

BURCU ÇAKMAK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2012

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**PİYASADA SATIŞA SUNULAN ÇEŞİTLİ BEBEK
MAMALARINDA VE PASTÖRİZE SÜTLERDE
ENTEROBACTER SAKAZAKİİ’NİN
VARLIĞI**

BURCU ÇAKMAK

**DANIŞMAN
PROF. DR. ÖZER ERGÜN**

**BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

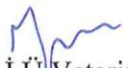
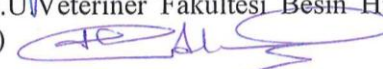
TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Programında Burcu ÇAKMAK tarafından hazırlanan Piyasada Satışa Sunulan Çeşitli Bebek Mamalarında ve Pastörize Sütlerde Enterobacter Sakazakii'nin Varlığı başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

07 / 02 / 2012

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

- 1.Prof.Dr.Özer ERGÜN İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (Danışman) 
- 2.Prof.Dr.Yakut ÖZGÜR İ.Ü.Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Tez İzleme Komitesi) 
- 3.Prof.Dr.Harun AKSU İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (Tez İzleme Komitesi) 
- 4.Doç.Dr.Seran TEMELLİ Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 
- 5.Doç.Dr.Hilal ÇOLAK ÜZÜM İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Burcu ÇAKMAK

İTHAF

Anneme ve Babama ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında destek ve bilgisini esirgemeyen, her zaman yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Özer ERGÜN’e,

Öğrenimim süresince ilgisi, desteği ve sürekli yardımları için hocam Sayın Doç. Dr. Hilal ÇOLAK ÜZÜM’e,

Doktora eğitimim boyunca her türlü desteği, ilgiyi, yardımı ve vakitlerini esirgemeyen Dr. Barış BİNGÖL, Dr. Tolga KAHRAMAN, Dr. Can KUTAY, Dr. Karlo MURATOĞLU, Araş. Gör. Funda YILMAZ, Dr. Emek DÜMEN ve bölüm sekreterimiz Meral BARAN’a,

Doktora eğitimimi hep destekleyen ve kariyer yolumda beni hep bir adım öteye taşıyan değerli yöneticilerim Selman ÖLMEZ ve Latif ÖĞÜT’e,

Tez çalışmamda ilgisini, yardımını ve desteğini hep gördüğüm değerli büyüğüm Uzman Veteriner Hekim Atilla KALKAN’a,

Attığım her adımda inanç ve sevgileriyle varlıklarını hep yanımda hissettiğim değerli dostlarım Banu MİRASYEDİ, Beyza SÖZEN, Çiğdem ENGÜR, Nihan ARSUN, Sinem TOPÇU ve kuzenim Seda ARSLAN’a,

Bütün çalışmalarımnda benden yardım ve ilgisini esirgemeyen sevgili kardeşim Emrah ÇAKMAK’a

Beni bugünlere getiren, sevgi, ilgi ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, varlıklarıyla beni en mutlu insan kılan, canım annem Fatma Birsen ÇAKMAK ve canım babam Erol ÇAKMAK’a,

sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4502

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>E. sakazakii</i> 'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri	3
2.2. <i>E. sakazakii</i> 'nin Epidemiyolojisi ve Çevresel Kaynakları.....	5
2.3. <i>E. sakazakii</i> 'nin Patojenitesi ve Antibiyotik Duyarlılığı	8
2.4. Bebek Mamalarında ve Pastörize Sütlerde <i>E. sakazakii</i>	10
2.5. Diğer Çeşitli Gıda Maddelerinde <i>E. sakazakii</i>	12
2.6. Gıda Maddelerinde <i>E. sakazakii</i> Tespit Yöntemleri	14
2.6.1. FDA (2002)'ya Göre <i>E. sakazakii</i> Analiz Metodu	14
2.6.2. ISO / TS 22964 (2006)'e Göre <i>E. sakazakii</i> Analiz Metodu	17
2.6.3. PCR ile <i>E. sakazakii</i> Analiz Metodu.....	21
2.6.4. <i>E. sakazakii</i> 'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu İçin Geliştirilen Besiyerleri...21	
2.6.5. <i>E. sakazakii</i> 'nin Biyokimyasal Analizleri için Kullanılan Ticari Kitler	22
2.7. Bebek Mamaları ve Bebek Mamalarının Üretim Prosesi	22
2.7.1. Bebek Mamaları	22
2.7.2. Bebek Mamalarının Üretim Prosesi.....	23
2.7.2.1. Kuru Karıştırma Prosesi	23
2.7.2.2. Yaş Karıştırma - Sprey Kurutma Prosesi	24
2.8. Türkiye'de ve Diğer Ülkelerde <i>E. sakazakii</i> Hakkında Yasal Düzenlemeler.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28

3.1. GEREÇ	28
3.1.1. Kullanılan Alet ve Gereçler	28
3.1.1.1. Besiyerleri ve Kimyasal Malzemeler	28
3.1.1.2. Cam ve Diğer Gereçler	30
3.1.1.3. Cihazlar	30
3.2. YÖNTEM	30
3.2.1. Numunelerin Analize Hazırlanması	31
3.2.2. Ön Zenginleştirme	31
3.2.3. Seçici Zenginleştirme	31
3.2.4. <i>E. sakazakii</i> İzolasyonu	31
3.2.5. Doğrulama	32
3.2.5.1. Oksidaz Testi	32
3.2.5.2. Biyokimyasal Test	32
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	59

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>E. sakazakii</i> ve <i>Enterobacteriaceae</i> ailesindeki bazı türler arasındaki fenotipik farklılıklar	4
Tablo 2-2: <i>E. sakazakii</i> için doğrulama testleri sonuçlarının yorumlanması.....	20
Tablo 3-1: Microbact GNB 24E ile test sonuçlarının değerlendirilme kriterleri.....	34
Tablo 4-1: Piyasada satışa sunulan bebek formüllerinde <i>E. sakazakii</i> analiz sonuçları	35
Tablo 4-2: Piyasada satışa sunulan devam formüllerinde <i>E. sakazakii</i> analiz sonuçları	35
Tablo 4-3: Piyasada satışa sunulan bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında <i>E. sakazakii</i> analiz sonuçları	36
Tablo 4-4: Piyasada satışa sunulan pastörize sütlerde <i>E. sakazakii</i> analiz sonuçları	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: FDA'ya göre, toz bebek mamalarından <i>E. sakazakii</i> izolasyonu ve sayımı metodu akış şeması (FDA 2002b).	15
Şekil 2-2: ISO / TS 22964'e göre, süt ve süt ürünlerinde <i>E. sakazakii</i> aranması metodu akış şeması (ISO / TS 22964 2006)	18
Şekil 3-1: <i>Enterobacter Sakazakii</i> Isolation Agar'da üreyen <i>E. sakazakii</i> kolonileri	32
Şekil 3-2: Microbact GNB 24E ile yapılan biyokimyasal test çalışması.....	33
Şekil 4-1: Piyasada satışa sunulan bebek mamaları ve pastörize sütlerde <i>E. sakazakii</i> varlığı	37

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC	: American Type Cultur Collection
Aw	: Su Aktivitesi
BPW	: Buffered Peptone Water
CAC	: Codex Alimentarius Commission
EE	: <i>Enterobacteriaceae</i> Enrichment
ESIA	: <i>Enterobacter sakazakii</i> Isolation Agar
EMS	: En Muhtemel Sayı
FAO	: Food and Agriculture Organization
FDA	: Food and Drug Administration
g	: Gram
Kob	: Koloni Oluşturan Birim
ICMSF	: International Commission for Microbiological Specifications for Food
ISO	: International Organization for Standardization
ml	: Mililitre
mLST	: Modified Lauryl Sulfate Tryptose Broth
PCR	: Polimerase Chain Reaction
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TS	: Türk Standardı
TSA	: Tryptone Soya Agar
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
VRBG	: Violet Red Bile Glikoz
WHO	: World Health Organization

ÖZET

Çakmak, B. (2012). Piyasada Satışa Sunulan Çeşitli Bebek Mamalarında ve Pastörize Sütlerde *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.)'nin Varlığı. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi AbD. Doktora Tezi. İstanbul.

Enterobacter sakazakii (*E. sakazakii*) bebeklerde yaşamı tehdit eden menenjit, nekrotize enterokolit ve sepsisemiye neden olan fırsatçı bir patojendir. Prematüre, düşük doğum ağırlığına sahip ve 28 günlükten küçük bebekler *E. sakazakii* enfeksiyonu riski altındadır. *E. sakazakii* çeşitli gıdalardan ve çevresel kaynaklardan izole edilmiş olmasına rağmen, toz bebek mamaları enfeksiyonların ana kaynağı olarak bildirilmiştir. Toz bebek mamalarının tüketilmesi sonucu oluşan birçok enfeksiyon bildirilmiştir. Bu çalışmada 120 adet bebek formülü, 80 adet devam formülü ve 150 adet bebek - küçük çocuk ek gıdası olmak üzere toplam 350 adet bebek maması ve 50 adet pastörize süt *E. sakazakii* varlığı yönünden incelendi. *E. sakazakii*; 350 adet bebek mamasının 4'ünde (% 1,14) tespit edildi. *E. sakazakii* tespit edilen bebek mamaları tahıl bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdası grubundandır. 100 adet tahıl bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdasının 4'ünde (% 4) *E. sakazakii* tespit edildi. Pastörize sütlerde ise, *E. sakazakii* tespit edilmedi. Bu sonuçlar, toz bebek mamalarının *E. sakazakii* enfeksiyonları açısından dikkate alınması ve enfeksiyonları önlemek için hijyenik önlemler alınması gerektiğini göstermektedir. Bununla birlikte, Türk Gıda Kodeksi'nde bebek ve devam formüllerinin yanı sıra, bebek ve küçük çocuk ek gıdalarına da *E. sakazakii* analizi zorunluluğu getirilmesi sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : *E. sakazakii*, *Cronobacter* spp., Bebek Maması, Pastörize Süt

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4502

ABSTRACT

Çakmak, B. (2012). Presence of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in a variety of commercially available baby food and pasteurized milk. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Food Hygiene and Technology. Doctoral Thesis. İstanbul.

Enterobacter sakazakii (*E. sakazakii*) is an opportunistic pathogen associated with rare but life-threatening cases of meningitis, necrotizing enterocolitis and sepsis in babies. Premature and underweight babies, and the babies less than 28 days old are under the risk of *E. sakazakii* infection. Although it has been detected in various foods and other environmental sources, powdered baby food is reported as the main source of outbreaks. Feeding with powdered infant formula has been epidemiologically implicated in several clinical cases. In this study 350 baby food and 50 pasteurized milk samples were examined for presence of *E. sakazakii*. Baby food samples consist of 120 powdered infant formula, 80 follow-on formula and 150 additional food for infant - young children. *E. sakazakii* was detected in 4 of 350 baby foods (% 1.14) examined. *E. sakazakii* detected on samples which were cereal-based additional food for infant and young children. *E. sakazakii* was detected in 4 of 100 cereal-based additional food for infant and young children (% 4) examined. It could not be detected in pasteurized milk. This result indicates that powdered baby food should be considered as an important source for *E. sakazakii*, and proper hygienic measures should be applied to prevent related infection. It is concluded that, it should be required to analyze for *E. sakazakii* for additional food for infant and young children samples in Turkish Food Codex, as well as infant milk formula and follow-on Formula samples.

Key Words: *E. sakazakii*, *Cronobacter* spp., Baby Food, Pasteurized Milk

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 4502

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterobacter sakazakii (*Cronobacter* spp.) son yıllarda önemi artan, gıda kaynaklı bir patojendir. Tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte, özellikle prematüre, düşük doğum ağırlığına sahip ve 28 günlükten küçük bebeklerde menenjit, nekrotize enterokolit ve sepsismeğe neden olan bir bakteridir (Nazarowec-White ve Farber 1997a, Bar-Oz ve ark. 2001, Lai 2001).

E. sakazakii infeksiyonlarının görülme sıklığı düşük, fakat prognozu kötüdür (Mullane ve ark. 2006). İlk olarak 1958 yılında iki bebeğin neonatal menenjit sonucu iki gün içinde ölümüyle sonuçlanan bir salgında, *E. sakazakii*'den bahsedilmiştir (Urmeyni ve Franklin 1961). Birçok *E. sakazakii* infeksiyonunun yeni doğan bebeklerde ve yenidoğan bakım ünitelerinde meydana gelmesi nedeniyle, toz bebek mamaları bulaşma kaynağı olarak gösterilmiştir (Biering ve ark. 1989, Simmons ve ark. 1989, Nazarowec-White ve Farber 1997a, Bar-Oz ve ark. 2001, Van Acker ve ark. 2001). Bununla birlikte, bu organizma çeşitli gıdalardan ve çevresel kaynaklardan da izole edilmiştir (Iversen ve Forsythe 2003).

Yeni doğan bebeklerin özellikle premature bebeklerin mide asitliğinin yetişkinlere göre daha düşük olması, *E. sakazakii*'nin bebeklerde enfeksiyon oluşturmada olası önemli bir faktördür (Maffei ve Nobrega 1975, WHO 2004).

Ayrıca, düşük su aktivitesine dayanıklılığı, enterotoksin ve kapsül üretebilme yeteneği, toz bebek mamalarının 24 ay gibi uzun raf ömürleri boyunca canlı kalmasına neden olan faktörlerdir (Iversen ve Forsythe 2003, Lehner ve Stephan 2004, Drudy ve ark. 2006a, Beuchat ve ark. 2009). *E. sakazakii* (*Cronobacter* spp.) ısıya toleranslı bir *Enterobacteriaceae* üyesi olmasına rağmen, pastörizasyon işleminde yıkımlanması ise, üretim sonrası kontaminasyonu göstermektedir (Iversen ve ark. 2004b).

Anne sütünün olmayışı ya da annenin süt vermeyi çeşitli nedenlerle gerçekleştiremediği durumlarda, yeni doğan bebeklerin beslenmesi, ticari bebek mamaları ile ya da sütler ile sağlanmaktadır. Türk Gıda Kodeksi'ne göre, bebek beslenmesinde kullanılan gıdalar bebek formülleri (bebeklerin yaşamlarının ilk ayları boyunca tüketimi için üretilmiş ürünler), devam formülleri (genellikle 6 aydan itibaren tüketim için üretilmiş ürünler) ve bebek - küçük çocuk ek gıdaları (36 aya kadar olan bebek ve çocuklar için tamamlayıcı olarak üretilen ek gıdalar) olarak ayrı ayrı tanımlanmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu'nun son 10 yıllık verilerine göre, yılda 1.253.253 bebeğin doğduğu ülkemizde, bebek başına tüketilen mama miktarı hesaplandığında, kontamine bebek mamalarının neden olacağı infeksiyon riski oldukça önemlidir (TÜİK 2011).

Şimdiye kadar pastörize sütlerde *E. sakazakii* aranması ile ilgili bir çalışma yapılmadığı için, literatür bilgisine rastlanmamıştır. Bu eksikliği gidermek amacı ile bebek mamalarıyla birlikte, pastörize sütlerde de *E. sakazakii* varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışma ile, piyasada satışa sunulan bebek mamalarının (bebek ve devam formülleri, bebek ve küçük çocuk ek gıdaları) ve pastörize sütlerin *E. sakazakii*'nin varlığı açısından incelenerek, ülkemizde bu ürünlerdeki *E. sakazakii* infeksiyon riskinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *E. sakazakii*'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

E. sakazakii; *Enterobacteriaceae* familyasından, Gram negatif, fakültatif anaerob, peritrik flagellalarıyla hareketli, çubuk şeklinde ve spor oluşturmeyen bir bakteridir. *E. sakazakii*; 1980 yılına kadar 'sarı pigmentli *Enterobacter cloacae*' olarak bilinirdi. *E. cloacae* ile arasındaki DNA-DNA hibridizasyonu, biyokimyasal reaksiyonları, pigment üretimi ve antibiyotik duyarlılığı farklılıkları baz alınarak, '*Enterobacter sakazakii*' adıyla yeni bir tür olarak adlandırılmıştır. Adını, bu türe yaptığı katkılardan dolayı Japon bakteriyolog Riichi Sakazakii'den almıştır (Farmer ve ark. 1980).

