüksek lisans süreci boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini eksik etmeyen eşim Zeynep YAHYAOĞLU ve oğlum Mehmet Ali YAHYAOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Osman YAHYAOĞLU
Gümüşhane, 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.1.1. Gıda Güvenliği ve Mikrobiyolojik Analizler	1
1.1.2. Verifikasyon	5
1.1.3. Hızlı Test Sistemleri ve TEMPO	11
1.2. Önceki Çalışmalar	15
1.3. Çalışmanın Amacı	18
1.4. Çalışmanın Kapsamı.....	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	20
2.1. Enterobacteriaceae Sayımı (Koloni Sayım Tekniği)	20
2.1.1. Cihaz ve Malzemeler	20
2.1.2. Besiyerleri ve Reaktifler	21
2.1.2.1. Peptonlu Su (PS).....	21
2.1.2.2. Violet Red Bile Glukoz Agar (VRBGA).....	21
2.1.2.3. Nutrient Agar	21
2.1.2.4. Glukoz OF Besiyeri	22
2.1.2.5. Oksidaz Test Kiti	22
2.1.2.6. Steril Mineral Yağ	22
2.1.3. İşlem	23
2.1.3.1. Ekim.....	23
2.1.3.2. Hesaplama ve Sonuçlar.....	23
2.2. Enterobacteriaceae Sayımı (TEMPO)	24
2.2.1. Cihaz ve Malzemeler	24

2.2.2.	Besiyerleri ve Reaktifler	25
2.2.3.	İşlem	25
2.2.3.1.	Ekim.....	25
2.2.3.2.	Hesaplama ve Sonuçlar.....	25
2.3.	Verifikasyon Çalışmaları	26
2.3.1.	Kesinlik Çalışmaları	26
2.3.1.1.	Tekrarlanabilirlik (Sr) Çalışması	26
2.3.1.2.	Tekrarüretilebilirlik (SR) Çalışması	27
2.3.2.	Doğruluk Çalışmaları.....	27
2.4.	Belirsizlik Kaynakları ve Hesaplanması.....	27
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
3.1.	Tekrarlanabilirlik (Sr) Çalışmaları	28
3.2.	Tekrarüretilebilirlik (SR) Çalışmaları	32
3.3.	Doğruluk Çalışmaları.....	33
3.3.1.	Geri Alma Çalışması.....	33
3.3.2.	Yeterlilik Testi	34
3.3.3.	Kör Çalışma	34
3.4.	Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları ve Raporlama	35
3.4.1.	Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları	35
3.4.2.	Belirsizliğin Raporlanması	37
3.5.	Metot Karşılaştırma	38
4.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	44
5.	KAYNAKLAR	46
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	TEMPO besiyeri şişesi ve numune kartı.....	12
Şekil 1.2.	TEMPO numune kartı – pozitif kuyucuklar	12
Şekil 1.3.	Rack üzerinde okuma ünitesine verilmek üzere hazırlanmış besiyeri şişeleri ve numune kartları	13
Şekil 1.4.	TEMPO dolum ve okuma üniteleri.....	13
Şekil 1.5.	TEMPO dolum ünitesi	14
Şekil 1.6.	TEMPO okuma ünitesi	15
Şekil 2.1.	Çalışmada kullanılacak numunelerin alt örnekleme sayıları	26
Şekil 3.1.	Tüm gıdalar ve yemde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafığı.....	38
Şekil 3.2.	Süt örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafığı	39
Şekil 3.3.	Dondurma örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafığı.....	40
Şekil 3.4.	Fındık örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafığı.....	41
Şekil 3.5.	Peynir örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafığı.....	42
Şekil 3.6.	Balık yağı örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafığı.....	43

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 3.1.	Süt için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist).....	28
Tablo 3.2.	Süt için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist).....	28
Tablo 3.3.	Dondurma için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist).....	29
Tablo 3.4.	Dondurma için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist).....	29
Tablo 3.5.	Fındık için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)	30
Tablo 3.6.	Fındık için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)	30
Tablo 3.7.	Peynir için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)	31
Tablo 3.8.	Peynir için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)	31
Tablo 3.9.	Balık yağı için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)	32
Tablo 3.10.	Balık yağı için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)	32
Tablo 3.11.	Tekrarüretilebilirlik sonuçları	32
Tablo 3.12.	Doğruluk çalışmaları – geri alma çalışması.....	33
Tablo 3.13.	Doğruluk çalışmaları – yeterlilik testi.....	34
Tablo 3.14.	Negatif kontrol çalışması	34
Tablo 3.15.	Süt örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları	35
Tablo 3.16.	Dondurma örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları.....	35
Tablo 3.17.	Fındık örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları	36
Tablo 3.18.	Peynir örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları	36
Tablo 3.19.	Balık yağı örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları	37
Tablo 3.20.	Süt örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları.....	39
Tablo 3.21.	Dondurma örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları	40
Tablo 3.22.	Fındık örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları.....	41
Tablo 3.23.	Peynir örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları.....	42
Tablo 3.24.	Balık yağı örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları.....	43

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AOAC	: Association of Official Analytical Chemists
cfu	: Clony forming unit
CSIRO	: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation
ECCO	: European Culture Collections' Organisation
EFSA	: European Food Safety Authority
FAO	: Food and Agricultural Organization
FDA	: Food and Drug Administration
g	: Gram
GHP	: Good Hygiene Practices
GLP	: Good Laboratory Practices
GMP	: Good Manufacturing Practices
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points
ISO	: International Organization for Standardization
kob	: Koloni oluşturan birim
L	: Litre
mL	: Mililitre
SRM	: Sertifikalı Referans Malzeme
USDA	: United States Department of Agriculture
WFCC	: World Federation for Culture Collections
WHO	: World Health Organization
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrad Derece
%	: Yüzde

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

1.1.1. Gıda Güvenliği ve Mikrobiyolojik Analizler

İnsanların fizyolojik ihtiyaçlarının arasında ilk sırada gıda gelmektedir. Sağlıklı bir gelişim için güvenilir gıdaların vücuda alınması mutlak gerekmede olup alınmaması durumunda çeşitli sağlık problemleri ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, sağlıklı ve dengeli beslenme, sağlıklı ve verimli yaşamının temelini oluşturmaktadır (Dayılar, 2018; Topuzoğlu vd., 2007; Yurdakul, 2004).

Nüfus artışı ile birlikte insanların ihtiyacını karşılayacak olan gıdaların da yetersizliği sorunu ortaya çıkmaktadır. Bu durum farklı gıda tiplerinin üretilmesine, fabrikasyon ürünlerin ortaya çıkmasına ve gıda çeşitliliğinin artmasına neden olmuştur. Ortaya çıkan ürünlerin çeşitliliği ve birçok aşamadan geçmesi bu ürünlerin sağlıklı olup olmaması konusunu akıllara getirmektedir. Üretimin yapılış aşamaları, hijyen şartları ve katkı içerikleri tüketicilerin satın alma aşamasında karar verme eğilimlerini etkilemektedir (Dayılar, 2018).

Tüketilen gıdaların vücutu besleme ve sağlıklı kalma ihtiyacını karşılaması gerektiğinden ham madde ve üretim şartlarından kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıklar çok önemli bir sorun haline gelmektedir. Tüm dünyada yılda ortalama 1,9 milyonu çocuk olmak üzere 2,2 milyon insan gıda ve su kaynaklı hastalıklardan yaşamını yitirmektedir. Dolayısıyla gıda güvenliği bu noktada çok önemli bir konu haline gelmektedir (İba, 2013).

Gıda güvenliği konusu, İkinci Dünya Savaşı sırasında baş gösteren kıtlık döneminde ulusal güvenlik ve toplumsal bir ihtiyaç olarak devlet politikaları haline gelmiştir ve böylece 16 Ekim 1945'te FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) kurulmuştur (İba, 2013).

1963 yılında FAO ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından Codex Alimentarius'un kurulmasıyla gıda standartlarının belirlenmesi sağlanmış ve bu kodeks referans olmuştur (İba, 2013). 1983 yılında ise FAO ve WHO, Gıda Güvenliği Uzman Komitesi'ni oluşturmuştur (Dayılar, 2018).

Tüketilecek gıdaların sağlıklı veya güvenilir olması gıda güvenilirliği olarak tanımlanabilmektedir (İba, 2013). FAO'da gıda güvenliği "sağlıklı bir gıda üretimini

gerçekleştirmek amacıyla gıdaların üretimden en son dağıtım aşamalarına kadar olan süreçlerde uyulması gereken kurallara uyulması ve önlem prosedürlerinin oluşturulup uygulanması” olarak tanımlanmaktadır (Dayılar, 2018).

Gıda güvenliği dört aşamadan oluşmaktadır. Bunlar; (i) gıda maddelerinin sağlığa zarar veren etkenler ile temasının önlenmesi, (ii) etkenlerin elimine edilmesi, (iii) bu etkenlerin çoğalarak yayılmasının önlenmesi ve (iv) etkilerinin yok edilmesidir (Dayılar, 2018).

Gıda güvenliği konusunda bilimsel tavsiyeler verme, acil durum alarmları oluşturulması, tüketicilerle iletişim kurulması, ulusal ve bilimsel kuruluşların birbirleriyle bağlantılarının sağlanması amacıyla 2002 yılında Avrupa Birliği’nin bağımsız bir kuruluşu olan EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) kurulmuştur (Dayılar, 2018).

Türkiye’de bu konu ilk defa 1952 yılında, “Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük” hazırlanması, 1954 yılında TSE’nin kurulması ile başlayıp 1995 yılında 560 sayılı, “Gıdaların Üretim, Tüketim ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararname”nin çıkması, 1997 yılında Türk Gıda Kodeksinin yayınlanması ve bunların günümüze kadar güncellenerek gelmesi ile 2011 yılında 28145 sayılı Resmi Gazete’de, “Gıda Hijyeni Yönetmeliği, Gıda İşletmelerinin Kayıt ve Onay İşlemlerine Dair Yönetmelik”, 2012 yılında “Gıda ve Yemin Resmi Kontrollerine Dair Yönetmelik” yayınlanarak hayata geçirilmiştir (Dayılar, 2018).

Bu kanun ve tebliğler sayesinde üretimin tüm basamaklarında kontrolü sağlayacak düzenlemeler yapılmaya başlanmış olup risk yönetimi kısmında kullanılan HACCP (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları) gibi kavramlar literatüre girmeye başlamıştır (İba, 2013).

Günümüzde çok çeşitli kalite sistemleri bulunmaktadır. Bunlardan bazıları şunlardır;

- ✓ Gıda Güvenliği Sistemi (HACCP, GMP - İyi üretim uygulamaları, GHP - İyi hijyen uygulamaları, GLP - İyi laboratuvar uygulamaları).
- ✓ ISO 22000 Gıda Zincirindeki Herhangi Bir Organizasyon İçin Gereksinimler.
- ✓ Kalite Güvence Sistemi ISO 9000 (Bulduk, 2010).

HACCP sistemi tüketici sağlığını korumada oldukça büyük öneme sahiptir (Dayılar, 2018; Karaali, 2003). GLP; çalışmaların takibi, kayıtların tutulması, rapor haline getirilmesi ve kalite kontrolleri kapsayan bir kalite sistemidir (Dayılar, 2018; Halaç, 2002).

CSIRO Gıda ve Beslenme Bilimleri'nin "Gıda Güvenliği Rehberi - Güvenli Kılma Rehberi" gibi patojenik mikroorganizmalarla kontaminasyondan kaçınmak için üreticilere güvenli gıda üretim ilkeleri konusunda tavsiyeler de mevcuttur (Wanigasekera, 2012).

Gıdalar yoluyla bulaşan mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar; intoksikasyon ve enfeksiyon olarak ikiye ayrılır. Mikroorganizmalar öncelikle bağırsağa yerleşir ve sonra da toksin üreterek hastalık yaparlar (Halkman, 2019). Tifo ve kolera enfeksiyon hastalıklarına örnektir. Zehirlenmelerde ise karın ağrısı ve kusma gibi belirtiler ortaya çıkar. Gıdalar, üretiminden tüketimine kadar geçen tüm aşamalarda hijyenik olmayan şartlar ve uygun olmayan depolama koşulları nedeniyle zehirlenmelere ve hastalıklara sebebiyet verir (Bulduk, 2010). Özellikle çocuklar, yaşlılar ve hamileler bu tür gıdaların neden oldukları zehirlenme ve hastalıklardan en çok etkilenen gruba girerler (Halkman, 2019).

2003 yılında mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi ve diğer başka nedenlerle yapılan mikrobiyolojik analizlerin %49'u (yaklaşık 558 milyon) gıda sektöründe yapılmıştır (Çakır, 2008)

Mikrobiyolojik testler, mikroorganizmaların (virüsler, bakteriler, mantarlar ve protozoalar) ve bunların farklı materyal ve ürünlerdeki metabolitlerinin veya bunların herhangi bir türünün mikroorganizmalarının bir parçası olarak kullanılan herhangi bir tahlilin sterilite testini, tespitini, izolasyonunu, sayımını ve tanımlanmasını içerecek şekilde yapılır (EA-04/10, 2002)

Mikrobiyolojik analizler, tüketicilerin oluşabilecek tehlikelerden etkilenmemesini, kalite bakımından problemlili ürünlerin tüketime sunulmamasını ve GMP (iyi üretim uygulamaları) ile üretime olumlu şekilde yön verilmesini sağlar. (Pichhardt, 1997).

Gıdalarda hijyen, ham madde alımından başlayarak son ürün elde edilinceye kadar gıdanın mikrobiyolojik analizlerle kalitesinin ortaya konmasına kadarki sürecin tamamı ile sağlanır. Dolayısıyla çalışanların sağlığı ve çalışma şartları doğrudan mikrobiyolojik kaliteyi etkilemektedir (Yavaş, 2015). Bu amaçla gıdalarda Enterobacteriaceae familyası varlığının tespiti amaçlı analizler çok önemli bir kriter haline gelmektedir.

