

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜT ÜRÜNLERİ VE BEBEK MAMALARINDA *ENTEROBACTER
SAKAZAKİİ* (*CRONOBACTER* SPP.) VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI
VE GELİŞMESİNE SICAKLIK VE ŞEKER ÇEŞİTLERİNİN ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ
Gözde DALKILIÇ KAYA**

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği

Programı : Gıda Mühendisliği

ŞUBAT 2011

SÜT ÜRÜNLERİ VE BEBEK MAMALARINDA *ENTEROBACTER SAKAZAKII* (*CRONOBACTER SPP.*) VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI VE GELİŞMESİNE SICAKLIK VE ŞEKER ÇEŞİTLERİNİN ETKİSİ

**DOKTORA TEZİ
Gözde DALKILIÇ KAYA
(506032503)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27 Aralık 2010

Tezin Savunulduğu Tarih : 18 Şubat 2011

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Dilek HEPERKAN(İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Onur DEVRES (İTÜ)
Prof. Dr. Emine U. ÇOKGÖR (İTÜ)
Prof. Dr. Gülden Z. OMURTAG (MÜ)
Yrd. Doç. Dr. Nevin Gül KARAGÜLER
(İTÜ)**

ŞUBAT 2011

Babam Ceyhan Dalkılıç'ın anısına,

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim boyunca araştırmamın düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi sırasında maddi, manevi desteklerini esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Dilek HEPERKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora yolculuğumda beni her zaman destekleyen kızım Zeynep Ece KAYA, eşim Serhat KAYA, annem İnci DALKILIÇ, ablam Hande DAVER ve tez çalışmam esnasında kaybettiğimiz babam Ceyhan DALKILIÇ başta olmak üzere tüm aileme bu süreçteki yardımları ve anlayışlarından ötürü teşekkür ederim.

Çevre Analiz Laboratuvarı Teknik Müdürü Sayın Doç. Dr. Aysun YILMAZ'a analizlerde Çevre Laboratuvar'ının imkanlarını kullanmama olanak sağlaması ve DUPONT Türkiye firmasından Sayın Bilgehan SÜER'e tez çalışmamda kullanmak üzere PZR test kitlerini sağlaması nedeniyle teşekkür ederim. İ.T.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Funda Karbancıoğlu GÜLER'e, ve Öğr. Gör. Dr. Ebru F. DURMUŞ'a da tez çalışmam esnasında gösterdikleri destek ve dostlukları sebebiyle teşekkürü bir borç bilirim.

Aralık 2010

Gözde Dalkılıç Kaya

Yüksek Mühendis

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ	1
2. BEBEK MAMASI.....	3
2.1 Bebek Maması Tanımı Ve Genel Özellikleri.....	3
2.2 Bebek Mamasının Ekonomik Önemi	5
2.3 Bebek Maması Üretimi.....	6
2.3.1 Islak proses işlemleri	8
2.3.2 Kuru proses işlemleri.....	9
2.4 Bebek Maması İle İlgili Mikrobiyolojik Kriterler.....	10
3. <i>ENTEROBACTER SAKAZAKII (CRONOBACTER SPP.)</i>	15
3.1 <i>E. sakazakii</i> 'nin Genel Özellikleri.....	15
3.1.1 <i>E.sakazakii</i> 'nin ısı direnci.....	18
3.2 <i>E. sakazakii</i> 'nin Sağlık Üzerine Etkileri.....	20
3.3 <i>E. sakazakii</i> 'nin Antimikrobiyal Direnci	22
3.4 <i>E. sakazakii</i> 'nin Gıdalarda Bulunma Sıklığı Ve Kontaminasyon Kaynakları..	23
3.5 <i>E. sakazakii</i> Analiz Yöntemleri.....	25
4. MATERYAL VE METOT	31
4.1 Çalışmada Kullanılan Materyal.....	31
4.2 <i>Enterobacter sakazakii</i> Analizi	31
4.2.1 Örneklerden izole edilen <i>E. sakazakii</i> suşlarının saklanması	33
4.3 Örneklerin Mikrobiyal Yükünün Belirlenmesi	34
4.3.1 Enterobacteriaceae analizi	34
4.3.2 Mezofilik aerobik bakteri analizi	35
4.3.3 Koliform ve <i>Escherichia coli</i> analizi.....	35
4.3.4 <i>Staphylococcus aureus</i> analizi	36
4.3.5 <i>Listeria monocytogenes</i> analizi	37
4.3.6 <i>Salmonella</i> analizi	38
4.3.7 Küf ve maya analizi	38
4.4 D Değerlerinin Belirlenmesi	39
4.5 Z Değerlerinin Belirlenmesi	40
4.6 Farklı Şeker Çeşidi Ve Şeker Konsantrasyonlarında Gelişim Koşullarının Belirlenmesi.....	40
4.7 İstatistiksel Analiz	41
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	43

5.1 Örneklerde <i>E. sakazakii</i> (<i>Cronobacter</i> spp.) Varlığının Araştırılması	43
5.2 Örneklerdeki Mikrobiyolojik Analizlere Ait Bulgular	50
5.3 <i>E. sakazakii</i> (<i>Cronobacter</i> spp.) Suşlarının D Değerlerine Ait Bulgular	54
5.4 <i>E. sakazakii</i> (<i>Cronobacter</i> spp.) Suşlarının Z Değerlerine Ait Bulgular	58
5.5 <i>E. sakazakii</i> Suşlarının Gelişimine Şeker Çeşitleri Ve Konsantrasyonunun Etkisi	61
6. SONUÇLAR	87
KAYNAKLAR.....	91
EKLER	101
ÖZGEÇMİŞ.....	179

KISALTMALAR

A.B.	: Avrupa Birliği
A.B.D.	: Amerika Birleşik Devletleri
ALOA	: Ottoviani ve Agosti agar
a_w	: Su aktivitesi
BGLB	: Brillant green lactose bile broth
BGPRA	: Brillant green phenol red agar
BHI	: Beyin-kalp infüzyon
BP	: Baird parker
CAC	: Codeks Alimentarius Commision
CIP	: Etkili yerinde temizleme prosedürleri
CSB	: <i>Cronobacter</i> screening broth
DFI	: Druggan, Forsythe ve Iversen
DG18	: Dichloran %18 glycerol
EC	: Avrupa Komisyonu
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenlik Kurumu
EMS	: En muhtemel sayı
FAO	: Food and Agriculture Organization
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
ICMSF	: International Commision on Microbiological Specification for Food
IDF	: International Dairy Federation
ISO	: International Organization for Standardization
KKN	: Kritik kontrol noktası
Kob	: Koloni oluşturan birim
LST	: Lauryl tryptose broth
MIC	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MID	: Minimum infeksiyon dozu
MKTTn	:Muller-kauffmann tetrathionate novobiocin broth
mLST	: Modifiye lauryl sulfate trptose
NEC	: Nekrotizan enterokolit
O.D	: Optik yoğunluk
PCA	: Plate count agar
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RV	: Rappaport vassiliadis
TSA	: Triptik soy agar
VRBD	: Violet red bile dextrose
VRBG	: Violet red bile glucose
WHO	: World Health Organization
XLD	: Xylose lysine deoxycholate agar

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Dünya'daki bebek besinlerinin perakende hacmi.....	5
Çizelge 2.2 : Türkiye'deki bebek besinlerinin perakende hacmi.....	6
Çizelge 2.3 : Toz bebek formülleri için yayınlanmış mikrobiyolojik kriterler.....	10
Çizelge 2.4 : Toz bebek formülleri için farklı ülkelerde uygulanan mikrobiyolojik kriterler.....	13
Çizelge 2.5 : Türkiye'de bebek maması ile ilgili mikrobiyolojik kriterler.....	14
Çizelge 3.1 : <i>Enterobacter</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	16
Çizelge 3.2 : <i>E. sakazakii</i> 'nin literatürde belirtilen D ve Z değerleri.....	19
Çizelge 3.3 : Dünya çapında bebek ve yeni doğanlarda meydana gelen <i>E. sakazakii</i> enfeksiyonları.....	21
Çizelge 3.4 : <i>E. sakazakii</i> analizinde kullanılabilecek kromojenik agarlar	27
Çizelge 4.1 : Örneklerin çeşidi ve sayısı.....	31
Çizelge 4.2 : D değerlerinin hesaplanmasında kullanılan örneklemme işlemlerinin zaman aralıkları.....	40
Çizelge 5.1 : <i>E. sakazakii</i> açısından incelenen örneklerin analiz sonuçları.....	44
Çizelge 5.2 : Örneklerdeki <i>E. sakazakii</i> sayısı.....	50
Çizelge 5.3 : Mama hammaddelerindeki Enterobacteriaceae ve <i>E. sakazakii</i> varlığının yıllara göre dağılımı	52
Çizelge 5.4 : <i>E. sakazakii</i> açısından pozitif olan örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	53
Çizelge 5.5 : <i>E. sakazakii</i> suşlarına ait D değerlerinin hesaplanmasında kullanılan termal inaktivasyon eğrilerinin eğim ve R^2 değerleri.....	54
Çizelge 5.6 : <i>E. sakazakii</i> suşlarının farklı sıcaklıklarda elde edilen D değerleri.....	55
Çizelge 5.7 : <i>E. sakazakii</i> suşlarına ait Z değerlerinin hesaplanmasında kullanılan eğrilerin eğim ve R^2 değerleri.....	59
Çizelge 5.8 : <i>E. sakazakii</i> suşlarının Z değerleri.....	60
Çizelge 5.9 : 1 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	63
Çizelge 5.10 : 2 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	66
Çizelge 5.11 : 3 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	69
Çizelge 5.12 : 4 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	72
Çizelge 5.13 : 5 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	74
Çizelge 5.14 : 6 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	77
Çizelge 5.15 : 7 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	79
Çizelge 5.16 : 8 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.....	82
Çizelge A.1 : 52°C'deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.....	101
Çizelge A.2 : 54°C'deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.....	102
Çizelge A.3 : 56°C'deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.....	103
Çizelge A.4 : 58°C'deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.....	104
Çizelge A.5 : 60°C'deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.....	105
Çizelge A.6 : Suşların farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi	146

Çizelge A.7 : Z değerlerine ait varyans analiz çizelgesi.	155
Çizelge A.8 : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri	156
Çizelge A.9 : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.	172

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Bebek maması üretiminin temel basamakları.	7
Şekil 4.1 : Dupont Qualicon BAX Q7 cihazı.	32
Şekil 4.2 : Stat Fax marka elisa reader cihazının görüntüsü.	41
Şekil 5.1 : <i>E. sakazakii</i> açısından incelenen örneklerin çeşitleri ve sayıları.	43
Şekil 5.2 : DFI agarda tipik <i>E. sakazakii</i> kolonilerinin görüntüsü	47
Şekil 5.3 : 1 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	61
Şekil 5.4 : 1 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	62
Şekil 5.5 : 1 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi	62
Şekil 5.6 : 1 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	63
Şekil 5.7 : 2 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	64
Şekil 5.8 : 2 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	65
Şekil 5.9 : 2 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	65
Şekil 5.10 : 2 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	66
Şekil 5.11 : 3 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	67
Şekil 5.12 : 3 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	67
Şekil 5.13 : 3 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	68
Şekil 5.14 : 3 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	69
Şekil 5.15 : 4 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	70
Şekil 5.16 : 4 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	70
Şekil 5.17 : 4 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	71
Şekil 5.18 : 4 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	71
Şekil 5.19 : 5 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	72
Şekil 5.20 : 5 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	73
Şekil 5.21 : 5 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	73
Şekil 5.22 : 5 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	74
Şekil 5.23 : 6 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	75
Şekil 5.24 : 6 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	75
Şekil 5.25 : 6 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	76
Şekil 5.26 : 6 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	76
Şekil 5.27 : 7 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	77
Şekil 5.28 : 7 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	78
Şekil 5.29 : 7 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	78
Şekil 5.30 : 7 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	79
Şekil 5.31 : 8 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	80
Şekil 5.32 : 8 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	80
Şekil 5.33 : 8 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	81
Şekil 5.34 : 8 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.	81
Şekil 5.35 : 8 adet <i>E. sakazakii</i> suşunun %0,25 şeker konsantrasyonu içeren TSB'de 24. saatteki optik yoğunlukları	82
Şekil 5.36 : 8 adet <i>E. sakazakii</i> suşunun %0,5 şeker konsantrasyonu içeren TSB'de 24. saatteki optik yoğunlukları	83

Şekil 5.37 : 8 adet <i>E. sakazakii</i> suşunun %1 şeker konsantrasyonu içeren TSB’de 24. saatteki optik yoğunlukları.....	84
Şekil 5.38 : 8 adet <i>E. sakazakii</i> suşunun %5 şeker konsantrasyonu içeren TSB’de 24. saatteki optik yoğunlukları.....	85
Şekil A.1 : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.....	106
Şekil A.2 : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler	147

SÜT ÜRÜNLERİ VE BEBEK MAMALARINDA *ENTEROBACTER SAKAZAKII* (*CRONOBACTER* SPP.) VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI VE GELİŞMESİNE SICAKLIK VE ŞEKER ÇEŞİTLERİNİN ETKİSİ

ÖZET

Bebek beslenmesinde anne sütünün verilemediği veya yetersiz olduğu durumlarda alternatif olarak, besin değeri ve bileşenlerinin bebeğin yaşamının ilk aylarındaki beslenme ihtiyaçlarını karşılayacak formülasyona sahip mamalar kullanılmaktadır. Türkiye'nin bebek besini tüketimi dünyada üretilen bebek besinlerinin %1'ini oluşturmaktadır.

Bebek mamaları steril ürünler değildir ve çeşitli patojen mikroorganizmaları içerebilmektedirler. Kaynağı tam olarak bilinmemekle beraber bazı durumlarda toz bebek mamalarında düşük konsantrasyonlarda (<1 kob/g) *E. sakazakii* kontaminasyonu görülmektedir. *E. sakazakii*'nin toz halindeki bebek mamalarında bulunması bebek sağlığını tehdit ettiğinden önem taşımaktadır.

Enterobacter sakazakii, Enterobacteriaceae familyasına ait Gram negatif, sporsuz, hareketli, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde bir bakteridir. Yeni doğanlarda menenjit (beyin zarının iltihabı), sepsisemi (kan zehirlenmesi) ve nekrotizan enterekolite (doku ölümüne sebep olan ince ve kalın bağırsak iltihabı) sebep olmaktadır. %40-80 gibi yüksek orandaki ölüm oranı ve sağ kalanlarda devam eden nörolojik hastalıklar sebebiyle önemli bir fırsatçı patojendir. Isıl direnci yüksek olmasına rağmen pastörizasyon işlemi ile inhibe edilebilmektedir. Türk Gıda Kodeksi'nde bebek maması formülleri ve devam formüllerinde *E. sakazakii* analizi yapılması zorunluluğu bulunmaktadır.

Bu çalışmanın ilk aşamasında piyasa ve üreticilerden temin edilen bebek maması ve hammaddelerinde kültürel ve moleküler yöntemler ile *E. sakazakii* varlığı araştırılmış, ikinci aşamada örneklerden izole edilen *E. sakazakii* suşlarının ısıl dirençlerini gösteren D ve Z değerleri belirlenmiş, son aşamada ise farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonunun *E. sakazakii* suşlarının gelişimine olan etkisi incelenmiştir.

2008 ve 2009 yıllarında piyasadan ve üreticilerden temin edilen toplam 114 adet formül mama ve süt ürünü örneğinde *E. sakazakii* varlığı kültürel yöntem ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) prensibi ile çalışan Dupont BAX sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Analizi yapılan 114 gıda örneğinden 7'si (% 6,14) *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur. Son ürün olarak kullanılan 40 adet formül bebek mamasının 1'inde, 15 ek besinin ise 1'inde *E. sakazakii* tespit edilmiştir. 25 adet süt tozunun 3'ü, 15 adet peynir altı suyu tozunun 2'si *E. sakazakii* içermektedir. Kültürel yöntem ve PZR yöntemi ile aynı sonuçlar elde edilmiştir. *E. sakazakii* konsantrasyonunun 3 adet süt tozu örneğinde $1,5 \times 10^1$, $1,1 \times 10^1$ ve $2,1$ EMS/g olduğu, 2 adet peynir altı suyu tozu örneğinde 7,1 ve 2,1 EMS/g olduğu ve 2 adet bebek maması örneğinde 0,74 ve 0,72 EMS/g arasında olduğu tespit edilmiştir.

Örneklerden izole edilen 7 farklı suşun ve referans kültür koleksiyonundan temin edilen ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* suşunun 52°C, 54°C, 56°C, 58°C ve 60°C'deki D değerlerini ve Z değerleri belirlenmiştir. 52°C'deki D değerleri 10,58 dk. ile 36,02 dk., 54°C'deki D değerleri 4,41 dk. ile 7,86 dk., 56°C'deki D değerlerinden 3,21 dk. ile 5,83 dk., 58°C'deki D değerleri 1,28 dk. ile 3,67 dk. ve son olarak 60°C'deki D değerleri 0,87 dk. ile 1,54 dk. arasında değişmektedir. 5 suşun D₅₈ ve D₆₀ değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) farklılık bulunmamıştır.

Çalışmada elde edilen Z değerleri 5,24°C ile 8,39°C arasında değişmektedir. 1 nolu suş ile 7 nolu suşun ve 3 nolu suş ile 4 nolu suşun Z değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) farklılık bulunmamaktadır.

Bebek mamalarının bileşiminde bulunan glikoz, fruktoz, laktoz ve sakkaroz'un ve bu şekerlerin farklı konsantrasyonlarının (%0,25, %0,5, %1 ve %5) *E. sakazakii* gelişimine olan etkisi incelendiğinde şeker konsantrasyonunun artmasının *E. sakazakii*'nin gelişimini arttırdığı belirlenmiştir. İncelenen şeker çeşitlerinden fruktozun %5'lik konsantrasyonunun 5 suşun gelişimini en yüksek ölçüde etkilediği belirlenmiştir.

OCCURRENCE OF *ENTEROBACTER SAKAZAKII* (*CRONOBACTER* SPP.) IN DAIRY PRODUCTS AND BABY FOOD AND EFFECT OF TEMPERATURE AND SUGAR TYPES ON GROWTH

SUMMARY

For infant nutrition, when breast milk can not be fed or inadequate, baby foods which has nutritional value and formulation that supplies ingredients for the needs of baby during their first months can be used as an alternative. The consumption of baby foods in Turkey is 1% of total world consumption.

Baby foods are not sterile products and may contain several pathogen microorganisms. Although the source is unknown, in some situations there can be contamination of *Enterobacter sakazakii* seen in low concentrations (<1 cfu/g) in powder baby foods. *E. sakazakii* is an important bacteria due to contamination in powder baby food is life threatening.

E. sakazakii is a Gram negative, non-spore-forming, motile, facultative anaerobe, rod shaped bacteria and belongs to Enterobacteriaceae family. It causes meningitis (infection of cerebral cortex), sepsis (septicaemia), and necrotizing enterocolitis (infection of small and large intestine that cause tissue death) at newborn babies. It is an important opportunistic pathogen due to high death rates 40-80% and following neurologic diseases at survivors. Although its high thermal resistance, *E. sakazakii* could be inhibited by pasteurization process. It is an obligation to make *E.sakazakii* analysis at infant formula milk and follow-up formulas in Turkish Food Codex.

At the first stage of this study, occurrence of *E.sakazakii* were examined in baby foods and raw materials which were collected from market and producers and at second stage, D and Z values which shows thermal resistance of *E.sakazakii* strains that isolated from samples were determined, and at final stage, effects of different sugar types and concentrations on growth of *E.sakazakii* strains were examined.

In year 2008 and 2009, total 114 samples of formula baby food and milk products, which were collected from the market and producers, were examined for presence of *E.sakazakii* by cultural methods and Dupont BAX system which runs according to polymerase chain reaction (PCR) principles. There were 7 out of 114 (6,14%) food samples were found positive for presence of *E.sakazakii*. *E.sakazakii* was found in 1 out of 40 infant formulae and 1 out of 15 additional baby food which both were used as final products. Also in 3 out of 25 milk powder and 2 out of 15 whey powder contained *E. sakazakii*. The same results were achieved by cultural method and PCR method. It was observed that *E.sakazakii* concentrations were $1,5 \times 10^1$, $1,1 \times 10^1$ and 2,1 MPN/g in 3 samples of milk powder, 7,1 and 2,1 MPN/g in 2 samples of whey powder and 0,74 and 0,72 MPN/g in 2 baby food samples.

The D and Z values of 7 different *E. sakazakii* strains, which were isolated from samples, and of ATCC 51329 coded *E. sakazakii* strain, which were obtained from reference culture collection, were determined at 52°C, 54°C, 56°C, 58°C ve 60°C. D values for 52°C, were between 10,58 min. and 36,02 min., for 54°C were between

4,41 min. and 7,86 min., for 56°C were between 3,21 min. and 5,83 min., for 58°C were between 1,28 min. and 3,67 min. and finally D values for 60°C, were between 0,87 min. and 1,54 min. There were no significant difference ($p < 0,05$) between D_{58} and D_{60} values of 5 strains.

Z values obtained from the study varies between 5,24 C and 8,3 °C. Z values of strain no. 1 and no.7 and also strain no.3 and no.4 were not significantly different ($p < 0,05$).

When the effects of glucose, fructose, lactose and sucrose found in of baby food compositions and different concentrations of these sugar types (0,25%, 0,5%, 1% and 5%) were examined for the growth of *E. sakazakii*, it was found that the raise of sugar concentration increases the growth of *E. sakazakii*. One of the sugar types of 5% concentration namely fructose was found to be affecting the highest extend among these 5 strains.

1. GİRİŞ

Bebek beslenmesinde anne sütünün verilemediği durumlarda alternatif olarak, besin değeri ve bileşenleri açısından bebeğin doğumdan sonraki ilk aylardaki beslenme ihtiyaçlarını karşılayacak formülasyona sahip mamalar kullanılmaktadır (Cordier, 2008). Dünya’da 2010 yılında 6179,2 ton bebek besini üretilmiştir. Türkiye’nin bebek besini tüketimi dünyada üretilen bebek besinlerinin %1’ini oluşturmaktadır (Anon, 2010a).

Bebek mamaları steril ürünler değildir ve çeşitli patojen mikroorganizmaları içerebilmektedirler. Patojen bakterilerden birisi olan *E. sakazakii*’nin toz halindeki bebek mamalarında bulunması bebek sağlığını tehdit ettiğinden önem taşımaktadır. Bu bakteriye ayrıca peynir, fermente ekmek, tofu, fermente et ürünleri, su gibi çok farklı gıda gruplarında da rastlanmaktadır (Friedemann, 2007).

Enterobacter sakazakii, Enterobacteriaceae familyasına ait Gram negatif, sporsuz, hareketli, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde bir bakteridir (Seo and Brackett, 2005). Isıl direnci yüksek olmasına rağmen pastörizasyon işlemi ile inhibe edilebilmektedir. Kaynağı tam olarak bilinmemekle beraber bazı durumlarda toz bebek mamalarında düşük konsantrasyonlarda (<1 kob/g) *E. sakazakii* kontaminasyonu görülmektedir (Breeuwer ve diğ., 2003; Iversen ve Forsythe, 2003). *E. sakazakii* 70°C üzerindeki sıcaklıklarda canlılığını yitirmesine rağmen bebek maması üretiminde yer alan sprey kurutma prosesinde giderilememektedir (Nazorowec-White ve Farber, 1997a; Arku ve diğ., 2008).

E. sakazakii özellikle prematüre yeni doğanlar ve bebeklerde menenjit ve bağırsaklarda iltihaba sebep olmaktadır. Bebeklerde yüksek orandaki ölüm oranı ve sağ kalanlarda devam eden nörolojik hastalıklar sebebiyle önemli bir fırsatçı patojendir. Bakteri, 2002 yılında ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Food) tarafından kronik veya uzun süre etkili, hayatı tehdit eden, belirli bir kesim için aşırı tehlikeli sınıflandırması yapılan *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* tip A, B, *Cryptosporidium parvum* ile aynı sınıfa dahil edilmiştir. (Breeuwer ve diğ., 2003; Iversen ve Forsythe, 2003). 2008 ve

2009 yıllarında Türk Gıda Kodeksi'nde yapılan değişiklikler ile bebek maması formülleri ve devam formüllerinde *E. sakazakii* analizi yapılması zorunluluğu getirilmiştir.

2007 yılında *E. sakazakii* olarak tanımlanan 210 suşun DNA profilleri ve fenotipik özellikleri incelenerek bu bakterinin taksonomik sınıflandırmasında değişiklik yapılması önerilmiş ve *Cronobacter* adında yeni bir cins ve 6 tür tanımlanmıştır (Iversen ve diğ., 2007a; Iversen ve diğ., 2008a). Günümüz bilimsel literatüründe, bakteri tanımlanırken hem *Cronobacter* spp. hem de *E. sakazakii* ismi kullanılmaktadır (FAO ve WHO, 2008).

D değeri mikroorganizmaların %90'ının belirli sıcaklıkta inhibe edilmesi için gereken süre olarak tanımlanmıştır. Isıl işlem uygulanan gıdalarda D değeri inhibe edilmesi istenen hedef mikroorganizmaların belirli sıcaklıkta ne kadar süre ile işlem görmesi gerektiğini gösteren önemli bir parametredir. Z değeri ise D değerinde 1 log azalma sağlamak için gerekli olan sıcaklığın artışını ifade etmektedir (Juneja ve Marks, 2003). Literatürde *E. sakazakii*'nin D değerlerinin belirlendiği bir çok çalışma mevcuttur. Farklı suşların D ve Z değerleri arasında farklılıklar gözlenmiştir (Abdullah-Sani, 2009).

E. sakazakii'nin gelişmesine etki eden faktörlerden birisi de karbonhidratlardır, ortamda çeşitli karbonhidratlar bulunduğunda *E. sakazakii*'nin gelişmesinin arttığı belirtilmektedir (Sanjaq ve Fischer, 2006). Ancak literatürde farklı şeker çeşit ve konsantrasyonlarının incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışma üç aşamadan meydana gelmektedir. İlk aşamada, piyasa ve üreticilerden temin edilen bebek maması ve hammaddelerinde kültürel ve moleküler yöntemler ile *E. sakazakii* varlığı araştırılmıştır. İkinci aşamada örneklerden izole edilen *E. sakazakii* suşlarının ısı dirençlerini gösteren D ve Z değerleri belirlenmiş, son aşamada ise farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonunun *E. sakazakii* suşlarının gelişimine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. BEBEK MAMASI

2.1 Bebek Maması Tanımı Ve Genel Özellikleri

Anne sütü, yenidoğan bebeklerin beslenmesi için en iyi besin kaynağıdır. Anneler bebeğini emziremediğinde veya yeterli miktarda anne sütü olmadığında, bebek mamaları uygun bir alternatif oluşturmaktadır. Bebek mamalarının kısmen veya tamamen anne sütünün yerini alması amaçlanır, bu nedenle besin değeri ve bileşenlerinin bebeğin yaşamının ilk aylarındaki beslenme ihtiyaçlarını karşılayacak formülasyona sahip olması gerekmektedir. Anne sütü, bebek maması formüllerinin geliştirilmesi ve formülasyonu için “altın standart” olarak kabul edilmiştir. Beslenme, tıp ve pediatri bilimlerinde ve gıda işleme teknolojisinde elde edilen gelişmelerden yararlanılarak zaman içerisinde bebek maması formülasyonları geliştirilmiştir (Cordier, 2008).

İlk bebek maması üretimi 1860 yılında Henri Nestle tarafından İsviçre’de çalışan annelerin bebeklerin beslenmesi ile yeterince ilgilenememesi sonucu artan ölüm oranları sebebiyle başlamıştır. Bu mama inek sütü ve tahıl karışımından oluşmakta ve adına “Farine Lactee” denmekteydi (Estuningish ve Sani, 2008).

2. Dünya Savaşı sonrasında doğum oranlarındaki artış bebek maması endüstrisinin gelişmesine sebep olmuştur. 1946 ve 1958 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri’nde (A.B.D.) doğum sonrası hastaneden taburcu olan bebeklerin sadece %25’i anne sütü ile beslenmekteydi. 1960’lı yıllarda doğum oranları azaldığında bebek maması üreticileri gelişmekte olan ülkelerde mama tüketimini arttırmaya yönelik kampanyalar yapmaya başlamışlardır. Bu ülkelerdeki bebek maması hazırlanmasında kullanılan kontamine içme suları sebebiyle mama ile beslenen bebeklerdeki ölüm oranı artış göstermiştir. 20. Yüzyılda ise bebek mamaları popüler bir hale gelmiş, anne sütüne alternatif olarak kullanılmasında artışlar olmuştur. Tıp çevrelerindeki otoriteler bebek mamasının kullanımını izlenmesinin kolay olması ve besin öğelerinin bileşiminin bilirliliği sebebiyle teşvik etmişlerdir (Estuningish ve Sani, 2008).

Bebek mamalarının ana bileşenleri proteinler, lipidler, karbonhidratlar, mineraller ve vitaminlerdir. Toz bebek formülünün bileşimi, kalitesi ve etiketleme koşulları ulusal, bölgesel veya uluslararası düzenlemelerde veya standartlarda açık bir şekilde belirtilmektedir. Bunlara örnek olarak bebek formülleri için 1981 yılında yayınlanan Kodeks Alimentarius (CAC) standartını, 2004 yılında yayınlanan ABD'deki Çocuk Maması Yasasını ve Avrupa Komisyonu (EC) tarafından saptanan (EC, 1991, 1996) 91/321/EEC numaralı Komisyon Yönergesini (1 Ocak 2008 tarihi itibarıyla iptal edilmiştir) ve 2006/141/EC numaralı Avrupa Yönergesini sayabiliriz (Cordier, 2008). Bebek besinleri genel olarak dört ana grupta toplanmaktadır:

1. Toz bebek formülü: Bebeklerin yaşamlarının ilk aylarında özel beslenme amacına yönelik olarak tasarlanmış olan ve uygun tamamlayıcı mamanın devreye sokulmasına kadar sözkonusu bebeklerin beslenme ihtiyaçlarını tek başlarına karşılayan gıda maddeleridir (Cordier, 2008).
2. Devam maması: Uygun tamamlayıcı mamalar kullanılmaya başlandığında bebekler için belirli bir beslenme amacına yönelik olarak tasarlanmış olan ve bebeklerin kademeli olarak çeşitlendirilmiş diyetinde ana sıvı eleman görevini gören yiyecek maddeleridir (Cordier, 2008). CAC devam mamasını 6-12 ay arasındaki bebekler ve 12-36 ay arasındaki küçük çocukların tükettiği, beslenmelerinin sıvı kısmını oluşturan ürünlerdir (FAO ve WHO, 2008).
3. Özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar: Prematüre, çok düşük kiloyla doğan bebekler veya beslenme yetersizliği çeken ve bununla ilgili sağlık sorunları yaşayan bebeklerin beslenmesi için üretilen doktor gözetimi altında kullanılan mamalardır (Cordier, 2008).
4. Ek besinler: Bebeklerin beslenmesinde anne sütü veya bebek formülleri veya devam formüllerinin tamamlayıcısı olarak veya küçük çocukları ileri yaşlardaki günlük diyetlerine alıştırmak için kullanılan ek gıdalardır (TGK, 2007).

A.B.D.'de doğumdan 11 aya kadar olan bebeklerin beslenmesinde kullanılan tüm toz formül mamalar aynı yasal düzenlemelere tabi tutulmaktadır. Avrupa Birliği'nde, devam maması 4 aydan itibaren kullanılabilen ürünler ve 6 aydan itibaren kullanılabilen ürünler olmak üzere ikiye ayrılmaktaydı. 4 aydan itibaren kullanılabilen devam mamaları 31 Aralık 2009 tarihinden itibaren yasaklanmış olup, devam mamaları 6 aydan itibaren kullanılabilmektedir. Bu ürünler ile ilgili yasal

düzenlemeler toz bebek formülleri için geçerli olanlardan farklıdır. Devam mamaları ve toz bebek formüllerinin hangi aylardaki bebek veya küçük çocuklar için kullanılabilir olduğunun ürünlerin etiketinde belirtilmesi yasal bir zorunluluktur (FAO ve WHO, 2008).

2.2 Bebek Mamasının Ekonomik Önemi

Bebek mamalarının üretim miktarı ve ekonomik boyutlarına ilişkin olarak yayınlanmış veriler azdır. Son 3 yıl içinde ihraç edilen Danimarka bebek mamalarına ilişkin bilgi veren Danimarka Süt Ürünleri Kurulu (2005) gibi mesleki kuruluşlar yoluyla bazı bilgilere erişilebilmektedir (Cordier, 2008). İmal edilen hacimlere ilişkin en kesin tahminler ve veritabanları, farklı endüstri kategorilerinin ekonomik analizlerini gerçekleştiren bir ticari şirket olan Euromonitor International tarafından düzenli olarak yayınlanmaktadır. Dünyadaki son birkaç yıl içindeki bebek besinlerine ilişkin perakende verileri Çizelge 2.1’de verilmiştir. Bu tabloda bebek besinine ait veriler bebek maması formülü, devam mamaları, hazır bebek gıdaları, kurutulmuş bebek gıdaları ve diğer bebek gıdalarının toplamını içermektedir. Kurutulmuş bebek gıdaları: tüketilmeden önce su ilave edilen tahıl ürünleri ve çorbalı içermektedir. Süt formülü: toz bebek formülü, devam maması ve özel amaçlı üretilen formül mamaları kapsamaktadır. Hazır bebek gıdaları kavanozlarda tüketime sunulan ve ısıtma dışında bir işlem uygulanmadan tüketilen ürünleri kapsamaktadır. Diğer bebek gıdaları: bebek bisküvileri, meyve suları vb. ürünleri içermektedir. Dünya’daki bebek besinlerinin perakende değeri 2010 yılında 36,7 milyar \$’dır (Anon, 2010a).

Çizelge 2.1 : Dünya’daki bebek besinlerinin perakende hacmi.

Ürünler	Yıllar (000 ton)					
	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Bebek besini	2373,3	2533,1	2724	2846,8	2945,2	3089,6
Kurutulmuş bebek gıdası	326,3	336,2	351,2	363,7	373,9	390,7
Süt formülü	1258,4	1366,5	1493,7	1575,8	1648,4	1745,2
Hazır bebek gıdası	638,2	667,5	701,3	718,6	729,3	754,6
Diğer bebek gıdaları	150,4	162,9	177,9	188,7	193,6	199,1

Çizelge 2.1’de dünyada en fazla bebek besini üretildiği bunu süt formülünün izlediği görülmektedir.

Türkiye’deki bebek gıdalarına ait satış verileri Çizelge 2.2’de verilmiştir (Anon, 2010a). Türkiye piyasasının dünyadaki bebek besini piyasasının yaklaşık %1’ini oluşturduğu görülmektedir. Türkiye’de devam maması veya toz bebek formülü üretimi yapılmamakta, farklı firmalar tarafından ek besin üretimi gerçekleştirilmektedir.

Çizelge 2.2 : Türkiye’deki bebek besinlerinin perakende hacmi.

Ürünler	Yıllar (000 ton)					
	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Bebek besini	22,2	26,1	29	30	32	34,1
Kurutulmuş bebek gıdası	3,4	4	4,4	4,5	4,7	4,9
Süt formülü	7,3	10	11	11,2	12,2	13,4
Hazır bebek gıdası	1,1	1,4	1,5	2	2,3	2,6
Diğer bebek gıdaları	10,4	10,7	12,1	12,3	12,9	13,3

2.3 Bebek Maması Üretimi

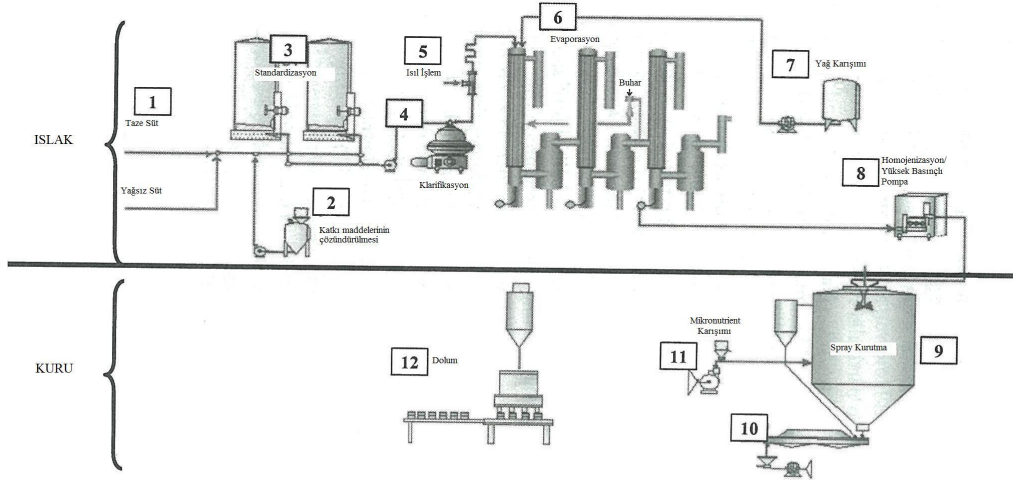
Bebek besinleri Bölüm 2.1’de bahsedildiği üzere 4 farklı kategoride bulunmaktadır. Devam mamaları, toz bebek formülleri, 36 aydan daha büyük küçük çocukların beslenmesinde kullanılan toz süt ürünleri, zenginleştirilmiş süt tozları ve medikal beslenmede kullanılan diğer besinler hemen hemen aynı şekilde üretilmektedir (FAO ve WHO, 2008). Bu besinlerin üretiminde genel olarak üç metot kullanılmaktadır (Cordier, 2008).

1. Islak karıştırma: Bu işlemler sırasında bütün işlenmemiş hammaddeler ile ayrıca işlenmiş olan katkı maddeleri sıvı ara ürün olarak ısıl işleminden geçirilir, kurutulur ve son aşama olarak dolum gerçekleştirilir. Bu işlemde, ısıl işleminden sonra ve özellikle kurutma aşamasının ardından başka hiçbir katkı maddesi ilavesi yapılmaz.

2. Kuru karıştırma: Ayrı ayrı işlenmiş olan katkı maddeleri kuru olarak harmanlanarak nihai ürün elde edilir ve son aşama olarak dolum gerçekleştirilir. Bu işlem nihai formülasyonu elde etmek amacıyla farklı karıştırma adımlarını içerebilir.

3. Kombine işlemler: İşlenmemiş hammaddelerin ve katkı maddelerinin bir kısmı temel toz karışım elde etmek için ıslak karıştırma işlemlerinden geçirilir. Bir ara ürün olan bu temel toz karışımı, daha sonra farklı mamul ürünlerin imalatı için kullanılır. Bunun ardından, ayrıca işlenmiş katkı maddeleri farklı formülasyonlara uygun olarak bu temel toz karışımına eklenir. Bu işlem genellikle partiler halinde yapılır ve homojen ürünler elde etmek amacıyla miktarlara ve katkı maddelerinin tiplerine bağlı olarak farklı mikser tipleri kullanılarak işlenir ve paketlenir. Ürünlere ve işlem hattına bağlı olarak, ayrı bir proses ile işlenmiş katkı maddeleri de ıslık işleminden sonra sıvı konsantreye eklenebilmektedir.

Islak ve kuru işleme ile bebek maması üretiminin temel basamakları Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Bu basamaklar temel bebek maması üretiminin ıslak ve kuru proseslerini göstermekte olup, işletmeden işletmeye farklılıklar gösterebilir (Cordier, 2008).



Şekil 2.1 : Bebek maması üretiminin temel basamakları.

Şekil 2.1’de 1 numara ile belirtilen aşama işlem görmemiş tarımsal hammaddelerini, 2 numara işlem görmüş katkı maddelerinin çözündürülmesini, 3 ve 4 numara standardizasyon ve klarifikasyon işlemlerini, 5 numara ıslık işlemi, 6 numara evaporasyon basamağını, 7 numara yemeklik yağ ilavesini, 8 numara yüksek basınçlı pompa ile homojenizasyonu, 9 numara spray kurutmayı, 10 numara ikinci bir kurutma basamağını, 11 numara mikro besin maddelerinin ilavesini ve son olarak 12 numara dolum basamaklarını ifade etmektedir (Cordier, 2008).

2.3.1 Islak proses işlemleri

Bebek mamaları süt, süt bileşenleri, soya protein izolatu, karbonhidrat, yağ, mineraller ve diğer gıda katkılarından oluşmaktadır. Bu hammaddeler sıvı veya kuru formda olabilirler. Çiğ süt veya sıvı peynir altı suyu gibi işlenmemiş hammaddeler işletmeye kabul edildikten sonra, genel olarak süt ürünlerinin işlenmesinde sözkonusu olan kaymağını alma, santrifüj ve standardizasyon gibi adımlar uygulanır (FAO ve WHO, 2004).

Diğer hammadde bileşenlerinin ilavesinden veya ıslak ve kuru karıştırma prosesinin beraber uygulandığı durumlarda hammaddelerin tamamının eklenmesinden sonra kuru hammaddeler su ile karıştırılarak sıvı karışım haline getirilir. Sıvı formül bir ısı işlem basamağına gönderilir. Prosese ve ürün bileşimine bağlı olarak uygulanan işlemler bir plakalı ısı değiştiricide pastörizasyondan (15 – 25 saniye süresince 71-74°C) doğrudan buhar enjeksiyonu (DSI) yoluyla sterilizasyona (en az 5 saniye süresince 105-125°C) kadar değişmektedir (Cordier, 2008). Uygulanan ısı işlem ürünün bileşimine göre farklılık gösterir. Örneğin nişasta içeren mamalara uygulanan pastörizasyon sıcaklığı ve süresi 74,4°C’de 25 saniyedir (FAO ve WHO, 2004). Uygulanan ısı işlemler vejetatif mikroorganizma (*Salmonella*, *E. sakazakii* ve diğer Enterobacteriaceae üyeleri) sayısında 10 log’luk bir azalma sağlaması ve son üründe ürün güvenliğini sağlaması açısından valide edilmiş yöntemlerdir. Uygulanan ısı işlemler teorik olarak bu bakteri sayılarında 50-80 log’luk azalma sağlamaktadır (FAO ve WHO, 2008).

Isıl işleminden geçirilen sıvı formül daha sonra buharlaştırma yoluyla konsantre hale getirilir ve istenilen konsantrasyon düzeyine ulaşmak için çoğunlukla birkaç aşamadan oluşan düşen film evaporatörü kullanılır. Bu adımla ilgili mikrobiyolojik sorunlar, termofilik sporlu bakterilerin birikmesinden kaynaklanmaktadır. Etkili yerinde temizleme prosedürleri (CIP) kullanılması ile risk ortadan kaldırılabilir. Daha sonra, işlem hattına bağlı olarak konsantre ek işlem görmeden önce doğrudan doğruya kurutma kulesine pompalanır veya aseptik veya soğutulmuş tanklarda depolanır. Böyle durumlarda ve teknolojik nedenlerle, konsantrenin kurutma işleminden önce 70°C’ye kadar ulaşılan sıcaklıklarda ön ısıtma işlemi gerekmektedir. Bu ısıtma adımı vejetatif hücrelerin sayısında ilave bir düşüş sağlamaktadır, ne var ki, bu bir kritik kontrol noktası (KKN) olarak düşünülmemektedir (Cordier, 2008).

Bazı durumlarda, ısıtma işlemi evaporatör öncesinde uygulanmayıp buharlaştırma sonrasında uygulanmaktadır. Isıtma işlemi ürün konsantre edildikten sonra uygulandığı durumlarda, artan toplam katı madde miktarı nedeniyle mikroorganizmaların artan ısı direncinin hesaba katılması gerekir. Her durumda, bilhassa vejetatif mikroorganizmaları öldürmek için uygulanan ve bu nedenle bir KKN olarak görülen bu aşamadaki işlem koşullarının etkinliğinin doğrulanması ve sıvı formülün bileşiminin ve özellikle de konsantrelerde yaklaşık olarak %40-45 düzeyine çıkabilecek toplam katı madde düzeylerinin dikkate alınması gerekir. Genellikle uygulanan ısıtma işlemleri, konsantrelerde bile en az 6D'lik ve işleme koşullarının optimum olduğu durumlarda 100D'yi aşan düzeylerde bakteri ölüm oranlarına ulaşmasını sağlarlar (Cordier, 2008).

2.3.2 Kuru proses işlemleri

Sıvı konsantreyi kurutmanın amacı suyu uzaklaştırmak ve su aktivitesi değeri (a_w) 0,3'den düşük olan, uzun raf ömrüne sahip bir toz elde etmektir. Bir kurutma kulesinde püskürtmeyle kurutma en yaygın uygulanan teknolojidir (Cordier, 2008).

Mamalarının püskürtme yoluyla kurutulması birkaç aşamadan oluşur; bu aşamalar önceden konsantre edilen formülün bir yüksek basınçlı pompa kullanılarak kurutucuya pompalanması ile başlar. Kurutma odasının dibindeki çıkış sıcaklıkları genellikle 60-80°C aralığındadır. Kurutma adımı sırasında, yüksek hava sıcaklığı nedeniyle belli vejetatif mikroorganizmalarda sınırlı bir azalma meydana gelebilir. Ne var ki, kısa ve kontrolsüz maruz kalma süresi ve bilhassa su aktivitesindeki hızlı düşme nedeniyle, gerçek etkiyi ölçmek güçtür ve bu nedenle bu adım bir kontrollü inhibisyon adımı olarak düşünülmemektedir. İmalat hattına bağlı olarak daha sonraki proses basamaklarına geçmeden önce toz genellikle büyük torbalarda veya silolarda depolanır. Kuru karıştırma veya kombine prosesler için kuru karıştırma gerçekleştirilir. Böyle bir kuru karıştırma işlemi ısıya hassas terkip maddelerinin eklenmesi gerektiğinde gerçekleştirilir. Genellikle bir parti işlemi sırasında gerçekleştirilen bu karıştırma çalışması sırasında baz toz büyük mikserler veya blenderler içinde vitaminler, mineraller, nişasta, karbonhidratlar vs. gibi kuru hammaddeleriyle formülasyona uygun şekilde karıştırılır ve ambalajlara dolum işlemleri gerçekleştirilir (Cordier, 2008). Kuru tozların uzun süreyle depolanması bile düşük su aktivitesi nedeniyle herhangi bir mikrobiyolojik üreme görülmez fakat

Edelson-Mammel vd. (2005) tarafından gösterildiği gibi herhangi bir mikrobiyal inhibisyon da gerçekleşmemektedir.

2.4 Bebek Maması İle İlgili Mikrobiyolojik Kriterler

Toz bebek formüllerine ilişkin mikrobiyolojik kriterler Kodeks Alimentarius Komisyonu (CAC, 1979) tarafından saptanmış olup Çizelge 2.3’de sunulmaktadır. Bunlar sözkonusu tarihte mevcut olan ve *Salmonella*’nın yönetiminde etkili olduğu kanıtlanmış epidemiyolojik verilere ve bilgilere dayanmaktadır. Yeni epidemiyolojik kanıtlar ve belli bir bebek grubu için *E.sakazakii*’nin bir fırsatçı patojen olarak ortaya çıkması sebebiyle, bu kriterlerin gözden geçirilmesi gerektiği açıklık kazanmıştır (Cordier, 2008).

Çizelge 2.3 : Toz bebek formülleri için yayınlanmış mikrobiyolojik kriterler.

Standartlar ve kriterler (numune miktarları)	n	c	m	M
CAC/RCP 21-1979				
Mezofilik aerobik bakteri sayısı	5	2	10 ³ kob/g	10 ⁴ kob/g
Koliform	5	1	<3 EMS/g	20 EMS/g
<i>Salmonella</i> (25g)	60	0	0	0
CAC/RCP 21-1979 (önerilen revizyon)				
Mezofilik aerobik bakteri sayısı (g)	5	2	5*10 ² kob/g	5*10 ³ kob/g
Enterobacteriaceae (10g)	10	2	0	UD ^a
<i>Enterobacter sakazakii</i> (10g)	30	0	0	
<i>Salmonella</i> (25g)	60	0	0	
AB 2073/2005				
Enterobacteriaceae (10g)	10	0	0	
<i>Enterobacter sakazakii</i> (10g) ^b	30	0	0	
<i>Salmonella</i> (25g) ^b	30	0	0	

^aUD: uygulanabilir değil

^b Bu parametreler bir veya daha fazla örnekte Enterobacteriaceae tespit edildiğinde incelenecektir.

n: Partiden bağımsız ve rasgele seçilen numune sayısını, c: m ve M arasında olmasına izin verilen maksimum numune sayısını (M değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısını), m: (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla mikrobiyolojik değeri, M: c sayıdaki numunenin bu değeri aşması halinde uygunsuz olup kabul edilemez olduğunu gösteren mikroorganizma sayısını ifade eder.

Yıllar önce, bazı bebek maması üreticileri kendi şirketleri içerisindeki değerlendirmelerine dayanarak ve yasal düzenlemelerin geliştirilmesi beklentisiyle ürünlerin piyasaya sürülmesi için güçlü kriterler tespit etmişlerdir. Toz bebek mamalarındaki *E.sakazakii* ve diğer mikroorganizmalarla ilgili ilk uzman toplantı

sonrasında (WHO, 2-5 Şubat 2004, Cenevre, İsviçre), başlangıçtaki kriterlerde değişiklikler yapma ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Bu toplantıda, koliformlardan Enterobacteriaceae'ye geçiş ve ayrıca risk hafifletme önlemlerinden biri olarak şartnamelerin güçlendirilmesi gereği gerekli bir adım olarak tespit edilmiştir (FAO ve WHO,2004). Bu toplantı raporunda yayınlanan başlangıç riskinin değerlendirilmesinde, toz bebek mamalarının kontaminasyon probleminin azaltılmasının *E.sakazakii* enfeksiyon riski üzerindeki etkisi konusunda bir tahminleme çalışması yapılmıştır. Bu senaryoda, ilgili riskin azaltılmasının kontamine olan ürünlerdeki sıklığın azaltılması ile mümkün olabileceğini belirtilmiştir. Daha önemli azaltmanın, ancak rekonstitüye mamaların hijyenik şekilde hazırlanması gibi bir takım ek önlemlerle mümkün olabilecektir (Cordier, 2008).

E.sakazakii ve diğer Enterobacteriaceae sıklığına ve düzeylerine ilişkin risk değerlendirmesi ve mevcut yayınlanmış veriler, ilgili Hijyen Uygulaması Standardının gözden geçirilmesi işini yürüten Uluslararası Gıda Standartları Çalışma Grubuna modifiye edilmiş kriterler öneren ICMSF tarafından kullanılmıştır. Gıda Hijyen Standartlar Komitesinin 2005 yılında Buenos Aires 'te yapmış olduğu toplantı sırasında, eldeki en son verilere dayanılarak teklifin yeniden değerlendirilmesi gerektiğin (Gıda Hijyen Standartlar Komitesi, 2004) karar verilmiş ve daha sonra çalışma grubunun yakın tarihlerde yaptığı bir toplantı sırasında bu karar teyit edilmiştir. Mikrobiyolojik kriterlerin riskin azaltılması üzerindeki etkisine ilişkin ek müzakereler ve hesaplamalar 2005 yılında yapılan bir ICMSF toplantısında ve ayrıca Roma'da FAO ve WHO tarafından 2006 yılında organize edilen ikinci uzman toplantısı sırasında gerçekleştirilmiştir Bu müzakerelerin sonuçları, 2006 ve 2007 yıllarında Hijyenik Uygulamalar Standardının (CAC/RCP 21-1979) gözden geçirilmesi esnasında sunulmuş ve müzakere edilmiştir. *E.sakazakii* ile ilgili teklif muhafaza edilirken, Enterobacteriaceae için biraz daha toleranslı bir kriter önerilmiştir (Cordier, 2008).

Uluslararası Standartlar Komisyonunun faaliyetlerine paralel olarak, Avrupa Gıda Güvenlik Kurumu (EFSA), Biyolojik Tehlike Kuruluna bebek mamalarıyla ilgili mikrobiyolojik riskleri incelemesi talimatını vermiştir. Bilim kurulu, *E.sakazakii*'nin yaklaşık 4-6 haftaya kadar yenidoğanlar, prematüre yenidoğanlar, düşük kilolu doğan bebekler ve immün yetmezliği olan bebekler için en büyük risk oluşturduğu

sonucuna varmıştır. Bu rapor , aynı zamanda, *Salmonella*'nın ve *E.sakazakii*'nin çok düşük düzeylerini (örn. 1, 10 ve 10 kg'lık numunede mevcut olmaması) amaçlayan bir performans hedefinin getirilmesi olasılığını ve uygunluğunu doğrulamak amacıyla Enterobacteriaceae'nin (10 kg'de mevcut olmadığına ilişkin analiz) kullanılmasını tavsiye etmiştir. Bu tavsiyeler toz bebek mamalarına ilişkin mikrobiyolojik kriterleri saptamak amacıyla Avrupa Birliği tarafından kullanılmıştır. Enterobacteriaceae için başlangıç testi bir proses hijyeninin göstergesi olarak değerlendirilirken pozitif sonuçlarda *E.sakazakii* ve *Salmonella* gıda güvenlik parametreleri olarak görülmektedir (Cordier, 2008).

Avrupa Birliği (A.B.) EFSA'dan bebek mamalarındaki *E.sakazakii*, diğer Enterobacteriaceae ve *Salmonella* arasındaki ilişkiye ve devam mamalarıyla ilgili olarak da Enterobacteriaceae ve *Salmonella* arasındaki bağıntıya ilişkin bir bilimsel görüş talep etti. Biyolojik Tehlike Kurulu, *Salmonella*'nın çok ender mevcut olması nedeniyle, bu iki tip üründe hijyen göstergesi ile *Salmonella* arasında hiçbir bağıntı olmadığı sonucuna vardı. Bunun aksine, kurul *E.sakazakii* ve diğer Enterobacteriaceae varlığı arasında bir ilişki olduğu, fakat yeterli veri olmaması nedeniyle evrensel herhangi bir bağıntının tespit edilemediği sonucuna vardı. Kurul, daha kesin sonuçlar çıkarabilmek için ortak protokoller kullanan ek verilerin elde edilmesini tavsiye etti (Cordier, 2008).

Temmuz 2007'de, Gıda Zinciri ve Hayvan Sağlığı Daimi Komitesi (Standing Committee on Food Chain and Animal Health), toz bebek mamalarına ilişkin olarak hijyen parametresi Enterobacteriaceae ile güvenlik parametreleri *Salmonella* ve *E.sakazakii* arasındaki bağlantıyı iptal ederek 2073/2005 numaralı A.B. düzenlemesinde bir takım değişiklikleri onaylamıştır; başka bir deyişle, artık iki parametre de aynı düzeyde düşünülmektedir. Bunun yanısıra, devam mamaları için *Salmonella* (M =30, c=0, m=0 [25 gramda] parametresi ve hijyen kriteri olarak Enterobacteriaceae n=5, c=0, m=0 (20 gramda) getirilmiştir (Cordier, 2008). Toz bebek formülleri için farklı ülkelerde uygulanan mikrobiyolojik kriterler ve Çizelge 2.4'de verilmiştir (Farber ve diğ.,2008).

Çizelge 2.4 : Toz bebek formülleri için farklı ülkelerde uygulanan mikrobiyolojik kriterler.

Ülke, üretilen mamaların yaş grupları	Parametre	Mikrobiyolojik limit			
		n	c	m	M
A.B.D. (Taslak) 0-12 ay	<i>E. sakazakii</i> <i>Salmonella</i>	30 60	0 0	0/10g 0/25g	UD ^a UD
Arjantin, <6 ay	37°C'de mab Enterobacteriaceae <i>Salmonella</i> <i>E. sakazakii</i>	5 10 30 30	2 0 0 0	10 ³ kob/g 0/10g 0/25g 0/10g	10 ⁴ kob/g UD UD UD
>6 ay	37°C'de mab 37°C'de koliform <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> Koagülaz pozitif stafilokok Küf ve maya				3x10 ⁴ kob/g <3 EMS/g 0/5g 0/100g 0/1g 10 ² (süt ürünleri), 10 ³ (tahıl ürünleri).
Avrupa Birliği Ülkeleri, 0-6 ay	Enterobacteriaceae <i>E. sakazakii</i> <i>Salmonella</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	10 30 30 10	0 0 0 0	0/10g 0/10g 0/25g 0/25g	UD UD UD UD
Çin 0-12 ay	Küf ve maya 37°C'de mab Koliform Patojen bakteri				5x10 ¹ kob/g 3x10 ⁴ kob/g 4x10 ¹ kob/100g Bulunmamalı
Kanada 0-12 ay	Aerobik koloni sayısı <i>E.coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>B. cereus</i> <i>Clostridium perfringens</i>	5 10 20 10 10 10	2 1 0 1 1 1	10 ³ kob/g <1,8 kob/g 0/g 10 ¹ kob/g 10 ² kob/g 10 ² kob/g	10 ⁴ kob/g 10 ¹ kob/g NA 10 ² kob/g 10 ⁴ kob/g 10 ³ kob/g

^aUD: uygulanabilir değil
mab: mezofilik aerobik bakteri sayısı

Türkiye'ye bebek mamaları ile ilgili genel olarak Türk Gıda Kodeksi'nde 3 ayrı tebliğ mevcuttur. Bu tebliğler; Bebek formülleri tebliği (2008/52), Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları tebliği (2007/50) ve mikrobiyolojik kriterlerin yer aldığı Mikrobiyolojik kriterler tebliğidir (2010/16). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde 8 Ocak 2010'da yapılan değişiklikle bebek formülleri, devam mamaları ve ek gıdalardaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı analizi bu tebliğden çıkarılmıştır. Mikrobiyolojik kriterler tebliğindeki bebek mamaları ile ilgili limit değerler Çizelge 2.5'de verilmiştir (TGK, 2010).

Çizelge 2.5 : Türkiye’de bebek maması ile ilgili mikrobiyolojik kriterler.

Ürün	Parametre	Mikrobiyolojik limit			
		n	c	m	M
Bebek formülleri ve devam formülleri (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	<i>Bacillus cereus</i>	5	2	10 ² kob/g	10 ³ kob/g
	<i>E. sakazakii</i>	10	0	0/25g	UD
	<i>Salmonella</i>	10	0	0/25g	UD
	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	0/25g	UD
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	<i>B. cereus</i>	5	2	10 ² kob/g	10 ⁴ kob/g
	Enterobacteriaceae	5	0	<10 kob/g	UD
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25g	UD
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25g	UD
Konserve bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	Sterilite Kontrolü	5	0		

*UD: uygulanabilir değil

3. *ENTEROBACTER SAKAZAKII* (*CRONOBACTER* SPP.)

3.1 *E. sakazakii*'nin Genel Özellikleri

Enterobacter sakazakii, Enterobacteriaceae familyasına ait Gram negatif, sporsuz, peritrik flagellalı, hareketli, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde bir bakteridir (Seo ve Brackett, 2005; Chenu ve Cox, 2009). 1980 yılına kadar “*Enterobacter cloacae*” olarak tanımlanan bakteri, daha sonra Farmer ve diğ.’nin sınıflandırmada yaptıkları değişiklik ile, Japon bakteriyolog Riichi Sakazaki’nin ismini almıştır. Bu değişiklik DNA-DNA hibridizasyonu deneyleri, biyokimyasal reaksiyonlar, pigment oluşumu ve antibiyotik direnci analizlerinden elde edilen verilere göre yapılmıştır (Lehner ve Stephan, 2004). DNA-DNA hibridizasyonu sonucunda *E. sakazakii*’nin genetik özelliklerinin %53-54 oranında iki farklı cins olan *Enterobacter* ve *Citrobacter* ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Iversen ve Forsythe, 2003; Iversen ve diğ., 2004a; Iversen ve diğ., 2007a).

2007 yılında *E. sakazakii* olarak tanımlanan 210 suşun DNA profilleri ve fenotipik özellikleri incelenerek bu bakterinin taksonomik sınıflandırmasında değişiklik yapılması önerilmiş ve *Cronobacter* adında yeni bir cins ve 6 tür tanımlanmıştır. Bu bakterinin yeni doğanlarda sebep olduğu ölüm oranının yüksekliği nedeniyle Yunan mitolojisindeki yeni doğan bebekleri yutan “Cronos” adındaki tanrıdan esinlenerek *Cronobacter* adı verilmiştir (Iversen ve diğ., 2007a; Iversen ve diğ., 2008a). *Cronobacter* cinsine ait alt türler: *Cronobacter sakazakii*, *Cronobacter turicensis*, *Cronobacter malonaticus*, *Cronobacter muytjensii* ve *Cronobacter dublinensis*’dir. Altıncı tür olarak genomospecies I tanımlanmıştır ve günümüzde bu türe ait sadece iki suş bulunmaktadır. Günümüz bilimsel literatüründe, bakteri tanımlanırken hem *Cronobacter* spp. hem de *E. sakazakii* ismi kullanılmaktadır (FAO ve WHO, 2008). *E.sakazakii*’nin sınıflandırılmasının yeniden yapılmasına rağmen kültürel yöntemler ile analizinde bir değişiklik olmamıştır. Günümüzde kullanılan *E.sakazakii* için valide edilmiş tüm kültürel yöntemlerin *Cronobacter* türlerinin de tespitinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Iversen ve diğ.,2008a).

E. sakazakii'nin D-sorbitol fermentasyonu genellikle negatif ve ekstraselüler deoksiribonükleaz (DNAaz) reaksiyonu ise pozitifdir (Lehner ve Stephan, 2004). Enzim aktivitelerinin incelendiği çalışmalarda α -glukosidaz aktivitesi ve tween 80 esteraaz aktivitesi pozitif, fosfoamidaz aktivitesi negatif olarak bulunmuştur. (Muytjens ve diğ., 1984). *Enterobacter* türlerinin bazı biyokimyasal özellikleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : *Enterobacter* türlerinin biyokimyasal özellikleri (FDA, 2002).

Test		Reaksiyon ^a				
		<i>E. sakazakii</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. gergoviae</i>
Lizin dekarboksilaz		-	-	+	-	+
Arjinin dihidrolaz		+	+	-	-	-
Ornitin dekarboksilaz		+	+	+	-	+
KCN'de üreme		+	+	+	v	-
Fermentasyonu	sakaroz	+	+	+	(+)	+
	dulcitol	-	(-)	-	(-)	-
	adonitol	-	(-)	+	-	-
	rafinoz	+	+	+	v	+
	D-sorbitol	-	+	+	v	-
	α -metil-D-glukozid	+	(+)	-	-	-
	D-arabitol	-	(-)	+	-	+
Sarı pigment oluşumu		+	-	-	(+)	-

^a +: %90-100 pozitif; (+):%75-89 pozitif; v:%25-74 pozitif; (-):%10-24 pozitif; -:% 0-9 pozitif

E. sakazakii gelişmesine sıcaklık derecelerinin etkisi incelendiğinde, bakterinin 6°C ve 47°C arasında geniş bir sıcaklık aralığında geliştiği görülmektedir. Optimum gelişme sıcaklığı 37-43 °C'dir (Iversen ve Forsythe, 2003; Iversen ve diğ., 2004b). Farklı suşlar için belirtilen minimum gelişme sıcaklıkları; 5,7 °C ve 5,5 °C.'dir. 4 °C'de gelişme göstermezler ve bu sıcaklıkta uzun süre tutulmaları halinde inhibe olmaktadır (Lehner ve Stephan, 2004). 21°C'de sıvı bebek mamasındaki jenerasyon süresi 75 dakikadır. Jenerasyon süresi, buzdolabı sıcaklığında 13 saat iken, 23°C'de 40 dakika, 10°C'de 4,98 saat olarak belirlenmiştir. *E.sakazakii*'nin oda sıcaklığında hızlı gelişiminin yeni doğmuş bebeklerde mama ile beslenmeden kaynaklanan enfeksiyonların nedeni olabileceği tahmin edilmektedir. Genel olarak ev tipi buzdolaplarının sıcaklıkları 7-10°C aralığında değiştiğinden bu bakteri buzdolabında gelişmeye devam ederek risk oluşturmaktadır (Nazorowec-White ve Farber, 1997a).

E. sakazakii'nin asidik pH değerlerinde önemli ölçüde dirençli olduğu belirlenmiştir. Durağan fazda 12 farklı suşun asit dirençlerinin incelendiği bir çalışmada, 36°C'de 5 saatlik inkübasyon sonunda pH değeri 3,5'a ayarlanmış triptik soy brot (TSB)'da 10

suşun sayısında 1 logdan daha az düşüş gözlenmiştir. pH değeri 3'e ayarlandığında *E. sakazakii* sayısında 4,9-6,3 log'luk azalma belirlenmiştir (Edelson- Mammel ve diğ., 2006). Engel teknolojisi ile *E.sakazakii*'nin gelişme ve inhibisyonunun incelendiği tahminleme model çalışmasında pH değerinin inhibisyona etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Lambert ve Bidlas, 2007).

Mikroorganizmalar ozmotik stres ve kurutma stresine bazı iyonların (potasyum, proline, glycine, betaine ve trihalose vb.) hücre içi birikimi ile direnç göstermektedir. Suyun yer değişimi teorisine göre makromoleküller etrafındaki su ile, trihaloz gibi yapılar yer değiştirerek hücrenin zarar görmesini engellemektedir. *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi bazı mikroorganizmalarda sıcaklık, ozmotik basıncıdaki değişiklik ve kurutma işlemleri esnasında hücre içinde trihaloz üretimi ve birikimi olmaktadır. Yapılan çalışmalarda *E. sakazakii*'nin de benzer bir mekanizmaya sahip olduğu ve kurutmaya karşı mevcut olan yüksek direncinin hücre içindeki trihaloz birikiminden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ortamdaki azot kaynağı sınırlı olduğunda kapsül oluşturan *E. sakazakii* su aktivitesi (a_w) yaklaşık 0,2 olan bebek mamalarında oda sıcaklığında 24 aya kadar canlılığını koruyabilmektedir (Breeuwer ve diğ., 2003; Mullane ve diğ., 2006). Ayrıca, yapay olarak kontamine edilen toz bebek mamalarındaki *E.sakazakii* seviyesinin 1.5 yıl içinde sadece 3 log birim düştüğü rapor edilmektedir (Caubilla-Barron ve Forsythe, 2007). Yapılan diğer çalışmalar, *E.sakazakii*'nin, örneğin *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Citrobacter* suşları ile karşılaştırıldığında ozmotik stres ve havayla kurutma altında daha iyi sağ kalım gösterebildiği de kanıtlanmıştır (Breeuwer ve diğ., 2003). Kuru ortamlarda *E. sakazakii* varlığının araştırıldığı çalışmalarda *E. sakazakii* evlerde kullanılan elektrik süpürgelerindeki tozların (n=16) %30'undan fazlasında tespit edilmiştir (Kandhai ve diğ., 2004) ve yapılan bir başka çalışmada ise yedi elektrik süpürgesinin altısında tespit edilmiştir (Dauga ve Breeuwer, 2008).