2007 yılında 210 adet *E. sakazakii* suşunun DNA profilleri ve fenotipik özellikleri incelenmiş ve bu bakterinin taksonomik sınıflandırmasında değişiklik yapılması önerilmiştir. Buna göre, *Cronobacter* adında yeni bir cins ve 5 tür tanımlanmıştır (*C. sakazakii* subsp. *sakazakii* subsp. nov., *C. sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *C. turicensis* sp. nov., *C. duplicensis* sp. nov., *C. muytjensii*) (Iversen ve ark. 2007a). Buna göre *E. sakazakii* suşlarının tamamı *Cronobacter* spp. olarak, yeni bir cins adı altında tanımlanmıştır. Bu bakterinin yeni doğanlarda sebep olduğu ölüm oranının yüksekliği nedeniyle, Yunan mitolojisinde yeni doğan bebekleri yutan "Cronos" adındaki tanrıdan esinlenerek "*Cronobacter*" adı verilmiştir (Iversen ve ark. 2008). Bakterinin adı; bilimsel literatürlerde hem *Cronobacter* spp., hem de *E. sakazakii* olarak kullanılmaktadır (Iversen ve ark. 2008, Chenu ve Cox 2009, Zhou ve ark. 2011). Bundan sonraki kısımlarda anılan bakteri *E. sakazakii* olarak tanımlanacaktır.

E. sakazakii ve diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri arasındaki temel farklılık, *E. sakazakii*'nin D-sorbitol'ü fermente edememesi ve ekstrakromozomal DNA üretebilmesidir (Farmer ve ark. 1980). Bir diğer farklılık ise, α -glukosidaz enzimi için pozitif reaksiyon vermesidir. Diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri, α -glukosidaz negatiftir (Muytjens ve ark. 1984). *E. sakazakii* ile diğer *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi bazı türlerin fenotipik farklılıkları Tablo 2.1'de gösterilmiştir (Farmer ve ark. 1980).

Tablo 2-1: *E. sakazakii* ve *Enterobacteriaceae* ailesindeki bazı türler arasındaki fenotipik farklılıklar

Test	Pozitif suş %'si				
	<i>E. sakazakii</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. gergovidae</i>
Yellow pigment (25 °C)	99	1	1	80	1
DNAse (7 gün)	99	1	1	1	1
Lysine decarboxylase	1	1	99	1	64
Arginine dihydrolyase	96	97	1	1	1
Ornithine decarboxylase	91	96	99	1	99
D-Sorbitol (asit)	1	95	99	24	1

Nazarowec-White ve Farber (1997c), *Enterobacteriaceae* üyeleri içinde, *E. sakazakii*'nin ısıya en toleranslı bakteri olduğunu öne sürmüşlerdir.

Nazarowec-White ve Farber (1997b)'ın aynı yıl içinde yaptığı diğer çalışmalarda, pastörizasyon işleminin organizmayı öldürücü etkisi olduğu belirtilmiştir. *E. sakazakii*'nin gelişim sıcaklığı 5,5-45 °C'dir. Aynı çalışmada bir suşun 47 °C'de gelişebildiği bildirilmiştir. Optimum sıcaklık aralığı ise; 37-43 °C'dir. Üremesi için en düşük sıcaklık 5,5 °C olduğundan dolayı, organizma buzdolabı sıcaklığında üreyebilmektedir (Nazarowec-White ve Farber 1997b, Iversen ve ark. 2004b). Breeuwer ve ark. (2003) ise, *E. sakazakii*'nin diğer *Enterobacteriaceae* ailesindeki diğer bakterilere göre ısıya toleranslı olduğunu doğrulamamışlardır ve 22 suşun 47 °C'deki gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada, bu bakterinin ısıya dayanıklı olmadığını göstermişlerdir. Bu farklılığın sebebini ise, Nazarowec-White ve Farber'ın (1997b) yaptıkları çalışmada, kullanılan kültürlerin ısıya son derece dayanıklı olmasından kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, her iki çalışma da göstermiştir ki, *E. sakazakii* normal pastörizasyon işlemi ile yıkımlanmaktadır.

Farmer ve ark.'nın (1980) 57 suşta yaptıkları araştırmada, 4 ve 50 °C'de gelişme olmazken, suşların çoğu 47 °C'de gelişim göstermiştir. Nazarowec-White ve Farber (1997b), gelişme sıcaklığını, 5 klinik izolat, 5 gıda izolatı ve standart suş kullanarak araştırmışlardır ve maksimum gelişme sıcaklığının 41-45 °C, minimum gelişme sıcaklığının 5,5-8 °C arasında olduğunu bildirmişlerdir.

E. sakazakii'nin düşük su aktivitesine dirençli olduğu belirlenmiştir (Beuchat ve ark. 2009). Lin ve Beuchat (2007); yaptıkları bir araştırmada, su aktivitesi arttıkça ölüm oranının hızlandığını tespit etmişlerdir.

Ozmotik strese ve kurutmaya, lag fazındaki *E. sakazakii* hücrelerinin, *Enterobacteriaceae* familyasındaki diğer bakterilere göre çok daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Breeuwer ve ark. 2003).

Organizma; lateks, silikon, plastik, polikarbon, paslanmaz çelik gibi yüzeylere yapışmakta ve bir biyofilm ile gelişme gösterebilmektedir (Iversen ve ark. 2004b, Lehner ve ark. 2005). *E. sakazakii*'nin yüzeylere tutunması ve biyofilm oluşturmaları; temizleyici ajanlara ve dezenfektanlara daha dirençli olmasını sağlamaktadır (Iversen ve Forsythe 2003, Lehner ve ark. 2005, Kim ve ark. 2006, Grimm ve ark. 2008).

E. sakazakii'nin bazı suşlarının enterotoksin ürettiği; bazı suşlarının ise ortamdaki azot kaynağı sınırlı olduğunda kapsül ürettiği bildirilmiştir (Iversen ve Forsythe 2003, Lehner ve Stephan 2004, Drudy ve ark. 2006a). Heteropolisakkarit yapıdaki kapsül, bakterinin toz bebek mamalarının uzun raf ömrü (24 ay) boyunca canlılıklarını sürdürebilmelerini sağlamaktadır (Iversen ve Forsythe 2003).

2.2. *E. sakazakii*'nin Epidemiyolojisi ve Çevresel Kaynakları

Birçok araştırmacı tarafından, *E. sakazakii*'nin taşıyıcısının ve kaynağının toz bebek mamaları olduğu ve *E. sakazakii* infeksiyonlarının kontamine bebek mamalarının tüketimi sonucu meydana geldiği bildirilmiştir (Biering ve ark. 1989, Simmons ve ark.

1989, Van Acker ve ark. 2001). Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde meydana gelen *E. sakazakii* infeksiyonları üzerine yapılan çalışmalarda da, bu infeksiyon ve toz bebek mamaları arasında mikrobiyolojik ve istatistiksel bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, bebekten bebeğe ya da çevreden bulaşma olduğuna dair bir kanıt bulunamamıştır (Simmons ve ark. 1989, Van Acker ve ark.2001, WHO ve FAO 2004).

E. sakazakii; tüm yaş gruplarında görülmüştür (WHO ve FAO 2004). Özellikle bebeklerde hayati risk oluşturan menenjit, nekrotize enterokolit ve sepsisemiye neden olmaktadır (Nazarowec-White ve Farber 1997a, Bar-Oz ve ark. 2001). Prematüre (< 37 hafta), düşük doğum ağırlığına sahip (2,000 g'ın altında) ya da immun sistemi zayıf bebekler, 28 günlükten daha küçük bebekler *E. sakazakii* infeksiyonları yönünden risk altındadır. İmmun sistemi baskılanmış veya güçsüz bebekler bu infeksiyona daha duyarlıdır (Lai 2001). Ayrıca HIV pozitif annelerin bebekleri bağışıklık sistemleri daha zayıf olduğundan infeksiyona daha duyarlı olabilmektedir. Nadir olarak da, bağışıklık sistemi zayıf olan ve yaşlı kişileri etkilemektedir (WHO ve FAO 2004).

E. sakazakii infeksiyonlarının insidensi düşük olmasına rağmen, prognozu kötüdür. Mortalite oranı, Van Acker (2001) ve Lai (2001) tarafından % 10-80 olarak; Bowen ve Braden (2006) tarafından % 40-80 olarak bildirilmiştir. Son yıllarda ise, mortalite oranının % 20'nin altına düştüğü belirtilmiştir (WHO ve FAO 2004). Hayatta kalanlarda, çoğunlukla kalıcı nörolojik bozukluklar (hidrosefalus, kuadripleji, gecikmiş sinirsel gelişimler) şekillenmektedir (Ries ve ark. 1994, Lai 2001).

İnfeksiyonların birçoğu yenidoğan bakım ünitelerinde gerçekleşmiştir (Van Acker ve ark. 2001). *E. sakazakii* infeksiyonlarının yenidoğan bakım ünitelerinde görülmesinin nedeni olarak, etkenin toz bebek mamalarında ve mama hazırlama ekipmanlarında bulunması gösterilmiştir (Simmons ve ark. 1989, Van Acker ve ark. 2001).

Mama hazırlama sırasında, *E. sakazakii* ile kontamine ekipmanların kullanılmasının infeksiyona neden olduğu bildirilmiştir, fakat *E. sakazakii*'nin orjinal

kaynağı belirlenememiştir. (Noriega ve ark. 1990, Block ve ark. 2002). İnfeksiyon araştırmaları sırasında, mama hazırlanan ortamlardan alınan çevresel svaplar sonucu, *E. sakazakii* tespit edilememiştir. Ancak süt tozu üretim tesislerinde, diğer gıda üretim tesislerinde ve evlerde tespit edilmiştir (Kandhai ve ark. 2004).

E. sakazakii'nin kurutmaya karşı yüksek toleransının olması, kuru ortam şartlarında rekabet etme avantajı sağlamaktadır. Süt tozu fabrikalarında ve toz bebek mamalarında tespit edilmiş olması bu durumu açıklamaktadır. Bu nedenle, son ürünün pastörizasyon sonrası kontaminasyon riski yüksektir (Breeuwer ve ark. 2003).

E. sakazakii tarafından üretilen kapsülün, mama hazırlamada kullanılan biberon, kaşık vb. malzemelere ve paslanmaz çelik vb. gibi temas yüzeylerine tutunması ve biyofilm oluşturmada önemli rolü olduğu bildirilmiştir (Iversen ve ark. 2004b).

Kuzina ve ark. (2001), ilk olarak *Anastrepha ludens* adı verilen Meksika meyve sineğinden *E. sakazakii*'yi izole etmişlerdir. Hamilton ve ark. (2003) ise, *Stomoxys calcitrans* sineğinin bağırsaklarından izole etmişlerdir ve bu sineklerin *E. sakazakii*'nin taşıyıcısı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Iversen ve Forsythe (2003), *E. sakazakii*'nin çevresel kaynağının öncelikle su, toprak ve sebzeler olduğunu, ikinci olarak sinek, fare gibi vektörler olabileceğini bildirmiştir. Bununla birlikte, Muytjens ve Kollee (1990), inek sütü, sığır, evcil hayvanlar, kemirgenler, kuş gübresi, tahıl, çürümüş ahşap, çamur, toprak ve yüzey sularından bakteriyi izole edememiştir.

Geniş spektrumda çevresel kaynaklardan, su, atık su, termal kaynak su içeren kaynaklardan, topraktan, eve ait tozdan da *E. sakazakii* izole edilmiştir (Dudley ve ark. 1980, Farmer ve ark. 1985, De Los AngelesMosso ve ark. 1994, Drudy ve ark. 2006b, Kandhai ve ark. 2006, Friedemann 2007).

Kandhai ve ark. (2004), *E. sakazakii*'nin izole edildiği, süt tozu üretim tesisleri ve ev süpürgeleri de dahil hemen hemen tüm ortamları incelemişlerdir. 9 tesisin 8'inde ve 16 evin 5'inde *E. sakazakii* pozitif bulunmuştur. Ayrıca, bebek maması hazırlamada kullanılan kontamine kaplar, blender ve kaşıklar, sulandırılarak hazırlanan bebek formüllerinin sıcak şişe içinde uzun süre depolanmasının, *E. sakazakii* infeksiyonlarıyla bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Van Acker ve ark. 2001).

Organizmanın, intestinal hücrelere ve beyin mikrovasküler endotel hücrelere tutunabildiğini ve makrofajlar içinde canlılığını sürdürebildiği bildirilmiştir (Pagotto ve ark. 2003, Mange ve ark. 2006).

Farmer ve ark. (1980), birçok *E. sakazakii* izolatını, infekte hastaların beyin-omurilik sıvısı, kan, balgam, boğaz, burun, dışkı, bağırsak, deri, yara, kemik iliği, göz, kulak ve meme abselerinden izole etmişlerdir. Ayrıca tükürük, idrar, yangılı apendiks dokusu, bağırsak ve solunum yolları gibi, geniş çapta klinik kaynaklardan da izole edilmiştir (Gurtler ve Beuchat 2005, Ray ve ark. 2007, Bhat ve ark. 2009).

2.3. *E. sakazakii*'nin Patojenitesi ve Antibiyotik Duyarlılığı

E. sakazakii ilk kez 1958 yılında, İngiltere'de iki bebeğin ölümüyle sonuçlanan bir salgında neonatal menenjit ile anılmıştır. Her iki bebek de, 2 gün içinde, menenjitin de dahil olduğu yaygın infeksiyon nedeniyle ölmüştür. Başlıca patolojik anormallikler beyinde görülmüştür (Urmeyni ve Franklin 1961). Bebeklerde, menenjite bağlı *E. sakazakii* infeksiyonları, doğumdan sonra 4. ve 5. günler arasında meydana gelmektedir ve ilk klinik semptomların başlamasından itibaren birkaç saatten birkaç güne kadar ölüm meydana gelebilmektedir (Muytjens ve ark. 1983).

Iversen ve Forsythe (2003) *E. sakazakii*'nin toz bebek mamalarındaki infeksiyon dozunun 1000 kob/g-ml olduğunu belirtmişlerdir.

1958 yılından itibaren bu organizma ile ilgili olarak birçok infeksiyon vakası, pek çok ülkede bildirilmiştir. Joker ve ark. (1965), Danimarka’da ilk 4 gün iyi olan, sonrasında beyin apsesi ve hidrosefali ile komplike, menenjit ile ilgili belirtiler gösteren bir yenidoğan vakası bildirmişlerdir. Monroe ve Tift (1979), Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde ilk menenjitsiz *E. sakazakii* ile ilişkili neonatal septisemi vakasını bildirmişlerdir. İnfeksiyon doğumdan 6 gün sonra meydana gelmiş ve ampisilin ile tedavi edilmiştir. ABD’nde, 1981’de şiddetli bir neonatal menenjit vakasının *E. sakazakii* ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kleiman ve ark. 1981). 1988’de 4 haftalık ve 8 günlük 2 bebekte menenjit ile seyreden *E. sakazakii* infeksiyonu bildirilmiştir (Willis ve Robinson 1988). 1995-1996 yıllarında ise 3, 39, 73, 76 ve 82 yaşlarındaki kişilerde 5 farklı *E. sakazakii* vakası bildirilmiştir (Lai, 2001). Muyltjens ve ark. (1983), Hollanda’da 6 yılda *E. sakazakii*’nin neden olduğu 8 neonatal menenjit vakası ve 8 hastadan 2 tanesinde nekrotize enterokolit bildirmişlerdir. İzlanda’da 1986-1987 yıllarında, zamanında doğmuş 3 bebekte, 1 tanesinin ölümüyle sonuçlanan, *E. sakazakii*’nin neden olduğu menenjit meydana gelmiştir (Biering ve ark. 1989). Van Acker ve ark. (2001) 1998 yılında, Belçika’da 12 yeni doğan bebekte nekrotize enterokolit ile seyreden *E. sakazakii* infeksiyonu bildirmişlerdir. 12 bebeğin tümünün, hastalık meydana gelmeden önce toz bebek formülü ile beslendikleri ve 10 bebeğin beslendiği toz bebek formülü üreticilerinin aynı olduğu bildirilmiştir. Bowen ve Braden (2006), yenidoğanlarda meydana gelen, 46 adet *E. sakazakii* infeksiyonu incelemişlerdir. Çok düşük doğum ağırlığı ve septisemiye eğilim semptomları bildirilmiştir.

E. sakazakii infeksiyonlarının özellikle yenidoğan bebeklerde görülmesinin sebebi olarak; yenidoğan bebeklerin, özellikle prematürelerin mide asitliğinin, yetişkinlere göre daha az asidik olduğu gösterilmiştir. Bu durum, bebeklerde görülen *E. sakazakii* infeksiyonlarında, etkenin canlılığını sürdürmesinde olası önemli bir faktördür (Maffei ve Nobrega 1975, WHO ve FAO 2004).

