

## **destek@mikrobiyoloji.org'den Seçilenler 14**

### **Özlem Etiz Sağdaş<sup>1</sup>**

OrLab OnLine Mikrobiyoloji Dergisinde 2005 yılı 09. 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](http://www.mikrobiyoloji.org)

### **Baharatta Mikroorganizma Sayısı**

Baharat depolaması sırasında toplam bakteri ve küf sayısında değişiklik olur mu?

Doğrudan nem ile ilişkilidir. Çok az nem ortamında gelişen küfler vardır. Bakteri sayısında artış için ortam nemimin çok yüksek olması gerekir. Ancak bakteri gelişimine izin verecek kadar yüksek nem ortamında zaten gözle görülür küflenme olur, fiziksel ve kimyasal olarak çok ciddi kalite kayıpları da gerçekleşir. Uygun depolama koşullarında mikroorganizma sayısında azalma olması beklenir. Bu azalma öncelikle baharat çeşidine ve hâkim mikroflora cinsine bağlıdır.

### **Baharatta Bakteri Sayısındaki Değişim**

Elimizdeki sayım sonuçlarına göre çuval içinde depolanan baharatta toplam bakteri sayısında ciddi boyutta iniş ve çıkışlar var. Depo neminde bir değişiklik yok. Bu iniş ve çıkışların kaynağı nedir?

Çok muhtemelen, örneklemeden kaynaklanmaktadır. Baharatta bu soruna sıklıkla rastlanır. Olabildiğince fazla alt örnek alınıp, paçal yapılmalı ve bu paçaldan analiz örneği hazırlanmalıdır. Eğer her defasında farklı bir çuvaldan örnek alınıyorsa bu gibi dalgalı sonuçlar çok doğaldır. Her defa aynı çuvalın aynı yerinden örnek alınması halinde dalgalanma çok az olur ama bu kez de elde edilen sonucun bütün partiyi temsil etmeme olasılığı çok yükselir.

---

<sup>1</sup> Gıda Mühendisi, [www.mikrobiyoloji.org](http://www.mikrobiyoloji.org) site yöneticisi. Yazışmalardan sorumlu yazar olarak E-posta adresi: [mikrobiyoloji@mikrobiyoloji.org](mailto:mikrobiyoloji@mikrobiyoloji.org)

## **Dökme / Yayma Ekim Tercihi**

Katı ürünümüzde toplam bakteri limitimiz 100 kob/g. Teknisyen,  $10^{-1}$  seyreltiden 0,1 mL ekim yapıyor ve 1 adet koloni varsa bunu uygun olarak raporluyor. Bu uygulama doğru mu?

Hayır, doğru değil ve üstelik çok yanlış. Üründe 140 kob/g bakteri olduğunu varsayalım. Bu ekim yöntemi sonunda teorik olarak 1,4 koloni oluşacaktır. Bunun anlamı; %60 olasılıkla 1 ve %40 olasılıkla 2 adet koloni meydana gelecektir. Bir diğer deyiş ile; bu standart dışı ürün, laboratuvarınız tarafından %60 olasılıkla standarda uygun şekilde değerlendirilip bu şekilde işlem görecektir. Oysa yayma yerine dökme ekim yapılırsa Petri kutusunda teorik olarak 14 koloni gelişecek ve ürün standart dışı olarak işlem görecektir. 1000 kob/g, katı ürünler için sınır değerdir. Eğer ürün doğrudan Petri kutusuna aktarılabilir bir sıvı olsa idi bu koşulda sınır değer 100 kob/mL'dir. Dökme ekim yöntemi yerine yayma ekim yöntemi kullanılma zorunluluğu varsa 14 cm çaplı büyük Petri kutularına 1 mL sıvı emdirilebilir. Ayrıca standart çaptaki 3 Petri kutusuna 1 mL sıvı eşit olarak dağıtılıp yayılabilir. Bu koşulda 3 Petri kutusundaki koloni toplamı esas alınır. Ancak ayrı ayrı 3 Petri kutusuna örnek bilgilerinin yazılması, inkübatörde yer işgali gibi sorunların yanında, fazla miktarda besiyeri kullanılmış olacaktır. Dolayısı ile bu gibi sınır değerlerde tercihen dökme yöntemi uygulanmalı, zorunluluk varsa önce 14 cm Petri kutusuna ekim o da olmazsa 3 Petri kutusuna dağıtma yöntemi uygulanmalıdır.