Enterotoksin oluşturma özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada 18 *E. sakazakii* suşu incelenmiş (8 gıda kaynaklı, 9 klinik ve 1 ATCC 29544 suşu) gıda kaynaklı 1 ve klinik kaynaklı 3 suşun enterotoksin oluşturduğu belirlenmiştir (Lehner ve Stephan, 2004).

E. sakazakii lateks, silikon ve daha az oranda paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşturmaktadır. Bakterinin yüzeylere tutunması ve biyofilm oluşturmalarının kapsül oluşumu sırasında ürettiği ekzopolisakkaritler nedeniyle olabileceği belirtilmiştir.

Eksopolisakkarit yapı içerisinde selüloz, glikoz, galaktoz, fruktoz, mannoz ve glukuronik asit bulunmaktadır. Mamanın hazırlanmasında kullanılan malzemelerde ve üretim alanlarında bakterinin oluşturduğu bu biyofilmler, normal temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin yetersiz kalmasını sağlayarak risk oluşturmaktadır (Lehner ve diğ., 2005; Oh ve diğ., 2007; Grimm ve diğ., 2008).

E. sakazakii'nin biyofilm oluşturma özelliği plastik yüzeylerde incelenmiştir (Oh ve diğ., 2007). Çalışmada 72 farklı suşun biyofilm oluşturma özelliği, yüzeyde sıvı besiyeri ve formül mama kalıntısı bulunması durumunda ayrı ayrı araştırılmıştır. Yüzeyde formül mama kalıntısı bulunduğu biyofilm oluşumunun sıvı besiyeri bulunmasına göre daha etkin olduğu belirlenmiş, 72 suşdan 56'sının biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir.

E. sakazakii'nin klor, klor dioksit ve peroksiasetik asit bazlı dezenfektanlar ile inhibisyonunun incelendiği bir çalışmada elma yüzeylerine 10µg/mL konsantrasyonda klor dioksit ve 40 µg/mL konsantrasyonda peroksiasetik asitin bir dakika süreyle uygulanmış, *E. sakazakii* sayısında sırasıyla 3,38 log ve 4 log'dan fazla inhibisyon elde edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bu bakterinin diğer enterik bakteriyel patojenlerden daha dirençli olmadığı belirlenmiştir (Beuchat ve diğ., 2009).

Monokapriline (oktanoik asidin monogliseridi) *E. sakazakii* üzerindeki antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; hazırlanan sıvı bebek mamasına ilave edilen 50 mM konsantrasyonundaki monokapriline *E. sakazakii*'yi inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu kadar yüksek konsantrasyonda monokapriline ilavesinin mamanın duyuşal özelliklerini bozabileceği ve ticari olarak uygulanmasının zor olacağı belirtilmiştir (Nair ve diğ., 2004). *E. sakazakii*'yi inhibe eden diğer doğal antimikrobiyal bileşikler kitosan ve kitosan oligomerleridir. Yüksek moleköl ağırlığına sahip kitosanlar için MIC (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değerlerinin %0.01 (ağırlık/hacim) düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkinin, pozitif olarak yüklenen kitozan molekülleri ile negatif olarak yüklenen bakteriler arasındaki etkileşimden kaynaklandığı belirtilmiştir (No vd., 2002)

3.1.1 *E. sakazakii*'nin ısı direnci

70°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda canlılığını yitiren *E. sakazakii*, süt ürünlerinde bulunabilen Enterobacteriaceae üyeleri içerisinde en yüksek ısı dirence sahip

bakteridir (Nazarowec-White ve Farber, 1997a). *E. sakazakii*'nin farklı çalışmalarda belirlenen D ve Z değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 : *E. sakazakii*'nin literatürde belirtilen D ve Z değerleri.

D Değerinin Belirlendiği Sıcaklıklar ve D Değerleri (Dakika)											Z-Değeri (°C)	Kaynak
50°C	52°C	53°C	54°C	55°C	56°C	58°C	60°C	62°C	65°C	70°C		
	54,8 ±4,7		23,7 ± 2,5		10,3 ± 0,7	4,2 ± 0,6	2,5 ± 2				5,8	Nazarowec-White ve Farber, 1997b ¹
		8,3 20,2	6,4 7,1		1,1 2,4	0,27 0,34 0,4 0,48					3,1 3,6	Breeuwer ve diğ., 2003 ²
					21,1 ± 2,7	9,9 ± 0,8	4,4 ± 0,4		0,6 ± 0,3	0,07	5,6	Edelson-Mammel ve Buchanan, 2004
			16,4 ±0,67		5,1 ±0,27	2,6 ±0,48	1,1 ±0,11	0,3 ±0,12			5,8 ± 0,40	Iversen ve diğ., 2004b ³
			11,7 ±5,80		3,9 ±0,06	3,8 ±1,95	1,8 ±0,82	0,2 ±0,11			5,7 ± 0,12	Iversen ve diğ., 2004b ⁴
					8,1		0,98					Warby ve diğ., 2008a
	39,01		18,89		4,56	2,99	1,89				5,91	Ghassem ve diğ., 2008
	16,4 ±0,19		5,34 ±0,01		2,12 ±0,14	0,56 ±0,01					4,12 ± 0,03	Osaili ve diğ., 2008
	22,1					0,68						Shaker ve diğ., 2008
						1,95	0,94				4,06	Arroyo ve diğ., 2009
38,65 17,93 62,91 8,58 43,37 85,5				6,54 9,14 16,04 3,27 8,03 17,07			2,14 2,06 2,17 1,05 1,8 2,21				7,92 10,64 6,88 10,86 7,21 6,26	Dancer ve diğ., 2009
	42,92 34,6 33,22 38,31		19,57 18,79 18,21 19,01		4,64 4,56 4,52 4,53	3,03 2,98 2,99 2,98	1,92 1,88 1,89 1,86				5,71 6,01 6,11 5,83	Abdullah- Sani, 2009

¹ 5 klinik ve 5 gıda kaynaklı suşun karışımının sonuçlarıdır.

² D- değeri 4 farklı suş ile fosfat tamponunda belirlenmiştir. Araştırmada formül mama ile fosfat tamponunda yapılan çalışmalarla elde edilen sonuçlar arasında farklılık bulunmamıştır

³ Vejetatif formundan elde edilen veriler.

⁴ Kapsül formundan elde edilen veriler.

Çizelge 3.2 incelendiğinde bakterinin farklı D ve Z değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Örneğin 52°C'de belirlenen D değerleri 16,4 ile 54,8 dakika arasında değişmekte, Z değerleri ise 3,1°C ile 10,86°C arasında değişmektedir.

Bebek mamasına uygulanan 82-93°C'de 85-100 sn'lik mikrodalga işleminin *E. sakazakii* sayısında 4 log kob/mL'den daha fazla bir azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir (Kindle ve diğ., 1996).

Edelson-Mammel ve Buchanan (2004) tarafından yapılan çalışmada 12 farklı *E. sakazakii* suşunun 58°C'deki en yüksek ve en düşük D değeri arasında 20 kat farklılık olduğu ve buna göre *E. sakazakii*'nin ısı direnci düşük ve yüksek olan 2 ayrı fenotipi bulunduğu belirtilmiştir. Iversen ve diğ. (2004b), 60 °C'deki D değerinin 1,1 dak. ve Z değerinin 5,7°C olduğunu kabul ederek 71,2°C'deki D değerini 0,7 sn olarak hesaplamışlardır. Buna göre 71,7°C'de 15 sn uygulanan bir pastörizasyon işleminin *E. sakazakii* sayısında 21 log'luk azalma sağlayacağı, ancak formül mama üretiminde pastörizasyondan sonra, gerek ilave edilen ısıya duyarlı katkı maddeleri gerek zayıf hijyenik koşullar sebebiyle *E. sakazakii* kontaminasyonunun yeniden meydana gelebileceği de belirtilmiştir (Iversen ve diğ., 2004b).

E. sakazakii'nin sprey kurutma ile inhibisyonunun incelendiği bir başka çalışmada 10² kob/g konsantrasyonunda 4 farklı *E. sakazakii* suşu içeren yağsız süt tozuna giriş sıcaklığı 160°C çıkış sıcaklığı 90°C olan bir sprey kurutma işlemi uygulandığında örneklerde *E. sakazakii* varlığı tespit edilmiştir. Uygulanan işlemde 12 hafta sonra örneklerde *E. sakazakii* suşlarının canlılığını koruduğu görülmüştür (Arku ve diğ., 2008).

3.2 *E. sakazakii*'nin Sağlık Üzerine Etkileri

E. sakazakii özellikle prematüre yeni doğanlar ve bebeklerde menenjit ve ince ve kalın bağırsak iltihabına sebep olmaktadır. Yüksek orandaki ölüm oranı ve sağ kalanlarda devam eden nörolojik hastalıklar sebebiyle önemli bir fırsatçı patojendir. *E. sakazakii*, 2002 yılında ICMSF tarafından kronik veya uzun süre etkili, hayatı tehdit eden, belirli bir kesim için aşırı tehlikeli sınıflandırması yapılan *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* tip A, B, *Cryptosporidium parvum* ile aynı sınıfa dahil edilmiştir (Iversen ve Forsythe, 2003).

Enterobacter sakazakii tüm yaş gruplarında hastalığa sebep olabilmektedir. 1 yaşın altındaki bebekler ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler riskli grubu oluşturmaktadır. Doğum ağırlığı düşük, prematüre bebekler ise en yüksek risk grubunu oluşturmaktadır. A.B.D.'de raporlanmış *E. sakazakii* enfeksiyonunun görülme sıklığı doğan her 100.000 bebekte 1'dir. 1,5 kg'ın altında doğan bebeklerde görülme sıklığı 100.000 bebekte 9,4'e yükselmektedir (Forsythe, 2010). *Enterobacter sakazakii* yeni doğanlarda menenjit (beyin zarının iltihabı), septisemi

(kan zehirlenmesi) ve nekrotizan enterekolit (NEC-doku ölümüne sebep olan bağırsak iltihabı)’e sebep olmaktadır. Virülans özellikleri hakkında ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır (Barron ve diğ., 2007). *E. sakazakii* kaynaklı menejit hastalığına yakalananlarda ölüm oranı %40-%80 arasında, nekrotizan enterekolit hastalığına yakalananlarda ölüm oranı %10-55 arasında değişmektedir. Sağ kalanlarda ise hidrosefali (beyinde su birikimi), felç, görme ve işitme bozuklukları görülmektedir (Muytjens ve diğ., 1983; Acker ve diğ., 2001; Iversen ve Forsythe, 2003; Mullane ve diğ., 2006; Forsythe, 2010).

E. sakazakii kaynaklı enfeksiyonlar nadir olarak görülmektedir. Bunun sebebi hastalığın nadir olması değil, gelişmekte olan ülkelerdeki kayıt eksikliği ve bebek ölümlerinde *E. sakazakii* açısından incelemelerin yapılmamış olmasına bağlanmaktadır (FAO and WHO., 2004; Mullane ve diğ., 2006; Barron ve diğ., 2007). Bebeklerde ve küçük çocuklarda günümüzde *E. sakazakii* ’nin neden olduğu toplam 120 adet enfeksiyon vakası kayıt edilmiştir ve bu vakalardan 27’si ölümlle sonuçlanmıştır. İngiltere ve Filipinlerde bu vakalara ilave olarak kayıtlı 85 vaka daha bulunmaktadır (FAO ve WHO, 2008). Çizelge 3.3’de dünya çapında bebek ve yeni doğanlarda rastlanan *E. sakazakii* enfeksiyonları verilmiştir.

Çizelge 3.3 : Dünya çapında bebek ve yeni doğanlarda meydana gelen *E. sakazakii* enfeksiyonları (Mullane ve diğ., 2006).

Yıl	Ülke	Vaka sayısı (ölüm sayısı)	Bulaşma kaynağı
1958	İngiltere	2 (2)	Bilinmiyor
1958	Danimarka	1 (1)	Bilinmiyor
1958	A.B.D.	1 (0)	Bilinmiyor
1958	A.B.D.	1 (1)	Bilinmiyor
1958	A.B.D.	1 (0)	Bilinmiyor
1977-81	Danimarka	8 (6)	Toz bebek mamasından şüphelenilmiştir
1977-81	Yunanistan	1 (1)	Belirtilmemiştir
1984	Yunanistan	11 (4)	Bilinmiyor
1984	A.B.D.	1 (0)	Bilinmiyor
1984	A.B.D.	2 (1)	Bilinmiyor
1986-87	İzlanda	3 (1)	Toz bebek maması
1988	A.B.D.	4 (0)	Toz bebek maması, blender
1988	A.B.D.	1 (0)	Toz bebek maması
1988	A.B.D.	1 (0)	Belirtilmemiştir
1994	Fransa	13 (3)	Toz bebek maması
1998	Belçika	12 (2)	Toz bebek maması
1999-00	İsrail	2 (0)	Toz bebek maması ve blender
2001	A.B.D.	11 (1)	Toz bebek maması
2002	Belçika	1 (1)	Toz bebek maması
2004	Yeni Zelanda	5 (1)	Toz bebek maması
2004	Fransa	4 (2)	Toz bebek maması

Yeni doğan bebeklerde *E. sakazakii* sebebiyle yaşanan ilk ölüm vakası 1958 yılında İngiltere’de gerçekleşmiştir. Bebek ölümlerinin toz bebek mamasından kaynaklanabileceği konusundaki ilk bilgiler 1977-1981 yılında elde edilmiştir. İlerleyen yıllarda A.B.D., Belçika, Fransa, İsrail ve Yeni Zelanda gibi pek çok ülke tarafından, bebek ölümlerinin mamalardan kaynaklandığına dair raporlar bulunmaktadır (Mullane ve diğ., 2006; Barron ve diğ., 2007).

Minimum enfeksiyon dozu (MID) ile ilgili kesin veri bulunmamakta ancak diğer Enterobacteriaceae üyelerinin enfeksiyon dozuna benzer bir seviye olan 1000 kob/ml konsantrasyonu risk analiz değerlendirmesinde kullanılmaktadır (Muytjens ve diğ., 1983; Acker ve diğ., 2001; Iversen ve Forsythe, 2003; Mullane ve diğ., 2006)

Ülkemizde de, yeni doğan ünitelerinde bebek ölümlerine ait haberler zaman zaman basında yer almakta ancak kaynağı konusunda yeterli açıklama bulunmamaktadır.

3.3 *E. sakazakii*’nin Antimikrobiyal Direnci

E. sakazakii’nin sebep olduğu bakteriyel menenjitin tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır. *E.sakazakii*’nin 35 klinik izolatının 69 farklı antimikrobiyal ajana karşı doğal antibiyotik duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada elde edilen sonuçlar, *E.sakazakii* izolatlarının β -laktam ve sefalosporin antibiyotiklerinin çoğuna duyarlı olduklarını, diğer yandan bakterinin benzilpenisiline ve oksasiline karşı göreceli olarak yüksek doğal dirence sahip olduğu belirlenmiştir (Stock ve Wiedemann, 2002). Bu sonuçlar, daha önce yayınlanmış olan verilerle benzerlik göstermektedir (Farmer ve diğ., 1980; Muytjens ve Ros-van de Repe, 1986).

Yetişkinlerde görülen *E. sakazakii* kaynaklı 3 enfeksiyon vakasında, ampisilin ve gentamisin kullanımı ile tedaviye olumlu sonuçlar alınmıştır (Nazorowec-White ve Farber, 1997b).

Enterobacter enfeksiyonlarının tedavisiyle ilgili ana problemlerden biri, antibiyotiğe dirençli klinik suşların ortaya çıkmasıdır. Yapılan bir çalışma, *Enterobacter* izolatlarının yaklaşık %14’ünün genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz ürettiklerini ve β -laktam antibiyotiklerine karşı direnç kazandırdıklarını göstermiştir (Paterson ve diğ.,2005). Bu sonuç, *E.sakazakii* dahil olmak üzere çeşitli *Enterobacter* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların bulunduğu daha önceki yapılan çalışmaları teyit etmektedir (Pitout ve diğ.,1997; Girlich ve diğ., 2001). Ayrıca,

Stock ve Wiedemann'ın (2002) elde ettikleri sonuçlar, bazı *E. sakazakii* suşlarının amoksisilin, sefalozin, sefoksitin ve sefiksim antibiyotiklerine karşı dirençli olduklarını göstermiştir. Bir yetişkindeki bir yara enfeksiyonundan alınan bir klinik *E.sakazakii* izolatının ampisiline, gentamisine ve sefotaksime direnç gösterdiği ve Kudüs'teki bir hastaneden alınan β -laktamaz-pozitif klinik izolatların ise sefazoline karşı yüksek direnç gösterdiği raporlanmıştır (Dennison ve Morris, 2002; Block ve diğ., 2002). Bu veriler *E.sakazakii*'yi β -laktamaza, bir dizi penisiline ve sefalosporine karşı direnç kazandıran gram-negatif patojenler arasında sınıflandırmaktadır. 1983 yılında ampisilin ve gentamisin ile *E.sakazakii* menenjitinin tedavisinin çok etkili olmadığı gözlemlenmiş ve bu durum bu antibiyotiklerin merkezi sinir sistemine düşük düzeyde penetrasyonu ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür (Muytjens ve diğ., 1983; Willis ve Robinson, 1988). Antibiyotik direncini engellemek ve daha iyi penetrasyonu sağlamak amacıyla, *E.sakazakii* menenjiti tedavisinin bir ikinci ajanla (örn. trimetoprim) birlikte genişletilmiş-spektrumlu sefalosporinler ile gerçekleştirilmesine karar verilmiştir (Lai, 2001; Block ve diğ., 2002).

3.4 *E. sakazakii*'nin Gıdalarda Bulunma Sıklığı Ve Kontaminasyon Kaynakları

E. sakazakii'nin çevresel bulaşma kaynakları olarak 2 tür sinek belirtilmektedir. Sineklerden birisi Meksika meyve sineği olan *Anastrepha ludens* dir, diğeri ise sıcak kanlı hayvanların ve sürüngenlerin kanı ile beslenen *Stomoxys calcitrans*'dır. Bakterinin yayılmasında *S. calcitrans*'ın önemli bir rolü olduğu belirtilmektedir (Friedemann, 2007). Süt tozu, tahıl ürünleri, çikolata, patates unu ve makarna fabrikaları ile ev ve hastane ortamlarından (biberon, biberon yıkama fırçaları vb.) *E. sakazakii*'nin izole edilmesi doğada yaygın olarak bulunduğu göstermektedir. Süt tozu fabrikalarındaki *E. sakazakii*'nin bulaşma kaynağı tam olarak bilinmemektedir (Kandhai ve diğ., 2004). *E. sakazakii*'nin gıda üretim ve ev ortamlarında varlığının araştırıldığı bir çalışmada süt tozu üreten 3 farklı fabrikadan alınan 152 örneğin 18'inde tespit edilmiştir (Lehner and Stephan, 2004).

E. sakazakii peynir, fermente ekmek, tofu, fermente et ürünleri, su gibi çok farklı gıda gruplarında tespit edilmesine rağmen toz halindeki bebek mamalarında bulunması bebek sağlığı açısından önem taşımaktadır. Toz haldeki formül mamalara içerdiği hassas bileşenler nedeniyle sterilizasyon işlemi uygulanmamaktadır. (Friedemann, 2007). Muytjens ve diğ. (1988), 35 ülkeden temin edilen 141 formül

mamanın 20'sini *E. sakazakii* açısından pozitif bulmuştur. Örneklerdeki *E. sakazakii* konsantrasyonu 0,36-66 kob/100 g seviyesinde bulunmuştur. 11 ülkeden 58 adet formül mamanın incelendiği bir başka çalışmada 8 ürün *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur (Leuscher ve diğ., 2004). Kanada'da satılan formül mamalarda yapılan bir araştırmada 120 kutu mama örneğinin 8'i (%6,7) *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur. 5 farklı üreticiden alınan 8 örnekteki *E. sakazakii* konsantrasyonu 0,36 kob/100g seviyesindedir (Nazorowec-White ve Farber, 1997c). Mısır'da satılan süt ürünlerinde yapılan bir taramada 137 örnekten 5 örnek *E. sakazakii* yönünden pozitif bulunmuştur. 35 yağsız süt tozundan 2'sinde, 14 peynir benzeri üründen 3'ünde *E. sakazakii* varlığı tespit edilmiştir (El-Sharoud ve diğ., 2008). İki farklı metod ile peynir benzeri bir ürün üretilmiş ve üretim esnasında *E. sakazakii* aşıl原因 olarak canlılığı incelenmiş, 1 ay boyunca canlılığını koruduğu saptanmıştır (El-Sharoud ve diğ., 2008).

31 adet bebek formülü ve bebek içeceğinde *E. sakazakii* varlığının araştırıldığı bir çalışmada 2 örnekte tespit edilmiştir. *E. sakazakii* sayısı 0,003 EMS/g ve 0,013 EMS/g olarak bulunmuştur (O'Brien ve diğ., 2009).

Konya'da üretilen 60 süt tozu, 50 peynir altı suyu tozu ve 50 beyaz peynir *E. sakazakii* varlığı yönünden incelenmiştir. Süt tozu örneklerinin %5'inde (3/60) ve beyaz peynir örneklerinin %4'ünde (2/50) *E. sakazakii* tespit edilmiştir. Peynir altı suyu tozu örneklerinde ise *E. sakazakii*'ye rastlanmamıştır (Gökmen ve diğ., 2010).

Bebek mamalarında *E. sakazakii* varlığının araştırıldığı 7 farklı çalışma incelendiğinde bu bakterinin bebek mamalarında bulunma sıklığının %2 ile %14 arasında değiştiği görülmektedir. Bu çalışmalardan 3'ünde *E. sakazakii* konsantrasyonu incelenmiş ve *E. sakazakii* sayısının 0.2 ile 92 kob/100g arasında değiştiği belirlenmiştir. Önemli olan husus, literatürde yapılan çalışmalarda bebek mamalarındaki *E. sakazakii* sayısının asla 1 kob/g'dan yüksek düzeylerde rapor edilmemiş olmasıdır (Fanning ve Forsythe, 2008).

Süt ürünleri dışında da bu bakterinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Korede "sunsik" adı verilen kızartılmış bir tahıl ürününün mikroflorasının araştırıldığı çalışmada 36 örneğin %28'inde toplam bakteri sayısı >5kob/g olarak bulunmuştur. Mikroflorada bulunan diğer mikroorganizmalar sırasıyla: %33 koliform, %4 *Escherichia coli*, %42 *Bacillus cereus*, %6 *Clostridium perfringens* ve %45 *E.*

sakazakii' dir (Lee ve diğ., 2007). Koredeki farklı gıda örneklerinde *E. sakazakii* varlığı incelenmiş kurutulmuş karidesin en yüksek kontaminasyon oranına sahip olduğu görülmüştür. İzolatların çoğunun ampisilin veya sephalotin antibiyotiklerine dirençli olduğu belirlenmiştir (Kim ve diğ., 2008).

E. sakazakii'nin bebek mamalarına bulaşması iki yolla gerçekleşmektedir. Bu yollardan birincisi üretim aşamasında kullanılan hammaddeler ve pastörizasyondan sonra, paketlenmeden önce ilave edilen katkı maddeleri, ikincisi ise mama hazırlanırken kullanılan iyi temizlenmemiş biberon, kaşık gibi malzemelerdir (Mullane ve diğ., 2006). Bebek mamaları steril ürünler değildir ve hazırlanması esnasında dikkat edilmesi gereken bazı hususlar bulunmaktadır. Bunlar mamanın hazırlanmasında kullanılan suyun hijyenik kalitesi, mamanın hazırlandıktan sonra saklama sıcaklığı ve süresidir (Estuningish and Sani, 2008). İçinde mama bulunan ve *E. sakazakii* konsantrasyonu 1 kob/ml olan biberonlar oda sıcaklığında tutulduğunda 10 saat sonunda $>10^7$ kob/100ml konsantrasyona ulaşmaktadır (Oh ve diğ., 2007). Bu sebepten mamalar hazırlanırken hijyenik koşullara dikkat edilmeli, mamalar taze olarak ve 70°C'nin üzerindeki sıcaklıklardaki su kullanılarak hazırlanmalı, hazırlandıktan sonra 4 saat içerisinde tüketilmeli ve biberon ısıtıcıları mamaları sıcak tutmak için 15 dakikadan fazla kullanılmamalıdır (FAO ve WHO, 2004). A.B.D.'de 2002 yılında Kasım ayında *E. sakazakii* varlığı nedeniyle 1.5 milyon kutu bebek maması piyasadan geri toplanmıştır (Al-Holy ve diğ., 2008).

3.5 *E. sakazakii* Analiz Yöntemleri

Kültürel metotlar ile *E. sakazakii* analizinde genel olarak zenginleştirme, seçici besiyerinde izolasyon, biyokimyasal doğrulama basamakları bulunmaktadır. A.B.D.'deki Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2002 yılında yayınlanan "Toz bebek mamalarından *E. sakazakii* izolasyonu ve sayımı metodu" ile ISO (International Organization for Standardization) ve IDF (International Dairy Federation) tarafından 2006 yılında ortaklaşa yayınlanan "Süt ve süt ürünlerinde *E. sakazakii* aranması" metotları bulunmaktadır (FDA., 2002; ISO/IDF., 2006).

FDA metoduna göre; örnekler 100 g, 10 g ve 1 g miktarında tartıldıktan sonra, üzerlerine 45°C 'ye ısıtılmış steril distile su ilave edilerek karıştırılır. 36°C'de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra her bir dilüsyondan 10'ar mL alınarak 90 mL Enterobacteriaceae Enrichment Broth bulunan şişelere aktarılır ve 36°C 'de 24 saat

inkübe edilir. Violet red bile glucose (VRBG) agar bulunan petrilere steril öze ile sürme ekim yapılarak 36 °C’de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra şüpheli 5 adet *E. sakazakii* kolonisinden Triptik soy agar (TSA) petrilerine sürme ekim ile bakteri izole edilerek 25°C’de 48-72 saat inkübe edilir ve sarı pigment oluşumu incelenir. Sarı pigment oluşturan kolonilerin biyokimyasal doğrulaması yapılır. Her bir dilüsyondan pozitif bulunan tüplerin sayısına göre En Muhtemel Sayı (EMS) tablosundan örnekteki *E. sakazakii* sayısı (EMS/g) hesaplanır (FDA., 2002).

E. sakazakii ’nin FDA metoduna göre analizinin 7 gün gibi uzun bir sürede gerçekleştirilmesi sebebiyle daha kısa sürede sonuç verebilecek farklı metodlar ve besiyerleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. *E. sakazakii*’ nin sarı renkli pigment oluşturmaları, α -glukosidaz pozitif olmasından faydalanılarak geliştirilen metodlar ile gıda ve sıvı örneklerinden 5 günde doğrulanmış pozitif sonuçlar elde edilebilmektedir (Gentil ve diğ.,2005).

Gentil ve diğ., (2005) tarafından önerilen metot ISO ve IDF’in ortak oluşturduğu metot ile benzerlik göstermektedir. ISO 22964 IDF/RM 210 (2006) metodun da ise; x gram örnek 9x mL tamponlanmış peptonlu su içerisine tartılarak 37°C’de 18 $\pm$ 2 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra vankomisin ilave edilmiş modifiye lauryl sulfate tryptose broth besiyeri (10 mL) seçici zenginleştirme sıvısına 0.1 mL ilave edilerek 44°C’de 24 $\pm$ 2 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra kromojenik agar üzerine öze ile sürme ekim yapılır ve petrilere 44°C’de 24 $\pm$ 2 saat inkübe edilir. Kromojenik agar ticari besiyeri üreten farklı firmalardan toz formda veya kullanıma hazır petride temin edilebilir. Bu amaçla kullanılacak besiyerleri ve oluşan kolonilerin renkleri Çizelge 3.4’de verilmiştir (Lehner ve Stephan, 2004; Manafı ve Lang, 2005; Restaino ve diğ., 2006; Iversen ve Forsythe, 2007; Sylviane ve diğ., 2007). Kromojenik agarda görülen tipik kolonilerin doğrulanması için tryptone soya agar’a öze ile sürme ekim yapılarak 25°C’de 48 $\pm$ 4 saat inkübasyon sonrasında sarı pigment oluşumu incelenir ve biyokimyasal analizler yapılır (ISO/IDF, 2006). Biyokimyasal doğrulama aşamasında, doğrulama kitleri kullanılarak identifikasyon da yapılabilmektedir (Fanjat ve diğ., 2007).

E. sakazakii triptik soy agar (TSA), beyin-kalp infüzyon agar (BHI) ve kanlı agarda 48-72 saatlik inkübasyon periyodundan sonra sarı pigmentli koloniler halinde gözlenmektedir. Analizlerinde, tanımlayıcı özellik olarak kullanılan sarı pigment oluşumuna 25°C’de 36°C’ye göre daha fazla rastlandığı ve pigment oluşumunun

farklı suşlarda değişiklik gösterebildiği belirtilmektedir. Katı besiyerinde mat-viskoz veya parlak-düzgün koloniler oluşturmaktadır (Lehner ve Stephan, 2004). Koloni morfolojilerindeki bu değişim, Oh ve diğ., (2007)'nın klinik kökenli *E. sakazakii* suşlarında da gözlenmiş ve infeksiyon esnasında da selüloz üretmelerinin, koloni morfolojilerinde kendine özgü kıvrımlı bir değişikliğe neden olması ile açıklanmıştır.

Çizelge 3.4 : *E. sakazakii* analizinde kullanılan kromojenik agarlar.

Üretici Firma	Besiyeri Adı	<i>E. sakazakii</i> kolonileri
AES	ESIA® Agar	Mavi koloniler
Biokar Diagnostics	COMPASS <i>E.sakazakii</i> Agar	Mavi-yeşil koloniler
Biomerieux	Chrom ID™ Sakazakii Agar	Mavi-gri'den mavi siyaha kadar değişen renklerdeki koloniler. Nadiren yeşil-siyah koloniler
LAB M	Harlequin™ Cronobacter sakazakii Isolation Medium (CSIM)	Mavi-yeşil koloniler
Merck	ChromoCult® <i>E. sakazakii</i> Agar	Turkuaz renkli koloniler
Oxoid	Chromogenic <i>E. sakazakii</i> Agar (DFI formülasyonu)	Mavi yeşil koloniler
R&F Laboratories	R&F® <i>E. sakazakii</i> Chromogenic Plating Medium	Zonlu veya zonsuz mavi-siyah ve mavi-gri koloniler
Sigma-Aldrich	HiCrome™ <i>E.sakazakii</i> Agar	Mavi-yeşil koloniler

64 farklı *E.sakazakii* suşunun FDA metodu ve 2 farklı kromojenik besiyerinin kullanıldığı *E. sakazakii* metodu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) metodu ile analizinin karşılaştırıldığı bir çalışmada FDA metodunun hassasiyeti %87, seçiciliği %71, doğruluğu %74 olarak elde edilmiştir. Chromocult ES agar ve Druggan Forsythe and Iversen (DFI) agarın kullanıldığı metodun hassasiyeti %100, seçiciliği %98, doğruluğu %98 olarak raporlanmıştır. TSA'dan izole edilen kültürler 16S ribozomal DNA (rDNA) sekansı ile identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PZR metodunda literatürde *E. sakazakii* için belirtilen türe spesifik 6 farklı primer çiftleri kullanılmıştır. PZR amplifikasyonunun seçiciliği %8 ila %92 arasında değişmektedir. Esakf/Esakr primerinin *E. sakazakii* identifikasyonu ve tespiti için en uygun primerler olduğu belirlenmiştir. Esakf/Esakr primerleri kullanılarak gerçekleştirilen

PZR metodunun tespit limiti 10^4 kob/ml olarak elde edilmiştir. Sonuç olarak FDA metodunun hassasiyeti, doğruluğu ve seçiciliğinin artırılması amacıyla revize edilmesi gerekliliği raporlanmıştır (Cawthorn and Witthuhn, 2008).

E. sakazakii'nin hücre dışına salgıladığı DNAaz, toluidine blue agarda 36°C'de 7 günde, α -glukosidaz aktivitesi ise 4-nitrofenil- α -D-glukopyranosid ile 36°C'de 4 saatte tespit edilebilmektedir. Bu özellikler *Enterobacter* türleri içerisinde sadece *E. sakazakii*'ye özgüdür. *E. sakazakii* tayinlerinde kromojenik besiyeri kullanılarak diğer *Enterobacter* türlerinden ayırımında da bu özelliklerden faydalanılmaktadır (Muyltjens ve diğ., 1984; Lehner ve Stephan, 2004; Leuschner ve Bew, 2004; Oh ve Kang, 2004).

E. sakazakii cinsi bakterilerin analizinde, ön zenginleştirme basamağında kullanılan modifiye lauryl sülfate trptose broth (mLST) ve Enterobacteriaceae enrichment broth'da, bazı suşların geri kazanımlarının düşük olması sebebiyle alternatif olarak *Cronobacter* screening broth (CSB) geliştirilmiştir. ISO/TS 22964 metodunun hassasiyeti %92, CSB kullanılan metodun hassasiyeti ise %94 bulunmuştur (Iversen ve Forsythe, 2007; Iversen ve diğ., 2008b).

2007 yılında yapılan bir çalışmada *E. sakazakii*'nin analizinde kullanılabilecek tüm önzenginleştirme ve katı besiyerleri karşılaştırılmış ve mevcut besiyerlerinin *E. sakazakii*'nin tüm fenotiplerinin gelişimi için yeterli olmadığı ve farklı besiyeri formülasyonları oluşturabilmek için araştırmalara devam edilmesi önerilmiştir (Iversen ve Forsythe, 2007). Hasar görmüş *E. sakazakii* hücrelerinin geri kazanımının incelendiği bir çalışmada %0,1 konsantrasyonunda sodyum pirüvat ilave edilmiş ve çift kat dökülmüş triptik soy agar kullanımı önerilmiştir (Al-Holy ve diğ., 2008).

E. sakazakii analizi kültürel yöntemler ile yaklaşık olarak 6-7 günde sonuçlanmaktadır. Moleküler yöntemler ile daha kısa sürede sonuç alınabilmesi sebebiyle günümüzde ticari olarak kullanıma hazır kitlere olan talep artmaktadır. Hızlı moleküler yöntemlerden biri olan Dupont BAX® sistemi (PZR) ile gıda ve çevresel örneklerde *E. sakazakii* varlığı ön zenginleştirme işleminin (23-25 saat) ardından 4 saat gibi kısa bir sürede tespit edilebilmektedir (Lehner ve Stephan, 2004; Dupont, 2005; Lehner ve diğ., 2010).

BAX® cihazı ile *E. sakazakii* analizi Nestle firması, Health Canada ve People's Republic of China tarafından onaylanmıştır (Marugg ve diğ., 2003; Anon., 2010b).

PZR belirli bir DNA parçasının milyonlarca kopyasını hızlı bir şekilde sağlamak için güçlü bir metottur. Tipik bir uygulamada, örnek DNA polimeraz, nükleotidler ve belirli bir nükleotid dizisi için özgün primerler ile birleştirilmiştir. Bu karışım daha sonra belirli sürelerde ısıtma ve soğutma çevrimleri içeren bir dizi işleme tabi tutulmaktadır. Isıtma DNA'yı denatüre eder veya tek iplikçik halinde ayırır, daha sonra karışım soğudukça primerler hedef DNA sekansını tanır ve yapışır. DNA polimeraz sonra nükleotidleri kullanarak primerlerin uzamasını sağlar ve böylece hedef DNA parçasının iki kopyasını oluşturur. Bu denatürasyon, yapışma ve uzama işlemleri her döngüde tekrar edilerek birkaç saat içerisinde hedef DNA parçalarının sayısını eksponansiyel olarak arttırmaktadır. Eğer hedef sekans yoksa, tespit edilebilir bir amplifikasyon gerçekleşmez. BAX ® sistemi PZR tüplerinde yer alan tek bir tablet içine primer, polimeraz, nükleotidler ve pozitif kontrolü birleştirerek bu süreci kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, otomatik floresan tespiti tüplerin kapalı bir şekilde analizinin yapılmasına olanak sağlayarak, amplifiye DNA'dan kaynaklanabilecek kontaminasyonu engellemektedir (Anon., 2003).

BAX® PZR testinde analizi yapılmak istenen patojene spesifik primerler her bir döngüde oluşan ampliconların tespit edilmesi için kullanılan bir boya ile birleştirilmiştir. Analizi yapılmak istenen gıda örneği seçici bir besiyerinde önzenginleştirme işlemine tabi tutulur. Daha sonra DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Daha sonra 96 kuyucuk içeren matrikste 94 örnek aynı anda analize alınabilir. Her bir analizde bir pozitif kontrol ve bir negatif kontrol kullanılmaktadır. Amplifikasyon işleminde elde edilen ürünler gerçek zamanlı olarak SYBR Green I floresans boyası ile tespit edilmektedir. Bu florojenik boya istenen hedef moleküle spesifik değildir ve bu sebepten PZR analizi sonrası erime eğrileri incelenip yanlış veya spesifik olmayan amplikonların değerlendirme dışı bırakılması gerekmektedir. (Sanches, 2006; Lehner ve diğ., 2010).

4. MATERYAL VE METOT

4.1 Çalışmada Kullanılan Materyal

Çalışmada kullanılan toplam 114 örnek 2008 ve 2009 yıllarında piyasadan ve süt tozu üreticilerinden orjinal ambalajlarında temin edilmiştir. Örnekler temin edildiği gün analize alınmıştır. Gerekli olduğu durumda örnekler -20°C’de muhafaza edilmiştir. Çalışmada kullanılan örnek çeşidi ve sayısı Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 : Örneklerin çeşidi ve sayısı.

Örnek Çeşidi	Sayısı
Formül bebek maması	40
Süt tozu	25
Peynir	19
Ek besin	15
Peynir altı suyu tozu	15
Toplam	114

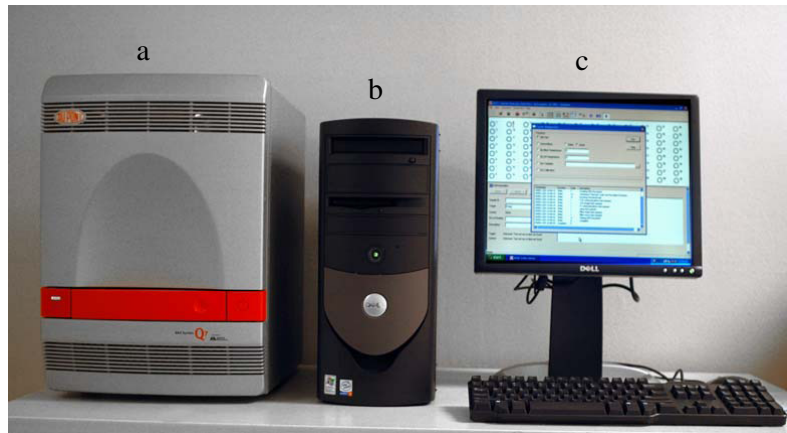
4.2 *Enterobacter sakazakii* Analizi

Çalışma kapsamında örneklerde *Enterobacter sakazakii* varlığı ISO/Teknik spesifikasyon (TS) 22964 - IDF/ Revize metot 210 (2006) metodu ve Dupont BAX firmasına ait PZR cihazı ile incelenmiştir (ISO / IDF, 2006).

ISO 22964 ve IDF 210 metodunda; 25 gram örnek steril laboratuvar şişesine tartılarak 225 mL tamponlanmış peptonlu su ilave edilmiş ve 37±1°C’de 18±2 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda vankomisin ve sodyum klorür (NaCl) ilave edilmiş modifiye lauryl sulfate tryptose broth (mLST) besiyeri (10 mL) seçici zenginleştirme sıvısına 0,1 mL aktarılarak 44±0,5°C’de 24±2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kromojenik agar üzerine öze ile sürme ekim yapılarak 44±1°C’de 24±2 saat inkübe edilmiştir. Metotda farklı markaların ticari olarak kullanıma sunduğu kromojenik agarların kullanılabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada kromojenik agar olarak Oxoid CM 1055 nolu “DFI (Druggan, Forsythe, Iversen)-Kromojenik *E. sakazakii* agar” kullanılmıştır. Bu besiyerinin formülasyonunu geliştiren Iversen ve Forsythe (2007), inkübasyon süre ve sıcaklığını

37°C’de 24 saat olarak belirtmişlerdir. Bu sebepten ekim yapılan petriler 44°C ve 37°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Mavi yeşil koloniler şüpheli *E. sakazakii* bakterileri olarak kayıt edilmiş ve doğrulama işlemine geçilmiştir. Tryptone soya agar’a öze ile sürme ekim yapılarak 25 ± 1 °C’de 48 ± 4 saat inkübasyon sonrasında sarı pigment oluşumu gözlenen kolonilere biyokimyasal doğrulama yapılmıştır. Biyokimyasal doğrulama için Biomerieux firmasına ait API 20 E kitleri kullanılmıştır. Analizler firmanın verdiği prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Biomerieux, 2008a).

PZR tekniği ile *E. sakazakii* analizinde Dupont firmasına ait Qualicon BAX Q7 cihazı ve bu cihaz için geliştirilmiş olan PZR kitleri kullanılmış, analizler firmanın verdiği prosedürler takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan cihazın görüntüsü Şekil 4.1’de verilmiştir (Dupont, 2005).



Şekil 4.1 : Dupont Qualicon BAX Q7 cihazı.

Şekil 4.1’de a: PZR cihazı, b: sistemin bağlandığı bilgisayar kasası, c: sonuçların değerlendirildiği ekran görülmektedir.

Çalışmada kullanılan PZR kitleri toz bebek mamaları, süt ve soya ürünleri ve sıvı örnekleri için geliştirilmiştir. BAX sistemine ait *E. sakazakii* tespit kitleri lysis tamponu, proteaz enzimi, 96 adet PZR tüpü ve tableti ve 96 adet PZR tüpü için optik kapaklar içermektedir.

25 g örnek üzerine, 10 mg vankomisin içeren 1 litre mLST besiyerinden 225 mL ilave edilip stomacher blenderda (Seward marka) homojenize edilmiş, 45 ± 1 °C’de 20-22 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda 10 µL örnek 500 µL Brain Heart

Infusion broth (BHI) besiyeri içeren steril tüplere aktarılmıştır. Bu besiyeri 37°C'de 3 saat inkübe edilmiştir.

Lysis çözeltisi hazırlamak için 150 µL proteaz enzimi 12 mL'lik lysis tamponu içerisine aktarılmıştır. Bu çözeltiden her bir tüpe 200 µL dağıtılmıştır. Analiz için önzenginleştirme yapılmış örnekten (BHI) 5 µL alınarak tüplerin içerisine ilave edilmiştir. Tüplerin kapakları kapatılarak ısıtma bloklarına yerleştirilip 37±2°C'de 20 dakika ve 95±3°C'de 10 dakika bekletilmiştir. Isıtma işlemi tamamlanınca tüm tüpler soğutma bloklarında 5 dakika boyunca soğutulmuştur. Bu lysate'dan 50 µL *E. sakazakii* için özel olarak hazırlanmış PZR tabletleri içeren tüplere aktarılmış ve tüplerin üstleri optik kapaklarla kapatılmıştır. Kitler cihaza yerleştirilerek, cihaza ait program çalıştırılmış 3,5 saat sonra cihazdan sonuçlar pozitif veya negatif olarak elde edilmiştir (Dupont, 2005).

E. sakazakii açısından pozitif olan örneklerdeki *E. sakazakii* sayısının belirlenmesi amacıyla FDA (2002) metodu kullanılmıştır. Bu metoda göre; örnekler 2 L, 250 mL ve 125 mL'lik steril erlenlere sırasıyla üç paralel olarak 100g, 10 g ve 1g tartılmıştır. Üzerlerine 1:10 oranında dilüsyon olacak şekilde 45°C'ye ısıtılmış steril distile su ilave edilerek elde karıştırılmış 36±1°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası her bir dilüsyondan 10'ar mL alınarak 90 mL Enterobacteriaceae Enrichment Broth bulunan şişelere aktarılmış, 36±1 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında violet red bile glucose (VRBG) agar petrilere steril öze ile sürme ekim yapılarak 36 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası her petriden şüpheli 5 *E. sakazakii* kolonisi Triptik soy agar (TSA) petrilere sürme ekim ile izole edilerek 25±1°C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında sarı pigment oluşumu incelenip kayıt edilmiştir. Biyokimyasal doğrulama için Biomerieux firmasına ait API 20 E kitleri kullanılmıştır. Analizler firmanın verdiği prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Biomerieux, 2008a). Her bir dilüsyondan pozitif bulunan tüplerin sayısına göre En Muhtemel Sayı (EMS) tablosundan örnekteki *E. sakazakii* sayısı EMS/g biriminden hesaplanmıştır.

4.2.1 Örneklerden izole edilen *E. sakazakii* suşlarının saklanması

Örneklerden izole edilen 7 adet *E. sakazakii* suşu ve referans kültür olarak kullanılan ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* suşu % 20 gliserol içeren 10 mL Brain Heart

Infusion Broth (BHI)'a aşılanıp 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında -18°C'de stok kültür olarak saklanmıştır.

Çalışmalarda kullanılacak olan suşlar TSA içeren petrilere öze ile sürme ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Petride gelişen bakterilerden öze ile tek koloni alınarak MAST firmasına ait Cryobank adı verilen içerisinde bakteriyi soğuk ortamdan koruyan sıvı (Cryopreservative liquid) ve boncuklar bulunan bakteri saklama tüplerine aktarılmıştır. Steril bir pipet yardımıyla bu sıvı uzaklaştırılıp, boncuklar -18°C'de saklanmıştır.

4.3 Örneklerin Mikrobiyal Yükünün Belirlenmesi

E. sakazakii açısından pozitif bulunan örnekler Enterobacteriaceae, mezofilik aerobik bakteri, koliform bakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, küf ve maya açısından incelenmiştir.

4.3.1 Enterobacteriaceae analizi

Örneklerdeki Enterobacteriaceae sayısının belirlenmesi amacıyla ISO 21528-2 “Gıda ve yemlerde Enterobacteriaceae sayısının koloni sayım tekniği ile belirlenmesi” metodu kullanılmıştır (ISO 21528-2, 2004). Bu metoda göre 25 g tartım yapılan örneklerle 225 mL peptonlu su ilave edilerek stomacher blenderda (Seward marka) yüksek devirde 2 dakika homojenize edilmiştir. Hazırlanan ilk dilüsyondan 1 mL steril pipet ile alınarak içerisinde 9 mL peptonlu su bulunan dilüsyon sıvısına aktarılıp tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlem tekrar edilerek ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL inokulum alınarak steril petri kutularına aktarılmıştır. Petrilere 15 mL dökülerek petrilere yatay zeminde hareket ettirilerek besiyeri ile inokulumun karışması sağlanmıştır. İşlemler paralel petrilere ekilerek tekrarlanmıştır. Besiyerleri katılaştıktan sonra yaklaşık 5 mL VRBD ikinci kat olarak petrilere dökülüp katılaşması beklenmiştir. Petrilere ters çevrilerek 35-37°C'de 1 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilere oluşan 1-2 mm çapında kırmızı koloniler sayılıp kaydedilerek, oksidaz testi yapılmıştır. Oksidaz negatif koloniler dilüsyon faktörü ile çarpılmış ve sonuçlar kob/g biriminden hesaplanmıştır.

4.3.2 Mezofilik aerobik bakteri analizi

Örneklerdeki toplam bakteri sayısı ISO 4833 “Gıda ve yemlerde toplam bakteri sayısının belirlenmesi” metoduna göre belirlenmiştir (ISO 4833, 2003). Bu metoda göre 25 g örnek 225 mL peptonlu su ile stomacher blenderda yüksek devirde 2 dakika homojenize edilmiştir. Hazırlanan ilk dilüsyondan 1 mL steril pipet ile alınarak içerisinde 9 mL peptonlu su bulunan dilüsyon sıvısına aktarılıp tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlem tekrar edilerek ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL inokulum alınarak steril petri kutularına aktarılmıştır. Petrilere 15 mL plate count agar (PCA) dökülerek petrilere yatay zeminde hareket ettirilerek besiyeri ile inokulumun karışması sağlanmıştır. İşlemler paralel petrilere ekilerek tekrarlanmıştır. Besiyerleri katılaştıktan sonra ters çevrilerek $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilere oluşan koloniler sayılıp kaydedilerek dilüsyon faktörü ile çarpılmış ve sonuçlar kob/g biriminden hesaplanmıştır.

4.3.3 Koliform ve *Escherichia coli* analizi

Örneklerdeki koliform ve *E. coli* bakteri sayısının belirlenmesi amacıyla sırasıyla ISO 4831 “Gıda ve yemlerde en muhtemel sayı (EMS) metodu ile koliform bakteri sayısının belirlenmesi” ve ISO 7251 “Gıda ve yemlerde en muhtemel sayı (EMS) metodu ile *E. coli* sayısının belirlenmesi” metodları kullanılmıştır (ISO 4831, 2006; ISO 7251, 2005). Bu metoda göre 25 g örnek 225 mL peptonlu su ile stomacher blenderda yüksek devirde 2 dakika homojenize edilmiştir. Hazırlanan ilk dilüsyondan 1 mL steril pipet ile alınarak içerisinde 9 mL peptonlu su bulunan dilüsyon sıvısına aktarılıp tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlem tekrar edilerek ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL inokulum alınarak içerisinde 10 mL lauryl tryptose broth (LST) ve ters çevrilmiş durham tüpleri bulunan deney tüplerine 3 tekrarlı dağıtılmıştır. İleri iki dilüsyon için bu işlem tekrarlanmıştır. Ekimi tamamlanan tüpler $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda gaz oluşumu tespit edilmedi ise inkübasyon süresi 48 ± 2 saate kadar uzatılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gaz oluşumu gözlenen tüplerde koliform ve *E.coli* için doğrulama aşamasına geçilmiştir. Koliform metodunun doğrulama işleminde gaz oluşumu gözlenen tüplerden steril bir öze yardımıyla içerisinde ters çevrilmiş durham tüpü ve 10 mL brilliant green lactose bile broth (BGLB) içeren

tüplere inokülasyon yapılmıştır. Ekimi tamamlanan tüpler 35-37°C’de 24±2 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda gaz varlığı tespit edilmedi ise inkübasyon süresi 48±2 saate kadar uzatılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda gaz oluşumu gözlenen tüpler ve dilüsyonları kayıt edilerek EMS tablosundan bu değerlere karşı gelen bakteri sayısı EMS/g biriminden hesaplanmıştır. *E. coli* metodunun doğrulama işleminde gaz oluşumu gözlenen LST tüplerinden steril bir öze yardımıyla içerisinde ters çevrilmiş durham tüpü ve 10 mL EC broth içeren 44°C’ye ısıtılmış tüplere inokülasyon yapılmıştır. Ekimi tamamlanan tüpler 44±1°C’e ayarlı su banyosunda 24±2 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda gaz oluşumu tespit edilmedi ise inkübasyon süresi 48±2 saate kadar uzatılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda gaz oluşumu gözlenen EC tüpleri ve dilüsyonları kayıt edilerek, önceden 44°C’ye ısıtılmış 5 mL triptonlu su (kazeinden elde edilen pepton: 10g/L, NaCl: 5g/L) içeren tüplere steril bir öze ile inokülasyon yapılmıştır. Ekimi tamamlanan tüpler 44±1°C’e ayarlı su banyosunda 48 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda her bir tüpe 0,5 mL indol reaktifi ilave edilip 1 dakika sonra incelenmiştir. Her dilüsyon için yüzeyde kırmızı renk oluşan tüplerde indol varlığını tespit edilmiştir ve tüpler kayıt edilmiştir. EMS tablosundan indol açısından pozitif olan tüp sayısı ve dilüsyonlara karşı gelen bakteri sayısı EMS/g biriminden hesaplanmıştır.

4.3.4 *Staphylococcus aureus* analizi

Örneklerdeki *S. aureus* sayısının belirlenmesi amacıyla ISO 6888-1 “Gıda ve yemlerde koagülaz pozitif stafilokokların sayısının belirlenmesi” metodu kullanılmıştır (ISO 6888-1, 1999). Bu metoda göre 25 g örnek 225 mL peptonlu su ile stomacher blenderda yüksek devirde 2 dakika homojenize edilmiştir. Hazırlanan ilk dilüsyondan 1 mL steril pipet ile alınarak içerisinde 9 mL peptonlu su bulunan dilüsyon sıvısına aktarılıp tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlem tekrar edilerek ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1’er mL inokulum alınarak içerisinde baird parker (BP) agar içeren 3’er adet petri kutusuna 0,3 mL, 0,3 mL ve 0,4 mL aktarılmıştır. Steril drigalski çubuğu yardımıyla inokulum besiyerinin yüzeyine yayılmıştır. Petriler ters çevrilerek 37°C’de 2 gün inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda petrilerde oluşan tipik koloniler şüpheli koloniler olarak kaydedilerek koagülaz testi ile doğrulama aşamasına geçilmiştir. Metotda tipik *S. aureus* kolonileri; düzgün, dairesel, dışbükey, 2-3 mm çapında griden siyaha değişen renklerde, kenarları açık renkli, opak veya berrak bir zonla çevrili koloniler olarak

belirtilmiştir. Koagülaz testi için seçilmiş olan her koloni steril bir öze ile alınmış ve içerisinde 10 mL BHI besiyeri içeren tüplere aktarılmıştır. Besiyeri $36\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de, 18-24 saat inkübe edilmiştir. Steril hemoliz tüplerinde bulunan 0,3 mL tavşan plazması üzerine her kültürden 0,1 mL ilave edilerek ve $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 4-6 saatlerinde plazmanın pıhtılaşp pıhtılaşmadığı incelenmiştir. Eğer pıhtılaşma görülmedi ise 24 saat tekrar inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda tekrar incelenmiştir. Eğer pıhtı hacminin işgal ettiği yer, sıvının orijinal hacminin yarısından fazla ise, koagülaz testi pozitif olarak kayıt edilmiştir. Her bir petriden 5 şüpheli koloni için bu işlem tekrarlanmıştır. Koagülaz pozitif koloni sayısı ile petrideki tüm koloni sayısı arasında orantı kurulup dilüsyon faktörü ile çarpılmış ve örneklerdeki *S. aureus* sayısı kob/g biriminden hesaplanmıştır.

4.3.5 *Listeria monocytogenes* analizi

Örneklerdeki *Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi amacıyla ISO 11290-1 metodu ve ISO 11290-1 AMD sayılı revize metot kullanılmıştır (ISO 11290-1, 1996; ISO 11290-1 AMD 2004).

25 gram örnek steril laboratuvar şişesine tartılarak 225 mL half fraser broth besiyeri ilave edilmiş ve $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında steril bir öze yardımı ile Ottoviani ve Agosti (ALOA) agar ve Oxford agar yüzeyine sürme ekim yapıp, petriler $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Half fraser broth'dan aynı zamanda 0,1 mL alınarak 10 mL full fraser broth içeren besiyerinde seçici zenginleştirme amacıyla geçiş yapılmıştır. Fraser broth besiyeri $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilerek, inkübasyon süresi sonunda yukarıda anlatılan katı besiyerine geçiş işlemleri tekrarlanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda petriler tipik koloni açısından incelenmiştir. ALOA agarda tipik *L. monocytogenes* kolonileri mavi yeşil renkli etrafları opak bir zon ile çevrilmiştir. Oxford agarda tipik *Listeria* spp. kolonileri küçük grimsi ve siyah bir hale ile çevrilidir. 48 saat sonra koloniler; ortası çökmüş, siyah haleli, yaklaşık 2 mm çapında ve parlak yeşildir. Doğrulama aşamasında, tipik kolonilerin görüldüğü petrilere beşer koloni seçilerek, steril bir öze yardımı ile tryptone soya agar'a öze ile sürme ekim yapıp $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen kolonilere biyokimyasal doğrulama işlemleri yapılmıştır. Biyokimyasal doğrulama için Biomerieux firmasına ait API *Listeria*

kitleri kullanılmıştır. Analizler firmanın verdiği prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Biomerieux, 2008b).

4.3.6 *Salmonella* analizi

Örneklerdeki *Salmonella* varlığının belirlenmesi amacıyla ISO 6579 metodu kullanılmıştır (ISO 6579, 2002). 25 gram örnek steril laboratuvar şişesine tartılarak 225 mL tamponlanmış peptonlu su ilave edilmiş ve 35-37°C'de 18 ±2 saat inkübe edilmiştir. Selektif olmayan önzenginleştirme işleminden sonra, selektif zenginleştirme işlemi için kültürün 0.1 mL' si 10 mL rappaport vassiliadis broth (RV) besiyeri içeren tüpe ve 1 mL' si 10 mL muller-kauffmann tetrathionate novobiocin broth (MKTn) besiyeri içeren tüplere aktarılmıştır. RV besiyeri 41,5±1°C' de 24±3 saat, MKTn besiyeri 37±1°C'de 24±3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra RV besiyeri ve MKTn besiyerlerinden ayrı ayrı seçici katı besiyerlerine öze ile sürme ekim yapılmıştır. Bu amaçla xylose lysine deoxycholate agar (XLD) ve brilliant green phenol red agar (BGPR) besiyerleri kullanılmıştır. Ekim yapılmış petriler 37±1°C'de 24±3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra görülen tipik kolonileri doğrulama aşamasına geçilmiştir. XLD agarda tipik *Salmonella* kolonisi; siyah merkezli, parlak saydam zonlu ve kırmızı renkli kolonilerdir. *Salmonella*'nın H₂S negatif suşları (*S. paratyphi* A) XLD agar'da koyu pembe merkezli pembe koloniler oluşturur. Laktoz pozitif *Salmonella* suşları siyahlaşma gösteren veya göstermeyen sarı koloniler oluşturur. BGPR agarda gelişen *Salmonella*'nın tipik kolonileri parlak kırmızı zonlu kırmızı-pembe merkezlidir. Doğrulama aşamasında, tipik kolonilerin görüldüğü petrilere beşer koloni seçilerek, steril bir öze yardımı ile tryptone soya agar'a öze ile sürme ekim yapıp 35-37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen kolonilere biyokimyasal doğrulama işlemleri yapılmıştır. Biyokimyasal doğrulama için Biomerieux firmasına ait API 20 E kitleri kullanılmıştır. Analizler firmanın verdiği prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Anon., 2008a).

4.3.7 Küf ve maya analizi

Örneklerdeki toplam bakteri sayısının belirlenmesi amacıyla ISO 21527-2 Su aktivitesi 0,95'e eşit veya düşük gıda ve yemlerde küf ve maya sayısının belirlenmesi metodu kullanılmıştır (ISO 21527-2, 2008). Bu metoda göre 25 g örnek 225 mL peptonlu su ile stomacher blenderda yüksek devirde 2 dakika homojenize edilmiştir.

Hazırlanan ilk dilüsyondan 1 mL steril pipet ile alınarak içerisinde 9 mL peptonlu su bulunan dilüsyon sıvısına aktarılıp tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlem tekrar edilerek ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1'er mL inokulum alınarak içerisinde dichloran %18 glycerol agar (DG18) besiyeri içeren petri kutularına aktarılmıştır. İşlemler paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Besiyerleri $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilere oluşan koloniler sayılıp dilüsyon faktörü ile çarpılmış ve sonuçlar kob/g biriminden hesaplanmıştır.

4.4 D Değerlerinin Belirlenmesi

Örneklerden izole edilen 7 adet *E. sakazakii* suşunun ve ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* suşunun D değerlerinin belirlenmesi Osaili ve diğ. (2008) ve Iversen ve diğ. (2004b)'e göre yapılmıştır. 52, 54, 56, 58, 60°C sıcaklıklar için D değerleri belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılacak olan *E. sakazakii* suşları bakteri saklama boncuklarından birer adet alınarak 10 mL BHI içeren tüplere aktarılıp 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu işlem 3 defa pasaj ile tekrarlanmıştır. Bakteri içeren BHI besiyeri Gerber marka santrifüj kullanılarak (3000g, 20 dk.) santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrasında yüzeyde kalan sıvı (supernatant) aseptik koşullarda boşaltılarak santrifüj tüpünün dibinde kalan bakteri kültürü 2 mL % 0,1'lik peptonlu su içerisine aktarılıp D değeri belirleme çalışmalarında kullanılmıştır. Hazırlanan bakteri kültürünün konsantrasyonu 10^{10} kob/mL'dir.

50 ml triptik soy broth (TSB) su banyosunda istenilen sıcaklığa ulaştıktan sonra (52, 54, 56, 58, 60°C) içerisine *E. sakazakii* suşları 10^9 - 10^8 kob/mL konsantrasyonda olacak şekilde aşılanmıştır. Sıcaklığın kontrolü kalibrasyonlu termometre ile 50 mL TSB'nin sıcaklığı ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında TSB'lerden 1'er mL alınarak hızla soğutulmuş, ileri dilüsyonlar yapılarak %0,1 sodyum pirüvat içeren triptik soy agar (TSA)'a sürme plak yöntemi ile paralel olarak ekimi yapılmıştır. Ekim yapılan petrilere 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Yapılan işlemler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Aşılanan mikroorganizma sayısındaki 1 log'luk azalma için gerekli süre (D değeri); analiz sonuçlarında elde edilen mikroorganizma sayılarının 10 tabanındaki logaritmasının zamana karşı grafiği çizilerek lineer regresyon analizi ile elde edilmiştir. D değerlerinin belirlenmesinde kullanılan örnekleme işlemlerinin zaman aralıkları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : D değerlerinin hesaplanmasında kullanılan örnekleme işlemlerinin zaman aralıkları.

Sıcaklık (°C)	Örnekleme zamanı (dk)
52	0-10-20-30-40
54	0-5-10-15-20
56	0-3-8-15-20
58	0-1-3-6
60	0-1,5-4-6

4.5 Z Değerlerinin Belirlenmesi

52, 54, 56, 58 ve 60°C’lerde belirlenen D değerlerinin 10 tabanında logaritması alınarak sıcaklığa karşı grafiği çizilerek lineer regresyon analizi ile Z değerleri elde edilmiştir (Arroyo ve diğ., 2009). D değerleri 3 tekrarlı elde edildiği için aynı işlem Z değerleri içinde 3 kere tekrarlanmıştır.

4.6 Farklı Şeker Çeşidi Ve Şeker Konsantrasyonlarında Gelişim Koşullarının Belirlenmesi

Farklı şeker çeşidi ve şeker konsantrasyonlarının *E. sakazakii*’nin gelişimine olan etkisinin belirlenmesi amacıyla çalışmada izole edilen 7 *E. sakazakii* suşu ve ATCC 51329 kodlu suş kullanılmıştır. 4 farklı şeker çeşidinin (glikoz, fruktoz, sakkaroz ve laktoz) ve bu şekerlerin %0,25, %0,5, %1 ve %5’lik konsantrasyonlarının suşların gelişimi üzerine etkisi Zurera-Cosano ve diğ. (2006) ve Dancer ve diğ. (2009)’nin çalışmalarında kullanılan yöntem temel alınarak incelenmiştir.

8 adet *E. sakazakii* suş süspansiyonlarının hazırlanması Bölüm 4.4’de açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Besiyeri olarak TSB kullanılmıştır. Şeker çözeltileri hazırlandıktan sonra 0,22 µm gözenek çaplı şırınga uçlu steril filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Steril TSB içerisine şeker konsantrasyonları %0,25, %0,5, %1 ve %5 olacak şekilde steril şeker çözeltilerinden ilave edilmiştir. Hazırlanan şekerli besiyerlerinden 200’er µl mikropalakalara dağıtılmıştır. Şekerli besiyerleri içeren mikropalakalara *E. sakazakii* süspansiyonlarından 2’şer µl ilave edilmiştir. Aşılama işlemi tamamlanan mikropalakalar 600nm dalga boyunda Stat Fax ST303 elisa okuyucuda optik yoğunlukları ölçüldükten sonra 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 ve 24. saatlerinde optik yoğunlukları ölçülmeye

devam edilmiştir. Yapılan işlemler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen optik yoğunlukların zamana karşı grafiği çizilerek her bir *E. sakazakii* suşunun gelişim eğrileri belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan cihazın görüntüsü Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2 : Stat Fax marka elisa reader cihazının görüntüsü.

4.7 İstatistiksel Analiz

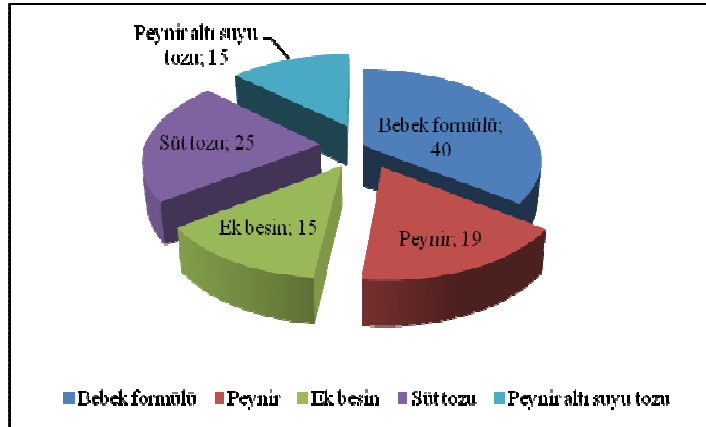
8 *E. sakazakii* suşunun 52, 54, 56, 58 ve 60°C sıcaklıklarındaki D değerleri arasındaki farklılık ANOVA genel doğrusal model ile $\alpha=0,95$ önem düzeyinde araştırılmıştır. Suş bazında farklı sıcaklıklardaki D değeri arasındaki farkı belirlemek için Tukey testi uygulanmıştır. 8 *E. sakazakii* suşunun, 4 farklı şeker çeşidinde (glikoz, fruktoz, sakkaroz ve laktoz) ve bu şekerlerin %0,25, %0,5, %1 ve %5’lik konsantrasyonlarındaki besiyerlerinde 24. saatteki oluşturdukları optik yoğunluk değerleri arasındaki farklılık ANOVA genel doğrusal model ile $\alpha=0,95$ önem düzeyinde araştırılmıştır. Suş bazında şeker konsantrasyonları arasındaki farkı belirlemek için Tukey testi uygulanmıştır. $p<0,05$ olduğunda farklılıklar önemli olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler Minitab (Minitab Release 14.11) programı ile gerçekleştirilmiştir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışma beş bölümden oluşmaktadır. İlk aşamada temin edilen örneklerin iki farklı yöntem ile *E. sakazakii* açısından incelenmesi gerçekleştirilmiş olup, ikinci aşamada *E. sakazakii* içeren örneklerdeki *E. sakazakii* sayısını ve diğer mikroorganizmaların sayısını belirlemek üzere analizler yapılmıştır. Üçüncü ve dördüncü bölümde izole edilen *E. sakazakii* suşlarının D ve Z değerleri belirlenmiş, son bölümde ise bu suşların farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonlarındaki gelişimi incelenmiştir.