Hastalık, genellikle antibiyotik tedavisine cevap veriyor olsa da, bazı araştırmacılar hastalığın başlangıcında kullanılan yaygın ilaçların antibiyotik direncini arttırdığını bildirmişlerdir (Pitout ve ark. 1997). *E. sakazakii* infeksiyonları geleneksel

olarak ampisilin, gentamisin veya ampisilin-kloramfenikol ile tedavi edilmektedir (Lai 2001). Shadlia-Matug ve ark. (2008), *E. sakazakii* izolatlarının penisilin G, ampisilin ve sefalotine dirençli, gentamisine ise duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Oonaka ve ark. (2010) ise, bakterinin gentamisin ve sefalosporinlere duyarlı olmasına rağmen, ampisilin ve linkomisine dirençli olduğunu bulmuşlardır. Lehner ve Stephan (2004), optimal antibiyotik tedavi sistemi belirlenmesi gerektiğini ve ampisiline dirençli suşlar ortaya çıkmasının, yeni sefalosporinler kullanımı düşüncesine yol açtığını bildirmişlerdir.

2.4. Bebek Mamalarında ve Pastörize Sütlerde *E. sakazakii*

E. sakazakii birçok gıdada tespit edilmiş olmasına rağmen, toz bebek mamaları ile kuvvetli bir ilişkisi vardır (Nazarowec-White ve Farber 1997a). Organizma; dünya çapında, toz bebek mamalarından, toz bebek maması bileşenlerinden ve toz bebek maması üretim tesislerinden izole edilmiştir (Nazarowec-White ve Farber 1997a, Van Acker ve ark. 2001, Shaker ve ark. 2007, Iversen ve ark. 2009).

Johler ve ark. (2010); düşük pH şartları altında canlılığını sürdüren izolatlar bulmuşlar ve izolatların pH 4,5’de 24 saatte, yaklaşık 10^9 kob/ml gelişebildiğini tesbit etmişlerdir. Bu durum, yeni doğanların mide asitliğinin, yetişkinlere göre daha düşük olması dolayısıyla, ağız yoluyla mideye alınan *E. sakazakii*’nin hayatta kalması açısından önemli bir risk oluşturmaktadır (Maffei ve Nobrega 1975, WHO 2004).

Ayrıca *E. sakazakii*, toz bebek mamalarında uzun süre dayanıklılık gösterebilmekte ve bebek mamalarında 2,5 yıl depolamadan sonra dahi izole edilen tek organizma olduğu bildirilmiştir. (Riedeli ve Lehneri 2007). Kindle ve ark. (1996), *E. sakazakii*’nin test edilen diğer mikroorganizmalara (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium terrae* ve *Candida albicans*) göre toz bebek mamasında daha hızlı geliştiklerini tespit etmişlerdir.

Iversen ve ark. (2004b), *E. sakazakii*'nin toz bebek mamalarında, buzdolabı sıcaklığında depolanma süresi boyunca gelişebildiğini ve bebek beslenme ekipmanlarında da tutunabildiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle toz bebek mamalarının depolanma süresinin azaltılmasının önemli olduğu belirtilmiştir.

Muytjens ve ark. (1988), 35 ülkeden topladıkları 141 adet toz bebek mamasının 20'sinde (% 14), 13 ülkede, *E. sakazakii* bulmuşlardır. Kanada'da yapılan bir araştırmada, 5 farklı firmaya ait 120 adet toz bebek mamasının 8'inde (% 6,67) *E. sakazakii* tespit edilmiştir (Nazarowec-White ve Farber 1997b). Iversen ve Forsythe (2004), 82 bebek formülünün 2'sinde (% 2,4); 49 süttten kesme mamasının 5'inde (% 10,2) bu bakteriyi izole etmişlerdir. Leuschner ve ark. (2004), 11 ülkeden topladıkları 58 adet bebek formülünün 8 tanesinde (% 13,8) *E. sakazakii* tespit etmişlerdir. Retaino ve ark. (2006), 6 adet kuru bebek tahılından 2'sinde (% 33); Shaker ve ark. (2007), 8 adet bebek formülünün 2'sinde (% 25) ve 15 adet tahıl bazlı bebek mamasının 2'sinde (% 13,3) bakteriyi izole etmişlerdir. Chap ve ark. (2009), yedi ülkede (Brezilya, Endonezya, Jordan, Kore, Malezya, Portekiz ve Birleşik Krallık) yaptıkları araştırmada, *E. sakazakii* 136 devam formülünün 1'inde (% 1), 179 diğer bebek formüllerinin 22'sinde (% 12) tespit edilmiştir. Türkiye'de 20 adet bebek mamasında yapılan bir araştırmada, *E. sakazakii* kontaminasyonu saptanmamıştır (Koluman 2011).

Şimdiye kadar pastörize sütlerde *E. sakazakii* aranması ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Shaker ve ark. (2008), toz bebek mamalarında değişik sıcaklıklardaki sıcak su ile, stres altındaki *E. sakazakii*'nin termal inaktivasyonu üzerine çalışmışlardır. Su sıcaklığı 70 °C'nin üzerine çıktığında, stres altında olmayan organizmalara göre, stresli hücrelerde önemli bir azalma olduğunu göstermişlerdir (yaklaşık 1 log₁₀). Ancak, toz bebek mamaları 80, 90 ve 100 °C'deki sularla hazırlandıklarında, önemli bir farklılık olmamıştır.

Gıdaların tüketilmeden önce ısı işleme tabi tutulması, gıda kaynaklı patojenler ile ilgili riskleri azaltan birinci yöntem olarak bilinmektedir. *E. sakazakii* ise, ısıya dayanıklı olarak bildirilmiştir (Zhou ve ark. 2011). Bununla birlikte, *E. sakazakii*'nin biyofilm oluşturma ve kuru şartlarda canlılığını sürdürme kabiliyeti, bebek formülü fabrikalarında ve sonradan kurutulmuş ürünlerde yaşamını sürdürmesine neden olabilmektedir (Iversen ve ark. 2004b, Grimm ve ark. 2008).

Toz bebek mamalarının üretiminde 3 farklı proses kullanılmaktadır. Bu prosesler; kuru karışım prosesi, yaş karışım prosesi ve her iki prosesin birleşimi olarak gruplandırılabilir. Mikrobiyal kontaminasyon; ısı işlem uygulanmayan vitamin, mineral gibi bileşenlerin toz formuna eklenmesini takiben ve/veya çevresel bulaşmalar ile pastörizasyon sonrasında gerçekleşmektedir. Üretim ortamındaki önemli kontaminasyon kaynakları, kontamine hammadde bileşenlerinin kullanımı yoluyla oluşmaktadır. *E. sakazakii* kontaminasyonunun; pastörizasyon sonrasındaki aşamalarda, kurutma ve paketleme sırasında ve üretim ortamından kaynaklandığı kabul edilir. Kurutma aşaması sonrasındaki *E. sakazakii* prevalansı; organizmanın kurutma / ozmotik strese dirençli olabilme yeteneğine bağlıdır (Mullane ve ark. 2006).

Toz bebek mamaları steril olarak üretilen ürünler olmadığından, iç ya da dış kontaminasyon meydana gelmektedir. İç kontaminasyon; mama üretim aşamasında meydana gelen kontaminasyondur. Kurutma işlemi sonrasında eklenen kontamine bileşenler ile, kurutma aşamasından sonraki çevresel işlemler sırasında ya da paketleme öncesinde oluşurken; dış kontaminasyon; mamaların sulandırılması ve hazırlanması esnasında, iyi temizlenmemiş, mama hazırlamada kullanılan blender, kaşık vb. kaplar ile meydana gelebilmektedir (Chenu ve Cox 2009, Mullane ve ark. 2006, Simmons ve ark. 1989, Van Acker ve ark. 2001).

2.5. Diğer Çeşitli Gıda Maddelerinde *E. sakazakii*

E. sakazakii, çevrede yaygın olarak bulunan bir bakteridir (Farber 2004, Kandhai ve ark. 2004, Arts 2005). Geniş bir spektrumda gıda ve gıda maddelerinden izole edilmiştir. Pirinç, fermente ekmek gibi tahıl ve tahıl ürünleri, meyve ve sebze,

baklagiller, otlar ve baharatlar gibi bitki kökenli gıda ve gıda maddelerinden izole edildiği gibi, UHT süt, peynir, kefir, süt tozu gibi süt ürünleri, sığır eti, sosis gibi et ve et ürünleri, balık ve ürünleri gibi hayvansal gıda maddelerinden de izole edilmiştir. *E. sakazakii* ile kontamine gıdaların spektrumu hem çiğ, hem de işlenmiş gıdaları kapsamaktadır. *E. sakazakii* ile kontamine gıdaların proses niteliği kuru/kurutulmuş ürünlerle sınırlı değildir. Hem taze, dondurulmuş, tüketime hazır, fermente ve pişirilmiş gıda ürünleri, hem de gıda hazırlamada kullanılan su ve içecekler *E. sakazakii* tarafından kontamine edilmiş olarak bulunmuştur (Muytjens ve Kollee 1990, Leclercq ve ark. 2002, Iversen ve Forsythe 2003, Iversen ve Forsythe 2004b, Friedmann 2007).

Baumgartner ve ark. (2009), tüketime hazır ürünlerde yaptığı çalışmada, 23 adet brüksel lahanası, taze baharat ve salatanın 14'ünde (% 60,8), 26 adet baharat ve kuru ot karışımının 7'sinde (% 26,9), 42 adet pudra şekerinin 3'ünde (% 7,1) *E. sakazakii* izole etmiştir.

Iversen ve Forsythe (2003), *E. sakazakii*'nin hayvan ve insan bağırsak florasının bir parçası olmadığını öne sürmüştür. Iversen ve Forsythe (2004), başka bir çalışmada, 122 ot ve baharatın 40'ında (%37,8) bu bakteriyi izole etmişlerdir. Ayrıca, su, toprak ve sebzelerin bu bakteri için temel çevresel kaynak olduğu bildirilmiştir. (Soriano ve ark. 2001, Leclercq ve ark. 2002, Iversen ve Forsythe 2003, Cruz ve ark. 2004).

Molloy ve ark. (2009) tarafından, 10 adet hamburger köftesinin 3'ünde, 6 adet marulun 2'sinde tespit edildiği bildirilmiştir.

Türkiye'de 2011 yılında yapılan bir araştırmada, 45 adet kıyma numunesinin 2'sinde (% 4,44) ve 20 adet çilek numunesinin 1'inde (% 5) *E. sakazakii* kontaminasyonu saptanmıştır (Koluman 2011).

Turcovsky ve ark. (2011), 64 adet kırmızı et numunesinin 1'inde, 12 adet sebze numunesinin 1'inde *E. sakazakii* tespit etmişlerdir.

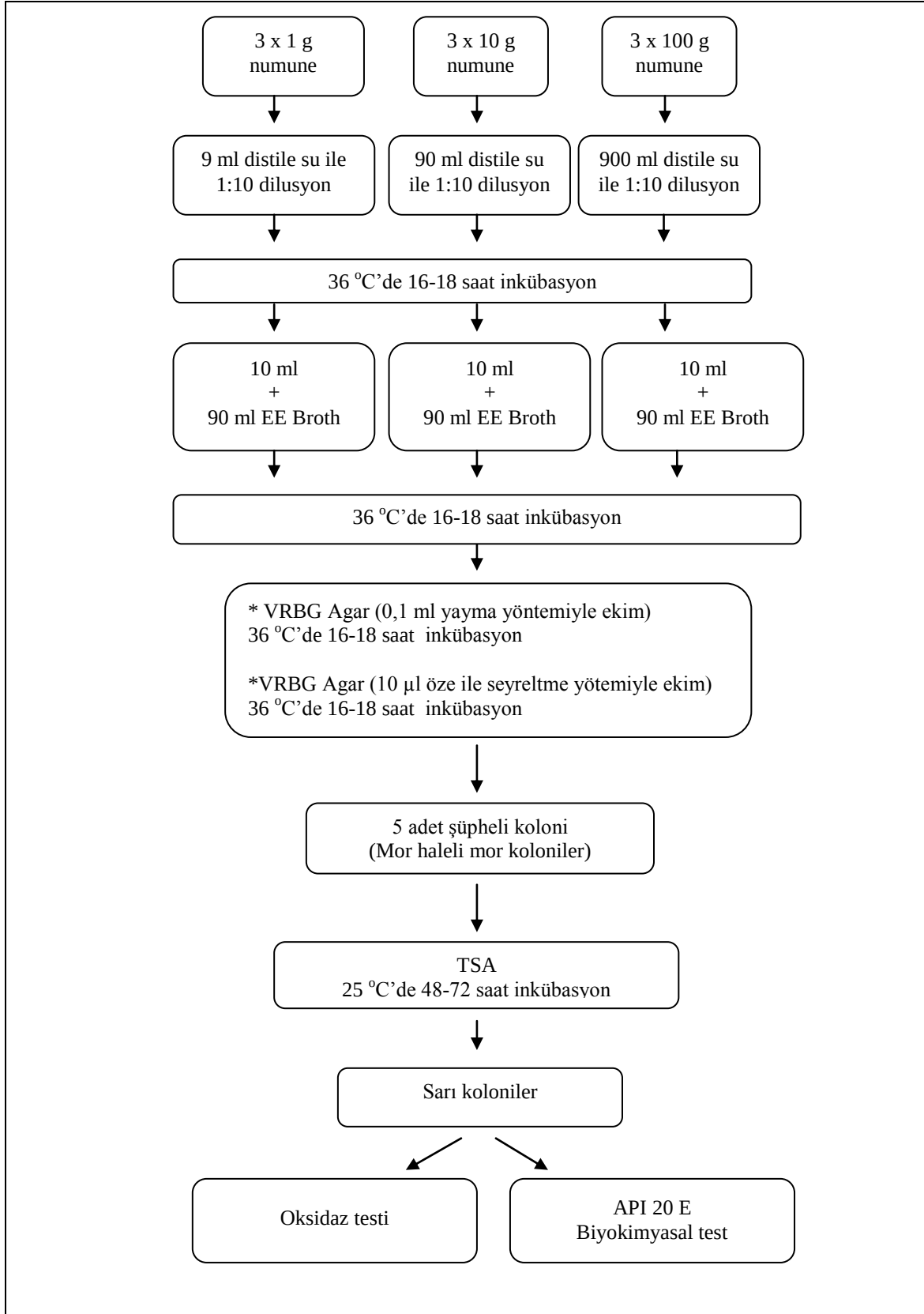
Kandhai ve ark. (2010), 222 kıyma numunesinin 7'sinde, 47 sebzenin 2'sinde *E. sakazakii* tespit etmişlerdir.

2.6. Gıda Maddelerinde *E. sakazakii* Tespit Yöntemleri

E. sakazakii'nin izolasyon ve identifikasyonunda kültürel veya moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Food and Drug Administration (FDA) tarafından 2002 yılında ve International Organization for Standardization (ISO) tarafından 2006 yılında yayınlanan metotlar kültürel metotlardır (FDA 2002b ve ISO / TS 22964 2006). Moleküler yöntemler ise, PCR (Polimerase Chain Reaction) ile yapılan metotlardır.

2.6.1. FDA (2002)'ya Göre *E. sakazakii* Analiz Metodu

FDA'nın (Food and Drug Administration) önerdiği izolasyon ve sayım metodu EMS (En Muhtemel Sayı) yaklaşımına dayanmaktadır. Analiz; ön zenginleştirme, zenginleştirme ve izolasyon aşamalarından oluşmaktadır. Analiz aşamaları Şekil 2.1'de gösterilmiştir (FDA 2002b):



Şekil 2-1: FDA'ya göre, toz bebek mamalarından *E. sakazakii* izolasyonu ve sayımı metodu akış şeması (FDA 2002b).

FDA metoduna göre;

- EMS üçlü-tüp tekniği kullanılarak, numuneler uygun hacimdeki erlen şişelere, aseptik koşullarda, üçer adet 100 g, 10 g ve 1 g olarak tartılır. 1:10 seyreltme yapabilmek için, üçer adet 900 ml, 90 ml ve 9 ml steril distile su eklenir ve hafifçe karıştırılır. 36 °C’de 16-18 saat inkübe edilir (Ön zenginleştirme).
- İnkübasyondan sonra, her suspansiyondan 10’ar ml alınarak içinde 90 ml *Enterobacteriaceae* Enrichment Broth (EE) bulunan şişelere aktarılır. 36 °C’de 16-18 saat inkübe edilir (Zenginleştirme).
- İzolasyon aşaması için 2 yöntemden biri kullanılır:

Yayma metodu: Her bir zenginleştirme kültüründen 0,1 ml alınarak paralel olarak VRBG Agar’a inoküle edilir. 36 °C’de 16-18 saat inkübe edilir.

