

# Fekal Koliformlar

[01. Genel Bilgiler](#)

[02. Sayılması / Aranması](#)

[03. Kullanılan Besiyerleri](#)

[03.01. LST Broth](#)

[03.02. EC Broth](#)

[03.03. A1 Medium](#)

## 01. Genel Bilgiler

Fekal koliformlar, koliform grubun bir alt grubu olup, dışkı kökenlidirler. Buna göre, toplam koliformlara bitki ve/veya toprak kökenli olmaları nedeni ile başta çeşitli bitkisel ürünler olmak üzere pek çok gıda hammaddesinde ve minimal proses görmüş gıdalarda izin verilir iken, fekal koliformlara sadece çok sınırlı gıdada yine çok sınırlı sayılarda bulunma izni verilmektedir. Fekal koliformlar termotolerant koliformlar ve termotolerant koliformlar olarak da adlandırılmaktadır.

Fekal koliformlar olarak tanımlanan bakteriler öncelikle *E. coli* 'dir. Bilindiği gibi koliform grup bakteriler üyesi olan *E. coli* doğada sadece sıcak kanlı hayvanların (memeliler ve kanatlılar) barsak sistemlerinde ve dolayısı ile bunların dışkılarında bulunur. Buna bağlı olarak, insanların hatta hayvanların kullanıma sunulan bir gıda maddesinde, içme ve/veya kullanma suyunda fekal koliformlara rastlanması o örneğe doğrudan ya da dolaylı olarak dışkı bulaştığının göstergesidir.

Fekal koliformlar olarak tanımlanan koliformlar esas olarak *E. coli* 'dir. *Enterobacter aerogenes* ve *Klebsiella pneumoniae* 'nın da fekal olanlarına rastlanmaktadır.

Fekal koliform grup bakteriler için daha fazla genel bilgi için [burayı tıklayın](#).

## 02. Sayılması / Aranması

Gıdaların standart analizlerinde fekal kontaminasyon indeksi olarak fekal koliformlar yerine bu grubun en yaygın üyesi *E. coli* 'nin analizi çoğu kez yeterlidir. Bununla beraber, çok nadir de olsa *E. coli* bulunmayan gıdalarda diğer fekal koliform bakterilere rastlanması nedeni ile özellikle uluslararası ticarete *E. coli* değil, fekal koliform analizi istenebilmektedir.

Her hangi bir koliform bakterinin dışkı ya da bitki kökenli olduğunun anlaşılması 1904 yılında Eijkman tarafından geliştirilen basit bir test ile yapılmaktadır. Buna göre koliform grup bakterilerin dışkı kökenli olanları (fekal) 45,5 °C 'da 48 saat içinde EC Broth (Merck 1.10765) besiyerinde gaz oluşturmaktadırlar. Yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığı olarak pek çok kaynak 44,5 °C vermektedir. Inkübasyon sıcaklığının analiz raporuna yazılması koşulunda hangi sıcaklık derecesinin kullanılacağı önemli değildir.

Bu tarife göre uluslararası standartlarda da yer aldığı şekli ile bir analiz örneğinde fekal koliform olup olmadığının araştırılması ya da sayısının belirlenebilmesi için öncelikle

koliform analizi yapılması gerekmektedir. Buna göre standart yöntemle toplam koliform analizi için En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemi ile LST Broth (Merck 1.10266) besiyerine ekim yapıldıktan sonra **(bakınız ; Toplam Koliformlar)** pozitif tüplerden EC Broth besiyerine aşılama (inokülasyon) yapıp, 45,5 °C 'da 24 saat inkübasyon yapılması gerekmektedir. Bu süre sonunda EC Broth besiyerinde Durham tüplerinde gelişme ve gaz oluşumu fekal koliform pozitif olarak değerlendirilir ve standart EMS tablosundan fekal koliform sayısı hesaplanır. Negatif sonuç veren tüpler için inkübasyona 24 saat daha devam edilmelidir. Burada dikkat edilmesi gereken iki husus inkübasyon sıcaklığı ve süresidir. 45,5 °C gibi oldukça duyarlı bir sıcaklığa erişmek için öncelikle su banyosu kullanılmalı ve inokülasyon öncesi EC Broth besiyerinin önceden bu sıcaklığa getirilmesidir. Bunların nedeni inkübasyon sıcaklığı olarak seçilen bu sıcaklıkta küçük de olsa sapmaların önlenmesidir. Aksi halde sahte (false) negatif ya da pozitif sonuçlar kolaylıkla alınabilir. Örneğin, başlangıçta EC Broth tüplerinin sıcaklığının bu sıcaklığa getirilmemesi ve/veya su banyosu kullanılmaması sonunda inokülasyon sonrası fekal olmayan bakteriler de EC Broth besiyeri bu sıcaklığa çıkıncaya kadar gelişip gaz oluşturabilirler ve bu durum gerçekte bu sıcaklıkta gelişmeyecek olan bakterilerin gelişerek sahte pozitif sonuç vermesine neden olabilir. Tersine olarak, su banyosu ya da çok yanlış olmakla beraber havalı inkübatör kullanılması halinde eğer inkübasyon sıcaklığı bu sıcaklık derecesinin üzerinde olur ise fekal koliform bakteriler gelişemez ve/veya gaz oluşturamaz ve bu şekilde sahte negatif sonuçlar alınabilir.

Gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların analizi ; temel ilkeler için [burayı tıklayın](#).

Özetle, uluslararası düzeyde kabul edilmiş tek yöntem olan EC Broth besiyerinde söz konusu inkübasyon sıcaklık ve süresinde fekal koliform belirlenmesi için öncelikle LST Broth besiyerinde 48 saat inkübasyon, buradan EC Broth besiyerinde ilave 48 saat inkübasyon olmak üzere toplam 4 gün analize gerek vardır ve EC Broth besiyeri için inokülasyon ve inkübasyon özel koşullarda yapılmalıdır. Gıda endüstrisinde rutin analizlerde 4 gün inkübasyon özellikle içme sütü gibi aynı gün pazara verilmesi gereken ve normal raf ömrü zaten 4 – 5 gün olan ürünlerde asla kabul edilemez.

Bu nedenle fekal koliform analizi ancak uluslararası ticarete ya da yasal kamu analizlerinde kullanılan bir yöntemdir. Gıda sanayiindeki rutin kontrollerde fekal kontaminasyon indeksi olarak yaygın olarak MUG yönteminin kullanıldığı *E. coli* analizi benimsenmektedir **(bakınız *E. coli*)**.

Fekal koliform grup bakterilerin analizi için daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

Özellikle su örneklerinde fekal koliformların varlığının doğrudan belirlenmesi için geliştirilmiş yeni bir besiyeri A1 Medium (Merck 1.00415) besiyeridir.

### **03. Kullanılan Besiyerleri**

#### **03.01. LST Broth (Merck 1.10266)**

Koliform analizinin başlangıç besiyeri olan LST Broth ile ayrıntılı bilgi için [burayı tıklayın](#).

#### **03.02. EC Broth (Merck 1.10765)**

Dehidre besiyeri 37 g/l konsantrasyonda olacak şekilde destile su içinde eritilir, içinde Durham tüpü bulunan deney tüplerine 10 'ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C 'da 15 dakika

sterilize edilir. 44,5 - 45,5 °C 'da 24 (gerekirse 48) saat süre ile inkübe edilir. Bu sürenin sonunda gelişme ve Durham tüplerinde gaz görülen tüpler pozitif olarak işaretlenir ve standart EMS tablosundan örnekteki fekal koliform sayısı hesaplanır. 500 g dehidre besiyeri ile 1351 adet 10 ml tüp hazırlanabilir. Bu besiyeri ile ilgili olarak daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).

### **03.03. A1 Medium (Merck 1.00415)**

Özellikle sularda fekal koliform analizinde kullanılır. Dehidre besiyeri 31,5 g/l konsantrasyonda olacak şekilde destile su içinde eritilir, içinde Durham tüpü bulunan standart tüplere 10 'ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C 'da 10 dakika sterilize edilir. Besiyeri berrak ve hafif opalessent sarımsı renkli olup karanlıkta ve buzdolabı sıcaklığında 3 aya kadar depolanabilir. Standart EMS yöntemine göre inoküle edilen tüpler önce 35 °C 'da 3 saat, sonra 44,5 °C da 21 saat inkübe edilir. Gelişme görülen tüplerde gaz oluşumu fekal koliform olarak değerlendirilir ve sayı standart EMS tablosundan hesaplanır. Kazein peptonu, laktoz ve salisin fekal koliformlar için iyi bir besin kaynağı iken, tuz ozmotik dengeyi sağlar, Triton X 100 ise deterjan olarak görev yapar. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile tek kuvvette olmak üzere 10 ml 'lik 1587 tüp elde edilir. Bu besiyeri hakkında daha fazla bilgi için [burayı tıklayın](#).