5.1 Örneklerde *E. sakazakii* (*Cronobacter* spp.) Varlığının Araştırılması

2008 ve 2009 yıllarında temin edilen toplam 114 formül mama ve süt ürününde *E. sakazakii* varlığı araştırılmıştır. Konvansiyonel ve hızlı tekniklerin karşılaştırılması amacıyla PZR (Dupont- BAX sistemi) ve kültürel yöntem kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada incelenen örnek çeşitleri, sayısı Şekil 5.1’de ve iki yöntem ile *E. sakazakii* açısından incelenip pozitif bulunan örneklerin sayısı Çizelge 5.1’de verilmiştir.



Şekil 5.1 : *E. sakazakii* açısından incelenen örneklerin çeşit ve sayıları.

Çizelge 5.1 : *E. sakazakii* açısından incelenen örneklerin analiz sonuçları.

Örnek Çeşidi	Örnek Sayısı	<i>E. sakazakii</i> içeren örnek sayısı	
		ISO 22964/IDF 210	Dupont BAX-PZR
Formül bebek maması	40	1	1
Süt tozu	25	3	3
Peynir	19	-	-
Ek besin	15	1	1
Peynir altı suyu tozu	15	2	2
Toplam	114	7	7

Çizelge 5.1’de belirtildiği üzere analizi yapılan 114 gıda maddesinden 7’si (%6,14) *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur. Son ürün olarak kullanılan 40 adet formül bebek mamasının 1’inde ve 15 ek besinin 1’inde *E. sakazakii* tespit edilmiştir. 25 adet süt tozunun 3’ü, 15 adet peynir altı suyu tozunun 2’si *E. sakazakii* içermektedir. Analizde kullanılan iki metod ile aynı sonuçlar alınmıştır.

Chap ve diğ. (2009)’nin uluslararası ölçekte gerçekleştirdiği devam mamaları ve bebek mamalarında *Cronobacter* spp. (*E. sakazakii*) tarama çalışmasına 7 ülke katılmıştır. Bu ülkeler Brezilya, Endonezya, Kore, Malezya, Portekiz ve İngiltere’dir. Bu çalışmada 136’sı devam maması ve 182’si bebeklerin tükettiği diğer mamalardan oluşan toplam 318 örnek *Cronobacter* açısından incelenmiştir. 136 devam mamasının 1 (%1)’i, 179 bebek mamasının 22 (%12)’sinin *Cronobacter sakazakii* içerdiği belirlenmiştir. Brezilya, Kore ve Malezya’daki örneklerin hiçbirinde *Cronobacter*’e rastlanmamıştır. İngiltere’de analizlenen 64 bebek maması örneğinin 6’sında *Cronobacter sakazakii* belirlenmiştir.

Muytjens ve diğ. (1988), 35 ülkeden temin edilen 141 formül mamanın 20’sini *E. sakazakii* açısından pozitif bulmuştur. 11 ülkeden 58 adet formül mamanın incelendiği bir başka çalışmada 8 ürün *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur (Leuscher ve diğ., 2004). Kanada’da satılan formül mamalarda yapılan bir araştırmada 120 kutu mama örneğinin 8’i (%6,7) *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur (Nazorowec-White ve Farber, 1997c).

Mısır’da satılan süt ürünlerinde yapılan bir taramada 137 örnekten 5 örnek *E. sakazakii* yönünden pozitif bulunmuştur. 35 yağsız süt tozundan 2’sinde, 14 peynir benzeri üründen 3’ünde *E. sakazakii* varlığı tespit edilmiştir (El-Sharoud ve diğ., 2008). Libya’da satılan 82 bebek mamasının %2,4’ü *E. sakazakii* içermektedir (Matug ve diğ., 2008).

2009 yılında tamamlanan yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye piyasasından temin edilen 6 farklı firmaya ait 62 bebek maması FDA (2002) metodu kullanılarak *E. sakazakii* açısından incelenmiş ve 3 (%4,84) örnek pozitif bulunmuştur (Tokatlı, 2009).

Polat ve Halkman (2008) tarafından yapılan çalışmada 40 adet bebek maması ve 41 adet bebek maması hammaddesinde *E. sakazakii* varlığı araştırılmıştır. Bebek mamalarında *E. sakazakii* tespit edilmediği, bebek maması hammaddelerinde ise ürünlerin % 90'ının Enterobacteriaceae üyeleri ile kontamine olduğu belirtilmektedir. Bebek maması hammaddelerinin %60'ının *E. sakazakii*, %40'ının *E. cloacae*, %40'ının *K.pneumoniae*, %10'unun *E. agglomerans* ve %10'unun *E. dissolvens* içerdiği belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada analize alınan 55 bebek mamasından 2 (%3,6)'sinde *E. sakazakii* tespit edilmiş olup çalışmada elde edilen bu bulgunun literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

E. sakazakii peynir, fermente ekmek, tofu, fermente et ürünleri, su gibi çok farklı gıda gruplarında tespit edilmesine rağmen toz halindeki bebek mamalarında bulunması bebek sağlığı açısından önem taşımaktadır. Toz haldeki formül mamalara içerdiği hassas bileşenler nedeniyle sterilizasyon işlemi uygulanmamaktadır. (Friedemann, 2007).

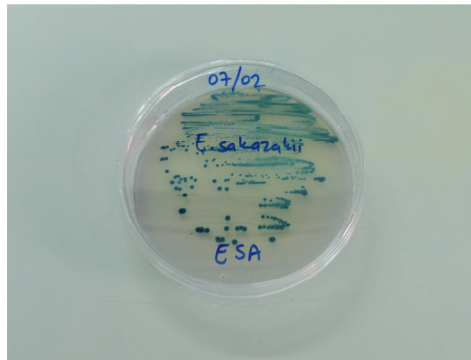
Türkiye'de ek besinler çeşitli firmalar tarafından üretilmekte, formül bebek maması ve devam maması üretilmemekte, yurtdışından ithal edilmektedir. 2008, 2009 ve 2010 yıllarında Türk Gıda Kodeksi'nde yapılan değişiklikler ile bebek maması formülleri ve devam formüllerinde *E. sakazakii* analizi yapılması zorunluluğu getirilmiştir. Ek besinlerde ise *E. sakazakii* yerine Enterobacteriaceae analizi yapılması zorunludur (TGK, 2010).

Ek besinlerin etiket bilgileri incelenildiğinde bu mamaların 4 aydan büyük bebeklere verilebileceğine dair bilgiler bulunmaktadır. Yapılan analiz sonucunda 15 adet ek besinin 1'inde *E. sakazakii* tespit edilmiştir. Yeni doğanlar bu bakteri için en riskli grubu oluştursada, literatürde 2-3 yaşındaki çocuklarda da *E. sakazakii* enfeksiyonuna rastlandığı belirtilmektedir (O'Brien ve diğ., 2009). Bu bakımdan yapılan çalışmada 1 adet ek besinde *E. sakazakii* tespit edilmiş olması bu ürünleri tüketen çocuklarda sağlık açısından bir riskin söz konusu olacağını düşündürmektedir.

E. sakazakii'nin gıda üretim ve ev ortamlarında varlığının araştırıldığı bir çalışmada süt tozu üreten 3 farklı fabrikadan alınan 152 örneğin 18'inde tespit edilmiştir (Lehner and Stephan, 2004). *E. sakazakii*'nin süt tozu ve bebek maması üreten tesislerde bulunması ve bakterinin biyofilm oluşturması sebebiyle ortamdan uzaklaştırılmasının güçlüğü belirtmektedir. Pastörizasyon sonrası çeşitli çevresel kaynaklardan veya sonradan ilave edilen hammaddelerden de asıl ürüne bulaşabilmesi sebebiyle bebek maması hazırlanırken dikkat edilmesi gereken bazı hususlar FAO/WHO (2004, 2006) ve WHO (2007) tarafından yayınlanan raporlarda belirtilmiştir (Kandhai ve diğ., 2004, Mullane ve diğ., 2006). Buna göre; mamaların etiketlerinde ürünün steril olmadığına dair bir uyarı bulunmalı ve ürün doğru bir şekilde hazırlandığında *E. sakazakii*'nin risk oluşturmayacağı bilgisi verilmelidir. Mamaların her zaman taze olarak hazırlanması gerektiği, hazırlanan mamanın artan miktarının buzdolabında 24 saat içerisinde tüketilmek üzere saklanabileceği belirtilmelidir. Mamaların hazırlanmasında kullanılan suyun kaynatılması gerektiği ve 70°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ürüne ilave edilmesi gerekliliğinin bilgisi ürünün etiketinde bildirilmelidir. Bu bilgi sadece Kore'de satışa sunulan mamaların etiketlerinde belirtilmektedir. Diğer ülkelerde mamaların hazırlanmasında 40°C gibi düşük sıcaklıklardaki suyun kullanılması gerektiğine dair etiket bilgileri bulunmaktadır. Önerilen bu sıcaklıklarda *E. sakazakii* ve diğer Enterobacteriaceae'lerin kolaylıkla gelişebildiği için bu tip bir uyarının yüksek oranda risk oluşturduğu düşünülmektedir (Chap ve diğ., 2009).

E. sakazakii türlerine özgü α -glukozidaz enzimi aktivitesi bu bakteriyi tanımlamada ayırıcı özellik olarak kullanılmaktadır. Bu özellik Muytjens ve diğ. (1984) tarafından tespit edilmiş olup Iversen ve diğ. (2004a) tarafından geliştirilip DFI agar ismiyle ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Bu besiyeri α -glukozidaz enzimini tespit etmeyi sağlayan 5-bromo-4-kloro-3-indol- α -D-glukopyranosid indikatörü içermektedir. Bu kısım, α -glukozidaz tarafından parçalanarak, petride mavi-yeşil renkli *E. sakazakii* kolonilerinin görülmesini sağlamaktadır (Fanning ve Forsythe, 2008).

E. sakazakii'nin tespitine ilişkin olarak selektif agarların yeterince geliştirilmesine ve mevcudiyetine karşın, yine de bu organizmanın çeşitli metodlarla geri kazanımlarında önemli derecede farklılıklar gözlenmektedir (Fanning ve Forsythe, 2008). Farmer ve diğ. (1980), *E. sakazakii* suşlarının tamamen sarı pigmentli olmadığını rapor etmiştir. Bunun yanı sıra, bazı suşlarda pigment üretimi sıcaklığa bağlıdır. FDA yöntemi TSA'nın 25°C'de inkübasyonunu önermektedir. Pigment üretimi koloninin ışığa direkt olarak maruz bırakılmasıyla geliştirilir. Bu nedenle Guillaume-Gentil ve diğ. (2005) 37°C'deki inkübasyon sıcaklığında pigment oluşumunun artması için yapay beyaz ışık kullanmışlardır. ISO metodunda mLST'nin ve kromojenik besiyerinin inkübasyon sıcaklığı 44°C olarak belirtilmektedir. Ne var ki, Nazarowec-White ve Farber (1997c), 11 *E. sakazakii* suşundan sadece 3 adetinin 44-45°C'de ürediğini rapor etmişlerdir. DFI agarın üreticisi olan Oxoid firması bu besiyerinin 37°C'de inkübe edilmesini önerdiği için bu çalışmada DFI agar petripleri 2 farklı sıcaklıkta (hem 37°C, hem 44°C) inkübe edilmiştir. 2 farklı sıcaklıkta inkübe edilen petriplerde aynı sonuçlar alınmıştır. DFI agar'da üreyen *E. sakazakii* bakterisinin görünümü Şekil 5.2'de verilmiştir.



Şekil 5.2 : DFI agarda tipik *E. sakazakii* kolonilerinin görüntüsü.

Yapılan çalışmada bir adet ek besin örneğinde ISO yöntemi ile *E. sakazakii* analizinde DFI agarda şüpheli koloniler görülmüştür. API 20E ile gerçekleştirilen biyokimyasal identifikasyonda bu bakterinin *E. cloaceae* olduğu belirlenmiştir. BAX sistemi ile analizi yapıldığında *E. sakazakii* açısından negatif sonuç elde edilmiştir.

Iversen ve Forsythe (2004), *E. sakazakii* ve ilgili organizmalara yönelik test kitleri arasındaki uyumsuzluğu rapor etmişlerdir. API20E kullanılarak *Pantoea* türü (nonpatojenik) olarak saptanan önemli sayıda izolat, ID32E test kiti kullanıldığında *E. sakazakii* olarak karakterize edilmiştir. 16S rRNA gen dizilimi analizi kullanılarak güvenilir şekilde tespit edilen suşların kullanıldığı başka çalışmalarda, Biolog GN2'nin API 20E'den ve ID32'den daha iyi hassasiyete ve özgüllüğe sahip olduğu görülmüştür. Weiss ve diğ. (2005), hazır salatalardan API 20E kullanılarak tespit edilen *E. sakazakii*'nin 19 suşunu izole etmiştir. Bu izolatların hiçbiri, BAX sistemi de dahil olmak üzere başka yöntemler tarafından teyit edilememiştir (Fanning ve Forsythe, 2008). Yaptığımız çalışmada API 20E kullanılarak biyokimyasal doğrulaması yapılan örneklerin hepsi için BAX sistemi ile de aynı sonuçlar elde edilmiştir.

E. sakazakii analizinde kültürel yöntemlerdeki çeşitlilik ve her bir yöntemin çeşitli açılardan dezavantajlarının olması sebebiyle araştırmacıları daha hızlı ve güvenilir sonuçların elde edilebileceği farklı prensiplerle çalışan alternatif metodlar geliştirmeye yöneltmiştir (Lehner ve diğ., 2010). Günümüzde AOAC Resmi Metod Program Departmanı tarafından yedi farklı *E.sakazakii* metodunun onaylanması çalışmaları yürütülmektedir (AOAC, 2010). Bu metodlardan biri olan Nestle Araştırma Laboratuvarı ve Dupont firması tarafından geliştirilen BAX sisteminde kullanılan *E. sakazakii* kitleri bu çalışma kapsamında ISO yöntemi ile karşılaştırılmıştır. BAX cihazı ile *E. sakazakii* analizi Health Canada ve People's Republic of China tarafından onaylanmıştır.

Literatürde kültürel yöntemler ile PZR yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışmalar mevcuttur. *E. sakazakii*'nin PZR ile tespitinin araştırıldığı bir çalışmada 50 adet bebek mamasında *E. sakazakii* varlığı PZR ve klasik mikrobiyolojik metod ile araştırılmıştır. PZR'm analiz hassasiyetinin araştırılmasında aşılana örneklerde 10⁵ cfu/mL konsantrasyonunda önzenginleştirme yapılmadan, 8 saatlik önzenginleştirme sonrasında 10⁰ cfu/mL konsantrasyonunda tespit edilmiştir. 50 örneğin 39'u PZR metodu ile, 31'i klasik mikrobiyolojik metod ile *E. sakazakii* açısından pozitif

bulunmuştur. Aralarındaki istatistiksel farklılık McNemar's test (kikare testi [c2]) ile tespit edilmiş ve kikare değeri 6,125 bulunarak klasik metod ile PZR metodu arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Gutierrez Rojo, R. ve Torres Chavolla, E., 2007).

PZR metodu ile 3 farklı kromojenik besiyerinin kullanıldığı konvansiyonel yöntemlerin karşılaştırıldığı doğal kontamine ürünlerde *E. sakazakii* varlığı incelenmiştir. 38 örnekten 22'si *E. sakazakii* yönünden pozitif bulunmuştur. PZR metodu ile ilave 1 pozitif örnek tespit edilmiştir. *E. sakazakii* isolation agar (ESIA; AES Laboratoires), COMPASS agar (Biokar Diagnostics), DFI agar (Oxoid) ve VRBG agar ile karşılaştırılmış, pozitif tahminleme oranları *sırasıyla*; %86,96, %88, %74,07 ve %47.83 olarak bulunmuştur. PZR metodu ile aradaki bir adet pozitif sonuç farklılığının heterojen yapıdaki kontaminasyondan ve örnek almadan kaynaklandığı düşünülmektedir (Sylviane ve diğ., 2007).

Nestle Araştırma Merkezinde yapılan validasyon çalışmasında doğal kontamine ve *E. sakazakii* aşılanmış toplam 1151 örnek ile çalışılmıştır. 20 örnekte yanlış negatif, 8 örnekte yanlış pozitif sonuç elde edilmiş, BAX sisteminin spesifikliğı %98 olarak bulunmuştur (Marugg ve diğ., 2003). Bizim çalışmamızda 114 örnekte BAX sistemi ve ISO yöntemi kullanılarak *E. sakazakii* analizi gerçekleştirilmiş olup bu metodun spesifikliğı %100 olarak bulunmuştur.

Moleküler metodlarının canlı hücre ile ölü hücre arasındaki ayrımı yapamıyor olması bu metodların dezavantajı olarak belirtilmekteydi. RNA'nın hücrenin ölümünden sonra kısa sürede parçalanması sebebiyle RNA bazlı metodlarda bu dezavantaj bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda hücre öldükten sonra 30 saate kadar DNA'sının PZR ile tespit edilebileceğı belirtilmektedir. Probelia *Salmonella* kiti ile *Salmonella* analizinde önzenginleştirme sıvısında 10^6 ölü hücre/25g konsantrasyonda bulunduğunda yanlış pozitif sonuçlar alınmaktadır. Gıdalardaki patojen mikroorganizmaların PZR metodu ile analizinde piyasadaki tüm analiz kitlerinde canlı hücrelerin sayısını arttırmak amacıyla önzenginleştirme basamağı bulunmaktadır ve teorik olarak ölü hücre sebebiyle yanlış pozitif sonuç elde etmenin çok zayıf bir ihtimal olduğu belirtilmektedir (Sanderson ve diğ., 2003). Piyasada BAX sistemi dışında da farklı firmalara ait PZR test kitleri bulunmaktadır. Applied Biosystem'e ait TaqMan® *E. sakazakii* kiti ve Biotecon (Merck) firmasına ait foodproof® Enterobacteriaceae ve *E. sakazakii*'yi beraber test eden kit mevcuttur.

Bu kit Enterobacteriaceae'yi kalitatif olarak belirlemektedir. PZR metodlarının dezavantajı olarak belirtilen ölü hücrelerin yanlış pozitif sonuç vermesini önlemek amacıyla ölü hücrelerin hücre duvarından geçip DNA'ya bağlanan ışığa hassas reaktif ile ölü hücreler elimine edilebilmektedir (Lehner ve diğ., 2010).

Bu veriler ışığında, BAX sisteminin 1,5 gün gibi kısa sürede sonuç vermesi ve hassasiyetinin yüksek olması sebebiyle *E. sakazakii* analizinde kullanılmasının bebek maması ve hammadde üreticileri için avantajlı olacağı düşünülmektedir. *E. sakazakii*'nin sınıflandırılmasındaki değişiklikler ve metodlardaki gelişmelerin bu değişikliklere adapte olacak şekilde hızla gerçekleştirilmesi halk sağlığı açısından olumlu bir adımdır.

5.2 Örneklerdeki Mikrobiyolojik Analizlere Ait Bulgular

Çizelge 5.1'de verilen analiz sonuçları incelendiğinde Enterobacteriaceae familyasına dahil olan *E. sakazakii* yedi üründe tespit edilmiştir. *E. sakazakii* açısından pozitif bulunan örneklerdeki Enterobacteriaceae sayısını belirlemek amacıyla ISO 21528-2 metoduna göre analizi yapılmış ve sonuçlar <10 kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu farklılığın *E. sakazakii* analizinde önzenginleştirme işlemi uygulanarak hasarlı mikroorganizmaların tespit edilebilmesinden ve ISO 21528-2 metodunda ön zenginleştirme basamağının bulunmaması ve metodun tespit limitinin <10 kob/g olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Önzenginleştirme basamağı içeren FDA(2002) metodu kullanılarak analizler tekrarlanmış ve *E. sakazakii* sayısı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2 : Örneklerdeki *E. sakazakii* sayısı.

Örnekler	Örnek kodları	<i>E. sakazakii</i> konsantrasyonu (EMS/ g)
Süt tozu	1	1,1x10 ¹
Süt tozu	2	1,5x10 ¹
Demineralize peynir altı suyu tozu	3	7,1
Peynir altı suyu tozu	4	2,1
Formül mama	5	0,72
Yağsız süt tozu	6	2,1
Ek besin (kaşık maması)	7	0,74

Literatürde bebek mamalarındaki *E. sakazakii* sayısının 1 kob/g'dan daha düşük konsantrasyonda olduğu belirtilmektedir (Nazarowec-White ve Farber, 1997c).

Iversen ve Forsythe (2004)'nin yaptıkları çalışmada 82 adet toz bebek formül maması ve 404 adet farklı gıda maddesini *E.sakazakii* açısından incelenmiştir. 2/82 toz formül maması, 5/49 kuru bebek maması, 3/72 süt tozu, 2/62 peynir, 40/122 diğer gıda maddelerinin *E. sakazakii* içerdiği belirlenmiştir. 82 toz formül mamasının Enterobacteriaceae sayısını belirlemek amacıyla VRBGA agara sürme plak yöntemi ile analizler gerçekleştirilmiş sadece toplam bakteri sayısı $1,6 \times 10^3$ kob/g olan 1 üründe Enterobacteriaceae sayısı 2×10^2 kob/g bulunmuştur. Bu metod ile diğer örneklerdeki Enterobacteriaceae sayısı belirlenememiş ve farklı bir metod kullanılmasına karar verilmiştir. Önzenginleştirme basamağı kullanılarak analizler tekrarlandığında 59 örnekte Enterobacteriaceae tespit edilmiştir. Yaptığımız tez çalışmasında elde edilen veriler Iversen ve Forsythe (2004)'un çalışmasıyla paralellik göstermektedir.

Türk Gıda Kodeksi'ne göre ek besinlerde Enterobacteriaceae analizi yapılması zorunludur ve Enterobacteriaceae limiti olarak <10 kob/g verilmektedir (TGK, 2010). Bu çalışma sonucunda örneklerde *E. sakazakii* mevcut olsa bile önzenginleştirme işlemi yapılmadan gerçekleştirilen bir Enterobacteriaceae analizinde sıfır sonucu alınabildiği ve bu durumun Türkiye için bir risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır. Kodeks'te belirtilen kob/g biriminden sonuç veren ve tespit limitinin <10 kob/g olan petride gerçekleştirilen metod yerine, önzenginleştirme basamağı içeren ve sonuçların EMS/g biriminden elde edildiği ve tespit limitinin <3 EMS/g olan alternatif metodların kullanımı teşvik edilmelidir. Yaptığımız çalışma sonucunda ISO 21528-2 metodu ile Enterobacteriaceae analizi gerçekleştirildiğinde Enterobacteriaceae tespit edilemese bile örneklerde *E. sakazakii* bakterisi bulunabileceği belirlenmiştir. Enterobacteriaceae analizinde ISO 21528-2 metodu ile <10 kob/g sonucu alınan 1 numaralı örneğin ISO 4831 metodu ile belirlenen koliform bakteri sayısı $1,1 \times 10^2$ EMS/g olarak elde edilmiştir. Koliform grubu bakteriler Enterobacteriaceae familyasına dahildir. Bu sebepten 1 numaralı örnekte koliform bakteri tespit edilmesi ilgi çekicidir. Bu farklılığın EMS metodu ile yapılan analizde sıvı besiyerinde hasarlı mikroorganizmaların geri kazanımının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. ISO 4831 metodunda EMS metodu örnekte bulunan mikroorganizma sayısını istatistiksel olarak bir yaklaşımla tespit etmektedir ve elde edilen $1,1 \times 10^2$ EMS/g koliform sayısı EMS tablosundan

incelendiğinde örnekteki koliform sayısının minimum 4×10^1 EMS/g, maksimum $3,4 \times 10^2$ EMS/g arasında değiştiği görülmektedir (ISO 4831, 2006).

Çizelge 5.2 incelendiğinde örneklerdeki *E. sakazakii* sayısının $1,5 \times 10^1$ ila 0,74 EMS/g arasında değiştiği görülmektedir. Muyltjens ve diğ. (1988), 141 formül mamanın *E. sakazakii* açısından pozitif bulunan 20 örnekteki *E. sakazakii* konsantrasyonun 0,36-66 kob/100 g seviyesinde olduğu bildirilmiştir. Bebek mamaları ve süt tozlarındaki *E. sakazakii* sayısının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda elde edilen *E. sakazakii* konsantrasyonu 0,2 ila 92 kob/100g arasında değişmektedir. Literatürde bebek mamalarındaki *E. sakazakii* sayısının 1 kob/g'dan daha yüksek oranda belirlendiği bir çalışma bulunmadığı belirtilmektedir (Fanning ve Forsythe, 2008). Yaptığımız çalışmada bebek mamalarında elde edilen veriler literatür ile paralellik göstermektedir.

Bebek mamalarında *E. sakazakii* kontaminasyonunun önlenmesi için hammaddelerin de *E. sakazakii* açısından kontrolünün yapılması gerekmektedir. Kuru olarak üretilen bebek mamalarında ana hammaddelerin analizine ait mikrobiyolojik veriler Çizelge 5.3'de verilmiştir. Çevresel izleme programları ile kontaminasyon kaynağı olan mikroorganizmaların zaman içerisinde azaltılabileceği belirtilmektedir (Cordier, 2008).

Çizelge 5.3 : Mama hammaddelerindeki Enterobacteriaceae ve *E. sakazakii* varlığının yıllara göre dağılımı (Cordier, 2008).

Kuru Halde Karıştırılan Hammadde	Yıllara Göre Sonuçlar					
	2002			2003/2004		
	Örnek sayısı	Enterobacteriaceae pozitif örnek sayısı	<i>E. sakazakii</i> pozitif örnek sayısı	Örnek sayısı	Enterobacteriaceae pozitif örnek sayısı	<i>E. sakazakii</i> pozitif örnek sayısı
Laktoz	2219	70	0	5354	38	0
Sukroz	1691	28	2	18239	28	0
Nişasta	1389	155	40	1622	34	3

E. sakazakii açısından pozitif olan örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 5.4'de verilmiştir. Örneklerde *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve küf tespit edilmemiştir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde 8 Ocak 2010'da yapılan değişiklikle bebek formülleri, devam mamaları ve ek gıdalardaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı ile ilgili analiz bu tebliğden çıkarılmıştır (TGK, 2010).

Çizelge 5.4 : *E. sakazakii* açısından pozitif olan örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları.

Parametreler	Örnek Adı ve Kodu						
	Süt tozu	Süt tozu	Demineralize Peynir Altı Suyu Tozu	Peynir Altı Suyu Tozu	Formül mama	Yağsız Süt Tozu	Ek besin (kaşık maması)
	1	2	3	4	5	6	7
Mezofilik aerobik bakteri sayısı (kob/g)	3,5x10 ³	9,7x10 ⁴	7,3x10 ⁴	1,24x10 ⁴	5x10 ¹	1,12x10 ⁴	9x10 ¹
Koliform bakteri sayısı (EMS/g)	1,1x10 ²	<3	<3	<3	<3	<3	<3
<i>Escherichia coli</i> sayısı (EMS/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
<i>Staphylococcus aureus</i> sayısı (kob/g)	5,2x10 ²	2,6x10 ²	1,48x10 ³	<10	<10	8x10 ¹	<10
Küf sayısı (kob/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Maya sayısı (kob/g)	<10	<10	<10	9*10 ²	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i> (25 g'da)	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı
<i>Salmonella</i> spp. (25 g'da)	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı	Bulunmadı

Türkiye’de piyasadan temin edilen 6 farklı firmaya ait 62 bebek maması örneğinde yapılan çalışmada incelenen örneklerin sekizinde koliform grubu bakteri tespit edilmiştir. Koliform bakteri sayısı 12 kob/g ile 1,23x10²kob/g arasında, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ise 6 kob/g ile 2,69x10³ kob/g arasında bulunmuştur (Tokatlı, 2009).

Polat ve Halkman (2008) tarafından yapılan çalışmada 40 adet bebek maması, 41 adet bebek maması hammaddesinin mikrobiyal yükü araştırılmış, bebek mamalarındaki toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı <10 ile 1,95x10³ kob/g arasında, koliform bakteri sayısı <10 kob/g, bebek maması hammaddelerinde ise toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı <10 kob/g ile 6,85x10³ kob/g arasında koliform bakteri sayısı <10 ile 3,5x10² kob/g arasında değişen oranlarda bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde süt tozu ve peynir altı suyu tozu için belirlenen parametreler maya ve küf, Enterobacteriaceae, *S. aureus*, *Salmonella* ve *L. monocytogenes*’i kapsamaktadır. Enterobacteriaceae limiti <10 kob/g olarak belirtilmiştir (TGK, 2010). 1 ve 2 numaralı örnekler Enterobacteriaceae 1, 2 ve 3 numaralı örnekler *S. aureus* açısından Türk Gıda Kodeksi’nde yer alan sınır değerinin üzerinde bulunmuştur.

5.3 *E. sakazakii* (*Cronobacter* spp.) Suşlarının D Değerlerine Ait Bulgular

114 örnekten izole edilen 7 farklı *E. sakazakii* suşunun ve referans kültür koleksiyonundan temin edilen ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* (*C. muytjensii*) suşunun D değerlerinin belirlenmesi için beş farklı sıcaklıkta (52°C, 54°C, 56°C, 58°C ve 60°C) ısıtma işlemi uygulanmış ve farklı zaman aralıklarında örnekler alınarak *E. sakazakii* sayısının değişimi incelenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarında elde edilen verilerin 10 tabanında logaritması alınarak termal inaktivasyon eğrileri elde edilmiştir. Analiz sonuçları Ek A (Çizelge A1, A2, A3, A4 ve A5)'de verilmiştir. Lineer regresyon analizi ile elde edilen termal inaktivasyon eğrilerinin eğimlerden D değeri hesaplanmıştır, regresyon eğrilerine ait eğim ve R² değerleri Çizelge 5.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.5 : *E. sakazakii* suşlarına ait D değerlerinin hesaplanmasında kullanılan termal inaktivasyon eğrilerinin eğim ve R² değerleri.

<i>E. sakazakii</i> Suşları		Sıcaklık									
		52°C		54°C		56°C		58°C		60°C	
		Eğim	R ²	Eğim	R ²	Eğim	R ²	Eğim	R ²	Eğim	R ²
1 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,046	0,938	-0,193	0,973	-0,231	0,950	-0,650	0,962	-1,157	0,986
	2. Tekrar	-0,049	0,969	-0,200	0,974	-0,246	0,957	-0,648	0,950	-1,158	0,989
	3. Tekrar	-0,050	0,990	-0,207	0,972	-0,243	0,967	-0,647	0,967	-1,144	0,983
2 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,064	0,957	-0,229	0,997	-0,318	0,957	-0,415	0,884	-0,865	0,903
	2. Tekrar	-0,063	0,952	-0,230	0,996	-0,296	0,918	-0,497	0,939	-0,890	0,907
	3. Tekrar	-0,062	0,954	-0,222	0,998	-0,322	0,965	-0,401	0,883	-0,873	0,906
3 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,069	0,908	-0,177	0,956	-0,196	0,902	-0,778	0,964	-0,882	0,914
	2. Tekrar	-0,070	0,907	-0,173	0,962	-0,232	0,960	-0,780	0,966	-0,837	0,903
	3. Tekrar	-0,066	0,926	-0,179	0,970	-0,209	0,925	-0,785	0,966	-0,848	0,915
4 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,076	0,982	-0,182	0,935	-0,235	0,884	-0,731	0,911	-1,086	0,929
	2. Tekrar	-0,085	0,977	-0,167	0,948	-0,241	0,908	-0,715	0,906	-1,033	0,927
	3. Tekrar	-0,077	0,948	-0,170	0,944	-0,242	0,909	-0,729	0,912	-1,029	0,926
5 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,045	0,961	-0,175	0,983	-0,166	0,990	-0,282	0,904	-0,621	0,980
	2. Tekrar	-0,045	0,964	-0,143	0,961	-0,173	0,990	-0,276	0,952	-0,656	0,968
	3. Tekrar	-0,045	0,967	-0,134	0,933	-0,176	0,997	-0,259	0,945	-0,668	0,980
6 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,094	0,985	-0,177	0,974	-0,262	0,924	-0,651	0,925	-0,776	0,954
	2. Tekrar	-0,097	0,965	-0,182	0,937	-0,218	0,914	-0,669	0,915	-0,785	0,937
	3. Tekrar	-0,093	0,979	-0,184	0,952	-0,208	0,886	-0,651	0,914	-0,753	0,942
7 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,032	0,912	-0,129	0,959	-0,181	0,912	-0,567	0,940	-0,683	0,974
	2. Tekrar	-0,027	0,983	-0,126	0,978	-0,187	0,916	-0,522	0,950	-0,697	0,977
	3. Tekrar	-0,026	0,946	-0,127	0,932	-0,187	0,921	-0,538	0,957	-0,729	0,982
8 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,028	0,949	-0,126	0,966	-0,292	0,958	-0,659	0,992	-1,104	0,981
	2. Tekrar	-0,031	0,990	-0,154	0,969	-0,286	0,940	-0,777	0,996	-1,060	0,976
	3. Tekrar	-0,029	0,999	-0,169	0,977	-0,285	0,938	-0,761	0,996	-1,028	0,971

Çizelge 5.6 : *E. sakazakii* suşlarının farklı sıcaklıklarda elde edilen D değerleri.

<i>E. sakazakii</i> Suşları		D Değerleri (Dakika)				
		52°C	54°C	56°C	58°C	60°C
1 Nolu Suş	1. Tekrar	21,93	5,18	4,32	1,54	0,86
	2. Tekrar	20,41	5,00	4,06	1,54	0,86
	3. Tekrar	19,96	4,83	4,12	1,55	0,87
	Ortalama	20,77^a	5,00^b	4,17^b	1,54^c	0,87^c
	Std. Sapma	1,03	0,18	0,14	0,00	0,01
2 Nolu Suş	1. Tekrar	15,55	4,36	3,14	2,41	1,16
	2. Tekrar	15,87	4,35	3,37	2,01	1,12
	3. Tekrar	16,26	4,51	3,10	2,49	1,15
	Ortalama	15,90^a	4,41^b	3,21^c	2,30^d	1,14^e
	Std. Sapma	0,35	0,09	0,15	0,26	0,02
3 Nolu Suş	1. Tekrar	14,53	5,66	5,10	1,29	1,13
	2. Tekrar	14,39	5,78	4,31	1,28	1,19
	3. Tekrar	15,24	5,59	4,78	1,27	1,18
	Ortalama	14,72^a	5,68^b	4,73^c	1,28^d	1,17^d
	Std. Sapma	0,46	0,09	0,40	0,01	0,03
4 Nolu Suş	1. Tekrar	13,11	5,51	4,26	1,37	0,92
	2. Tekrar	11,82	5,99	4,16	1,40	0,97
	3. Tekrar	12,97	5,88	4,14	1,37	0,97
	Ortalama	12,63^a	5,79^b	4,18^c	1,38^d	0,95^d
	Std. Sapma	0,71	0,25	0,06	0,02	0,03
5 Nolu Suş	1. Tekrar	22,17	5,73	6,04	3,54	1,61
	2. Tekrar	22,42	6,98	5,77	3,63	1,52
	3. Tekrar	22,27	7,46	5,68	3,86	1,50
	Ortalama	22,29^a	6,72^b	5,83^b	3,67^c	1,54^d
	Std. Sapma	0,13	0,89	0,19	0,16	0,06
6 Nolu Suş	1. Tekrar	10,65	5,65	3,81	1,54	1,29
	2. Tekrar	10,36	5,49	4,59	1,49	1,27
	3. Tekrar	10,72	5,44	4,82	1,54	1,33
	Ortalama	10,58^a	5,53^b	4,41^c	1,52^d	1,30^d
	Std. Sapma	0,19	0,11	0,53	0,02	0,03
7 Nolu Suş	1. Tekrar	31,55	7,78	5,53	1,76	1,46
	2. Tekrar	37,59	7,91	5,36	1,91	1,43
	3. Tekrar	38,91	7,90	5,34	1,86	1,37
	Ortalama	36,02^a	7,86^b	5,41^{bc}	1,85^c	1,42^c
	Std. Sapma	3,93	0,07	0,11	0,08	0,05
8 Nolu Suş	1. Tekrar	36,36	7,95	3,87	1,52	0,91
	2. Tekrar	32,47	6,49	3,95	1,29	0,94
	3. Tekrar	34,13	5,91	3,86	1,31	0,97
	Ortalama	34,32^a	6,79^b	3,89^c	1,37^{cd}	0,94^d
	Std. Sapma	1,96	1,05	0,05	0,13	0,03

Çizelge 5.5’de görüldüğü üzere elde edilen eğrilerin R^2 değerleri %96,67 oranında 0,9’den yüksektir. Bu değerlerin elde edilmesinde kullanılan termal inaktivasyon

eğrileri Ek A (Şekil A.1)'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan *E. sakazakii* suşlarına ait farklı sıcaklıklarda elde edilen D değerlerinin tekrarlı çalışma sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapmaları Çizelge 5.6'da belirtilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz ile $\alpha=0,95$ önem düzeyinde farklı sıcaklıklarda elde edilen D değerlerinin suş bazında farklılığı belirlenerek Tukey test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.6'da ve varyans analiz çizelgesi Ek A'da (Çizelge A.6) verilmiştir.

8 suşun D değerleri incelendiğinde sıcaklık arttıkça D değerlerinin azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Farklı suşların D değerlerinin sıcaklık ile değişiminin aynı olup olmadığının belirlenmesi amacıyla her bir suşun değerleri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Buna göre suşlar arasında farklılıklar bulunmaktadır. 1 nolu suşun D_{54} ve D_{56} değerleri ve D_{58} ve D_{60} değerleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). 2 nolu suş incelendiğinde ise her bir D değerinin birbirinden istatistiksel açıdan farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 3, 4 ve 6 nolu suşların D_{52} , D_{54} ve D_{56} değerleri farklılık gösterirken, D_{58} ve D_{60} değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılık yoktur ($p>0,05$). 5 nolu suşun D_{54} ve D_{56} değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılık yoktur ($p>0,05$). 7 nolu suşun D_{54} ve D_{56} değerleri ve D_{56} , D_{58} ve D_{60} değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p>0,05$). 8 nolu suşun D_{56} ve D_{58} değerleri ve D_{58} ve D_{60} değerleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Sani (2009)'nin 4 farklı *E. sakazakii* suşunun D değerlerini araştırdığı çalışmada kullanılan suşların 58°C ve 60°C 'deki D değerleri arasında da istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

8 farklı suşun D değerlerini belirlediğimiz bu çalışmada 52°C 'deki D değerlerinden en düşüğü 10,58 dk. ile 6 numaralı suşa, en yükseği ise 36,02 dk. ile 7 numaralı suşa aittir. 54°C 'deki D değerlerinden en düşüğü 4,41 dk. ile 6 numaralı suşa, en yükseği ise 7,86 dk. ile 7 numaralı suşa aittir. 56°C 'deki D değerlerinden en düşüğü 3,21 dk. ile 2 numaralı suşa, en yükseği ise 5,83 dk. ile 5 numaralı suşa aittir. 58°C 'deki D değerlerinden en düşüğü 1,28 dk. ile 3 numaralı suşa, en yükseği ise 3,67 dk. ile 5 numaralı suşa aittir. 60°C 'deki D değerlerinden en düşüğü 0,87 dk. ile 1 numaralı suşa, en yükseği ise 1,54 dk. ile 5 numaralı suşa aittir.

Literatürde *E. sakazakii*'nin D değerlerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu değerler Bölüm 3.1.1 Çizelge 3.2'de listelenmiştir. Yaptığımız

Çalışmada elde edilen D değerlerinin literatürde belirtilen değerler ile benzer olduğu belirlenmiştir.

D değerlerinin belirlenmesinde kullanılan metotların farklılıklarının farklı D değerleri elde edilmesine sebep olduğunu belirtilmektedir. Ayrıca bakteri kültürü olarak tek suş veya suş karışımı kullanılması, ısıtma ortamı olarak besiyeri veya devam maması kullanılması, örnekleme yöntemindeki çeşitlilik literatürde belirtilen D değerlerinde farklılık olmasına sebep olmaktadır (Iversen ve diğ., 2004b). Bu farklılıkları ortadan kaldırmak amacıyla Warby ve diğ. (2008a) tarafından yeni bir metot araştırılmıştır. Referans kültür koleksiyonundan temin edilen NCTC 8155 kodlu *C. sakazakii*'nin D değerinin incelenmiş, D₅₆ değeri 8,1 dk., D₆₀ değeri 0,98 dk. olarak bulunmuştur. Dökme plak ve yayma plak yöntemi ile belirlenen bakteri sayısından yola çıkılarak hesaplanan D değerleri arasında bir fark olmadığı belirlenmiştir. Warby ve diğ. (2008b)'nin yayınladığı bir başka araştırmada 10 farklı *C. sakazakii* suşunun 60°C'deki D değerlerinin 0,71 ve 2,51 dk. aralığında değiştiği tespit edilmiştir. KT proteini üreten *Cronobacter* spp. suşlarının üretmeyen suşlarına göre daha yüksek D değerine sahip olduğunu belirten çalışmalar bulunmasına rağmen yapılan analizler sonucunda bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı ifade edilmiştir.

ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* (*C. muytjensii*) suşunun D değerlerinin araştırıldığı iki farklı çalışmada Edelson-Mammel ve Buchanan (2004) bu suşun D₅₈ değerini 0,5 dk., Abdullah-Sani (2009) ise D₅₈ değerini 3,03 dk. olarak belirtmiştir. Aynı suş için aynı sıcaklıkta belirlenen D değeri arasında yaklaşık 6 kat farklılık bulunmaktadır. Farklılıkların kullanılan metodlardan kaynaklandığı düşünölmektedir. Bu alışmada ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* (*C. muytjensii*) suşunun D₅₈ değeri 1,38±0,13 dk. olarak belirlenmiştir.

Edelson-Mammel ve Buchanan (2004) tarafından yapılan çalışmada 12 farklı *E. sakazakii* suşunun 58°C'deki en yüksek ve en düşük D değeri arasında 20 kat farklılık olduğu ve buna göre *E. sakazakii*'nin ısıl direnci düşük ve yüksek olan 2 ayrı fenotipi bulunduğu belirtilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda da farklı *E. sakazakii* suşlarının D değerleri 8 kata varan oranlarda farklılık göstermektedir.

Genel olarak literatürde 50°C ve 60°C sıcaklık aralıklarındaki D değerleri belirlenmiştir. Daha yüksek sıcaklıklardaki D değerleri için Z değerleri kullanılarak

hesaplanabilir. Iversen ve diğ. (2004b), 60°C'deki D değerinin 1,1 dk. ve Z değerinin 5,7°C olduğunu kabul ederek 71,2°C'deki D değerini 0,7 sn olarak hesaplamışlardır.

Literatürde *E. sakazakii* için farklı D değerleri belirtilmiş olmasına rağmen 71,7°C'deki 15 saniyelik pastörizasyon işleminin *E. sakazakii* sayısında yaklaşık olarak 21 log'luk azalma sağlayacağı belirtilmektedir (Iversen ve diğ., 2004b). Bir başka çalışmada 16 saniyelik 68°C'deki ısıl işlemle *E. sakazakii* sayısında 5 log'luk azalma sağlanacağı hesaplanmıştır (Nazarowec-White ve diğ., 1999). Bu verilere dayanarak bebek mamalarındaki *E. sakazakii* varlığının yetersiz ısıl işlemden kaynaklanmadığı, pastörizasyon sonrası yetersiz hijyen uygulamaları sebebiyle gerçekleşen çapraz kontaminasyondan kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Iversen ve diğ., 2004b).

5.4 *E. sakazakii* (*Cronobacter* spp.) Suşlarının Z Değerlerine Ait Bulgular

52°C, 54°C, 56°C, 58°C ve 60°C'deki D değerlerinin 10 tabanına göre logaritması alınarak sıcaklığa karşı çizilen eğrilerin eğimlerinden Z değerleri hesaplanmıştır. Regresyon eğrilerine ait eğim ve R² değerleri Çizelge 5.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.7'de görüldüğü üzere elde edilen eğrilerin R² değerlerinin tümü 0,9'dan yüksektir. Bu değerlerin elde edilmesinde kullanılan grafikler Ek A'da (Şekil A.2) verilmiştir. Çalışmada kullanılan *E. sakazakii* suşlarına ait Z değerlerinin tekrarlı çalışma sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapmaları Çizelge 5.8'de belirtilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz ile $\alpha=0,95$ önem düzeyinde elde edilen Z değerlerinin suş bazında farklılığı belirlenerek Tukey test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.8'de ve varyans analiz çizelgesi Ek A'da (Çizelge A.7) verilmiştir.

Çalışmada elde edilen Z değerleri 5,24°C ile 8,39°C arasında değişmektedir. 1 nolu suş ile 7 nolu suşun ve 3 nolu suş ile 4 nolu suşun Z değerleri arasında istatistiksel açıdan ($p>0,05$) fark bulunmamaktadır.

Literatürde *E. sakazakii*'nin Z değerlerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu değerler Bölüm 3.1.1 Çizelge 3.2'de listelenmiştir. Literatürdeki Z değerlerinin 3,1°C ile 10,86°C arasında değiştiği görülmektedir. Çalışmada elde edilen Z değerlerinin konu ile ilgili yayınlardaki belirtilen aralık içerisinde kaldığı ve literatür ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5.7 : *E. sakazakii* suşlarına ait Z değerlerinin hesaplanmasında kullanılan eğrilerin eğim ve R² değerleri.

<i>E. sakazakii</i> Suşları		Eğim	R ²
1 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,167	0,954
	2. Tekrar	-0,163	0,956
	3. Tekrar	-0,161	0,951
2 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,126	0,920
	2. Tekrar	-0,132	0,936
	3. Tekrar	-0,128	0,918
3 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,143	0,929
	2. Tekrar	-0,141	0,943
	3. Tekrar	-0,143	0,930
4 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,146	0,970
	2. Tekrar	-0,140	0,975
	3. Tekrar	-0,144	0,974
5 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,126	0,914
	2. Tekrar	-0,131	0,944
	3. Tekrar	-0,132	0,949
6 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,120	0,970
	2. Tekrar	-0,119	0,943
	3. Tekrar	-0,118	0,935
7 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,166	0,939
	2. Tekrar	-0,173	0,938
	3. Tekrar	-0,177	0,938
8 Nolu Suş	1. Tekrar	-0,196	0,967
	2. Tekrar	-0,189	0,946
	3. Tekrar	-0,187	0,930

Abdullah-Sani (2009), ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* (*C. muytjensii*) suşunun Z değerini 5,71°C olarak bulmuştur. Bu çalışmada ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* (*C. muytjensii*) suşunun Z değeri 5,24±0,13°C olarak elde edilmiştir.

Arroyo ve diğ. tarafından 2009 yılında yayınlanan bir çalışmada, 54-68°C sıcaklık aralığında D ve Z değerleri belirlenirken kullanılan sıvının su aktivitesi ve pH'sının bu değerlere olan etkisini araştırmışlardır. *E. sakazakii* hücrelerinin pH 7 değerindeki bir sıvıdaki ısıl direncinin pH 4'deki bir sıvıdan 10 kat daha fazla olduğu, pH değeri 4 olan bir sıvıda ısıl işlem uygulandığında elde edilen Z değeri 4,79°C iken, sıvının pH değeri 7'ye ayarlanıp aynı işlem tekrarlandığında Z değeri 4,06°C bulunmuştur. Bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirtilmektedir. Aynı pH değerine sahip farklı gıda ortamı ve tampon çözeltiler karşılaştırıldığında *E. sakazakii*'nin ısıl direncinin gıda matrislerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Isıl işlem uygulanan portakal suyunda *E.sakazakii* hücreleri yüksek oranda korunmuş, sebze

çorbasında ise en az oranda korunmuştur. Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen ısıtma işlem çalışmalarını endüstriyel ölçekte uygulamaya geçmeden önce hedeflenen gıda matrisi ile çalışmaların tekrarlanması gerekliliği hatırlatılmaktadır.

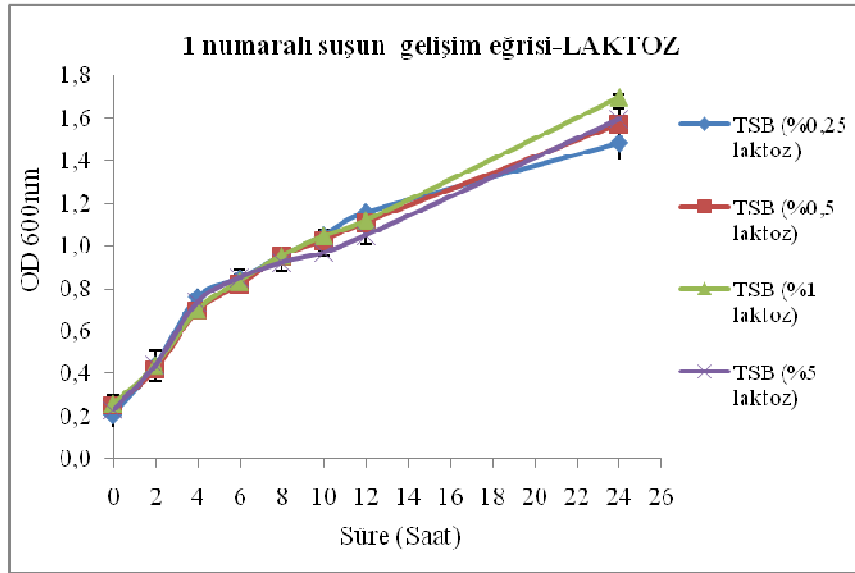
Çizelge 5.8 : *E. sakazakii* suşlarının Z değerleri.

<i>E. sakazakii</i> Suşları		Z Değerleri (°C)	Ortalama Z Değerleri	Std. Sapma
1 Nolu Suş	1. Tekrar	6,00	6,12 ^a	0,12
	2. Tekrar	6,14		
	3. Tekrar	6,23		
2 Nolu Suş	1. Tekrar	7,95	7,78 ^b	0,18
	2. Tekrar	7,59		
	3. Tekrar	7,81		
3 Nolu Suş	1. Tekrar	6,99	7,02 ^c	0,07
	2. Tekrar	7,10		
	3. Tekrar	6,98		
4 Nolu Suş	1. Tekrar	6,87	6,98 ^c	0,14
	2. Tekrar	7,13		
	3. Tekrar	6,94		
5 Nolu Suş	1. Tekrar	7,97	7,73 ^b	0,20
	2. Tekrar	7,63		
	3. Tekrar	7,60		
6 Nolu Suş	1. Tekrar	8,33	8,39 ^d	0,06
	2. Tekrar	8,38		
	3. Tekrar	8,46		
7 Nolu Suş	1. Tekrar	6,04	5,83 ^a	0,19
	2. Tekrar	5,79		
	3. Tekrar	5,66		
8 Nolu Suş	1. Tekrar	5,09	5,24 ^e	0,13
	2. Tekrar	5,30		
	3. Tekrar	5,34		

Bu verilerden hareket eden Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 70°C'nin üstündeki sıcaklıklarda *E.sakazakii*'nin inhibisyonunun çok hızlı gerçekleşeceği sonucuna varmıştır. Dünya Sağlık Örgütü, bebek mamalarında *E.sakazakii* riskinin azaltılması bakımından mamalar hazırlanırken suyun sıcaklığının 70°C ve üzerinde tutulmasının bir strateji olarak uygulanması gerektiğini önermektedir (FAO ve WHO, 2004; FAO ve WHO; 2006).

5.5 *E. sakazakii* Suşlarının Gelişimine Şeker Çeşitleri Ve Konsantrasyonunun Etkisi

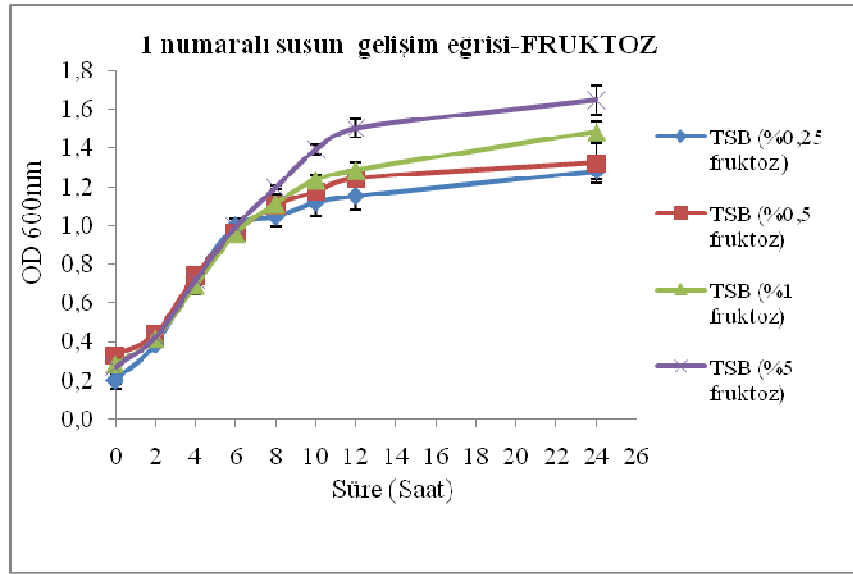
E. sakazakii suşlarının farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonları ile hazırlanan ortamlardaki davranışları incelenmiştir. 1 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.3'de gösterilmiştir. Şekil 5.3'de görüldüğü gibi laktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 1 nolu suşun %0,25, %0,5 ve %5 konsantrasyonlarında laktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Laktoz konsantrasyonunun %0,25'den %1'e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışmada kullanılan tüm suşların farklı konsantrasyonlarda şeker içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma verileri Ek A (Çizelge A.8)'de ve varyans analiz çizelgesi Ek A (Çizelge A.9)'da verilmiştir.



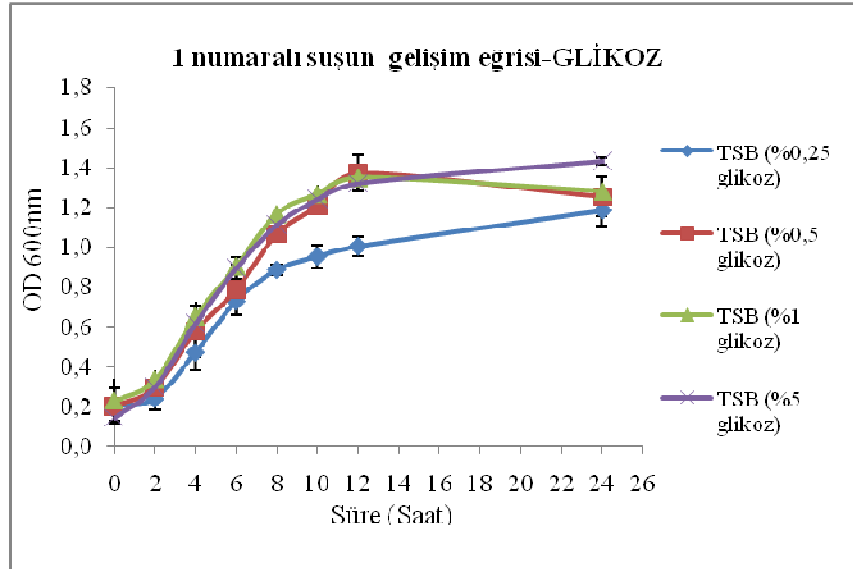
Şekil 5.3 : 1 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

1 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.4'de gösterilmiştir. Şekil 5.4'de görüldüğü gibi fruktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 1 nolu suşun %0,25 ve %0,5 konsantrasyonlarında fruktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı görülmektedir ($p>0,05$). Fruktoz

konsantrasyonunun %0,25'den %5'e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 5.4 : 1 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

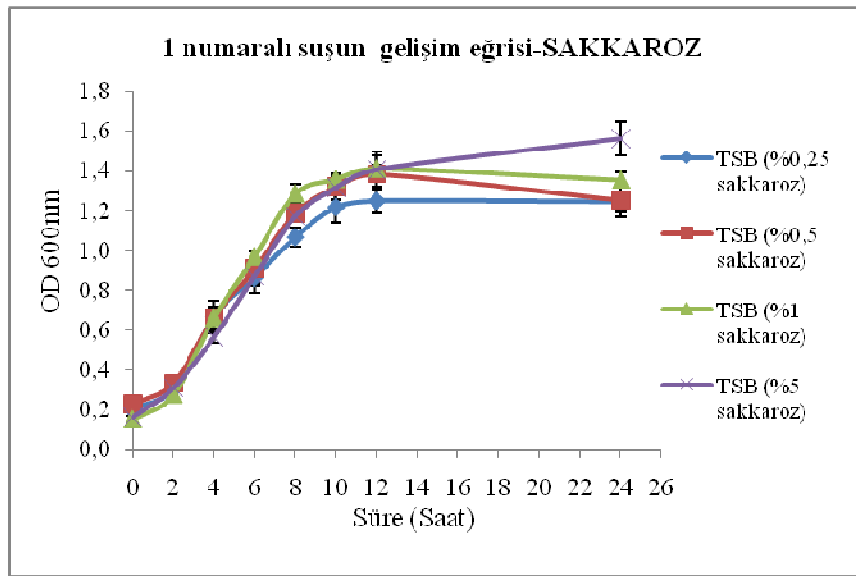


Şekil 5.5 : 1 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

1 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.5'de gösterilmiştir. Şekil 5.5'de görüldüğü gibi glikoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 1 nolu suşun %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında glikoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Glikoz

konsantrasyonunun %0,25'den %5'e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

1 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.6'da gösterilmiştir. Şekil 5.6'da görüldüğü gibi sakkaroz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 1 nolu suşun %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında sakkaroz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. %5 glikoz konsantrasyonu ile diğer şeker konsantrasyonlarındaki bakteri gelişimi arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir ($p<0.05$).



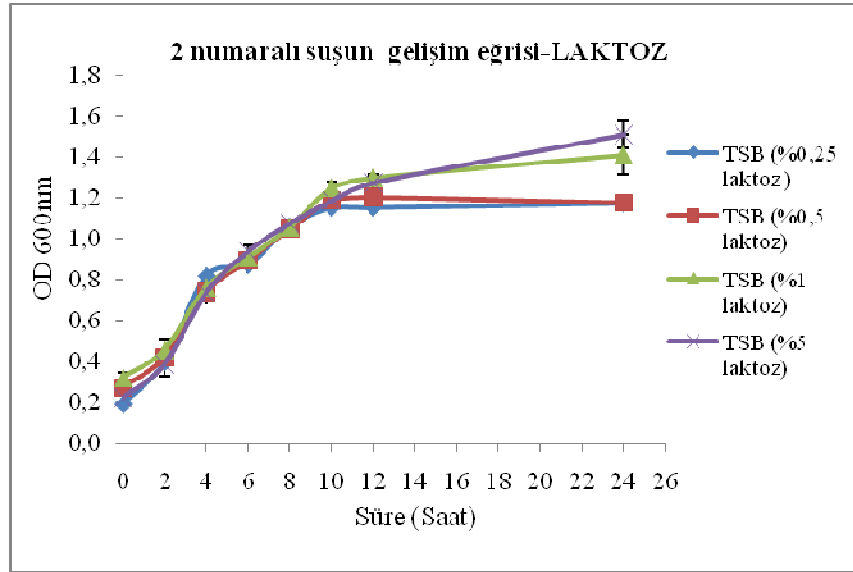
Şekil 5.6 : 1 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

1 nolu suş için farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.9'da gösterilmiştir. %5'lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 1 nolu suşun fruktozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla laktoz, sakkaroz ve glikoz takip etmektedir.

Çizelge 5.9 : 1 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,49 ^a	1,57 ^{ab}	1,7 ^b	1,6 ^{ab}
Fruktoz	1,28 ^a	1,32 ^{ab}	1,48 ^{bc}	1,65 ^c
Glikoz	1,18 ^a	1,26 ^{ab}	1,28 ^{ab}	1,43 ^b
Sakkaroz	1,25 ^a	1,26 ^a	1,36 ^a	1,56 ^b

2 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.7'de gösterilmiştir.



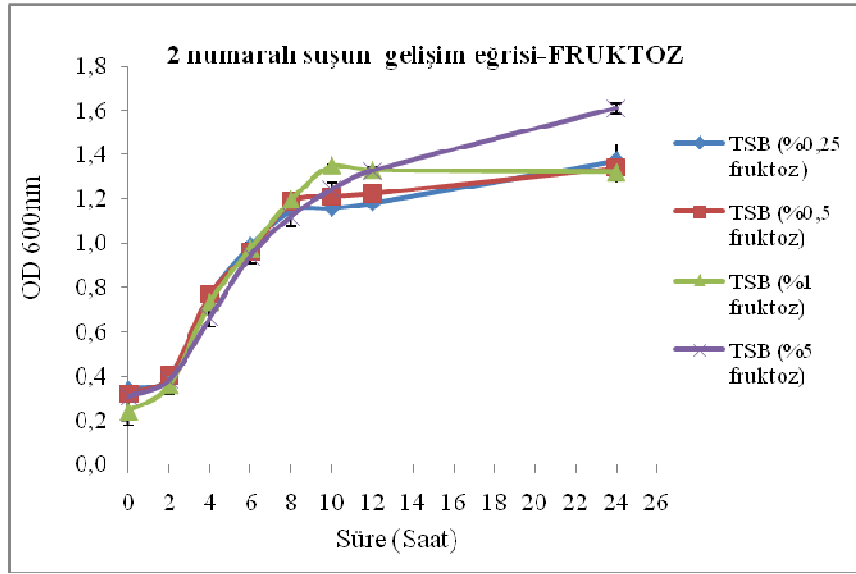
Şekil 5.7 : 2 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Şekil 5.7'de görüldüğü gibi laktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 2 nolu suşun %0,25 ve %0,5 konsantrasyonlarında laktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Laktoz konsantrasyonu %0,5'den %1 ve %5'e arttıkça bakteri gelişimi artmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

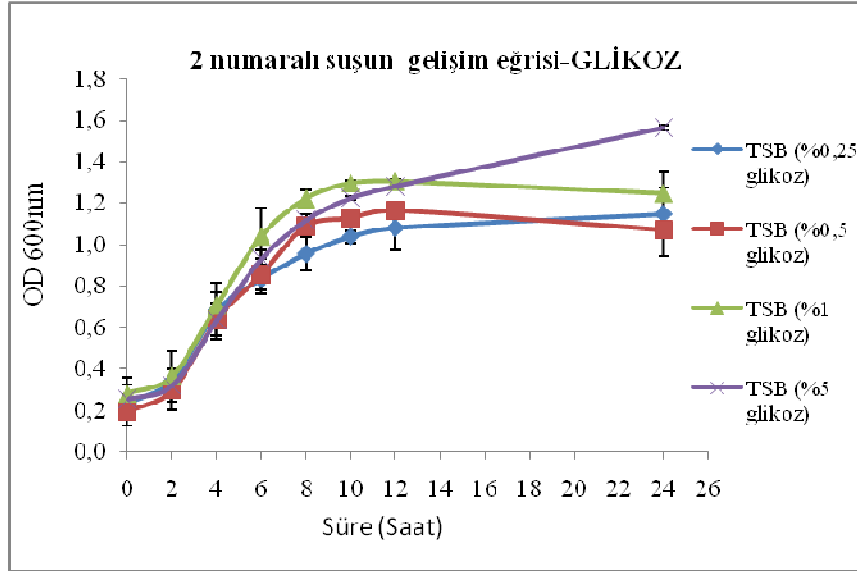
2 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.8'de gösterilmiştir.

Şekil 5.8'de görüldüğü gibi fruktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 2 nolu suşun %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında fruktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Fruktoz konsantrasyonunun %5'e yükeltilmesi bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

2 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.9'da gösterilmiştir.



Şekil 5.8 : 2 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

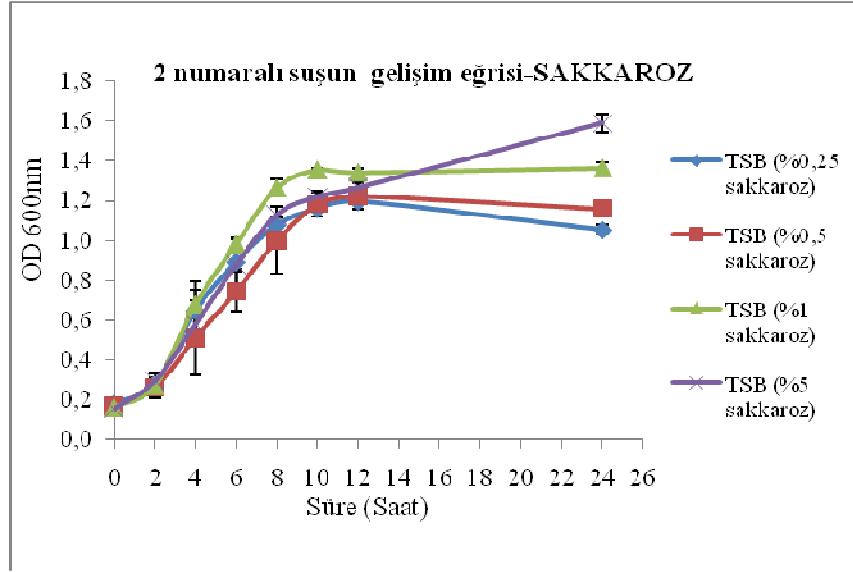


Şekil 5.9 : 2 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Şekil 5.9’da görüldüğü gibi glikoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 2 nolu suşun %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında glikoz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Glikoz konsantrasyonunun %5’e yükseltilmesi bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 2 nolu suşun glikoz ve fruktoz şeker türlerinde benzer davranış sergilediği belirlenmiştir.