Öze ile seyreltme metodu: Her bir zenginleştirme kültüründen öze ile yaklaşık 10 µl alınarak paralel olarak VRBG Agar’a inoküle edilir. 36 °C’de 16-18 saat inkübe edilir. VRBG Agar’da üreyen tipik koloniler safra asitlerinin çöktürülmesiyle oluşan mor bir hale ile sarılmış mor koloniler şeklindedir.

- Petride üreyen olası *E. sakazakii* kolonilerinden 5 adet alınarak Trypton Soy Agar’da (TSA) 25 °C’de 48-72 saat inkübe edilir. Sarı pigmentli koloniler tipik kolonilerdir.
- TSA içeren perilerden seçilen sarı pigmentli koloniler, oksidaz testi ile ve ticari olarak satılan API 20 E test kiti ile biyokimyasal olarak doğrulanır.
- Her bir dilüsyondan pozitif bulunan tüplerin sayısına göre, numunenin g’ındaki koloni sayısı EMS tablosundan hesaplanır.

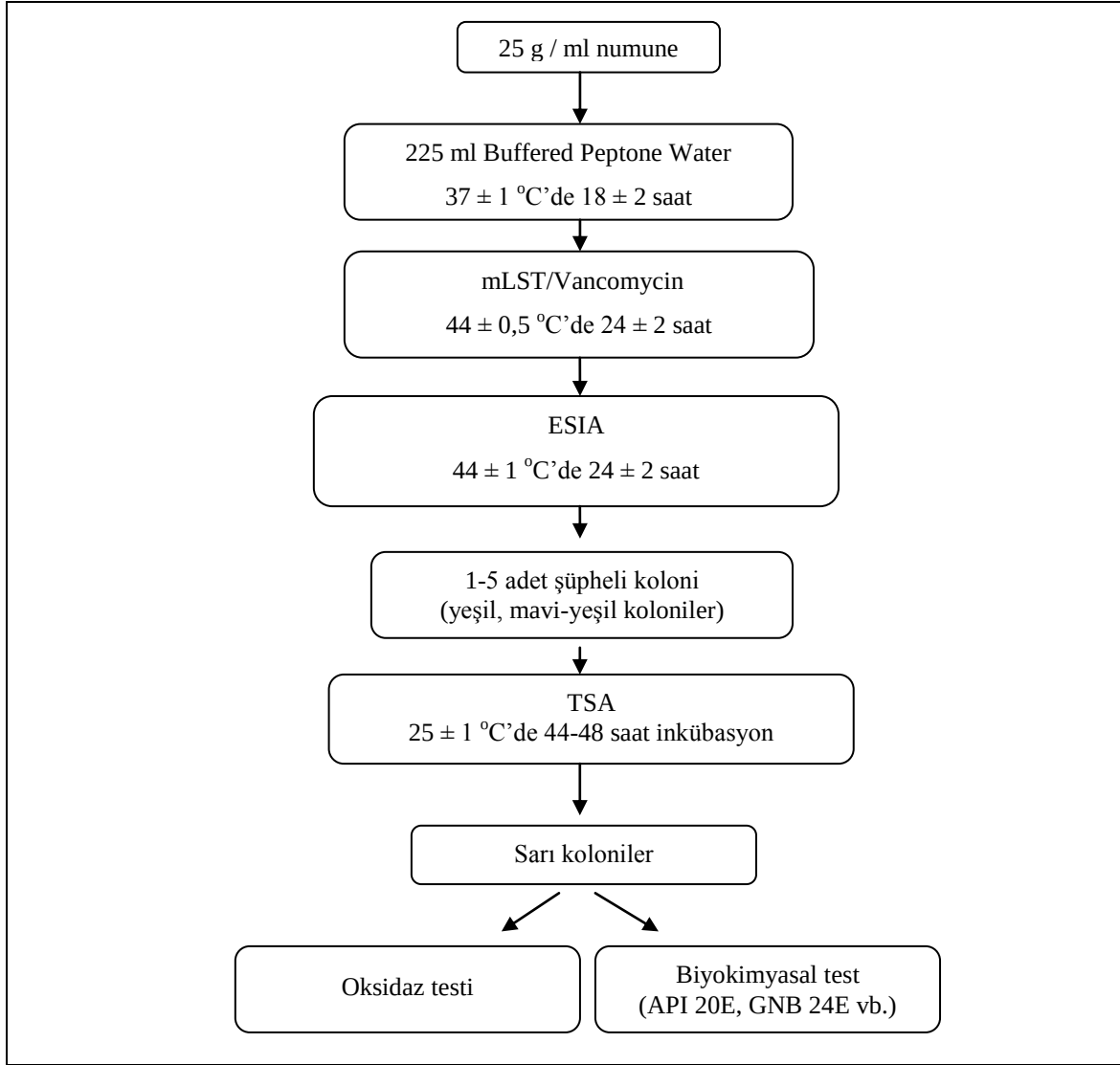
Toz bebek mamalarında *E. sakazakii*’nin belirlenmesinde FDA tarafından önerilen metodun uzun sürmesi ve izolasyonda kullanılan VRBGA besiyerinin *E. sakazakii* için yeterince ayırt edici ve seçici olmaması nedeniyle, doğru sonucu daha

hızlı şekilde veren besiyeri arayışına gidilmiş ve *E. sakazakii* için kromojenik ve florojenik besiyerleri formüle edilmiştir (Polat ve Halkman 2007).

Bu metot *E. sakazakii*'nin sarı pigment üretimine dayalıdır. Ancak sarı pigment üretimi *Enterobacteriaceae* familyası içinde yalnızca *E. sakazakii*'ye özgü değildir. Bununla birlikte bazı *E. sakazakii* suşlarının beyaz pigment ürettiği bildirilmiştir (Cawthorn ve ark. 2008).

2.6.2. ISO / TS 22964 (2006)'e Göre *E. sakazakii* Analiz Metodu

ISO tarafından 2006 yılında yayınlanan ISO / TS 22964 metodu kalitatif tayin yapan bir metottur. Analiz FDA'nın yönteminde olduğu gibi ön zenginleştirme, zenginleştirme ve izolasyon aşamalarından oluşmaktadır. Analiz aşamaları Şekil 2.2'de gösterilmiştir (ISO / TS 22964 2006):



Şekil 2-2: ISO / TS 22964'e göre, süt ve süt ürünlerinde *E. sakazakii* aranması metodu akış şeması (ISO / TS 22964 2006)

ISO / TS 22964 metoduna göre;

- 25 g (ml) numune tartılarak 225 ml Buffered Pepton Water ile aseptik koşullarda stomacherde homojenize edilir. 37±1 °C de 18±2 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme yapılır.
- İnkübasyon sonrası, ön zenginleştirme besiyerinden 0,1 ml alınarak, 10 ml. mLST/vancomycin medium'a inokulasyon yapılır. 44±0,5 °C'de 24±2 saat inkübe edilir. Sıcaklığın 44,5 °C'yi aşmaması tavsiye edilir.

- İnkübasyon sonrası, mLST/vancomycin medium'dan, ESIA içeren petri yüzeyine öze ile ekim yapılır. 24 ± 2 saat 44 ± 1 °C de inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası, kromojenik agardaki tipik koloniler şüpheli *E. sakazakii* kolonileri olarak değerlendirilir. Tipik koloniler 1-3 mm arasında değişen büyüklükte, yeşilden mavi-yeşile değişen renktedir. Hafif derecede ışık geçirgen ve mor renkli koloniler, tipik olmayan koloniler olarak değerlendirilir.
- ESIA'da 1-5 adet tipik koloni seçilir. Tryptone Soya Agar (TSA) içeren petrilerin yüzeyine ekim yapılır. 25 ± 1 °C'de 44-48 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası TSA içeren petrilerde, sarı pigmentli koloniler incelenir. Sadece 1 koloni seçilip TSA'ya transfer edildiğinde, inkübasyon sonrası sarı pigmentli olmayan koloniler görülebilir. 4 tipik koloni daha seçilerek TSA içeren petrilerin yüzeyine ekim yapılır. 5'den az tipik koloni varsa, partideki tüm koloniler seçilmelidir.
- TSA petrilerindeki, sarı renkli koloniler seçilerek biyokimyasal testlere tabi tutulur. Doğrulama testleri Tablo 2.2'ye göre değerlendirilir.

Oksidaz: Seçilen koloniler öze ile alınır, oksidaz kimyasalı ile nemlendirilmiş filtre kağıdı üzerine ya da ticari disklerle yayılır. Filtre kağıdı üzerindeki soluk mor, mavimsi mor ya da koyu mavi rengi 10 saniye içinde değişmezse, test negatif olarak değerlendirilir.

L-Lysine decarboxylase: Öze ile seçilen koloniler L-Lysine decarboxylation medium'a inoküle edilir. Tüpler 30 ± 1 °C'de 24 ± 2 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası mavi-mor renk pozitif reaksiyon olduğunu gösterir. Sarı renk, negatif reaksiyondur.

L-Ornithine decarboxylase: Öze ile seçilen koloniler L-Ornithine decarboxylation medium'a inoküle edilir. 30 ± 1 °C'de 24 ± 2 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası mavi-mor renk pozitif reaksiyon olduğunu gösterir. Sarı renk, negatif reaksiyondur.

L-Arginine dihydrolase: Öze ile seçilen koloniler L-Arginine dihydrolase medium'a inoküle edilir. 30 ± 1 °C'de 24 ± 2 saat inkübe edilir.

İnkübasyon sonrası mavi-mor renk pozitif reaksiyon olduğunu gösterir. Sarı renk, negatif reaksiyondur.

Çeşitli şekerlerin fermantasyonu: Öze ile seçilen koloniler her bir karbonhidrat fermantasyon medium'a inokule edilir. 30 ± 1 °C'de 24 ± 2 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası sarı renk pozitif reaksiyon olduğunu gösterir. Kırmızı renk, negatif reaksiyondur.

Sitrat'ın kullanımı: Öze ile seçilen koloniler yatık Simmons Citrate Medium'un yüzeyine inokule edilir. Tüpler 30 ± 1 °C'de 24 ± 2 saat inkübe edilir. Besiyerinin maviye dönüşmesi pozitif reaksiyon olduğunu gösterir.

Tablo 2-2: *E. sakazakii* için doğrulama testleri sonuçlarının yorumlanması

Biyokimyasal test	Pozitif - negatif reaksiyon	<i>E. sakazakii</i> 'nin gösterdiği reaksiyonlar (%)
Sarı pigment üretimi	+	>99
Oksidaz	-	>99
L-Lysine decarboxylase	-	>99
L-Ornithine decarboxylase	+	± 90
L-Arginine dihydrolase	+	>99
D-Sorbitol'ün fermentasyonu	-	± 95
L-Rhamnose'un fermentasyonu	+	>99
D-Sucrose'un fermentasyonu	+	>99
D-Melibiose'un fermentasyonu	+	>99
Amygdaline fermentasyonu	+	>99
Citrate hidrolizi	+	>95

- *E. sakazakii* identifikasyonu için ticari biyokimyasal test kitleri de kullanılabilir.

2.6.3. PCR ile *E. sakazakii* Analiz Metodu

E. sakazakii'nin tespitinde, molekül tabanlı metotlar da geliştirilmiştir. Seo ve Brackett (2005); *E. sakazakii*'nin kantitatif real-time PCR tekniğini tanımlamışlardır. Bu metot ile toz bebek mamalarında zenginleştirme aşaması uygulanmadan 100 kob/ml düzeyinde organizma tespit edilmiştir. PCR metodu ile daha kısa sürede sonuç alınmaktadır.

2.6.4. *E. sakazakii*'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu İçin Geliştirilen Besiyerleri

Farmer ve ark. (1980) tarafından; *E. sakazakii*'nin tanımlanmasından bu yana, bakterinin belirlenmesi ve identifikasyonu için birçok metot önerilmiştir. Önceki araştırma sonuçlarında *E. sakazakii*, sarı pigment üretimi, D-Sorbitolu fermente edememesi, gecikmiş DNase aktivitesi ve α -glukosidaz enzim üretimi ile, benzer özellik gösteren diğer *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerden ayrılmıştır (Farmer ve ark. 1980). Sonraki araştırmalarda, pigmentsiz *E. sakazakii* suşlarının da bildirilmesiyle, identifikasyonda sarı pigment üretimine tamamen güvenilmemesi ortaya konulmuştur (Block ve ark. 2002, Iversen ve Forsythe 2007, Iversen ve ark. 2007b).

E. sakazakii'nin, *Enterobacteriaceae* ailesi içinde α -glukosidaz pozitif olan tek tür olması, bu bakterinin belirlenmesi ve identifikasyonu amacı ile birçok kromojenik agar geliştirilmesinde temel oluşturmuştur (Muytjens ve ark. 1984). Kromojenik bir substrat olan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- α -D-glucopyranoside ($X\alpha$ Glc) içeren farklı besiyerleri geliştirilmiştir. Bu substrat α -glukosidaz tarafından hidrolize edildiğinde aglikon ve bromo-4-chloro-3-indolyl ortaya çıkar. Hidrolizasyon ürünlerinden bromo-4-chloro-3-indolyl oksijen varlığında, bir pigment olan bromo-chloro-indigo'ya dönüşür. Bu pigment sayesinde *E. sakazakii*, besiyerinde mavi renkli koloniler oluşturur (Iversen ve ark. 2004a). *E. sakazakii*'nin bu özelliğini kullanarak geliştirilmiş besiyerleri Druggan-Forsythe-Iversen (DFI) Agar, *Enterobacter sakazakii* Isolation Agar (ESIA), Oh-Kang (OK) Agar, Leuscher-Baird-Donald-Cox (LBDC) Agar ve *Enterobacter sakazakii* Chromogenic Plating Medium (ESPM) gibi besiyerleri, bu biyokimyasal özelliğin kullanımı ile formüle edilmiştir (Polat ve Halkman 2007). ISO tarafından onaylanan ESIA besiyerinin bileşiminde; Gram pozitif rekabetçi floranın inhibisyonu için sodium deoxycholate ve crystal violet mevcuttur. ESIA besiyerine göre yüksek

sodium deoxycholate konsantrasyonu ve düşük kromojenik substrat konsantrasyonu DFI agarın hassasiyetini olumsuz etkilemektedir. DFI agarda; ESIA besiyerinden farklı olarak, besiyeri bileşimindeki hidrojen sülfid üretim tespit sistemi ile zayıf α -glukosidaz aktivitesine sahip olan *Proteus* türlerinin ayrımı mümkün olmaktadır (Druggan ve Iversen 2009).

Bakteri, besiyeri ve suşa bağlı olarak iki koloni türü (parlak ve mat) oluşturmaktadır. TSA’da oluşan koloni çaplarının, 36 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra 2-3 mm, 25 °C’de 24 saat ve 48 saat inkübasyon sonrasında sırasıyla 1-1.5 ve 2-3 mm olduğu belirlenmiş ve sıvı besiyerinde gelişen *E. sakazakii* ‘nin kümelenme ve sediment oluşturma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (Nazarowec-White ve Farber, 1997a, Farmer ve ark. 1980, Iversen ve Forsythe 2003).

2.6.5. *E. sakazakii*’nin Biyokimyasal Analizleri için Kullanılan Ticari Kitler

E. sakazakii’nin doğrulaması amacıyla API 20E, Microbact GNB 24E gibi ticari biyokimyasal test kitleri kullanılmaktadır.

2.7. Bebek Mamaları ve Bebek Mamalarının Üretim Prosesi

2.7.1. Bebek Mamaları

Bebek mamaları; bebek formülleri, devam formülleri ve bebek - küçük çocuk ek gıdaları olmak üzere 3 çeşittir.

Bebek formülleri; bebeklerin yaşamlarının ilk ayları boyunca, doğrudan veya su ilavesi ile tüketilen ürünlerdir (TGK 2008/52). Steril olarak üretilmeyen ürünlerdir (WHO ve FAO 2004).

Devam formülleri; farklı bir ay önerilmediği takdirde altıncı aydan itibaren, bebeklerin giderek çeşitlenen diyetlerindeki başlıca sıvı alımını oluşturan ürünlerdir. (TGK 2008/53).

Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ise; işlenmiş tahıl bazlı ve tahıl bazlı olmayan ek gıdalar olarak 2 gruba ayrılmıştır. Bebek (12 ayın altındaki yaş grubu) ve küçük çocukları (12-36 ay arasındaki yaş grubu) ileri yaşlardaki günlük diyetlerine alıştırmak için kullanılan ek gıdalardır (TGK 2007/50). Ek gıdaların tüketime hazır olarak satışa sunulan ürünleri, steril olarak üretilen gıdalardır (WHO ve FAO 2004).