Enterobacteriaceae adı ilk olarak 1937 yılında Rahn tarafından önerildi (Baylis vd., 2011; Cordier, 2006). Latince bağırsak bakterisi anlamına gelen enterobacterium'dan türetilmiştir. Bununla birlikte, bu adın kökeni ve "enterik bakteri" olarak atıfta bulunulması, ekolojik yaşam sahası, görevleri ve oluşumları hakkında yanıltıcı bir izlenim

sağlayabilir (Cordier, 2006). Bu mikroorganizmalar bağırsak dışında da bulunabilirler ve her türü patojen değildir (Pichhardt, 1997)

Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin sınıflandırmasında Enterobacteriaceae cinsi ve tür sayısı 1974'te 12 cins ve 36 türden 2006 yılında en az 34 cins, 149 tür ve 21 alt türe yükselmiştir (Baylis, 2006) ve 2011 yılında da bu sayılar Enterobacteriaceae ailesinde en az 48 cins, 219 tür ve 41 alt türe yükselmiştir (Baylis vd., 2011)

Başlıca Enterobacteriaceae ailesi üyesi bakteri cinsleri şunlardır: Shigella, Escherichia, Salmonella, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter, Erwinia, Serratia, Hafnia, Proteus ve Yersinia (Pichhardt, 1997).

Bakterilerin genel özellikleri gram negatif ve fakültatif anaerob olmalarıdır. Bunun yanı sıra hareketli, sporsuz ve enleri 0,5 µm, boyları 1-6 µm olan çubuk şeklindeki bakterilerdir (Karahana, 2016).

Enterobacteriaceae, olumsuz koşullara karşı gram pozitif bakterilerden daha hassastır. Üreme ve yiyeceklerin bozulmasına neden olma kapasiteleri çoğunlukla kolay bozulabilen, (örneğin, raf ömrü <10 gün) özellikle buzdolabında saklanan yiyeceklerle sınırlıdır (Baylis vd., 2011)

Enterobacteriaceae psikrotrofik, mezofilik ve termotolerant bakterileri içerir. Çoğunluk, 15 ila 40 °C arasında değişen gelişme sıcaklıklarına sahip gıda kaynaklı patojenler Salmonella ve EHEC dahil olmak üzere mezofiliktir. Depolama için 0–8 °C'lık normal soğutma sıcaklıklarına kadar hızlı soğutma, mezofilik Enterobacteriaceae'nin gelişmesini inhibe etmeyi kolaylaştırır. Bu nedenle bunlar yalnızca kolay bozulabilir ürünlerde sıcaklığa maruz kaldıklarında çoğalırlar. Dışkı kaynaklı Enterobacteriaceae için 37 °C optimum büyüme sıcaklığıdır (Baylis vd., 2011).

55 °C'de 10 dakikalık bir muamele normalde çoğu psikrotrofik bakteri ve ısıya duyarlı mezofilere tahrip eder. Oysa bazı enterokoklar ve laktobasiller dahil olmak üzere ısıya dirençli spor yapmayan mezofiller 65 °C'de tahrip olur. Bununla birlikte, mikro organizmaların ısı direnci, suşun tazeliğine ve gıdaların özelliklerine, örneğin yağ içeriği ve su aktivitesine bağlıdır (Baylis vd., 2011; Mattick vd., 2001). Çoğu Enterobacteriaceae 0,95 su aktivitesinin üzerinde gelişir. Enterobacteriaceae ailesi mikroorganizmalarının büyümesi için alt limit pH 3.8 ve üst limit yaklaşık pH 9.0'dır. Bununla birlikte, pH toleransı genellikle asitlerin doğallığından etkilenir; organik asitler (örneğin laktik asit) mineral asitlerden (örneğin hidroklorik asit) daha fazla inhibe edicidir (Baylis vd., 2011).

İndikatör organizmalar, yetersiz hijyen, yetersiz işleme veya gıdaların işlem sonrası kontaminasyon kanıtı sağlamak için kullanılan bakterilerdir. Tespit edilmesi nispeten hızlı ve kolay olduğundan dolayı seçilirler. Yiyeceklerde bulunmamaları, hijyen ve yiyecek üretim işlemlerinin uygun şekilde yapıldığına dair bir güvence sağlarken, varlıkları genellikle süreçte potansiyel bir sorun veya başarısızlığın meydana geldiğini gösterir (Baylis vd., 2011).

Gıdalarda bu bakterilerin bulunması, yüksek seviyedeki başlangıç bakteri yükünün ısıtma işlemi ile giderilemediğini, ortam şartlarının ısıtma işlemi takip eden süreçte üremeye sebebiyet verdiğini veya sonraki aşamalarda kontaminasyon olduğunu gösterir (Gül ve Önal, 2008).

Genel olarak koloni sayım tekniği ve EMS yöntemi ile sayım ve tespiti yapılmaktadır (Pichhardt, 1997). Koloni sayım tekniği ile yapılan analiz koliform grubu bakterilerin sayımını yapmak için kullanılan Violet Red Bile Laktoz Agar besiyerinde laktoz yerine glikozun kullanılmasıyla elde edilen Violet Red Bile Glikoz Agardaki Glikozu bakterilerin fermente etmesi ve kırmızı/menekşe moru renk vermeleri sonucu sayımı prensibine dayanır (Pichhardt, 1997).

Gram pozitif bakterilerin ve rekabetçi floranın gelişimi, besiyeri içeriğinde bulunan kristal viyole ve safra tuzları ile inhibe edilir. pH indikatörü kırmızı kolonilerin oluşmasına ve safra asitleri de koloni çevresinde çökelti oluşmasına neden olur. Böylece inkübasyon sonunda oluşan 1-2 mm çapındaki kırmızı koloniler sayılarak Enterobacteriaceae miktarı tespit edilir (Pichhardt, 1997). Enterobacteriaceae dışındaki bakteriler, özellikle *Aeromonas* spp. ayrıca fermente edebilir ve bunlar, ilave doğrulama testleri yapılmazsa yanlış bir şekilde koliform olarak algılanabilir (Baylis vd., 2011). Dolayısıyla diğer mikrobiyolojik analizlerde olduğu gibi Enterobacteriaceae analizi için de metod seçimi ve metodun doğrulanması önemlidir.

1.1.2. Verifikasyon

Hammaddelerin ve bitmiş ürünlerin mikrobiyolojik kalitesini ve üretim prosedürlerinin mikrobiyolojik durumunu değerlendirmek için kullanılan birçok alternatif yöntem mevcuttur. Bu yöntemler genellikle standart hale getirilmiş metotlardan daha hızlı ve daha kolaydır. Geliştiriciler, son kullanıcılar ve otoriteler, bu tür alternatif yöntemlerin doğrulanması için güvenilir bir ortak protokole ihtiyaç duyarlar. Üretilen veriler aynı

zamanda potansiyel son kullanıcılara belirli bir yöntem için performans verisi sağlayacak ve böylece belirli bir yöntemin benimsenmesi konusunda bilinçli bir seçim yapmalarına yardımcı olacaktır. Üretilen veriler, bir yöntemin bağımsız bir kuruluş tarafından sertifikalandırılması için de temel olabilecektir (TS EN ISO 16410-2, 2016).

Alternatif yöntemin tespit etmesi amaçlanan analit ve numune tipine uygulanabilir uygun AOAC, ISO, FDA/BAM veya USDA referans kültürü prosedürü öncelik sırasına göre alınır. Uluslararası kabul görmüş diğer yöntemler de uygun referans yöntemleri olabilir ve duruma göre değerlendirilebilir (Feldsine vd., 2002)

Analiz yöntemlerinin geçerli kılınması asıl test koşullarını yansıtmalıdır. Bu, ya doğal kontamine gıdalar ya da belli seviyedeki kontamine edici bakterilerle kontamine edilmiş gıdalar kullanılarak yapılabilir. Yapay olarak kontamine olmuş gıdalar, doğal kontamine olmuş gıdaları yüzeysel bir şekilde taklit etmektedir ve bu analistler tarafından bilinmelidir. Çünkü bu çözüm yapılacak çalışmalar için en iyi ve hatta tek yoldur (EA-04/10, 2002; TS 13134, 2005).

Kantitatif mikrobiyolojik test yöntemleri için tanımlanmış bir değişkenlik içinde özgüllük, duyarlılık, bağıl doğruluk, tekrarlanabilirlik, tekrarüretilebilirlik ve tespit limiti dikkate alınmalı ve gerekirse analizlerde kantitatif olarak belirlenmelidir. Farklı numuneler test edilirken matrislerden kaynaklanan farklılıklar dikkate alınmalıdır. Ölçüm belirsizliği de dahil olmak üzere sonuçlar uygun istatistiksel yöntemlerle değerlendirilmelidir (EA-04/10, 2002).

Genel olarak belirsizlik tahmininin sadece tekrarlanabilirlik ve uyarlık verilerine ve ideal olarak da sistemik hatayı (örneğin, yeterlik deneyleri programı veya karşılaştırmalı deney sonuçları) içererek dayandırılması uygun olmaktadır (TS 13134, 2005).

Uluslararası onayı olmayan metotlar veya laboratuvar içi yeni oluşturulan metotlar için tam validasyon yapılmalıdır. Tam validasyon çok parametrelili ve çok yönlü doğrulama çalışmasıdır. Uluslararası onayı olan metotlar için kısmi validasyon, yani verifikasyon yapılmalıdır.

Metot doğrulama çalışması da denilen verifikasyon çalışması; uluslararası kabul görmüş yeni bir metot üzerinde Standart Referans Malzeme ile kendi laboratuvar şartlarında doğrulama yapılmasıdır.

Verifikasyon çalışması laboratuvarda yapılan validasyon işleminin bir kısmıdır. Farklı yöntemlerle doğal ve/veya yapay olarak kontamine olmuş numunelerde (bağıl doğruluk

alışması olarak adlandırılan) eşitli yöntemlerle alternatif yöntemin sonuçları ve referans yönteminin sonuçları karşılaştırmalı olarak incelenir (TS EN ISO 16410-2, 2016).

Validasyon bir faaliyetten önce uygulanır ve amaçlanan sonuçları sunma kabiliyeti hakkında bilgi sağlar. İzleme bir faaliyet sırasında uygulanır ve belirli bir zaman dilimi içerisinde eylem için bilgi sağlar. Doğrulama bir faaliyetten sonra uygulanır ve bilgi sağlar (TS EN ISO 22000, 2018).

Referans Metot: Uluslararası kabul görmüş ve yaygın kabul gören metotlardır (TS EN ISO 16410-1, 2016).

Alternatif Yöntem: Belirli bir ürün kategorisi için, ilgili referans yöntemi kullanılarak tespit edilen veya ölçülen aynı analiti tespit eden veya nicelleştiren analiz doğrulama yöntemi için sunulan yöntemdir (TS EN ISO 16410-1, 2016).

lm Doğruluğu: lm yapılan şey ile tespit edilen büyüklük değerinin birbirine uygunluğunun yakınlığıdır (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

NOT: lm doğruluğu, ölçüm gerçekliği ve lm kesinliği terimleri birbirlerinden farklıdır ancak aralarında da bir ilişki bulunmaktadır.

lm Kesinliği: Belirli koşullar altında aynı veya benzer nesneler üzerinde tekrarlanan lmler ile elde edilen göstergeler veya ölçülen büyüklük değerleri arasındaki uyuşmanın yakınlığıdır (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

lm Tekrarlanabilirliği: lmn tekrarlanabilirliği koşulları altında ölçüm kesinliğidir (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

lm belirsizliği: Belirsizlik elde edilen bilgiye dayanılarak llene atfedilen büyüklük değerlerinin dağılımını niteleyen, negatif olmayan sayısal parametredir (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

Bileşik Standart lm Belirsizliği: Bir lm modelinin girdi büyüklükleriyle ilişkili bütün standart ölçüm belirsizliklerinin kullanımıyla elde edilen standart ölçüm belirsizliğidir (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

Genişletilmiş lm Belirsizliği: Bileşik standart ölçüm belirsizliğinin birden büyük bir faktör ile çarpımıdır (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

Geçerli Kılma: Belirtilen şartların amaçlanan kullanım için uygunluğunun doğrulanmasıdır (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

Doğrulama (Verifikasyon): Bir öğenin belirtilen şartları sağladığını gösteren açık kanıtların elde edilmesidir (TSE ISO/IEC Guide 99, 2013).

Tespit Limiti: Belirtilen koşullar altında tespit edilebilecek en düşük mikrobiyal yoğunluktur. Referans kültürlerin dilüsyonlarını kullanarak ve her dilüsyonun kopyaları arasında geri kazanım ölçümünü kullanarak belirlenir (9020 Quality Assurance, 2017).

Referans Suş: Doğrudan bir referans kültür koleksiyonundan (örneğin WFCC - Dünya Kültür Koleksiyonu Federasyonu veya ECCO - Avrupa Kültür Koleksiyonları Örgütü üyesi olan bir kültür koleksiyonu) elde edilen ve en azından cins ve tür düzeyinde tanımlanmış, onun özelliklerine göre kataloglanmış ve tarif edilmiş (Andrews vd., 2004) ve tercihen gıda, hayvan yemi, gıda veya yem üretim ortamı veya su (hangisi uygun ise) kaynaklı mikroorganizmalardır (TS EN ISO 11133, 2014).

Tekrarlanabilirlik: Aynı test örneği ile aynı şartlar altında aynı yöntemle elde edilen ardışık ve bağımsız test sonuçları arasında aynı şartlar altında anlaşmanın yakınlığıdır (cihaz, operatör, laboratuvar ve kısa bir süre içinde) (NSM QSOP4, 2005).

Tekrar sonuçlarının logaritmasından aşağıdaki formül ile tekrarlanabilirlik standart sapması (S_r) hesaplanabilir (NSM QSOP4, 2005);

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - x_{ort})^2}{n-1}} \quad (1.1)$$

x_i ; i no'lu tekrarın logaritmik sonucu

x_{ort} ; tüm tekrarların logaritmik sonuçlarının ortalaması

n ; tekrar sayısı

Tekrarüretilebilirlik: Farklı koşullar altında (operatör, ekipman, laboratuvar) aynı test örneğinin bölümlerinde aynı yöntemle elde edilen test sonuçları arasındaki anlaşmanın yakınlığıdır (NSM QSOP4, 2005). Tekrarüretilebilirlik Standart Sapması (S_R) (ISO/TS 19036, 2006);

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (y_{iA} - y_{iB})^2}{2n}} \quad (1.2)$$

y_{iA} ; Birinci analistin sayım sonucunun logaritması

y_{iB} ; İkinci analistin sayım sonucunun logaritması

n ; Örnek sayısı

Ölçüm Belirsizliği: Bir sonucun analitik değişkenliğinin nicel bir göstergesidir. Sonucun test bölümünde ölçülen miktarın değerini ne kadar iyi temsil ettiğini gösterir. Aynı zamanda, örneğin farklı kaynaklardan elde edilen sonuçları veya mikrobiyolojik standartlarda, talimatnamelerde veya spesifikasyonlarda verilen referans değerleri veya kriterler ile karşılaştırırken sonucun güvenilirliğinin değerlendirilmesine olanak tanır (NSM QSOP4, 2005).