2 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.10’da gösterilmiştir. 2 nolu suşun dört farklı sakkaroz

konsantrasyonundaki besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından etkileri birbirinden istatistiksel açıdan farklıdır ($p<0.05$). Şeker konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişiminin arttığı belirlenmiştir.



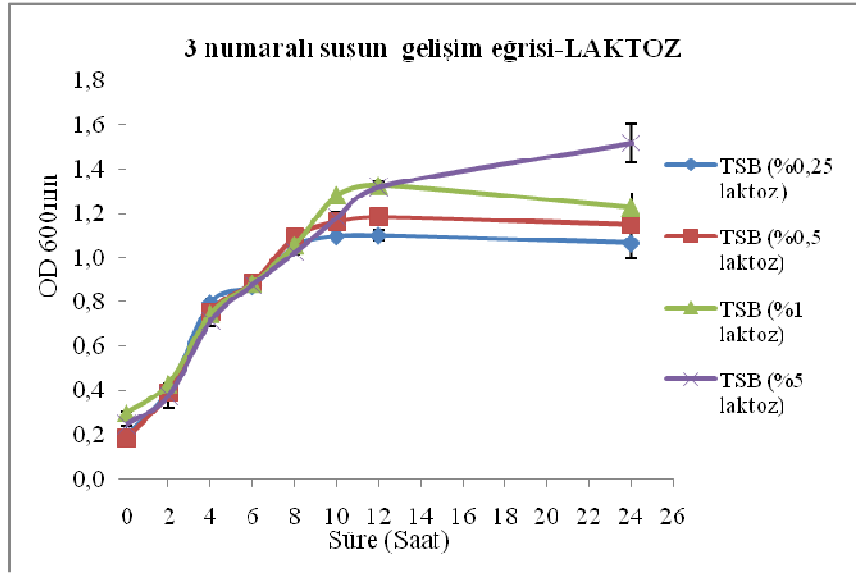
Şekil 5.10 : 2 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

2 nolu suş için farklı şeker türlerindeki ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.10’da gösterilmiştir. %5’lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 2 nolu suşun fruktozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla sakkaroz, glikoz ve laktoz takip etmektedir.

Çizelge 5.10 : 2 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,17 ^a	1,18 ^a	1,41 ^b	1,51 ^b
Fruktoz	1,37 ^a	1,34 ^a	1,32 ^a	1,60 ^b
Glikoz	1,15 ^a	1,07 ^a	1,25 ^a	1,57 ^b
Sakkaroz	1,05 ^a	1,16 ^b	1,36 ^c	1,59 ^d

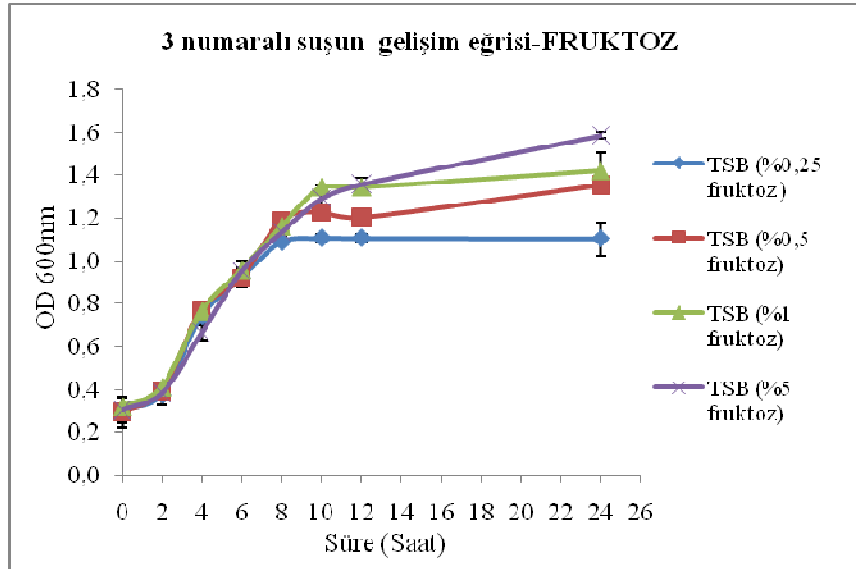
3 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.11’de gösterilmiştir.



Şekil 5.11 : 3 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Şekil 5.11’de görüldüğü gibi laktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 3 nolu suşun %0,25 ve %0,5 konsantrasyonlarında laktoz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Laktoz konsantrasyonu %0,5’den %5’e doğru arttıkça bakteri gelişimi artmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

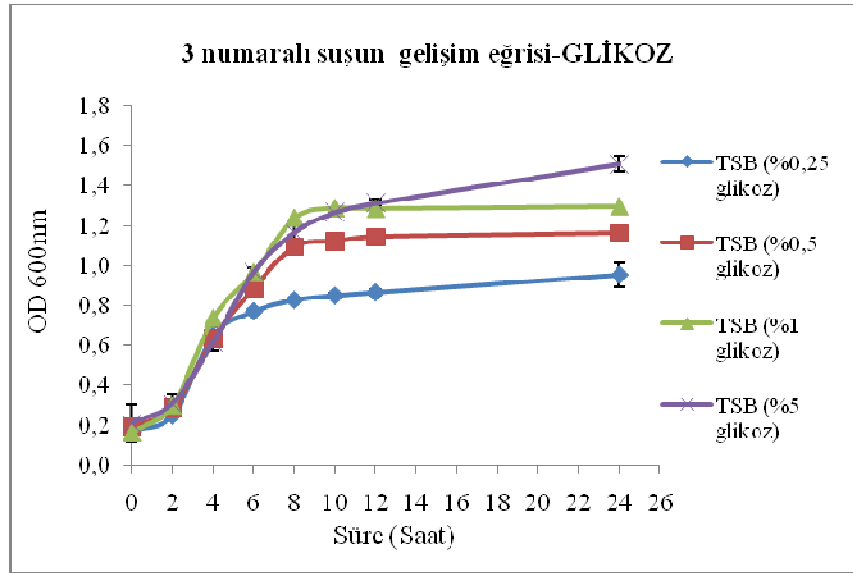
3 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.12’de gösterilmiştir.



Şekil 5.12 : 3 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Şekil 5.12’de görüldüğü gibi fruktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 3 nolu suşun %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında fruktoz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Fruktoz konsantrasyonunun %5’e yükseltilmesi bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

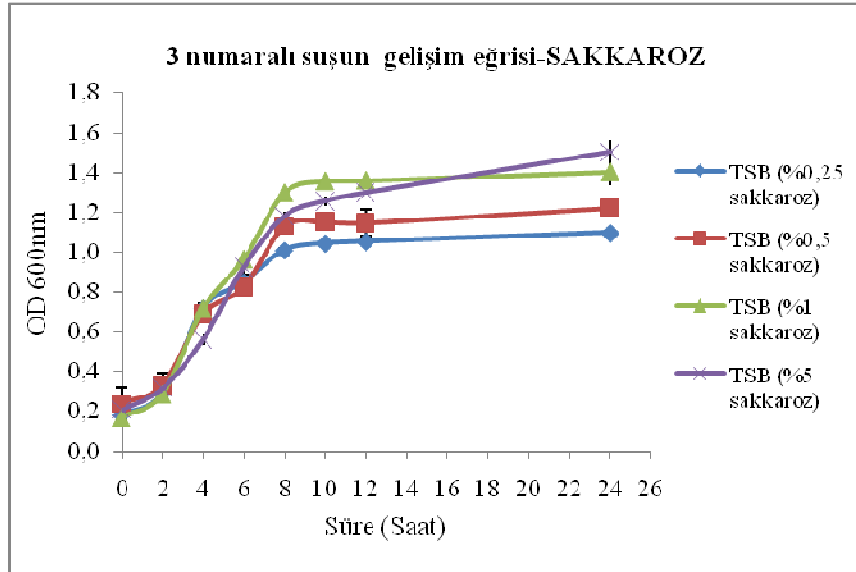
3 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.13’de gösterilmiştir.



Şekil 5.13 : 3 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

3 nolu suşun dört farklı glikoz konsantrasyonundaki besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından etkileri birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). Şeker konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişiminin arttığı belirlenmiştir.

3 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.14’de gösterilmiştir. 3 nolu suşun %1 ve %5 konsantrasyonlarında sakkaroz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir ($p>0.05$). Şeker konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişiminin arttığı belirlenmiştir.



Şekil 5.14 : 3 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

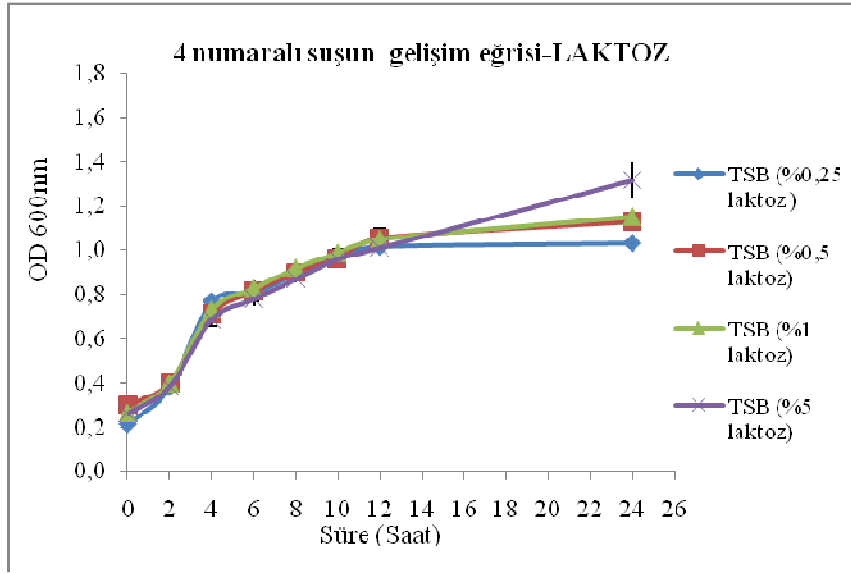
3 nolu suş için farklı şeker türlerindeki ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.11’de gösterilmiştir. %5’lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 3 nolu suşun fruktozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla laktoz, glikoz ve sakkaroz takip etmektedir.

Çizelge 5.11 : 3 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

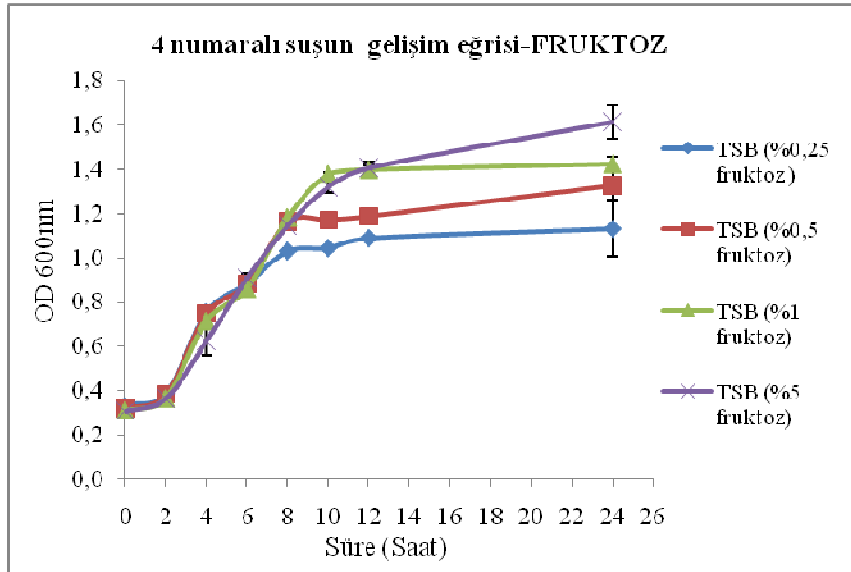
Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,07 ^a	1,15 ^{ab}	1,23 ^b	1,52 ^c
Fruktoz	1,10 ^a	1,35 ^b	1,42 ^b	1,59 ^c
Glikoz	0,95 ^a	1,16 ^b	1,30 ^c	1,51 ^d
Sakkaroz	1,10 ^a	1,22 ^b	1,40 ^c	1,50 ^c

4 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.15’de gösterilmiştir. Laktoz için 3 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.

4 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.16’da gösterilmiştir. Fruktoz için 1 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.

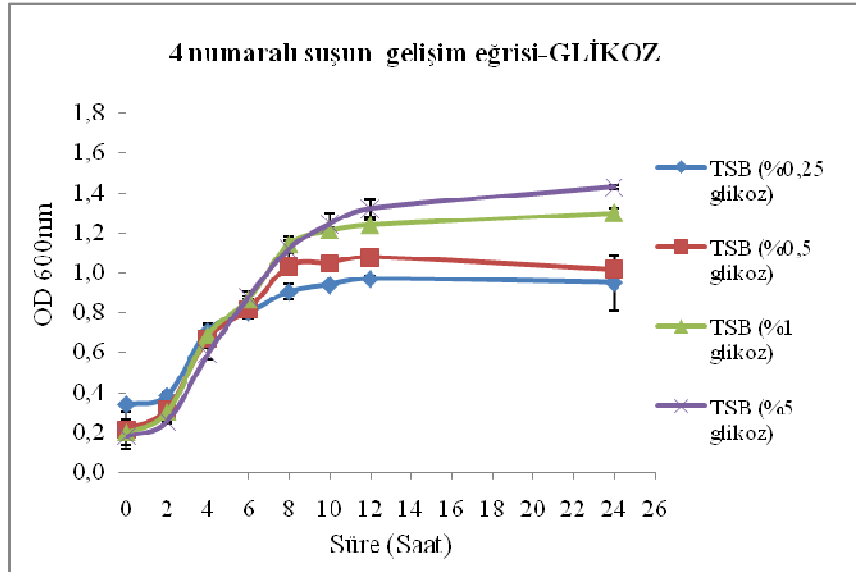


Şekil 5.15 : 4 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.



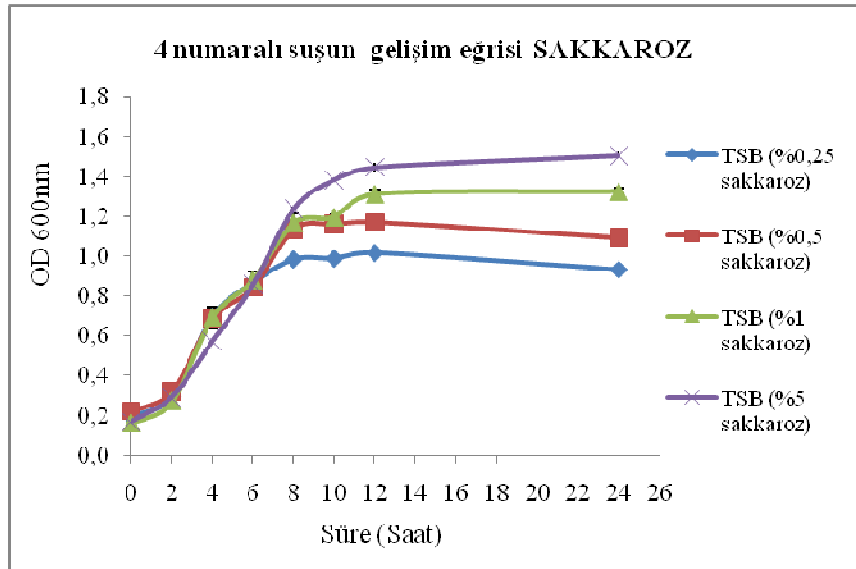
Şekil 5.16 : 4 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

4 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.17'de gösterilmiştir. Şekil 5.17'de görüldüğü gibi glikoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 4 nolu suşun %0,25 ve %0,5 konsantrasyonlarında glikoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Glikoz konsantrasyonu %0,5'den %1 ve %5'e arttıkça bakteri gelişimi artmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 5.17 : 4 nolu suşun farklı glukoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

4 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.18'de gösterilmiştir. Sakkaroz için 2 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir. 4 nolu suş için farklı şeker türlerindeki ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.12'de gösterilmiştir. %5'lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 4 nolu suşun fruktozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla sakkaroz, glukoz ve laktöz takip etmektedir.

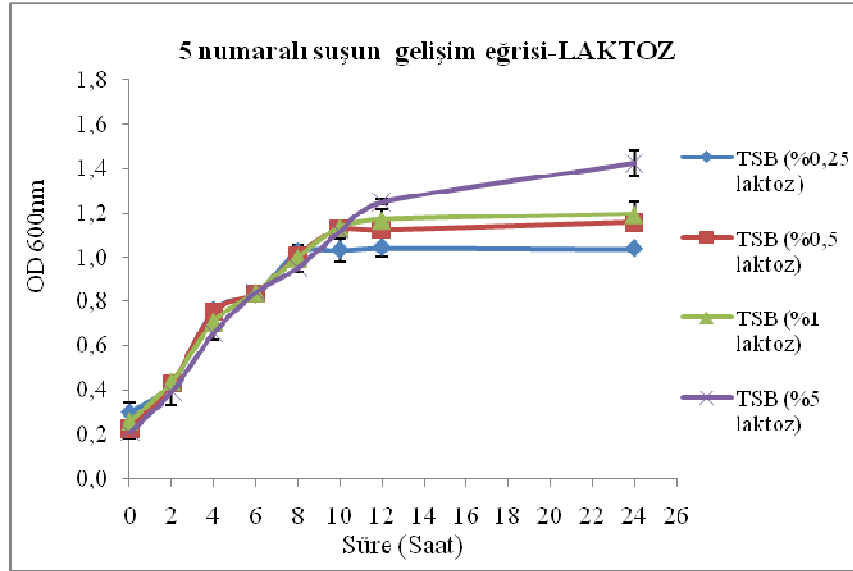


Şekil 5.18 : 4 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Çizelge 5.12 : 4 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,03 ^a	1,13 ^{ab}	1,15 ^b	1,32 ^c
Fruktoz	1,13 ^a	1,33 ^{ab}	1,42 ^{bc}	1,61 ^c
Glikoz	0,95 ^a	1,01 ^a	1,30 ^b	1,43 ^b
Sakkaroz	0,93 ^a	1,09 ^b	1,33 ^c	1,51 ^d

5 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.19'da gösterilmiştir.

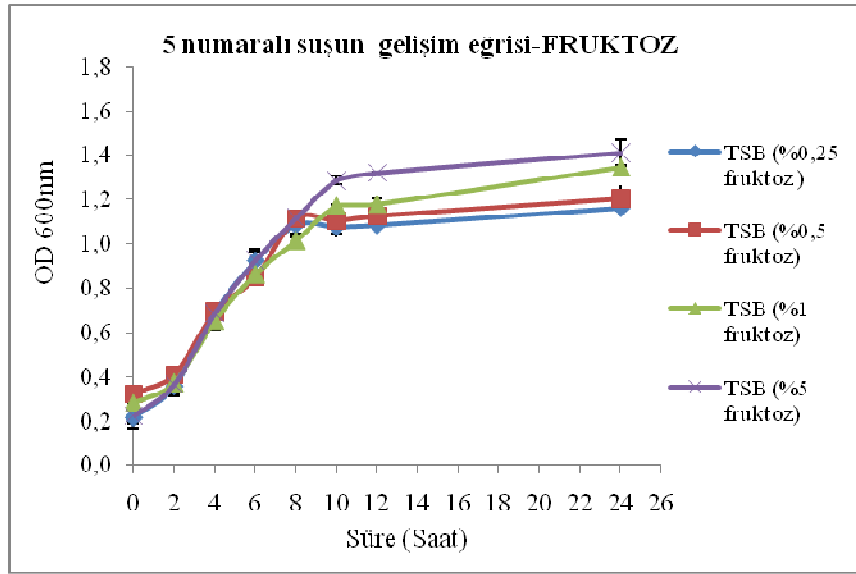


Şekil 5.19 : 5 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

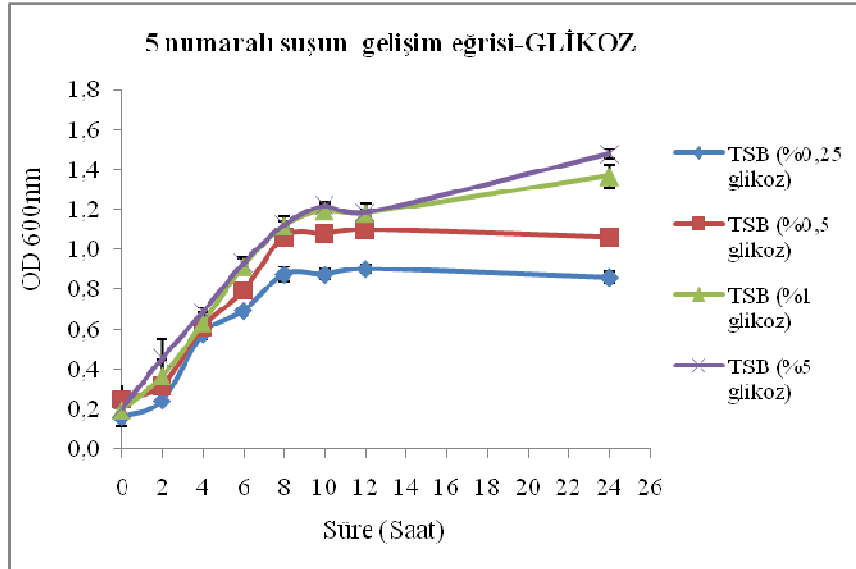
Şekil 5.19'da görüldüğü gibi laktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 5 nolu suşun %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında laktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından fark olmadığı görülmektedir. Laktoz konsantrasyonu %5'e arttıkça bakteri gelişimi artmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

5 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.20'de gösterilmiştir. Şekil 5.20'de görüldüğü gibi fruktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 5 nolu suşun %0,25 ve %0,5 konsantrasyonlarında fruktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Fruktoz konsantrasyonu %0,5'den %1 ve %5'e arttıkça bakteri gelişimi artmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 5 no'lu suşun farklı

konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.21’de gösterilmiştir.

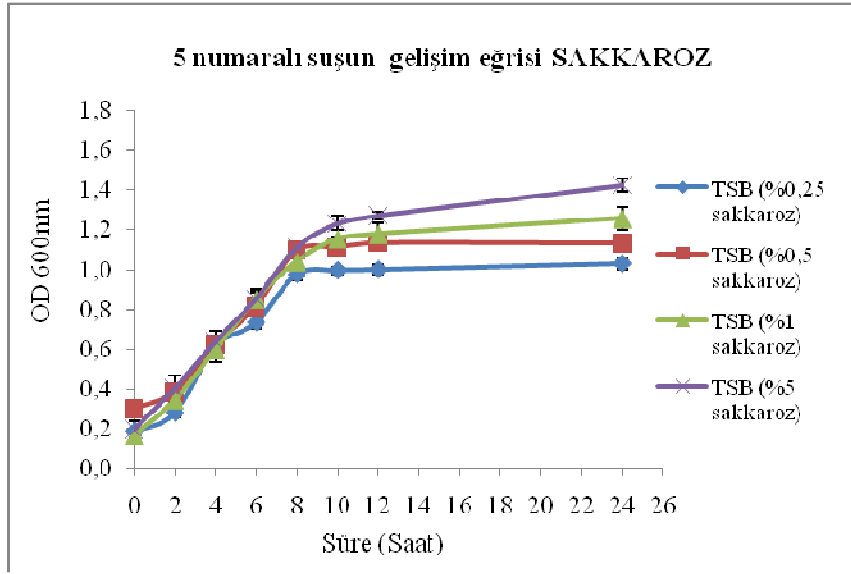


Şekil 5.20 : 5 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.



Şekil 5.21 : 5 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Glikoz için 3 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir. 5 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.22’de gösterilmiştir. Sakkaroz için 4 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.



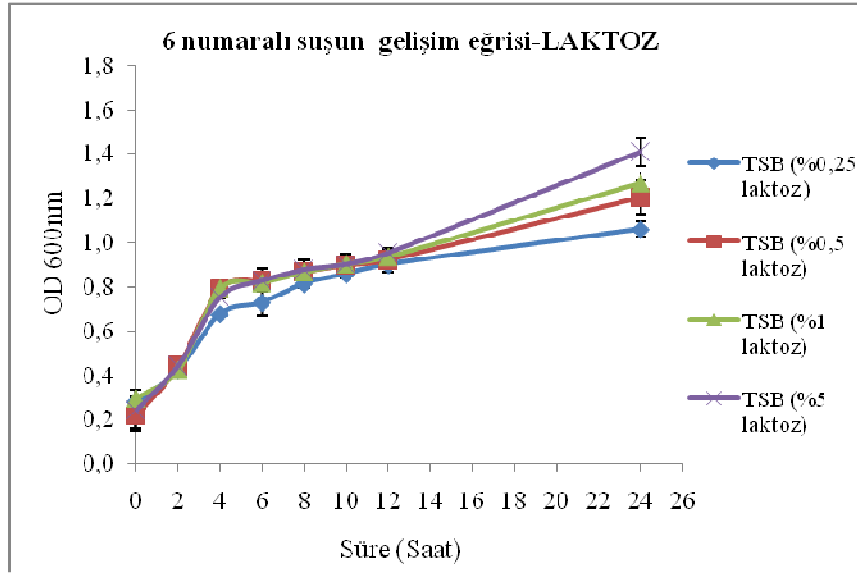
Şekil 5.22 : 5 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

5 nolu suş için farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.13’de gösterilmiştir. %5’lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 5 nolu suşun glikozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla laktoz ve sakaroz ve fruktoz takip etmektedir.

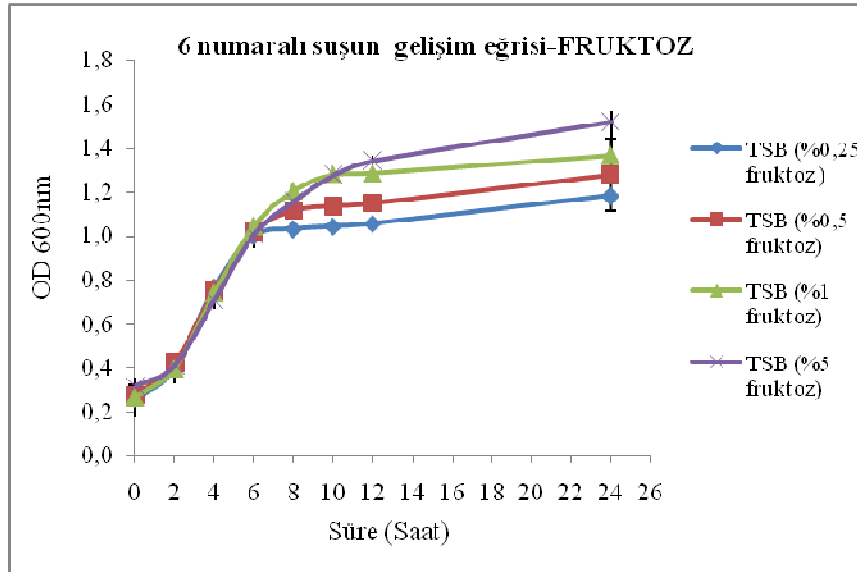
Çizelge 5.13 : 5 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,04 ^a	1,16 ^b	1,19 ^b	1,43 ^c
Fruktoz	1,16 ^a	1,20 ^a	1,35 ^b	1,41 ^b
Glikoz	0,86 ^a	1,07 ^b	1,37 ^c	1,48 ^d
Sakkaroz	1,03 ^a	1,13 ^b	1,26 ^c	1,43 ^d

6 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.23’de gösterilmiştir. Şekil 5.23’de görüldüğü gibi laktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 6 nolu suşun %0,25 ve %0,5 konsantrasyonlarında laktoz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı görülmektedir ($p>0,05$). Fruktoz konsantrasyonunun %0,25’den %5’e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0,05$). 6 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.24’de gösterilmiştir.

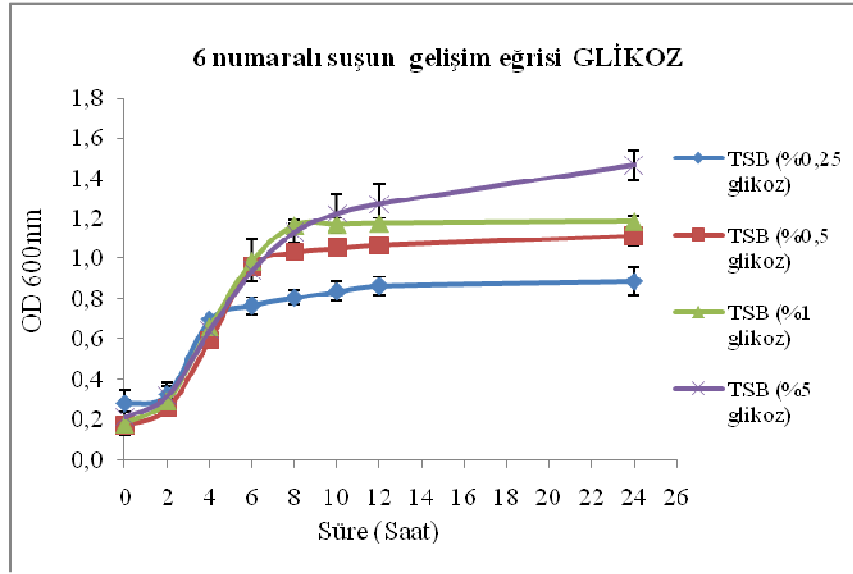


Şekil 5.23 : 6 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.



Şekil 5.24 : 6 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

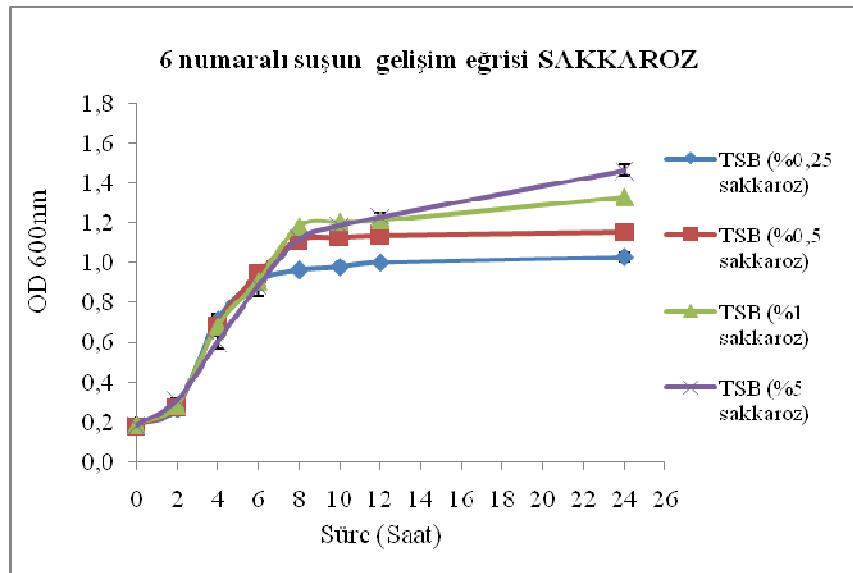
Şekil 5.24’de görüldüğü gibi fruktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 6 nolu suşun %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında fruktoz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Fruktoz konsantrasyonunun %0,25’den %5’e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0,05$). 6 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.25’de gösterilmiştir.



Şekil 5.25 : 6 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Şekil 5.25’de görüldüğü gibi glikoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 6 nolu suşun %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında glikoz içeren besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Glikoz konsantrasyonunun %5’e yükseltilmesi bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

6 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.26’da gösterilmiştir. Sakkaroz için 4 ve 5 nolu suşlar ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.



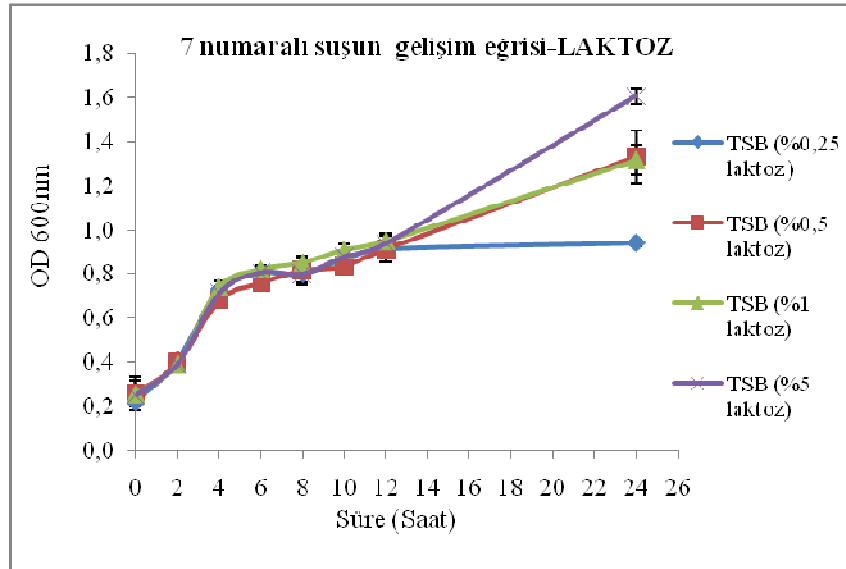
Şekil 5.26 : 6 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

6 nolu suş için farklı şeker türlerindeki ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.14’de gösterilmiştir. %5’lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 6 nolu suşun fruktozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla glikoz, sakaroz ve laktoz takip etmektedir.

Çizelge 5.14 : 6 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

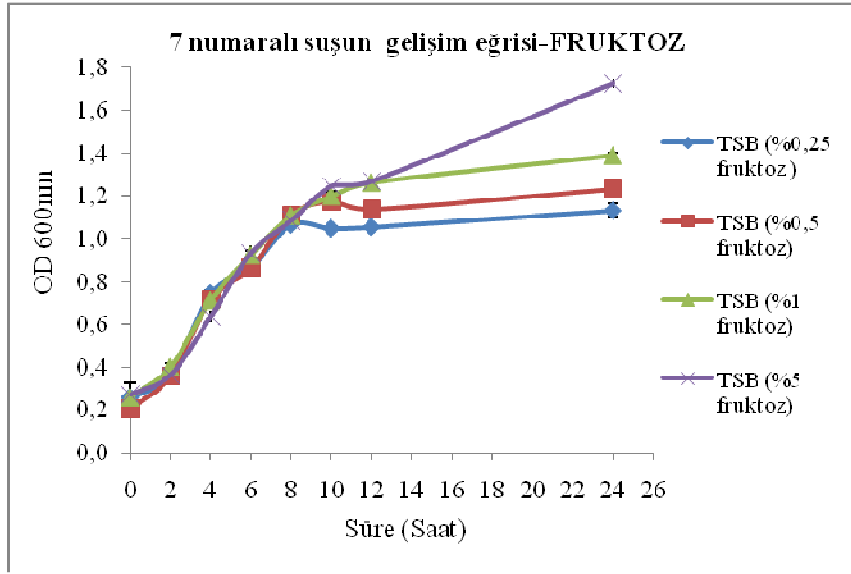
Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,06 ^a	1,20 ^{ab}	1,27 ^{bc}	1,41 ^c
Fruktoz	1,18 ^a	1,28 ^{ab}	1,37 ^{ab}	1,52 ^b
Glikoz	0,89 ^a	1,12 ^b	1,19 ^b	1,47 ^c
Sakaroz	1,03 ^a	1,15 ^b	1,33 ^c	1,46 ^d

7 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.27’de gösterilmiştir. Laktoz için 5 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.



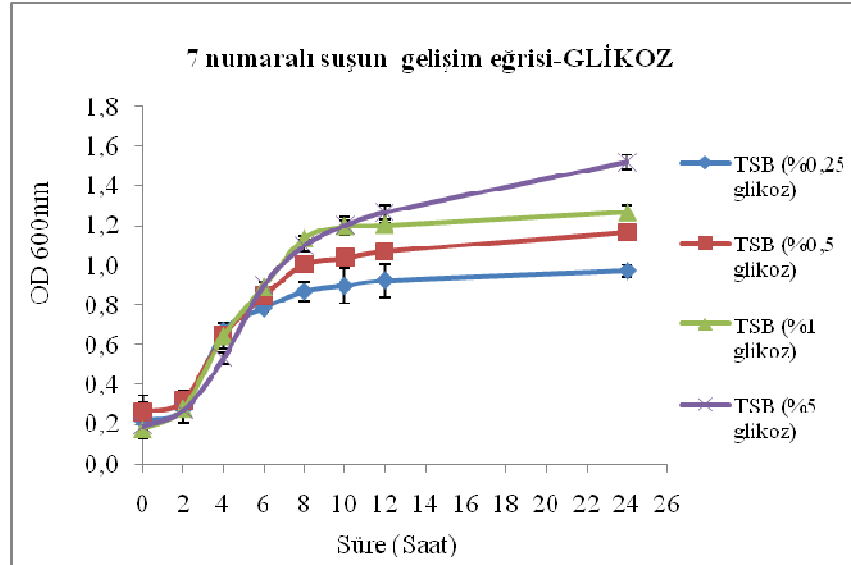
Şekil 5.27 : 7 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

7 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.28’de gösterilmiştir.



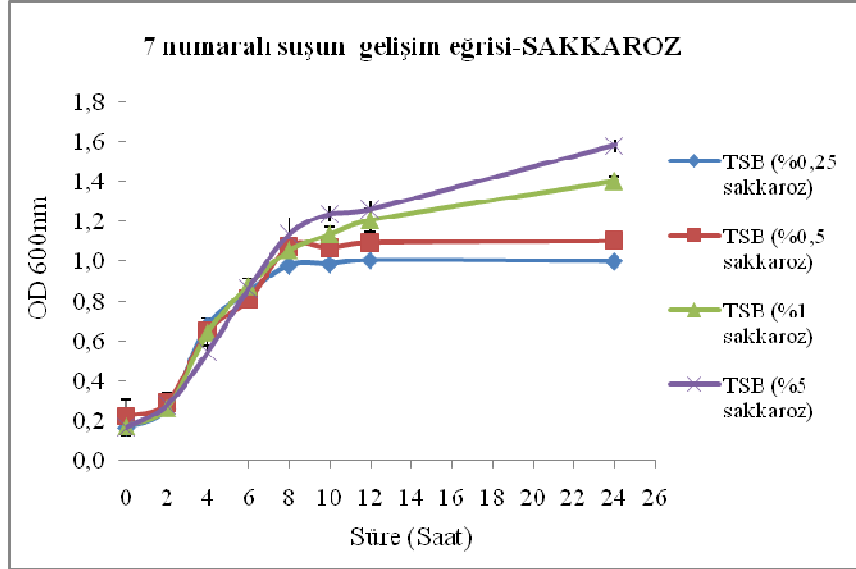
Şekil 5.28 : 7 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

7 nolu suşun dört farklı fruktoz konsantrasyonundaki besiyerleri arasında 37°C’de 24 saatlik gelişmesi açısından etkileri birbirinden istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0.05$). Şeker konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişiminin arttığı belirlenmiştir. 7 no’lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.29’da gösterilmiştir. Glikoz için 3 ve 5 nolu suşlar ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 5.29 : 7 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

7 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.30'da gösterilmiştir. Sakkaroz için 4, 5 ve 6 nolu suşlar ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.



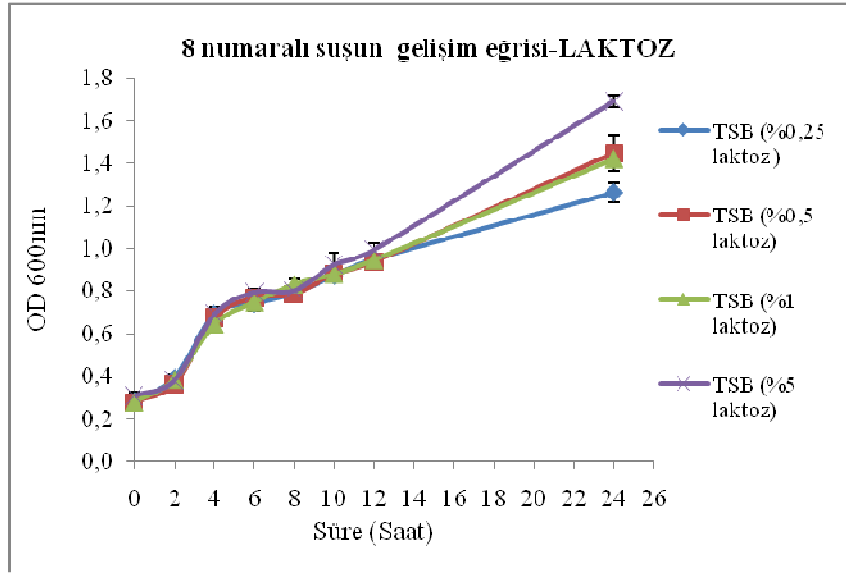
Şekil 5.30 : 7 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

Çizelge 5.15 : 7 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

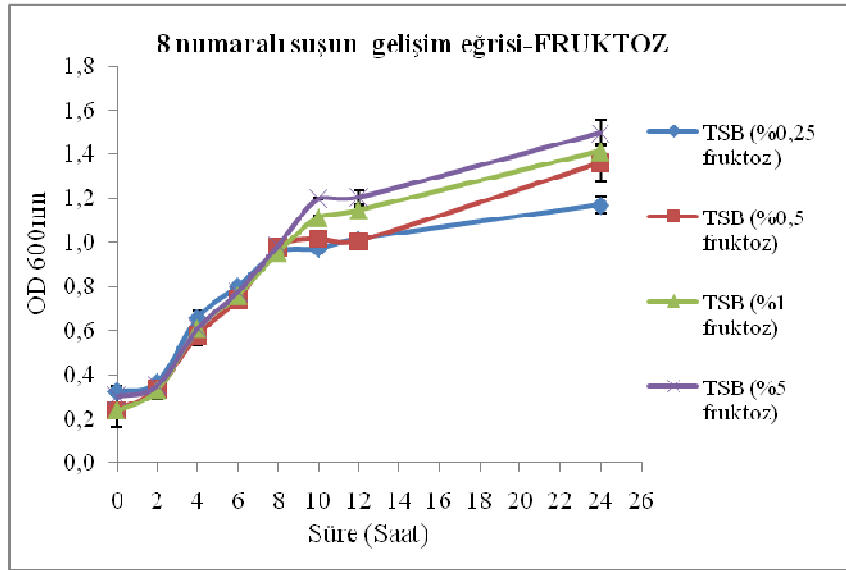
Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	0,94 ^a	1,30 ^b	1,32 ^b	1,61 ^c
Fruktoz	1,13 ^a	1,23 ^b	1,39 ^c	1,73 ^d
Glikoz	0,97 ^a	1,17 ^b	1,27 ^c	1,52 ^d
Sakkaroz	1,00 ^a	1,11 ^b	1,41 ^c	1,58 ^d

8 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.31'de gösterilmiştir. Laktoz için 5 ve 7 nolu suşlar ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.

8 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda fruktoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.32'de gösterilmiştir. Şekil 5.32'de görüldüğü gibi fruktoz konsantrasyonu arttıkça bakteri gelişmesi artmaktadır. 8 nolu suşun %0,5, %1 ve %5 konsantrasyonlarında fruktoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Fruktoz konsantrasyonunun %0,25'den %5'e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

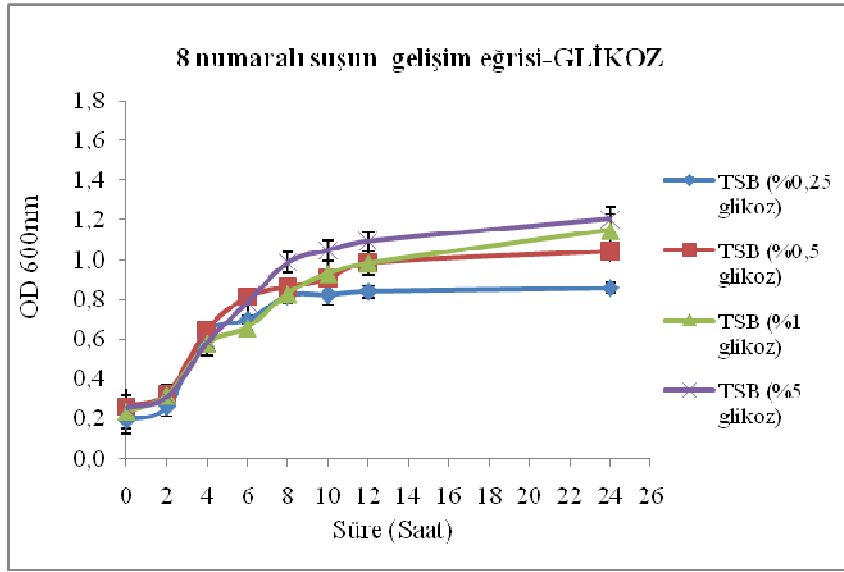


Şekil 5.31 : 8 nolu suşun farklı laktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.



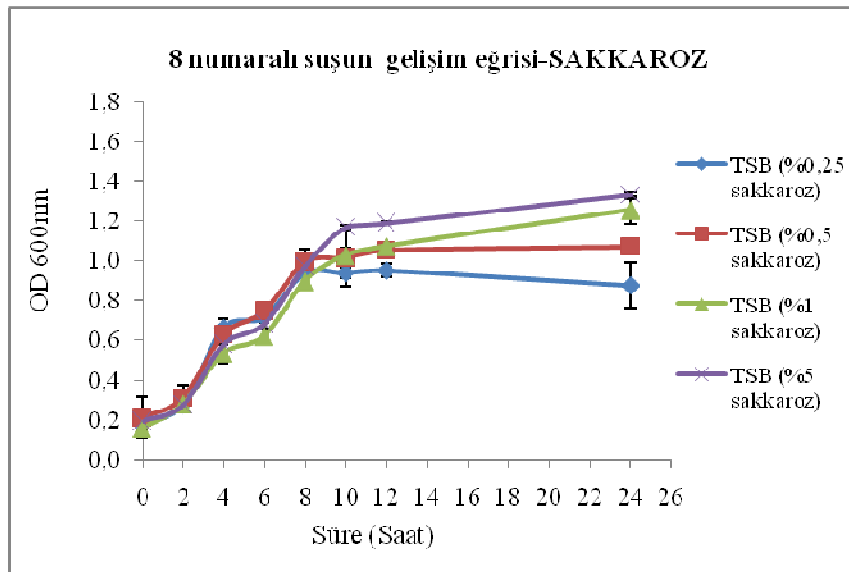
Şekil 5.32 : 8 nolu suşun farklı fruktoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

8 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.33'de gösterilmiştir. 8 nolu suşun %0,5 ve %1 ve %1 ve %5 konsantrasyonlarında glikoz içeren besiyerleri arasında 37°C'de 24 saatlik gelişmesi açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Fruktoz konsantrasyonunun %0,25'den %5'e artması bakteri gelişimini arttırmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 5.33 : 8 nolu suşun farklı glikoz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

8 no'lu suşun farklı konsantrasyonlarda sakkaroz içeren TSB besiyerindeki gelişme eğrisi Şekil 5.34'de gösterilmiştir. Sakkaroz için 3 nolu suş ile benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 5.34 : 8 nolu suşun farklı sakkaroz konsantrasyonlarındaki gelişim eğrisi.

8 nolu suş için farklı şeker çeşitleri ve konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimi ve aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak Duncan test metoduna göre harflendirilmesi Çizelge 5.16'da gösterilmiştir. %5'lik şeker konsantrasyonu içeren besiyerinde 8

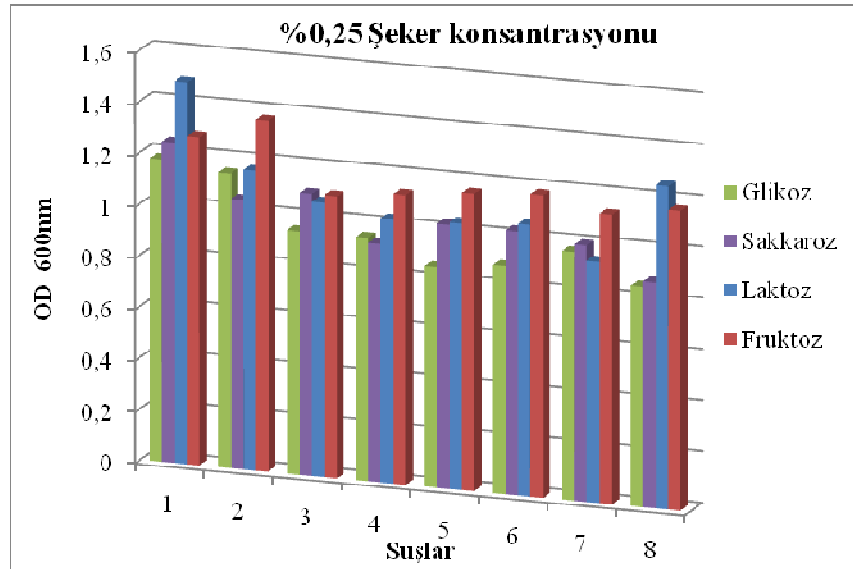
nolu referans suşun laktozdaki gelişimi en yüksek bulunmuştur, bu gelişimi sırasıyla fruktoz, sakkaroz ve glikoz takip etmektedir.

Çizelge 5.16 : 8 nolu suşun 24. saatteki gelişim değerleri.

Şeker Türü	Şeker Konsantrasyonu (%)			
	0,25	0,5	1	5
Laktoz	1,26 ^a	1,45 ^b	1,42 ^b	1,69 ^c
Fruktoz	1,17 ^a	1,36 ^b	1,41 ^b	1,50 ^b
Glikoz	0,86 ^a	1,04 ^b	1,15 ^{bc}	1,20 ^c
Sakkaroz	0,88 ^a	1,07 ^b	1,25 ^c	1,33 ^c

Bebek mamalarında karbonhidrat kaynağı olarak mısır şurubu, sakaroz, nişasta veya laktoz gibi çeşitli şekerler kullanılmaktadır (Morales ve diğ., 2004). 5 başlangıç mamasının gaz kromatografisi ile mono ve disakkarit bileşiminin incelendiği bir çalışmada maltoz içeriği 5,24-8,85 g/L (%0,524-%0,885), glikoz içeriği 1,06-2,41 g/L (%0,106-%0,241), laktoz içeriği 0-1,17 g/L (%0-%0,117), fruktoz içeriği 0-0,18 g/L (%0-%0,018), sakaroz içeriği 0-0,07 g/L (%0-%0,007) ve maltuloz 0,12-1,07 g/L (%0,012-%0,107) olarak bulunmuştur (Banos ve diğ., 2000).

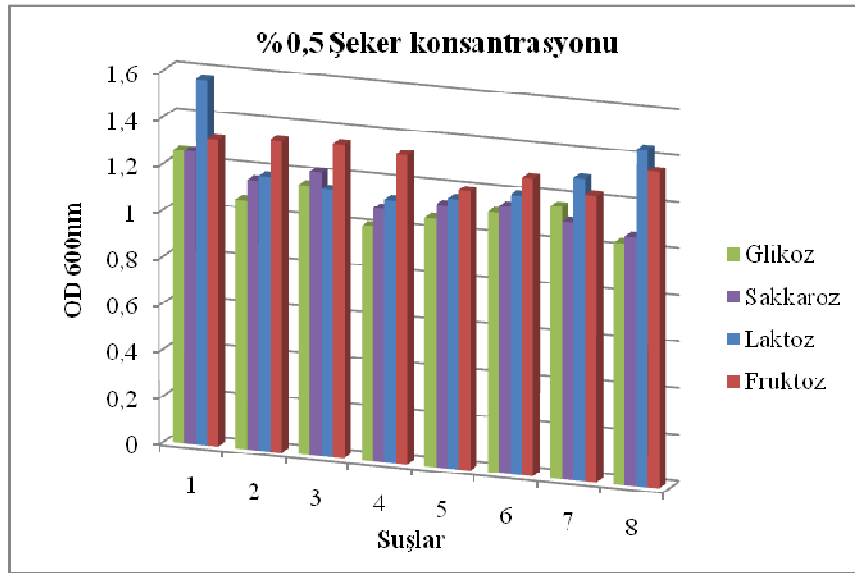
8 adet *E. sakazakii* suşunun %0,25 oranında glikoz, sakkaroz, laktoz ve fruktoz içeren TSB'de 37°C'de 24 saat sonundaki gelişimini gösteren 600 nm'de ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 5.35'de verilmiştir.



Şekil 5.35 : 8 adet *E. sakazakii* suşunun %0,25 şeker konsantrasyonu içeren TSB'de 24. saatteki optik yoğunlukları.

%0,25 oranında glikoz konsantrasyonunda *E. sakazakii* suşlarının 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 0,86 ile 1,18 arasında değişmektedir. 1 ve 2 nolu suşların diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,15$). %0,25 oranında sakkaroz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 0,88 ile 1,25 arasında değişmektedir. 1 nolu suşın diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD=1,25$). %0,25 oranında laktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 0,94 ile 1,49 arasında değişmektedir. 1, 2 ve 8 nolu suşların diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,17$). %0,25 oranında fruktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,1 ile 1,37 arasında değişmektedir. 1 ve 2 nolu suşların diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,28$). Genel olarak tüm suşlar incelendiğinde en fazla gelişimi 1 nolu suşın ($OD=1,49$) laktoz şekerinde gösterdiği görülmektedir. %0,25'lik glikoz ve sakkaroz konsantrasyonunda tüm suşların diğer şeker türlerine göre daha düşük oranda geliştiği belirlenmiştir.

8 adet *E. sakazakii* suşunun %0,5 oranında glikoz, sakkaroz, laktoz ve fruktoz içeren TSB'de 37°C'de 24 saat sonundaki gelişimini gösteren 600 nm'de ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 5.36'da verilmiştir.

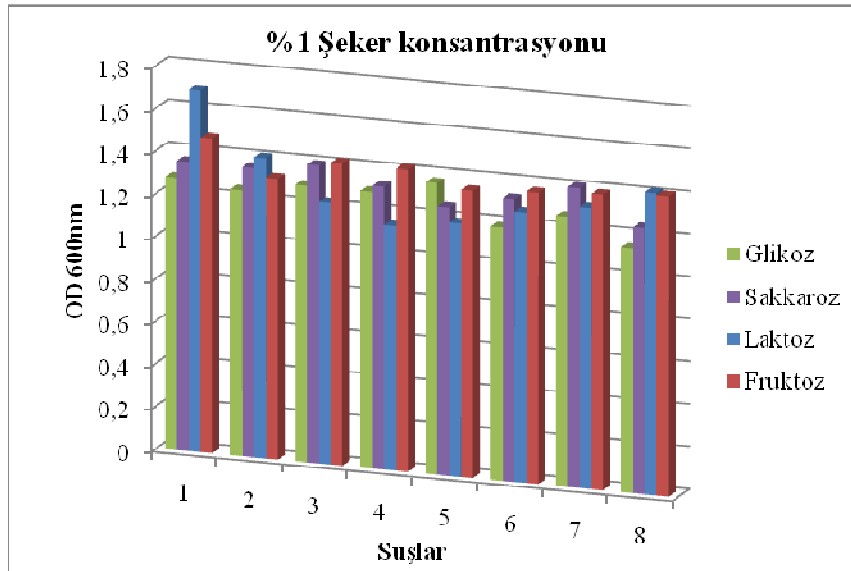


Şekil 5.36 : 8 adet *E. sakazakii* suşunun %0,5 şeker konsantrasyonu içeren TSB'de 24. saatteki optik yoğunlukları.

%0,5 oranında glikoz konsantrasyonunda *E. sakazakii* suşlarının 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,01 ile 1,26 arasında değişmektedir. 1, 3 ve 7 nolu suşların

diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,16$). %0,5 oranında sakkaroz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,07 ile 1,26 arasında değişmektedir. 1, 2 ve 3 nolu suşların diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,16$). %0,5 oranında laktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,13 ile 1,57 arasında değişmektedir. 1, 7 ve 8 nolu suşların diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,3$). %0,5 oranında fruktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,2 ile 1,36 arasında değişmektedir. Suşlar arasında belirgin bir farklılık bulunmamaktadır. En yüksek optik yoğunluk değeri 1,36 ile 8 numaralı suşa aittir.

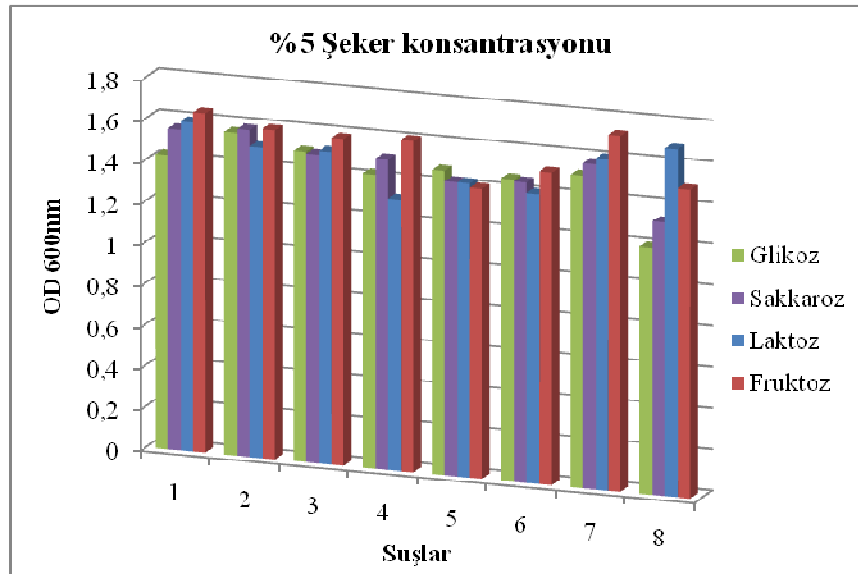
Genel olarak tüm suşlar incelendiğinde en fazla gelişimi 1 nolu suşun ($OD=1,57$) laktoz şekerinde gösterdiği görülmektedir. %0,5'lik fruktoz ve laktoz konsantrasyonunda tüm suşların diğer şeker türlerine göre daha yüksek oranda geliştiği belirlenmiştir. 8 adet *E. sakazakii* suşunun %1 oranında glikoz, sakkaroz, laktoz ve fruktoz içeren TSB'de 37°C'de 24 saat sonundaki gelişimini gösteren 600 nm'de ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 5.37'de verilmiştir.



Şekil 5.37 : 8 adet *E. sakazakii* suşunun %1 şeker konsantrasyonu içeren TSB'de 24. saatteki optik yoğunlukları.

%1 oranında glikoz konsantrasyonunda *E. sakazakii* suşlarının 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,15 ile 1,37 arasında değişmektedir. 5 nolu suşın diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD=1,37$). %0,25 oranında sakkaroz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,25 ile 1,41 arasında

değişmektedir. 7 nolu suşun diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir (OD=1,41). %0,25 oranında laktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,15 ile 1,7 arasında değişmektedir. 1 nolu suşun diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir (OD=1,7). %0,25 oranında fruktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,32 ile 1,48 arasında değişmektedir. Suşlar arasında belirgin bir farklılık bulunmamaktadır. En yüksek optik yoğunluk değeri 1,48 ile 1 numaralı suşa aittir. Genel olarak tüm suşlar incelendiğinde en fazla gelişimi 1 nolu suşun (OD=1,7) laktoz şekerinde gösterdiği görülmektedir. 1 nolu suş haricindeki suşların %1'lik fruktoz konsantrasyonunda diğer şeker türlerine göre daha yüksek oranda geliştikleri belirlenmiştir. 8 adet *E. sakazakii* suşunun %5 oranında glikoz, sakkaroz, laktoz ve fruktoz içeren TSB'de 37°C'de 24 saat sonundaki gelişimini gösteren 600 nm'de ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 5.38'de verilmiştir.



Şekil 5.38 : 8 adet *E. sakazakii* suşunun %5 şeker konsantrasyonu içeren TSB'de 24. saatteki optik yoğunlukları.

%5 oranında glikoz konsantrasyonunda *E. sakazakii* suşlarının 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,57 ile 1,2 arasında değişmektedir. 2, 3 ve 7 nolu suşların birbirlerine yakın değerlerde gelişme gösterdiği belirlenmiştir (OD≥1,51). %5 oranında sakkaroz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,33 ile 1,59 arasında değişmektedir. 1, 2 ve 7 nolu suşların birbirlerine yakın değerlerde gelişme gösterdiği belirlenmiştir (OD≥1,56). %5 oranında laktoz konsantrasyonunda

24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,32 ile 1,69 arasında değişmektedir. 1, 7 ve 8 nolu suşların diğerlerine göre daha iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir ($OD \geq 1,6$).

%5 oranında fruktoz konsantrasyonunda 24. saatteki optik yoğunluk değerleri 1,41 ile 1,73 arasında değişmektedir. 1, 2, 3 ve 4 nolu suşların birbirlerine yakın değerlerde gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak tüm suşlar incelendiğinde en fazla gelişimi 7 nolu suşun ($OD=1,73$) fruktoz şekerinde gösterdiği görülmektedir.

Literatürde farklı şeker türü ve konsantrasyonlarının *E. sakazakii* türlerinin gelişimine etkisine ait bir bilgiye rastlanmamıştır. Yapılan çalışmada 1, 5 ve 8 nolu suşlar dışındaki tüm *E. sakazakii* suşlarının en fazla %5'lik fruktoz konsantrasyonunda geliştiği belirlenmiştir. 1 nolu suş en fazla laktozun %1'lik konsantrasyonunda gelişmekte, 5 nolu suş en fazla glikozun %5'lik konsantrasyonunda gelişmekte, 8 nolu suş en fazla laktoz'un %5'lik konsantrasyonunda gelişmekte olduğu tespit edilmiştir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada 2008 ve 2009 yıllarında piyasadan ve üreticilerden temin edilen toplam 114 formül mama ve süt ürünlerinde *E. sakazakii* varlığı iki farklı yöntem kullanılarak araştırılmıştır. Analizi yapılan 114 gıda maddesinden 7'si (%6,14) *E. sakazakii* açısından pozitif bulunmuştur. Son ürün olarak kullanılan 40 adet formül bebek mamasının 1'inde, 15 ek besinin ise 1'inde *E. sakazakii* tespit edilmiştir. 25 adet süt tozunun 3'ü, 15 adet peynir altı suyu tozunun 2'si *E. sakazakii* içermektedir. Analizde kullanılan ISO 22964/IDF 210 yöntemi ve 1,5 günde sonuç alınan Dupont firmasına ait BAX PZR sistemi ile aynı sonuçlar elde edilmiştir. *E. sakazakii* analizinin pozitif olması durumunda ISO yöntemi ile analiz süresi 7 gün'e kadar uzamaktadır. Kültürel yöntemlerle *E. sakazakii* analizinde biyokimyasal doğrulama kitlerinin kullanılmasında ve pigment oluşumuna göre *E. sakazakii*'nin doğrulanmasında literatürde çeşitli belirsizlikler bulunması sebebiyle yapılan analizlerin moleküler yöntemler ile teyid edilmesi bu bakterinin doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlayacaktır.

E. sakazakii açısından pozitif bulunan örneklerde Enterobacteriaceae sayısı ISO 21528-2 metoduna göre belirlenmiş ve sonuçlar <10 kob/g olarak tespit edilmiştir. Literatürdeki verilerinde değerlendirilmesiyle, bu metotta önzenginleştirme basamağı bulunmaması nedeniyle Enterobacteriaceae sayısının tespit edilemediği düşünülerek FDA/CFSAN (2002) metodu ile *E. sakazakii* sayısı belirlenmiştir. Örneklerdeki *E. sakazakii* sayısının $1,5 \times 10^1$ ila 0,74 EMS/g arasında değiştiği tespit edilmiştir. *E. sakazakii* açısından pozitif bulunan örnekler toplam aerobik mezofilik bakteri, *S. aureus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, koliform bakteri, küf ve maya açısından incelenmiştir. 3 adet süt tozu ve peynir altı suyu tozu numunesinin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde süt tozu ve peynir altı suyu tozu için yer alan sınır değerlerin üzerinde bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi'ne göre ek besinlerde Enterobacteriaceae analizi yapılması zorunludur ve Enterobacteriaceae limiti olarak <10 kob/g verilmektedir. Bu çalışma sonucunda örneklerde Enterobacteriaceae familyasına dahil olan *E. sakazakii* mevcut olsa bile önzenginleştirme işlemi yapılmadan gerçekleştirilen bir Enterobacteriaceae analizinde sıfır sonucu alınabildiği ve bu durumun Türkiye için bir risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır.

Örneklerden izole edilen 7 farklı suşun ve referans kültür koleksiyonundan temin edilen ATCC 51329 kodlu *E. sakazakii* suşunun 52°C, 54°C, 56°C, 58°C ve 60°C'deki D değerlerini ve Z değerleri belirlenmiştir. 52°C'deki D değerlerinden en düşüğü 10,58 dk. ile 6 numaralı suşa, en yükseği ise 36,02 dk. ile 7 numaralı suşa, 54°C'deki D değerlerinden en düşüğü 4,41 dk. ile 6 numaralı suşa, en yükseği ise 7,86 dk. ile 7 numaralı suşa, 56°C'deki D değerlerinden en düşüğü 3,21 dk. ile 2 numaralı suşa, en yükseği ise 5,83 dk. ile 5 numaralı suşa, 58°C'deki D değerlerinden en düşüğü 1,28 dk. ile 3 numaralı suşa, en yükseği ise 3,67 dk. ile 5 numaralı suşa ve son olarak 60°C'deki D değerlerinden en düşüğü 0,87 dk. ile 1 numaralı suşa, en yükseği ise 1,54 dk. ile 5 numaralı suşa aittir. Suşların 5 adetinin D₅₈ ve D₆₀ değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmamıştır.

Çalışmada elde edilen Z değerleri 5,24°C ile 8,39°C arasında değişmektedir. 1 nolu suş ile 7 nolu suşun ve 3 nolu suş ile 4 nolu suşun Z değerleri arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamaktadır.