2.7.2. Bebek Mamalarının Üretim Prosesi

Toz bebek formülleri, genel olarak 2 tip proses kullanılarak üretilmektedir: Kuru karıştırma prosesi ve yağ karıştırma-sprey kurutma prosesi. Bazı üreticiler tarafından her iki prosesin kombinasyonu kullanılmaktadır. Kombine edilmiş proses, yağ karıştırma-sprey kurutma prosesi kullanılarak, protein ve yağ bileşenlerinden oluşan temel bir toz üretilmektedir ve sonra bu toz karbonhidrat, mineral ve vitamin bileşenleri ile harmanlanarak kurutulmaktadır. Bu proseslerin, *E. sakazakii* ya da diğer zararlı bakteriler tarafından kontaminasyonu açısından farklı riskleri ve yararları bulunmaktadır (Zink 2003).

2.7.2.1. Kuru Karıştırma Prosesi

Kuru karıştırma prosesinde; bileşenler dehidre toz form olarak tedarikçilerden temin edilmektedir ve bu bileşenler bebek formülü için gerekli olan makro ve mikro besin öğelerinden düzgün bir karışım elde etmek için harmanlanır (Zink 2003).

Kuru karıştırma prosesi, yağ karıştırma-sprey kurutma metoduna göre, bazı üretim avantajları sunmaktadır. Kuru karıştırma, yağ karıştırma-sprey kurutmaya göre daha az sermaye gerektirir ve daha fazla enerji verimliliği sağlanır. Ayrıca, kuru karıştırmada, üretim prosesinin su kullanımı içermemesinden dolayı, proses hattı uzun süre boyunca kuru tutulabilmektedir. Kuru bir ortamda, bakterilerin gelişmesini desteklemesi için gereken su engellenir ve fabrika ortamında, ürün kontaminasyonuna sebep olacak sayıdaki zararlı bakterilerin şansı azalır. Ancak, kuru karıştırma metoduyla üretilen bir ürünün mikrobiyolojik kalitesi, kuru bileşenlerin mikrobiyolojik kalitesi ile belirlenir. Kuru karıştırma prosesinde, son üründeki bakterilerin yıkımlanması için bir ısı uygulaması yoktur. Böylelikle, eğer kuru harmanlanmış bir üründe, bir ya da daha fazla

bileşen düşük sayıdaki zararlı bakteriler ile kontamine olmuş ise, bu bakterilerin bitmiş üründe de bulunması muhtemeldir (Zink 2003).

Kuru karıştırma prosesi bileşenlerin kabulü ile başlar. Bileşenler, genellikle mikrobiyolojik kontaminasyon da dahil olmak üzere, şartnamelere uygunluğu için test edilene kadar depolanır. Mikrobiyolojik kontaminantlar düşük sayılarda mevcut olabildiği için ve parti içinde rastgele dağılımda olmadığı için, sadece partinin test edilmesi ile, mikrobiyolojik kalitenin sağlanması zordur. Her tedarikçi bileşenlerin zararlı bakteriler tarafından kontamine olmayacağını sağlayacak şekilde ürünlerini üretmek zorundadır. Bu da uygun proses kontrol ve iyi üretim uygulamalarına sıkı sıkıya bağlı kalarak sağlanır (Zink 2003).

Kuru bileşenler, büyük ölçekli karıştırma ekipmanları ile büyük partiler halinde harmanlanır. Bileşenler partinin her tarafına eşit olarak dağılacak şekilde karıştırılır. Karıştırılmış ürünler büyük boy parçacıklar ve gereksiz malzemelerin ayrılması için elekten geçirilir. Elenmiş ürünler depolama için çanta, kılıf vb. içine transfer edilir. Bazı durumlarda, tozlar, toz paketleme hattına direkt aktarılabilir. Paketleme hattında, tozun kutulara aktarılması için, dolgu hunisine transfer edilir. Doldurulan kutular, inert gaz ile temizlenir, kapatılır, kodlanır ve paketlenir. Genel olarak, bitmiş ürünler, mikrobiyolojik kontroller de dahil olmak üzere, şartnamelere uygunluğuna dair son kontrolü yapılmaya kadar bekletilir (Zink 2003).

2.7.2.2. Yaş Karıştırma - Sprey Kurutma Prosesi

Yaş karıştırma-sprey kurutma prosesinde, bileşenler birlikte karıştırılır, homojenize edilir, pastörize edilir ve toz elde edilmesi için sprej kurutma yapılır. Pastörizasyon aşaması bileşenlerde mevcut olabilecek zararlı bakterileri yok eder. Bu nedenle, bu proses, bileşenlerin mikrobiyolojik kalitesine daha az bağımlıdır. Bu proseste, parti geneline, besin maddelerinin düzgün dağılım sağlanması avantajı vardır. Bununla birlikte, yaş karıştırma-sprej kurutma prosesi, proseste kullanılan sprej kurutucu ve akışkan yatak dahil olmak üzere, düzenli olarak yaş temizleme işlemi gerektirir. Bu sürekli yaş temizleme işlemi, fabrika ortamında yerleşmiş ve gelişen

bakteriler için gerekli su ihtiyacını sağlar. Eğer kontrol edilemez ise, bu bakteriler ürünün kontaminasyon kaynağı olabilir. Yaş karıştırma-sprey kurutma prosesi kullanan fabrikalarda, genellikle yaş ve kuru proses alanları bölünmüştür ve bu alanlar arasında insan ve ekipman hareketleri kısıtlanmıştır. Ayrıca, özellikle kuru proses alanlarında sıkı sanitasyon işlemleri uygulanır (Zink 2003).

Yaş karıştırma-sprey kurutma işlemi bileşenlerin tedarikçilerden alınması ile başlar. Kuru karıştırma prosesinde olduğu gibi, bileşenler spesifikasyonlara uygunluğu test edilene kadar depolanır. Bileşenler büyük partiler halinde karıştırılır ve sonrasında pastörizasyon için bir ısı değiştiricisine pompalanır. Uygulanan pastörizasyon işleminin sıcaklık ve süresi üreticiler arasında değişir ama daima zararlı bakterilerin vejetatif hücrelerini yıkımlayacak kadar yeterli ısı uygulanır. Pastörizasyon işlemi sonrasında sıvı homojenize edilir. (Bazı üreticiler pastörizasyondan önce ürünü homojenize eder). Pastörizasyondan sonra, ısıya duyarlı mikro bileşenler (vitamin, amino asit, yağ asidi vb.) ürüne eklenir. Ürün sonradan zararlı bakterileri yok etmek için yeterli ısı uygulaması geçirmeyeceği için, bu bileşenlerin mikrobiyolojik kalitesi, kritik öneme sahiptir. Mikro besin maddelerinin eklenmesinden sonra, sıvı, bir evaporatörden geçerek veya spray kurutucudan direkt pompalanarak yoğunlaştırılabilir. Ürün buharlaştırılırsa, işlem süresince 62,7-76,7 °C ısıtılır. Bazı durumlarda, yoğunlaştırılmış sıvı 7,2 °C 'den daha az sıcaklığa soğutulur ve gerekli olana kadar büyük tanklarda depolanır. Spray kurutma öncesinde, ürüne 71,1-93,3 °C ön ısıtma işlemi uygulanır ve spray kurutma makinesinden yüksek basınç altında geçirilir. Ürün hava giriş sıcaklığının 137,8-204,4 °C aralığında olduğu spray kurutma içinde atomize edilir. Spray kurutma; ya horizontal kutu tipi kurutucudur ya da dikey bir huni şeklinde kurutucudur. Kurutma boyunca geçen ürünlerdeki su buharlaştırılır ve kuru toz, spray kurutucunun altına düşer. Kurutucudan çıkış sıcaklığı yaklaşık 104,4 °C'dir. Spray kurutucudaki tozun çıkış sıcaklık aralığı 43,3-79,4 °C'dir. Sıcak toz soğuk hava akımı ile soğutulmuş akışkan bir yataktan geçirilir. Akışkan yatağın sonunda, toz yaklaşık 21,1 °C'ye soğutulmuş olur. Genellikle spray kurutucu ve akışkan yatakta ürünün kontaminasyon riskini azaltmak için hepa-filtre temin edilir. Spray kurutmadan sonra, partikül boyutunu arttırmak ve çözünürlüğü sağlamak için ürün yığılmış olabilir. Toz haline gelmiş ürün bir elekten geçirilir ve çanta, kılıf veya depolama silolarına aktarılır.

Bazı durumlarda, toz direkt toz paketleme hattına aktarılabilir. Paketleme hattında, tozun kutulara aktarılması için, dolgu hunisine transfer edilir. Doldurulan kutular, inert gaz ile temizlenir, kapatılır, kodlanır ve paketlenir. Genel olarak, bitmiş ürünler, mikrobiyolojik kontroller de dahil olmak üzere, şartnamelere uygunluğuna dair son kontrolü yapıncaya kadar bekletilir (Zink 2003).

2.8. Türkiye’de ve Diğer Ülkelerde *E. sakazakii* Hakkında Yasal Düzenlemeler

ICMSF (International Commission for Microbiological Specifications for Food) 2002 yılında *E. sakazakii*’yi, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* Tip A ve B, *Cryptosporidium parvum* ile birlikte gruplandırarak ‘kronik veya uzun süre etkili, hayatı tehdit eden, bazı popülasyonlar için şiddetli derecede tehlikeli’ olarak sınıflandırmıştır (Iversen ve Forsythe 2003).

2002 yılında, FDA *E. sakazakii*’nin bebek formüllerindeki varlığı ile ilgili olarak bir uyarı yayınlamıştır. Toz bebek mamaları steril olarak hazırlanan ürünler değildir ve bazı ısıya dirençli *E. sakazakii* izolatlarında, ısıya duyarlı izolatlarına göre infB’nin daha yüksek düzeyde olduğu ifade edilmiştir (FDA 2002a).

FAO ve WHO tarafından 2004 yılında toz ve hazır bebek mamaları ile ilgili yapılan bir toplantıda, bebeklerde enfeksiyona neden olabilecek ve bebek mamalarında bulunabilecek mikroorganizmalar görüşülmüş ve bebek mamalarında yarattıkları risklere göre A, B, C olarak 3 grupta sınıflandırılmıştır. Buna göre, *E. sakazakii* ve *Salmonella*; bebek maması kaynaklı hastalıklar yaptıkları, bebek mamalarından izole edildikleri ve mama kaynaklı hastalıklara neden oldukları için A grubu risk oluşturan tehlike olarak tanımlanmışlardır (FAO WHO 2004).

2008 yılında, WHO/FAO tarafından, Recommended International Code of Hygienic Practice for Foods for Infants and Children (CAC/RCP 21-1979) revize edilmiştir ve bu revizyon toz bebek mamalarında test edilen spesifik patojenlerin yeniden değerlendirilmesini içermektedir (Codex Alimentarius Commission 2008).

Türkiye’de ise, 2008 yılında bebek ve devam formüllerinde *E. sakazakii* analizi yapılması zorunlu hale getirilmiştir. İlk olarak; 04.09.2008 tarih, 26987 Resmi Gazete No’lu, 2008/52 Tebliğ No’lu Bebek Formülleri Tebliği ve 2008/53 No’lu Devam Formülleri Tebliğinde *E. sakazakii* analizi mikrobiyolojik kriterlere eklenmiştir (TGK Yönetmeliği 2008a, 2008b). 01.11.2007 tarih, 26687 Resmi Gazete No’lu, 2007/50 Tebliğ No’lu Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdaları Tebliği’nde ise, bu gıdalarda *E. sakazakii* analizi yapılması zorunlu hale getirilmemiştir (TGK Yönetmeliği 2007). 29.12.2011 tarihinde yayınlanan, 28157 Resmi Gazete No’lu Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’nde bebek ve devam formülleri aynı başlık altında belirtilmiş ve organizmanın limit değeri ‘25 g / ml’de bulunmamalı’ olarak belirtilmiştir. Aynı yönetmelikte yer alan bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında ise, *E. sakazakii* analizi bulunmamaktadır (TGK Yönetmeliği 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Örnekler piyasada satışa sunulmuş ve çeşitli marketlerden temin edilen, 10 farklı firmaya ait, 200 adet bebek ve devam formülü, 150 adet bebek ve küçük çocuk ek gıdası, 50 adet pastörize süt olmak üzere toplam 400 adet numune incelenmiştir. İncelenen numunelerin tümü orijinal ambalajında satışa sunulan ürünlerdir.

3.1.1. Kullanılan Alet ve Gereçler

3.1.1.1. Besiyerleri ve Kimyasal Malzemeler

- **Buffered Peptone Water (BPW)**

Enzymatic digest of casein	10,0 g
Sodium chloride	5,0 g
Disodium hydrogen phosphate dodecahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	9,0 g
Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	1,5 g
Distile Su	1000 ml
pH	7,0±0,2 (25 °C)

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürüldü. 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

- **Modified Lauryl Sulfate Tryptose Broth (mLST) / vancomycin medium**

Modified Lauryl Sulfate Tryptose Broth (mLST)

Sodium Chloride (NaCl)	34,0 g
Enzymatic digest of animal and plant tissue	20,0 g
Lactose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)	5,0 g
Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)	2,75 g
Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	2,75 g
Sodium Lauryl Sulfate ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_5\text{S}$)	0,1 g
Distile Su	1000 ml
pH	6,8±0,2

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile çözündürüldü. Deney tüplerine 10'ar ml dağıtıldı. Tüpler, 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

- **Vancomycin solution**

Vancomycin	10 mg
Distile Su	10 mg

Vancomycin distile su içinde çözündürüldü.

mLST / Vancomycin Medium: 0,1 ml vancomycin solusyonu; 10'ar ml'lik mLST deney tüplerine ilave edildi.

- ***Enterobacter Sakazakii* Isolation Agar (ESIA)**

Pancreatic peptone of casein	7,0 g
Yeast extract	3,0 g
Sodium chloride (NaCl)	5,0 g
Sodium desoxycholate	0,6 g
5-Bromo-4-chloro-3-indolyl α -D-glucopyranoside (C ₁₄ H ₁₅ BrClNO ₆)	0,15 g
Crystal violet	2,0 mg
Agar	12,0 g -18,0 g
Distile Su	1000 ml
pH	7,0±0,2 (25 °C)

- **Tryptone Soya Agar (TSA)**

Enzymatic digest of casein	15,0 g
Enzymatic digest of soya	5,0 g
Sodium chloride (NaCl)	5,0 g
Agar	9,0 g -18,0 g
Distile Su	1000 ml
pH	7,3±0,2 (25 °C)

Tartılan besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürüldü. 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Petri kutularına yaklaşık 15 ml dökülerek hazırlandı.

- Oksidaz test kiti (Oxoid)
 - Biyokimyasal identifikasyon kiti (Microbact GNB 24E, Oxoid MB1074A)
- Lizin, Ornitin, H₂S, Glikoz, Mannitol, Xylose, ONPG, Indol, Ureaz, V-P, Sitrat, TDA biyokimyasal reaksiyonlardan oluşmaktadır.

3.1.1.2. Cam ve Diğer Gereçler

- Pipet: 1 ml
- Petri: 90 mm, plastik, tek kullanımlık, steril
- Öze ve öze teli
- Deney tüpü: Cam, 18x160 mm çapında
- Shot şişe: Cam, 250 ve 500 ml'lik, plastik kapaklı, otoklavlanabilen
- Steril poşet

3.1.1.3. Cihazlar

- İnkübatör (Binder) (37 °C, 44 °C, 25 °C)
- Otoklav (Hirayama)
- Su banyosu (GFL)
- pH metre (Testo)
- Hassas Terazı (Sartorius)
- Homojenizatör (IUL)
- Buzdolabı
- Distile su Cihazı (ELGA)

3.2. YÖNTEM

Piyasadan toplanan numuneler uygun koşullarda laboratuvara getirildikten sonra, mikrobiyolojik analizler aseptik koşullarda yapılmıştır. Numunelerin analizi ISO

/ TS 22964 'e göre yapılmıştır (ISO / TS 22964 2006). Numuneler analize alınmadan önce, metodun ATCC 51329 suşu ile kontrolü sağlanmıştır. Ayrıca analiz çalışmaları esnasında kullanılan tüm besiyerlerinin pozitif kontrolü amacıyla da ATCC 51329 suşu kullanılmıştır.

3.2.1. Numunelerin Analize Hazırlanması

Uygun koşullarda laboratuvara getirilen numune bebek maması ve pastörize süt örneklerinden aseptik şartlarda 25 g / ml tartıldı.

