

destek@mikrobiyoloji.org'den Seçilenler 06

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

Zehirlenme Nedeni

Neden aynı yemeği yiyen herkes zehirlenmiyor, zehirlenme neye bağlıdır?

Başta, kişinin ruh ve beden sağlığı (yaş, genel sağlık, stres altında olup olmamak, başta antibiyotik olmak üzere ilaç kullanıyor olmak, kadınlar için hamilelik) olmak üzere bunun pek çok nedeni vardır. Yenilen yemek miktarı da önemlidir. Ayrıca aynı yemek yenilmiş olsa da beraberinde yenilen ve içilen diğer gıdaların da etkisi büyüktür. Örneğin, zehirlenmeye neden olan patojen bakterinin salatada olduğunu kabul edelim. Aynı fizik konumda 2 kişi aynı miktarda salata yemiş olsun. Salataya sirke koyan kişi, limon sıkandan daha avantajlıdır çünkü sirke, patojenlere daha fazla etkilidir. Salata yanında börek yiyen kişi, et yemeği yiyene göre daha şanslıdır çünkü et yemeği, mide pH'sını yükseltir, patojenin mideyi geçip canlı olarak bağırsağa erişme şansı yüksek olur. Yemekte gazlı meşrubat içen kişi, ayran içene göre daha şanslıdır çünkü gazlı meşrubat, yemekle yükselen mide pH'sını düşürerek patojen üzerinde olumsuz etki yapar. Salataya mayonez ilave etmeyen kişi, mayonez ilave edene göre daha şanslıdır çünkü mayonezdeki yağ, patojen bakteriyi kılıf gibi sararak midenin düşük pH'sından geçmesine olanak sağlar. Bunların dışında salata gibi gıdalarda, patojen bakteri salatanın her yerine eşit dağılmamış da olabilir. Başta bağışıklık hastalıkları (hepatit B) ve kanser tedavisinde kullanılan ilaçlara bağlı olarak genel bağışıklık eksikliği olanlar, patojenlerden daha fazla etkilenirler.

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

Bakteri ve Maya Sayısı

Hiç beklemediğimiz ve alışık olmadığımız şekilde üründe maya sayısı, bakteri sayısından çok daha fazla çıktı. Nedeni ne olabilir?

Sorunuzun pek çok yanıtı olabilir. Bunların içinde laboratuvar analizlerinde hata kaynaklarını saymayacağız, ancak böyle bir olasılığı da değerlendirmeniz gerekir. İlk akla gelen yanıt, alışılmadık bir şekilde ürüne yüksek düzeyde maya bulaşmış olacaktır. Toplam bakteri içinde hangi türler hakim? Bunu belirleyebiliyor musunuz? Sporlu bakteriler hakimse ısı işlem yetersizliğinden bahsedilemez. Ürün pH'sında bir değişiklik oldu mu? Mayalar hafif asidik ortamlarda daha iyi gelişirler. Tedarikçi, iklim koşullarında değişiklik, proseste yeni bir formülasyon ya da makine değişikliği, ambalaj değişikliği, depolama koşulları değişikliği gibi pek çok neden bu değişikliği yol açmış olabilir. HACCP uygulaması çerçevesinde izlenebilirlik üzerinde yoğun çalışma yapmanızı öneririz. Zaten gelişmiş kalite güvenliği sistemlerinin temelinde bu vardır. Üründe alışılmadık ve beklenmedik bir kalite kaybı olduğunda bunun nedenini belirlemek. Ancak daha önce, üretimin her hangi bir aşamasında bir değişiklik olduğunda bunun ürüne nasıl yansıtacağı, olumlu ve olumsuz etkilerinin neler olabileceği konusunda önceden tahminde bulunmak ve sonucu izlemek gerekir.

Laboratuvar Kurulması

İşletmemizde mikrobiyolojik analizlere yönelik olarak bir laboratuvar kurmak istiyoruz. Nelere dikkat etmeliyiz?