Bebek mamalarının bileşiminde bulunan glikoz, fruktoz, laktoz ve sakkaroz'un ve bu şekerlerin farklı konsantrasyonlarının *E. sakazakii* gelişimine olan etkisi incelendiğinde şeker konsantrasyonunun artmasının *E. sakazakii*'nin gelişimini arttırdığı belirlenmiştir. Kullanılan şeker türlerinden fruktozun %5'lik konsantrasyonunun 1, 5 ve 8 nolu suşlar haricinde 5 adet suşun gelişimini en yüksek ölçüde etkilediği belirlenmiştir. 1 nolu suş en fazla laktozun %1'lik konsantrasyonunda gelişmekte, 5 nolu suş en fazla glikozun %5'lik konsantrasyonunda gelişmekte, 8 nolu suş en fazla laktoz'un %5'lik konsantrasyonunda gelişmekte olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında bebek mamalarındaki şeker bileşimi ve konsantrasyonu değiştikçe *E. sakazakii*'nin gelişiminin etkileneceği sonucu elde edilmiştir.

Türkiye’de *E. sakazakii*’nin varlığının araştırıldığı tamamlanmış 1 adet yüksek lisans tezi, 1 adet araştırma projesi ve devam den 1 adet doktora çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmada elde edilen verilerin bebek mamalarındaki *E. sakazakii* riskinin bilinirliğinin arttırılması açısından önemli olduğu ve ülkemizdeki *E. sakazakii* araştırmalarının desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdullah-Sani, N.**, 2009. *Cronobacter* research and surveillance in Malaysia. *1st International Conference on Cronobacter (E. sakazakii)*, Dublin, Ireland, January 22-23.
- Al-Holy, M.A., Lin, M., Al-Qadiri, H.M. and Rasco, B.A.**, 2008. A comparative study between overlay method and selective-differential media for recovery of stressed *Enterobacter sakazakii* cells from infant formula. *Food Microbiology*, **25**, 22-28.
- Anonim**, 2003. The Dupont qualicon BAX system method for the detection of *E. coli* O157:H7 in raw beef and fruit juice. *Government of Canada, Laboratory Methods*, Ottawa.
- Anonim**, 2010a. Euromonitor International, <www.euromonitor.com>, alındığı tarih: Aralık, 2010.
- Anonim**, 2010b. <www.dupont.com>, alındığı tarih: Aralık 2010.
- AOAC**, 2010. <www.aoac.org/testkits/testedmethods.html>, alındığı tarih: Aralık 2010
- Arku, B., Mullane, N., Fox, E., Fanning, S. and Jordan, K.**, 2008. *Enterobacter sakazakii* survives spray drying. *International Journal of Dairy Technology*, **61**(1), 102-108.
- Arroyo, C, Condon, S. and Pagan, R.**, 2009. Thermobacteriological characterization of *Enterobacter sakazakii*, *International Journal of Food Microbiology*, **136**, 110-118.
- Banos, J.L., Olano, A. and Corzo N.**, 2000. Determination of mono and disaccharide content of enteral formulations by gas chromatography. *Chromatographia*, **52**, 221-224
- Barron, J C., Hurrell, E., Townsend, S., Cheetham, P., Loc-Carillo, C., Fayet, O., Prere, M.F. and Forsythe, S.J.**, 2007. Genotypic and Phenotypic Analysis of *Enterobacter sakazakii* Strains from an Outbreak Resulting in Fatalities in a Neonatal Intensive Care Unit in France, *Journal of Clinical Microbiology*, **45**(12), 3979-3985.
- Beuchat, L.R., Kim, H., Gurtler, J., Lin, L., Ryu, J. and Richards, G.M.**, 2009. *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth and inactivation. *International Journal of Food Microbiology*, **136**, 204-213.
- Biomerieux**, 2008a, API 20E user guide, France.
- Biomerieux**, 2008b, API *Listeria* user guide, France.

- Block, C., Peleg O., Minster, N., Bar-Oz, B., Simhon, A., Arad, I., and Shapiro, M.** 2002. Cluster of neonatal infections in jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter Sakazakii*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **21**, 613-616.
- Breeuwer, P., Lardeau, A., Peterz, M. and Joosten, H.M.**, 2003. Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Applied Microbiology*, **95**, 967-973.
- Caubilla-Barron, J. and Forsythe, S.**, 2007. Dry stress and survival time of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae in dehydrated powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, **70** (9), 2111-2117.
- Cawthorn, D. and Witthuhn, C.**, 2008. Evaluation of different methods for the detection and identification of *Enterobacter sakazakii* isolated from south african infant formula milks and processing environment. *The 21st International ICFMH Symposium "Evolving Microbial Food Quality and Safety"*, Aberdeen, Scotland, September 1-4.
- Chap, J., Jackson, P., Siqueira, R., Gaspar, N., Quintas, C., Park, J., Osaili, T., Shaker, R., Jaradat, Z., Hartantyo, S.H.P., Abdullah-Sani, N., Estuningsih, S. and Forsythe, S.J.**, 2009. International survey of *Cronobacter Sakazakii* and other *Cronobacter* spp. in follow up formulas and infant foods. *International Journal of Food Microbiology*, **136-2**, 185- 188
- Chenu, J.W. and Cox, J.M.**, 2009. *Cronobacter (Enterobacter sakazakii)*: current status and future prospects. *Letters in Applied Microbiolog*, **49**, 153-159.
- Cordier, J.L.**, 2008. Production of powdered infant formulae and microbiological control measures, in *Emerging Issues in Food Safety: Enterobacter sakazakii*, p. 145-185, Eds. Farber, J.M. and Forysthe, S., ASM Press, Washington D.C.
- Dancer, G.I., Mah, J.H., Rhee, M.S., Hwang, I.G. and Kang, D.H.**, 2009. Resistance of *Enterobacter sakazakii (Cronobacter* spp.) to environmental stress, *The Society for Applied Microbiology*, **107**, 1606-1614.
- Dauga, C. and Breeuwer, P.**, 2008. Taxonomy and physiology of *Enterobacter sakazakii*, p. 1-26, Eds. Farber, J.M. and Forysthe, S., ASM Press, Washington D.C.
- Dennison, S.K., and Morris J.**, 2002. Multiresistant *Enterobacter sakazakii* wound infection in an adult. *Infections in Medicine*, **19**, 533-535.
- Dupont**, 2005. Dupont Qualicon Bax® System User Guide.
- Eddelson-Mammel, S.G., Porteous, M.K. and Buchanan, R.L.**, 2006. Acid resistance of twelve strains of *Enterobacter sakazakii*, and the impact of habituating the cells to an acidic environment. *Journal of Food Science*, **71**, 201-207.

- Edelson-Mammel, S.G. and Buchanan, R.L.** 2004. Thermal inactivation of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant formula. *Journal of Food Protection*, **67**, 60-63.
- Edelson-Mammel, S.G., Porteous, M.K, Buchanan, R.L.,** 2005. Survival of *Enterobacter sakazakii* in a dehydrated powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, **68**(9), 1900-1902.
- El-Sharoud, W.M., El-Din, M.Z., Ziada, D.M., Ahmed, S.F. and Klena, J.D.,** 2008. Surveillance and genotyping of *Enterobacter sakazakii* suggest its potential transmission from milk powder into imitation recombined soft cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 1-8.
- Estuningish, S. and Sani, N.A.,** 2008. Powdered infant formula in developing and other countries-issues and prospects, in *Emerging Issues in Food Safety: Enterobacter sakazakii*, p. 221-234, Eds. Farber, J.M. and Forysthe, S., ASM Press, Washington D.C.
- Fanjat, N., Leclercq, A., Joosten, H. and Robichon, D.,** 2007. Comparison of the Phenotyping Methods ID 32E and VITEK 2 Compact GN with 16S RNA Gene Sequencing for the Identification of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Clinical Microbiology*, **45**(6), 2048-2050.
- Fanning, S. and Forsythe, S.,** 2008. Isolation and identification of *Enterobacter sakazakii*, in *Emerging Issues in Food Safety: Enterobacter sakazakii*, p. 27-59, Eds. Farber, J.M. and Forysthe, S., ASM Press, Washington D.C.
- FAO and WHO,** 2004. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant Formula: Meeting report. World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization (FAO) Microbiological Risk Assessment Series 6
- FAO and WHO,** 2006. *Enterobacter sakazakii* and *Salmonella* in powdered infant formula: Meeting report. World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization (FAO) Microbiological Risk Assessment Series.
- FAO and WHO,** 2008. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formulae: Meeting report World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization (FAO) Microbiological Risk Assessment Series 15.
- Farber, J.M, Pagotto, F. and Cordier, J.L.,** 2008. Regulatory Aspects, in *Emerging Issues in Food Safety: Enterobacter sakazakii*, p. 235-253, Eds. Farber, J.M. and Forysthe, S., ASM Press, Washington D.C.
- Farmer, J.J.I., Asbury, M.A, Hickman F.W. and Brenner D.J.,** 1980. *Enterobacter sakazakii*: a new species of 'Enterobacteriaceae' isolated from clinical specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **30**, 569-584.
- FDA,** 2002. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. USFDA (US Food and Drug Administration), Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Forsythe, S.,** 2010. *Cronobacter* species, *OXOID publication*, **31**, 1-4.

- Friedemann, M.**, 2007. *Enterobacter sakazakii* in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *International Journal of Food Microbiology*, **116**, 1-10.
- Ghassem, M., Babji, A.S. and Abdullah-Sani, N.**, 2008. Isolation, identification and growth characteristics of *Enterobacter sakazakii* in powdered infant formula milk, *The 21st International ICFMH Symposium "Evolving Microbial food Quality and Safety"*, Aberdeen, Scotland, September 1-4.
- Girlich, D., Poirel, L., Leelaporn, A., Karim, A., Tribuddharat, C., Fennerwald, M. and Nordmann, P.**, 2001. Molecular epidemiology of the integron-located *veb-1* extended-spectrum beta-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in bangkok, thailand. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**, 175-182.
- Gökmen, A., Tekinsen, K.K. and Gürbüz, U.**, 2010. Presence of *Enterobacter Sakazakii* in milk powder, whey powder and white cheese produced in Konya. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, **16**: (Suppl-A), 163-166.
- Grimm, M., Stephan, R., Iversen, C., Manzardo, G.G.G., Rattei, T., Riedel, K., Ruepp, A., Frishman, D. and Lehner, A.**, 2008. Cellulose as an extracellular matrix component present in *Enterobacter sakazakii* biofilms. *Journal of Food Protection*, **7**(1), 13-18.
- Guillaume-Gentil, O., Sonnard, V., Kandhai, M.C., Marugg, J.D. and Joosten, H.**, 2005. A simple and rapid cultural for detection of *Enterobacter Sakazakii* in environmental samples. *Journal of Food Protection*, **68**, 64-69.
- Gutierrez Rojo, R. ve Torres Chavolla, E.**, 2007. A rapid polymerase chain reaction assay for *Enterobacter sakazakii* detection in infant milk formulas. *Journal of Rapid Methods Automation in Microbiology*, **15**(4), 345-358.
- ISO 11290-1 AMD**, 2004. Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 11290-1**, 1996. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 21527-2**, 2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs -horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -part 2: colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 21528-2**, 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae Part-2 colony count method, *International Organization for Standardization*, Geneva.

- ISO 22964/ IDF 210**, 2006. Milk and milk products -- Detection of *Enterobacter sakazakii*, *International Organization for Standardization and International Dairy Federation*, Geneva.
- ISO 4831**, 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -most probable number technique, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 4833**, 2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs- horizontal methods for the enumeration of microorganisms- colony count technique at 30°C, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 6579**, 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp., *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 6888-1**, 1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs -horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)-Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO 7251**, 2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs -horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* - most probable number technique, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- Iversen, C. and Forsythe S.**, 2004. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae from powdered infant formula milk and related products. *Food Microbiology*, **21**, 771-777.
- Iversen, C. and Forsythe, S.**, 2007. Comparison media for the isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**(1),48-52.
- Iversen, C. and Forsythe, S.J.**, 2003. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science and Technology*, **14**, 443-454.
- Iversen, C., Druggan, P., Schumacher, S., Lehner, A., Feer, C., Gschwend, K., Joosten, H., Stephan, R.**, 2008b. Development of a novel screening method for the isolation of “*Cronobacter*” spp. (*Enterobacter sakazakii*). *Applied and Environmental Microbiology*, **74**(8), 2550-2553.
- Iversen, C., Lane, M. and 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.

- Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Bidlas, E., Cleenwerck, I., Marugg, J., Fanning, S., Stephan, R., Joosten, H., 2007a. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen.nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb.nov., *Cronobacter sakazakii* subs. *Sakazakii*, comb.nov., *Cronobacter sakazakii* subsp.*malonaticus* subps.nov., *Cronobacter turicensis* sp.nov., *Coronobacter muytjensii* sp.nov., *Cronobacter dublinensis* sp.nov. and *Cronobacter genomospecies* I. *BMC Evolutionary Biology*, **7**(64), 1-11.
- Iversen, C., Mullane, N., McCardell, B., Tal, B.D., Lehner, A., Fanning, S., Stephan, R. and Joosten, H., 2008a. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter genomospecies* 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **58**(6), 1442–1447.
- Iversen, C., Waddington, M., On, S.L.W., Forsythe, S., 2004a. Identification and phylogeny of *Enterobacter sakazakii* relative to *Enterobacter* and *Citrobacter* species. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**(11), 5368-5370.
- Junejaa, V.K. and Marks, H.M., 2003. Characterizing asymptotic *D*-values for *Salmonella* spp. subjected to different heating rates in sous-vide cooked beef. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **4**, 395–402.
- Kandhai, M.C., Reij, M.W., Gorris, L.G.M., Gentil, O.G. and Schothorst, W.V., 2004. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *The Lancet*, **363**, 39-40.
- Kim, K., Jang, S.S., Kim, S.K., Park, J.H., Heu, S. and Ryu, S. 2008. Prevalence and genetic diversity of *Enterobacter sakazakii* in ingredients of infant foods. *International Journal of Food Microbiology*, **122**, 196-203
- Kindle, G., Buse, A., Kampa, D., Meyer-Koenig, U. and Dascher, F.D., 1996. Killing activity of microwaves in milk, *Journal of Hospital Infection*, **33**, 273-278.
- Lai, K.K., 2001. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children and adults. case reports and a review of the literature. *Medicine* (Baltimore) **80**:113-122.
- Lambert, R.J.W. and Bidlas, E., 2007. A study of the Gamma hypothesis: predictive modeling of the growth and inhibition of *Enterobacter sakazakii*. *International Journal of Food Microbiology*, **115**, 204-213.
- Lee, E.J., Kim, S.G., Yoo, S. R., Oh, S.S., Hwang, I.G., Kwon, G.S. and Park, J.H. 2007. Microbial contamination by *B. cereus*, *C. perfringens* and *E. sakazakii* in sunsik. *Food Science and Technology*, **16**(6), 948-953.

- Lehner, A. and Stephan, R.** 2004. Microbiological, epidemiological and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Food Protection*, **67** (12), 2850-2857.
- Lehner, A., Riedel, K., Eberl, L., Breeuwer, P., Diep, B. and Stephan, R.**, 2005. Biofilm formation, extracellular polysaccharide production, and cell-to-cell signalling in various *Enterobacter sakazakii* strains: aspects promoting environmental persistence. *Journal of Food Protection*, **68**(11), 2287-2294.
- Lehner, A., Stephan, R., Iversen, C. and Fanning, S.**, 2010. *Enterobacter*. in *Molecular Detection Of Foodborne Pathogens*. p. 361-365, Edited by Dongyou Liu, LLC, Florida.
- Leuschner, R.G., Baird, F., Donald, B. and Cox, L.J.**, 2004. A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Food Microbiology*, **21**, 527–533.
- Leuschner, R.G.H. and Bew, J.**, 2004. A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula: interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, **87**(3), 604-613.
- Manafi, M. and Lang, K.**, 2005. Comparison of three chromogenic media for detection of *Enterobacter sakazakii*; a preliminary study, *American Society for Microbiology Conference "Beneficial microbes"*, 17-21 April, Nevada.
- Marugg, J., Guillaume-Gentil, O., Sonnard, V., Joosten, H., Jackson, T., Woo, L.M., Bohrat, L., Smoot, L., Mrozinski, P. Mark Barbour, M., Philpott, C., Tice, G., Cole, E. and White, M.**, 2003. Development and evaluation of a selective enrichment broth and PCR-based assay for the rapid detection of *Enterobacter sakazakii* in food and environmental samples, Yayınlanmamış veri.
- Matug, S., Aidoo, K. and Candlish, A.**, 2008. Survival and growth of *Enterobacter Sakazakii* in infant food stored at room temperature. *The 21st International ICFMH Symposium "Evolving Microbial Food Quality and Safety"*, Aberdeen, Scotland, September 1-4.
- Morales, V., Olano, A. and Corzo, N.**, 2004. Ratio of maltulose and furosine as quality parameters for infant formula. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 6732-6736.
- Mullane, N.R., Drudy, D., Whyte, P., O'Mahony, M., Scannell, A.G.M., Wall, P.G. and Fanning, S.**, 2006. *Enterobacter sakazakii*: biological properties and significance in dried infant milk formula (IMF) powder, *International Journal of Dairy Technology*, **59** (2), 102-111.
- Muytjens, H.L. and Van der Ros-van de Repe, J.**, 1986. Comparative in vitro susceptibilities of eight *Enterobacter* species, with special reference to *Enterobacter sakazakii*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **29**, 367-370.

- Muytjens, H.L., Repe, J.R. and Druten, H.A.M.**, 1984. Enzymatic profiles 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**(4), 684-686.
- Muytjens, H.L., Roelofs-Willemse, H. and Jaspar, G.H.** 1988. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, **26**, 743-746.
- Muytjens, H.L., Zanen, H.C., Sonderkamp, H.J., Kollee, L.A., Wachsmuth, K. and Farmer, J.J.**, 1983. Analysis of eight cases of neonatal meningitis and sepsis due to *Enterobacter sakazakii*, *Journal of Clinical Microbiology*, **18**(1), 115-120.
- Nair, M.K., Joy, J. and Venkitanarayanan, K.S.**, 2004. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by monocaprylin. *Journal of Food Protection*, **67**, 2815-2819.
- Nazarowec-White, M. and Farber, J.M.**, 1997a. Incidence, survival and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Journal of Food Protection*, **60**, 226-230.
- Nazarowec-White, M. and Farber, J.M.**, 1997b. Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Letters in Applied Microbiology*, **24**, 9-13.
- Nazarowec-White, M. and Farber, J.M.** 1997c. *Enterobacter sakazakii*: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **34**, 103-113.
- Nazarowec-White, M., R.C. McKellar, and P.Piyasena.** 1999. Predictive modelling of *Enterobacter sakazakii* inactivation in bovine milk during high-temperature short-time pasteurization. *Food Research International*, **32**, 375-379.
- No, H.K., Parks, N.Y., Lee, S.H., Hwang, H.J. and Meyers, S.P.**, 2002. Antimicrobial activities of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights on spoilage bacteria isolated from tofu. *Journal of Food Science*, **67**, 1511-1514.
- O'Brien, S, Healy, B., Negredo, C., Anderson, W., Fanning, S. and Iversen, C.**, 2009. Prevalence of Cronobacter species (*Enterobacter sakazakii*), in follow-on infant formulae and infant drinks. *Letters in Applied Microbiology*, **48**, 536-541.
- Oh, S.W. and Kang, D.H.**, 2004. Fluorogenic selective and differential medium for isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**(9), 5692-5694.
- Oh, S.W., Chen, P.C. and Kang, D.H.**, 2007. Biofilm formation by *Enterobacter sakazakii* grown in artificial broth and infant milk formula on plastic surface. *Journal of Rapid Methods Automation in Microbiology*, **15**, 311-319.

- Osaili, T.M., Shaker, R.R., Olaimat, A.N., Al-Nabulsi, A.A., Al-Holy, M.A. and Forsythe, S.J.,** 2008. Detergent and sanitizer stresses decrease the thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in infant milk formula. *Journal of Food Science*, **73**(3), 154-157.
- Paterson, D.L., Rossi, F., Baquero, F., Hsueh, P.R., Woods, G.L., Satishchandran, V., Snyder, T.A., Harvey, C.M., Tepler, H., Dinubile, M.J., and Chow, J.W.,** 2005. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2003 study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **55**, 965-973.
- Pitout, J.D., Moland, E.S., Sanders, C.C., Thomson, K.S. and Fitzsimmons, S.R.,** 1997. Beta-lactamases and detection of beta-lactam resistance in *Enterobacter* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **41**, 35-39.
- Polat, G. ve Halkman, A.K.** 2008. Bebek maması ve bileşenlerinin *E. sakazakii* varlığı açısından incelenmesi. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- Restaino, L., E. W. Frampton, W.C. Lionberg, and R. J. Becker.,** 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
- Sanchez, S.,** 2006. Making PCR a normal routine of the food microbiology lab, in *PCR Methods in Foods*, pp 51-68, Ed Maurer, J., Springer, New York, USA.
- Sanderson, K. and Nichols, D.,** 2003. Genetic techniques: PCR, NASBA, hybridisation and microarrays. *Detecting Pathogens In Food*, Edited by T A McMeekin, University of Tasmania, Australia Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition No. 84
- Sanjaq, S. and Fischer, M.,** 2006. Growth properties of *Enterobacter sakazakii* in infant milk formulae (IMF) with different composition. *FoodMicro Symposium*, Bologna, August 29- September 2.
- Seo, K.H. and Brackett, R.E.,** 2005. Rapid, specific detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula using a real-time PCR assay. *Journal of Food Protection*, **68**(1), 59-63.
- Shaker, R., Osaili, T., Al-Haddaq, M. and Holley, R.,** 2008. Heat resistance of *Enterobacter sakazakii* in milk and special feeding formula, *The 21st International ICFMH Symposium "Evolving Microbial food Quality and Safety*, Aberdeen, Scotland, September 1-4.
- Stock, I. and Wiedermann, B.,** 2002: Natural antibiotic susceptibility of *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter gergoviae* and *Enterobacter sakazakii* strains. *Clinical Microbiological Infection*, **8**, 564-578.

- Sylviane, D., Françoise, D., Veronique, M., Nicole, S., Alexandre, L., Bertrand and Veronique, L., 2007. Comparison of three chromogenic media and evaluation of two molecular-based identification systems for the detection of *Enterobacter sakazakii* from environmental samples from infant formula factories. *Journal of Food Protection*, **70** (7), 1678-1684.
- TGK, 2007. Türk Gıda Kodeksi, Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları tebliği, *Resmi Gazete*, No:2007/50, 01.11.2007.
- TGK, 2008. Türk Gıda Kodeksi, Bebek formülleri tebliği, *Resmi Gazete*, No:2008/52, 04.09.2008.
- TGK, 2010. Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik kriterler tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ, *Resmi Gazete*, No:2010/16, 07.05.2010.
- Tokatlı, N., 2009. Farklı formülasyonlarda üretilen bebek mamalarının bileşimi, bazı mikrobiyolojik özellikleri ve *Enterobacter sakazakii* varlığının belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Warby, J., Mullane, N., McNamee, C., Bryne, F., Walsh, C. Fanning, S., Lyng, J. and Scannell, A., 2008a. Validation of D-value determination methodology to be used to screen environmental and clinical *Cronobacter sakazakii*, *The 21st International ICFMH Symposium "Evolving Microbial food Quality and Safety"*, Aberdeen, Scotland, September 1-4.
- Warby, J., Walsh, C., Fanning, S. and Scannell, A., 2008b. Thermal death kinetics of *Cronobacter sakazakii* at 60°C in reconstituted infant formula milk. *1st International Conference on Cronobacter (E. sakazakii)*, Dublin, Ireland, January 22-23.
- Weiss, C., Becker, B. and Holzapfel, W., 2005. Einsatz und eignung dreier kommerziellersysteme zum nachweis von *Enterobacter sakazakii* in verzehrsfertigem mischsalat. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, **56**, 25-48.
- Willis, J. and Robinson, J.E., 1988. *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. **7**, 196-199.
- Zurera-Cosano, G., García-Gimeno R.M., Rodríguez-Pérez, R. and Hervás-Martínez, C., 2006. Performance of response surface model for prediction of *Leuconostoc mesenteroides* growth parameters under different experimental conditions. *Food Control*, **17**, 429-438.

EKLER

EK A: Çalışmada elde edilen analiz sonuçları, grafikler ve varyans analiz çizelgeleri.

Çizelge A.1 : 52°C’deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.

Örnek No:	Analiz Sonuçları					Logaritmik Değerleri				
	0 dk	10 dk	20 dk	30 dk	40 dk	0 dk	10 dk	20 dk	30 dk	40 dk
1	1,67E+07	2,90E+06	2,20E+06	9,90E+05	1,50E+05	7,22	6,46	6,34	6,00	5,18
1	1,47E+07	4,40E+06	2,10E+06	8,30E+05	1,20E+05	7,17	6,64	6,32	5,92	5,08
1	2,16E+07	9,50E+06	2,30E+06	9,70E+05	2,10E+05	7,33	6,98	6,36	5,99	5,32
1-Ortalama:	1,76E+07	5,60E+06	2,20E+06	9,30E+05	1,60E+05	7,25	6,75	6,34	5,97	5,20
2	1,18E+07	4,10E+06	8,20E+05	7,00E+04	5,50E+04	7,07	6,61	5,91	4,85	4,74
2	1,31E+07	4,80E+06	9,60E+05	8,30E+04	7,10E+04	7,12	6,68	5,98	4,92	4,85
2	1,04E+07	3,40E+06	8,90E+05	7,20E+04	6,00E+04	7,02	6,53	5,95	4,86	4,78
2-Ortalama:	1,18E+07	4,10E+06	8,90E+05	7,50E+04	6,20E+04	7,07	6,61	5,95	4,88	4,79
3	1,61E+07	1,88E+07	4,20E+06	2,80E+05	4,80E+04	7,21	7,27	6,62	5,45	4,68
3	1,67E+07	1,60E+07	2,80E+06	1,10E+05	6,70E+04	7,22	7,20	6,45	5,04	4,83
3	1,55E+07	1,20E+07	3,80E+06	3,60E+05	4,70E+04	7,19	7,08	6,58	5,56	4,67
3-Ortalama:	1,61E+07	1,56E+07	3,60E+06	2,50E+05	5,40E+04	7,21	7,19	6,56	5,40	4,73
4	7,45E+06	3,30E+06	2,70E+05	6,70E+04	8,00E+03	6,87	6,52	5,43	4,83	3,90
4	1,59E+07	8,30E+06	5,40E+05	7,50E+04	9,80E+03	7,20	6,92	5,73	4,88	3,99
4	8,43E+06	3,70E+06	1,20E+05	8,60E+04	7,70E+03	6,93	6,57	5,08	4,93	3,89
4-Ortalama:	1,06E+07	5,10E+06	3,10E+05	7,60E+04	8,50E+03	7,02	6,71	5,49	4,88	3,93
5	1,78E+07	8,60E+06	5,10E+06	1,01E+06	2,90E+05	7,25	6,93	6,71	6,00	5,46
5	1,92E+07	5,30E+06	4,30E+06	9,30E+05	2,70E+05	7,28	6,72	6,63	5,97	5,43
5	2,35E+07	7,70E+06	5,60E+06	1,00E+06	3,70E+05	7,37	6,89	6,75	6,00	5,57
5-Ortalama:	2,02E+07	7,20E+06	5,00E+06	9,80E+05	3,10E+05	7,31	6,86	6,70	5,99	5,49
6	1,73E+07	6,20E+06	3,80E+05	4,90E+04	3,90E+03	7,24	6,79	5,58	4,69	3,59
6	1,55E+07	6,60E+06	2,20E+05	6,70E+04	2,30E+03	7,19	6,82	5,34	4,83	3,36
6	1,78E+07	7,90E+06	3,90E+05	5,50E+04	4,60E+03	7,25	6,90	5,59	4,74	3,66
6-Ortalama:	1,69E+07	6,90E+06	3,30E+05	5,70E+04	3,60E+03	7,23	6,84	5,52	4,76	3,56
7	2,22E+07	1,96E+07	8,80E+06	2,00E+06	1,80E+06	7,35	7,29	6,94	6,30	6,26
7	2,35E+07	1,80E+07	7,90E+06	4,10E+06	2,30E+06	7,37	7,26	6,90	6,61	6,36
7	1,90E+07	1,43E+07	9,10E+06	2,90E+06	2,20E+06	7,28	7,16	6,96	6,46	6,34
7-Ortalama:	2,16E+07	1,73E+07	8,60E+06	3,00E+06	2,10E+06	7,33	7,24	6,93	6,48	6,32
8	1,82E+07	1,80E+07	6,20E+06	3,70E+06	1,70E+06	7,26	7,26	6,79	6,57	6,23
8	1,78E+07	1,10E+07	4,90E+06	2,00E+06	1,20E+06	7,25	7,04	6,69	6,30	6,08
8	1,86E+07	1,00E+07	5,10E+06	2,40E+06	1,30E+06	7,27	7,00	6,71	6,38	6,11
8-Ortalama:	1,82E+07	1,30E+07	5,40E+06	2,70E+06	1,40E+06	7,26	7,11	6,73	6,43	6,15

Çizelge A.2 : 54°C’deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.

Örnek No:	Analiz Sonuçları					Logaritmik Değerleri				
	0 dk	5 dk	10 dk	15dk	20 dk	0 dk	5 dk	10 dk	15dk	20 dk
1	1,84E+07	6,10E+06	7,40E+05	6,00E+04	2,80E+03	7,27	6,79	5,87	4,78	3,45
1	1,71E+07	5,30E+06	6,70E+05	3,80E+04	2,00E+03	7,23	6,72	5,83	4,58	3,30
1	1,75E+07	5,10E+06	6,60E+05	3,10E+04	1,50E+03	7,24	6,71	5,82	4,49	3,18
1-Ortalama:	1,76E+07	5,50E+06	6,90E+05	4,30E+04	2,10E+03	7,25	6,74	5,84	4,63	3,32
2	1,25E+07	7,50E+05	6,20E+04	6,60E+03	2,50E+02	7,10	5,88	4,79	3,82	2,40
2	1,12E+07	6,50E+05	4,80E+04	5,80E+03	2,10E+02	7,05	5,81	4,68	3,76	2,32
2	1,16E+07	7,30E+05	6,10E+04	6,50E+03	3,50E+02	7,06	5,86	4,79	3,81	2,54
2-Ortalama:	1,18E+07	7,10E+05	5,70E+04	6,30E+03	2,70E+02	7,07	5,85	4,76	3,80	2,43
3	8,04E+06	4,00E+06	6,50E+05	4,80E+04	2,80E+03	6,91	6,60	5,81	4,68	3,45
3	7,84E+06	3,20E+06	5,70E+05	5,20E+04	2,90E+03	6,89	6,51	5,76	4,72	3,46
3	1,12E+07	5,10E+06	6,70E+05	4,10E+04	4,20E+03	7,05	6,71	5,83	4,61	3,62
3-Ortalama:	9,02E+06	4,10E+06	6,30E+05	4,70E+04	3,30E+03	6,96	6,61	5,80	4,67	3,52
4	1,59E+07	4,80E+06	5,40E+05	1,03E+04	9,90E+03	7,20	6,68	5,73	4,01	4,00
4	1,02E+07	2,10E+06	2,40E+05	1,00E+04	9,90E+03	7,01	6,32	5,38	4,00	4,00
4	1,39E+07	1,50E+06	1,20E+05	9,70E+03	9,60E+03	7,14	6,18	5,08	3,99	3,98
4-Ortalama:	1,33E+07	2,80E+06	3,00E+05	1,00E+04	9,80E+03	7,12	6,45	5,48	4,00	3,99
5	1,94E+07	9,20E+05	3,00E+05	4,10E+04	4,00E+03	7,29	5,96	5,48	4,61	3,60
5	1,53E+07	9,80E+05	3,70E+05	3,90E+04	2,00E+04	7,18	5,99	5,57	4,59	4,30
5	1,82E+07	1,40E+06	4,10E+05	4,60E+04	4,50E+04	7,26	6,15	5,61	4,66	4,65
5-Ortalama:	1,76E+07	1,10E+06	3,60E+05	4,20E+04	2,30E+04	7,25	6,04	5,56	4,62	4,36
6	1,80E+07	7,70E+06	4,40E+05	3,60E+04	1,00E+04	7,26	6,89	5,64	4,56	4,00
6	1,47E+07	5,10E+06	1,40E+05	1,10E+04	8,80E+03	7,17	6,71	5,15	4,04	3,94
6	1,78E+07	7,30E+06	3,80E+05	1,60E+04	9,70E+03	7,25	6,86	5,58	4,20	3,99
6-Ortalama:	1,69E+07	6,70E+06	3,20E+05	2,10E+04	9,50E+03	7,23	6,83	5,51	4,32	3,98
7	1,57E+07	2,70E+06	1,23E+06	3,70E+05	2,60E+04	7,20	6,43	6,09	5,57	4,41
7	2,94E+07	8,20E+06	8,90E+05	5,20E+05	8,10E+04	7,47	6,91	5,95	5,72	4,91
7	1,96E+07	3,20E+06	3,10E+05	1,00E+05	7,60E+04	7,29	6,51	5,49	5,00	4,88
7-Ortalama:	2,16E+07	4,70E+06	8,10E+05	3,30E+05	6,10E+04	7,33	6,67	5,91	5,52	4,79
8	2,94E+06	1,30E+06	2,22E+05	2,50E+04	1,52E+04	6,47	6,11	5,35	4,40	4,18
8	5,29E+06	1,90E+06	9,80E+04	2,00E+04	7,30E+03	6,72	6,28	4,99	4,30	3,86
8	1,00E+07	2,50E+06	1,00E+05	3,00E+04	5,40E+03	7,00	6,40	5,00	4,48	3,73
8-Ortalama:	6,08E+06	1,90E+06	1,40E+05	2,50E+04	9,30E+03	6,78	6,28	5,15	4,40	3,97

Çizelge A.3 : 56°C’deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.

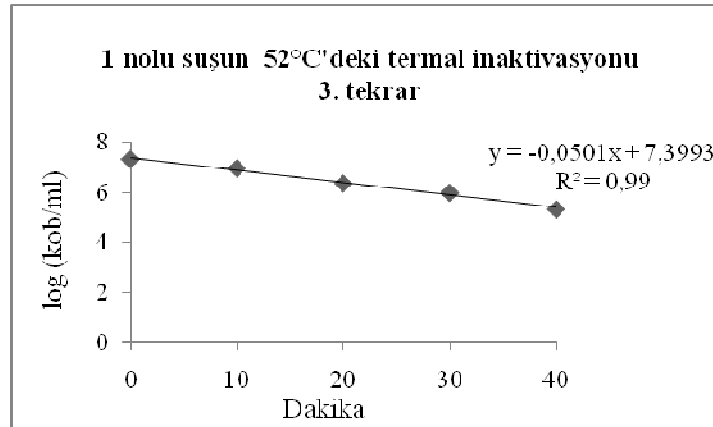
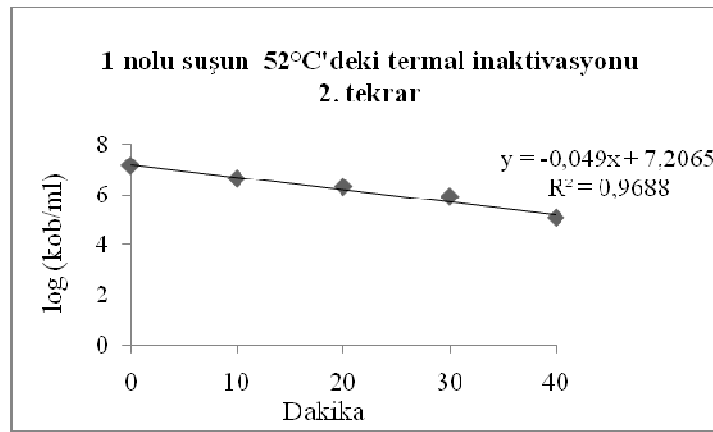
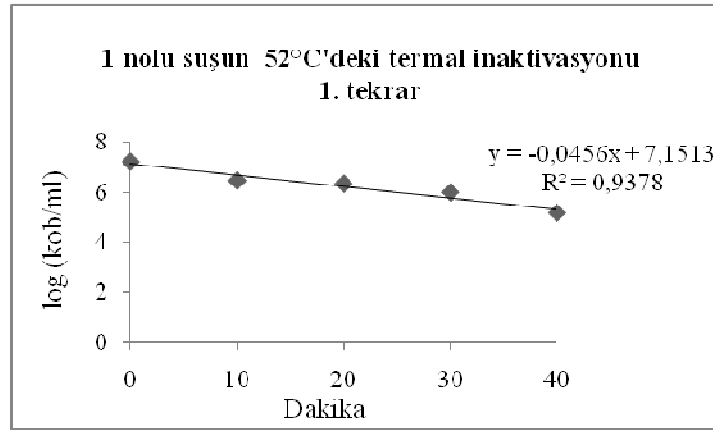
Örnek No:	Analiz Sonuçları					Logaritmik Değerleri				
	0 dk	3 dk	8 dk	15 dk	20 dk	0 dk	3 dk	8 dk	15 dk	20 dk
1	1,73E+07	5,20E+05	2,90E+04	5,60E+03	1,10E+02	7,24	5,72	4,46	3,75	2,04
1	1,71E+07	4,00E+05	3,10E+04	3,60E+03	5,00E+01	7,23	5,60	4,49	3,56	1,70
1	1,86E+07	6,70E+05	4,50E+04	4,90E+03	8,00E+01	7,27	5,83	4,65	3,69	1,90
1-Ortalama:	1,76E+07	5,30E+05	3,50E+04	4,70E+03	8,00E+01	7,25	5,72	4,54	3,67	1,90
2	1,39E+07	7,10E+04	3,70E+03	1,50E+02	1,00E+00	7,14	4,85	3,57	2,18	0,00
2	7,84E+06	2,30E+04	1,00E+03	1,50E+02	1,00E+00	6,89	4,36	3,00	2,18	0,00
2	1,35E+07	9,20E+04	3,40E+03	1,20E+02	1,00E+00	7,13	4,96	3,53	2,08	0,00
2-Ortalama:	1,18E+07	6,20E+04	2,70E+03	1,40E+02	1,00E+00	7,07	4,79	3,43	2,15	0,00
3	8,24E+06	7,10E+04	5,00E+04	3,30E+03	2,10E+02	6,92	4,85	4,70	3,52	2,32
3	1,12E+07	2,00E+05	2,80E+04	1,10E+03	1,00E+02	7,05	5,30	4,45	3,04	2,00
3	7,65E+06	8,90E+04	2,40E+04	2,50E+03	1,10E+02	6,88	4,95	4,38	3,40	2,04
3-Ortalama:	9,02E+06	1,20E+05	3,40E+04	2,30E+03	1,40E+02	6,96	5,08	4,53	3,36	2,15
4	1,22E+07	1,14E+05	2,40E+03	5,90E+02	7,00E+01	7,08	5,06	3,38	2,77	1,85
4	9,80E+06	8,50E+04	3,00E+03	5,00E+02	4,00E+01	6,99	4,93	3,48	2,70	1,60
4	9,80E+06	8,00E+04	3,00E+03	4,10E+02	4,00E+01	6,99	4,90	3,48	2,61	1,60
4-Ortalama:	1,06E+07	9,30E+04	2,80E+03	5,00E+02	5,00E+01	7,02	4,97	3,45	2,70	1,70
5	1,94E+07	3,80E+06	5,90E+05	3,20E+04	9,90E+03	7,29	6,58	5,77	4,51	4,00
5	1,47E+07	4,50E+06	7,00E+05	2,10E+04	7,00E+03	7,17	6,65	5,85	4,32	3,85
5	1,88E+07	7,00E+06	5,70E+05	4,00E+04	6,50E+03	7,27	6,85	5,76	4,60	3,81
5-Ortalama:	1,76E+07	5,10E+06	6,20E+05	3,10E+04	7,80E+03	7,25	6,71	5,79	4,49	3,89
6	1,35E+07	7,40E+04	9,00E+03	1,10E+03	1,00E+01	7,13	4,87	3,95	3,04	1,00
6	7,84E+06	9,60E+04	6,50E+03	1,00E+03	1,00E+02	6,89	4,98	3,81	3,00	2,00
6	1,45E+07	1,60E+05	1,00E+04	3,60E+03	2,20E+02	7,16	5,20	4,00	3,56	2,34
6-Ortalama:	1,20E+07	1,10E+05	8,50E+03	1,90E+03	1,10E+02	7,08	5,04	3,93	3,28	2,04
7	2,25E+07	1,06E+06	6,40E+04	7,40E+03	3,80E+03	7,35	6,03	4,81	3,87	3,58
7	1,86E+07	1,20E+06	4,00E+04	6,50E+03	2,50E+03	7,27	6,08	4,60	3,81	3,40
7	2,35E+07	1,40E+06	5,50E+04	8,00E+03	3,00E+03	7,37	6,15	4,74	3,90	3,48
7-Ortalama:	2,16E+07	1,22E+06	5,30E+04	7,30E+03	3,10E+03	7,33	6,09	4,72	3,86	3,49
8	2,16E+05	9,30E+03	1,40E+02	8,00E+00		5,33	3,97	2,15	0,90	
8	1,96E+05	7,50E+03	1,00E+02	9,00E+00		5,29	3,88	2,00	0,95	
8	2,94E+05	9,60E+03	1,50E+02	1,30E+01		5,47	3,98	2,18	1,11	
8-Ortalama:	2,35E+05	8,80E+03	1,30E+02	1,00E+01		5,37	3,94	2,11	1,00	

Çizelge A.4 : 58°C’deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.

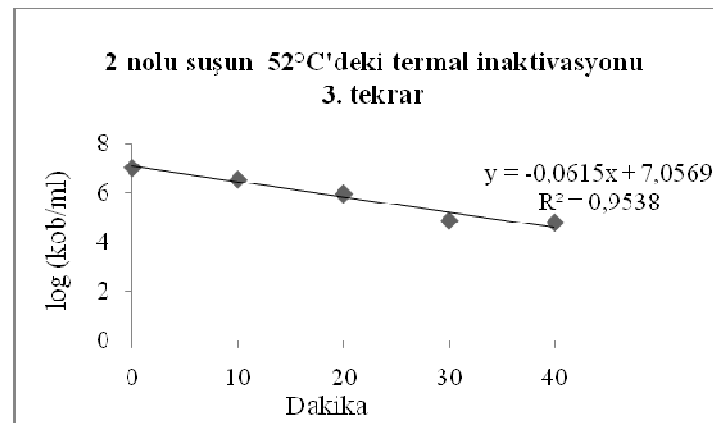
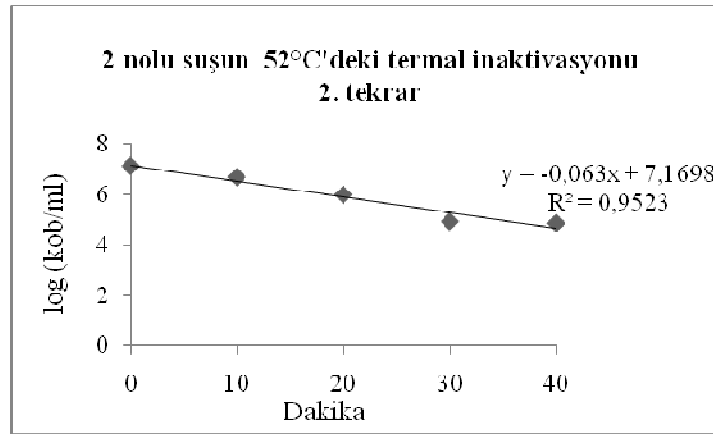
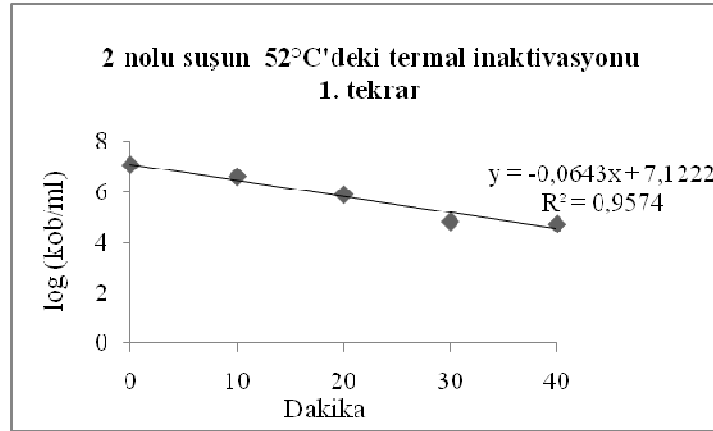
Örnek No:	Analiz Sonuçları				Logaritmik Değerleri			
	0 dk	1 dk	3 dk	6 dk	0 dk	1 dk	3 dk	6 dk
1	1,82E+07	6,60E+05	1,43E+05	1,10E+03	7,26	5,82	5,16	3,04
1	1,59E+07	4,10E+05	8,70E+04	9,00E+02	7,20	5,61	4,94	2,95
1	1,88E+07	7,30E+05	1,00E+05	1,30E+03	7,27	5,86	5,00	3,11
1-Ortalama:	1,76E+07	6,00E+05	1,10E+05	1,10E+03	7,25	5,78	5,04	3,04
2	2,39E+05	1,03E+04	4,00E+03	3,60E+02	5,38	4,01	3,60	2,56
2	1,57E+05	9,90E+03	1,20E+03	1,00E+02	5,20	4,00	3,08	2,00
2	1,92E+05	8,90E+03	4,10E+03	3,50E+02	5,28	3,95	3,61	2,54
2-Ortalama:	1,96E+05	9,70E+03	3,10E+03	2,70E+02	5,29	3,99	3,49	2,43
3	7,65E+06	1,50E+05	9,30E+03	8,00E+01	6,88	5,18	3,97	1,90
3	6,86E+06	1,40E+05	8,60E+03	7,00E+01	6,84	5,15	3,93	1,85
3	9,02E+06	1,90E+05	9,40E+03	9,00E+01	6,96	5,28	3,97	1,95
3-Ortalama:	7,84E+06	1,60E+05	9,10E+03	8,00E+01	6,89	5,20	3,96	1,90
4	1,08E+07	7,80E+04	8,40E+03	1,50E+02	7,03	4,89	3,92	2,18
4	1,10E+07	8,10E+04	9,00E+03	1,90E+02	7,04	4,91	3,95	2,28
4	1,00E+07	7,20E+04	8,40E+03	1,40E+02	7,00	4,86	3,92	2,15
4-Ortalama:	1,06E+07	7,70E+04	8,60E+03	1,60E+02	7,02	4,89	3,93	2,20
5	5,08E+06	8,80E+05	2,40E+05	7,50E+04	6,71	5,94	5,38	4,88
5	2,94E+06	8,10E+05	2,00E+05	5,50E+04	6,47	5,91	5,30	4,74
5	3,92E+06	9,20E+05	3,40E+05	8,30E+04	6,59	5,96	5,53	4,92
5-Ortalama:	3,98E+06	8,70E+05	2,60E+05	7,10E+04	6,60	5,94	5,41	4,85
6	1,69E+07	5,20E+05	1,81E+04	1,25E+03	7,23	5,72	4,26	3,10
6	1,59E+07	4,90E+05	1,10E+04	9,80E+02	7,20	5,69	4,04	2,99
6	1,78E+07	5,80E+05	1,50E+04	1,40E+03	7,25	5,76	4,18	3,15
6-Ortalama:	1,69E+07	5,30E+05	1,47E+04	1,21E+03	7,23	5,72	4,17	3,08
7	2,02E+06	1,10E+05	5,80E+04	3,80E+02	6,31	5,04	4,76	2,58
7	1,90E+06	1,10E+05	4,20E+04	7,10E+02	6,28	5,04	4,62	2,85
7	2,55E+06	1,40E+05	3,50E+04	8,00E+02	6,41	5,15	4,54	2,90
7-Ortalama:	2,16E+06	1,20E+05	4,50E+04	6,30E+02	6,33	5,08	4,65	2,80
8	5,69E+05	8,60E+04	2,80E+03	6,00E+01	5,75	4,93	3,45	1,78
8	4,12E+05	7,40E+04	1,10E+03	1,00E+01	5,61	4,87	3,04	1,00
8	8,43E+05	8,60E+04	2,40E+03	2,00E+01	5,93	4,93	3,38	1,30
8-Ortalama:	6,08E+05	8,20E+04	2,10E+03	3,00E+01	5,78	4,91	3,32	1,48

Çizelge A.5 : 60°C’deki termal inaktivasyon analiz sonuçları.

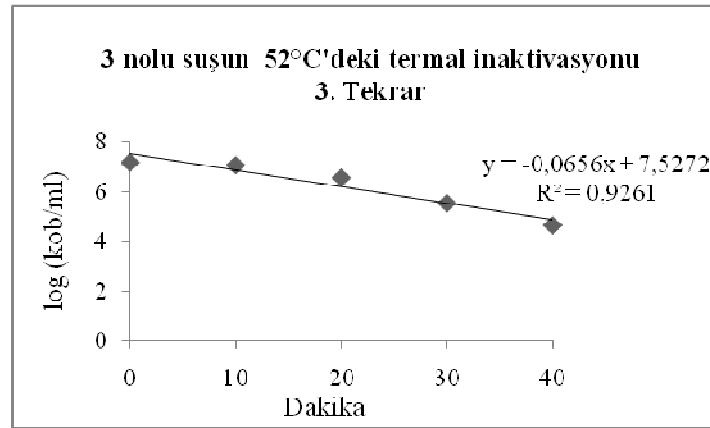
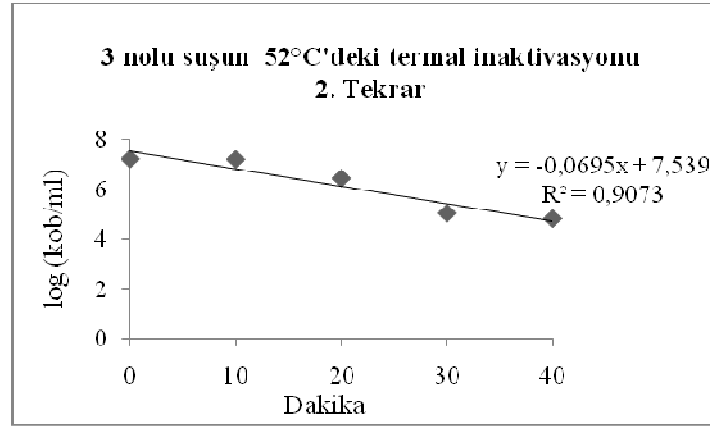
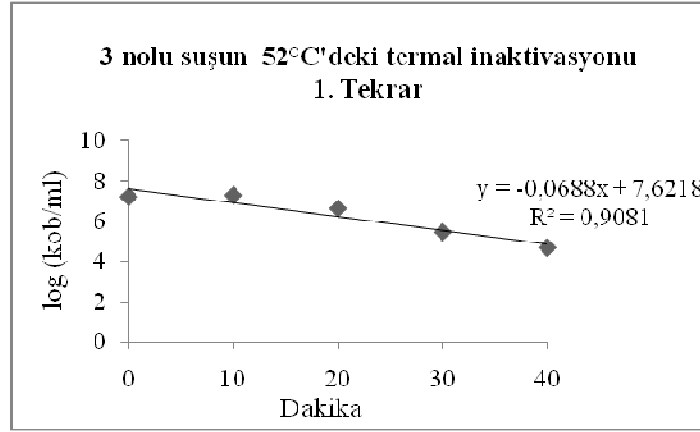
Örnek No:	Analiz Sonuçları				Logaritmik Değerleri			
	0 dk	1,5 dk	4 dk	6 dk	0 dk	1,5 dk	4 dk	6 dk
1	1,75E+09	5,00E+06	3,70E+04	9,20E+01	9,24	6,70	4,57	1,96
1	1,71E+09	5,60E+06	3,20E+04	9,80E+01	9,23	6,75	4,51	1,99
1	1,84E+09	4,40E+06	3,90E+04	1,10E+02	9,27	6,64	4,59	2,04
1-Ortalama:	1,76E+09	5,00E+06	3,60E+04	1,00E+02	9,25	6,70	4,56	2,00
2	1,22E+09	1,00E+06	7,50E+04	2,40E+03	9,08	6,00	4,88	3,38
2	1,24E+09	8,90E+05	7,00E+04	1,60E+03	9,09	5,95	4,85	3,20
2	1,08E+09	9,00E+05	5,60E+04	2,00E+03	9,03	5,95	4,75	3,30
2-Ortalama:	1,18E+09	9,30E+05	6,70E+04	2,00E+03	9,07	5,97	4,83	3,30
3	1,16E+09	1,05E+06	7,30E+04	1,80E+03	9,06	6,02	4,86	3,26
3	8,24E+08	8,40E+05	7,50E+04	2,40E+03	8,92	5,92	4,88	3,38
3	7,25E+08	9,00E+05	8,00E+04	1,80E+03	8,86	5,95	4,90	3,26
3-Ortalama:	9,02E+08	9,30E+05	7,60E+04	2,00E+03	8,96	5,97	4,88	3,30
4	1,39E+09	7,60E+05	7,70E+04	7,50E+01	9,14	5,88	4,89	1,88
4	7,06E+08	5,10E+05	6,00E+04	8,50E+01	8,85	5,71	4,78	1,93
4	1,08E+09	6,80E+05	7,30E+04	1,40E+02	9,03	5,83	4,86	2,15
4-Ortalama:	1,06E+09	6,50E+05	7,00E+04	1,00E+02	9,02	5,81	4,85	2,00
5	1,82E+09	6,40E+07	5,40E+06	2,10E+05	9,26	7,81	6,73	5,32
5	1,88E+09	4,00E+07	4,10E+06	1,12E+05	9,27	7,60	6,61	5,05
5	2,35E+09	8,50E+07	6,70E+06	1,34E+05	9,37	7,93	6,83	5,13
5-Ortalama:	2,02E+09	6,30E+07	5,40E+06	1,52E+05	9,31	7,80	6,73	5,18
6	1,80E+09	1,03E+07	5,30E+05	1,90E+04	9,26	7,01	5,72	4,28
6	1,47E+09	5,00E+06	4,00E+05	1,10E+04	9,17	6,70	5,60	4,04
6	1,78E+09	8,70E+06	6,00E+05	2,40E+04	9,25	6,94	5,78	4,38
6-Ortalama:	1,69E+09	8,00E+06	5,10E+05	1,80E+04	9,23	6,90	5,71	4,26
7	2,08E+09	6,50E+07	6,00E+06	8,70E+04	9,32	7,81	6,78	4,94
7	1,84E+09	5,50E+07	4,40E+06	6,50E+04	9,27	7,74	6,64	4,81
7	2,55E+09	6,00E+07	3,40E+06	6,10E+04	9,41	7,78	6,53	4,79
7-Ortalama:	2,16E+09	6,00E+07	4,60E+06	7,10E+04	9,33	7,78	6,66	4,85
8	9,41E+08	2,40E+06	2,60E+04	9,70E+01	8,97	6,38	4,41	1,99
8	4,71E+08	1,10E+06	1,30E+04	9,30E+01	8,67	6,04	4,11	1,97
8	4,12E+08	1,00E+06	2,10E+04	1,10E+02	8,61	6,00	4,32	2,04
8-Ortalama:	6,08E+08	1,50E+06	2,00E+04	1,00E+02	8,78	6,18	4,30	2,00



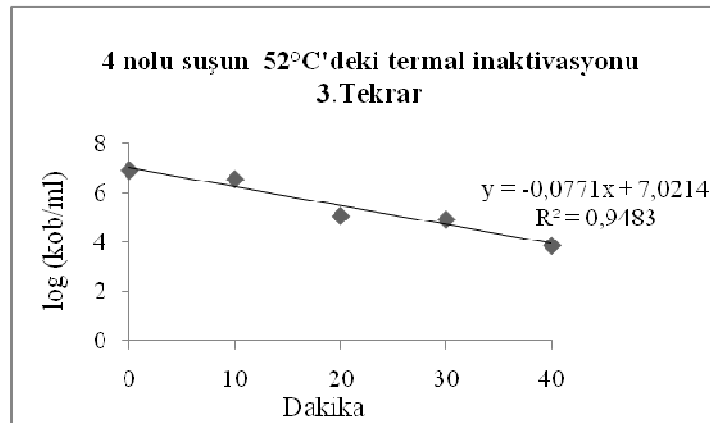
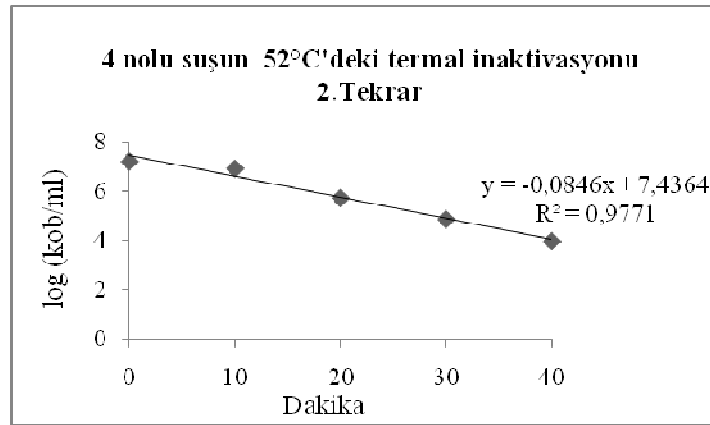
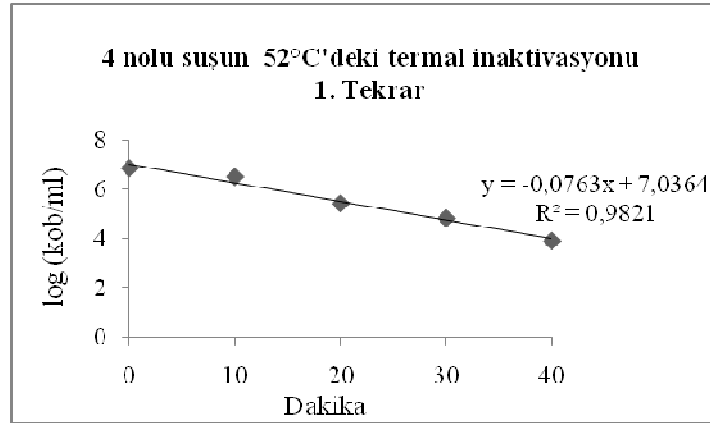
Şekil A.1 : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



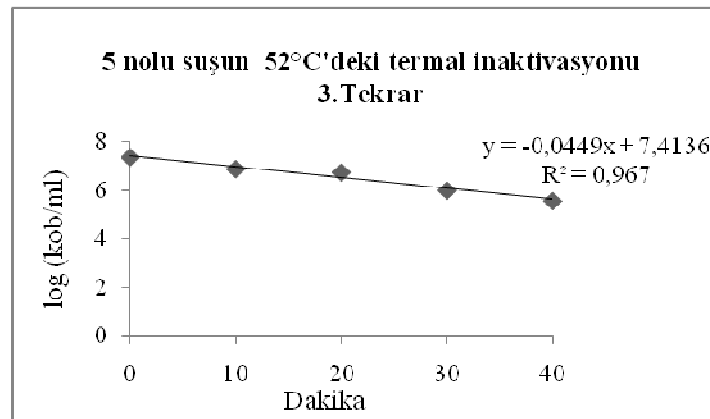
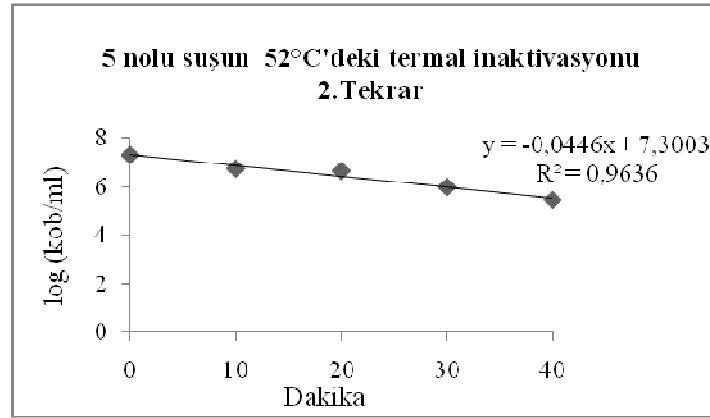
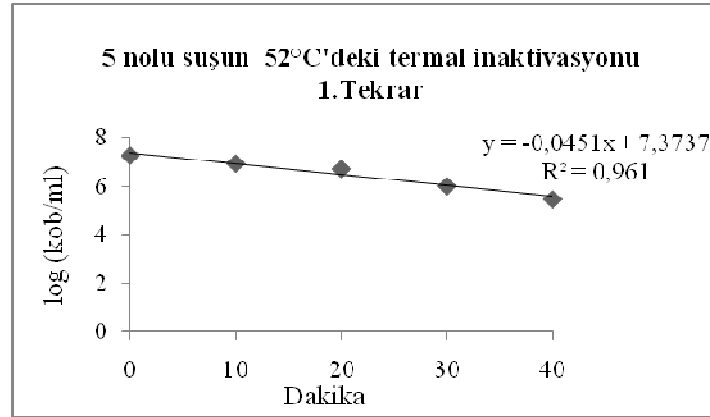
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



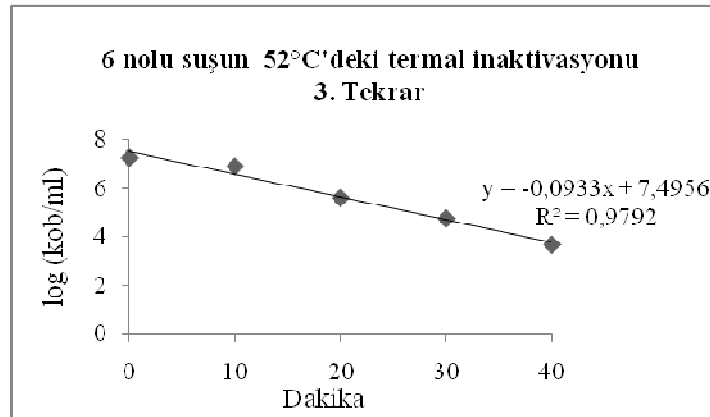
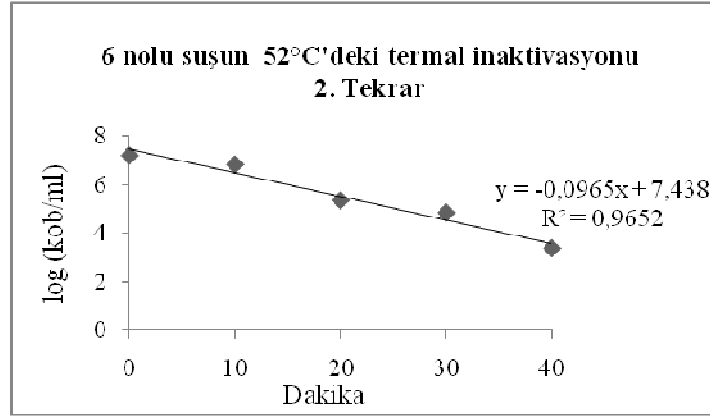
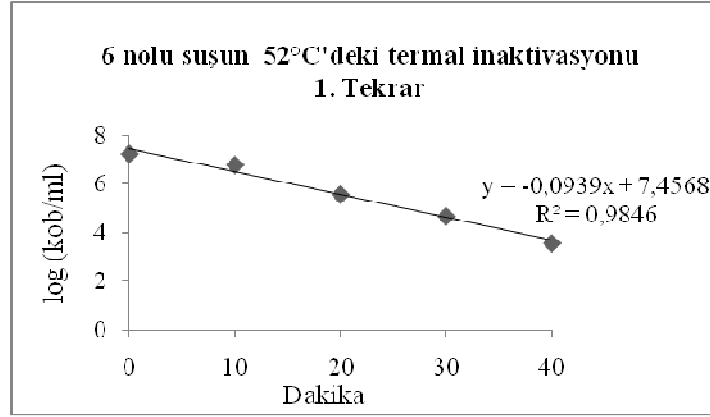
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



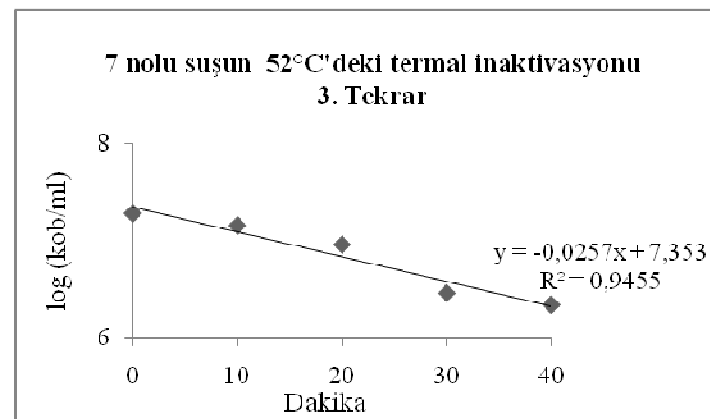
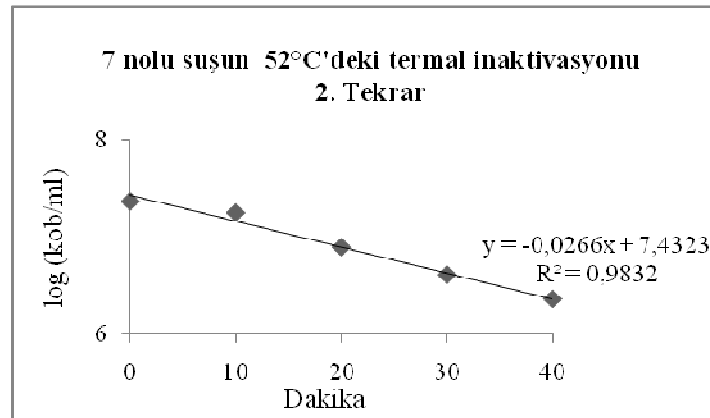
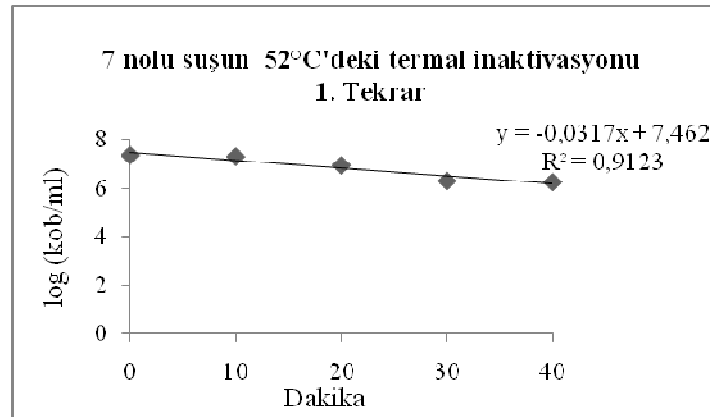
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