3.2.2. Ön Zenginleştirme

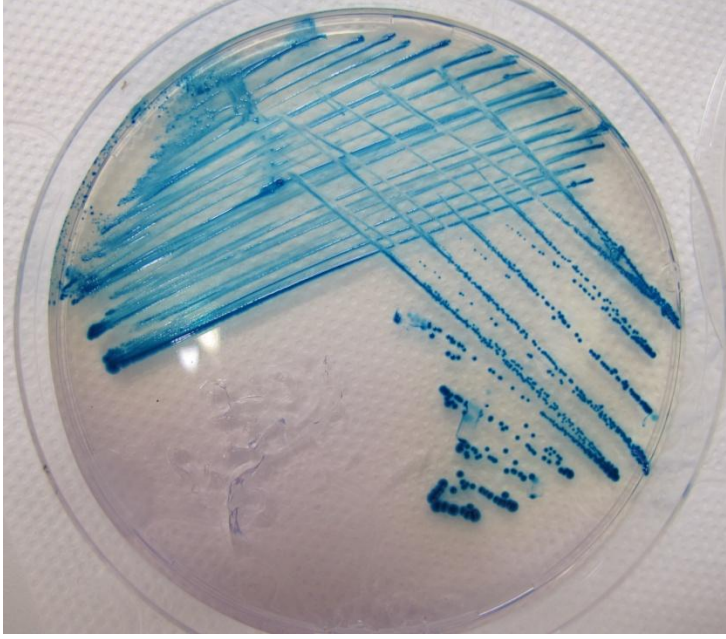
Tartılan numune üzerine, ön zenginleştirme amacıyla 225 ml BPW eklendi. 37 °C'de 18 sa inkübe edildi.

3.2.3. Seçici Zenginleştirme

İnkübasyon sonunda, ön zenginleştirme besiyerinden 0,1 ml alınarak, 10 ml'lik mLST/Vancomycin Medium'a inoküle edildi. 44 °C'de 24 sa inkübe edildi.

3.2.4. *E. sakazakii* İzolasyonu

İnkübasyon sonrası mLST/Vancomycin medium'dan öze ile alınarak ESIA'a inoküle edildi. 44 °C'de 24 sa inkübe edildi. İnkübasyon sonrası agar üzerindeki 1-3 mm arasında değişen büyüklükte, yeşilden mavi-yeşile değişen renkteki koloniler şüpheli koloni olarak değerlendirildi. ESIA'da gelişen *E. sakazakii* kolonileri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3-1: *Enterobacter Sakazakii* Isolation Agar'da üreyen *E. sakazakii* kolonileri

3.2.5. Doğrulama

ESIA'da şüpheli olarak üreyen kolonilerden 1-5 adet seçildi. Doğrulama testleri yapmak için, TSA içeren petrilerin yüzeyine ekim yapıldı. 25 °C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, TSA içeren petrilerde, sarı pigmentli koloniler incelendi.

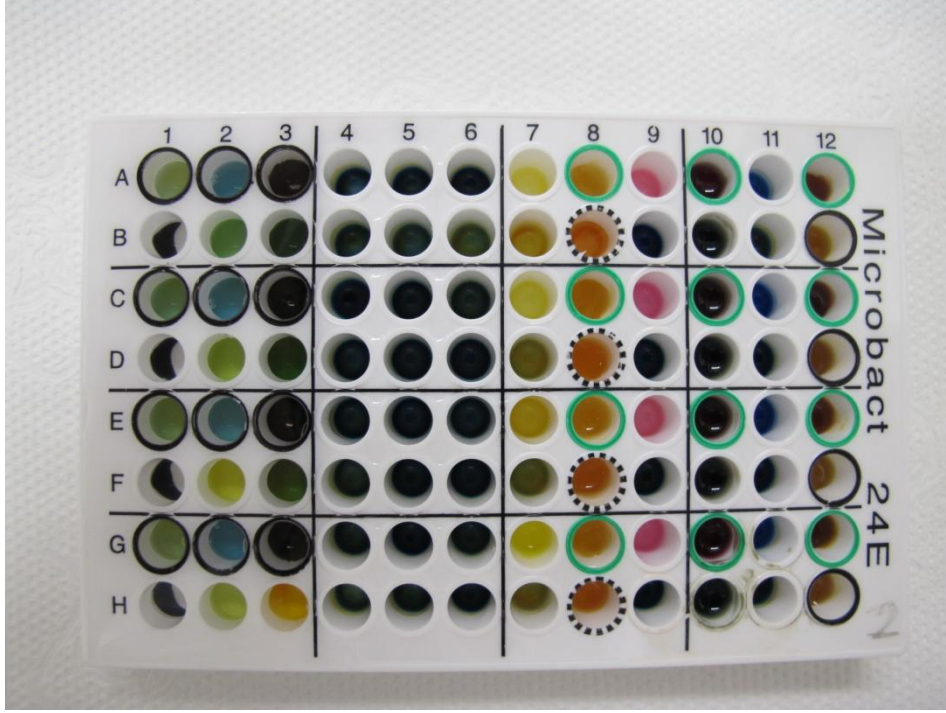
3.2.5.1. Oksidaz Testi

TSA petrilerindeki sarı pigmentli koloniler öze ile alınarak, filtre kağıdı üzerine yayıldı. Filtre kağıdı üzerindeki koloni üzerine ticari oksidaz testi damlatıldı. Filtre kağıdı üzerindeki soluk mor, mavimsi mor ya da koyu mavi rengi 10 sn içinde değişmemesi, negatif olarak değerlendirildi. *E. sakazakii*; Oksidaz negatiftir. Oksidaz pozitif sonuç veren kolonilere biyokimyasal test uygulanmadı.

3.2.5.2. Biyokimyasal Test

Biyokimyasal identifikasyon kiti olarak Microbact GNB 24E kullanıldı (Oxoid MB1074A). Bu ticari biyokimyasal test kiti ile, Lizin, Ornitin, H₂S, Glikoz, Mannitol,

Xylose, ONPG, Indol, Ureaz, V-P, Sitrat, TDA biyokimyasal reaksiyonları incelendi. Microbact GNB 24E ile yapılan biyokimyasal test çalışması Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3-2: Microbact GNB 24E ile yapılan biyokimyasal test çalışması

Microbact GNB 24E, *Enterobacteriaceae* ve Gram negatif basillerin identifikasyonunda kullanılmak üzere tasarlanmış bir mikro-substrat sistemidir. TSA petrilerinde gelişen sarı pigmentli 1-3 adet koloni öze ile alınarak 5 ml’lik fizyolojik tuzlu su içine inokule edildi. Bu süspansiyondan 100 µl alınarak Microbact GNB 24E üzerindeki her kuyucuğa eklendi. 1,2,3 No’lu kuyucuklara mineral yağ eklendi. 35 °C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, 8 No’lu ‘Indol’ kuyucuğuna 2 damla Kovaks kimyasalı damlatıldı. 2 dakika içinde değerlendirildi. 10 No’lu ‘Voges-Proskauer’ kuyucuğuna VP1 ve VP2 kimyasalı damlatıldı. 15-30 dakika içinde değerlendirildi. 12 No’lu ‘TDA’ kuyucuğuna TDA kimyasalı damlatıldı ve hemen değerlendirildi. 24 saat inkübasyondan sonra sonuçlar Tablo 3.1’de gösterildiği şekilde değerlendirilmiştir.

Tablo 3-1: Microbact GNB 24E ile test sonuçlarının değerlendirilme kriterleri

Kuyucuk No	Test Adı	Reaksiyon Prensipli	Reaksiyon Rengi	
			Negatif	Pozitif
1	Lizin	Lizin dekarboksilaz	Sarı	Mavi-Yeşil
2	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	Sarı-Yeşil	Mavi
3	H ₂ S	H ₂ S üretimi	Saman rengi	Siyah
4	Glikoz	Glikoz fermentasyonu	Mavi-Yeşil	Sarı
5	Mannitol	Mannitol fermentasyonu	Mavi-Yeşil	Sarı
6	Xylose	Xylose fermentasyonu	Mavi-Yeşil	Sarı
7	ONPG	o-nitrofenil-β-d-galaktopiranozid hidrolizi	Renksiz	Sarı
8	Indol	Triptofan'dan Indol üretimi	Renksiz	Pembe-Kırmızı
9	Ureaz	Üre hidrolizi	Saman rengi	Pembe
10	VP	Aseton üretimi	Saman rengi	Pembe
11	Sitrat	Sitrat kullanımı	Yeşil	Mavi
12	TDA	Triptofan'ın deaminasyonu ile indolpiruvat üretimi	Saman rengi	Kiraz kırmızısı

4. BULGULAR

Piyasada satışı sunulan, ithal ve yerli, 10 farklı firmaya ait 200 adet bebek ve devam formülü, 150 adet bebek ve küçük çocuk ek gıdası ile 50 adet pastörize süt numunesi olmak üzere, toplam 400 adet numune *E. sakazakii* yönünden incelenmiştir.

Piyasada; bebek formülü, devam formülü ve bebek - küçük çocuk ek gıdası olmak üzere 3 çeşit bebek maması satışı sunulmaktadır. Türk Gıda Kodeksi'nde de, bu mamalar farklı tebliğler ile tanımlandığı için, ayrı ayrı incelenmiştir.

Analiz sonuçları Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de belirtilmiştir.

Tablo 4-1: Piyasada satışı sunulan bebek formüllerinde *E. sakazakii* analiz sonuçları

Ürün çeşidi	Numune Sayısı	Pozitif Numune Sayısı (/25 g'da)	Pozitif Numune Oranı (%)
Bebek formülü	120	0	% 0

Tablo 4-2: Piyasada satışı sunulan devam formüllerinde *E. sakazakii* analiz sonuçları

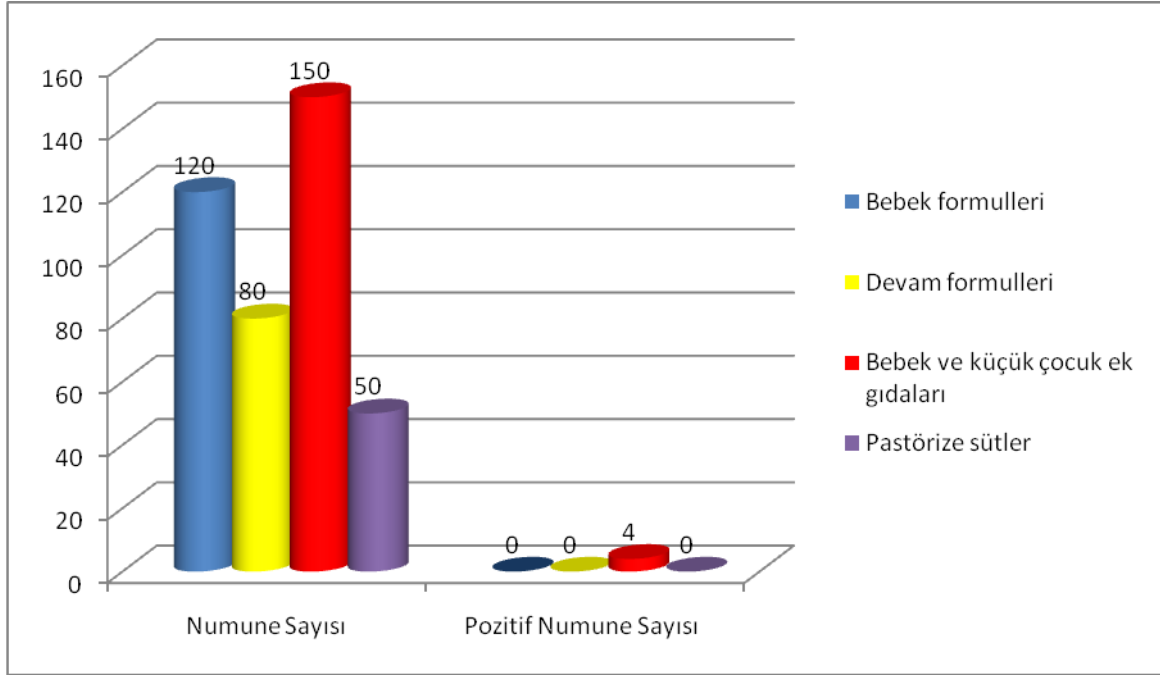
Ürün çeşidi	Numune Sayısı	Pozitif Numune Sayısı (/25 g'da)	Pozitif Numune Oranı (%)
Devam formülü	80	0	% 0

Tablo 4-3: Piyasada satışı sunulan bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında *E. sakazakii* analiz sonuçları

Sıra No	Ürün Çeşidi	Numune Sayısı	Pozitif Numune Sayısı (/25 g'da)	Pozitif Numune Oranı (%)
1	Tahıl Bazlı Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdası (Toz mama)	100	4	% 4
2	Tahıl Bazlı Olmayan Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdası (Kavanoz maması)	50	0	% 0
TOPLAM	Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdası	150	4	% 2,7

Tablo 4-4: Piyasada satışı sunulan pastörize sütlerde *E. sakazakii* analiz sonuçları

Ürün çeşidi	Numune Sayısı	Pozitif Numune Sayısı (/25 g'da)	Pozitif Numune Oranı (%)
Pastörize Süt	50	0	% 0



Şekil 4-1: Piyasada satışa sunulan bebek mamaları ve pastörize sütlerde *E. sakazakii* varlığı

Bu araştırma sonucunda;

- Analize alınan 120 adet bebek formülünde *E. sakazakii* tespit edilmemiştir. Bebek formüllerinde tespit edilen *E. sakazakii* oranı % 0'dır.
- Analize alınan 80 adet devam formülünde *E. sakazakii* tespit edilmemiştir. Devam formüllerinde tespit edilen *E. sakazakii* oranı % 0'dır.
- Analize alınan 50 adet pastöriz sütte *E. sakazakii* tespit edilmemiştir. Pastörize sütlerde tespit edilen *E. sakazakii* oranı % 0'dır.

- Analize alınan 150 adet bebek ve küçük çocuk ek gıdasının 4 adedinde *E. sakazakii* tespit edilmiştir. Bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında tespit edilen *E. sakazakii* oranı % 2,7'dir.

Bu mamaların;

- 100 tanesi tahıl bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdasıdır. *E. sakazakii* tespit edilen 4 adet mama, tahıl bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdasıdır.
 - 50 tanesi tahıl bazlı olmayan bebek ve küçük çocuk ek gıdasıdır. Bu grup mamalarda *E. sakazakii* tespit edilmemiştir.
- Sonuç olarak; analize alınan 350 adet bebek mamasının 4 adedinde, % 1,14 oranında *E. sakazakii* bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

E. sakazakii; son yıllarda önemi artan, özellikle prematüre, düşük doğum ağırlığına sahip ve 28 günlükten küçük bebeklerde menenjit, nekrotize enterokolit ve septisemiye neden olan gıda kaynaklı bir patojendir. Bakteri; et, peynir, sebze, tahıl, baharat, kuru ot gibi çok çeşitli gıdalardan, ev ve fabrika gibi ortamlardan, hatta sineklerden izole edilmiş olmasına rağmen, toz bebek mamaları; bakterinin kontaminasyon kaynağı ve yayılma aracı olarak gösterilmiştir (Hamilton ve ark. 2003, Iversen ve Forsythe 2003, Kandhai ve ark. 2004, Kim ve Beuchat 2005). Kontamine bebek mamalarının, özellikle bağışıklık sistemi tam olarak gelişmemiş ve erken doğan bebekler için ciddi bir risk oluşturduğu bildirilmiştir (Mullane ve ark. 2006). Çünkü, bebek mamaları, hazırlanışı sırasında düşük sıcaklıktaki suyla sulandırıldıklarından, bakteri bu sıcaklıktan etkilenmemektedir (Leuschner ve Bew 2004).

E. sakazakii; kapsül üretimi ile, uzun raf ömrü olan bebek mamalarında canlılığını sürdürebilmektedir. *E. sakazakii*'nin ürettiği kapsülün, kurutulmuş ortamlarda canlılığını sürdürebilmesini sağladığını, biyofilm oluşturabilmesini ve yüzeylere tutunabilme yeteneğini arttırabildiğini bildirmiştir (Iversen ve Forsythe 2003, Lehner ve Stephan 2004, Drudy ve ark. 2006a, Beuchat ve ark. 2009). *E. sakazakii* ayrıca biyofilm oluşumu ile; lateks, silikon, polikarbon, paslanmaz çelik gibi yüzeylere yapışarak gelişme gösterebilmektedir (Iversen ve ark. 2004b, Lehner ve ark. 2005).