## **VRB ve VRB MUG Agarda 2. kat Besiyeri**

VRB ve VRB MUG Agar ile çalışılırken 2. kat besiyeri dökmek zorunlu mudur?

Teknik olarak mutlak zorunluluk olmamakla birlikte, uluslararası standartlarda bu uygulama istenilmektedir. Bu standartlarda bu şekilde geçtiğine göre, bir yararı olduğu açıktır. Bu durumda 5-6 mL kadar 2. kat besiyerinin dökülmesini öneriyoruz. Dökme yöntemi ile yapılan analizde besiyeri katılaştıktan sonra, yayma yönteminde ise besiyerinin sıvıyı emmesinden sonra bu uygulama yapılmalıdır. VRB Agar ve VRB MUG Agar arasında bu konuda bir farklılık yoktur.

## **Besiyeri Kalitesi**

Ucuz besiyerlerinde ne gibi sahte negatif ve sahte pozitif sonuçlar alınabilir?

Öncelikle ucuz besiyerinde bir sorun yoktur. Bir ürünün ucuz ya da pahalı olması, doğrudan fiyatı ve kalitesi ile ilişkilidir. Bu durumda sorunu düşük kaliteli besiyerlerindeki sahte negatif ve sahte pozitif sonuçlar üzerinde yanıtlayacağız. İnhibitör ve indikatör içermeyen PCA gibi genel bir besiyerinde besin maddeleri yetersiz ise, bakteriler iyi gelişemez, olduğundan daha az sayım sonucu alınır. İnhibitör içeren selektif besiyerlerinde inhibitör konsantrasyonu olması gerekenden yüksek ise hedef mikroorganizma gelişemez (sahte negatif sonuç), gerekenden düşük ise bu kez inhibe edilmesi gereken refakatçi flora da gelişir (sahte pozitif

sonuç). İndikatör içeren besiyerlerinde indikatör kalitesi düşük ise refakatçi flora hedef bakteri gibi sonuç verebilir (sahte pozitif sonuç).

### **PCA'da Maya Sayımı**

Plate Count Agar, maya sayımında kullanılabilir mi?

Mayaların büyük çoğunluğu PCA'da gelişir. Ancak PCA, bilinen maya sayım besiyerleri içinde yer almaz. Bir diğer deyiş ile bir gıda örneğinde maya sayımı için PCA kullanılmaz. Koloni morfolojileri, bakterilerden genellikle farklıdır ama deneyim gerektirir. Tek ekimle aynı Petri kutusunda hem toplam mezofil aerob bakteri hem de maya sayımı alınırsa bu sonuçlara itiraz edilebilir. Bununla beraber, PCA besiyerine yapılan ekimlerde APC (Aerobic Plate Count) sonucu veriliyorsa gelişen bakteri ve maya kolonileri toplamı verilir.

### **Katı ve Yağlı Üründe Koliform Analizi**

Bir hammaddemiz oda sıcaklığında katı ve çok yağlı. Limit, 10 kob/g koliform. VRB Agar kullanmamız gerekiyor. Eritip tartmaya kalktığımızda hemen donuyor. Nasıl bir çalışma planlamalıyız? Sonuçları sadece iç denetimde kullanacağız, talimatlarımızı kendimiz oluşturmak istiyoruz.

