

destek@mikrobiyoloji.org'den Seçilenler 05

Özlem Etiz Sağdaş¹

OrLab OnLine Mikrobiyoloji Dergisinde 2005 yılı Eylül sayısında yayınlamaya başladığımız "destek@mikrobiyoloji.org'den Seçilenler 01" başlıklı yazımıza geçen sayımızda da devam ettik. Bu seri içinde destek masamızdan derlediklerimizi size iletmeye devam ediyoruz.

Sevgiyle, bilgiyle

www.mikrobiyoloji.org

MUG'lu Besiyeri Markası

Bir yerde (X) marka MUG'lu besiyerlerinin kendiliğinden floresan veren tüplerde sorun olmadığı, bunun diğer markalarda görüldüğü iddia edildi. Bunun aslı nedir?

Yanıt, zaten sorunun içindedir. Kendiliğinden floresan vermek tüplerin özelliğidir, besiyeri ile hiç ilgisi yoktur. Bu tüpler boşken dahi uzun dalga boylu UV lambası ile floresan verirler. MUG esaslı analizlerde besiyeri markası her ne olursa olsun, önceden tüplerin kendiliğinden floresan verip vermediği kontrol edilmeli, pozitif olanlar bu analizlerde kullanılmamalıdır. Cam Petri kutularında böyle bir durum şimdilik rapor edilmemiştir ya da varsa bize ulaşmamıştır. Buna bağlı olarak Petri kutularının da analiz öncesi kontrolünde yarar vardır. Aynı durum cam erlenler için de geçerlidir.

Yatık Agar

Yatık Agar hazırlarken bazı tüpler otoklav sonrasında donmuyor. Bu sorun nereden kaynaklanabilir?

Eğer sadece bazı tüpler katılaşmıyorsa ve tüplerin iyi yıkandığı ve durulandığı kesin ise sadece bir hata kaynağı vardır; agar yeterince erimeden tüplere dağıtılmıştır. Yani söz konusu tüplere yeteri kadar agar gitmemiştir. Bunun anlamı, bazı tüplerde de gereğinden fazla agar olmasıdır. Besiyerini mikrodalga fırında eritin, kaynadıktan sonra iyice karıştırın, tercihen bir daha mikrodalga fırında eritin, yine karıştırın. Besiyeri sıcaklığı 55 °C'a geldiğinde tüplere 7'şer mL olarak dağıtın. Mikrodalga fırın yoksa kaynar su banyosunda besiyeri sıcaklığı 95 °C'ı geçinceye kadar ısıtın.

¹ Gıda Mühendisi, www.mikrobiyoloji.org site yöneticisi. Yazışmalardan sorumlu yazar olarak E-posta adresi: mikrobiyoloji@mikrobiyoloji.org

Salçada Laktik Asit Bakterisi

Salçada pastörizasyon ve kutu içinde pastörizasyonla iki defa pastörizasyon işlemi uygulanmasına rağmen son üründe istenilenin üzerinde laktik asit bakterisi çıkmaktadır. Acaba salçada son üründe laktik asit bakterisi sınırı gramda ne kadardır. Laktik asit bakterilerinin ısıtma direnci nedir? Örneğin, pastörizasyon işlemiyle gerçekten bu mikroorganizmaları ve varsa sporları yok edebilir mi? Bunların kökeni nedir ve üretim aşamasında gıdaya bulaşma riski var mıdır?

Öncelikle laktik asit bakterilerinde spor olmadığını ve bunların ısıtma dirençlerinin düşük olduğunu belirtelim. Kökenleri doğrudan salça hammaddesi olan domatestir. Zaten pek çok laktik asit bakterisi besiyeri içinde Tomato Juice Agar da vardır, bunlar domates ürünlerinde (salça, domates suyu, ketçap vb.) çok iyi bir gelişme gösterirler. Pastörizasyonla çok kolay bir şekilde ortadan kaldırılırlar. Zaten salça yapımı sırasında uygulanan sıcaklık ve sürede bu bakterilerin canlı kalma şansı yoktur, genellikle sonradan bulaşma ile görülürler. Sorudaki en önemli kısımlar "istenilenin üzerinde laktik asit bakterisi" şikayeti ile "sınırının gramda kaç olduğudur". Bu bakteriler için domates ürünlerindeki sınır "1 gramında olmayacak" şeklinde ise de doğru ifade kutuda olmayacak şeklindedir. Kutunun, 100 gram ya da 1 tonluk ambalaj olması hiç fark etmez. Ambalajda 1 tane bile canlı laktik asit bakterisi kalırsa, hızla gelişir ve ürünü bozar. Pratik uygulamada 10^{-1} seyreltiden 1 mL alınıp MRS Agar besiyerine dökme yöntemi ile analizi yapılır, beklenen sonuç 28–30 °C'da 48 saat inkübasyon sonunda Petri kutusunda koloni gelişmesi olmamasıdır. Buradaki sorun aşağıdaki bir diğer soruda irdelenmiştir.