Belirsizliği hesaplamak için kullanılabilecek iki tür değerlendirme vardır: A tipi belirsizlik değerlendirmeleri, bir dizi tekrarlı gözlemden elde edilen istatistiksel yöntemler kullanılarak yapılan hesaplamalarla yapılır. B tipi belirsizlik değerlendirmeleri ise örneğin kalibrasyon verilerinden veya diğer kaynaklardan elde edilmesiyle yapılır (NSM QSOP4, 2005).

Bir mikrobiyolojik test yapılırken, B tipi değerlendirmeye katkıda bulunan faktörler genellikle A tipi değerlendirmenin bir parçasını oluşturur ve bu nedenle ayrı olarak düşünülmesi gerekmeyebilir. Ayrıca, birleşik standart belirsizliğe önemli bir katkı sağlamadıkları kadar küçük bir katkıyı da temsil ederler. Çoğu mikrobiyolojik test amacı için A tipi değerlendirmedeki birleştirilmiş standart belirsizlik, standart belirsizlikten önemli ölçüde farklı değildir. B tipi bileşenleri bu nedenle hesaplamada göz ardı edilebilir, ancak tespit edilip kontrol altında oldukları gösterilebilir (NSM QSOP4, 2005).

Belirsizlik değerlendirmesini basitleştirmek için düşük sonuçların hariç tutulması gerekir. Çünkü, bu tür sonuçların logaritmaları genellikle normal dağılım gösterir (NSM QSOP4, 2005).

Belirsizlik hesabı için aşağıdaki hesaplamalar yapılır;

RSD_R ; Bir örnek için tekrarüretilebilirlik relatif standart sapması (logaritmik olarak) (NSM QSOP4, 2005);

$$RSD_R = \sqrt{2 \left(\frac{X_A - X_B}{X_A + X_B} \right)^2} \quad (1.3)$$

X_A; Birinci analistin sonucu (logaritmik olarak)

X_B; İkinci analistin sonucu (logaritmik olarak)

Tüm örnekler için ayrı olarak RSD_R değerleri hesaplandıktan sonra aşağıdaki formül yardımıyla laboratuvar içi relatif tekrarüretilebilirlik standart sapması hesaplanır. (NSM QSOP4, 2005);

$$RSD_{RC} = \sqrt{\sum_{i=1}^n RSD_R^2 / n} \quad (1.4)$$

n; Örnek sayısı

RSD_{RC}; Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik relatif standart sapması

Hesaplanan RSD_{RC} değeri birleştirilmiş belirsizlik olarak alınmıştır. RSD_{RC}, % 95 güven aralığı için 2 (covarege factor) ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik hesaplanır (NSM QSOP4, 2005).

$$U = RSD_{RC} \times 2 \quad (1.5)$$

Verifikasyon çalışmalarında tüm gıdaları temsil etmesi amacıyla dört farklı tipte gıda seçilir Bunlar sırasıyla;

- ✓ Sıvılar ve tozlar (süt, un, süt tozu vb.)
- ✓ İyi karıştırılmış karışımlar (kıyma, sos, krema, mekanik olarak ayrılmış etler vb.)
- ✓ Küçük parçalar halindeki katılar (kurutulmuş mantar, fındık, salata, karides, tahıl, yem vb.)
- ✓ Diğer iri katılar (peynir, pasta, parça et vb.) (ISO/TS 19036, 2006).

Gıda örnekleri mümkünse farklı personeller tarafından hazırlanmalı ve test edilmelidir. Farklı personel kullanılarak yinelenen numunelerin işlenmesi, personel arasındaki ve aynı numunenin farklı bölümleri arasındaki değişimin izlenmesine olanak sağlar (NSM QSOP18, 2005).

Sayımların arasındaki fark (hem bir kişinin kendi sonuçları arasında hem de farklı personellerin aynı numunelerde elde ettikleri sonuçlar arasında) logaritmik olarak 0,5'i geçmemelidir (NSM QSOP18, 2005).

Yüzde geri kazanım olarak ifade edilen doğruluk, aksi belirtilmedikçe, istatistiksel analizle % 80-120 arasında olmalıdır (ORA-LAB 5.4.5, 2014).

1.1.3. Hızlı Test Sistemleri ve TEMPO

Günümüzde hızlı test yöntemleri mikrobiyolojik analizlerde önemli bir yere sahip hale gelmiştir. Gıdalarda ve çevre numunelerinde bulunan mikroorganizmaların ve toksinlerinin teşhisi, izole edilmesi, tanımlanması ve sayımı amacıyla sıkça kullanılmaktadırlar. 1960'lı yıllarda ilk defa biyokimyasal testlerin minyatürize edilmesi ile başlanmış ve biyosensör uygulamaları ile çeşitlendirilmiştir. 1975'ten sonraki 10 yıl immunolojik testlerin hızlı gelişim gösterdikleri yıllar olarak ortaya çıkmıştır. 1985 sonrası PCR tekniklerinin geliştirildiği, 1995 sonrasında da biyosensörlerin geliştirilerek mikroorganizmaların tanı ve sayımlarının yapılmaya başlandığı yıllar olmuştur (Aras, 2011).

Alternatif mikrobiyolojik tekniklerin geliştirilmesi, gıdaların üretim sürecinde hızlı sonuçlar vermek için mevcut ihtiyaçları karşılama zorunluluğundan kaynaklanmaktadır (Cirolini vd., 2013).

TEMPO cihazı, gıda ve çevre numunelerinde kaliteyi belirleyen mikroorganizmaların sayımı amacıyla üretilerek gıda endüstrisinin kullanımına sunulmuş otomatik bir test sistemidir. Sistem; toplam canlı sayımı, Enterobacteriaceae, koliform sayımı, *E.coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, maya ve küf, laktik asit bakterileri ve en son olarak da *Campylobacter* spp. analizlerini yapabilmektedir. Gıda kalite ve kontrol laboratuvarı için bu organizmaların sayılması kalitenin belirlenmesi ve takibi açısından çok önemlidir. (URL-1, 2019)

Hızlı bakteri gelişimi sağlayan özel besiyerleri ile En Muhtemel Sayı tekniği kullanılarak minyatürize edilmiş bir sistemdir. Her besiyeri ayrı ayrı florasan indikatörleri içerir. Bunlar bakterinin türüne göre çeşitlilik gösterirler. Bakteriyel büyüme, şekerlerdeki asit üretimi, ortamın pH'sini düşürme ve 4-metilumbelliferone floresanını söndürme ile gösterilir (Paulsen vd., 2008). Numune kartları içerisinde 3 farklı dilüsyon seviyesi bulunur. Bu dilüsyon seviyeleri kuyucukların boyutları ile birbirinden ayrılmaktadır. (URL-1, 2019)

Her dilüsyon seviyesi için 16 kuyucuk bulunmaktadır ve toplamda 48 kuyucuk vardır. Hacimleri 10'ar kat artacak şekilde tasarlanmıştır. En üst sıradaki dilüsyon

kuyucukları 2,25 μ L hacimlidir. Orta sıradaki dilüsyon kuyucukları 22,5 μ L hacimlidir ve en alt sıradaki dilüsyon kuyucukları 225 μ L hacimlidir (Şekil 1.1 ve 1.2) (Owen vd., 2010).



Şekil 1.1. TEMPO besiyeri şişesi ve numune kartı



Şekil 1.2. TEMPO numune kartı – pozitif kuyucuklar

1:10 numune süspansiyonundan, 1.0 mL alınır, 3.0 mL steril damıtılmış su ilave edilen bir besiyeri içeren bir cam şişe içine aktarılır. Şişe, bir vorteks karıştırıcıda 10 saniye boyunca karıştırılır (Paulsen vd., 2008). Şekil 1.3'te görüldüğü gibi kartlar besiyeri şişelerine yerleştirilir. Ekim işlemi ile besiyeri numune karışımı kartın kuyucuklarına çekilir. Bunun ardından kartlar inkübe edilir. Bu esnada mikroorganizmalar besiyerini metabolize ederek gelişirler. İnkübasyon sonunda cihaza yerleştirilen kartlar okunur (Owen vd., 2010). Pozitif sonuç veren kuyucuklar cihaz tarafından tespit edilir ve sayısına göre sistem mikroorganizmaların miktarını belirler. Sistem, istatistiksel yöntemler kullanarak hesaplamaları yapar ve koloni oluşturan birim/g (kob/g) şeklinde sonuç verir (Owen vd., 2010).



Şekil 1.3. Rack üzerinde okuma ünitesine verilmek üzere hazırlanmış besiyeri şişeleri ve numune kartları



Şekil 1.4. TEMPO dolum ve okuma üniteleri

Sistem gıda endüstrisine aşağıda sıralandığı gibi çeşitli katkılar sunmaktadır;

- ✓ Hammadde seçimini ve yönetimini hızlandırmak,
- ✓ Uyumsuzluk durumunda düzeltici eylemi hızlandırmak,
- ✓ Özellikle yeniden testler için hızlandırılmış ürün sürümü sağlamak,
- ✓ Stok rotasyonunu hızlandırmak,
- ✓ Düzenleyici kurallara ve müşterilerin gereksinimlerine hızla yanıt vermek,
- ✓ Analiz sayısını arttırmak.

Tempo Cihazının Bölümleri:

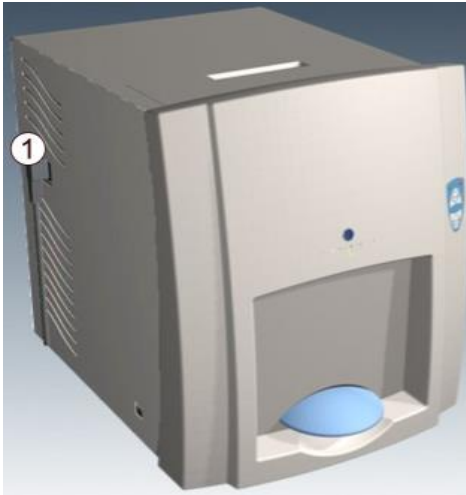
Sistem Şekil 1.4'te görülen bir adet testlerin hazırlandığı ve kartların dolumunun yapıldığı Hazırlık İstasyonu ve bir adet de inkübasyon sonrası kartların okunduğu, sonuçların hesaplandığı ve sistemsel işlemlerin (yedekleme-yapılandırma) tümünün yapıldığı Okuma İstasyonu olmak üzere 2 ana bölümden oluşmaktadır (URL-2, 2016).

Cihaz çalışma çevre şartlarının, 15-30 °C sıcaklık aralığında ve %10-80 nem aralığında olan bir ortam olması gerekmektedir (URL-2, 2016).

Dolum Ünitesi: Resim 1.5'te görüldüğü gibi ekim işlemi bu bölümde yapılır. Numunenin kartların içerisine inokülasyonu yapılır. Bu işlemden sonra kontaminasyon olmaması amacıyla, kart doldurucu hava almayacak şekilde termal olarak kesilir ve mühürlenir. Cihazdan çıkarılan kartlar analiz sıcaklığına göre inkübasyona kaldırılır (Ertuğrul, 2012).

Bu ünitenin bölümleri;

1. TEMPO Filler
2. Bilgisayar
3. Barkod okuyucu (URL-4, 2010)



Şekil 1.5. TEMPO dolum ünitesi

Okuma Ünitesi: Resim 1.6'da görüldüğü üzere kart okuma ve sonucun hesaplanarak belirlendiği kısımdır. İnkübasyon sırasında oluşan üremeler sonucunda çeşitli reaksiyonlar meydana gelmekte, bunun sonucunda bazı analizlerde florasan çıkması ve bazılarında da

çıkması pozitif algılanır. Cihaz, pozitif kuyucuk sayısına göre hesaplama yaparak sayım sonucunu verir (Ertuğrul, 2012).

Bu ünitenin bölümleri;

1. Bilgisayar; merkezi işlem birim
2. TEMPO Reader
3. İnkübasyon ve okuma tablası
4. Barkod okuyucu
5. Ethernet yönlendirici (URL-5, 2010)



Şekil 1.6. TEMPO okuma ünitesi

1.2. Önceki Çalışmalar

Da Yeon Lee ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, sıkça kontamine olduğu bilinen gıda örneklerinde *Bacillus cereus* sayımı için kullanılan TEMPO BC ve klasik yöntem olan MYP besiyerine ekim yöntemlerinin kantitatif karşılaştırılması amaçlanmıştır. Doğal olarak veya yapay olarak *B. cereus* ile kontamine olmuş gıda ürünleri her iki yöntemle de analiz edilmiş ve iki yöntem arasında 1 log'dan (cfu (kob)/g) daha az bir fark % 95.3 numunede not edilmiştir. Yapay olarak kontamine olmuş ürünlerdeki iki yöntem arasında, sos ürünleri, balık ürünleri vs. için R^2 değerleri açısından anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Ancak fermente soya ürünleri için önemli bir fark olduğu belirtilmiştir (Lee vd., 2017).

Emrah Torlak ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, gıda örneklerinde *E.coli* sayımı için TEMPO EC ve klasik yöntem olan TBX besiyerine ekim yöntemlerinin kantitatif karşılaştırılması amaçlanmıştır. Karşılaştırma amacıyla, hem doğal olarak (92 adet) hem de yapay olarak kontamine olmuş (31 adet) peynir örnekleri incelenmiştir. Doğal kontamine ve yapay kontamine olmuş örnekler için Pearson korelasyon katsayıları, sırasıyla 0,954 ve 0,978 olarak belirlenmiştir. Yöntemler arasındaki mutlak farklar bir log'u geçmemiştir (Torlak vd., 2008).

Poulsen ve arkadaşları tarafından tasarlanan bir çalışmada, gıda örneklerinde Enterobacteriaceae sayımı için klasik yöntem olan VRBG besiyerine ekim ve TEMPO EB ile Petrifilm ekim yöntemlerinin kantitatif karşılaştırılması amaçlanmıştır. 411 adet doğal olarak kontamine gıda örneği (kırmızı et, et ürünleri, deniz ürünleri, kümes hayvanları, sebzeler ve süt ürünleri) farklı yerlerden temin edildi ve üç laboratuvarında analiz edilmiş ve bunların 190 tanesinin tespit edilebilir limitin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Örnekler, kopyalar olmadan üç farklı yöntemle test edilmiştir. Tutarsız sonuçlar ise tekrarlanmamıştır. TEMPO ve ISO-VRBG metoduyla ortalama farkların logaritmik olarak -0.084 ± 0.46 olduğu ve PF-EB ve ISO-VRBG metoduyla ortalama farkların ise logaritmik olarak 0.007 ± 0.450 olduğu tespit edilmiştir (Paulsen vd., 2008).