Ön deneme yapıp, 1 gram hammaddenin kaç mL olduğunu belirleyin. VRB Agar'ı eritip, steril tüplere 12-13 mL olacak şekilde dağıtın. VRB Agar tam eridiğinde koliformlar açısından steril hâle gelmiştir. Besiyerini 42-43 °C'da su banyosunda tutun. Hammaddeyi eritin, Bunzen beki alevinden geçirilerek ısıtılan pipet kullanarak belirli hacimdeki örneği su banyosunda tutulan VRB Agar üzerine ekleyin. Mekanik tüp karıştırıcıda fazla anaför olmamasına dikkat ederek yumuşak bir şekilde karıştırın ve hızla Petri kutusuna dökün. Katılaştıktan sonra üzerine 5 mL kadar 2. kat VRB Agar besiyeri dökmeniz önerilir. Pipet sıcaklığının da 42-43 °C olması önemlidir. El alışkanlığı gerektirir. Kuşkusuz bu yöntem, hammaddenizin erime sıcaklığının 42-43 °C'dan daha düşük olması koşulunda geçerlidir. Erime sıcaklığı 45 °C üzerinde ise eritme sırasında koliform bakteriler zarar görür.

### **Piliçte *Salmonella***

Tarım İl Müdürlüğü tek örnek alıp, piliçte *Salmonella* pozitif sonuç bulmuş. Koliform ve *E. coli* sayısı ise <10 kob/g olarak bulunmuş. Tek örnek alınmış olmasına itiraz edebilir miyiz ve *E. coli* bu kadar düşük olan üründe *Salmonella* pozitif çıkabilir mi?

İtiraz etseniz de bir sonuç alamazsınız. 5 örnek alınmış ve 1 adedinde *Salmonella* pozitif çıktığını, 5 örneğin tümünde de koliform ve *E. coli* sayısı ise <10 kob/g olarak alındığını varsayalım. Sonuç değişmez. *E. coli* sayısı düşük üründe de *Salmonella* pozitif olabilir. Birisi 25 gramda var/yok testidir, diğeri 1 gramdaki sayıdır. *E. coli* sayısının bu denli düşük olması, işletmede oldukça iyi bir hijyen olduğunu gösteriyor. Ama tam yeterli olmadığı için *Salmonella* pozitif sonuç alınmış. Aslında bakanlığın 5 yerine 1 örnek ile çalışması bu gibi hijyene dikkat eden bu gibi işletmeler lehine bir durum. Gerçek olarak her 5 üründe 1 *Salmonella* olduğunu var sayalım. Teorik olarak alınacak 5 ürünün 1 adedinde *Salmonella* pozitif sonuç alınacak ama n c m M

kurallarına göre ürün ret edilecekti. 1 örnekte analiz yapıldığında pozitif olanı bulma olasılığı sadece %20'dir.

### **S. aureus için ATCC Kültürü**

Mikrobiyolojide doktora yapıyorum, jüri üyelerinden birisi ATCC suşu kullanmadığım için eleştirdi. ATCC suşu kullanmak zorunda mıyım? Fiyatları çok değişken. Hangi suşu alacağımı nereden bileceğim?

Hayır, ATCC suşu kullanmak zorunda değilsiniz. Uluslararası düzeyde tanınan başka kültür koleksiyonları da vardır. ATCC, bu koleksiyonlar arasında en bilinenidir. Özellikle doktora tezlerinde bulguların evrensel nitelik taşıması için tekrarlanabilirlik taşıması gerekir. Laboratuvarınızda bir başka araştırmacı tarafından izole edilmiş ve tanımlanmış ancak, uluslararası koleksiyona alınmamış bir *S. aureus* suşu ile çalıştığınızda elde edilecek bulguların dünyanın başka bir yerinde tekrar edilebilme şansı hemen hemen hiç yoktur. Ayrıca ileride bu suşun laboratuvarın bir köşesinde unutulup ölme şansı da vardır. Bu durumda bulgularınız "elinizde olmayan bir suşa" ait olacaktır. Uluslararası kabul görmüş koleksiyondaki bakterilerde ise bu olasılık yok denecek kadar azdır. Suş fiyatları, suşun saptanmış özellikleri ile ilişkilidir. Örneğin; genetik yapısı daha fazla tanımlanmış, belirli bir enzim aktivitesinin ortalamasının çok üzerinde ya da altında olduğu saptanmış suş fiyatları doğal olarak daha yüksektir. Size gereken sadece standart bir suş ise en düşük fiyatlı olanı almanız yeterli olur.