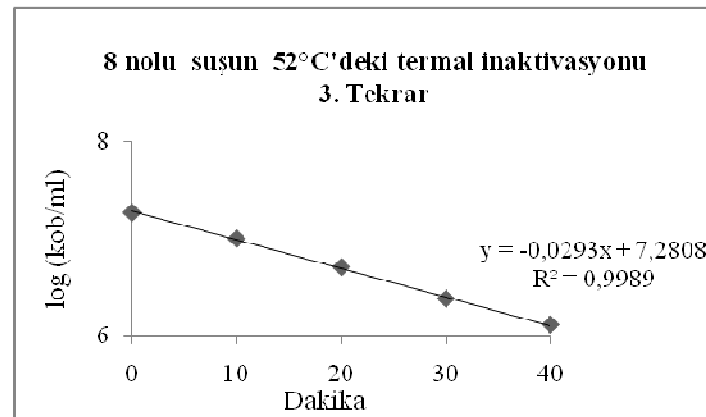
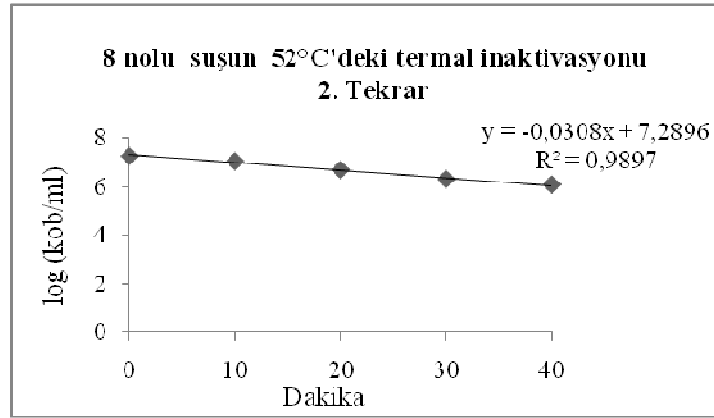
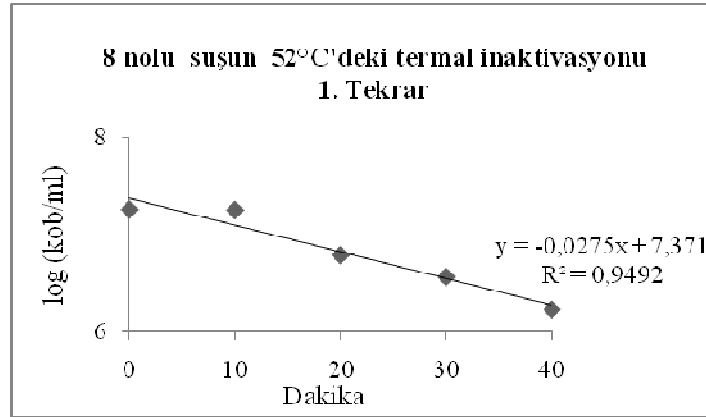
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



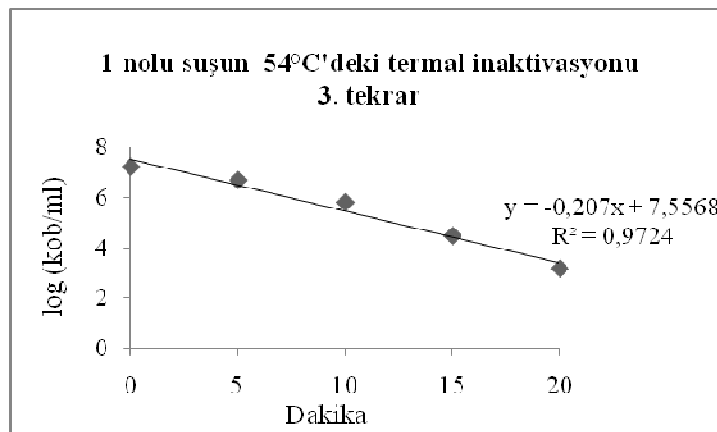
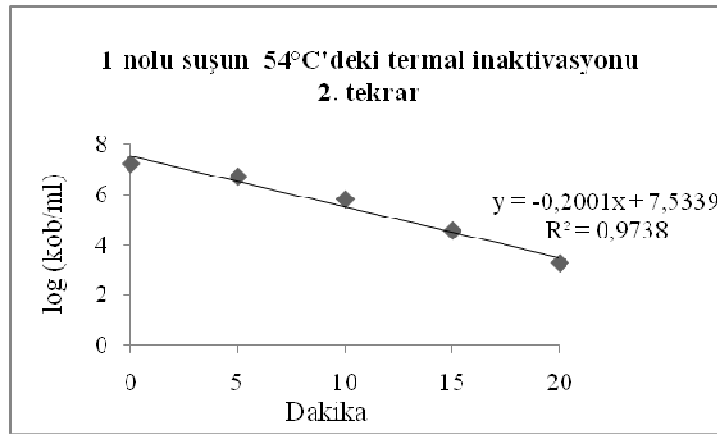
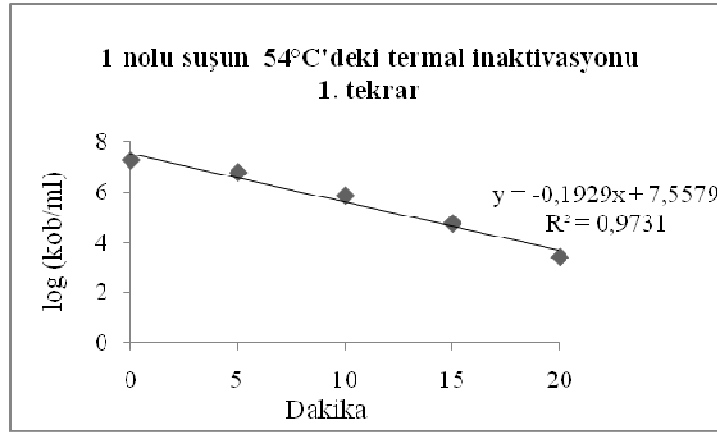
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



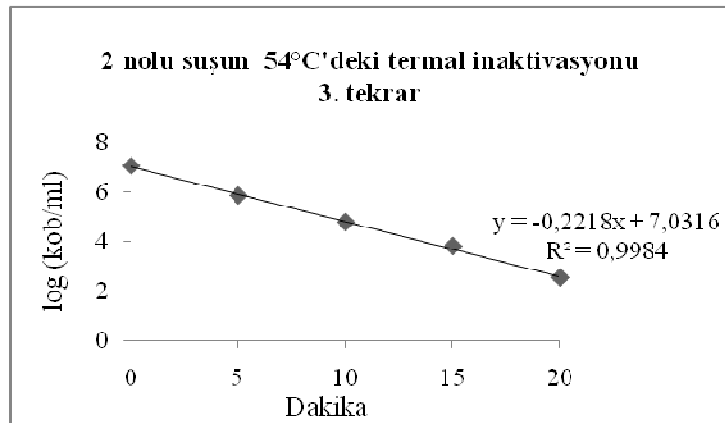
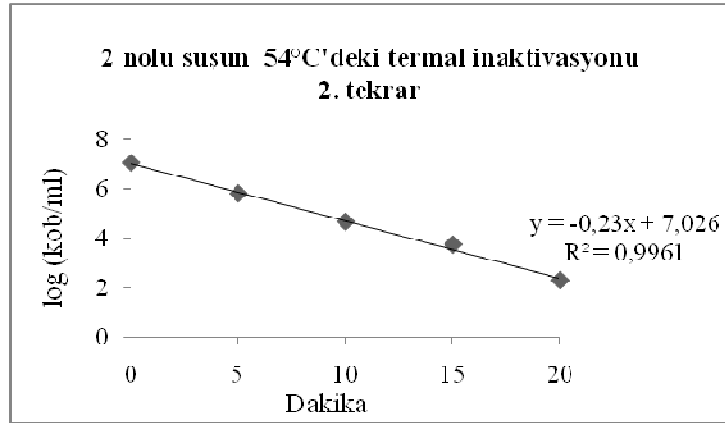
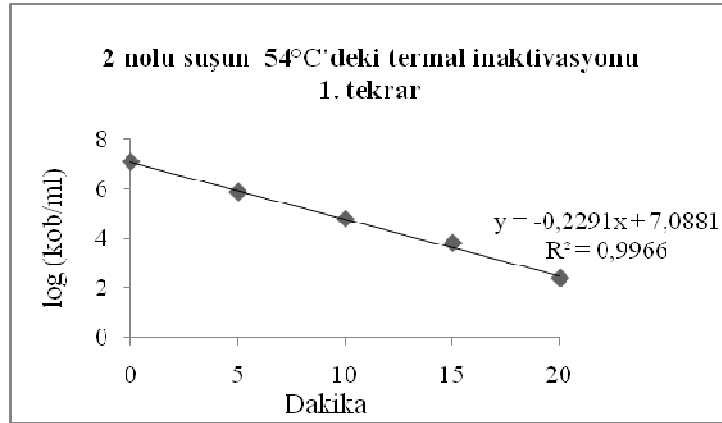
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



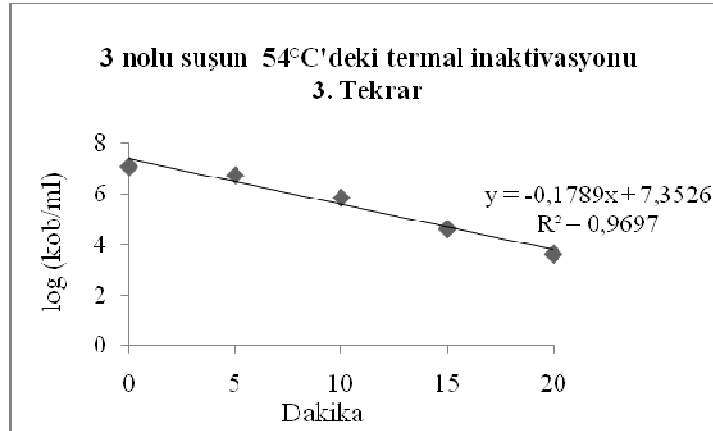
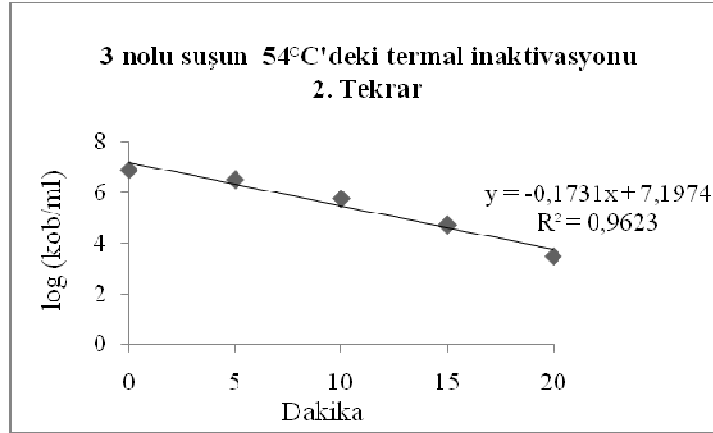
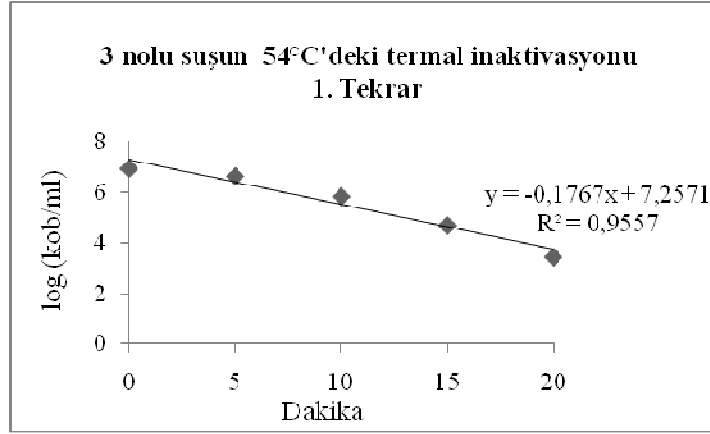
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



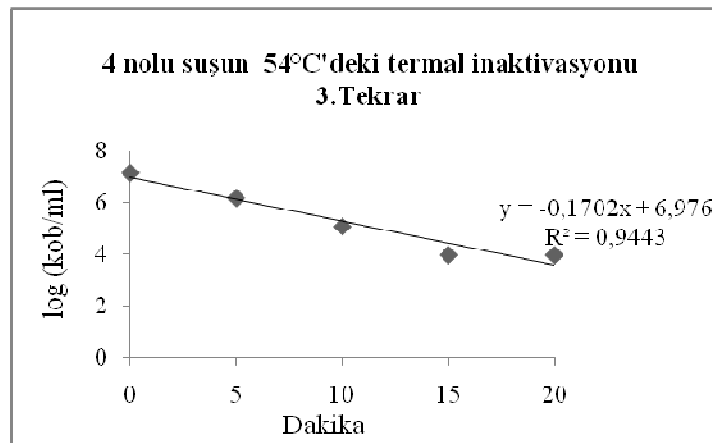
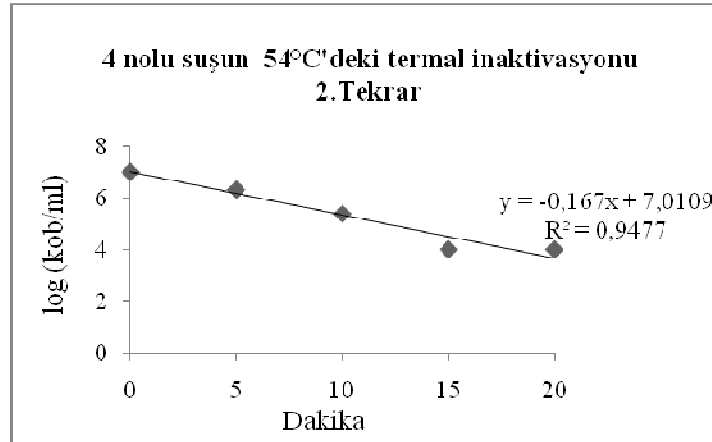
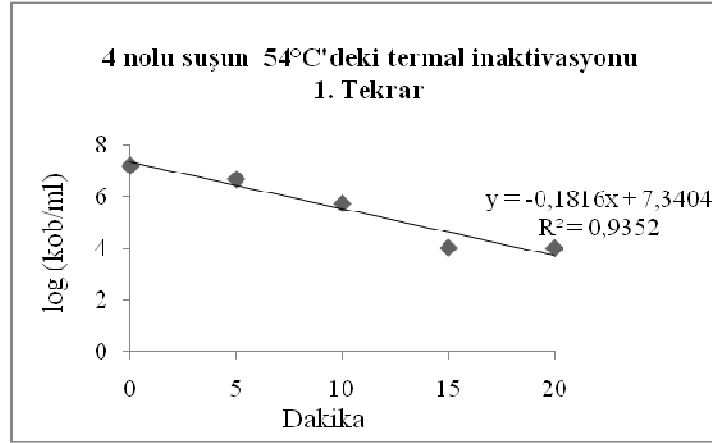
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



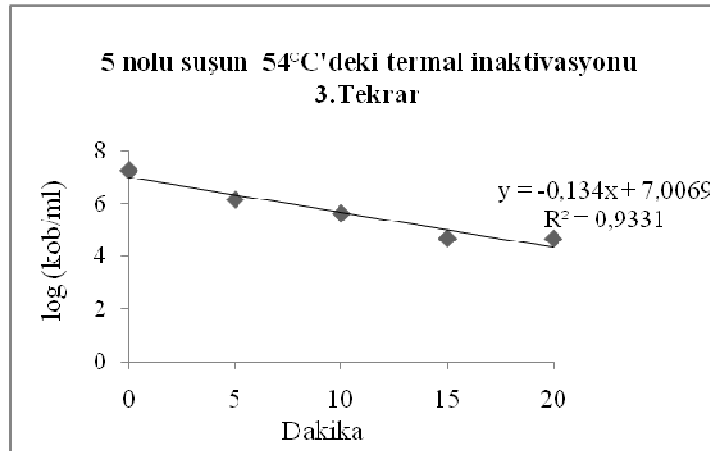
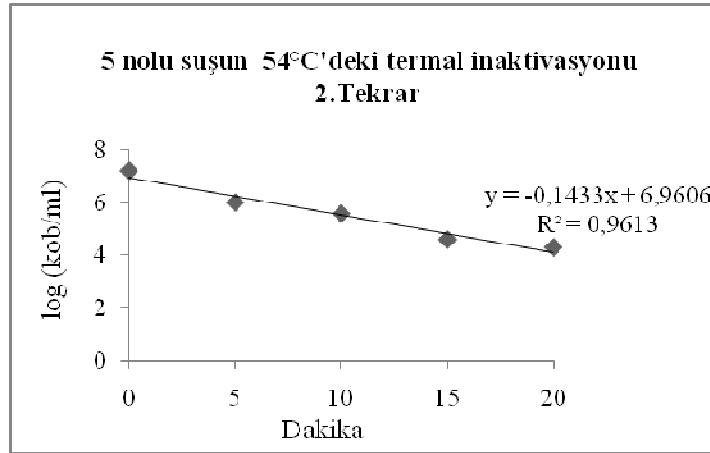
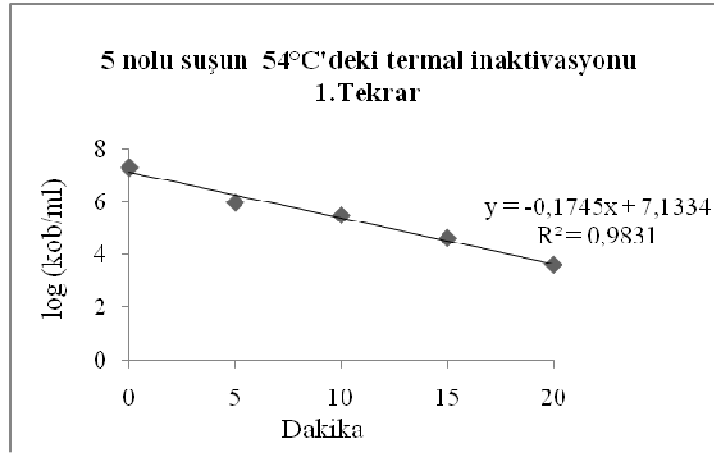
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



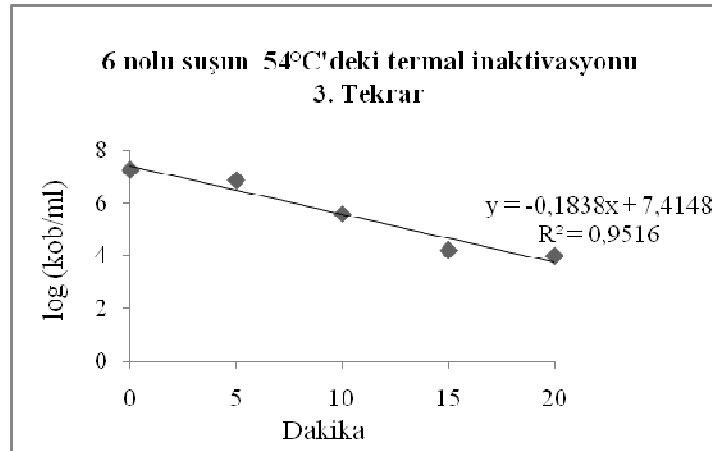
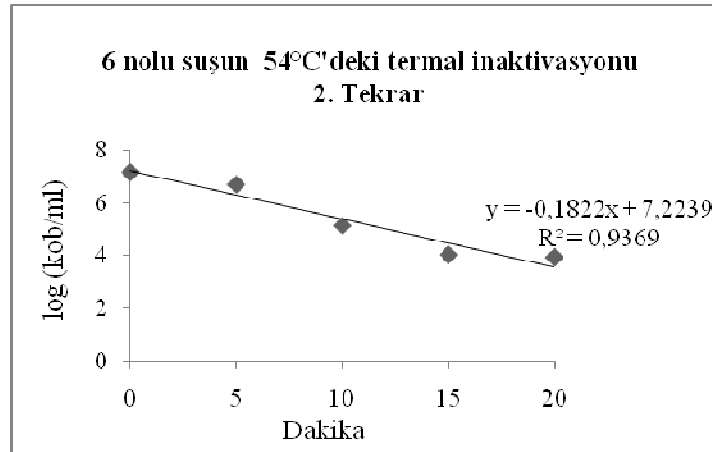
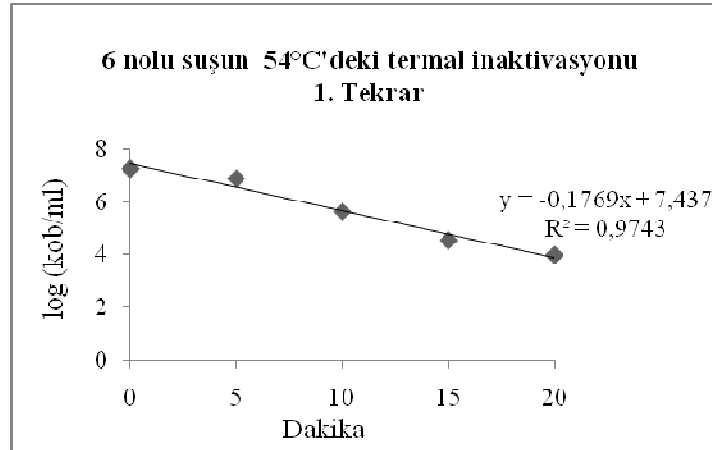
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



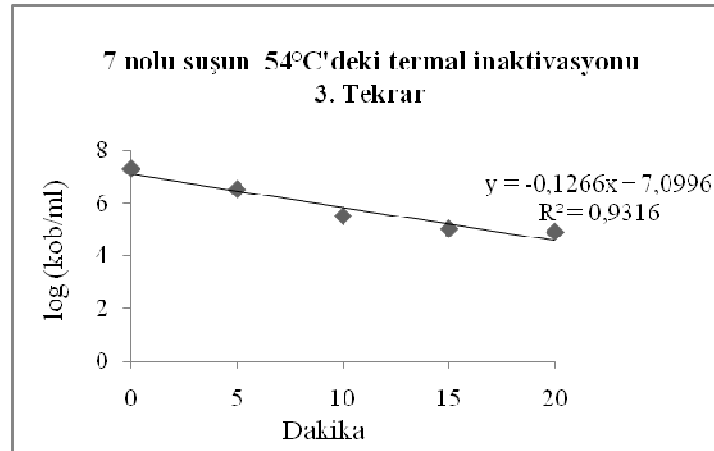
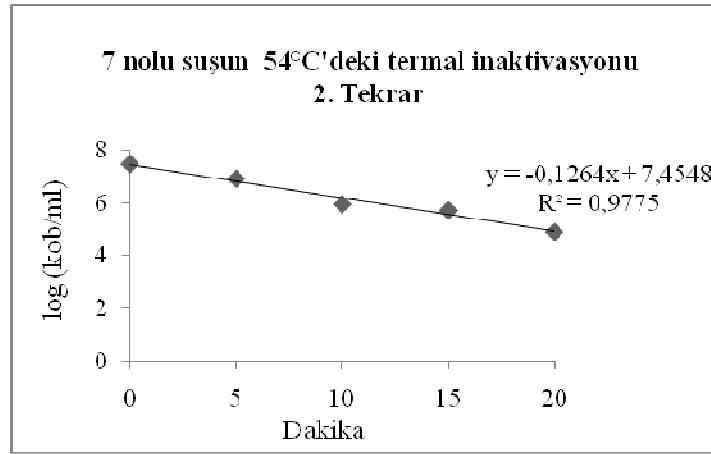
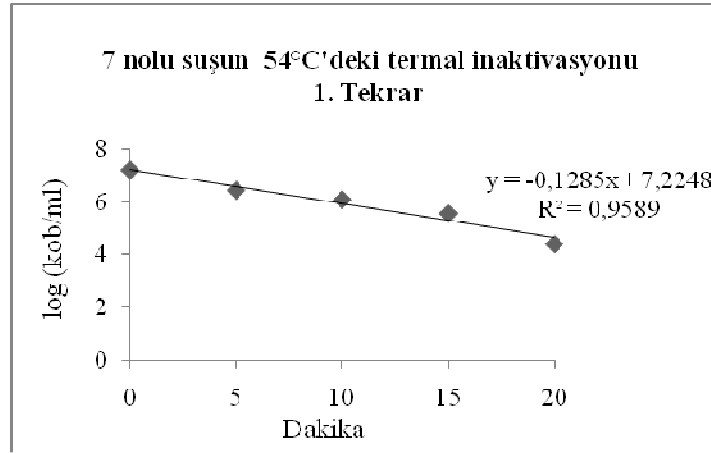
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



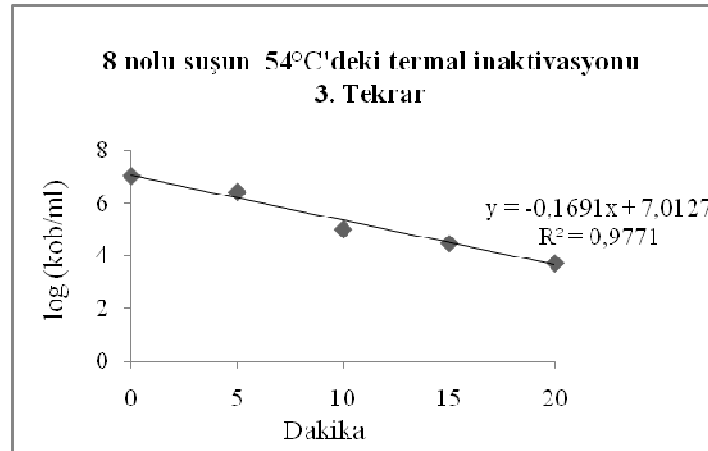
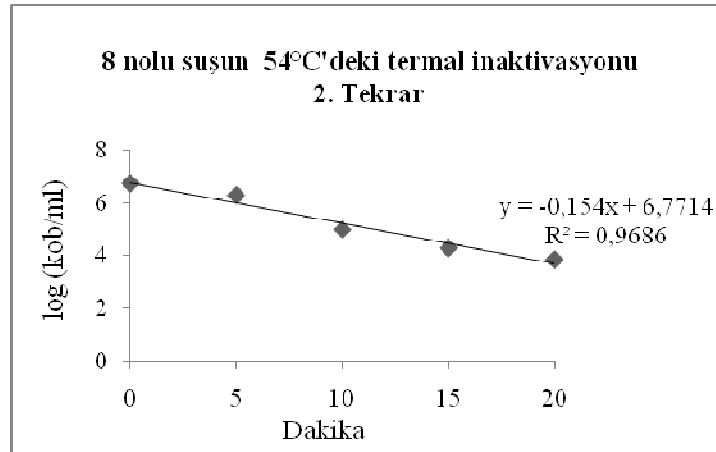
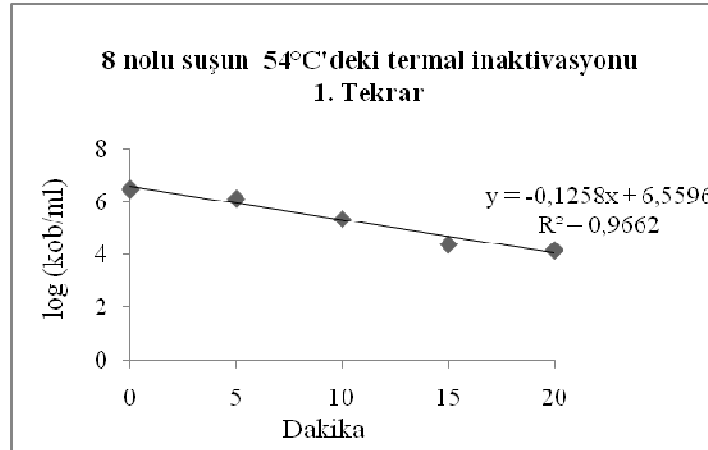
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



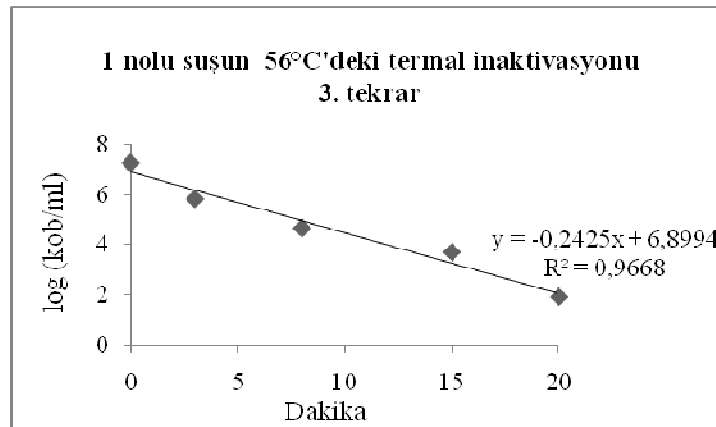
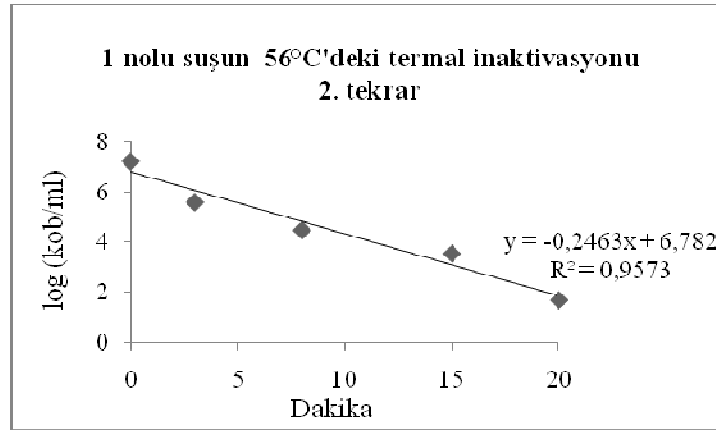
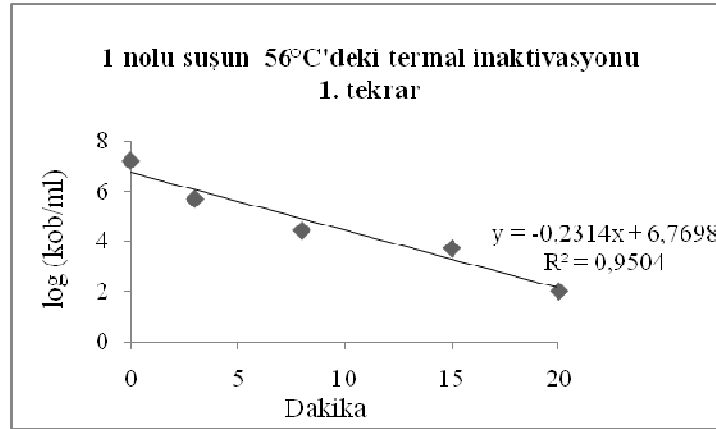
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



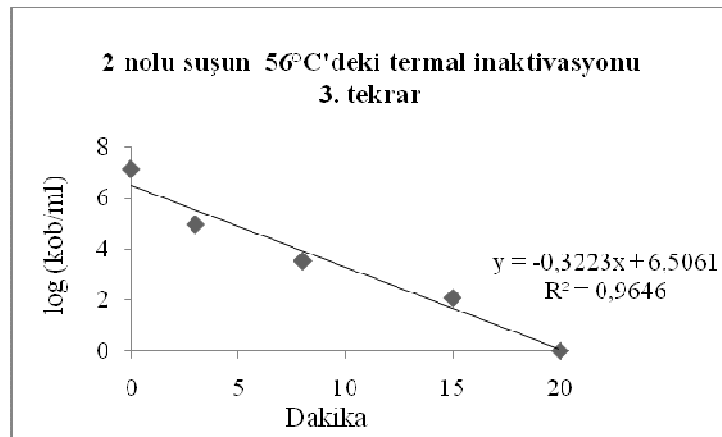
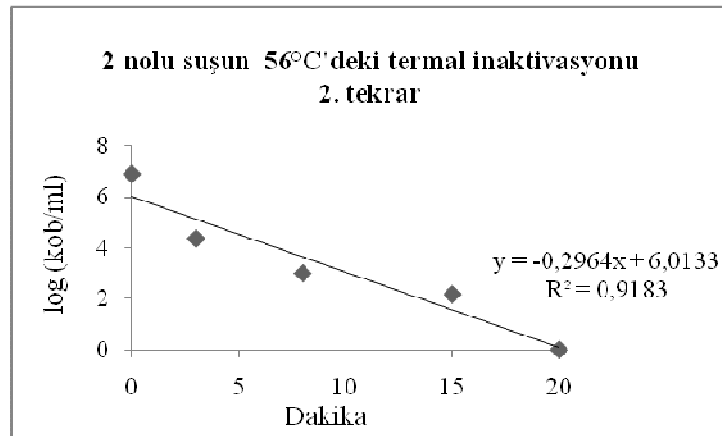
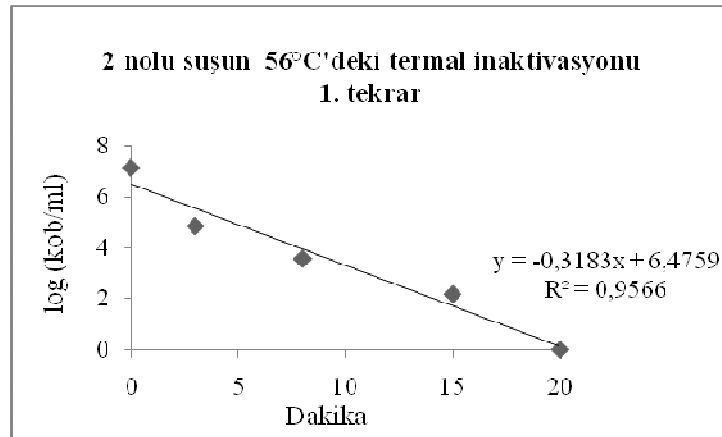
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



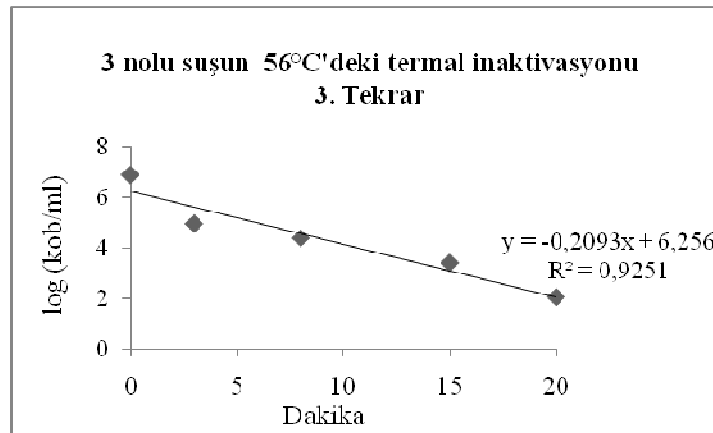
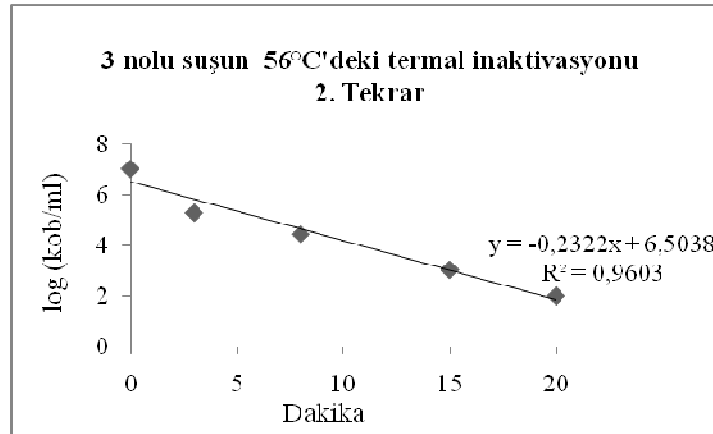
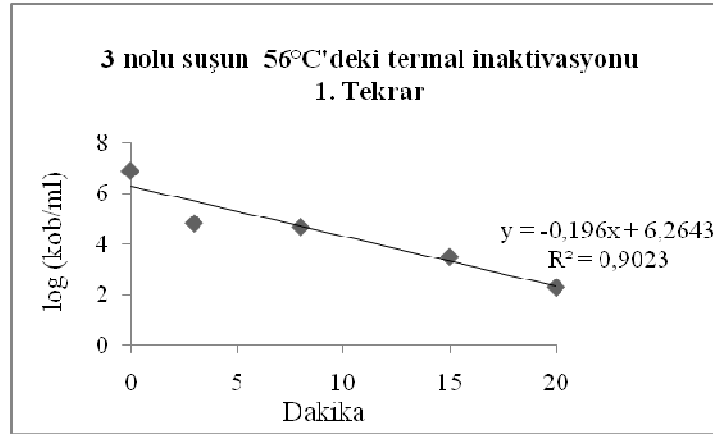
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



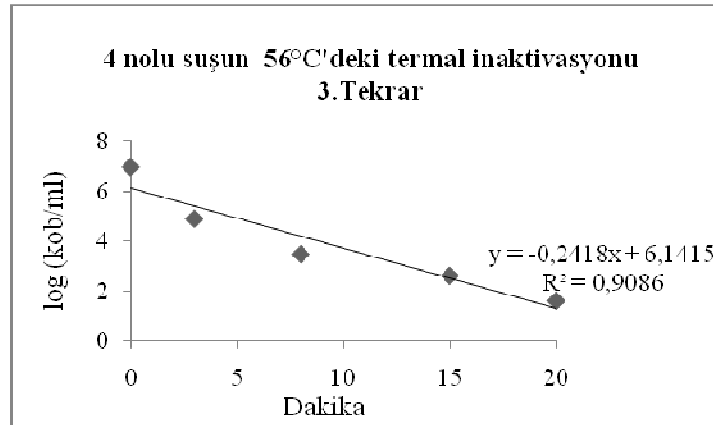
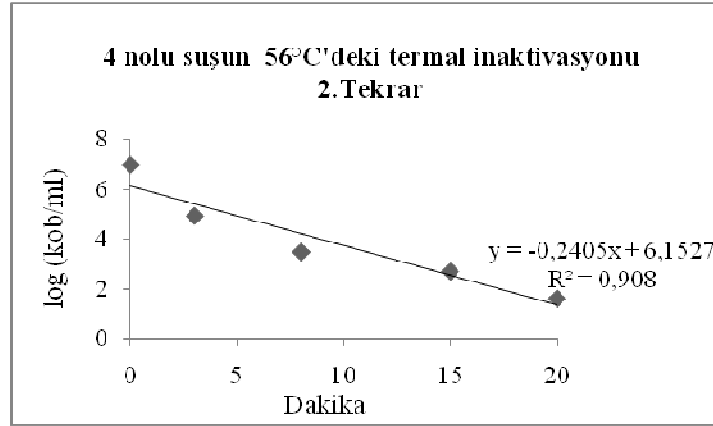
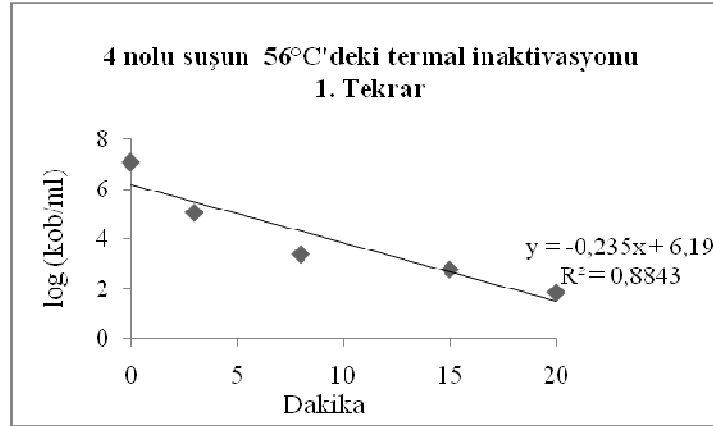
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



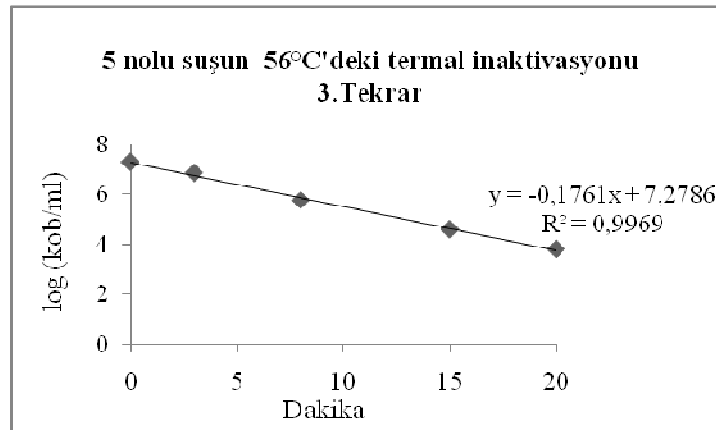
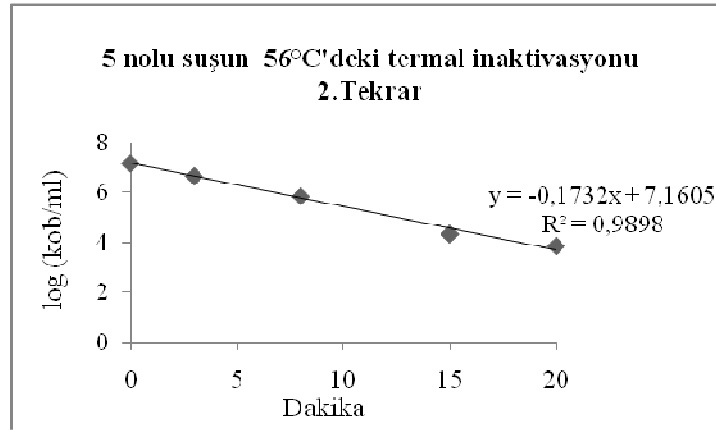
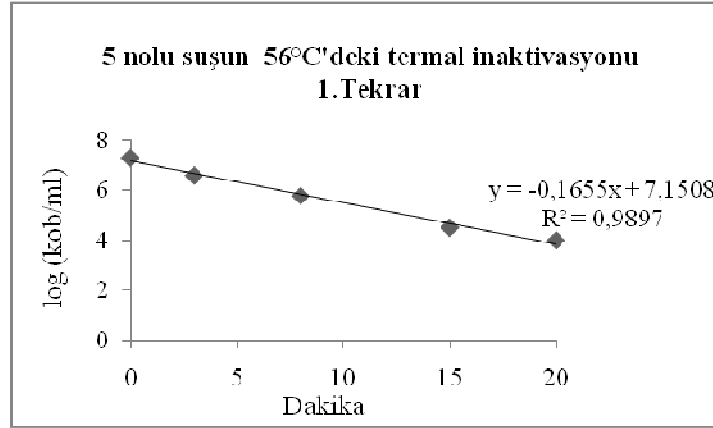
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



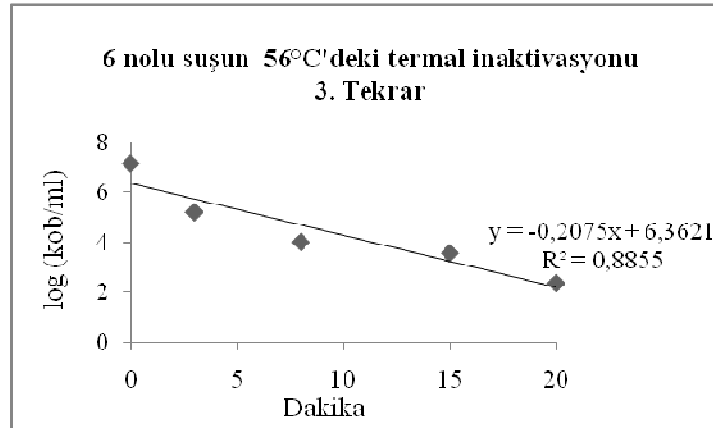
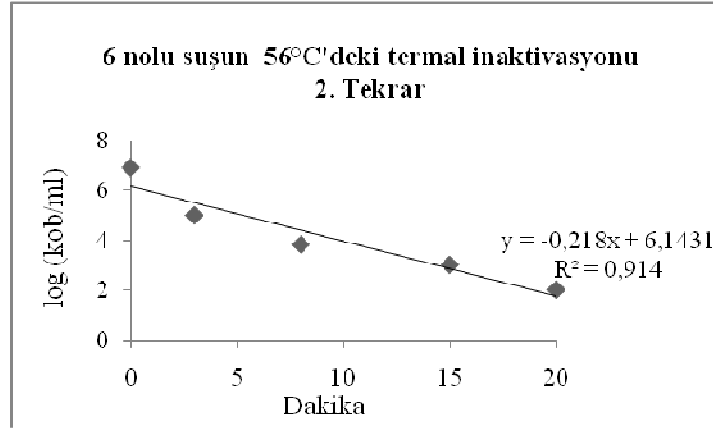
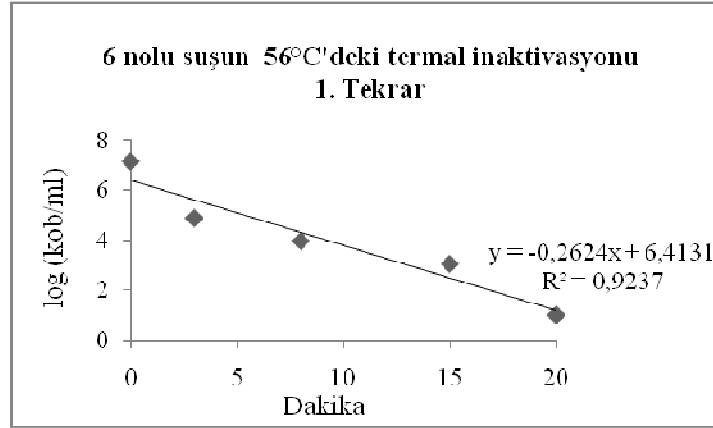
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



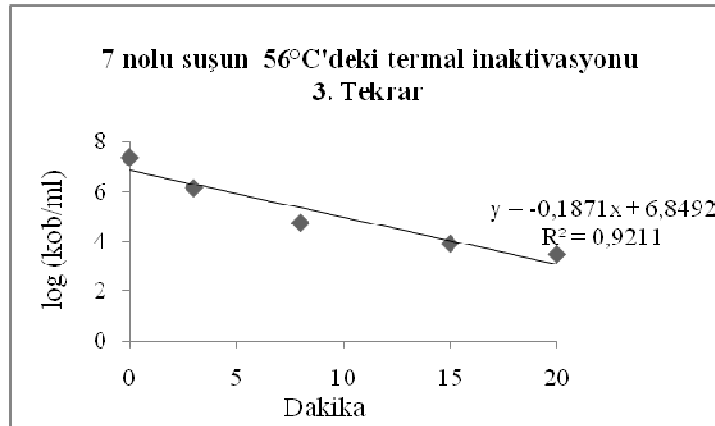
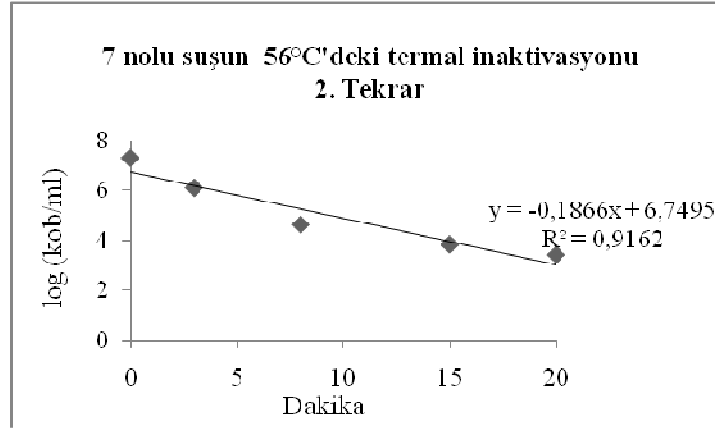
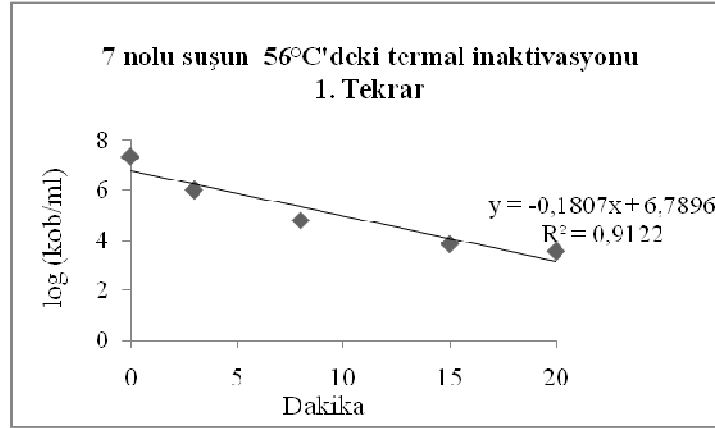
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



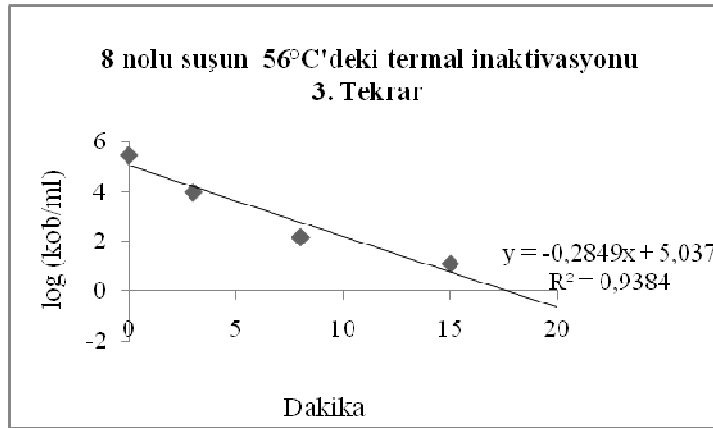
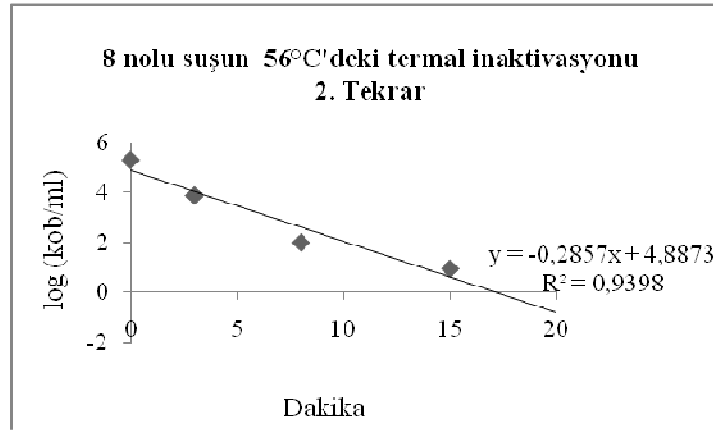
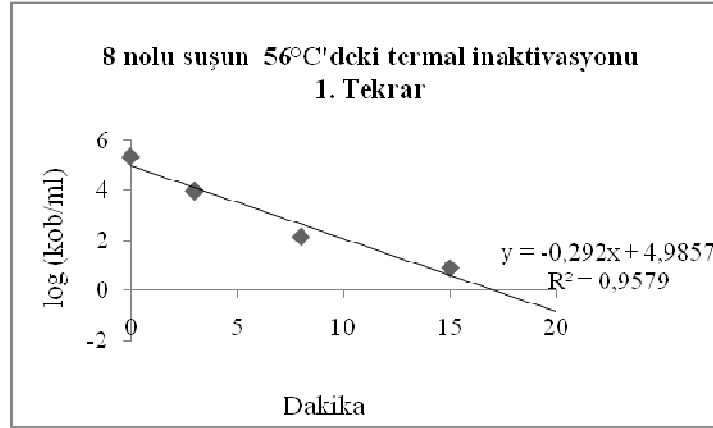
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



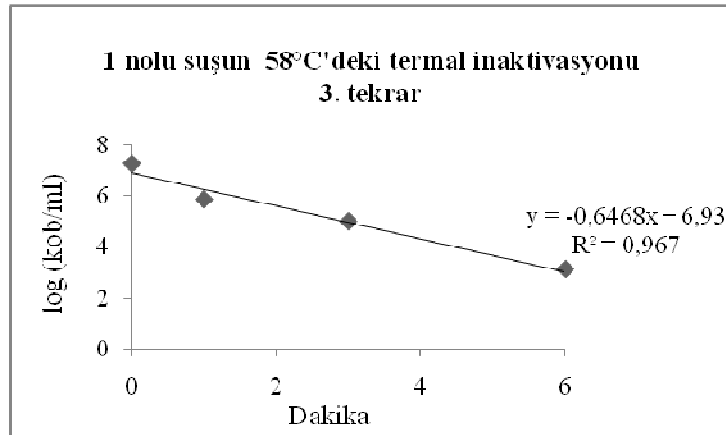
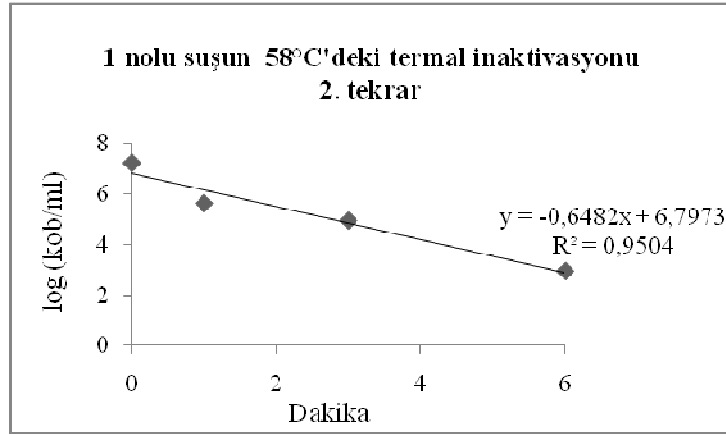
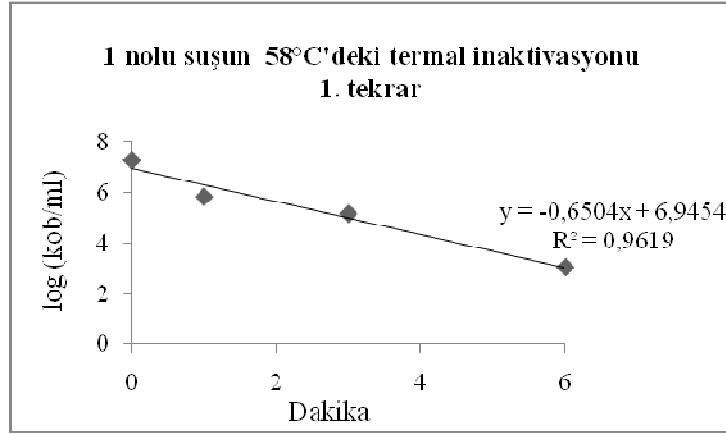
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



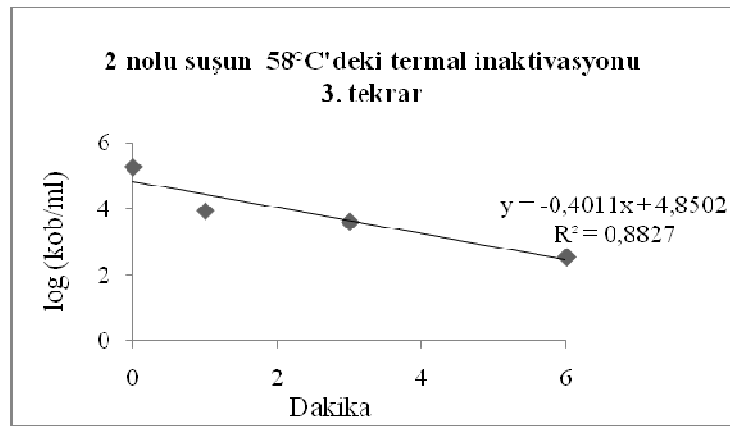
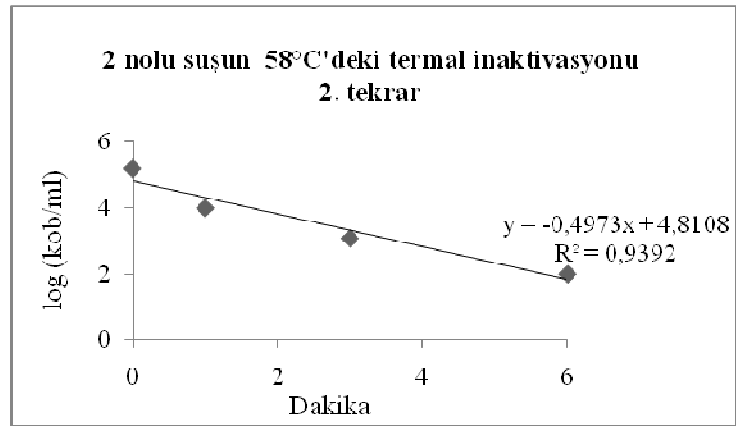
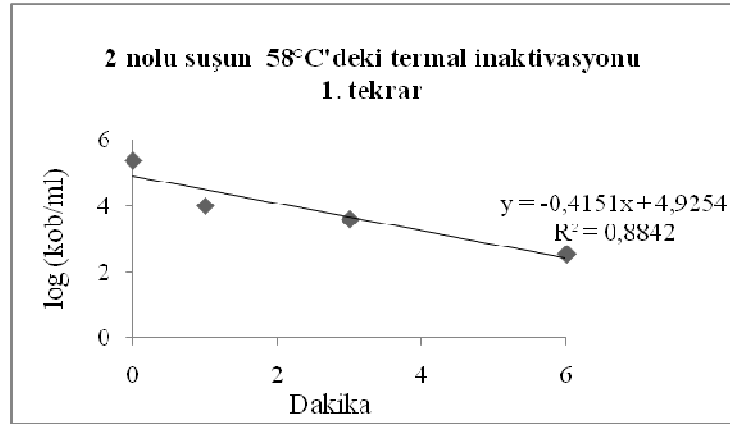
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



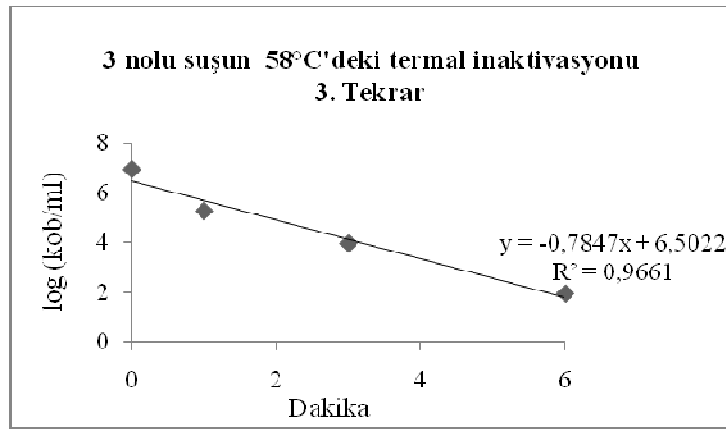
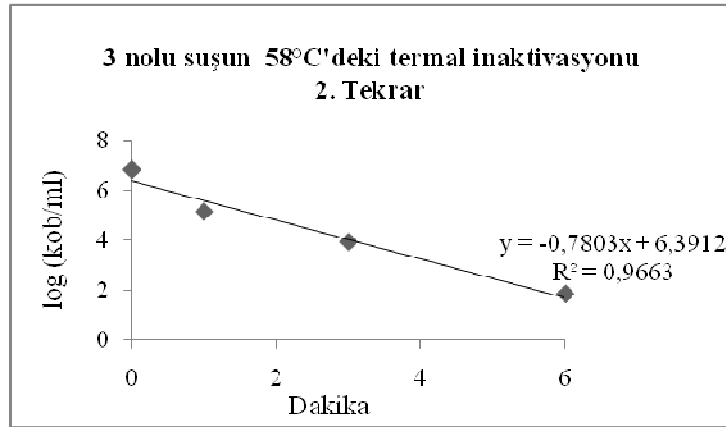
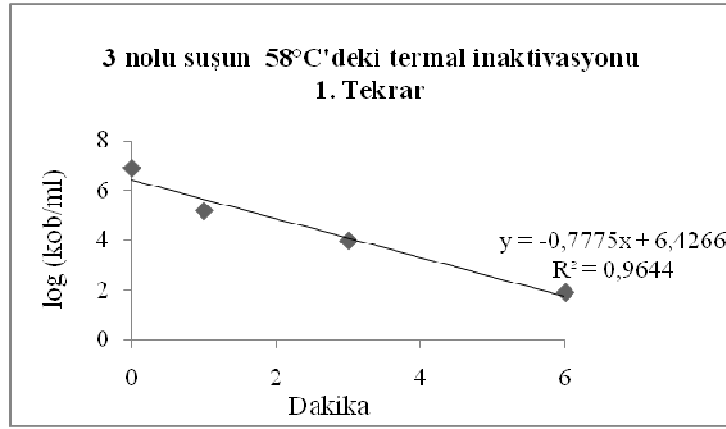
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



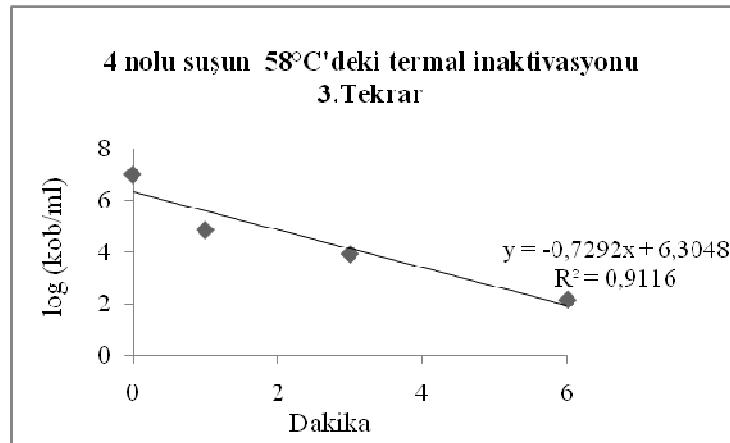
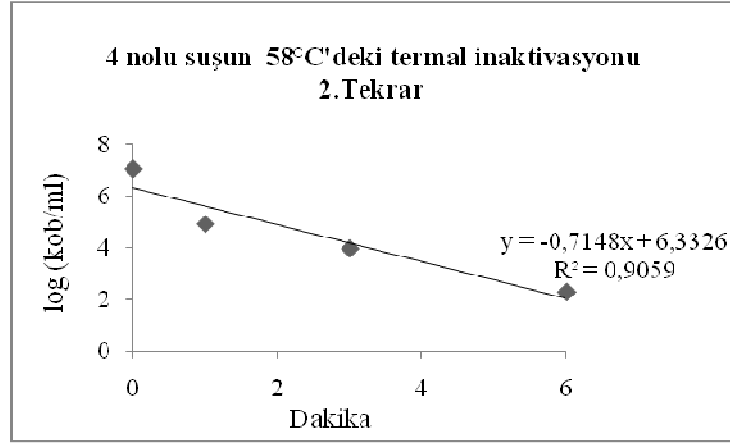
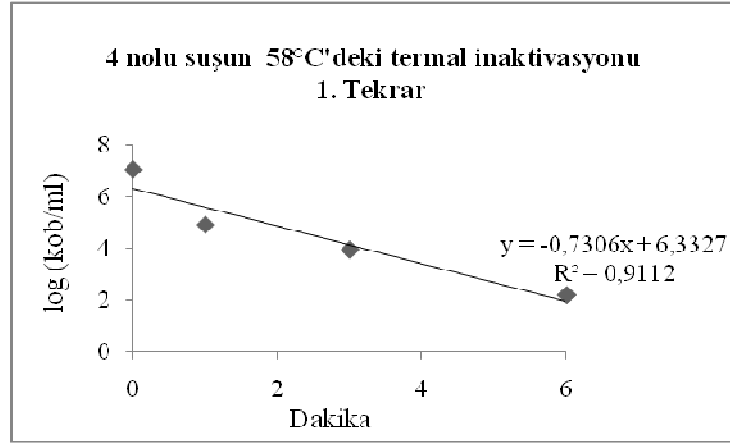
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