Alina Kunicka-Styczyńska tarafından, 10^0 ila 10^7 kob/g seviyesinde kirlenmiş 48 adet kıyılmış dana eti numuneleri için standart sayım plak yöntemleri ile TEMPO® yöntemi arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla bir çalışma tasarlanmıştır. Test için üç kalite kontrol göstergesi seçildi: toplam mezofilik mikroflora (toplam canlı sayımı), koliformlar ve *Escherichia coli*. Referans yöntem prosedürleri ISO standartlarına uygun olarak yapılmıştır. Sonuçların istatistiksel analizi, alternatif yöntem ile standart sayım plakası yöntemi arasında anlamlı bir ilişkinin varlığını ortaya koymuştur. Tüm test türleri için doğrusal bir korelasyon tespit edilmiştir. Korelasyon katsayıları yüksek olup: toplam mezofilik mikroflora için 0.9977, koliform sayısı için 0.9968 ve *E. coli* sayısı için 0.9970 olduğu belirtilmiştir (Styczyńska, 2010).

Owen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, TEMPO EB ile MPN, dökme plak veya yayma plak yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Dört yöntem kullanılarak toplam 209 gıda, süt ve çevre örneği test edildi ve sonuçlar, TEMPO EB ile MPN, dökme plaka veya yayma plaka teknikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını göstermiştir. Bu çalışmalar, Enterobacteriaceae'nin 10 kob'un altındaki bir tespit limitiyle güvenilir bir şekilde tespit edildiğini gösterirken, Enterobacteriaceae

olmayan suşlar test edilen tüm inokulum seviyelerinde negatif sonuçlar vermiştir. TEMPO EB'nin az sayıda istisna dışında çok sayıda avantaja sahip olduğu gibi, rutin gıda, süt ürünleri ve çevresel numunelerin analizi için uygun bir yöntem olduğu ve elde edilen sonuçların standart yöntemlere eşdeğer olduğu düşünülmektedir (Owen vd., 2010).

Yousef Saeed tarafından tasarlanan bir başka çalışmada, TEMPO sistemi kullanılarak Oxyase® (Oxyase®, Inc.) enzimi ilave edilmiş 0.1 mL'lik su örnekleri, Oxyase® enzimi olmayan örneklerle karşılaştırılmıştır. Numuneler farklı koliform seviyeleri (10^1 , 10^2 , 10^3 ve 10^4 kob/mL) ile kontamine edilmiştir. TEMPO okuma ünitesinde 35 °C'de 8, 12, 16, 22 ve 24 saat inkübasyon sonrası sayımlar elde edildi ve 20 kopyadan elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. TEMPO testlerini kullanarak, gıda numunelerindeki yüksek miktarlar ($>6 \log 10$ kob/mL), algılama zamanı kalibrasyon eğrisi kullanılarak 6 ± 2 saatlik inkübasyonda okunabilmektedir. TEMPO sistemi okuma süresini kısaltır (okuma protokolü değiştirilmelidir) ve dolayısıyla 22 saat bekletmeye gerek yoktur. Sadece 12 saat beklemek yeterlidir. TEMPO sistemi için Oxyase® enziminin analizde kullanılmasının gerekli olmadığı sonuçları elde edilmiştir (Alsaadi, 2014).

Çetin Ertuğrul tarafından tasarlanan bir başka çalışmada, 123 adet kanatlı et ürünlerinde Enterobacteriaceae ve toplam aerobik koloni sayısı klasik yöntem ve TEMPO test sistemi ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 100 adet toplam aerobik koloni sayımı sonucu ve 85 adet de Enterobacteriaceae sayımı sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Aerobik koloni sayımı ve Enterobacteriaceae sayımlarında TEMPO ve klasik metotlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı saptanmıştır (Ertuğrul, 2012).

Andréia Cirolini ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, pastörize edilmiş ve UHT süt numunelerindeki Enterobacteriaceae sayımı için Petrifilm™ EB ve TEMPO EB sistemlerini ISO 21528-2: 2004 ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada; 141 adet pastörize süt numunesi mikroflorası, 15 adet yapay kontamine pastörize süt numunesi ve 15 adet yapay kontamine UHT süt numunesi analiz edilmiştir. Sistemin değerlendirilmesinde TEMPO EB yöntemi ve ISO 21528: 2 korelasyonu analiz edilen örneklerde anlamlıydı. Pastörize sütün mikroflorası için $r = 0.86$, yapay olarak kontamine edilmiş pastörize süt için $r = 0.96$ ve yapay olarak kontamine edilmiş UHT süt için $r = 0.99$ olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Petrifilm™ EB sistemi ve TEMPO EB sistemi, kullanım kolaylığı ve kullanılan mikrobiyolojik tahlillerin gerçekleştirilmesi için işlem

süresinin önemli ölçüde kısılması nedeniyle süt için Enterobacteriaceae analizinde ISO21528-2'ye bir alternatif olabileceği tespit edilmiştir (Cirolini vd., 2013).

1.3. Çalışmanın Amacı

Sunulan bu tezin amacı, Enterobacteriaceae analizi için TEMPO cihazı ile klasik metodun karşılaştırmasını yapmak, verifikasyon parametreleri ve ölçüm belirsizliği hesaplamalarını yaparak hem gıda hem de hayvansal yemlerde TEMPO cihazının yüksek performansla kullanılabilirliğini göstermektir.

1.4. Çalışmanın Kapsamı

Kantitatif analiz metotlarının geçerli kılınması ve doğrulanması için yapılan çalışmaları, oluşturulan deney desenini ve hesaplamaları kapsamaktadır. Ayrıca klasik metot ile karşılıklı çalışılarak analiz sonuçlarının değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu amaçla aşağıda kısaca açıklanan metot validasyonu parametreleri uygulanmıştır.

Kesinlik: Aynı numunedan aynı yolla elde edilen sonuçların birbirine yakınlığı anlamına gelen “kesinlik”, tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin ard arda uygulanması neticesinde yapılır.

Tekrarlanabilirlik çalışması, Standart Referans Malzeme yardımıyla içeriği bilinen bir numune ile yapılabildiği gibi, içeriği bilinmeyen bir numune ile de yapılabilir. Tekrarlanabilirlik çalışmasındaki amaç, sonuçların birbirine yakınlığını kontrol etmektir.

Analiz tüm gıda maddelerini kapsadığından standartların belirttiği 4 farklı gıda tipi ve 1 yem tipi seçilerek çalışmalar yapılmıştır. Analizler, çalışma aralığını kapsayacak şekilde en az 2 farklı konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir.

Tekrarüretilebilirlik: Ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığı, farklı analistler tarafından, farklı ekipmanla (terazi, inkübatör, pipet, gibi) farklı günlerde yapılan çalışmalarla ortaya koyulur.

Doğruluk çalışması: Geri kazanım çalışmaları ve ulusal/uluslararası yeterlilik testlerine katılım ile yapılır. Bu amaçla mümkün olduğu durumlarda SRM - Sertifikalı Referans Materyal kullanılır. SRM’lerde içerikler bellidir ve önerilen yöntem uygulanarak bu içeriklere ne kadar yaklaşıldığı belirlenir.

Ölçüm belirsizliği: Ölçüm sonucunun olabileceği makul aralığın belirlenmesini sağlar, yani güven aralığını anlatır. Belirsizlik tam olarak yok edilemez, ölçüm

sonuçlarının dağılımını gösterir ve tam olarak da hesaplanamaz. Tahmin edilebilir ve belirsizlik bileşenlerinin iyileştirilmesi ile azaltılabilir. Genel olarak tekrarüretilebilirlik verilerine dayandırılarak tahmin edilmesi uygun olmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Enterobacteriaceae Sayımı (Koloni Sayım Tekniği)

Enterobacteriaceae Sayımı ISO 21528-2'e göre yapıldı. Tüm gıda numunelerinde ve yemlerde Enterobacteriaceae aranması amacını taşır. Enterobacteriaceae familyası; *Citrobacter*, *Escherchia*, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Yersinia*, *Vibrio* ve *Pseudomonas* cinsi bakterileri içermektedir. Enterobacteriaceae familyası fakültatif anaerob, gram negatif, spor oluşturmayan şekerlerden gaz ve asit oluşturan çubuk şeklinde bakterilerdir. Yüksek sayılarda bulunuşu uygun olmayan işleme ve depolamanın indikatörüdür (ISO 21528-2, 2017).

2.1.1. Cihaz ve Malzemeler

- ✓ Otoklav
- ✓ Sterilizatör (160 ± 5 °C)
- ✓ İnkübatörler (37 ± 1 °C), (süt analizi için 32 ± 1 °C)
- ✓ Analitik teraziler (0.01 g hassasiyette)
- ✓ Su banyosu (80 – 100°C)
- ✓ Peristaltik homojenizatör
- ✓ pH metre
- ✓ Bunzen beki
- ✓ Steril bıçak, pens, spatül, vb. malzemeler
- ✓ Tüp karıştırıcı
- ✓ Plastik steril petriler (15x90 mm)
- ✓ Otomatik pipet ve steril pipet ucu
- ✓ Cam tüpler ve tüp sporları
- ✓ Erlen, beher, mezür vb. standart laboratuvar cam malzemesi
- ✓ Koloni sayacı
- ✓ Mikrodalga

2.1.2. Besiyerleri ve Reaktifler

2.1.2.1. Peptonlu Su (PS)

Formül :

Pepton	:	1,0 g
Sodyum klorür	:	8,5 g
Distile su	:	1000 mL

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürüldü. Otoklav sonrası pH $7\pm0,2$ olacak şekilde ayarlandı. 121 ± 1 °C’de 15 dakika sterilize edildi.

2.1.2.2. Violet Red Bile Glukoz Agar (VRBGA)

Formül:

Yeast extract	:	3 g
Pepton ya da gelysate	:	7 g
Bile tuzları ya da bile tuzları no.3	:	1,5 g
Glukoz	:	10 g
NaCl	:	5 g
Neutral red	:	0,03 g
Crystal violet	:	0,002 g
Agar	:	15 g
Distile su	:	1000 mL

Hazır Besiyeri içeriği aseptik koşullarda steril şişeye tartıldı. Besiyeri içeriği kaynar su banyosunda çözündürüldü. Kaynama sonrasında ortam pH’sı $7.2\pm0,2$ olacak şekilde ayarlandı. Besiyeri hazırlandıktan sonra 4 saat içinde kullanıldı. Soğutulan besiyeri ekimi yapılmış petrilere döküldü (ISO 21528-2, 2017).

2.1.2.3. Nutrient Agar

Formül:

Beef extract	:	3 g
Pepton	:	5 g
Agar	:	15 g
Distile su	:	1000 mL

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürüldü. 121+1 °C’de 15 dakika sterilize edildi. Otoklav sonrası pH 6,8+0,2 olacak şekilde ayarlandı. 50 °C’de aseptik koşullarda petrilere aktarıldı (ISO 21528-2, 2017).

2.1.2.4. Glukoz OF Besiyeri

Formül:

Enzymatic digest of casein	:	2,0 g
KH ₂ PO ₄	:	0,3 g
Glukoz	:	10,0 g
Sodyum klorür	:	5,0 g
Bromthymol blue	:	0,08 g
Agar	:	3 – 4 g
Distile su	:	1000 mL

Hazırlanan karışım ısıtılarak çözündürüldü. Otoklav sonrası 25 °C’de pH 6,8±0,2 olacak şekilde ayarlandı. Besiyeri uygun test tüplerine döküldü (Örneğin; 10 mm’lik, 16 mm x160 mm). 121+1 °C’de 15 dakika sterilize edildi. Dikey şekilde donması sağlandı ve buzdolabında saklandı. Bu şekilde 4 haftaya kadar 5±3 °C’de saklama yapılabilir. Kullanmadan hemen önce oksijenin uzaklaştırılması amacıyla kaynar su banyosunda 15 dakika ısıtıldı ve ardından hızlıca inkübasyon sıcaklığına soğutuldu (ISO 21528-2, 2017).

2.1.2.5. Oksidaz Test Kiti

Hazır kit kullanılmıştır.

2.1.2.6. Steril Mineral Yağ

Mineral yağ 160 °C’de 1–2 saat sterilizatörde sterilize edildi.

2.1.3. İşlem

2.1.3.1. Ekim

10 mL/g örnek 90 mL PS ile gıda mikrobiyolojisi laboratuvar kurallarına uygun olarak homojenize edildi (peristaltik homojenizatörde parçalanarak homojen hale getirildi) ve böylece 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanmış oldu.

Numune tartım poşeti içinde bulunan Numune+PS 10^{-1} 'lik çözeltidir ve bundan 9 mL'lik tüp PS'lere 1'er mL geçilerek 10^{-2} – 10^{-3} seyreltimleri hazırlandı. 1/10'luk dilüsyondan 2 steril petri kutusuna 1'er mL inoküle edildi. Eğer numunedeki Enterobacteriaceae sayısı yüksek bekleniyorsa seri dilüsyonlar da yapılabilir Aseptik koşullarda hazırlanan VRBGA besiyeri ortalama 45 °C'ye soğutularak yaklaşık 10 mL olarak döküldü ve karıştırıldı. Donma gerçekleştikten sonra üzerine yarı anaerobik şartlara ulaşmak için ilave olarak 15 mL daha besiyeri döküldü .

Ekim işlemi yapılmış olan petriler inkübatörde sıcaklık ve zaman normlarına göre inkübasyona bırakıldı. 37 °C'de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı (ISO 21528-2, 2017)

2.1.3.2. Hesaplama ve Sonuçlar

VRBGA da üreyen tipik koloni (pembe, mor) oluşumu gözlemlenen petrilere alınan koloniler Nutrient agara çizildi ve 37 °C'de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. Bazı Enterobacteriaceae bakterileri besiyerinde veya kendi kolonilerinde renksizleşmeye neden olabilmektedir. Bu nedenle beyazımsı kolonilerden de doğrulama için örnek alınmıştır. Nutrient agar yüzeyinde zenginleştirildi ve Glukoz OF agara geçildi. 37 °C de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oksidaz (-), glukoz (+) sonuç pozitif kabul edilerek değerlendirmeler yapıldı. (ISO 21528-2, 2017)

Not: Petrillerdeki koloni sayısı 25–250 arası olursa sayılabilir.