Yeni doğan bebeklerin özellikle premature bebeklerin mide asitliğinin yetişkinlere göre daha düşük olması, *E. sakazakii*'nin bebeklerde enfeksiyon oluşturmasında olası önemli bir faktördür (Maffei ve Nobrega 1975, WHO 2004).

E. sakazakii'nin düşük a_w 'de canlılığını sürdürebilmesi, yaklaşık a_w 0,2 olan toz bebek mamalarında gelişebilmesini sağlamaktadır (Beuchat ve ark. 2009, Breeuwer ve ark. 2003). *E. sakazakii*; *Enterobacteriaceae* ailesindeki diğer bakteriler içinde ısıya en toleranslı bakteri olmasına rağmen, pastörizasyon sıcaklığında inaktive olduğu bildirilmiştir (Nazarowec-White ve Farber 1997b, 1997c). Buna rağmen bebek

mamalarında tespit ediliyor olması, bebek mamalarının üretiminde kullanılan, yaş karıştırma veya kuru karıştırma proseslerindeki pastörizasyon işleminden sonra meydana gelen kontaminasyonu göstermektedir (Iversen ve ark. 2004b).

Bebek mamaları; anne sütünün olmadığı ya da annenin çeşitli nedenlerle süt veremediği durumlarda, bebeğin tüm besin ihtiyaçlarını karşılamak üzere formüle edilmiş ürünlerdir. Ayrıca bebekler anne sütü ile beslenmeye başlasa bile, 6. aydan sonra tek başına anne sütü yeterli olmamaktadır ve ek besinler ile beslenme programına devam edilmesi gerekmektedir (Köksal ve Özel, 2008). Bebeklerin anne sütü olmadığı durumlarda bebek maması tüketmesi nedeniyle, bebekler ve küçük çocuklar tarafından tüketilen çeşitli bebek gıdaları ve pastörize sütlerde *E. sakazakii* varlığı incelenmiş ve Türkiye’de *E. sakazakii* infeksiyon riskinin araştırılması amaçlanmıştır. Bebek mamalarının *E. sakazakii* yönünden riskli ürünler olması, bu bakterinin bebeklerde ölümle ya da kalıcı nörolojik rahatsızlıklarla sonuçlanabilen menenjit, sepsisemi, enterokolit gibi hastalıklara sebep olmasından dolayı ve pastörize sütlerde *E. sakazakii* riskinin bilinmemesinden dolayı bu araştırma yapılmıştır.

Yapılan bu araştırmada; piyasada bebek gıdası olarak satışa sunulan, çeşitli markalara ait bebek formülleri, devam formülleri, ek gıdalar ve pastörize sütler tesadüfi örnekleme yöntemiyle toplanmıştır. Bu amaçla; çeşitli markaların farklı lot numaralı ürünleri, farklı yaş grupları için satışa sunulan ürünleri, farklı içeriğe (tahıllı, sütlü, ballı, meyveli, sebzeli vb.) sahip ürünleri orjinal ambalajlı olarak tedarik edilmiş ve *E. sakazakii* yönünden, ISO / TS 22964 (2006) standardına göre incelenmiştir. İncelenen 350 adet bebek mamasından 120 adeti bebek formülü, 80 adeti devam formülü ve 150 adeti tahıl bazlı ve tahıl bazlı olmayan bebek - küçük çocuk ek gıdasından oluşmaktadır. Ayrıca 50 adet pastörize süt numunesi incelenmiştir. 29.12.2011 tarihinde yayınlanan 28157 Resmi Gazete No’lu Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’nde “Bebek ve Devam Formülleri” grubunda *E. sakazakii*’nin limit değeri “25 g / ml’de bulunmamalı” olarak bildirilmiştir. Aynı yönetmeliğin “Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları” ve “Pastörize Süt” gruplarında ise *E. sakazakii* parametresi bulunmamaktadır (TGK Yönetmeliği 2011). İncelenen numunelerde *E. sakazakii*’nin kalitatif tayini yapılarak değerlendirme yapılmıştır.

Toplamda incelenen 350 adet bebek mamasının 4 adedinde, % 1,14 oranında *E. sakazakii* tespit edilmiştir. Bakteri, bebek ve devam formüllerinde tespit edilmemiş, tahıl bazlı bebek ve küçük ek gıdalarında tespit edilmiştir. Bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında *E. sakazakii*'nin bulunma yüzdesi ise % 2,7'dir. Bebek formülü, devam formülü ve pastörize sütlerde *E. sakazakii* varlığına rastlanmamıştır.

Şimdiye kadar, pastörize sütlerde *E. sakazakii* aranması ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bebek mamaları ile ilgili çeşitli ülkelerde yapılmış çalışmalarda ise, belirli oranlarda *E. sakazakii*'ye rastlanmıştır.

Muytjens ve ark. (1988), 35 ülkede 141 toz bebek mamasında % 14 oranında *E. sakazakii* bulunduğunu bildirmişlerdir. Kanada'da yapılan bir araştırmada, 120 adet toz bebek mamasının % 6,7'sinde *E. sakazakii* tespit edilmiştir (Nazarowec-White ve Farber 1997b). Iversen ve Forsythe (2004), Asya, Avrupa, Afrika ülkelerinden ve A.B.D.'den topladıkları 82 adet bebek formülünün % 2,4'ünde; 49 adet süttan kesme mamasının % 10,2'sinde etkeni izole etmişlerdir. Leuschner ve ark. (2004), 11 ülkeden topladıkları 58 adet bebek formülünün % 13,8'inde *E. sakazakii* tespit etmişlerdir. Shaker ve ark. (2007), 8 adet bebek formülünden 2'sinde (% 25) *E. sakazakii*'yi izole etmişlerdir. Chap ve ark. (2009); 7 ülkede 136 devam formülü ve 179 bebek formülü ile yaptıkları araştırmada, 136 adet devam formülünün 1'inde (% 1), 179 adet diğer bebek formülünün 22'sinde (% 12) *E. sakazakii*'yi tespit etmiştir.

Şimdiye kadar yapılmış, bebek mamalarında *E. sakazakii* varlığına yönelik araştırmalar ile bu çalışmanın verileri karşılaştırıldığında, toplam bebek mamaları içinde tespit edilen % 1,14 *E. sakazakii* oranının, dünya ortalamasından daha düşük olduğu gözlemlenmektedir.

Türkiye İstatistik Kurumu'nun son 10 yıllık verilerine göre; Türkiye'de her yıl 1.253.253 bebek doğmaktadır. 2003 yılında bebek başına yıllık mama tüketim miktarı ise Türkiye İstatistik Kurumu'nun verilerine göre 0,37 kg'dır (Türkiye İstatistik Kurumu 2011). 2003 yılına ait bu verinin ortalamada oldukça düşük olmasının nedeninin, kırsal bölgelerdeki mama tüketiminin, kentsel bölgelere oranla çok daha düşük düzeyde olması düşünülmüştür. Bir mama markasının Türkiye Genel Müdürü ile yapılan bir görüşmede ise, 2008 yılında her bir bebeğe düşen mama miktarının 9,6 kg olduğu belirtilmiştir (Anonim 2008). Ülkemizde satışa sunulan mamalarda tespit edilen *E. sakazakii* oranı % 1,14 olduğuna göre, onbinlerce çocuğun *E. sakazakii* ile kontamine bebek maması tüketme riski olabileceği ortaya çıkmaktadır.

Iversen ve ark. (2004b); bakterinin pastörizasyon sıcaklığında inhibe olmasına rağmen, bebek mamalarında tespit ediliyor olmasının, üretim esnasında pastörizasyon işleminden sonraki kontaminasyonu gösterdiğini bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada, *E. sakazakii*'nin orijinal ambalajlı ürünlerde tespit edilmiş olması ise, yine pastörizasyon işleminden sonra meydana gelen kontaminasyonu düşündürmektedir. Bu nedenle, mama üretim tesislerinde hijyen uygulamalarına önem verilmesi, infeksiyon riskinin azaltılması için gerekli bir durumdur. Ayrıca, toz bebek mamalarının, tüketimi için piyasaya verilmeden önce, üretim bitiminde son ürün mikrobiyolojik kontrolünün yapılması önerilmektedir.

Toz bebek mamalarının kontaminasyonunun ayrıca, su ile hazırlanması esnasında *E. sakazakii* ile kontamine olmuş, biberon, kaşık vb. gibi bebek maması hazırlamada kullanılan ekipmanlar yoluyla gerçekleştiği bildirilmiştir (Simmons ve ark. 1989). Hem hastanelerdeki bebek ünitelerinde, hem de evlerde mama hazırlama esnasında hijyen kurallarına dikkat edilmesi kontaminasyon riskini azaltıcı uygulamalardır.

E. sakazakii; buzdolabı sıcaklığında da üreyebilen bir mikroorganizmadır (Nazarowec-White ve Farber 1997b). Bu nedenle her öğün bebeğin tüketebileceği kadar

mama hazırlanması ve tüketilmeden önce oda sıcaklığında veya buzdolabında bekleme süresinin kısa tutulması önerilmektedir.

Bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında tespit edilen *E. sakazakii*'nin sadece tahıl bazlı ek gıdalarda bulunması, tahıl bazlı gıdaların daha riskli ürünler olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmada 100 adet tahıl bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdasının 4'ünde (% 4) *E. sakazakii* tespit edilmiştir. Geçmiş yıllarda tahıl bazlı bebek mamalarındaki araştırmalarda ise, Shaker ve ark. (2007), 15 adet tahıl bazlı bebek mamasının 2'sinde (% 13,3); Restaino ve ark. (2006), 6 adet kuru bebek tahılından 2'sinde (% 33,3) *E. sakazakii*'yi izole etmişlerdir.

Bununla birlikte, incelenen tahıl bazlı olmayan ek gıdalar; toz formda olmayan, tüketime hazır ve kavanoz içerisinde satışa sunulan ürünlerdir. *E. sakazakii*'nin sadece toz formda ve sulandırılarak tüketilen tahıl bazlı ek gıdalarda tespit edilmiş olması, kavanoz içerisinde tüketime sunulan bebek gıdalarının prosesinden dolayı daha güvenli olduğunu da göstermektedir.

E. sakazakii infeksiyonları %10-80 oranında mortaliteye sahiptir (Lai 2001).

Ülkemizde de zaman zaman hastanelerde sebepsiz bebek ölümleri gerçekleşmektedir. Bu ölümlerin nedeni araştırılmadığı için, *E. sakazakii* infeksiyonu kaynaklı olup olmadığı bilinmemektedir. Organizmanın bebek mamalarında uzun süre canlı kalabilmesi, hastane ya da ev ortamlarında, mama hazırlama ekipmanlarında bulunduğu dair veriler, sebepsiz bebek ölümlerinin *E. sakazakii* infeksiyonları sebebiyle olabilme ihtimalini akla getirmektedir.

WHO/FAO tarafından *E. sakazakii* infeksiyonlarından korunmak için aşağıdaki öneriler getirilmiştir:

- Yeni doğan bebekler ilk 6 ay anne sütü ile beslenmelidir.

- Gereğinden fazla mama hazırlanmamalı, mümkünse her besleme zamanı geldiğinde gerektiği kadar mama hazırlanmalıdır.
- Mamaların hazırlanmasında kullanılan su kaynatılıp 70-90°C’lerde ürüne eklenmelidir.
- Kalan mama buzdolabında saklanmalı ve 24 saat içinde tüketilmelidir.
- Prematüre bebekler anne sütü yoksa toz mamalar yerine steril hazır mamalarla beslenmelidir.

Türk Gıda Kodeksi’nde ‘*E. sakazakii* aranması’ gerekliliği bebek ve devam formüllerinde mevcut olduğu halde, bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında bu şartın bulunmaması, ek gıdalardaki kontrolün yetersiz kaldığını göstermektedir. Yapılan bu çalışmada *E. sakazakii*’nin ek gıdalarda tespit edilmiş olması, ek gıdaların da *E. sakazakii* yönünden riskli olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’nde Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdalar için de ‘*E. sakazakii* aranması’ şartı getirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Anonim. (2008). Hürriyet gazetesi resmi web sitesi. Erişim: 08.09.2008. <http://arama.hurriyet.com.tr/arsivnews.aspx?id=9842705>
2. Arts, M. (2005). *Enterobacter sakazakii* in factories and household. *The Lancet*. **364**. 414–415.
3. Bar-Oz, B., Preminger, A., Peleg, O., Block, C. ve Arad, I. (2001). *Enterobacter sakazakii* infection in the newborn. *Acta Paediatrica*. **90**. 356-358.
4. Baumgartner, A., Grand, M., Liniger, M. ve Iversen, C. (2009). Detection and frequency of *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) in different categories of ready-to-eat foods other than infant formula. *International Journal of Food Microbiology*. **136**. 189-192.
5. Beuchat, L.R., Kim H., Gurtler, J.B., Lin, L.C., Ryu, J.H. ve Richards, G.M. (2009). *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth, and inactivation. *International Journal of Food Microbiology*. **136**. 204-213.
6. Bhat, G. K., Anandhi, R. S., Dhanya, V. C. ve Shenoy, S. M. (2009). Urinary tract infection due to *Enterobacter sakazakii*. *Indian Journal of Pathology Microbiology*. **52**. 430–431
7. Biering, G., Karlsson, S., Clark, N. C., Jonsdottir, K. E., Ludvigsson, P. ve Steingrimsson, O. (1989). Three Cases of Neonatal Meningitis Caused by *Enterobacter sakazakii* in Powdered Milk. *Journal of Clinical Microbiology*. **27**. 2054-2056.

8. Block, C., Peleg, O., Minster, N., Bar-Oz, B., Simhon, A., Arad, I. ve Shapiro, M. (2002). Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to Unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease*. **21**. 613-616.

9. Bowen, A. B. ve Braden, C. R. (2006). Invasive *Enterobacter sakazakii* disease in infants. *Emerging Infectious Diseases*. **12**. 1185-1189.

10. Breeuwer, P., Lardeau, A., Peterz, M. ve Joosten, H. M. (2003). Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Applied Microbiology*. **95**. 967-973.

11. Cawthorn D. M., Botha, S., Witthuhn, R.C. (2008). Evaluation of different methods for the detection and identification of *Enterobacter sakazakii* isolated from South African infant formula milks and the processing environment. *International Journal of Food Microbiology*. **127**. 129-38.

12. Chap, J., Jackson, P., Siqueira, R., Gaspar, N., Quintas, C., Park, J. ve ark. (2009). International survey of *Cronobacter sakazakii* and other *Cronobacter* spp. in follow up formulas and infant foods. *International Journal of Food Microbiology*. **136**. 185-188.

13. Chenu, J. W. ve Cox, J. M. (2009). *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*): Current status and future prospects. *Letters in Applied Microbiology*. **49**. 153-159.

14. Codex Alimentarius Commission. (2008). Code of Hygienic Practice for Powdered Formulae for Infants and Young Children. CAC/RCP 66-2008.

Erişim: 10.08.2011.
http://www.codexalimentarius.net/download/standards/11026/cxp_066e.pdf

15. Cruz, A. C., Fernandez, E., Salinas, E. ve Ramirez, P. (2004) Characterization of *Enterobacter sakazakii* isolated from different sources. Abstr. 104th Gen. Meet. Am. Soc. Microbial., abstr. Q – 051.

16. De Los AngelesMosso, M. D., Delarosa, M. D., Vivar, C. ve Medina, M. D. (1994). Heterotrophic bacterial populations in the mineral waters of thermal springs in Spain. *Journal of Applied Bacteriology*. **77**. 370–381.

17. Drudy, D., Mullane, N. R., Quinn, T., Wall, P. G., ve Fanning, S. (2006a). *Enterobacter sakazakii*: An emerging pathogen in powdered infant formula. *Food Safety*. **42**. 996-1002.

18. Drudy, D., O'Rourke, M., Murphy, M., Mullane, N. R., O'Mahony, R., Kelly, L. ve ark. (2006b). Characterization of a collection of *Enterobacter sakazakii* isolates from environmental and food sources. *International Journal of Food Microbiology*. **110**. 127-134.

19. Druggan, P. ve Iversen, C. (2009). Culture media for the isolation of *Cronobacter* spp. *International Journal of Food Microbiology*. **136**. 169-178

20. Dudley, D. J., Guentzel, M. N., Ibarra, M. J., Moore, B. E. ve Sagik, B. P. (1980). Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Applied and Environmental Microbiology*. **39**. 118–126.