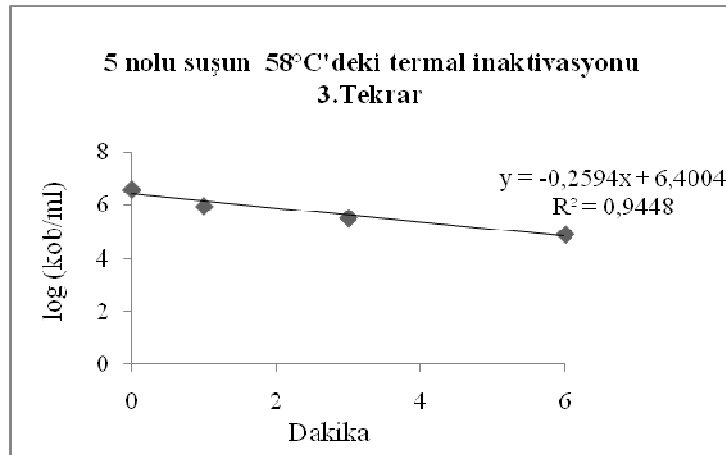
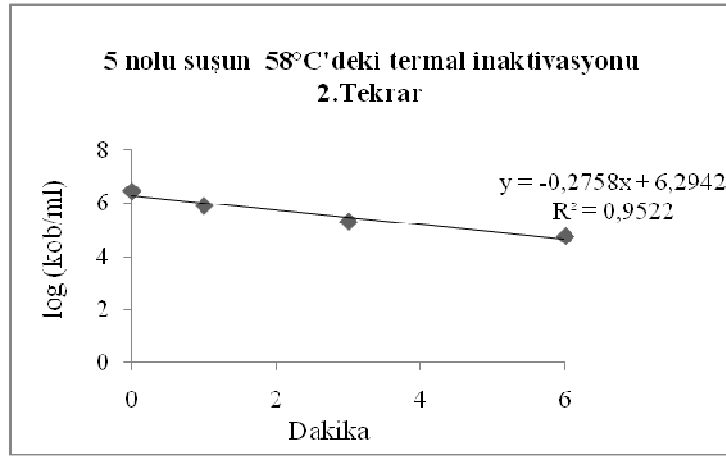
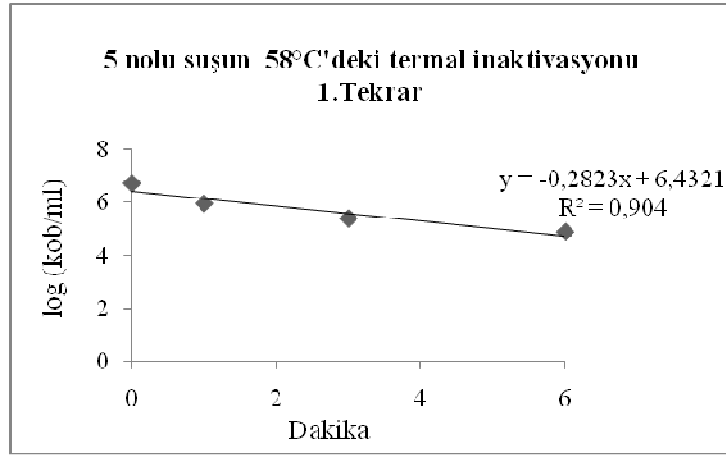
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



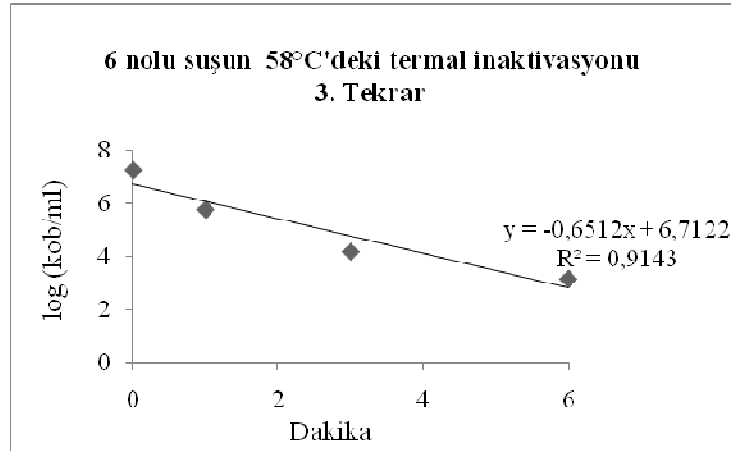
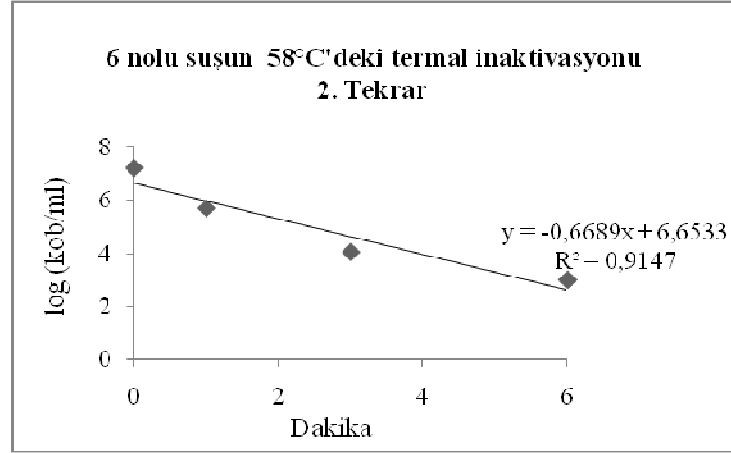
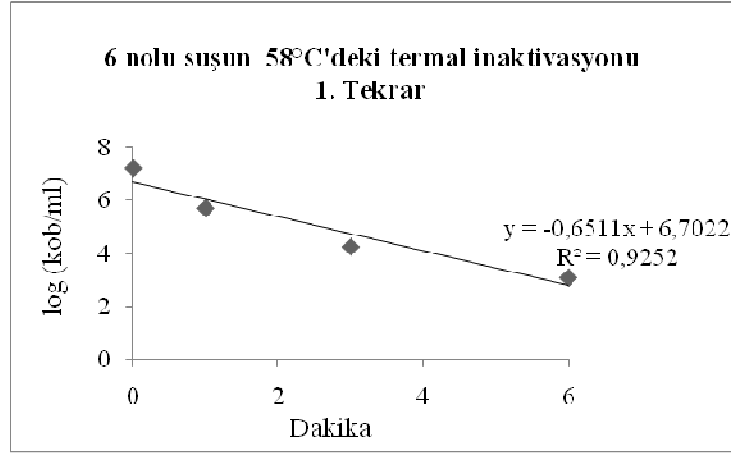
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



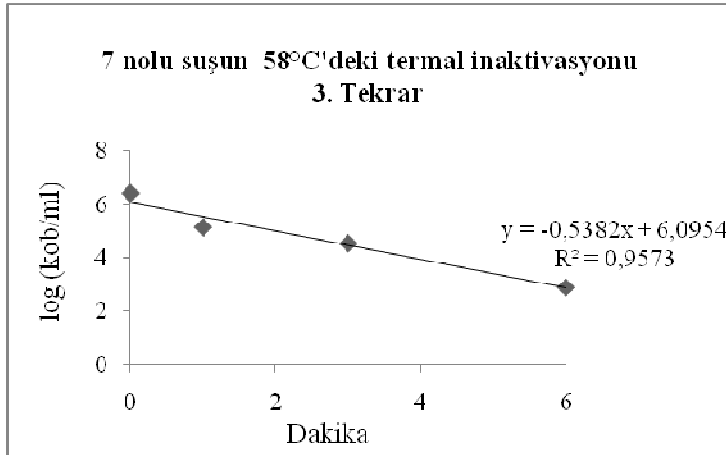
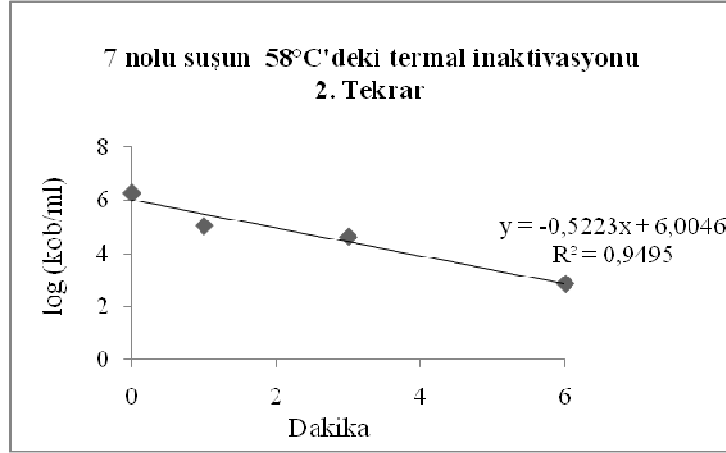
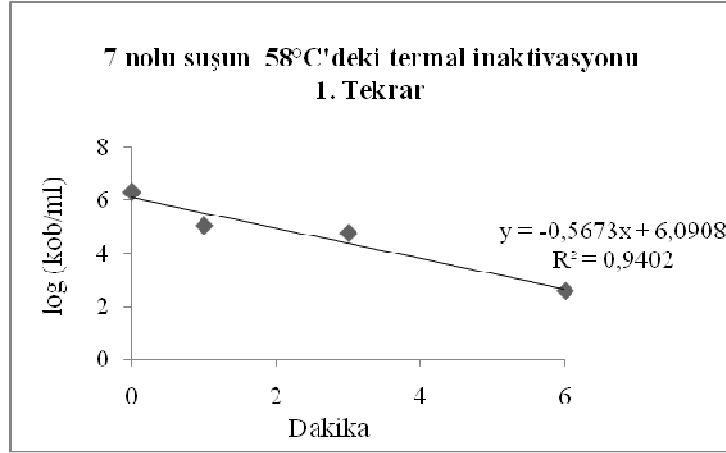
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



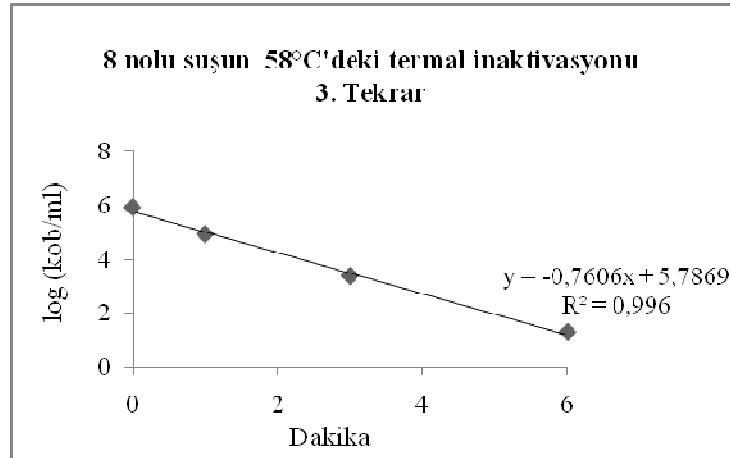
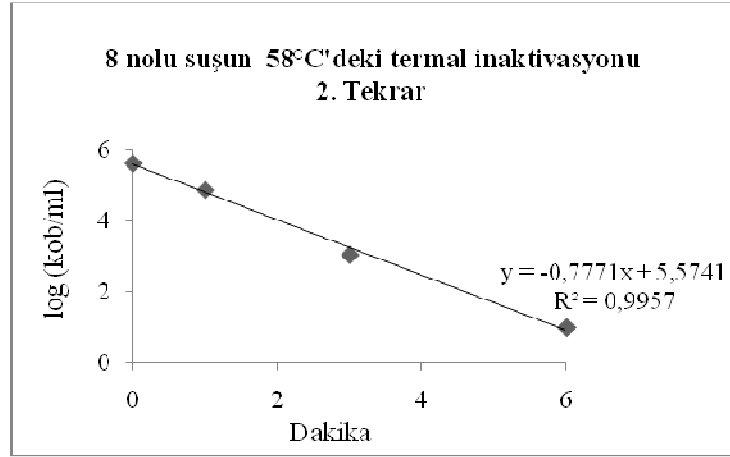
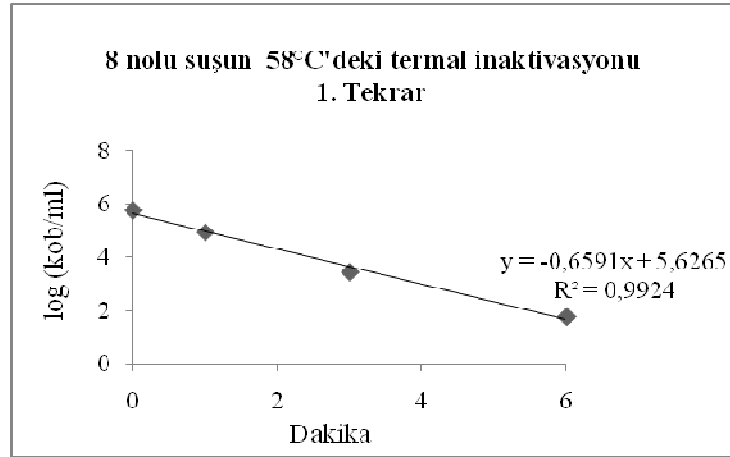
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



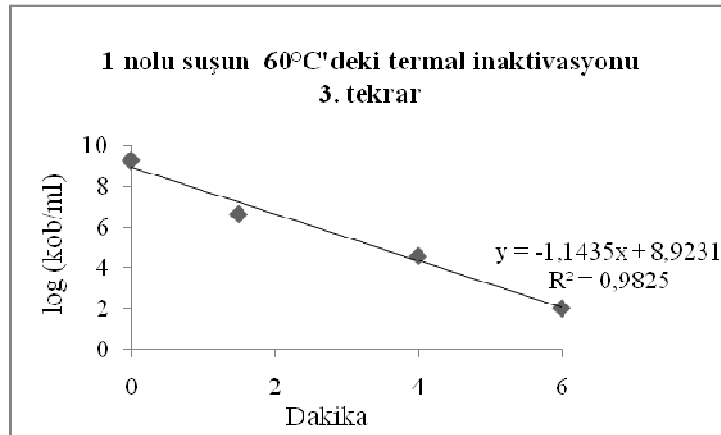
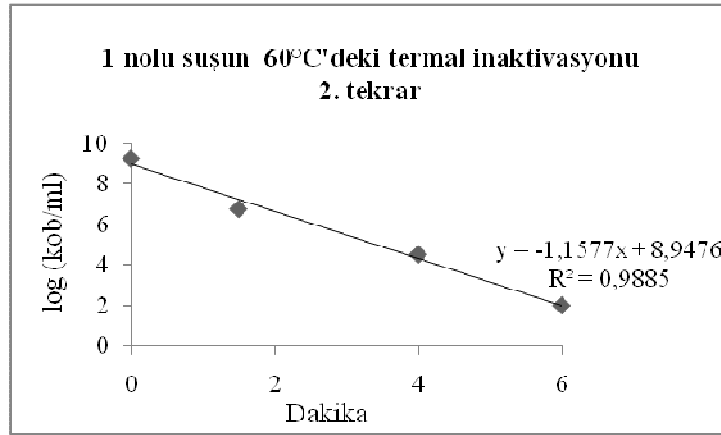
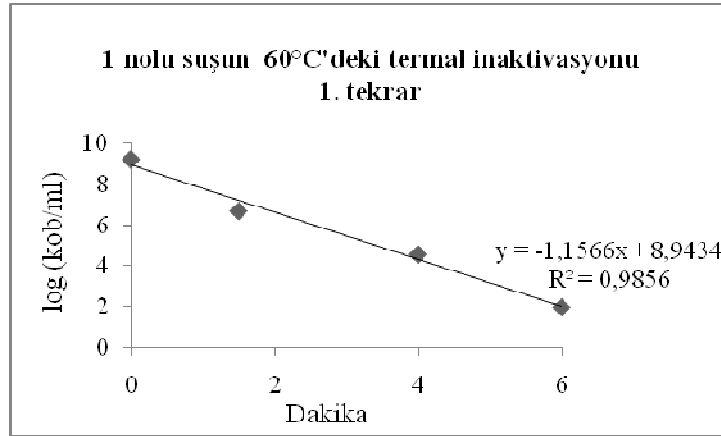
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



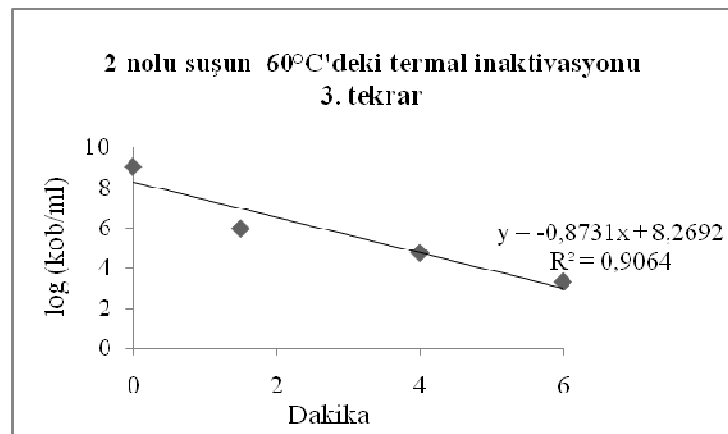
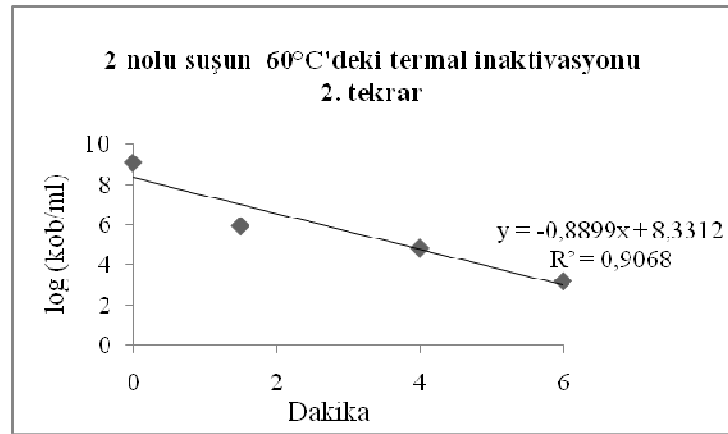
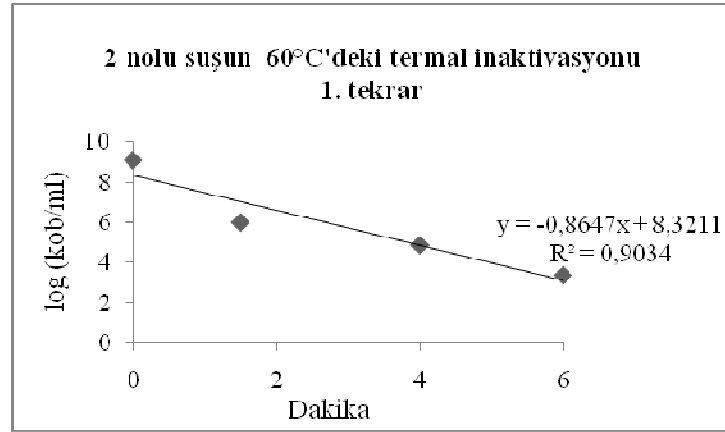
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



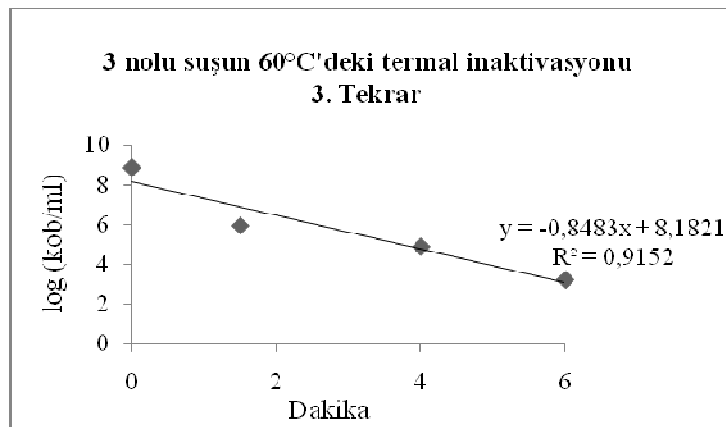
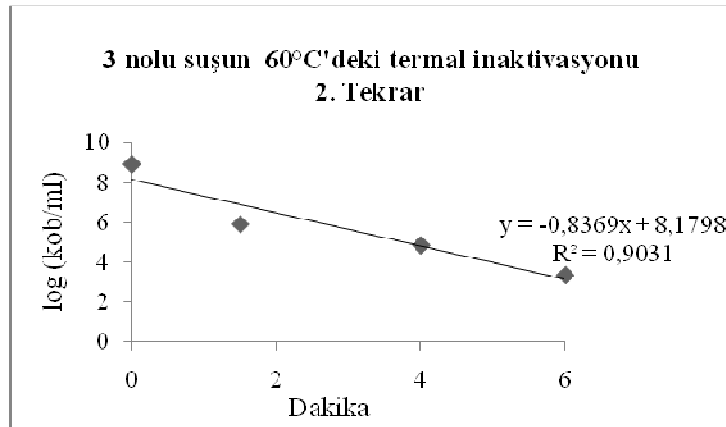
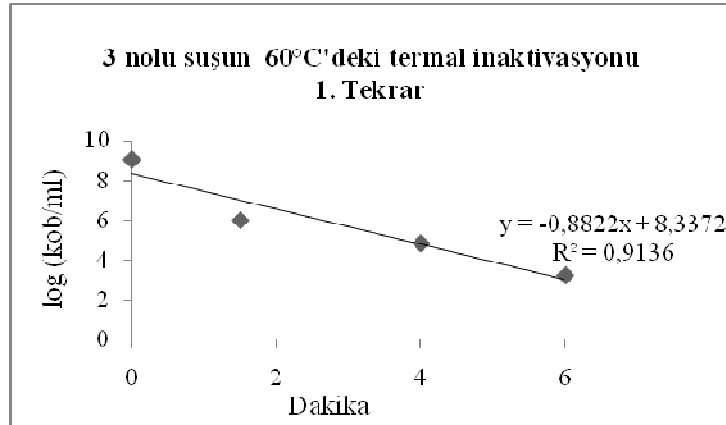
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



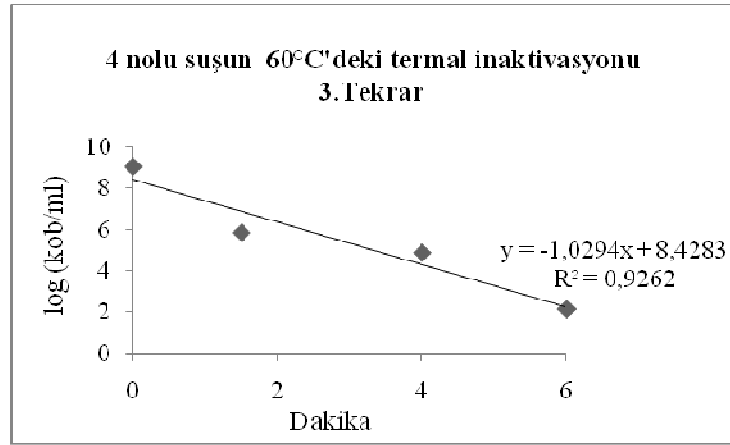
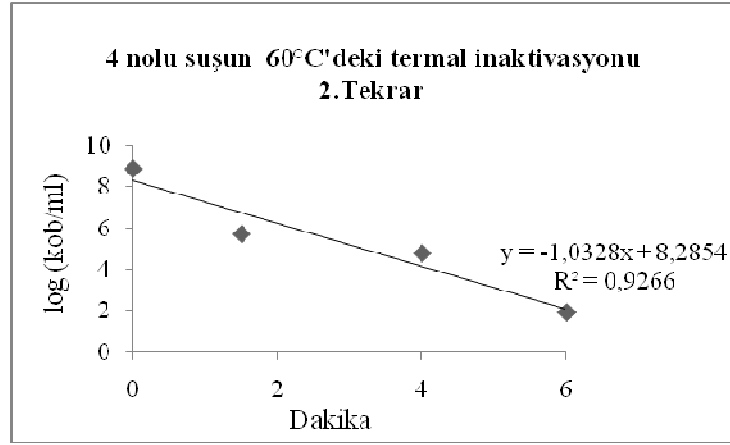
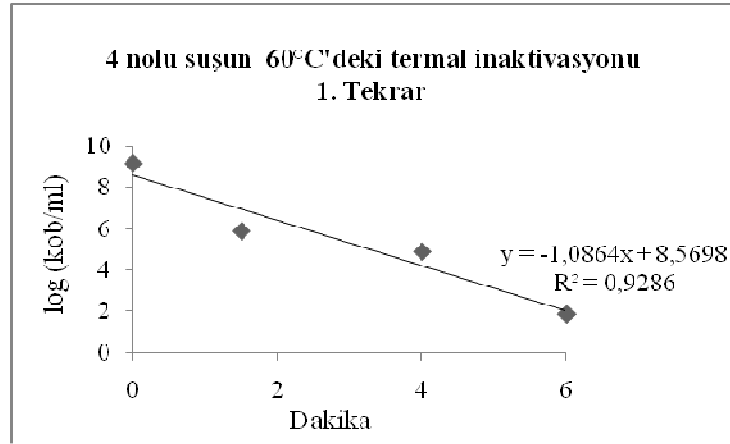
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



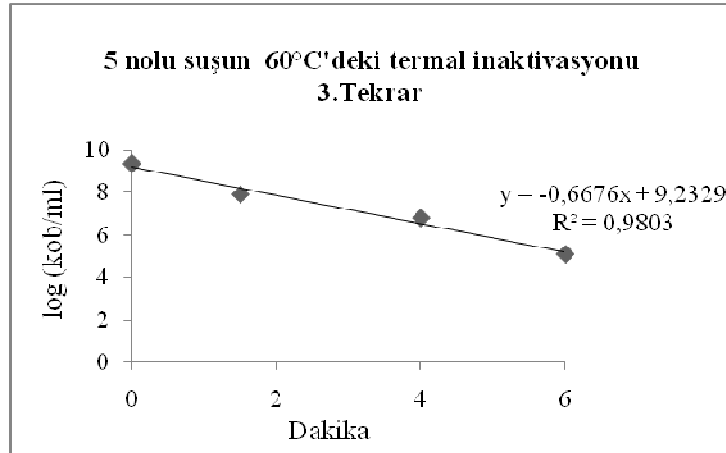
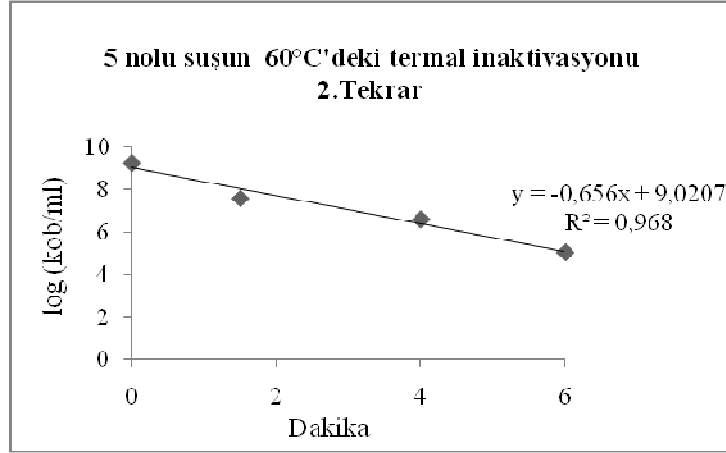
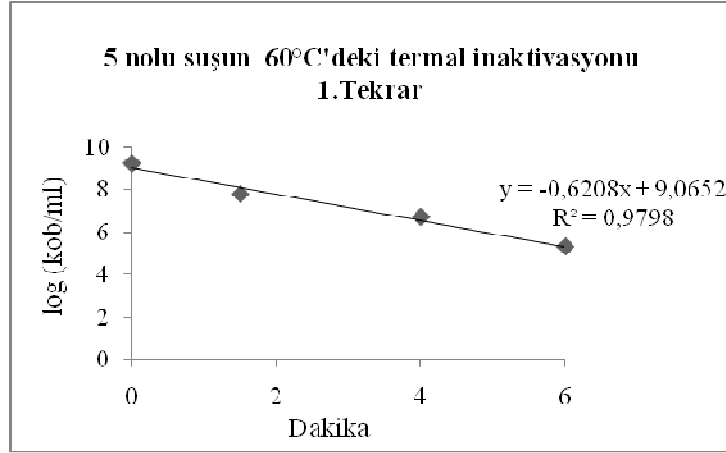
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



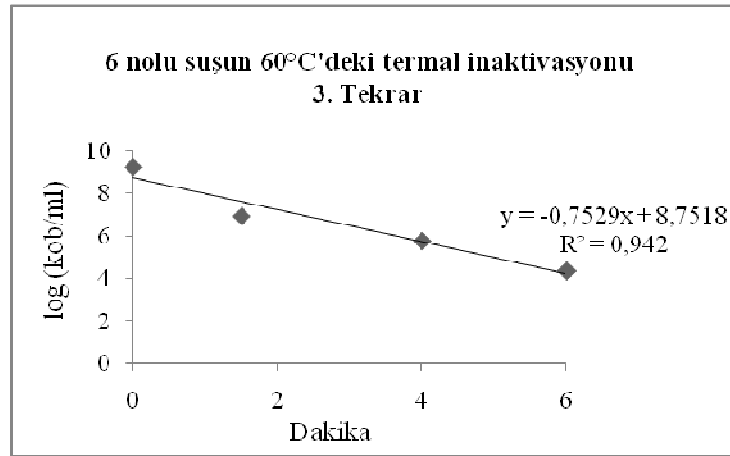
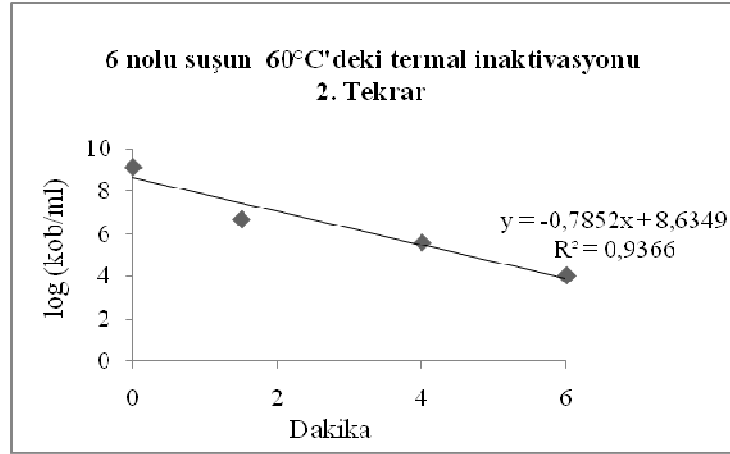
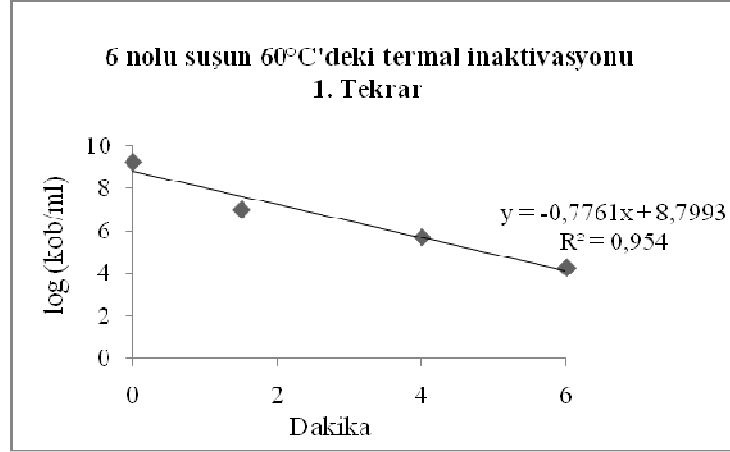
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



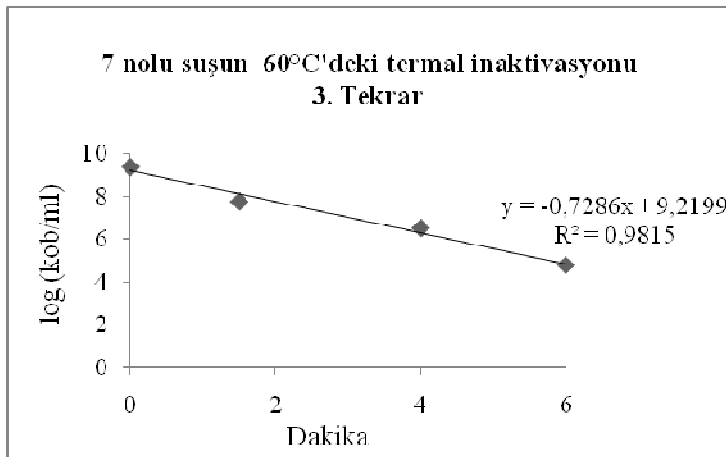
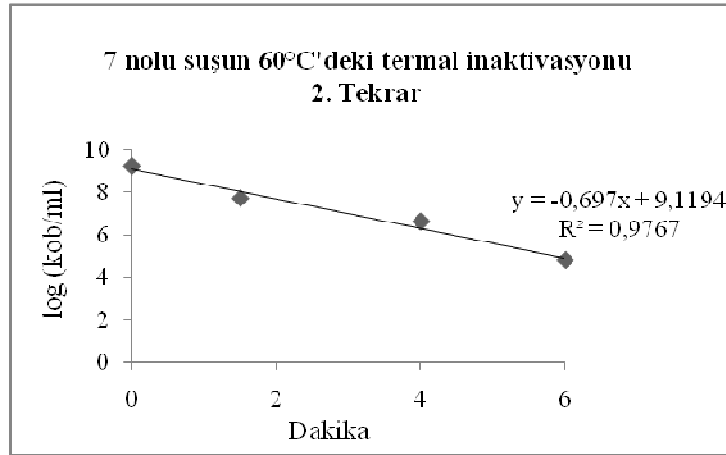
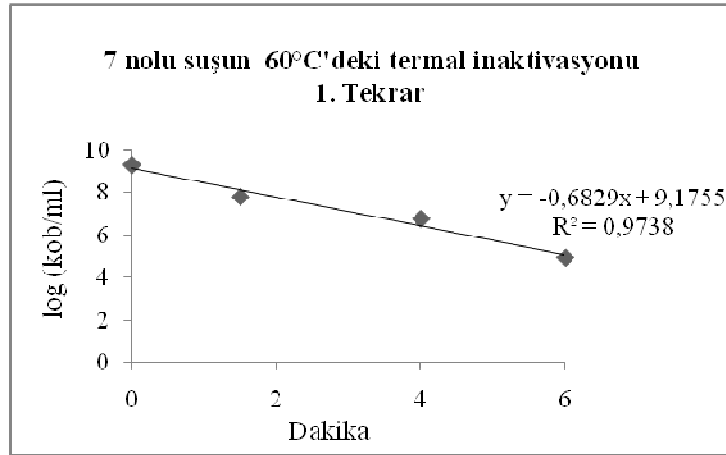
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



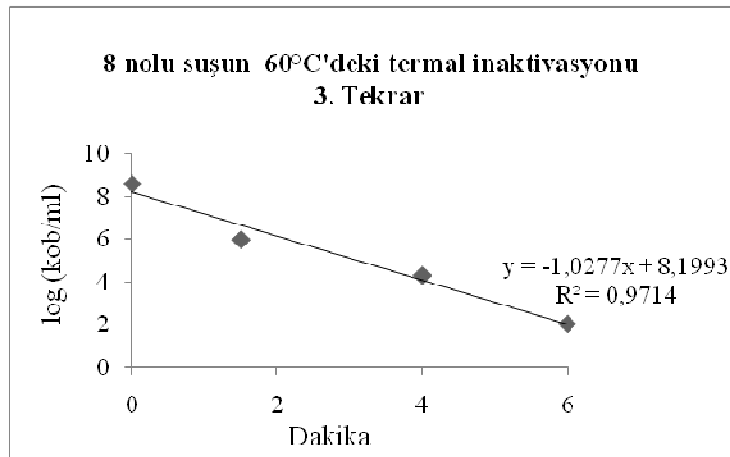
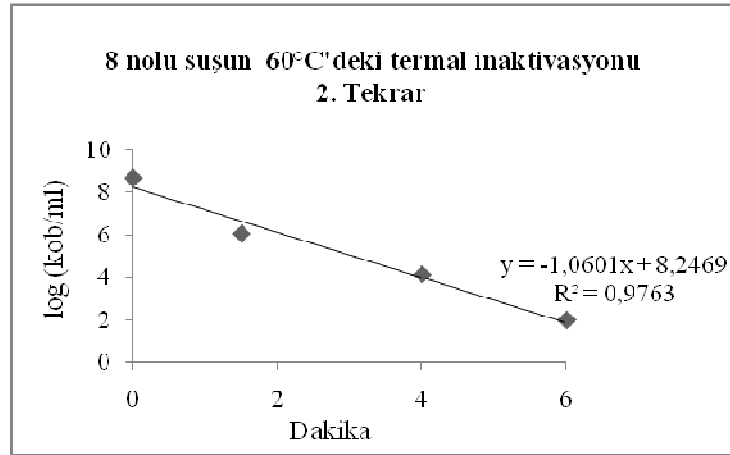
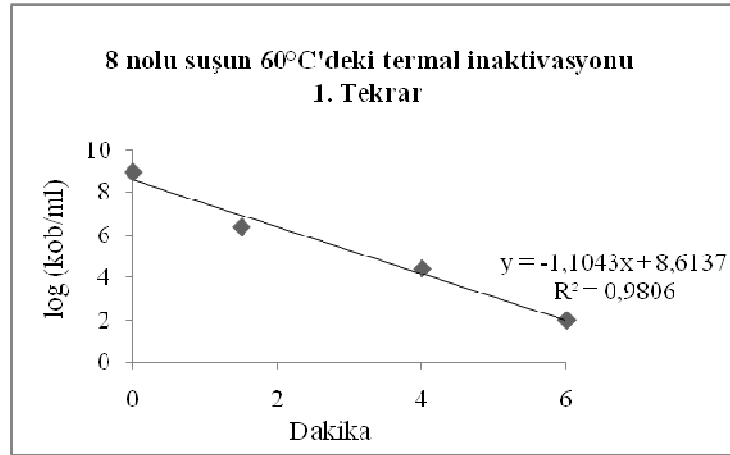
Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri.



Şekil A.1 (devam) : 5 farklı sıcaklıktaki termal inaktivasyon eğrileri (devamı).

Çizelge A.6 : Suşların farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi.

1 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	802,67	200,67	899,97	0,000
Hata	1	2,23	0,22		
Toplam	14	804,90			

2 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	430,89	107,72	2423,27	0,000
Hata	1	0,44	0,04		
Toplam	14	431,33			

3 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	366,653	91,663	1219,03	0,000
Hata	1	0,752	0,075		
Toplam	14	367,405			

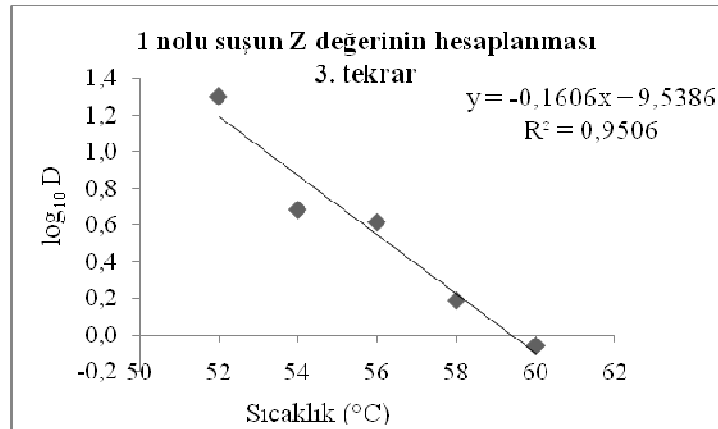
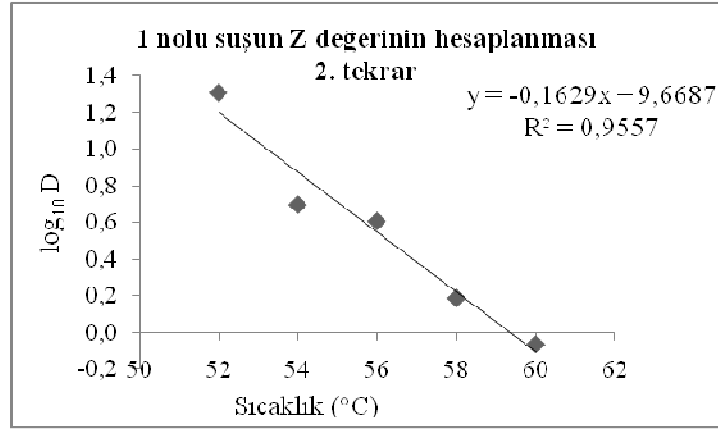
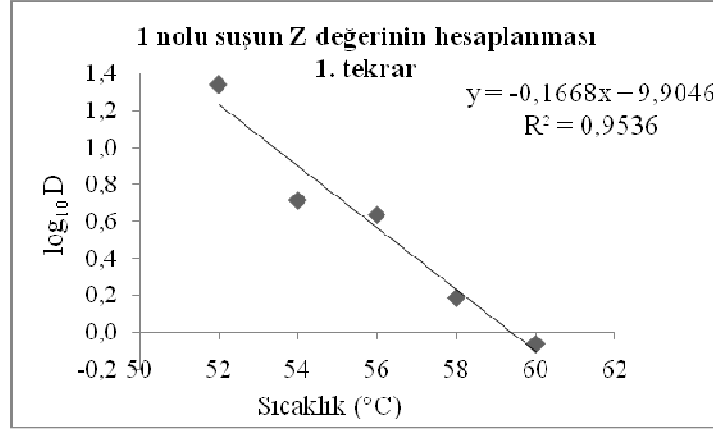
4 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	267,114	66,779	586,26	0,000
Hata	1	1,139	0,114	0,114	
Toplam	14	268,253			

5 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	812,48	203,12	1155,10	0,000
Hata	1	1,76	0,18		
Toplam	14	814,24			

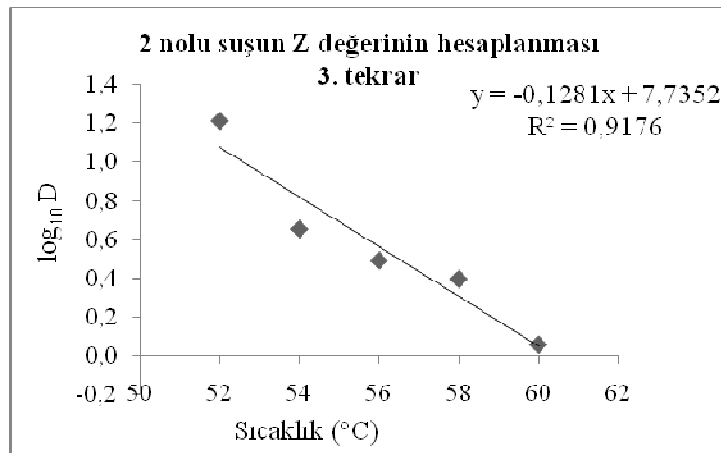
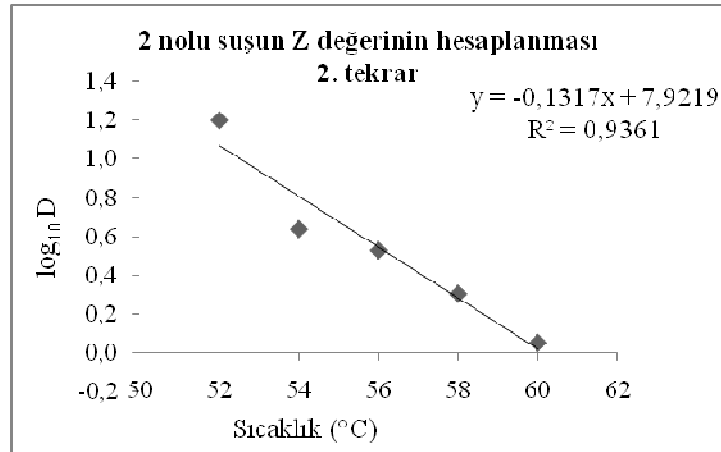
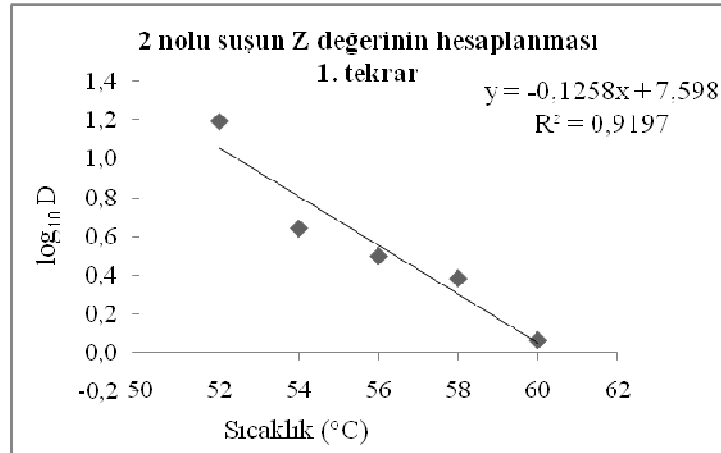
6 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	170,918	42,730	646,5	0,000
Hata	1	0,661	0,066		
Toplam	14	171,579			

7 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	2524,03	631,01	204,57	0,000
Hata	1	30,85	3,08		
Toplam	14	2554,88			

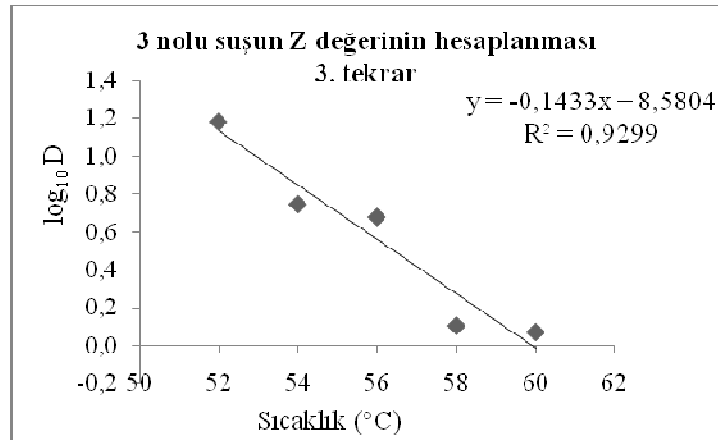
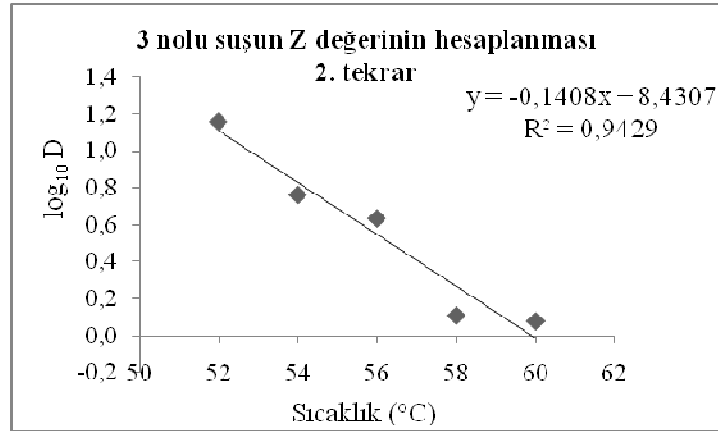
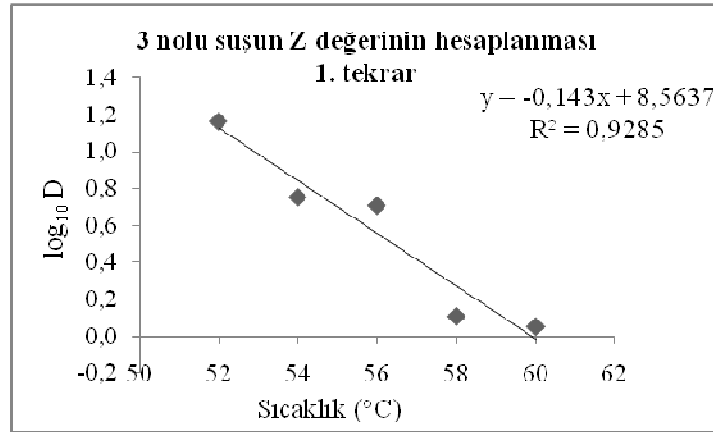
8 nolu suşun farklı sıcaklıklardaki D değerlerine ait varyans analiz çizelgesi					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Sıcaklık	4	2382,47	595,62	603,51	0,000
Hata	1	9,87	0,99		
Toplam	14	2392,34			



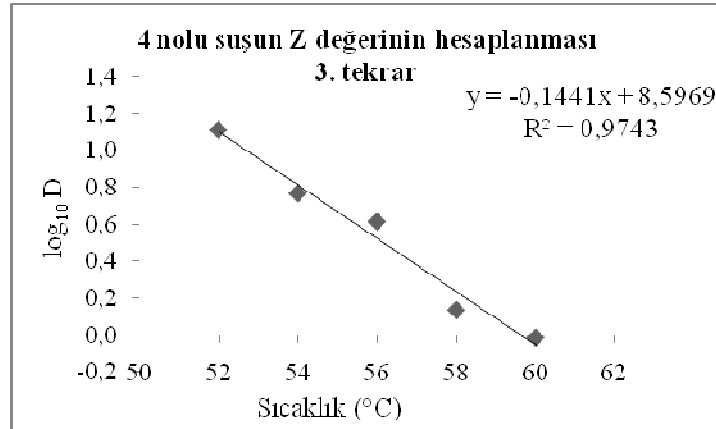
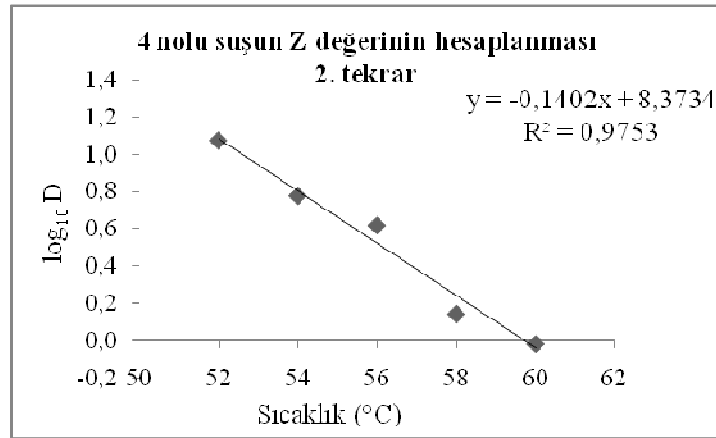
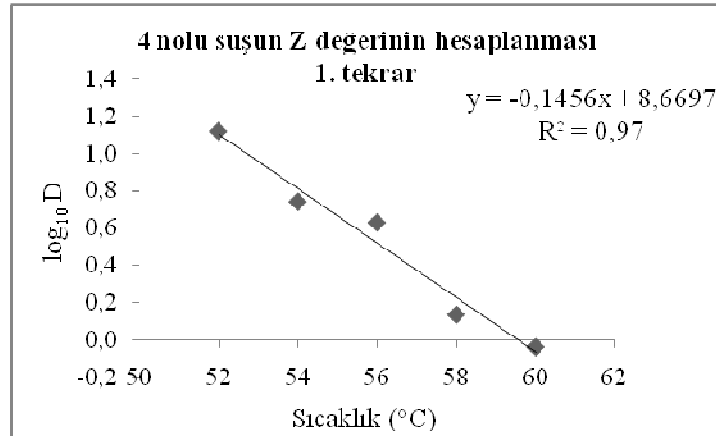
Şekil A.2 : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler



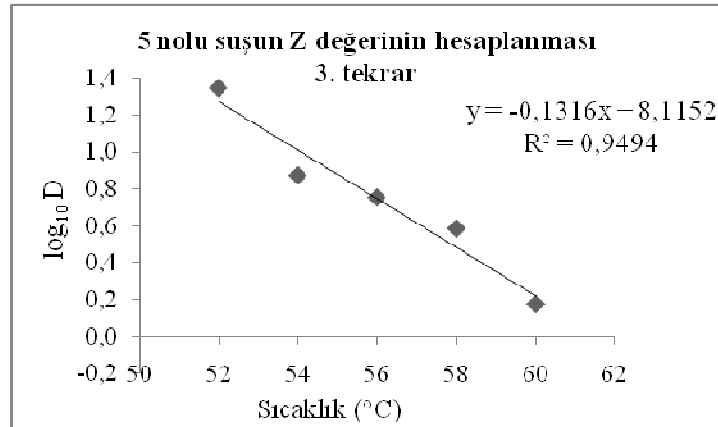
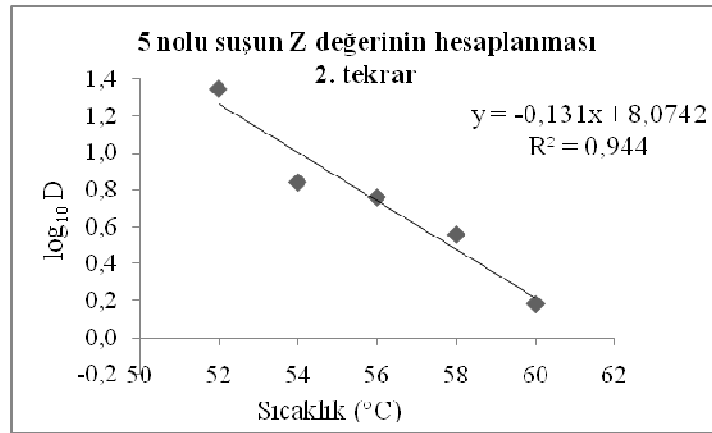
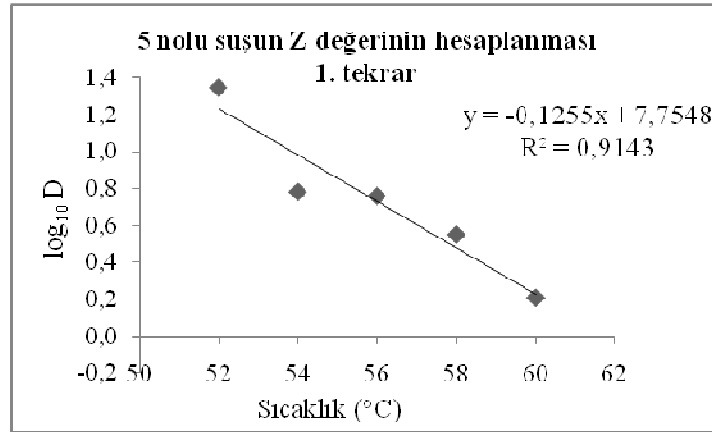
Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.



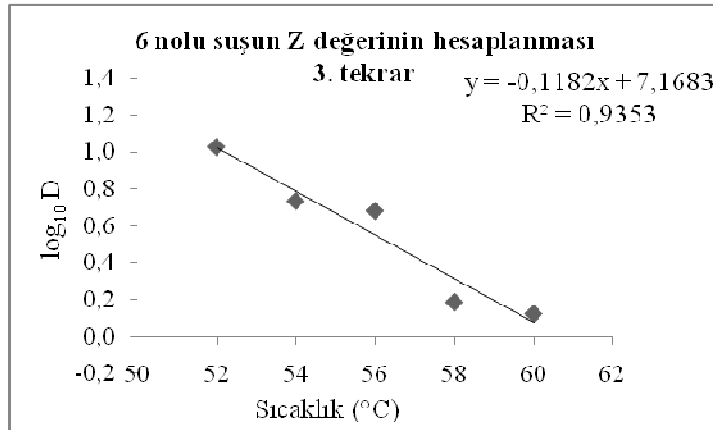
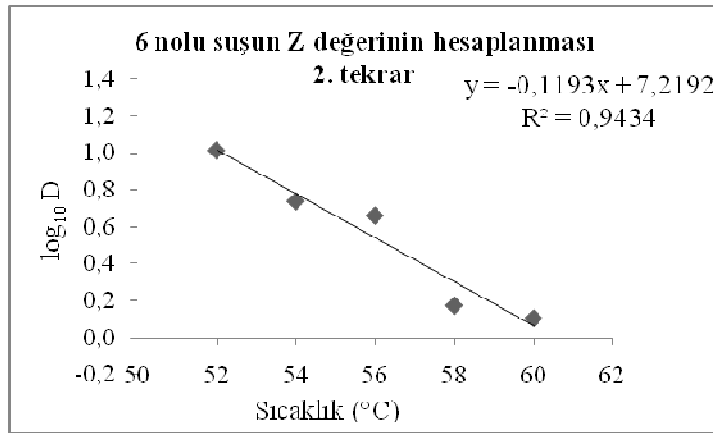
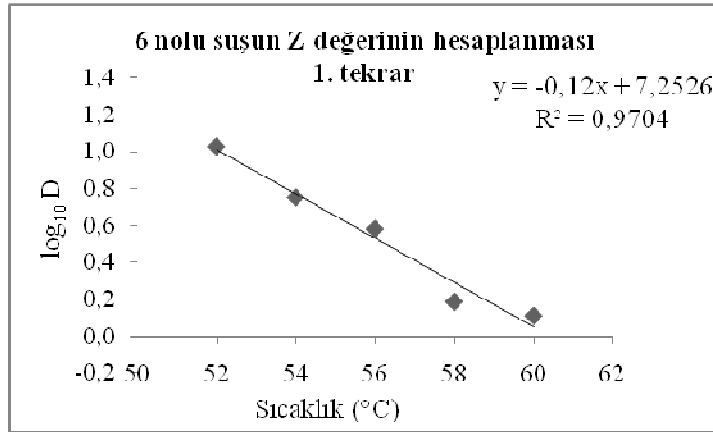
Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.



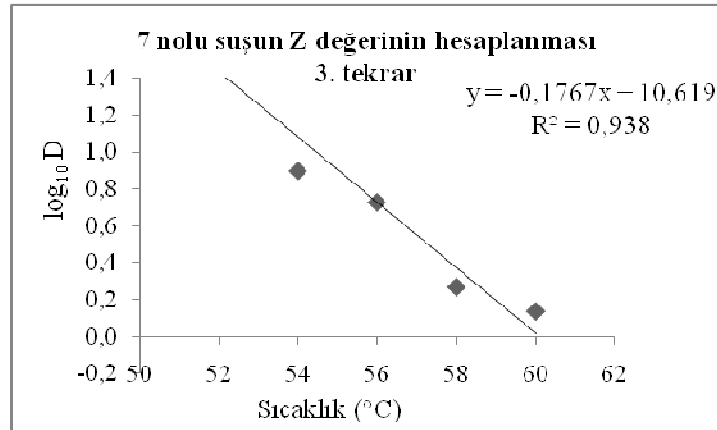
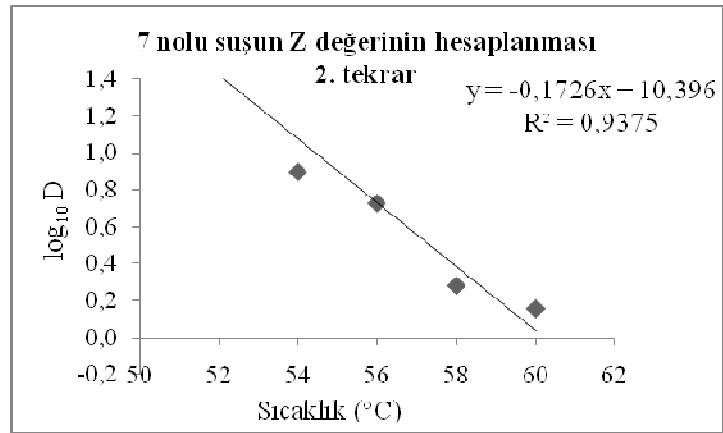
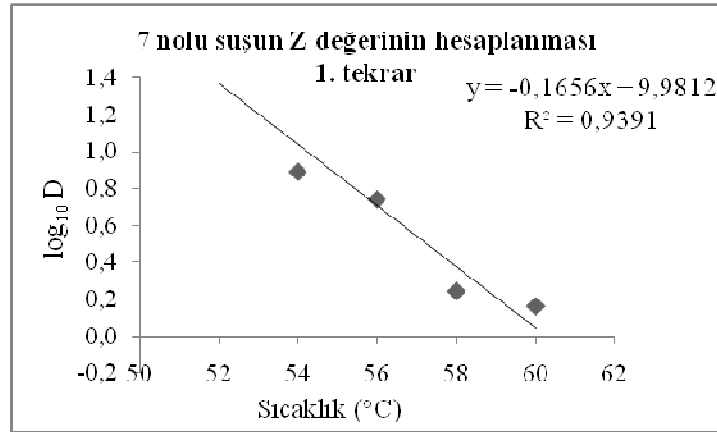
Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.



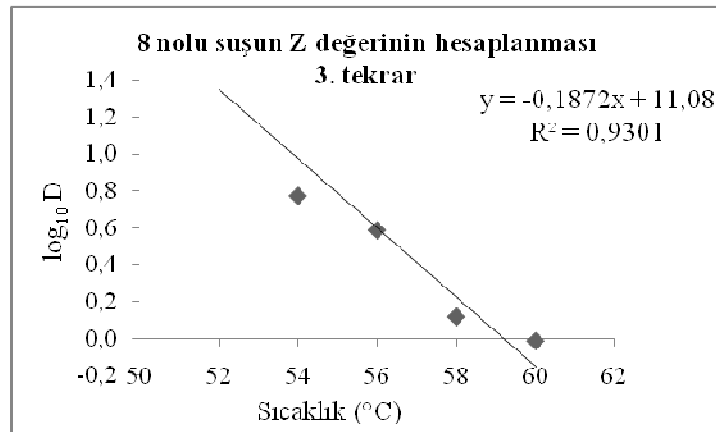
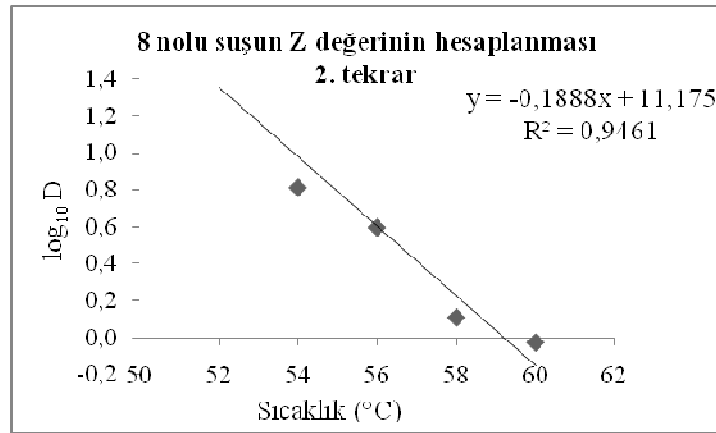
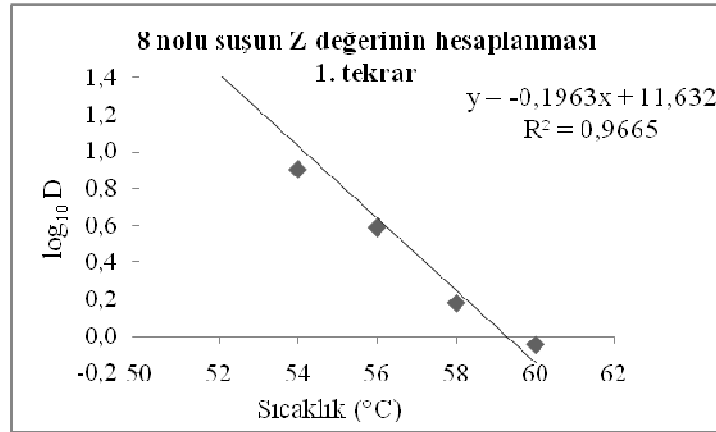
Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.



Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.



Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.



Şekil A.2 (devam) : Z değerlerinin hesaplamasında kullanılan eğriler.