Hesaplamalar Formül 2.1'e göre yapıldı.

$$N = \sum C / [(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d \quad (2.1)$$

N; koloni sayısı [gram (g) ya da mililitre (mL)]

$\sum C$; petrilere sayılan kolonilerin toplam miktarı

n_1 ; birinci dilüsyondaki petri sayısı

n_2 ; ikinci dilüsyondaki petri sayısı

d ; ilk sayılan petrinin dilüsyon katsayısı

Oksidaz testi: 10 saniye içinde rengin koyu mavi-mor renge dönüşmemesi testin negatif, dönmesi ise testin pozitif reaksiyon kabul edilir (ISO 21528-2, 2017).

2.2. Enterobacteriaceae Sayımı (TEMPO)

TEMPO EB kiti 35 ± 1 °C de 22 - 27 saat aralığında gıdalarda ve çevre numunelerinde enterobacteriaceae sayısının doğrulama testleri yapılmasına gerek duyulmadan belirlenmesini sağlamak için üretilmiştir. ISO 21528-2 standardına alternatif olarak geliştirilmiştir (URL-3).

2.2.1. Cihaz ve Malzemeler

- ✓ Otoklav
- ✓ Sterilizatör ($160 \pm 5^\circ\text{C}$)
- ✓ İnkübatörler ($35 \pm 1^\circ\text{C}$)
- ✓ Analitik teraziler (0,01g hassasiyette)
- ✓ Su banyosu (80–100 °C)
- ✓ Peristaltik Homojenizatör
- ✓ pH metre
- ✓ Bunzen beki
- ✓ Steril bıçak, pens, spatül, vb. malzemeler
- ✓ Tüp karıştırıcı
- ✓ Plastik steril petriler (15x90mm)
- ✓ Otomatik pipet ve steril pipet ucu
- ✓ Cam tüpler ve tüp sporlar
- ✓ Erlen, beher, mezür vb. standart laboratuvar cam malzemesi
- ✓ TEMPO torbaları – lateral filtreli torbalar (bioMérieux Ref. 80 015)
- ✓ TEMPO EB kartları
- ✓ TEMPO EB besiyeri

2.2.2. Besiyerleri ve Reaktifler

Bitkisel peptonlar	: 10
Şekerler	: 26
Sodyum klorür	: 5
Büyüme faktörleri	: 0,5
Tampon sistemi	: 16
Sodyum deoksikolat* (sığır ve koyun)	: 0,75
Florosan pH indikatörü	: 0,05
Köpürme önleyici ajan	: 0,4

* Besiyeri şişesi > 1% den az Sodyum deoksikolat içerir, pH 7,4

2.2.3. İşlem

2.2.3.1. Ekim

10 mL/g örnek 90 mL PS ile gıda mikrobiyolojisi laboratuvar kurallarına uygun olarak homojenize edildi (Peristaltik homojenizatörde parçalanarak homojen hale getirildi) böylece 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanır (ISO 21528-2, 2017).

Numune tartım poşeti içinde bulunan Numune+PS 10^{-1} 'lik çözeltidir. Besiyeri şişesine 3 mL steril distile su ilave edildi ve besiyeri hazır hale getirildi. Tartım yapılan numune dilüsyonundan 1 mL TEMPO EB besiyeri şişesine geçilerek örnek hazırlandı. Besiyeri şişesinin içerisine bu besiyeri ile uyumlu olan EB kartı daldırıldı ve beraberce TEMPO dolum ünitesine yerleştirildi. Yaklaşık 3 dakika içerisinde cihaz besiyeri şişesindeki numuneyi kartın içerisine vakumlama yoluyla doldurarak kartın üzerindeki dolum kısmını termal olarak kesti ve kart inkübasyon için hazır hale getirildi.

Ekim işlemi yapılmış olan kartlar İnkübatörde sıcaklık ve zaman normlarına göre inkübasyona bırakıldı. 35 ± 1 °C'de yaklaşık 24 saat inkübasyona bırakıldı (URL-3).

2.2.3.2. Hesaplama ve Sonuçlar

İnkübasyon süresi dolan kartlar TEMPO okuma ünitesine yerleştirildi ve başlat tuşuna basılmasıyla birlikte 30 saniye içerisinde okuma işlemi gerçekleştirildi. Sonuçlar bilgisayar ekranında görüntülendi.

2.3. Verifikasyon Çalışmaları

Kullanılan metot standart bir metot olduğu için tam validasyonu yapılmamıştır. Çalışmalarda farklı matriks özelliklerine sahip ISO 19036 ya göre 4 farklı gıda örneği ve 1 yem örneği seçilmiştir;

Seçilen matriks tiplerini temsil eden örnekler alt örneklere ayrılarak 2 farklı kontaminasyon düzeyinde yapay olarak kontamine edilmiştir.

Her analist, her bir matriks tipini temsil eden ve toplamda 6 tekrarlı analizlerini bağımsız olarak yapmıştır. Böylece işlemi Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi yapılmıştır.



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılacak numunelerin alt örnekleme sayıları

2.3.1. Kesinlik Çalışmaları

2.3.1.1. Tekrarlanabilirlik (Sr) Çalışması

Aynı analist aynı örnek ile aynı zaman aralığında 6 defa çalışmıştır. Tekrar sonuçlarının logaritmasından tekrarlanabilirlik standart sapması (S_r) hesaplanmıştır.

2.3.1.2. Tekrarüretilebilirlik (S_R) Çalışması

Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik standart sapması; tekrarlanabilirlik sonuçları kullanılarak hesaplanmıştır. Her örnek farklı iki analist tarafından çalışılmıştır. Her analist, kendi alt örneklemesini (10^{-1} 'lik dilusyon) kendisi oluşturmuştur. Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik standart sapması (S_R) hesaplanmıştır.

2.3.2. Doğruluk Çalışmaları

Verifikasyon çalışmasında doğruluk alt parametreleri olan yeterlilik, geri alma ve negatif suş ile çalışmalar yapılmıştır.

2.4. Belirsizlik Kaynakları ve Hesaplanması

Belirsizlik laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik bağıl standart sapması hesaplanarak bulunmuştur. Bulunan bu değer % 95 güven aralığı için 2 ile (Covarege factor) çarpılarak genişletilmiş belirsizlik bulunmuştur.

4 farklı gıda ve 1 yem örneğinde 10 farklı analiz, farklı günlerde, farklı konsantrasyonlarda yapay kontamine gıda örneği ile laboratuvar içi tekrar üretilirlik çalışması yapılmıştır.

Her bir örnek için, analistler farklı yapay kontamine alt örnekleri çalışmışlardır. Analistlerin aynı örnekten elde ettikleri sonuçlar ile aşağıdaki formüle göre her örnek için bir relatif tekrarüretilebilirlik standart sapması elde edilmiştir.

$$RSD: S/x(ort) \quad (2.2)$$

RSD_R ; Bir örnek için tekrarüretilebilirlik relatif standart sapması (logaritmik olarak)

Tüm örnekler için ayrı olarak RSD_R değerleri hesaplandıktan sonra laboratuvar içi relatif tekrarüretilebilirlik standart sapması hesaplanmıştır.

RSD_{RC} ; Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik relatif standart sapması

Hesaplanan RSD_{RC} değeri birleştirilmiş belirsizlik olarak alınmıştır. RSD_{RC} , % 95 güven aralığı için 2 (covarege factor) ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik hesaplanmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Tekrarlanabilirlik (Sr) Çalışmaları

Süt örneğinde 1. analist ve 2. analistin tekrarlanabilirlik çalışmasına ait verileri Tablo 3.1 ve Tablo 3.2 de sunulmuştur. Veriler incelendiğinde, standart sapma değerleri en düşük 0,12 ve en yüksek 0,18 olarak belirlenmiştir. Logaritmik farklar, 1. analist için düşük seviyede 0,34 ve yüksek seviyede de 0,40, 2. analist için düşük seviyede 0,36 ve yüksek seviyede de 0,40 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler kabul kriteri olan 0,5 log10 değerinin içinde kalmıştır.

Tablo 3.1. Süt için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	390	2,59	11000	4,04
2	730	2,86	5000	3,70
3	500	2,70	4400	3,64
4	730	2,86	6000	3,78
5	330	2,52	11000	4,04
6	560	2,75	9100	3,96
ortalama	540	2,71	7750	3,86
Sr		0,14		0,18
max log		2,86		4,04
min log		2,52		3,64
log fark		0,34		0,40

Tablo 3.2. Süt için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	360	2,56	9100	3,96
2	640	2,81	6000	3,78
3	830	2,92	3700	3,57
4	530	2,72	6700	3,83
5	640	2,81	9300	3,97
6	570	2,76	6800	3,83
ortalama	595	2,76	6933	3,82
Sr		0,12		0,15
max log		2,92		3,97
min log		2,56		3,57
log fark		0,36		0,40

Dondurma örneğinde 1. analist ve 2. analistin tekrarlanabilirlik çalışmasına ait verileri Tablo 3.3 ve Tablo 3.4’te sunulmuştur. Veriler incelendiğinde, standart sapma değerleri en düşük 0,09 ve en yüksek 0,12 olarak belirlenmiştir. Logaritmik farklar, 1. analist için düşük seviyede 0,28 ve yüksek seviyede de 0,24, 2. analist için düşük seviyede 0,29 ve yüksek seviyede de 0,29 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler kabul kriteri olan 0,5 log10 değerinin içinde kalmıştır.

Tablo 3.3. Dondurma için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	360	2,56	6000	3,78
2	390	2,59	6000	3,78
3	330	2,52	9100	3,96
4	530	2,72	7800	3,89
5	570	2,76	6800	3,83
6	630	2,80	5200	3,72
ortalama	468	2,66	6817	3,83
Sr		0,12		0,09
max log		2,80		3,96
min log		2,52		3,72
log fark		0,28		0,24

Tablo 3.4. Dondurma için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	640	2,81	7800	3,89
2	330	2,52	6700	3,83
3	430	2,63	5500	3,74
4	480	2,68	7800	3,89
5	400	2,60	4000	3,60
6	450	2,65	5500	3,74
ortalama	455	2,65	6216	3,78
Sr		0,10		0,11
max log		2,81		3,89
min log		2,52		3,60
log fark		0,29		0,29

Fındık örneğinde 1. analist ve 2. analistin tekrarlanabilirlik çalışmasına ait verileri Tablo 3.5 ve Tablo 3.6’da sunulmuştur. Veriler incelendiğinde, standart sapma değerleri en düşük 0,09 ve en yüksek 0,25 olarak belirlenmiştir. Logaritmik farklar, 1. analist için düşük seviyede 0,24 ve yüksek seviyede de 0,51, 2. analist için düşük seviyede 0,33 ve

yüksek seviyede de 0,48 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler 1. analist yüksek seviye değeri hariç kabul kriteri olan 0,5 log10 değerinin içinde kalmıştır. 1. Analist yüksek seviye değeri de TEMPO cihazı için belirtilmiş olan 1 log10 değeri içinde kalmıştır. Tüm numuneler arasında en yüksek logaritmik farkın fındık örneğinde oluşması matriks yapısından gelen homojenizasyon sorunundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 3.5. Fındık için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	360	2,56	820	2,91
2	440	2,64	1700	3,23
3	460	2,66	550	2,74
4	630	2,80	520	2,72
5	480	2,68	520	2,72
6	580	2,76	1700	3,23
ortalama	492	2,68	968	2,92
Sr		0,09		0,25
max log		2,80		3,23
min log		2,56		2,72
log fark		0,24		0,51

Tablo 3.6. Fındık için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	280	2,45	560	2,75
2	450	2,65	1700	3,23
3	560	2,75	1200	3,08
4	390	2,59	660	2,82
5	260	2,41	830	2,92
6	430	2,63	1100	3,04
ortalama	395	2,58	10083	2,97
Sr		0,13		0,18
max log		2,75		3,23
min log		2,41		2,75
log fark		0,33		0,48

Peynir örneğinde 1. analist ve 2. analistin tekrarlanabilirlik çalışmasına ait verileri Tablo 3.7 ve Tablo 3.8’de sunulmuştur. Veriler incelendiğinde, standart sapma değerleri en düşük 0,05 ve en yüksek 0,15 olarak belirlenmiştir. Logaritmik farklar, 1. analist için düşük seviyede 0,24 ve yüksek seviyede de 0,23, 2. analist için düşük seviyede 0,13 ve

yüksek seviyede de 0,35 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler kabul kriteri olan 0,5 log10 değerinin içinde kalmıştır.

Tablo 3.7. Peynir için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	280	2,45	2200	3,34
2	300	2,48	3700	3,57
3	280	2,45	2900	3,40
4	490	2,69	2500	3,46
5	480	2,68	2900	3,49
6	400	2,60	3100	3,46
ortalama	372	2,56	2883	3,45
Sr		0,11		0,08
max log		2,69		3,57
min log		2,45		3,34
log fark		0,24		0,23

Tablo 3.8. Peynir için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	360	2,56	2400	3,38
2	360	2,56	3100	3,49
3	330	2,52	5200	3,72
4	450	2,65	4000	3,60
5	390	2,59	2300	3,36
6	360	2,56	4600	3,66
ortalama	375	2,57	3600	3,54
Sr		0,05		0,15
max log		2,65		3,72
min log		2,52		3,36
log fark		0,13		0,35

Balık yağı örneğinde 1. analist ve 2. analistin tekrarlanabilirlik çalışmasına ait verileri Tablo 3.9 ve Tablo 3.10'da sunulmuştur. Veriler incelendiğinde, standart sapma değerleri en düşük 0,09 ve en yüksek 0,18 olarak belirlenmiştir. Logaritmik farklar, 1. analist için düşük seviyede 0,24 ve yüksek seviyede de 0,23, 2. analist için düşük seviyede 0,24 ve yüksek seviyede de 0,36 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler kabul kriteri olan 0,5 log10 değerinin içinde kalmıştır.

Tablo 3.9. Balık yağı için tekrarlanabilirlik çalışmaları (1. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	1200	3,08	21000	4,32
2	1200	3,08	9100	3,96
3	1700	3,23	12000	4,08
4	1400	3,15	8200	3,91
5	1900	3,28	15000	4,18
6	730	2,86	21000	4,32
ortalama	1355	3,11	14383	4,13
Sr		0,15		0,18
max log		3,28		4,32
min log		2,86		3,91
log fark		0,24		0,23

Tablo 3.10. Balık yağı için tekrarlanabilirlik çalışmaları (2. Analist)

Örnek	DÜŞÜK	log 10	YÜKSEK	log 10
1	1200	3,08	17000	4,23
2	1100	3,04	15000	4,18
3	1500	3,18	11000	4,04
4	1300	3,11	12000	4,08
5	1900	3,28	12000	4,08
6	1100	3,04	25000	4,40
ortalama	1350	3,12	15333	4,17
Sr		0,09		0,13
max log		3,28		4,40
min log		3,04		4,04
log fark		0,24		0,36

3.2. Tekrarüretilebilirlik (S_R) Çalışmaları

Tüm örnekler için 1. analist ve 2. analistin tekrarüretilebilirlik çalışmasına ait verileri Tablo 3.11’de sunulmuştur. Tekrarüretilebilirlik standart sapması S_R=0,09 olarak hesaplanmıştır. Bu değer klasik metotta belirtilen en düşük tekrarüretilebilirlik standart sapması değeri olan 0,13’ten de daha küçüktür.