Salça Analizindeki Sorun

Laboratuvar analizlerimizde salçada laktik asit bakterisi görülmedi halde üründe laktik asit bakterisine bağlı bozulma oluyor. Nerede hata yapıyoruz?

Analizleri tümüyle doğru yapsanız dahi bu gibi sonuçları almak doğaldır. Basit olarak 1 kg ambalajdaki salçaların tümünde sadece 1'er adet canlı bakteri kaldığını varsayalım. Laboratuvara gelen kutudan 10^{-1} seyrelti hazırladınız, 1 mL alıp, dökme yöntemiyle MRS Agar'a ekim yaptınız. Bu, tek canlı bakterinin Petri kutusunda koloni oluşturma olasılığı %0,01'dir. Laboratuvar sonucu %99,99 olasılıkla ürünün "temiz" olduğunu söyleyecek ancak ürün çok kısa bir süre içinde bozulacaktır. Kutuda 1 değil de toplam 1000 adet laktik asit bakterisi olduğunu varsayalım. Aynı yaklaşımla Petri kutusunda 1 koloni oluşma olasılığı sadece %10'dur. 24 saat inkübasyon sonunda laboratuvar, o parti için "temiz" raporu verirken, ürün büyük olasılıkla bozulmuş olacaktır. Görüldüğü gibi sorun sadece analize alınan miktar ile ilgilidir. Ancak pratik uygulamada 1 kg salçanın tümünün Petri kutusunda analizi söz konusu değildir. Bu sorun sadece salçada laktik asit bakterisi değil, meyve suyu konsantrelerinde ve reçellerde ozmofilik maya, peynirlerde geç şişme etmeni *Clostridium tyrobutyricum* analizi gibi pek çok üründe ve ürüne bağlı mikroorganizmada söz konusudur. UHT sütte 1 litre kutu içinde 1 adet canlı sporlu bakteri kaldığında bunun laboratuvar analizi ile yakalanma şansı salçadan 10 misli fazladır çünkü süt doğrudan 1 mL olarak analize alınabilir. Bu durumda olasılık, salçadaki %0,01'den %0,1'e çıkar ancak bu da kabul edilebilecek bir değer değildir.

Salmonella, Koliform, E. coli ilişkisi

Bir üründe koliform grup bakteri ve *E. coli* ile *Salmonella* analizi yapıyoruz. Bunun için LST + MUG besiyerinde EMS yöntemi ile analize başlıyoruz, paralel olarak 25 g gıdayı 225 mL Tamponlanmış suda homojenize ediyoruz. 24 saat sonra eğer koliform grup bakteri yoksa *Salmonella* analizine bu aşamada son veriyoruz. ISO denetçimiz buna itiraz etti, *Salmonella* analizinin sonuna kadar götürülmesi gerektiğini söyledi. Bu durumda sizin yaklaşımınız nedir?

En zor sorulardan birisini sormuşsunuz. *Salmonella* 'ya genellikle *E. coli* 'nin yoğun olduğu gıdalarda rastlanılır. Bir gıdada *E. coli* ve koliform grup bakteri yoksa *Salmonella* bulunma olasılığı yok denecek kadar düşüktür. Buna bağlı olarak pek çok gıda işletmesinde sizin yaptığınız gibi analize başlanır, 24 saat sonra *E. coli* 'ye rastlanmazsa *Salmonella* analizine son verilir. Bu şekilde çalışan ve uluslararası marka konumunda olan gıda işletmeleri vardır. Onların denetçileri çok daha titiz olmak zorunda ama bu konuya itiraz etmediler. Bu ifade, sizin ISO denetçinizin gereğinden daha titiz ya da bilgisiz olduğu anlamında değildir. Kendinizi ISO denetçisi yerine koyun. Bilimsel literatürde genelleme var. Yani, "koliform olmayan örnekte asla *Salmonella* olmaz" şeklinde bir bildiri yok. Sonuçta bu sizinle ISO denetçiniz arasındaki bir sorundur. Pek çok aşamada jüriler bunun için vardır. Bazı konularda "bana göre" yaklaşımı geçerlidir. Yarın ISO ya da eşdeğeri bir kuruluş "Koliform olmayan örnekte *Salmonella* aramaya devam etmenin gereği yoktur" derse durum değişir. Ama FDA bu bildirimde bulunursa, ISO bunu kabul edecek diye bir kural da yoktur.