Çizelge A.7 : Z değerlerine ait varyans analiz çizelgesi.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Suş	7	24,62	3,51	164,80	0,000
Hata	16	0,3415	0,02		
Toplam	23	24,96			

Çizelge A.8 : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

1. nolu suş																								
	TSB (%0,25 laktoz)						TSB (%0,5 laktoz)						TSB (%1 laktoz)						TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,163	0,187	0,269	0,2063	0,0556	0,199	0,259	0,29	0,2493	0,0463	0,235	0,253	0,293	0,2603	0,0297	0,228	0,239	0,217	0,2280	0,0110				
2	0,45	0,426	0,441	0,4390	0,0121	0,423	0,42	0,419	0,4207	0,0021	0,42	0,451	0,45	0,4403	0,0176	0,503	0,451	0,36	0,4380	0,0724				
4	0,802	0,763	0,718	0,7610	0,0420	0,663	0,718	0,71	0,6970	0,0297	0,661	0,719	0,729	0,7030	0,0367	0,762	0,703	0,744	0,7363	0,0302				
6	0,863	0,841	0,841	0,8483	0,0127	0,835	0,813	0,802	0,8167	0,0168	0,811	0,853	0,849	0,8377	0,0232	0,893	0,817	0,84	0,8500	0,0390				
8	0,962	0,951	0,954	0,9557	0,0057	0,947	0,94	0,977	0,9547	0,0197	0,923	0,977	0,973	0,9577	0,0301	0,956	0,885	0,926	0,9223	0,0356				
10	1,075	1,033	1,046	1,0513	0,0215	1,038	1,018	1,026	1,0273	0,0101	1,022	1,077	1,053	1,0507	0,0276	0,951	0,981	0,972	0,9680	0,0154				
12	1,2	1,149	1,13	1,1597	0,0362	1,097	1,101	1,138	1,1120	0,0226	1,078	1,147	1,146	1,1237	0,0396	1,01	1,053	1,087	1,0500	0,0386				
24	1,456	1,423	1,577	1,4853	0,0811	1,538	1,578	1,597	1,5710	0,0301	1,685	1,715	1,7	1,7000	0,0150	1,617	1,536	1,633	1,5953	0,0520				

1. nolu suş																					
	TSB (%0,25 fruktoz)					TSB (%0,5 fruktoz)					TSB (%1 fruktoz)					TSB (%5 fruktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	
0	0,244	0,185	0,17	0,1997	0,0391	0,321	0,345	0,324	0,3300	0,0131	0,218	0,312	0,318	0,2827	0,0561	0,173	0,325	0,31	0,2693	0,0838	
2	0,39	0,376	0,392	0,3860	0,0087	0,425	0,451	0,437	0,4377	0,0130	0,399	0,414	0,442	0,4183	0,0218	0,369	0,447	0,448	0,4213	0,0453	
4	0,717	0,696	0,77	0,7277	0,0381	0,72	0,743	0,763	0,7420	0,0215	0,652	0,675	0,742	0,6897	0,0468	0,702	0,719	0,729	0,7167	0,0137	
6	0,98	1,036	0,98	0,9987	0,0323	0,938	0,972	0,979	0,9630	0,0219	0,931	0,948	0,999	0,9593	0,0354	0,987	1,003	0,99	0,9933	0,0085	
8	1,102	1,039	1,001	1,0473	0,0510	1,078	1,111	1,12	1,1030	0,0221	1,084	1,085	1,169	1,1127	0,0488	1,185	1,199	1,204	1,1960	0,0098	
10	1,19	1,139	1,038	1,1223	0,0774	1,158	1,172	1,191	1,1737	0,0166	1,248	1,209	1,254	1,2370	0,0244	1,365	1,398	1,412	1,3917	0,0241	
12	1,218	1,174	1,074	1,1553	0,0738	1,225	1,253	1,252	1,2433	0,0159	1,322	1,241	1,293	1,2853	0,0410	1,455	1,501	1,552	1,5027	0,0485	
24	1,289	1,33	1,235	1,2847	0,0476	1,398	1,207	1,363	1,3227	0,1017	1,435	1,482	1,534	1,4837	0,0495	1,701	1,566	1,676	1,6477	0,0718	

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

1. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 glikoz)					TSB (%0,5 glikoz)					TSB (%1 glikoz)					TSB (%5 glikoz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,304	0,155	0,154	0,2043	0,0863	0,156	0,231	0,226	0,2043	0,0419	0,324	0,259	0,107	0,2300	0,1114	0,13	0,147	0,16	0,1457	0,0150
2	0,303	0,187	0,239	0,2430	0,0581	0,276	0,279	0,338	0,2977	0,0350	0,386	0,334	0,288	0,3360	0,0490	0,338	0,283	0,278	0,2997	0,0333
4	0,451	0,395	0,578	0,4747	0,0938	0,431	0,656	0,655	0,5807	0,1296	0,735	0,638	0,59	0,6543	0,0739	0,633	0,615	0,604	0,6173	0,0146
6	0,795	0,656	0,738	0,7297	0,0699	0,687	0,747	0,931	0,7883	0,1271	0,913	0,946	0,858	0,9057	0,0445	0,955	0,873	0,856	0,8947	0,0529
8	0,916	0,86	0,884	0,8867	0,0281	1,069	1,034	1,1	1,0677	0,0330	1,208	1,163	1,137	1,1693	0,0359	1,155	1,102	1,084	1,1137	0,0369
10	1,018	0,911	0,932	0,9537	0,0567	1,241	1,176	1,209	1,2087	0,0325	1,314	1,236	1,256	1,2687	0,0405	1,267	1,228	1,228	1,2410	0,0225
12	1,062	0,968	0,983	1,0043	0,0505	1,418	1,427	1,269	1,3713	0,0887	1,418	1,294	1,343	1,3517	0,0625	1,362	1,296	1,307	1,3217	0,0354
24	1,25	1,098	1,203	1,1837	0,0778	1,288	1,333	1,144	1,2550	0,0987	1,364	1,214	1,272	1,2833	0,0756	1,454	1,417	1,428	1,4330	0,0190

1. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,192	0,213	0,215	0,2067	0,0127	0,201	0,263	0,224	0,2293	0,0313	0,139	0,167	0,154	0,1533	0,0140	0,165	0,162	0,162	0,1630	0,0017
2	0,289	0,339	0,293	0,3070	0,0278	0,344	0,367	0,293	0,3347	0,0379	0,274	0,284	0,278	0,2787	0,0050	0,287	0,364	0,279	0,3100	0,0469
4	0,659	0,654	0,695	0,6693	0,0224	0,73	0,699	0,573	0,6673	0,0832	0,711	0,676	0,604	0,6637	0,0546	0,545	0,6	0,555	0,5667	0,0293
6	0,887	0,932	0,777	0,8653	0,0797	0,987	0,927	0,819	0,9110	0,0851	0,941	0,998	0,975	0,9713	0,0287	0,848	0,907	0,86	0,8717	0,0312
8	1,093	1,096	1,015	1,0680	0,0459	1,178	1,216	1,177	1,1903	0,0222	1,24	1,29	1,331	1,2870	0,0456	1,187	1,19	1,141	1,1727	0,0275
10	1,235	1,284	1,136	1,2183	0,0754	1,287	1,32	1,357	1,3213	0,0350	1,357	1,334	1,387	1,3593	0,0266	1,372	1,324	1,252	1,3160	0,0604
12	1,222	1,318	1,208	1,2493	0,0599	1,352	1,372	1,433	1,3857	0,0422	1,468	1,342	1,429	1,4130	0,0645	1,49	1,418	1,314	1,4073	0,0885
24	1,254	1,317	1,167	1,2460	0,0753	1,206	1,236	1,325	1,2557	0,0619	1,32	1,395	1,353	1,3560	0,0376	1,655	1,538	1,494	1,5623	0,0832

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

2. nolu suş																								
	TSB (%0,25 laktoz)						TSB (%0,5 laktoz)						TSB (%1 laktoz)						TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,198	0,196	0,188	0,1940	0,0053	0,187	0,309	0,325	0,2737	0,0755	0,329	0,301	0,344	0,3247	0,0218	0,208	0,255	0,208	0,2237	0,0271				
2	0,411	0,389	0,399	0,3997	0,0110	0,394	0,451	0,417	0,4207	0,0287	0,403	0,498	0,481	0,4607	0,0507	0,419	0,424	0,321	0,3880	0,0581				
4	0,829	0,821	0,807	0,8190	0,0111	0,677	0,785	0,759	0,7403	0,0564	0,728	0,798	0,77	0,7653	0,0352	0,721	0,761	0,733	0,7383	0,0205				
6	0,887	0,828	0,91	0,8750	0,0423	0,87	0,929	0,892	0,8970	0,0298	0,888	0,938	0,909	0,9117	0,0251	0,95	0,963	0,908	0,9403	0,0287				
8	1,102	1,034	1,039	1,0583	0,0379	1,038	1,049	1,067	1,0513	0,0146	1,025	1,082	1,069	1,0587	0,0299	1,072	1,089	1,069	1,0767	0,0108				
10	1,136	1,165	1,159	1,1533	0,0153	1,191	1,191	1,191	1,1910	0,0000	1,224	1,279	1,253	1,2520	0,0275	1,168	1,224	1,17	1,1873	0,0318				
12	1,136	1,165	1,159	1,1533	0,0153	1,216	1,193	1,208	1,2057	0,0117	1,3	1,315	1,287	1,3007	0,0140	1,262	1,31	1,254	1,2753	0,0303				
24	1,175	1,193	1,154	1,1740	0,0195	1,164	1,193	1,18	1,1790	0,0145	1,307	1,493	1,436	1,4120	0,0953	1,531	1,436	1,568	1,5117	0,0681				

2. nolu suş																				
	TSB (%0,25 fruktoz)					TSB (%0,5 fruktoz)					TSB (%1 fruktoz)					TSB (%5 fruktoz)				
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,336	0,34	0,343	0,3397	0,0035	0,268	0,342	0,355	0,3217	0,0469	0,179	0,239	0,309	0,2423	0,0651	0,305	0,319	0,295	0,3063	0,0121
2	0,375	0,396	0,421	0,3973	0,0230	0,366	0,412	0,431	0,4030	0,0334	0,321	0,36	0,401	0,3607	0,0400	0,375	0,394	0,377	0,3820	0,0104
4	0,76	0,767	0,775	0,7673	0,0075	0,754	0,774	0,793	0,7737	0,0195	0,728	0,733	0,741	0,7340	0,0066	0,62	0,673	0,697	0,6633	0,0394
6	0,969	0,998	1,002	0,9897	0,0180	0,975	0,933	0,984	0,9640	0,0272	0,947	0,984	1,001	0,9773	0,0276	0,905	0,953	0,974	0,9440	0,0354
8	1,155	1,149	1,14	1,1480	0,0075	1,188	1,199	1,175	1,1873	0,0120	1,169	1,206	1,215	1,1967	0,0244	1,074	1,141	1,147	1,1207	0,0405
10	1,166	1,169	1,146	1,1603	0,0125	1,154	1,215	1,27	1,2130	0,0580	1,351	1,351	1,355	1,3523	0,0023	1,209	1,251	1,267	1,2423	0,0300
12	1,179	1,201	1,172	1,1840	0,0151	1,186	1,271	1,224	1,2270	0,0426	1,32	1,339	1,339	1,3327	0,0110	1,332	1,305	1,343	1,3267	0,0196
24	1,293	1,395	1,436	1,3747	0,0736	1,32	1,288	1,417	1,3417	0,0672	1,294	1,308	1,366	1,3227	0,0382	1,624	1,581	1,622	1,6090	0,0243

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

2. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 glikoz)					TSB (%0,5 glikoz)					TSB (%1 glikoz)					TSB (%5 glikoz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,28	0,223	0,201	0,2347	0,0408	0,139	0,177	0,271	0,1957	0,0680	0,193	0,33	0,322	0,2817	0,0769	0,284	0,178	0,301	0,2543	0,0667
2	0,508	0,282	0,242	0,3440	0,1434	0,336	0,231	0,328	0,2983	0,0584	0,323	0,389	0,383	0,3650	0,0365	0,34	0,276	0,348	0,3213	0,0395
4	0,804	0,7	0,537	0,6803	0,1346	0,7	0,55	0,665	0,6383	0,0785	0,764	0,719	0,645	0,7093	0,0601	0,621	0,64	0,648	0,6363	0,0139
6	0,914	0,779	0,81	0,8343	0,0707	0,92	0,771	0,883	0,8580	0,0776	1,2	0,965	0,962	1,0423	0,1366	0,889	0,97	0,937	0,9320	0,0407
8	1,045	0,935	0,887	0,9557	0,0810	1,092	1,076	1,101	1,0897	0,0127	1,266	1,195	1,211	1,2240	0,0372	1,089	1,148	1,119	1,1187	0,0295
10	1,069	1,031	1,015	1,0383	0,0277	1,137	1,14	1,109	1,1287	0,0171	1,311	1,299	1,286	1,2987	0,0125	1,213	1,234	1,229	1,2253	0,0110
12	1,199	1,044	0,999	1,0807	0,1049	1,148	1,182	1,167	1,1657	0,0170	1,3	1,316	1,304	1,3067	0,0083	1,294	1,284	1,269	1,2823	0,0126
24	1,083	1,374	0,983	1,1467	0,2031	1,095	1,088	1,033	1,0720	0,0340	1,274	1,227	1,246	1,2490	0,0236	1,57	1,549	1,576	1,5650	0,0142

2. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,173	0,199	0,169	0,1803	0,0163	0,153	0,188	0,16	0,1670	0,0185	0,144	0,162	0,184	0,1633	0,0200	0,15	0,156	0,167	0,1577	0,0086
2	0,334	0,276	0,23	0,2800	0,0521	0,228	0,318	0,238	0,2613	0,0493	0,282	0,248	0,294	0,2747	0,0239	0,273	0,344	0,272	0,2963	0,0413
4	0,757	0,706	0,483	0,6487	0,1457	0,362	0,72	0,456	0,5127	0,1856	0,755	0,677	0,609	0,6803	0,0731	0,566	0,62	0,557	0,5810	0,0341
6	0,985	0,925	0,765	0,8917	0,1137	0,661	0,854	0,716	0,7437	0,0994	1,006	0,954	0,99	0,9833	0,0266	0,872	0,9	0,859	0,8770	0,0210
8	1,099	1,1	1,035	1,0780	0,0372	0,839	1,177	0,987	1,0010	0,1694	1,289	1,216	1,291	1,2653	0,0427	1,171	1,123	1,091	1,1283	0,0403
10	1,149	1,17	1,161	1,1600	0,0105	1,162	1,257	1,133	1,1840	0,0649	1,358	1,351	1,359	1,3560	0,0044	1,245	1,197	1,22	1,2207	0,0240
12	1,176	1,169	1,244	1,1963	0,0414	1,198	1,302	1,174	1,2247	0,0680	1,365	1,319	1,344	1,3427	0,0230	1,289	1,275	1,231	1,2650	0,0303
24	1,038	1,043	1,08	1,0537	0,0229	1,171	1,187	1,122	1,1600	0,0339	1,346	1,346	1,4	1,3640	0,0312	1,64	1,579	1,549	1,5893	0,0464

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

3. nolu suş																					
	TSB (%0,25 laktoz)					TSB (%0,5 laktoz)					TSB (%1 laktoz)					TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	
0	0,151	0,236	0,203	0,1967	0,0429	0,183	0,148	0,224	0,1850	0,0380	0,292	0,291	0,31	0,2977	0,0107	0,302	0,185	0,249	0,2453	0,0586	
2	0,411	0,397	0,397	0,4017	0,0081	0,396	0,37	0,404	0,3900	0,0178	0,417	0,432	0,44	0,4297	0,0117	0,404	0,411	0,315	0,3767	0,0535	
4	0,806	0,8	0,785	0,7970	0,0108	0,76	0,751	0,75	0,7537	0,0055	0,764	0,738	0,735	0,7457	0,0159	0,699	0,706	0,744	0,7163	0,0242	
6	0,882	0,868	0,876	0,8753	0,0070	0,905	0,876	0,885	0,8887	0,0148	0,873	0,888	0,89	0,8837	0,0093	0,861	0,881	0,896	0,8793	0,0176	
8	1,056	1,051	1,047	1,0513	0,0045	1,127	1,075	1,075	1,0923	0,0300	1,074	1,048	1,052	1,0580	0,0140	1,015	1,026	1,033	1,0247	0,0091	
10	1,103	1,106	1,086	1,0983	0,0108	1,171	1,182	1,139	1,1640	0,0223	1,287	1,28	1,278	1,2817	0,0047	1,172	1,21	1,164	1,1820	0,0246	
12	1,122	1,104	1,077	1,1010	0,0226	1,201	1,188	1,164	1,1843	0,0188	1,322	1,327	1,331	1,3267	0,0045	1,301	1,322	1,341	1,3213	0,0200	
24	1,145	1,005	1,052	1,0673	0,0712	1,136	1,143	1,17	1,1497	0,0180	1,235	1,291	1,155	1,2270	0,0684	1,498	1,444	1,614	1,5187	0,0869	

3. nolu suş																					
	TSB (%0,25 fruktoz)					TSB (%0,5 fruktoz)					TSB (%1 fruktoz)					TSB (%5 fruktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	
0	0,337	0,234	0,344	0,3050	0,0616	0,334	0,211	0,333	0,2927	0,0707	0,318	0,316	0,331	0,3217	0,0081	0,294	0,337	0,287	0,3060	0,0271	
2	0,376	0,33	0,423	0,3763	0,0465	0,415	0,368	0,401	0,3947	0,0241	0,414	0,391	0,431	0,4120	0,0201	0,37	0,385	0,396	0,3837	0,0131	
4	0,72	0,725	0,776	0,7403	0,0310	0,784	0,766	0,765	0,7717	0,0107	0,772	0,759	0,765	0,7653	0,0065	0,628	0,694	0,673	0,6650	0,0337	
6	0,9	0,891	0,972	0,9210	0,0444	0,93	0,91	0,922	0,9207	0,0101	0,961	0,96	0,953	0,9580	0,0044	0,926	0,925	1,008	0,9530	0,0476	
8	1,089	1,084	1,092	1,0883	0,0040	1,195	1,176	1,196	1,1890	0,0113	1,096	1,206	1,181	1,1610	0,0577	1,133	1,118	1,153	1,1347	0,0176	
10	1,114	1,085	1,119	1,1060	0,0184	1,237	1,221	1,225	1,2277	0,0083	1,356	1,333	1,341	1,3433	0,0117	1,33	1,239	1,306	1,2917	0,0472	
12	1,112	1,121	1,086	1,1063	0,0182	1,211	1,188	1,209	1,2027	0,0127	1,336	1,34	1,354	1,3433	0,0095	1,354	1,334	1,389	1,3590	0,0278	
24	1,074	1,044	1,194	1,1040	0,0794	1,328	1,346	1,388	1,3540	0,0308	1,37	1,518	1,373	1,4203	0,0846	1,583	1,574	1,604	1,5870	0,0154	

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

3. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 glikoz)					TSB (%0,5 glikoz)					TSB (%1 glikoz)					TSB (%5 glikoz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0		0,187	0,155	0,1710	0,0226	0,209	0,199	0,179	0,1957	0,0153	0,163	0,134	0,192	0,1630	0,0290	0,162	0,316	0,154	0,2107	0,0913
2		0,256	0,244	0,2500	0,0085	0,315	0,283	0,256	0,2847	0,0295	0,306	0,288	0,307	0,3003	0,0107	0,277	0,362	0,291	0,3100	0,0456
4		0,68	0,62	0,6500	0,0424	0,673	0,628	0,607	0,6360	0,0337	0,739	0,749	0,722	0,7367	0,0137	0,572	0,655	0,624	0,6170	0,0419
6		0,769	0,772	0,7705	0,0021	0,853	0,92	0,892	0,8883	0,0337	0,949	0,972	0,975	0,9653	0,0142	0,951	0,969	0,987	0,9690	0,0180
8		0,831	0,824	0,8275	0,0049	1,121	1,097	1,067	1,0950	0,0271	1,258	1,23	1,226	1,2380	0,0174	1,125	1,216	1,163	1,1680	0,0457
10		0,858	0,841	0,8495	0,0120	1,123	1,118	1,123	1,1213	0,0029	1,288	1,299	1,279	1,2887	0,0100	1,259	1,28	1,262	1,2670	0,0114
12		0,876	0,855	0,8655	0,0148	1,139	1,145	1,147	1,1437	0,0042	1,288	1,292	1,277	1,2857	0,0078	1,298	1,334	1,308	1,3133	0,0186
24		0,995	0,912	0,9535	0,0587	1,181	1,174	1,132	1,1623	0,0265	1,27	1,318	1,301	1,2963	0,0243	1,467	1,544	1,517	1,5093	0,0391

3. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,182	0,186	0,181	0,1830	0,0026	0,156	0,244	0,322	0,2407	0,0831	0,211	0,159	0,133	0,1677	0,0397	0,231	0,188	0,206	0,2083	0,0216
2	0,332	0,248	0,294	0,2913	0,0421	0,258	0,362	0,371	0,3303	0,0628	0,312	0,264	0,281	0,2857	0,0243	0,306	0,34	0,307	0,3177	0,0193
4	0,69	0,726	0,737	0,7177	0,0246	0,702	0,69	0,677	0,6897	0,0125	0,728	0,716	0,702	0,7153	0,0130	0,53	0,579	0,581	0,5633	0,0289
6	0,893	0,816	0,846	0,8517	0,0388	0,816	0,873	0,787	0,8253	0,0438	0,968	0,979	0,945	0,9640	0,0173	0,995	0,913	0,869	0,9257	0,0639
8	1,015	1,015	1,001	1,0103	0,0081	1,127	1,14	1,132	1,1330	0,0066	1,3	1,312	1,282	1,2980	0,0151	1,192	1,191	1,159	1,1807	0,0188
10	1,054	1,041	1,042	1,0457	0,0072	1,146	1,151	1,163	1,1533	0,0087	1,369	1,359	1,341	1,3563	0,0142	1,274	1,264	1,232	1,2567	0,0219
12	1,049	1,05	1,064	1,0543	0,0084	1,184	1,19	1,074	1,1493	0,0653	1,364	1,375	1,34	1,3597	0,0179	1,304	1,306	1,284	1,2980	0,0122
24	1,088	1,105	1,099	1,0973	0,0086	1,205	1,231	1,233	1,2230	0,0156	1,477	1,371	1,356	1,4013	0,0660	1,564	1,483	1,456	1,5010	0,0562

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

4. nolu suş																								
	TSB (%0,25 laktoz)						TSB (%0,5 laktoz)						TSB (%1 laktoz)						TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,216	0,225	0,2	0,2137	0,0127	0,32	0,272	0,304	0,2987	0,0244	0,271	0,291	0,228	0,2633	0,0322	0,247	0,205	0,336	0,2627	0,0669				
2	0,393	0,368	0,383	0,3813	0,0126	0,431	0,385	0,39	0,4020	0,0252	0,391	0,403	0,402	0,3987	0,0067	0,388	0,402	0,367	0,3857	0,0176				
4	0,801	0,763	0,745	0,7697	0,0286	0,74	0,649	0,748	0,7123	0,0550	0,721	0,735	0,737	0,7310	0,0087	0,667	0,699	0,701	0,6890	0,0191				
6	0,86	0,749	0,812	0,8070	0,0557	0,861	0,786	0,795	0,8140	0,0410	0,821	0,815	0,843	0,8263	0,0147	0,792	0,766	0,783	0,7803	0,0132				
8	0,944	0,853	0,896	0,8977	0,0455	0,938	0,869	0,887	0,8980	0,0358	0,905	0,928	0,919	0,9173	0,0116	0,88	0,858	0,875	0,8710	0,0115				
10	1,012	0,972	0,951	0,9783	0,0310	0,999	0,934	0,955	0,9627	0,0332	0,971	1,003	0,987	0,9870	0,0160	0,962	0,943	0,98	0,9617	0,0185				
12	1,058	1,005	0,993	1,0187	0,0346	1,05	1,096	1,013	1,0530	0,0416	1,028	1,067	1,052	1,0490	0,0197	1,03	1,008	0,999	1,0123	0,0159				
24	1,069	1,01	1,023	1,0340	0,0310	1,126	1,141	1,118	1,1283	0,0117	1,156	1,162	1,136	1,1513	0,0136	1,313	1,237	1,398	1,3160	0,0805				

4. nolu suş																				
	TSB (%0,25 fruktoz)					TSB (%0,5 fruktoz)					TSB (%1 fruktoz)					TSB (%5 fruktoz)				
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,335	0,327	0,338	0,3333	0,0057	0,322	0,331	0,314	0,3223	0,0085	0,314	0,287	0,333	0,3113	0,0231	0,32	0,278	0,328	0,3087	0,0269
2	0,387	0,377	0,394	0,3860	0,0085	0,366	0,416	0,374	0,3853	0,0269	0,359	0,353	0,39	0,3673	0,0199	0,368	0,352	0,38	0,3667	0,0140
4	0,766	0,725	0,777	0,7560	0,0274	0,772	0,747	0,728	0,7490	0,0221	0,714	0,707	0,727	0,7160	0,0101	0,689	0,554	0,639	0,6273	0,0683
6	0,878	0,901	0,876	0,8850	0,0139	0,864	0,912	0,874	0,8833	0,0253	0,862	0,864	0,858	0,8613	0,0031	0,904	0,896	0,93	0,9100	0,0178
8	1,046	1,03	1,022	1,0327	0,0122	1,151	1,171	1,165	1,1623	0,0103	1,165	1,192	1,189	1,1820	0,0148	1,145	1,161	1,134	1,1467	0,0136
10	1,053	1,048	1,038	1,0463	0,0076	1,161	1,185	1,168	1,1713	0,0123	1,368	1,387	1,378	1,3777	0,0095	1,344	1,327	1,293	1,3213	0,0260
12	1,089	1,087	1,097	1,0910	0,0053	1,176	1,202	1,184	1,1873	0,0133	1,377	1,413	1,405	1,3983	0,0189	1,434	1,407	1,38	1,4070	0,0270
24	1,271	1,112	1,017	1,1333	0,1283	1,239	1,358	1,378	1,3250	0,0751	1,392	1,46	1,42	1,4240	0,0342	1,532	1,631	1,68	1,6143	0,0754

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

4. nolu suş																								
	TSB (%0,25 glikoz)						TSB (%0,5 glikoz)						TSB (%1 glikoz)						TSB (%5 glikoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,34	0,336	0,342	0,3393	0,0031	0,144	0,175	0,315	0,2113	0,0911	0,154	0,168	0,273	0,1983	0,0650	0,177	0,174	0,19	0,1803	0,0085				
2	0,379	0,372	0,401	0,3840	0,0151	0,286	0,268	0,38	0,3113	0,0601	0,304	0,277	0,322	0,3010	0,0226	0,269	0,242	0,261	0,2573	0,0139				
4	0,738	0,673	0,709	0,7067	0,0326	0,669	0,636	0,703	0,6693	0,0335	0,747	0,677	0,638	0,6873	0,0552	0,556	0,607	0,617	0,5933	0,0327				
6	0,802	0,783	0,811	0,7987	0,0143	0,795	0,779	0,869	0,8143	0,0480	0,87	0,852	0,879	0,8670	0,0137	0,848	0,88	0,903	0,8770	0,0276				
8	0,895	0,871	0,944	0,9033	0,0372	1,027	1,023	1,045	1,0317	0,0117	1,19	1,104	1,135	1,1430	0,0436	1,099	1,089	1,169	1,1190	0,0436				
10	0,945	0,928	0,944	0,9390	0,0095	1,021	1,031	1,092	1,0480	0,0384	1,213	1,196	1,226	1,2117	0,0150	1,235	1,19	1,304	1,2430	0,0574				
12	0,966	0,956	0,985	0,9690	0,0147	1,048	1,062	1,12	1,0767	0,0382	1,223	1,228	1,267	1,2393	0,0241	1,303	1,289	1,369	1,3203	0,0427				
24	0,864	1,11	0,877	0,9503	0,1384	1,015	1,012	1,016	1,0143	0,0021	1,286	1,277	1,329	1,2973	0,0278	1,434	1,434	1,419	1,4290	0,0087				

4. nolu suş																				
	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,199	0,218	0,162	0,1930	0,0285	0,23	0,2	0,234	0,2213	0,0186	0,181	0,157	0,143	0,1603	0,0192	0,182	0,168	0,153	0,1677	0,0145
2	0,311	0,28	0,291	0,2940	0,0157	0,303	0,328	0,335	0,3220	0,0168	0,282	0,285	0,248	0,2717	0,0206	0,284	0,326	0,267	0,2923	0,0304
4	0,711	0,686	0,699	0,6987	0,0125	0,686	0,713	0,658	0,6857	0,0275	0,73	0,719	0,634	0,6943	0,0525	0,579	0,568	0,572	0,5730	0,0056
6	0,88	0,864	0,862	0,8687	0,0099	0,822	0,87	0,837	0,8430	0,0246	0,891	0,919	0,836	0,8820	0,0422	0,831	0,872	0,87	0,8577	0,0231
8	0,965	1,02	0,973	0,9860	0,0297	1,122	1,141	1,145	1,1360	0,0123	1,115	1,199	1,193	1,1690	0,0469	1,24	1,249	1,226	1,2383	0,0116
10	0,976	1,029	0,967	0,9907	0,0335	1,177	1,167	1,136	1,1600	0,0214	1,188	1,199	1,207	1,1980	0,0095	1,384	1,391	1,38	1,3850	0,0056
12	1,001	1,054	1,001	1,0187	0,0306	1,187	1,183	1,14	1,1700	0,0261	1,321	1,334	1,288	1,3143	0,0237	1,442	1,47	1,429	1,4470	0,0210
24	0,941	0,94	0,923	0,9347	0,0101	1,124	1,111	1,044	1,0930	0,0429	1,324	1,344	1,314	1,3273	0,0153	1,49	1,52	1,507	1,5057	0,0150

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

5. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 laktoz)					TSB (%0,5 laktoz)					TSB (%1 laktoz)					TSB (%5 laktoz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,251	0,317	0,334	0,3007	0,0438	0,229	0,246	0,198	0,2243	0,0243	0,289	0,252	0,232	0,2577	0,0289	0,201	0,186	0,243	0,2100	0,0295
2	0,427	0,42	0,436	0,4277	0,0080	0,397	0,438	0,451	0,4287	0,0282	0,435	0,431	0,446	0,4373	0,0078	0,418	0,438	0,325	0,3937	0,0603
4	0,789	0,75	0,746	0,7617	0,0238	0,73	0,748	0,78	0,7527	0,0253	0,699	0,709	0,718	0,7087	0,0095	0,631	0,651	0,693	0,6583	0,0316
6	0,821	0,858	0,818	0,8323	0,0223	0,835	0,823	0,85	0,8360	0,0135	0,846	0,837	0,837	0,8400	0,0052	0,852	0,845	0,827	0,8413	0,0129
8	1,041	1,041	0,99	1,0240	0,0294	1,047	0,98	0,997	1,0080	0,0348	0,971	1	1,024	0,9983	0,0265	0,932	0,963	0,964	0,9530	0,0182
10	1,093	1,01	0,991	1,0313	0,0542	1,144	1,126	1,112	1,1273	0,0160	1,105	1,157	1,139	1,1337	0,0264	1,095	1,099	1,155	1,1163	0,0335
12	1,084	1,048	0,998	1,0433	0,0432	1,137	1,104	1,129	1,1233	0,0172	1,128	1,151	1,227	1,1687	0,0518	1,246	1,261	1,24	1,2490	0,0108
24	1,055	1,026	1,034	1,0383	0,0150	1,186	1,129	1,155	1,1567	0,0285	1,217	1,128	1,236	1,1937	0,0577	1,4	1,384	1,492	1,4253	0,0583

5. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 fruktoz)					TSB (%0,5 fruktoz)					TSB (%1 fruktoz)					TSB (%5 fruktoz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,238	0,184	0,227	0,2163	0,0285	0,327	0,333	0,309	0,3230	0,0125	0,205	0,346	0,294	0,2817	0,0713	0,192	0,292	0,189	0,2243	0,0586
2	0,396	0,313	0,367	0,3587	0,0421	0,39	0,423	0,414	0,4090	0,0171	0,315	0,411	0,396	0,3740	0,0516	0,35	0,362	0,389	0,3670	0,0200
4	0,712	0,657	0,707	0,6920	0,0304	0,706	0,709	0,664	0,6930	0,0252	0,609	0,689	0,665	0,6543	0,0411	0,704	0,699	0,658	0,6870	0,0252
6	0,984	0,903	0,891	0,9260	0,0506	0,862	0,841	0,841	0,8480	0,0121	0,809	0,868	0,914	0,8637	0,0526	0,973	0,898	0,908	0,9263	0,0407
8	1,129	1,09	1,045	1,0880	0,0420	1,112	1,128	1,104	1,1147	0,0122	0,999	1,018	1,028	1,0150	0,0147	1,148	1,122	1,078	1,1160	0,0354
10	1,118	1,05	1,07	1,0793	0,0349	1,183	1,08	1,047	1,1033	0,0709	1,162	1,176	1,174	1,1707	0,0076	1,304	1,267	1,289	1,2867	0,0186
12	1,1	1,084	1,077	1,0870	0,0118	1,14	1,148	1,087	1,1250	0,0332	1,167	1,161	1,21	1,1793	0,0267	1,323	1,32	1,32	1,3210	0,0017
24	1,171	1,151	1,168	1,1633	0,0108	1,136	1,236	1,238	1,2033	0,0583	1,361	1,338	1,336	1,3450	0,0139	1,473	1,401	1,359	1,4110	0,0577

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

5. nolu suş																								
	TSB (%0,25 glikoz)						TSB (%0,5 glikoz)						TSB (%1 glikoz)						TSB (%5 glikoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,155	0,153	0,177	0,1617	0,0133	0,197	0,334	0,216	0,2490	0,0742	0,14	0,154	0,296	0,1967	0,0863	0,183	0,19	0,241	0,2047	0,0317				
2	0,247	0,236	0,252	0,2450	0,0082	0,291	0,382	0,285	0,3193	0,0544	0,392	0,272	0,434	0,3660	0,0841	0,536	0,352	0,486	0,4580	0,0951				
4	0,574	0,61	0,557	0,5803	0,0271	0,576	0,658	0,605	0,6130	0,0416	0,686	0,576	0,636	0,6327	0,0551	0,665	0,698	0,706	0,6897	0,0217				
6	0,705	0,699	0,686	0,6967	0,0097	0,757	0,816	0,816	0,7963	0,0341	0,956	0,877	0,918	0,9170	0,0395	0,959	0,899	0,943	0,9337	0,0311				
8	0,923	0,858	0,855	0,8787	0,0384	1,051	1,067	1,082	1,0667	0,0155	1,161	1,069	1,129	1,1197	0,0467	1,145	1,121	1,109	1,1250	0,0183				
10	0,9	0,881	0,853	0,8780	0,0236	1,066	1,081	1,1	1,0823	0,0170	1,218	1,163	1,209	1,1967	0,0295	1,231	1,232	1,199	1,2207	0,0188				
12	0,93	0,894	0,894	0,9060	0,0208	1,082	1,105	1,121	1,1027	0,0196	1,22	1,129	1,206	1,1850	0,0490	1,201	1,183	1,179	1,1877	0,0117				
24	0,885	0,868	0,835	0,8627	0,0254	1,051	1,053	1,092	1,0653	0,0231	1,367	1,312	1,429	1,3693	0,0585	1,452	1,489	1,5	1,4803	0,0251				

5. nolu suş																				
	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,191	0,191	0,184	0,1887	0,0040	0,274	0,306	0,316	0,2987	0,0219	0,161	0,187	0,159	0,1690	0,0156	0,194	0,239	0,158	0,1970	0,0406
2	0,302	0,257	0,285	0,2813	0,0227	0,398	0,374	0,384	0,3853	0,0121	0,345	0,327	0,365	0,3457	0,0190	0,405	0,465	0,335	0,4017	0,0651
4	0,587	0,616	0,645	0,6160	0,0290	0,666	0,616	0,593	0,6250	0,0373	0,565	0,558	0,67	0,5977	0,0627	0,676	0,66	0,579	0,6383	0,0520
6	0,717	0,715	0,769	0,7337	0,0306	0,898	0,784	0,762	0,8147	0,0730	0,89	0,871	0,797	0,8527	0,0491	0,895	0,855	0,81	0,8533	0,0425
8	0,976	0,948	1,001	0,9750	0,0265	1,121	1,092	1,074	1,0957	0,0237	1,052	1,041	1,029	1,0407	0,0115	1,136	1,105	1,094	1,1117	0,0218
10	0,983	0,987	1,017	0,9957	0,0186	1,118	1,127	1,099	1,1147	0,0143	1,164	1,155	1,148	1,1557	0,0080	1,271	1,23	1,199	1,2333	0,0361
12	0,987	0,985	1,026	0,9993	0,0231	1,139	1,15	1,119	1,1360	0,0157	1,117	1,232	1,189	1,1793	0,0581	1,29	1,276	1,253	1,2730	0,0187
24	1,004	1,024	1,06	1,0293	0,0284	1,124	1,11	1,168	1,1340	0,0303	1,239	1,214	1,319	1,2573	0,0548	1,399	1,463	1,414	1,4253	0,0335

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

6. nolu suş																								
	TSB (%0,25 laktoz)						TSB (%0,5 laktoz)						TSB (%1 laktoz)						TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,269	0,267	0,307	0,2810	0,0225	0,159	0,223	0,273	0,2183	0,0571	0,331	0,297	0,263	0,2970	0,0340	0,204	0,178	0,346	0,2427	0,0904				
2	0,417	0,418	0,438	0,4243	0,0118	0,415	0,457	0,459	0,4437	0,0248	0,438	0,411	0,426	0,4250	0,0135	0,446	0,448	0,441	0,4450	0,0036				
4	0,673	0,683	0,679	0,6783	0,0050	0,758	0,801	0,817	0,7920	0,0305	0,84	0,757	0,782	0,7930	0,0426	0,758	0,756	0,748	0,7540	0,0053				
6	0,677	0,721	0,793	0,7303	0,0586	0,771	0,856	0,866	0,8310	0,0522	0,841	0,783	0,835	0,8197	0,0319	0,83	0,83	0,827	0,8290	0,0017				
8	0,838	0,796	0,813	0,8157	0,0211	0,81	0,893	0,903	0,8687	0,0511	0,895	0,841	0,866	0,8673	0,0270	0,876	0,877	0,884	0,8790	0,0044				
10	0,878	0,844	0,854	0,8587	0,0175	0,841	0,921	0,936	0,8993	0,0511	0,933	0,876	0,907	0,9053	0,0285	0,901	0,907	0,901	0,9030	0,0035				
12	0,92	0,882	0,904	0,9020	0,0191	0,86	0,95	0,959	0,9230	0,0547	0,972	0,905	0,933	0,9367	0,0337	0,944	0,948	0,97	0,9540	0,0140				
24	1,023	1,093	1,066	1,0607	0,0353	1,117	1,26	1,232	1,2030	0,0758	1,301	1,213	1,296	1,2700	0,0494	1,388	1,36	1,484	1,4107	0,0650				

6. nolu suş																								
	TSB (%0,25 fruktoz)						TSB (%0,5 fruktoz)						TSB (%1 fruktoz)						TSB (%5 fruktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,264	0,21	0,298	0,2573	0,0444	0,232	0,326	0,264	0,2740	0,0478	0,169	0,294	0,337	0,2667	0,0873	0,278	0,353	0,321	0,3173	0,0376				
2	0,407	0,322	0,464	0,3977	0,0715	0,394	0,413	0,467	0,4247	0,0379	0,336	0,41	0,45	0,3987	0,0578	0,379	0,417	0,439	0,4117	0,0304				
4	0,785	0,747	0,771	0,7677	0,0192	0,725	0,76	0,773	0,7527	0,0248	0,736	0,731	0,756	0,7410	0,0132	0,664	0,72	0,747	0,7103	0,0423				
6	1,055	0,945	1,003	1,0010	0,0550	1,017	0,983	1,064	1,0213	0,0407	1,035	1,05	1,052	1,0457	0,0093	0,968	1,028	1,031	1,0090	0,0355				
8	1,065	1,022	1,013	1,0333	0,0278	1,121	1,099	1,132	1,1173	0,0168	1,175	1,207	1,236	1,2060	0,0305	1,123	1,176	1,179	1,1593	0,0315				
10	1,074	1,028	1,032	1,0447	0,0255	1,146	1,12	1,148	1,1380	0,0156	1,26	1,284	1,297	1,2803	0,0188	1,249	1,294	1,291	1,2780	0,0252				
12	1,089	1,044	1,039	1,0573	0,0275	1,157	1,134	1,161	1,1507	0,0146	1,278	1,276	1,305	1,2863	0,0162	1,323	1,365	1,343	1,3437	0,0210				
24	1,214	1,151	1,187	1,1840	0,0316	1,399	1,349	1,089	1,2790	0,1664	1,276	1,314	1,509	1,3663	0,1250	1,5801	1,493	1,492	1,5217	0,0506				

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

6. nolu suş																								
	TSB (%0,25 glikoz)						TSB (%0,5 glikoz)						TSB (%1 glikoz)						TSB (%5 glikoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,201	0,324	0,312	0,2790	0,0678	0,181	0,142	0,186	0,1697	0,0241	0,248	0,153	0,143	0,1813	0,0580	0,279	0,24	0,119	0,2127	0,0834				
2	0,259	0,358	0,356	0,3243	0,0566	0,275	0,233	0,254	0,2540	0,0210	0,304	0,284	0,298	0,2953	0,0103	0,361	0,326	0,264	0,3170	0,0491				
4	0,686	0,701	0,709	0,6987	0,0117	0,592	0,584	0,609	0,5950	0,0128	0,668	0,668	0,642	0,6593	0,0150	0,671	0,633	0,627	0,6437	0,0239				
6	0,721	0,794	0,792	0,7690	0,0416	0,981	0,95	0,957	0,9627	0,0163	0,907	1,11	0,954	0,9903	0,1063	0,929	0,939	0,952	0,9400	0,0115				
8	0,767	0,82	0,834	0,8070	0,0353	1,05	1,023	1,027	1,0333	0,0146	1,175	1,168	1,16	1,1677	0,0075	1,078	1,126	1,191	1,1317	0,0567				
10	0,79	0,838	0,884	0,8373	0,0470	1,062	1,049	1,046	1,0523	0,0085	1,192	1,189	1,135	1,1720	0,0321	1,149	1,193	1,333	1,2250	0,0961				
12	0,821	0,864	0,913	0,8660	0,0460	1,081	1,066	1,061	1,0693	0,0104	1,197	1,187	1,148	1,1773	0,0259	1,2	1,231	1,386	1,2723	0,0997				
24	0,966	0,848	0,852	0,8887	0,0670	1,15	1,134	1,061	1,1150	0,0474	1,202	1,204	1,155	1,1870	0,0277	1,383	1,486	1,525	1,4647	0,0734				

6. nolu suş																				
	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,183	0,187	0,2	0,1900	0,0089	0,172	0,201	0,172	0,1817	0,0167	0,218	0,214	0,14	0,1907	0,0439	0,161	0,19	0,202	0,1843	0,0211
2	0,284	0,249	0,271	0,2680	0,0177	0,251	0,322	0,26	0,2777	0,0387	0,294	0,286	0,284	0,2880	0,0053	0,299	0,305	0,325	0,3097	0,0136
4	0,739	0,678	0,725	0,7140	0,0320	0,702	0,723	0,63	0,6850	0,0488	0,759	0,656	0,635	0,6833	0,0664	0,588	0,576	0,641	0,6017	0,0346
6	0,937	0,859	0,934	0,9100	0,0442	0,933	0,983	0,919	0,9450	0,0336	0,955	0,858	0,912	0,9083	0,0486	0,886	0,837	0,929	0,8840	0,0460
8	0,959	0,954	0,975	0,9627	0,0110	1,106	1,123	1,11	1,1130	0,0089	1,205	1,147	1,197	1,1830	0,0314	1,122	1,092	1,143	1,1190	0,0256
10	0,977	0,969	0,989	0,9783	0,0101	1,116	1,139	1,128	1,1277	0,0115	1,239	1,18	1,199	1,2060	0,0301	1,181	1,166	1,213	1,1867	0,0240
12	1,001	0,994	1,007	1,0007	0,0065	1,124	1,143	1,142	1,1363	0,0107	1,242	1,196	1,2	1,2127	0,0255	1,215	1,22	1,258	1,2310	0,0235
24	1,037	1,001	1,043	1,0270	0,0227	1,139	1,128	1,193	1,1533	0,0348	1,35	1,296	1,34	1,3287	0,0287	1,434	1,468	1,488	1,4633	0,0273

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

7. nolu suş																								
	TSB (%0,25 laktoz)						TSB (%0,5 laktoz)						TSB (%1 laktoz)						TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,207	0,206	0,237	0,2167	0,0176	0,208	0,241	0,324	0,2577	0,0598	0,254	0,332	0,182	0,2560	0,0750	0,293	0,241	0,222	0,2520	0,0368				
2	0,39	0,428	0,408	0,4087	0,0190	0,397	0,394	0,4	0,3970	0,0030	0,384	0,408	0,379	0,3903	0,0155	0,397	0,384	0,399	0,3933	0,0081				
4	0,714	0,738	0,737	0,7297	0,0136	0,675	0,702	0,672	0,6830	0,0165	0,767	0,741	0,72	0,7427	0,0235	0,724	0,692	0,724	0,7133	0,0185				
6	0,78	0,817	0,824	0,8070	0,0236	0,733	0,756	0,796	0,7617	0,0319	0,809	0,819	0,837	0,8217	0,0142	0,827	0,802	0,791	0,8067	0,0184				
8	0,776	0,817	0,807	0,8000	0,0214	0,777	0,783	0,889	0,8163	0,0630	0,873	0,853	0,835	0,8537	0,0190	0,844	0,787	0,771	0,8007	0,0384				
10	0,864	0,887	0,861	0,8707	0,0142	0,819	0,838	0,853	0,8367	0,0170	0,928	0,923	0,884	0,9117	0,0241	0,902	0,886	0,85	0,8793	0,0266				
12	0,911	0,933	0,9	0,9147	0,0168	0,863	0,9	0,982	0,9150	0,0609	0,958	0,981	0,914	0,9510	0,0340	0,952	0,932	0,931	0,9383	0,0118				
24	0,956	0,926	0,944	0,9420	0,0151	1,433	1,201	1,368	1,3340	0,1197	1,396	1,29	1,268	1,3180	0,0684	1,612	1,57	1,639	1,6070	0,0348				

7. nolu suş																								
	TSB (%0,25 fruktoz)						TSB (%0,5 fruktoz)						TSB (%1 fruktoz)						TSB (%5 fruktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,23	0,208	0,337	0,2583	0,0690	0,231	0,211	0,178	0,2067	0,0268	0,289	0,188	0,312	0,2630	0,0660	0,282	0,236	0,302	0,2733	0,0338				
2	0,351	0,353	0,4	0,3680	0,0277	0,333	0,372	0,377	0,3607	0,0241	0,418	0,39	0,402	0,4033	0,0140	0,353	0,357	0,385	0,3650	0,0174				
4	0,757	0,749	0,731	0,7457	0,0133	0,698	0,737	0,719	0,7180	0,0195	0,683	0,747	0,718	0,7160	0,0320	0,616	0,627	0,671	0,6380	0,0291				
6	0,906	0,834	0,862	0,8673	0,0363	0,861	0,877	0,857	0,8650	0,0106	0,915	0,95	0,917	0,9273	0,0197	0,902	0,923	0,975	0,9333	0,0376				
8	1,075	1,076	1,054	1,0683	0,0124	1,094	1,121	1,119	1,1113	0,0150	1,121	1,137	1,076	1,1113	0,0316	1,048	1,078	1,132	1,0860	0,0426				
10	1,043	1,047	1,059	1,0497	0,0083	1,175	1,183	1,164	1,1740	0,0095	1,222	1,19	1,196	1,2027	0,0170	1,242	1,259	1,242	1,2477	0,0098				
12	1,061	1,054	1,055	1,0567	0,0038	1,097	1,149	1,166	1,1373	0,0359	1,278	1,258	1,261	1,2657	0,0108	1,271	1,273	1,264	1,2693	0,0047				
24	1,152	1,099	1,149	1,1333	0,0298	1,26	1,196	1,24	1,2320	0,0327	1,403	1,38	1,393	1,3920	0,0115	1,736	1,742	1,699	1,7257	0,0233				

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

7. nolu suş																								
	TSB (%0,25 glikoz)						TSB (%0,5 glikoz)						TSB (%1 glikoz)						TSB (%5 glikoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,179	0,321	0,155	0,2183	0,0897	0,166	0,328	0,295	0,2630	0,0856	0,185	0,213	0,125	0,1743	0,0450	0,205	0,201	0,17	0,1920	0,0192				
2	0,249	0,361	0,224	0,2780	0,0730	0,265	0,358	0,337	0,3200	0,0488	0,292	0,29	0,248	0,2767	0,0248	0,274	0,273	0,266	0,2710	0,0044				
4	0,698	0,683	0,626	0,6690	0,0380	0,629	0,678	0,632	0,6463	0,0275	0,713	0,593	0,622	0,6427	0,0626	0,505	0,565	0,53	0,5333	0,0301				
6	0,791	0,804	0,765	0,7867	0,0199	0,818	0,843	0,873	0,8447	0,0275	0,89	0,869	0,922	0,8937	0,0267	0,897	0,919	0,884	0,9000	0,0177				
8	0,874	0,915	0,82	0,8697	0,0476	1,006	1,001	1,008	1,0050	0,0036	1,148	1,128	1,131	1,1357	0,0108	1,124	1,065	1,107	1,0987	0,0304				
10	0,874	0,995	0,825	0,8980	0,0875	1,03	1,042	1,039	1,0370	0,0062	1,231	1,177	1,184	1,1973	0,0294	1,249	1,192	1,16	1,2003	0,0451				
12	0,882	1,022	0,87	0,9247	0,0845	1,054	1,084	1,076	1,0713	0,0155	1,217	1,192	1,201	1,2033	0,0127	1,302	1,232	1,266	1,2667	0,0350				
24	0,986	0,996	0,94	0,9740	0,0299	1,152	1,195	1,154	1,1670	0,0243	1,269	1,302	1,236	1,2690	0,0330	1,511	1,491	1,558	1,5200	0,0344				

7. nolu suş																				
	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,183	0,197	0,123	0,1677	0,0393	0,172	0,316	0,182	0,2233	0,0804	0,231	0,152	0,136	0,1730	0,0509	0,186	0,162	0,154	0,1673	0,0167
2	0,28	0,269	0,247	0,2653	0,0168	0,256	0,351	0,271	0,2927	0,0511	0,299	0,256	0,243	0,2660	0,0293	0,274	0,302	0,265	0,2803	0,0193
4	0,72	0,661	0,661	0,6807	0,0341	0,672	0,671	0,608	0,6503	0,0367	0,724	0,607	0,607	0,6460	0,0675	0,537	0,575	0,527	0,5463	0,0253
6	0,875	0,821	0,844	0,8467	0,0271	0,845	0,805	0,784	0,8113	0,0310	0,91	0,845	0,885	0,8800	0,0328	0,878	0,86	0,855	0,8643	0,0121
8	1,007	0,965	0,974	0,9820	0,0221	1,074	1,072	1,092	1,0793	0,0110	1,065	1,029	1,075	1,0563	0,0242	1,231	1,057	1,122	1,1367	0,0879
10	1,022	0,966	0,979	0,9890	0,0293	1,074	1,077	1,063	1,0713	0,0074	1,099	1,168	1,148	1,1383	0,0355	1,285	1,222	1,208	1,2383	0,0410
12	1,037	0,993	0,994	1,0080	0,0251	1,104	1,103	1,085	1,0973	0,0107	1,156	1,27	1,204	1,2100	0,0572	1,304	1,255	1,226	1,2617	0,0394
24	1,005	1,002	1,001	1,0027	0,0021	1,12	1,097	1,103	1,1067	0,0119	1,4	1,43	1,385	1,4050	0,0229	1,599	1,602	1,546	1,5823	0,0315

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

8. nolu suş																								
	TSB (%0,25 laktoz)						TSB (%0,5 laktoz)						TSB (%1 laktoz)						TSB (%5 laktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,262	0,289	0,31	0,2870	0,0241	0,309	0,248	0,278	0,2783	0,0305	0,248	0,281	0,305	0,2780	0,0286	0,325	0,293	0,309	0,3090	0,0160				
2	0,391	0,382	0,414	0,3957	0,0165	0,367	0,365	0,361	0,3643	0,0031	0,385	0,4	0,367	0,3840	0,0165	0,379	0,386	0,382	0,3823	0,0035				
4	0,705	0,661	0,717	0,6943	0,0295	0,668	0,685	0,672	0,6750	0,0089	0,653	0,645	0,638	0,6453	0,0075	0,699	0,702	0,678	0,6930	0,0131				
6	0,747	0,759	0,723	0,7430	0,0183	0,767	0,774	0,761	0,7673	0,0065	0,7	0,776	0,77	0,7487	0,0423	0,812	0,788	0,785	0,7950	0,0148				
8	0,786	0,819	0,772	0,7923	0,0241	0,81	0,787	0,756	0,7843	0,0271	0,806	0,845	0,845	0,8320	0,0225	0,839	0,827	0,743	0,8030	0,0523				
10	0,884	0,893	0,845	0,8740	0,0255	0,905	0,867	0,873	0,8817	0,0204	0,868	0,897	0,876	0,8803	0,0150	0,974	0,934	0,869	0,9257	0,0530				
12	0,963	0,967	0,923	0,9510	0,0243	0,954	0,931	0,928	0,9377	0,0142	0,923	0,951	0,967	0,9470	0,0223	1,019	1,002	0,962	0,9943	0,0293				
24	1,265	1,218	1,306	1,2630	0,0440	1,536	1,436	1,368	1,4467	0,0845	1,406	1,446	1,414	1,4220	0,0212	1,674	1,722	1,677	1,6910	0,0269				

8. nolu suş																								
	TSB (%0,25 fruktoz)						TSB (%0,5 fruktoz)						TSB (%1 fruktoz)						TSB (%5 fruktoz)					
Saat	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD				
0	0,329	0,327	0,309	0,3217	0,0110	0,239	0,215	0,259	0,2377	0,0220	0,2	0,184	0,322	0,2353	0,0755	0,328	0,252	0,33	0,3033	0,0445				
2	0,371	0,365	0,358	0,3647	0,0065	0,338	0,34	0,332	0,3367	0,0042	0,301	0,319	0,375	0,3317	0,0386	0,358	0,334	0,362	0,3513	0,0151				
4	0,65	0,691	0,63	0,6570	0,0311	0,628	0,558	0,552	0,5793	0,0423	0,607	0,611	0,607	0,6083	0,0023	0,631	0,583	0,613	0,6090	0,0242				
6	0,802	0,787	0,811	0,8000	0,0121	0,769	0,743	0,711	0,7410	0,0291	0,756	0,77	0,755	0,7603	0,0084	0,749	0,769	0,807	0,7750	0,0295				
8	0,926	0,951	0,989	0,9553	0,0317	0,998	0,968	0,96	0,9753	0,0200	0,973	0,96	0,928	0,9537	0,0232	0,972	0,983	1,002	0,9857	0,0152				
10	0,996	0,957	0,96	0,9710	0,0217	1,003	1,029	1,017	1,0163	0,0130	1,125	1,101	1,114	1,1133	0,0120	1,191	1,203	1,199	1,1977	0,0061				
12	1,024	1,003	1,018	1,0150	0,0108	1,012	1,001	1,009	1,0073	0,0057	1,154	1,126	1,158	1,1460	0,0174	1,177	1,197	1,241	1,2050	0,0327				
24	1,158	1,139	1,213	1,1700	0,0384	1,338	1,287	1,456	1,3603	0,0867	1,384	1,402	1,454	1,4133	0,0364	1,5	1,434	1,552	1,4953	0,0591				

Çizelge A.8 (devam) : 8 suşun farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren besiyerlerindeki inkübasyonu esnasında yapılan 600 nm dalga boyundaki optik yoğunluk ölçümü sonuçları, ortalama değerleri ve standart sapma değerleri.

8. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 glikoz)					TSB (%0,5 glikoz)					TSB (%1 glikoz)					TSB (%5 glikoz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,16	0,261	0,152	0,1910	0,0608	0,152	0,301	0,323	0,2587	0,0930	0,146	0,243	0,314	0,2343	0,0843	0,326	0,25	0,195	0,2570	0,0658
2	0,223	0,318	0,243	0,2613	0,0501	0,265	0,344	0,358	0,3223	0,0501	0,272	0,32	0,357	0,3163	0,0426	0,377	0,277	0,277	0,3103	0,0577
4	0,599	0,664	0,645	0,6360	0,0334	0,613	0,659	0,676	0,6493	0,0326	0,547	0,545	0,645	0,5790	0,0572	0,605	0,607	0,541	0,5843	0,0375
6	0,697	0,678	0,71	0,6950	0,0161	0,801	0,851	0,778	0,8100	0,0373	0,676	0,648	0,651	0,6583	0,0154	0,847	0,713	0,795	0,7850	0,0676
8	0,813	0,8195	0,823	0,8185	0,0051	0,84	0,862	0,885	0,8623	0,0225	0,878	0,802	0,807	0,8290	0,0425	0,982	0,936	1,039	0,9857	0,0516
10	0,825	0,875	0,77	0,8233	0,0525	0,87	0,941	0,901	0,9040	0,0356	0,966	0,857	0,968	0,9303	0,0635	1,021	1,013	1,106	1,0467	0,0515
12	0,834	0,871	0,813	0,8393	0,0294	0,962	0,994	0,995	0,9837	0,0188	1,029	0,915	1,002	0,9820	0,0596	1,073	1,056	1,148	1,0923	0,0490
24	0,853	0,885	0,832	0,8567	0,0267	0,986	1,091	1,049	1,0420	0,0528	1,058	1,183	1,205	1,1487	0,0793	1,185	1,15	1,276	1,2037	0,0650

8. nolu suş																				
Saat	TSB (%0,25 sakkaroz)					TSB (%0,5 sakkaroz)					TSB (%1 sakkaroz)					TSB (%5 sakkaroz)				
	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD	1. sonuç	2. sonuç	3. sonuç	Ort	SD
0	0,25	0,175	0,128	0,1843	0,0615	0,331	0,156	0,154	0,2137	0,1016	0,144	0,172	0,16	0,1587	0,0140	0,14	0,222	0,225	0,1957	0,0482
2	0,319	0,256	0,264	0,2797	0,0343	0,378	0,305	0,253	0,3120	0,0628	0,256	0,324	0,261	0,2803	0,0379	0,242	0,274	0,311	0,2757	0,0345
4	0,704	0,619	0,67	0,6643	0,0428	0,674	0,644	0,579	0,6323	0,0486	0,518	0,593	0,495	0,5353	0,0512	0,545	0,583	0,615	0,5810	0,0350
6	0,688	0,725	0,742	0,7183	0,0276	0,744	0,754	0,749	0,7490	0,0050	0,584	0,649	0,634	0,6223	0,0340	0,664	0,677	0,712	0,6843	0,0248
8	0,952	0,933	0,929	0,9380	0,0123	0,967	0,955	1,068	0,9967	0,0621	0,924	0,895	0,874	0,8977	0,0251	0,976	0,947	0,997	0,9733	0,0251
10	0,973	0,925	0,924	0,9407	0,0280	1,025	1,16	0,868	1,0177	0,1461	1,047	1,049	0,989	1,0283	0,0341	1,171	1,155	1,18	1,1687	0,0127
12	0,987	0,925	0,945	0,9523	0,0316	1,083	1,02	1,063	1,0553	0,0322	1,085	1,072	1,061	1,0727	0,0120	1,193	1,182	1,195	1,1900	0,0070
24	1,009	0,807	0,817	0,8777	0,1138	1,102	1,037	1,08	1,0730	0,0331	1,301	1,288	1,175	1,2547	0,0693	1,324	1,353	1,319	1,3320	0,0184

Çizelge A.9 : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.

1 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,07028	0,02343	9,00	0,006
Hata	8	0,02082	0,00260		
Toplam	11	0,09110			

1 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,24844	0,08281	16,38	0,001
Hata	8	0,04044	0,00505		
Toplam	11	0,28888			

1 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,09905	0,03301	6,03	0,019
Hata	8	0,04377	0,00547		
Toplam	11	0,14282			

1 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,19420	0,06473	14,51	0,001
Hata	8	0,03568	0,00446		
Toplam	11	0,22989			

2 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,25918	0,08639	24,15	0,00
Hata	8	0,02861	0,00357		
Toplam	11	0,28780			

2 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,15939	0,05313	17,74	0,001
Hata	8	0,02396	0,00299		
Toplam	11	0,18335			

Çizelge A.9 (devam) : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.

2 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,42396	0,14132	13,09	0,002
Hata	8	0,08635	0,01079		
Toplam	11	0,51031			

2 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,50345	0,16782	139,97	0,000
Hata	8	0,00959	0,00120		
Toplam	11	0,51304			

3 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,34739	0,11580	26,29	0,00
Hata	8	0,03523	0,00440		
Toplam	11	0,38262			

3 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,36174	0,12058	32,94	0,000
Hata	8	0,02928	0,00366		
Toplam	11	0,39102			

3 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,49037	0,16346	143,91	0,000
Hata	8	0,00909	0,00114		
Toplam	11	0,49946			

3 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,29263	0,09754	49,85	0,000
Hata	8	0,01565	0,00195		
Toplam	11	0,30828			

Çizelge A.9 (devam) : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.

4 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,12379	0,04126	21,24	0,00
Hata	8	0,01553	0,00194		
Toplam	11	0,13932			

4 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,36174	0,12058	16,65	0,001
Hata	8	0,05794	0,00724		
Toplam	11	0,41968			

4 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,46725	0,15575	31,13	0,000
Hata	8	0,04003	0,00500		
Toplam	11	0,50728			

4 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,57173	0,19058	316,97	0,000
Hata	8	0,00481	0,00060		
Toplam	11	0,57654			

5 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,23634	0,07878	40,61	0,00
Hata	8	0,01552	0,00194		
Toplam	11	0,25186			

5 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,12261	0,04087	23,24	0,000
Hata	8	0,01406	0,00175		
Toplam	11	0,13668			

Çizelge A.9 (devam) : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.

5 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,71719	0,23906	182,52	0,000
Hata	8	0,01048	0,00131		
Toplam	11	0,72767			

5 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,26105	0,08701	59,50	0,000
Hata	8	0,01170	0,00146		
Toplam	11	0,27275			

6 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,19048	0,063495	18,59	0,00
Hata	8	0,02732	0,003415		
Toplam	11	0,21780			

6 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,18524	0,06175	5,27	0,027
Hata	8	0,09377	0,01172		
Toplam	11	0,27900			

6 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,50742	0,16914	52,48	0,000
Hata	8	0,02578	0,00322		
Toplam	11	0,53320			

6 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,33174	0,11058	134,16	0,000
Hata	8	0,00659	0,00082		
Toplam	11	0,33834			

Çizelge A.9 (devam) : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.

7 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,67168	0,22389	43,81	0,00
Hata	8	0,04089	0,00511		
Toplam	11	0,71257			

7 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,60611	0,20204	306,85	0,000
Hata	8	0,00527	0,00066		
Toplam	11	0,61137			

7 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,465630	0,15510	165,31	0,000
Hata	8	0,00751	0,00094		
Toplam	11	0,47281			

7 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,64156	0,21385	514,07	0,000
Hata	8	0,00333	0,00042		
Toplam	11	0,64489			

8 nolu suş-Laktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,28115	0,09371	36,57	0,00
Hata	8	0,02050	0,00256		
Toplam	11	0,30165			

8 nolu suş-Fruktoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,17177	0,05725	16,58	0,001
Hata	8	0,027620	0,00345		
Toplam	11	0,19939			

Çizelge A.9 (devam) : 8 suşun farklı şeker konsantrasyonlarında 24. saatteki gelişimine ait varyans analiz çizelgesi.

8 nolu suş-Glikoz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,21042	0,07014	20,01	0,000
Hata	8	0,02804	0,00350		
Toplam	11	0,23846			

8 nolu suş-Sakkaroz					
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Şeker Konsantrasyonu	3	0,36958	0,12319	25,67	0,000
Hata	8	0,03839	0,00480		
Toplam	11	0,40796			

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Gözde DALKILIÇ KAYA

Doğum Yeri ve Tarihi: İZMİT, 24.05.1978

Lisans Üniversitesi: İstanbul Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 1995-1999

Yüksek Lisans Üniversitesi: İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 1999-2003

Yayın Listesi:

- Heperkan, D., **Dalkılıç, G.**, Karbancıoğlu, F. 2002. The application of epifluorescence microscopic methods in the food industry as a rapid technique, *22nd Food Microbiology Symposium, Current Concepts in Foodborne Pathogens and Rapid and Automated Methods in Food Microbiology*, p.14-17, October 13-16, 2002, Wisconsin-River falls, U.S.A.
- Heperkan, D., Güler, F.K., **Dalkılıç, G.**, Vasavada, P.C. 2002. Evaluation of the effectiveness of microwave treatment for mold inhibition on black olives by using malt extract agar, DG18 and petrifilm, *22nd Food Microbiology Symposium, Current Concepts in Foodborne Pathogens and Rapid and Automated Methods in Food Microbiology*, p. 12-13, 13-16 Ekim 2002, Wisconsin-River falls, U.S.A.
- Heperkan, D., Karbancıoğlu-Güler, F., **Dalkılıç, G.**, Vasavada, P.C. 2002. Prevention of mould growth on black olives by microwave treatment, Microbial Adaptation to Changing Environments, *Proceedings of the 18th International ICFMH Symposium*, p.310 (Eds. L. Axelsson, E.S. Tronrud, K.J. Merok), August 18-23, Lillehammer, Norway.
- **Dalkılıç, G.**, Karbancıoğlu, F., Heperkan, D. 2002. Tahminleyici mikrobiyoloji ve gıdalardaki uygulamaları, *Türkiye 7. Gıda Kongresi*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Teknolojisi Derneği, p. 519-525, 22-24 Mayıs, Ankara.
- Arduzlar, D., **Dalkılıç, G.**, Evranuz, Ö. “Mercimekte tane iriliği ve kabuğun su absorplama kinetiği ve hacim genleşmesine etkisi” Türkiye 7. Gıda Kongresi, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Teknolojisi Derneği, 229-238. 22-24 Mayıs 2002 “
- Heperkan, D., Karbancıoğlu-Güler, F., **Dalkılıç, G.**, 2003. Gıdalarda mikotoksinlerin önlenmesi“, *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, p. 165-169, 18-19 Eylül, İstanbul.

- **Dalkılıç, G.**, Karbancıoğlu-Güler F. 2003. Microbial inactivation by microwave treatment, *3rd Balkan Conference of Microbiology*, p.396, Eds. M. Uzun, Z. Erturan, Ö. Anıg, September 4-6, Istanbul.
- **Dalkılıç, G.**, Heperkan, D. “Zeytinde Bulunan Sitrinine Mikrodalga İşleminin Etkisi”, *1. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, 165-169. Istanbul, 18-19 Eylül, 2003.
- **Dalkılıç-Kaya, G.**, Karbancıoğlu-Güler, F. 2005. Et ürünlerinde tahminleyici mikrobiyoloji uygulamaları”, *4. Gıda Mühendisliği Kongresi*, p. 299-306, 29 Eylül-1 Ekim, Ankara.
- Heperkan, D. Meriç, B.E., Şişmanoğlu, G., **Kaya,G.D.**, Güler, F.K. 2005. Mycotoxins in black olives, *1st International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology(BioMicroWorld 2005)*, p 512. March 15-18, Badajoz, Spain.
- Heperkan, D., Güler, F.K., **Kaya, G.D** (Eds.). 2005. Türkiye’de Mikotoksin Çalışmaları, *II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, 223 s. Beril Reklam Ltd. Şti., İstanbul.
- Karbancıoğlu-Güler, F., **Dalkılıç-Kaya, G.** 2005. Gıda kaynaklı mikroorganizmaların kontrolünde ısıl olmayan yöntemlerin kullanımı, *4. Gıda Mühendisliği Kongresi*, p. 263-272, 29 Eylül-1 Ekim, Ankara.
- Heperkan, D., Güler, F.K., **Dalkılıç G.**, Heperkan, H., Vasavada, P.C. 2006. Prevention of mould growth on black olives by heat treatment, In “ *Mycotoxins and Phytochemicals, Advances in determination, toxicology and exposure management*” 265-270 (Eds. H. Njapau, S. Trjilo, H. P. van Egmond, D.L. Park). Wageningen Academic Publishers.
- Heperkan, D. Meriç, B.E., Şişmanoğlu, G., **Kaya,G.D.**, Güler, F.K. 2006. Mycobiota, mycotoxigenic fungi and citrinin production in black olives, *Advances in Food Mycology-Advances Experimental Medical Biology*, **571**, 203-210.
- Yılmaz, A., **Kaya, G.D.**, 2009. Isolation of *Mannheimia haemolytica* from the UHT milk. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **35**(1), 49-53.
- Yılmaz, A., Helps, C., **Kaya, G.D.**, Kırat, E., 2009. Vakum paketli sığır etlerinin bozulma etkeni *Clostridium estertheticum* yönünden PCR ile araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **35**(1), 1-6.
- **Kaya, G.D.**, Heperkan, D., 2009. Gıdalarda *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) varlığı, önemi ve tayin metodları. *Dünya Gıda Dergisi*, **6**, 79-86.
- **Kaya, G.D.**, Heperkan, D., 2009. Detection of *E. sakazakii* in dairy products using conventional method and polymerase chain reaction (PCR). *IFT Annual Meeting*, 6-9, 2009, Anaheim, USA.