Tablo 3.11. Tekrarüretilebilirlik sonuçları

İ	Replike Analiz Sonuçları		Sonuçların Logaritması		Y _{İA} -Y _{İB}	(Y _{İA} -Y _{İB}) ²
	X _{İA}	X _{İB}	Y _{İA}	Y _{İB}		
1	390	360	2,591	2,556	0,035	0,001
2	730	530	2,863	2,724	0,139	0,019
3	5000	6000	3,699	3,778	-0,079	0,006

Tablo 3.11'in devamı

İ	Replike Analiz Sonuçları		Sonuçların Logaritması		$Y_{IA}-Y_{IB}$	$(Y_{IA}-Y_{IB})^2$
	X_{IA}	X_{IB}	Y_{IA}	Y_{IB}		
4	11000	9100	4,041	3,959	0,082	0,007
5	390	330	2,591	2,519	0,073	0,005
6	330	430	2,519	2,633	-0,115	0,013
7	6000	7800	3,778	3,892	-0,114	0,013
8	6000	6700	3,778	3,826	-0,048	0,002
9	480	390	2,681	2,591	0,090	0,008
10	400	360	2,602	2,556	0,046	0,002
11	3700	3100	3,568	3,491	0,077	0,006
12	2900	5200	3,462	3,716	-0,254	0,064
13	1200	1100	3,079	3,041	0,038	0,001
14	1700	1500	3,230	3,176	0,054	0,003
15	330	640	2,519	2,806	-0,288	0,083
16	560	570	2,748	2,756	-0,008	0,000
17	9100	5500	3,959	3,740	0,219	0,048
18	7800	7800	3,892	3,892	0,000	0,000
19	280	360	2,447	2,556	-0,109	0,012
20	300	360	2,477	2,556	-0,079	0,006
S_R	0,09					

3.3. Doğruluk Çalışmaları

3.3.1. Geri Alma Çalışması

SRM *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 ile çalışıldı. Süt örneğinde geri alma çalışmasına ait veriler Tablo 3.12'de sunulmuştur.

Tablo 3.12. Doğruluk çalışmaları – geri alma çalışması

Matriks	Düzy	Spike Edilen	Ölçülem Değer	Geri Alma Oranı %
SÜT	Düşük	2,114	2,079	98
	Yüksek	3,114	3,079	99

Sonuçlar incelendiğinde 10^2 ve 10^3 seviyesinde yapılan spike (ekleme) işlemi sonucu % 98 ve % 99 gibi çok iyi geri alma değerleri elde edilmiştir.

3.3.2. Yeterlilik Testi

FEPAS M241e05 kodlu yeterlilik testi katılımında elde edilen sonuç Tablo 3.13’de sunulmuştur.

Tablo 3.13. Doğruluk çalışmaları – yeterlilik testi

Sonuç	TEMPO	ISO 21528-2
Gerçek değer	$3,6 \times 10^3$	$3,6 \times 10^3$
Bulunan değer	$5,3 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$
Z skoru	0,6	0,7

Laboratuvarlar arası yapılan çalışmalar sonucu Z skoru değeri TEMPO ile yapılan analizde 0,6 ve ISO 21528-2 ile yapılan analizde 0,7 çıkmıştır. Bulunması gereken değer aralığı $Z = \pm 2$ ’dir. İki metodun da sonuçları birbirine çok yakın ve sınır değer aralığı içinde kalmıştır.

3.3.3. Kör Çalışma

Negatif kontrol amaçlı *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu ile çalışma yapıldı. Tüm örneklerdeki negatif kontrol çalışmasına ait veriler Tablo 3.14’te sunulmuştur.

Tablo 3.14. Negatif kontrol çalışması

Süt	<10
Dondurma	<10
Fındık	<10
Peynir	<10
Balık Yağı	<10

Negatif suş ile yapılan çalışmalarda tüm örneklerde <10 sonucu tespit edilmiştir. Bu sonuç, cihazın sonuçlarının özgüllüğünün iyi olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar pozitif elde edilen değerlerin de anlamlı olduğunu göstermektedir.

3.4. Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları ve Raporlama

3.4.1. Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları

Süt örneğinde 1. analist ve 2. analistin ölçüm belirsizliği verileri Tablo 3.15'te sunulmuştur. Tekrarüretilebilirlik verileri ile elde edilen sonuçlar ile hesaplanan genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri 0,0673 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.15. Süt örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları

Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
390	2,591	360	2,556	0,0096	0,0001
730	2,863	640	2,806	0,0143	0,0002
500	2,699	830	2,919	0,0554	0,0031
730	2,863	530	2,724	0,0352	0,0012
330	2,519	640	2,806	0,0764	0,0058
11000	4,041	9100	3,959	0,0146	0,0002
5000	3,699	6000	3,778	0,0150	0,0002
4400	3,643	3700	3,568	0,0148	0,0002
6000	3,778	6700	3,826	0,0089	0,0001
11000	4,041	9300	3,968	0,0129	0,0002
U (Genişletilmiş Belirsizlik)= RSD _{RC}					0,0337
U (Genişletilmiş Belirsizlik)					0,0673

Dondurma örneğinde 1. analist ve 2. analistin ölçüm belirsizliği verileri Tablo 3.16'da sunulmuştur. Tekrarüretilebilirlik verileri ile elde edilen sonuçlar ile hesaplanan genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri 0,068 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.16. Dondurma örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları

Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
360	2,556	640	2,806	0,0659	0,0043
390	2,591	330	2,519	0,0201	0,0004
330	2,519	430	2,633	0,0316	0,0010
530	2,724	480	2,681	0,0113	0,0001
570	2,756	400	2,602	0,0406	0,0016
6000	3,778	7800	3,892	0,0210	0,0004
6000	3,778	6700	3,826	0,0089	0,0001
9100	3,959	5500	3,740	0,0402	0,0016
7800	3,892	7800	3,892	0,0000	0,0000

Tablo 3.16'nın devamı

Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
6800	3,833	4000	3,602	0,0438	0,0019
U (Genişletilmiş Belirsizlik)= RSD _{RC}					0,034
U (Genişletilmiş Belirsizlik)					0,068

Fındık örneğinde 1. analist ve 2. analistin ölçüm belirsizliği verileri Tablo 3.17'de sunulmuştur. Tekrarüretilebilirlik verileri ile elde edilen sonuçlar ile hesaplanan genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri 0,081 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.17. Fındık örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları

Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
360	2,556	280	2,447	0,0308	0,0010
440	2,643	450	2,653	0,0026	0,0000
460	2,663	560	2,748	0,0223	0,0005
630	2,799	390	2,591	0,0546	0,0030
480	2,681	260	2,415	0,0739	0,0055
8200	3,914	5600	3,748	0,0306	0,0009
17000	4,230	17000	4,230	0,0000	0,0000
5500	3,740	12000	4,079	0,0613	0,0038
5200	3,716	6600	3,820	0,0194	0,0004
5200	3,716	8300	3,919	0,0376	0,0014
U (Genişletilmiş Belirsizlik)= RSD _{RC}					0,0405
U (Genişletilmiş Belirsizlik)					0,0810

Peynir örneğinde 1. analist ve 2. analistin ölçüm belirsizliği verileri Tablo 3.18'de sunulmuştur. Tekrarüretilebilirlik verileri ile elde edilen sonuçlar ile hesaplanan genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri 0,0546 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.18. Peynir örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları

Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
280	2,447	360	2,556	0,0308	0,0010
300	2,477	360	2,556	0,0222	0,0005
280	2,447	330	2,519	0,0203	0,0004
490	2,690	450	2,653	0,0098	0,0001
480	2,681	390	2,591	0,0242	0,0006

Tablo 3.18'in devamı

Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
2200	3,342	2400	3,380	0,0079	0,0001
3700	3,568	3100	3,491	0,0154	0,0002
2900	3,462	5200	3,716	0,0500	0,0025
2500	3,398	4000	3,602	0,0412	0,0017
2900	3,462	2300	3,362	0,0209	0,0004
U (Genişletilmiş Belirsizlik)= RSD _{RC}					0,0273
U (Genişletilmiş Belirsizlik)					0,0546

Balık yağı örneğinde 1. analist ve 2. analistin ölçüm belirsizliği verileri Tablo 3.19'da sunulmuştur. Tekrarüretilebilirlik verileri ile elde edilen sonuçlar ile hesaplanan genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri 0,0352 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.19. Balık yağı örneğine ait ölçüm belirsizliği sonuçları

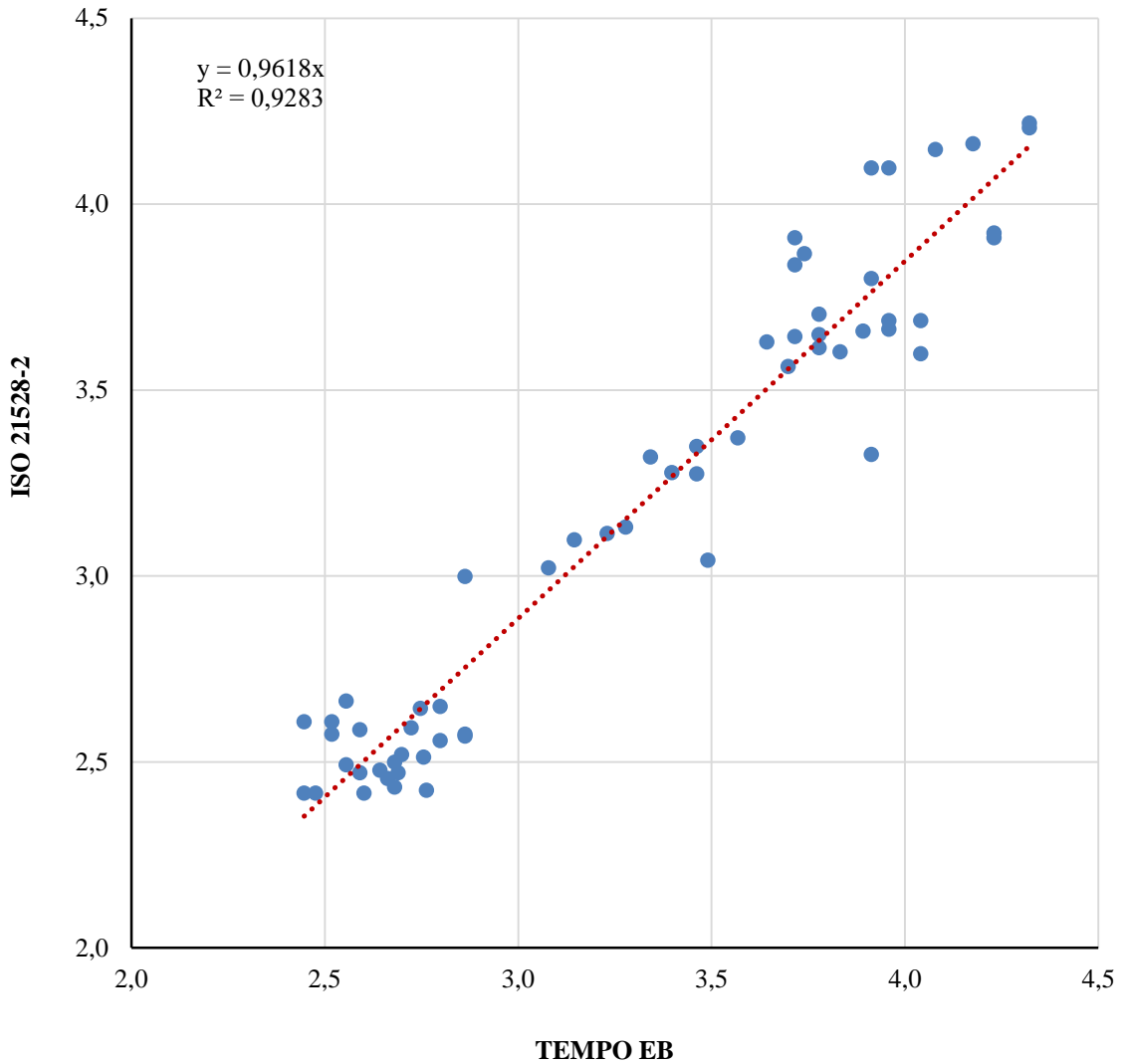
Birinci Analist		İkinci Analist		RSD _R	RSD _R ²
X _{IA}	Log	X _{IB}	Log		
1200	3,079	1200	3,079	0,0000	0,0000
1200	3,079	1100	3,041	0,0087	0,0001
1700	3,230	1500	3,176	0,0120	0,0001
1400	3,146	1300	3,114	0,0073	0,0001
1900	3,279	1900	3,279	0,0000	0,0000
21000	4,322	17000	4,230	0,0152	0,0002
9100	3,959	15000	4,176	0,0377	0,0014
12000	4,079	11000	4,041	0,0066	0,0000
8200	3,914	12000	4,079	0,0293	0,0009
15000	4,176	12000	4,079	0,0166	0,0003
U (Genişletilmiş Belirsizlik)= RSD _{RC}					0,0176
U (Genişletilmiş Belirsizlik)					0,0352

3.4.2. Belirsizliğin Raporlanması

Ölçüm belirsizliği raporlanırken;	$A \pm U$
Örneğin; Süt Analiz sonucu (A):	5,000 kob/g = 5×10^3 olsun.
Logaritmik olarak:	3,69
Ölçüm belirsizliği (U, Log):	0,067
Raporlarken;	$3,69 \pm 0,067$ (3,623 – 3,757)

3.5. Metot Karşılaştırma

Tüm gıdalar ve yemde ISO 21528-2 ve TEMPO ile yapılan analiz sonuçlarına ait korelasyon grafiği Şekil 3.1’de sunulmuştur. Bu ürün gruplarında 6’şar adet düşük seviye ve 6’şar adet yüksek seviye süt, dondurma, fındık, peynir ve balık yağı olmak üzere toplamda 60 adet örnek karşılıklı olarak çalışılmıştır. Bu analizlerden elde edilen sonuçların korelasyon değeri tüm numuneler değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9283$ çıkmıştır. Yapılan analizler arasındaki logaritmik fark, en küçüğü 0,01 ve en büyüğü 0,44 olarak belirlenmiştir.