Bu konuda ciltler dolusu kitap bulunabilir. Burada temel unsurları yineleyeceğiz. Her şeyden önce analiz kapasitesi dikkate alınmalıdır. İleride yatırım ve/veya amaca göre laboratuvar analizlerinin miktarında, analiz çeşitliliğinde beklenen değişiklikler nelerdir? Bugün sadece VRB+MUG Agar besiyerinde hızlı *E. coli* analizi yapmayı planlarken, yarın maya-küf analizi de karşınıza çıkacaktır. Petri kutularının 4 ya da 5 gün boyunca inkübatörde kalacağını hesap ederek inkübatör kapasitesini ve buna bağlı olarak inkübatör için yer ayarlamamız gerekir. Tersine olarak, laboratuvarda psikrofil toplam bakteri analizi yapılacaksa inkübasyonun en az 7 gün süreceği de dikkate alınmalıdır. Laboratuvar, günün her hangi bir saatinde direk güneş ışığına maruz kalmamalıdır. 28 °C'dan daha yüksek olan laboratuvar sıcaklıklarında toplam bakteri, maya-küf analizleri sağlıklı olarak yapılamaz. Laboratuvarı serinletmek için klima kullanılacak ise, bunun mutlaka mikroorganizmaları süzen bir tipte olması gerekir ve laboratuvarında klima çalışırken ekim yapılmaması önerilir. Laboratuvarında ıslak ve kuru alanların mutlak olarak ayrılması zorunludur. Eski tip otoklavlar buldukları ortamı çok fazla olarak nemlendirirler. Mikroalga fırın kullanmak yerine besiyerleri kaynatılarak sterilize ediliyorsa, klasik tip cam damıtık su cihazı varsa bunların tümü laboratuvar havasını normalin çok üzerinde nemlendirir. Benzer şekilde yıkama işlemleri de ortam havasını nemlendirir. Bu aşırı nem durumu, bir yandan laboratuvarında depolanan besiyerleri ve diğer kimyasalların yapısında bir olumsuzluğa neden olurken, öte yandan da pembe küf olarak tanımlanan küf kontaminasyonuna daha fazla açık hale getirebilir. Laboratuvarında ekim sırasında yeterli aydınlatılmış bir ortam sağlanmalıdır. Laboratuvar havasında bulunan mikroorganizmaların indirgenmesi için UV lamba kullanılıyorsa lamba düğmelerinin laboratuvar dışında olması önerilir.

Pipetler

Laboratuvarda mikrobiyolojik analizlerde kullandığımız cam pipetleri pamukluyoruz ama bu uygulama ne kadar güvenlidir? Puar benzeri gereçler ne kadar kullanışlıdır?

Gelişmiş ülkelerde mikrobiyolojik analizlerde cam pipet asla ağızla çekilmez. Bu uygulamayı yapan laboratuvar oldukça ciddi cezalara muhatap olabilir. Bu cezalar arasında laboratuvar yeterliğinin iptali de vardır. Ya çeşitli puarlar veya pipetörler ya da çok daha yaygın olarak otomatik pipetler bu amaçla kullanılır. Otomatik pipet, başlangıçta belirli bir maliyet unsuru gibi görülmekle beraber, cam pipetlerin kırılabilirliği, yıkamak ve sterilize etmek için gereken zorunlu giderler (personel iş gücü, deterjan, durulamak için saf su, deterjan kalıntısı için gereken kimyasallar ve buna yönelik iş gücü, sterilize etmek için enerji, sterilizasyon kontrolü için ilave indikatörler vb.) dikkate alındığında otomatik pipet ve bir kez kullanılıp atılan pipet uçları çok daha ekonomik olabilmektedir. Ancak; bu uygulamada öncelikli olarak dikkat edilmesi gereken hususlar el pratiği (otomatik pipetleri çift kademe de kullanmak) ve kalibrasyondur. Otomatik pipetlerin kalibrasyonu modellere göre farklı şekillerde yapılır. Kalibrasyona mutlak uymak gereklidir. Bu amaçla, +4 °C'daki 1 mL saf suyun ağırlığının yaklaşık 1 g olacağı göz önüne alınarak hassas terazide kontrol yapılmalıdır. Günlük (rutin) analiz yapan bir mikrobiyoloji laboratuvarında bir adet 1 mL, bir adet 0,1 ml (100 µL) ve yeteri miktarda bir defa kullanılıp atılan steril pipet ucu bulunması ile çalışmalar çok rahatlayacak ve kayda değer ölçüde laboratuvar gideri azalacaktır. Burada, otomatik pipet markasına, buna uygun pipet ucu bulunmasına ve gerekli servis sağlamaya göre marka seçilmesine dikkat edilmesi gerektiğini hatırlatmak isteriz.

VRB Agar ve Kromojenik Koliform Agar

Aynı örnekten VRB Agar ve Kromojenik Koliform Agar besiyerine ekim yaptık, VRB'de koliform saydık ama Kromojenik Koliform Agar'da koloni gelişmesi olmadı. Kullandığımız VRB granül yapısında idi ama Kromojenik Koliform Agar başka bir marka. Hafif bir topaklaşma vardı. Bu topaklaşma, sonucu bu kadar etkileyebilir mi?