Ölü Bakterilerin Gıda Tadına Etkisi

Bir gıda maddesindeki ölü bakterilerin gıdanın tadına doğrudan etkisi var mıdır?

Vardır ya da yoktur demek çok da kolay değil. Pratik olarak her gün yediğimiz içtiğimiz gıdalarla milyarlarca sayıda ölü bakteri, maya ve küf tüketiyoruz. UHT sütü ele alalım. O günkü çiğ sütte 10^4 /mL, öncekinde 10^6 /mL bakteri vardı. Isıl işlem sonunda hepsi öldü ama ikisi arasında 100 misli ölü bakteri var. Tat değişikliği mutlaka olacaktır ama bu sadece çok gelişmiş analitik cihazların belirleyebileceği bir fark olabilir. Tüketici bunu asla fark etmez. Sütün kendi tadı çok daha baskın olur. Ancak, mikroorganizmaların öldürülmeden önce oluşturdukları metabolitler ürüne göre değişmek kaydı ile daha tipik olarak çeşitli duyuşal özelliklerde kendilerini belli edebilirler. Örneğin, mayalı bir hamurdan yapılan üründe mayalama süresi uzarsa, pişirildikten sonra tat ve gaz delikleri standarda göre kolaylıkla fark edilebilir. Burada, pişirildikten sonra ölen mayaların tat farklılığından çok daha baskın olan başka tatlar ortaya çıkar.

Mikroorganizma Konsantrasyonu

Konsantrasyonu belli olmayan bir kültürde 10^6 /mL bakteri bulunmasını istiyoruz. Hangi işlemleri yapmalıyız?

Kültürdeki bakteri sayısını bir şekilde belirlemekten başka hiçbir yolu yoktur.

Piyasada farklı markalara ait biyokimyasal tanımlama kitleri var. Bunlar bir Gıda fabrikasında gerekli midir?

Buna sadece siz karar verebilirsiniz. Amacınız, laboratuvar olanaklarınız gibi koşullar bu kararınızda etkili olacaktır. Basit bir örnek vermek gerekirse, sizi ilgilendiren sadece *E. coli* ise ve standart VRB Agardan izole ettiğiniz bakterinin *E. coli* olup olmadığı önemli ise, bu kitleri kullanmanız çok pahalıya gelir, zaman kaybedersiniz. Sadece MUG esaslı bir basit kit kullanarak 2 saat içinde sonuç alabilirsiniz. MUG katkılı VRB Agar kullanmak da daha ucuz ve daha kısa bir yoldur. Tersine olarak üründe toplam *Listeria* 'ya izin veriliyor ama *L. monocytogenes* 'e izin verilmiyorsa ve siz sadece Fraser Broth + PALCAM Agar kullanıyorsanız, standardınızda gösterilen sayıda tipik koloniyi izole edip, her birine ayrı ayrı biyokimyasal test ve CAMP testi uygulamak yerine, bu gibi hazır biyokimyasal kitleri kullanmayı tercih edebilirsiniz. Bu sadece sizin vereceğiniz karardır. Bazen çok ekonomik olur ve hızlı sonuç alırsınız, bazen çok gereksiz kalır, boşu boşuna zaman ve para kaybedersiniz. Öncelikli olarak amacınızı belirleyin. Üründe 1 mL'de koliform bakteri olmayacak deniliyorsa sadece koliform testi yaparsınız. Sonuç pozitif çıkarsa bakterinin ne olduğu çoğu defa önemli değildir. Merak ediyorsanız *E. coli* olup olmadığını kontrol edebilirsiniz. *E. coli* değil ise ne olduğu kimseyi ilgilendirmez. Bu bakterinin *Ent. aerogenes* ya da *Citr. freundii* olduğu hiç önemli değildir, bakterinin ne olduğunu bilerek bir önlem alamazsınız. Ama üründe *Kleb. pneumoniae* sorunu varsa ve bu yüzden red söz konusu ise IMViC testleri ya da bu tip kitlerle bu bakteri belirlenebilir.