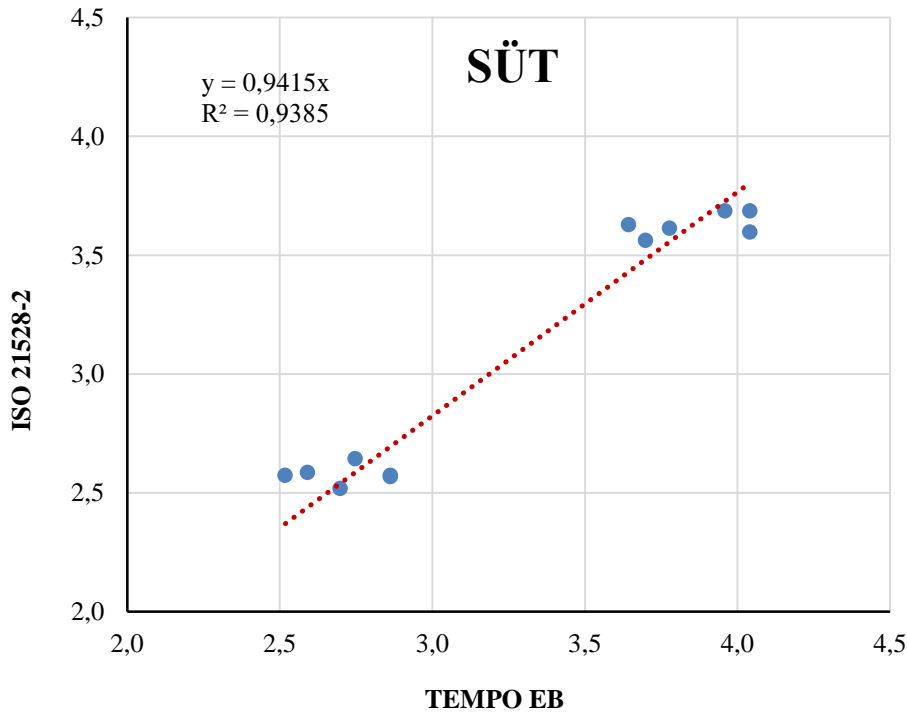


Şekil 3.1. Tüm gıdalar ve yemde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafiği

Süt örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO ile yapılan analiz sonuçları Tablo 3.20’de ve bu değerlere ait korelasyon grafiği Şekil 3.2’de sunulmuştur. Süt örneğinde elde edilen sonuçların korelasyon değeri tüm numunelerinki değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9385$ çıkmıştır. Yapılan analizler arasındaki logaritmik fark en küçüğü 0,01 ve en büyüğü 0,44 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.20. Süt örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları

Örnek	TEMPO	log 10	ISO 21528-2	log 10	Logaritmik Fark
1	390	2,59	385	2,59	0,01
2	730	2,86	370	2,57	0,30
3	500	2,70	330	2,52	0,18
4	730	2,86	375	2,57	0,29
5	330	2,52	375	2,57	0,06
6	560	2,75	440	2,64	0,10
7	11000	4,04	3950	3,60	0,44
8	5000	3,70	3650	3,56	0,14
9	4400	3,64	4250	3,63	0,02
10	6000	3,78	4100	3,61	0,17
11	11000	4,04	4850	3,69	0,36
12	9100	3,96	4850	3,69	0,27

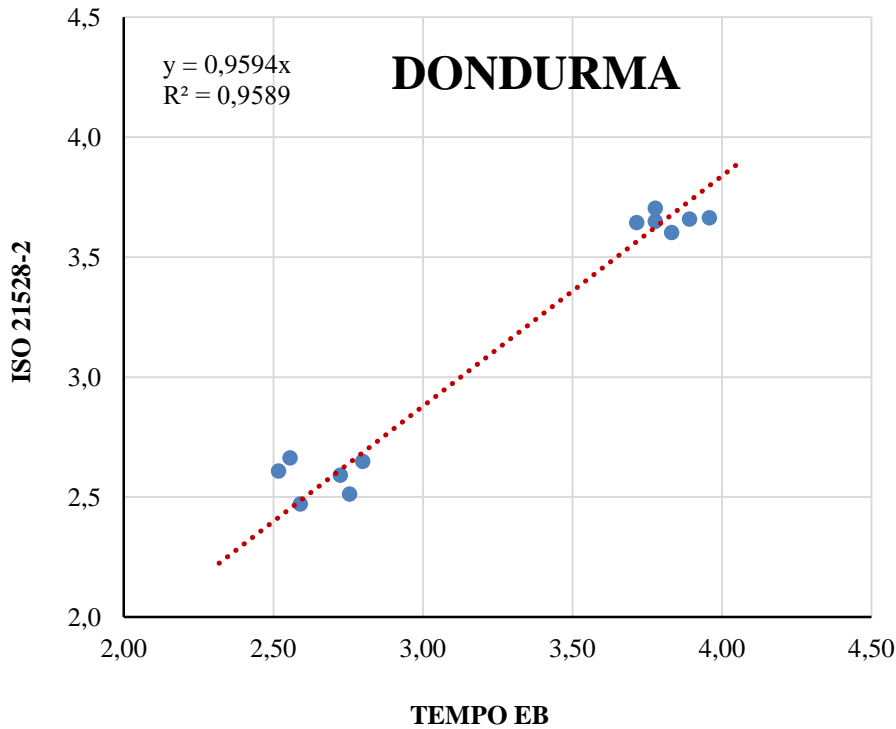


Şekil 3.2. Süt örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafiği

Dondurma örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO ile yapılan analiz sonuçları Tablo 3.21’de ve bu değerlere ait korelasyon grafiği Şekil 3.3’te sunulmuştur. Elde edilen sonuçların korelasyon değeri tüm numuneler değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9589$ çıkmıştır. Yapılan analizler arasındaki logaritmik fark en küçüğü 0,07 ve en büyüğü 0,30 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.21. Dondurma örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları

Örnek	TEMPO	log 10	ISO 21528-2	log 10	Logaritmik Fark
1	360	2,56	460	2,66	0,11
2	390	2,59	295	2,47	0,12
3	330	2,52	405	2,61	0,09
4	530	2,72	390	2,59	0,13
5	570	2,76	325	2,51	0,24
6	630	2,80	445	2,65	0,15
7	6000	3,78	5050	3,70	0,07
8	6000	3,78	4450	3,65	0,13
9	9100	3,96	4600	3,66	0,30
10	7800	3,89	4550	3,66	0,23
11	6800	3,83	4000	3,60	0,23
12	5200	3,72	4400	3,64	0,07

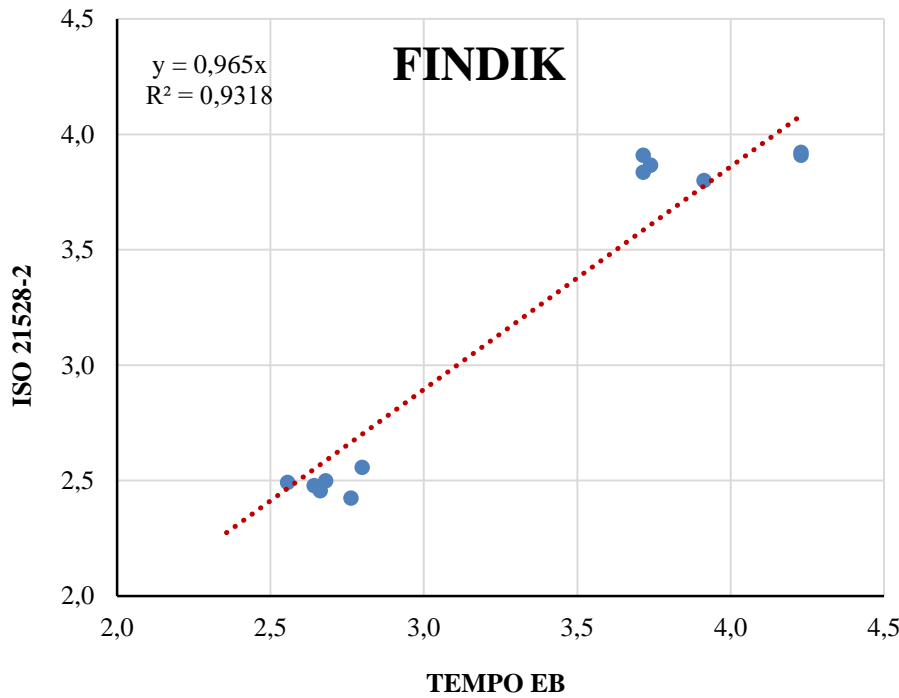


Şekil 3.3. Dondurma örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafiği

Fındık örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO ile yapılan analiz sonuçları Tablo 3.22’de ve bu değerlere ait korelasyon grafiği Şekil 3.4’te sunulmuştur. Elde edilen sonuçların korelasyon değeri tüm numunelerinki değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9385$ çıkmıştır. Yapılan analizler arasındaki logaritmik fark, en küçüğü 0,01 ve en büyüğü 0,44 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.22. Fındık örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları

Örnek	TEMPO	log 10	ISO 21528-2	log 10	Logaritmik Fark
1	360	2,56	310	2,49	0,06
2	440	2,64	300	2,48	0,17
3	460	2,66	285	2,45	0,21
4	630	2,80	360	2,56	0,24
5	480	2,68	315	2,50	0,18
6	580	2,76	265	2,42	0,34
7	8200	3,91	6300	3,80	0,11
8	17000	4,23	8100	3,91	0,32
9	5500	3,74	7350	3,87	0,13
10	5200	3,72	8100	3,91	0,19
11	5200	3,72	6850	3,84	0,12
12	17000	4,23	8350	3,92	0,31

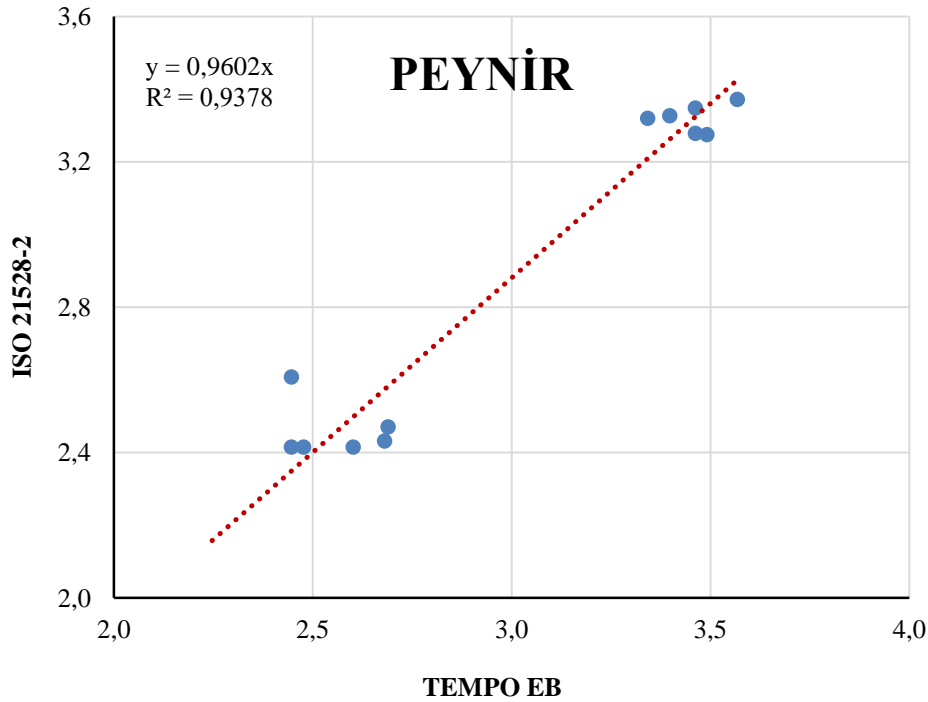


Şekil 3.4. Fındık örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafiği

Peynir örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO ile yapılan analiz sonuçları Tablo 3.23'te ve bu değerlere ait korelasyon grafiği Şekil 3.5'te sunulmuştur. Elde edilen sonuçların korelasyon değeri tüm numunelerinki değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9378$ çıkmıştır. Yapılan analizler arasındaki logaritmik fark en küçüğü 0,02 ve en büyüğü 0,25 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.23. Peynir örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları

Örnek	TEMPO	log 10	ISO 21528-2	log 10	Logaritmik Fark
1	280	2,45	405	2,61	0,16
2	300	2,48	260	2,41	0,06
3	280	2,45	260	2,41	0,03
4	490	2,69	295	2,47	0,22
5	480	2,68	270	2,43	0,25
6	400	2,60	260	2,41	0,19
7	2200	3,34	2085	3,32	0,02
8	3700	3,57	2350	3,37	0,20
9	2900	3,46	2225	3,35	0,12
10	2500	3,40	2120	3,33	0,07
11	2900	3,46	1895	3,28	0,18
12	3100	3,49	1880	3,27	0,22

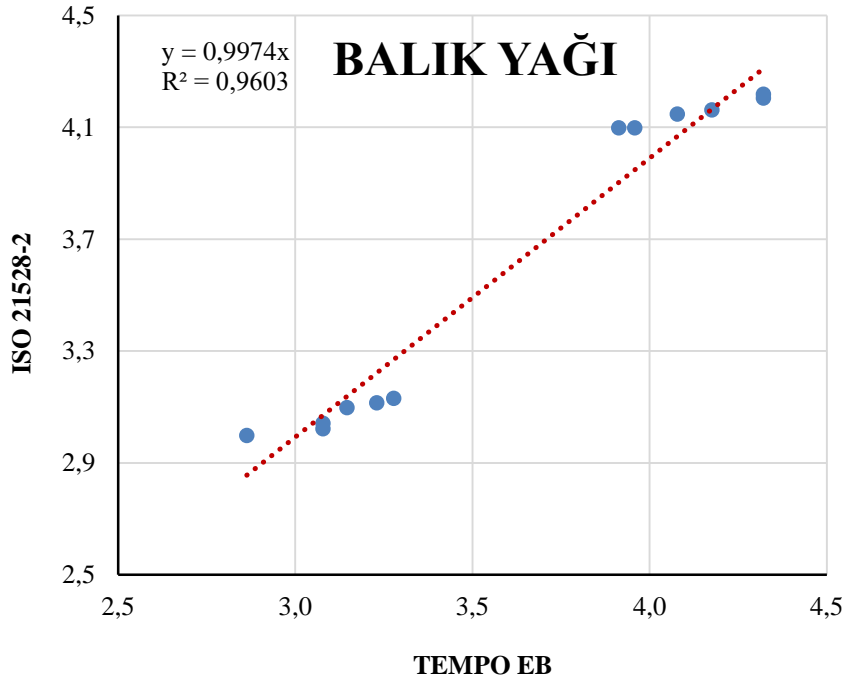


Şekil 3.5. Peynir örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafiği

Balık yağı örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO ile yapılan analiz sonuçları Tablo 3.24'te ve bu değerlere ait korelasyon grafiği Şekil 3.6'da sunulmuştur. Elde edilen sonuçların korelasyon değeri tüm numunelerinki değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9603$ çıkmıştır. Yapılan analizler arasındaki logaritmik fark en küçüğü 0,01 ve en büyüğü 0,18 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.24. Balık yağı örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları

Örnek	TEMPO	log 10	ISO 21528-2	log 10	Logaritmik Fark
1	1200	3,08	1100	3,04	0,04
2	1200	3,08	1050	3,02	0,06
3	1700	3,23	1300	3,11	0,12
4	1400	3,15	1250	3,10	0,05
5	1900	3,28	1350	3,13	0,15
6	730	2,86	995	3,00	0,13
7	21000	4,32	16000	4,20	0,12
8	9100	3,96	12500	4,10	0,14
9	12000	4,08	14000	4,15	0,07
10	8200	3,91	12500	4,10	0,18
11	15000	4,18	14500	4,16	0,01
12	21000	4,32	16500	4,22	0,10



Şekil 3.6. Balık yağı örneğinde ISO 21528-2 ve TEMPO analiz sonuçları grafiği

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmalar sonucunda TEMPO cihazı ve klasik yöntem ile elde edilen veriler karşılaştırıldı. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmaları yapılarak TEMPO cihazı için her bir gıda tipinde ölçüm belirsizliği değerleri tespit edildi. Sonuçların uyumluluğunun incelenebilmesi amacıyla hem bireysel hem de farklı kişilerin sonuçlarının arasındaki logaritmik farkların sınır içinde kalıp kalmadığı değerlendirildi. İki ayrı metot sonuçlarının logaritmik fark sınırı içinde kalıp kalmadığı değerlendirilmiş ve yine iki metot sonuçlarından grafikler elde edilerek R^2 değerleri yönünden incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda ulaşılan sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

- ✓ Analistlerin aynı örnekten elde ettiği sonuçlar arasındaki fark logaritmik olarak 0,5'i aşmamıştır. Klasik metot ve TEMPO ile yapılan karşılaştırmalı çalışma verilerinin farkı logaritmik olarak 0,5'i aşmamıştır.
- ✓ Tekrarlanabilirlik Standart Sapması (S_r) ve Tekrarüretilebilirlik Standart Sapması (S_R), metod standart sapmasının içinde kalmıştır.
- ✓ Metotlar arasındaki korelasyon değerleri; süt için 0,9385, dondurma için 0,9589, fındık için 0,9318, peynir için 0,9378 ve balık yağı için 0,9603 olarak hesaplanmıştır.
- ✓ Tüm gıdalar ve yem için elde edilen korelasyon değeri 0,9283'tür. Bu sonuçlara göre de metotlar arasında iyi bir uyum olduğu tespit edilmiştir.
- ✓ Geri kazanım değerleri %80 - %120 arasında kalmıştır.

Yeterlilik Testi sonucu Z skoru 0,6 çıkmıştır ve ± 2 sınırı içinde kalmıştır.

TEMPO cihazı ile yapılan verifikasyon çalışmasında, ISO 19036'ya göre seçilen ve tüm gıdaları temsil eden dört farklı gıda matriksleri üzerinde yapılan analizler sonucunda analiz metodunun tüm gıdaları kapsadığı, yem numuneleri ile yapılan çalışmada metodun uygulanabildiği, ancak toz yemlerde test kitinin olumlu sonuç vermediği tespit edilmiştir.

TEMPO cihazı ile yapılan analizlerin, klasik analiz yöntemlerine göre pozitif çıkan numuneler açısından ekstra bir doğrulama işlemi olmadığından dolayı daha hızlı sonuç verdiği aynı zamanda klasik yöntemlerdeki besiyeri hazırlama, ekim, sonuç değerlendirme ve hesaplama işlemlerinin ortaya çıkardığı zaman kayıplarını minimize ettiği ortaya konulmuştur.

Alternatif metot TEMPO hızlı test sistemi, laboratuvarlarda kullanılan klasik yöntemler gibi doğru ve güvenilir sonuç vermesi yanında, çalışmaları kolaylaştırması ve hızlandırması bakımından kuvvetli bir tercih sebebi olabilir.

5. KAYNAKLAR

- Alsaadi, Y.S., 2014. Practical Use And Development Of Biomérieux Tempo System In Microbial Food Safety, Doktora Tezi, Manhattan, Kansas, p.1
- Andrews, S., Traynor, P., Scholtes, A. ve Anderson, J., 2004. Guidelines for Assuring Quality of Food and Water Microbiological Culture Media, Culture Media Special Interest Group Australian Society for Microbiology, p.5
- Aras, Z., 2011. Mikrobiyolojide Kullanılan Hızlı Tanı Yöntemleri, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 68, 2, 97 - 104
- Baylis, C.L., 2006. Enterobacteriaceae In Food Spoilage Microorganisms, Blackburn C. deW. Ed, Cambridge, Woodhead Publishing Ltd., p.6
- Baylis, C., Uyttendaele M., Joosten, H., ve Davies, A., 2011. December, The Enterobacteriaceae And Their Significance To The Food Industry, ILSI Europe Report Series, pp.6,9,31,32
- Bulduk, S., 2010. Gıda Teknolojisi, Detay Yayıncılık, 6. Baskı, Ankara, ss.27,28,59
- Cirolini, A., Miotto, M., Machado, F.M., Silva, H.S., Ogliari, P.J. ve Viera, .C.R.W., 2013. Evaluation of the Petrifilm TM EB and TEMPO EB systems with ISO 21528-2:2004 method for the count of Enterobacteriaceae in milk, Brazilian Journal of Microbiology, 44, 3, 771-775
- Cordier, J.L., 2006. Emerging foodborne pathogens, Switzerland, p.450
- Çakır, İ., 2008. Gıda Mikrobiyolojisinde Kullanılan Hızlı Yöntemler Alanındaki Gelişmeler ve Bu Yöntemlerin Endüstriyel Açıdan Geleceği, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum s.23
- Dayılar, Ö.D., 2018. Gıda Güvenliği Kavramı Bilinç Düzeyinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya, ss.1,2,3,4,5,6,7,14
- Dölekoğlu, C.Ö. ve Yurdakul, O., 2004. Adana İlinde Hanehalkının Beslenme Düzeyleri ve Etkili Faktörlerin Logit Analizi ile Belirlenmesi, Akdeniz İ.İ.B.F. Dergisi, 8, 62-86
- EA-04/10, 2002. June, Accreditation for Microbiological Laboratories, Publication Reference, pp.5,9
- Ertuğrul, Ç., 2014. Çeşitli Kanatlı Ürünlerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Ve Enterobacteriaceae Sayılarının Belirlenmesinde Klasik ISO ve Tempo Hızlı Test

Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bolu, sf.iii

Feldsine, P., Abeyta, C. ve Andrews, W.H., 2002. AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis, Journal of AOAC International, 85, 5, p.1188

Gül, F.,ve Önal, A.E., 2008. Halk Sağlığı Açısından Gıda Analizlerinin Önemi, Nobel Medicus, 4, 3, s.10

Halaç, E., 2002. Gıda Kalitesi ve Gıda Mevzuatı ile İlgili Temel Kavramlar Işığında Türk ve AB Gıda Mevzuatının Karşılaştırılması, Akdeniz İ.İ.B.F. Dergisi, 4, 107-131

Halkman, A., 2019. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi II Ders Notları, Ankara, ss.3,4

ISO/TS 19036, 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations, International Standard Organizaton, pp.7,12

ISO 21528-2, 2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count technique, second edition, International Standard Organization, s.

İba, S., 2013. Uluslararası Güvenlik Anlayışında Gıda Güvenliği Sorunsalı: Avrupa Birliği-Türkiye Karşılaştırmalı Analizi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Avrupa Birliği Anabilim Dalı, İstanbul, ss.28-29-38-85-143

Karaali, A., 2003. Gıda İşletmelerinde HACCP Uygulamaları ve Denetimi, Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü ve Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Ankara, s.3

Karahan, M.M., 2016. Farklı Sebze ve Yetiştirildikleri Toprak Kaynaklı Gram Negatif Bakteri Suşlarında Antibiyotik Direnç ile ERIC-PCR Profillerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, s.5

Lee., D.Y., Kim, H.Y. ve Cho, Y.S., 2017. Comparison of TEMPO BC and MYP Plate Methods for the Enumeration of Bacillus cereus in Various Foods, Journal of Food Hygiene and Safety, 32, 4, pp.249-253

Mattick, K.L., Jorgensen, F. ve Wang, P., 2001. Effect of challenge temperature and solute type on heat tolerance of Salmonella serovars at low water activity, Applied and Environmental Microbiology, 67, 4128-4136.

ORA Laboratory Procedure Food and Drug Administration, Methods, Method Verification And Validation, Document No.: ORA-LAB.5.4.5, 2014, p.3

- Owen, M., 2010. Evaluation of the TEMPO most probable number technique for the enumeration of Enterobacteriaceae in food and dairy products, Journal of Applied Microbiology, 109, 5, 1810-1816
- Paulsen, P., Borgetti, C., Schopf, E. ve Smulders, F.J.M., 2008. Enumeration of Enterobacteriaceae in Various Foods with a New Automated Most-Probable-Number Method Compared with Petrifilm and International Organization for Standardization Procedures, Journal of Food Protection, 71, 2, 376-379
- Pichhardt, K., 1997. Gıda Mikrobiyolojisi-Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar, (çev: Y. Sekin ve N. Karagözlü), Literatür Yayınları:115, 4.Baskıdan Çeviri, ISBN: 975-04-0190-5, İstanbul, ss.1,129,171,277
- QSOP 4, 2005. Uncertainty of Measurement In Testing , Issued by Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Centre for Infections, National Standard Method, 5, pp.6,7,16,17,18,19
- QSOP 18, 2005. Recommended Minimum Internal Quality Control In Food Microbiology Testing Laboratories, Issued by Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Centre for Infections, National Standard Method, 4.2, pp.6,7
- Styczyńska, A.K., 2010. Microbiological Quality Assessment Of Minced Meat – Conventional Or Alternative Method?, Nauka Przyroda Technologie, ISSN 1897-7820, 4, 5, 1-9
- Topuzoğlu, A., Hıdıroğlu, S., Ay, P., Önsüz, F. ve İkışık, H., 2007. Tüketicilerin Gıda Ürünleri ile İlgili Bilgi Düzeyleri ve Sağlık Risklerine Karşı Tutumları, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 6, 4, İstanbul, 253-258
- Torlak, E., Akan, İ.M. ve Gökmen, M., 2008. Comparison of TEMPO® EC and TBX medium for the enumeration of Escherichia coli in cheese, Journal of Applied Microbiology, 47, 6, 566-570
- TS EN ISO 11133, 2014. Gıda, yem ve su mikrobiyolojisi-Kültür ortamının hazırlama, üretim, muhafaza ve performans deneyi, s.8
- TS 13134, 2005. Mikrobiyoloji Lâboratuvarlarının Akreditasyonu – TS EN ISO/IEC 17025 “Deney Ve Kalibrasyon Lâboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar” Standardının Uygulanması Rehberi, Türk Standartları Enstitüsü, s.6
- TS EN ISO 16140-2, 2016. Gıda zinciri mikrobiyolojisi- Doğrulama yöntemi- Bölüm 2: Alternatif (patentli) yöntemlerin eferans yöntemlere karşı doğrulaması için protokol, Türk Standartları Enstitüsü, ss.V,16
- TS EN ISO 16140-1, 2016. Gıda zinciri mikrobiyolojisi-Doğrulama yöntemi- Bölüm 1: Terimler ve tarifler, Türk Standartları Enstitüsü, s.2

- TS EN ISO/IEC 17025, 2017. Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yetkinliği İçin Genel Gereklilikler, Türk Standartları Enstitüsü, s.2
- TSE ISO/IEC Guide 99, 2013. Uluslararası Metroloji Sözlüğü - Temel ve Genel Kavramlar ve İlgili Terimler (VIM), Türk Standartları Enstitüsü, ss.21-51
- TS EN ISO 22000, 2018. Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri - Gıda Zincirindeki Herhangi Bir Organizasyon İçin Gereksinimler, Türk Standartları Enstitüsü, s.9
- URL-1, 2019. https://www.biomerieux-usa.com/industry/tempo?doc=USA_PRD_LST_G_PRD_USA_20,
- URL-2, 2016. Tempo Başlangıç Kılavuzu. 161150-861 -. bioMe'rieux, Marcy-l'Etoile, France,
- URL-3, 2014. TEMPO EB (Enterobacteriaceae), Ref 80003. bio-Me'rieux, Marcy-l'Etoile,France. <https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/storyboard/guidedsearch/searchResultDisplayer.jsp?oid=448406>
- URL-4, 2010. Tempo Hazırlık İstasyonu Kullanıcı Kılavuzu. Ref 80099. bioMe'rieux, Marcy-l'Etoile, France.
- URL-5, 2010. Tempo Okuma İstasyonu Kullanıcı Kılavuzu. Ref 80098. bioMe'rieux, Marcy-l'Etoile, France.
- Yavaş, E.S., 2015. Şubat, Gıdalardan İzole Edilen Enterobacteriaceae Türlerinin Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesi Biyofilm Oluşumu ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, s.1
- Wanigasekera, B.D., 2012. Agents of Foodborn Illness, Food Standards Australia New Zealand-Technical Report, 2nd. Edition, p.4
- 9020 Quality Assurance/Quality Control, 2017, Standart Methods For The Examination of Water and Wastewater, DOI 10.2015/SMWW.2882.180

ÖZGEÇMİŞ

Osman YAHYAOĞLU, 27.01.1980 yılında Trabzon'da doğdu. 1991 yılında Nilüfer Hatun İlköğretim Okulu'ndan, 1994 yılında Cumhuriyet Orta Okulu'ndan ve 1997 yılında Trabzon Lisesi'nden mezun oldu. 1997-2002 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılında Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvarı, Mikrobiyolojik Analizler Laboratuvarında Gıda Mühendisi olarak göreve başladı. 2015 yılında Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Osman YAHYAOĞLU evli ve bir çocuk babasıdır.