Bu soruya hiç kimse kesin olarak evet ya da hayır diyemez. Topaklaşma, çok genel olarak akla ilk gelen potansiyel sorumludur. Yapılan pek çok araştırmada besiyerinin nem almasına bağlı olarak besiyeri performansında kayda değer ölçüde azalma olduğu açıkça gösterilmiştir. Topaklaşma ise nem almanın temel bir göstergesidir. Bir diğer deyişle besiyeri markası ve bileşimi her ne olursa olsun, topaklaşma varsa bu besiyerinden elde edilecek sonuç güvenilmezdir. Güvenilmez ile mutlak yanlış (olduğundan daha düşük sayı elde edilmesi) arasında çok ince bir ayrım vardır ve bu ayrımda risk kullanıcıya aittir. Laboratuvar yetkinliğinin kontrol edilmesi açısından şunu yapmanızı öneririz: Elinizde her hangi bir koliform bakteri saf olarak bulunmalıdır. Olası laboratuvar kazalarından sakınmak için *E. coli* yerine *Citr. freundii* daha doğru olarak tercih edilebilir. Bu bakteriyi genel bir besiyerine (Nutrient Broth, CASO Broth vb.) aşılayıp, bir gece inkübasyona bırakın. Ertesi sabah 200 mL UHT süte bu kültürden 0,2 mL aşılayın. İyice karıştırın. 10^{-5} 'e kadar seyreltmelerini yapın, Sonra 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} seyreltilerden bu iki besiyerine 0,1 mL aktarın ve yayın. Sonuçları standart şekilde elde edin ve kıyaslayın. Hangi besiyerinde istatistiksel olarak daha fazla sayım elde ediyorsanız, doğru besiyeri odur.

D Değeri

Salmonella 'nın D ve Z değeri nedir?

D değeri ve buna bağlı olarak Z değeri kapsamı içinde *Salmonella* 'nın D değeri ve Z değeri diye bir şey olmaz. Önce D değerini açıklayalım. Öldürücü bir uygulamada (ısıtma işlemi, kimyasal madde uygulaması) canlı türünün 1 logaritma birimi ölmesi için gereken süredir ve dakika ile ifade edilir. Yine öldürücü bir işlem olan ışınlamada D değeri toplam soğurulan enerji (kGy) ile gösterilir ancak, ısıtma işlemi ve kimyasal uygulamasından daha farklıdır. Burada ağırlıklı olarak ısıtma işleminde D değeri açıklanacaktır. Öncelikle *Salmonella* diye bir şey yoktur. Tam olarak türü (ve *Salmonella* 'ya özgü olarak serotipi) verilmelidir. Aynı serotipe girse bile suşlar arasında ısıtma işlemi ve/veya kimyasal uygulamalara direnç çok farklı olmaktadır. Suş farklılıklarındaki dağılım, bazen tür farklılığının önüne geçebilmektedir. İkinci olarak ısıtma işlemine muhatap olan ortam belirlenmelidir. *Salmonella* 'nın ABC serotipinin aynı sıcaklık olsa bile nötr pH'lı sütte ve asidik pH'da olan meyve suyunda aynı sıcaklıkta farklı direnç göstereceği açıktır. Bu durumda ikinci olarak öldürücü işleme maruz bırakılan aynı serotipin bulunduğu ortam tanımlanmalıdır. Sadece asitlik değil, gıdaya göre değişmek üzere şeker konsantrasyonu, yağ içeriği gibi faktörler de kayda değer ölçüde etkilidir. Üçüncü olarak öldürücü ısıtma işlemi konsantrasyonu gelir. ısıtma işleminde bu kavram doğrudan sıcaklık derecesi iken, kimyasal uygulamasında %, ppm vb. şekillerde gösterilen konsantrasyonları ifade eder. Sıcaklık ne kadar yüksek ise istisnasız olarak öldürücü etki o kadar fazladır. Kimyasal maddelerde aynı şey söylenemez ama "çok genel olarak konsantrasyon ne kadar yüksek ise öldürücü etki o denli fazladır" denilebilir. Dezenfeksiyon amaçlı olarak kullanılan alkol, burada istisnadır, %70–75'lik alkol, saf alkolden daha fazla mikroorganizma öldürücü etkiye sahiptir. Bu aşamada mikroorganizmanın türü (serotipi), bulunduğu ortam ve öldürücü konsantrasyon (ısıtma işleminde sıcaklık derecesi, kimyasalda yüzde ile ifade edilen konsantrasyon) olmak üzere üç ana faktör D değeri üzerinde esastır. Z değeri ise D değerinde 1 log değişim için gereken konsantrasyon değişimidir. Genel olarak ısıtma işlemi için kullanılır. Aynı dış ortam koşullarında, aynı serotip, örneğin 70 °C'ta D değeri 2 dakika ise, bir deyişle 70 °C'ta tutulduğunda her 2 dakikada canlı sayısında 1 log birimi azalma oluyorsa (mevcut canlı sayısının %90'ı ölüyor, %10'u canlı kalıyorsa; 71 °C'ta bu sürenin daha az, 69 °C'ta daha uzun olacağı kesindir. İşte Z değeri bu şekilde hesaplanır, yani o da doğrudan tür (serotip/ suş) ve ortam ile doğrudan ilişkilidir.