21. Edelson-Mammel, S. G., Porteous, M. K. ve Buchanan, R. L. (2005). Survival of *Enterobacter sakazakii* in a dehydrated powdered infant formula. *Journal of Food Protection*. **68**. 1900–1902.
22. Farber, J. M. (2004). *Enterobacter sakazakii* new foods for thought. *The Lancet*. **363**. 5–6.
23. Farmer III, J.J., Asbury, M. A., Hickman, F. W., Brenner D. J. ve The *Enterobacteriaceae* Study Group. (1980). *Enterobacter sakazakii*: A new species of “*Enterobacteriaceae*” isolated from clinical specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **30**. 569-584.
24. Farmer, J. J., Davis, B. R., Hickman-Brenner, F. W., Mcwhorter, A., Huntley-Carter, G. P., Asbury, M. A. ve ark. (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. **21**. 46–76.
25. FDA (2002a). Health professionals letter on *Enterobacter sakazakii* infections associated with use of powdered (dry) infant formulas in neonatal intensive care units. Erişim 13 Ekim 2011, <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/inf-ltr3.html>.
26. FDA (2002b). *Isolation and enumeration of Enterobacter sakazakii from dehydrated powdered infant formula*. Erişim 15.09.2011, <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm114665>.
27. Friedemann, M. (2007). *Enterobacter sakazakii* in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *International Journal of Food Microbiology*. **116**. 1-10.

28. Grimm, M., Stephan, R., Iversen, C., Manzardo, G. G. G., Rattei, T., Riedel, K. ve ark. (2008). Cellulose and extracellular matrix component present in *Enterobacter sakazakii* biofilms. *Journal of Food Protection*. **71**. 13–18
29. Gurtler, J. B. ve Beuchat, L. R. (2005). Performance of media for recovering stressed cells of *Enterobacter sakazakii* as determined using spiral plating and ecometric techniques. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**. 7661–7669
30. Hamilton, J. V., Lehane, M. J. ve Braig, H. R. (2003). Isolation of *Enterobacter sakazakii* from midgut of *Stomoxys calcitrans*. *Emerging Infectious Disease*. **9**. 1355– 1356.
31. ISO / TS 22964 (2006). Milk and milk products – Detection of *Enterobacter sakazakii*. International Standard of Organization, İsviçre.
32. Iversen, C., Druggan, P., Schumacher, S., Lehner, A., Feer, C., Gschwend, K., Joosten, H., Stephan, R. (2008). Development of a novel screening method for the isolation of “*Cronobacter*” spp. (*Enterobacter sakazakii*). *Applied and Environmental Microbiology*. **74**. 2550-2553.
33. Iversen, C., Druggan, P. ve Forsythe, S. (2004a). A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. *International Journal of Food Microbiology*. **96**. 133-139.
34. Iversen, C., Lane, M. ve Forsythe, S. J. (2004b). The growth profile, thermotolerance, and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Letters in Applied Microbiology*. **38**. 378-382.

35. Iversen, C., Lehner, A., Fricker, C., Gschwend, K. ve Stephan, R. (2009). Genotyping of *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) strains isolated from an infant formula processing plant. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. **60**. 66–72.
36. Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Bidlas, E., Cleenwerck, I., Muragg, J. ve ark. (2007a). The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies I. *BMC Evolutionary Biology*. **7**. 1-11.
37. Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Marugg, J., Fanningi S., Stephan, R. ve ark. (2007b). Identification of “*Cronobacter*” spp. (*Enterobacter sakazakii*). *Journal of Clinical Microbiology*. **45**. 3814-3816.
38. Iversen, C. ve Forsythe, S. (2003). Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science & Technology*. **14**. 443-454.
39. Iversen, C. ve Forsythe, S. (2004) Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* from powdered infant formula and related products. *Food Microbiology*. **21**. 771-777.
40. Iversen, C. ve Forsythe, S. (2007). Comparison of media for the isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Applied and Environmental Microbiology*. **73**. 48–52.
41. Jöhler, S., Stephan, R., Hartmann, I., Kuehner, K.A., Lehner, A. (2010). Genes involved in yellow pigmentation of *Cronobacter sakazakii* ES5 and influence of

- pigmentation on persistence and growth under environmental stress. *Applied and Environmental Microbiology*. **76**. 1053–1061.
42. Joker, R. N., Norholm, T. ve Siboni, K. E. (1965). A case of neonatal meningitis caused by a yellow *Enterobacter*. *Danish Medical Bulletin*. **12**. 128-130.
43. Kandhai, M. C., Reij, M. W., Gorris, L. G. M., Guillaume-Gentil, O. ve Schothorst, M. V. (2004). Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food prouction environments and households. *The Lancet*. **363**. 39-40.
44. Kandhai, M. C., Reij, M. W., Grogno, C., Van Schothorst, M., Gorris, L. G. M. ve Zwietering, M. H. (2006). Effects of preculturing conditions on lag time and specific growth rate of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted powdered infant formula. *Applied and Environmental Microbiology*. **72**. 2721-2729.
45. Kandhai, M.C., Heuvelink, A.E. ,M.W. Reij, R.R. Beumer, R. Dijk, J.J.H.C. van Tilburg b, van Schothorst, M., Gorris L.G.M.. (2010). A study into the occurrence of *Cronobacter* spp. in The Netherlands between 2001 and 2005. *Food Control*. **21**. 1127–1136.
46. Kim, H. ve Beuchat, L. R. (2005). Survival and growth of *Enterobacter sakazakii* on fresh-cut fruits and vegetables and in unpasteurized juices as affected by storage temperature. *Journal of Food Protection*. **68**. 2541–2552
47. Kim, H., Ryu, J.H. ve Beuchat, L.R. (2006). Attachment of and biofilm formation by *Enterobacter sakazakii* on stainless steel and enteral feeding tubes. *Applied and Environmental Microbiology*. **72**. 5846–5856.

48. Kindle, G., Buse, A., Kampa, D., Meyer-Koenig, U. ve Daschner, F. D. (1996). Killing activity of microwaves in milk. *Journal of Hospital Infection*. **33**. 273-278.
49. Kleiman, M. B., Allen, S. D., Neal, P. ve Reynolds, J. (1981). Meningoencephalitis and compartmentalization of the cerebral ventricles caused by *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Clinical Microbiology*. **14**. 352-354.
50. Koluman, A. (2011). Çeşitli gıdalardan *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) izolasyon ve identifikasyonu. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. **6**. 16-19.
51. Köksal, G. ve Özel, H. (2008). *Bebek Beslenmesi*. Ankara: Klasmat Yayınevi.
52. Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C. ve Miller, T. A. (2001). Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera:Tephritidae). *Current Microbiology*. **42**. 290– 294
53. Lai, K. K. (2001). *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults: Case reports and a review of the literature. *Medicine*. **80**. 113–122.
54. Leclercq, A., Wanegue, C. ve Baylac, P. (2002). Comparison of fecal coliform agar and violet red bile lactose agar for fecal coliform enumeration in foods. *Applied and Environmental Microbiology*. **68**. 1631-1638.
55. Lehner, A. ve Stephan, R. (2004). Microbiological, epidemiological, and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Food Protection*. **67**. 2850–2857.

56. Lehner, A., Riedel, K., Eberel, L., Breeuwer, P., Diep, B. ve Stephan, R. (2005). Biofilm formation, extracellular polysaccharide production, and cell-to-cell signaling in various *Enterobacter sakazakii* strains: Aspects promoting environmental persistence. *Journal of Food Protection*. **68**. 2287–2294.
57. Leuschner, R. G. K., Baird, F., Donald, B., Cox, L. J. (2004). A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Food Microbiology*. **21**. 527–533.
58. Leuschner, R.G., Bew, J., 2004. A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula: interlaboratory study. *Journal of AOAC International*. **87**. 604–613.
59. Lin, L. C. ve Beuchat, L. R. (2007). Survival of *Enterobacter sakazakii* in infant cereal as affected by composition, ater activity, and temperature. *Food Microbiology*. **24**. 767-777.
60. Maffei, H.V.L. ve Nobrega, F.J. (1975). Gastric pH and microflora of normal and diarrhoeic infants. *Gut*. **16**. 719–726.
61. Mange, J.P., Stephan, R., Borel, N., Wild, P., Kim, K.S., Pospischil, A. ve Lehner, A. (2006). Adhesive properties of *Enterobacter sakazakii* to human epithelial and brain microvascular endothelial cells. *BMC Microbiology*. **6**. 58.
62. Molloy, C., Cagney, C., O'Brien, S., Iversen, C., Fanning, S., ve Duffy, G. (2009). Surveillance and characterization by pulsed-field gel electrophoresis of *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) in farming and domestic environments, food production animals and etail foods *International Journal of Food Microbiology*, **136**. 198-203.

63. Monroe, P. W. ve Tift, W. L. (1979). Bacteremia associated with *Enterobacter sakazakii* (yellow pigmented *Enterobacter cloacae*). *Journal of Clinical Microbiology*. **10**. 850-851.
64. Mullane, N. R., Drudy, D., Whyte, P., O'Mahony, M., Scannell, A. G. M., Wall, P. G. ve ark. (2006). *Enterobacter sakazakii*: Biological properties and significance in dried infant milk formula (IMF) powder. *International Journal of Dairy Technology*. **59**. 102-111.
65. Muijtjens, H. L., Zanen, H. C., Sonderkamp, H. J., Kollee, L. A., Wachsmuth, I. K. ve Farmer, J. J. (1983). Analysis of eight cases of neonatal meningitis and sepsis due to *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Clinical Microbiology*. **18**. 115-120.
66. Muijtjens, H. L., Van Der Rose-Van Der Repe, J. ve Van Druten, H. A. M. (1984). Enzymatic profile of *Enterobacter sakazakii* and related species with special reference to the α -glucosidase reaction and reproducibility of the test system. *Journal of Clinical Microbiology*. **20**. 684-686.
67. Muijtjens, H. L., Roelofs-Willems, H. ve Jaspar, G.H. (1988). Quality of powdered substitutes for breakfast milk with regard to members of the family *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*. **26**. 743-746.
68. Muijtjens, H. L. ve Kollee, L. A. (1990). *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates: Causative role of formula. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. **9**. 372-373.
69. Nazarowec-White, M., ve Farber, J. M. (1997a). *Enterobacter sakazakii*: a review. *International Journal of Food Microbiology*. **34**. 103-113.

70. Nazarowec-White, M. ve Farber, J. M. (1997b). Incidence, survival, and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Journal of Food Protection*. **60**. 226–230.
71. Nazarowec-White, M., ve Farber, J. M. (1997c). Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Letters in Applied Microbiology*. **24**. 9-13.
72. Noriega, F. R., Kotloff, K. L., Martin, M. A. ve Schwalbe, R. S. (1990) Nosocomial bacteremia caused by *Enterobacter sakazakii* and *Leuconostoc mesenteroides* resulting from extrinsic contamination of infant formula. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. **9**. 447-449.
73. Oonaka, K., Furuhashi, K., Hara, M. ve Fukuyama, M. (2010). Powder infant formula milk contaminated with *Enterobacter sakazakii*. *Japanese Journal of Infectious Disease*. **63**. 103–107.
74. Pagotto, F. J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S. ve Farber, J. M. (2003). *Enterobacter sakazakii*: Infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *Journal of Food Protection*. **66**. 370–375.
75. Pitout, J. D., Moland, E. S., Sanders, C. C., Thomson, K. S. ve Fitzsimmons, S. R. (1997). Beta-lactamases and detection of beta-lactam resistance in *Enterobacter* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **41**. 35-39.
76. Polat, G. ve Halkman, A.K. (2007). Bebek mamalarında *Enterobacter sakazakii* ve önemi. *Gıda*. **32**. 151-161.

77. Ray, P., Das, A., Gautam, V., Jain, N., Narang, A. ve Sharma, M. (2007). *Enterobacter sakazakii* infections: Novel phenomenon in India. *Indian Journal of Medical Microbiology*. **25**. 408–410.
78. Restaino, L., Frampton, E. W., Lionberg, W. C. ve Becker, R. J. (2006). A chromogenic plating medium for the isolation and identification of *Enterobacter sakazakii* from foods, food ingredients, and environmental sources. *Journal of Food Protection*. **69**. 315–322.
79. Riedeli K. ve Lehner A. (2007). Identification of proteins involved in osmotic stress response in *Enterobacter sakazakii* by proteomics. *Proteomics*. **7**. 1217–1231.
80. Ries, M., Harms, D. ve Scharf, J. (1994). Multiple cerebral infacts with resulting multicystic encephalomalacia in a premature infant with *Enterobacter sakazakii* meningitis. *Klin Pediatr*. **206**. 184-186.
81. Seo, K.H. ve Brackett, R. E. (2005). Rapid, specific detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula using a real-time PCR assay. *Journal of Food Protection*. **68**. 59–63.
82. Shadlia-Matug, M., Aidoo, K. E., Candlish, A. A. ve Elgerbi, A.M. (2008). Evaluation of some antibiotics against pathogenic bacteria isolated from infant foods in North Africa. *Open Food Science Journal*. **2**. 95–101.
83. Shaker, R., Osaili, T., Al-Omary, W., Jaradat, Z. ve Al-Zuby, M. (2007). Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter sp.* from food and food production environments. *Food Control*. **18**. 1241–1245.

84. Shaker, R. R., Osaili, T. M., Al-Hasan, A. A. A., Ayyash, M. M. ve Forsythe, S. J. (2008). Effect of desiccation, starvation, heat, and cold stresses on the thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant milk formula. *Journal of Food Science*. **73**.
85. Simmons, B. P., Gelfand, M. S., Haas, M., Metts, L. ve Ferguson, J. (1989). *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. **10**. 398–401.
86. Soriano, J. M., Rico, H., Molto, J. C., ve Manes, J. (2001). Incidence of microbial flora in lettuce meat and Spanish potato omelette from restaurants. *Food Microbiology*. **18**. 159-163.
87. Turcovsky, I., Kunikova, K., Drahovska, H., Kaclikova, E. (2011). Biochemical and molecular characterization of *Cronobacter* spp. (formerly *Enterobacter sakazakii*) isolated from foods. *Antonie van Leeuwenhoek*. **99**. 257–269.
88. TGK Yönetmeliği (2007). Türk Gıda Kodeksi, Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdaları Tebliği, 2007/50. T.C. Resmi Gazete 01.11.2007, Sayı: 26687.
89. TGK Yönetmeliği (2008). Türk Gıda Kodeksi, Bebek Formülleri Tebliği, 2008/52. T.C. Resmi Gazete 04.09.2008, Sayı: 26987.
90. TGK Yönetmeliği (2008). Türk Gıda Kodeksi, Devam Formülleri Tebliği, 2008/53. T.C. Resmi Gazete 04.09.2008, Sayı: 26987.
91. TGK Yönetmeliği (2011). Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete 29.12.2011, Sayı: 28157.

92. TÜİK (2011). *İstatistiki Bölge Birimleri Sınıflaması ve aya göre doğumlar*. Erişim 05.09.2011, http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=1270.
93. Urmeyni, A. M. C. ve Franklin, A. W. (1961). Neonatal death from pigmented coliform infection. *The Lancet*. **1**. 313-315.
94. Van Acker, J., Smet, F. D., Muyldermans, G., Bougatef, A., Naessens, A. ve Lauwers, S. (2001). Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *Journal of Clinical Microbiology*. **39**. 293-297.
95. WHO ve FAO (2004, Şubat). *Enterobacter sakazakii and other microorganisms in powdered infant formula: Meeting report*. Microbiological Risk Assessment Series 6. Erişim 06.08.2011, <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/es.pdf>.
96. Willis, J. ve Robinson, J. E. (1988). *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates. *Journal of Pediatric Infection and Disease*. **7**. 196-199.
97. Zhou, X. F., Fu, S. Z., Gao, J. X. ve Chen, H. Y. (2011). *Enterobacter sakazakii*: an emerging foodborne pathogenic bacterium. *Annals of Microbiology*.
98. Zink, D. (2003). Powdered Infant Formula: An Overview of Manufacturing Processes. U.S. Food and Drug Administration, Office of Plant and Dairy Foods and Beverages, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Erişim: 19.09.2011. <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/es.pdf>.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Burcu	Soyadı	Çakmak
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	12.08.1981
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	28696581948
Email	burcu.cakmak@gmail.com	Tel	0532 688 34 57

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İ.Ü. Veteriner Fakültesi	2003
Lise	Ataköy Cumhuriyet Lisesi	1997

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Mikrobiyoloji Lab. Sorumlusu	AGROLAB Gıda Laboratuvarı	2004-2007
2.	Laboratuvar Müdür Yard.	AGROLAB Gıda Laboratuvarı	2007-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi	60	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Sistemleri	İyi
Windows 2000, XP, 7	İyi
Internet Applications	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Yüzme, Sinema, Kitap, Fitness