

FARKLI FORMÜLASYONLarda ÜRETİLEN
BEBEK MAMALARININ BİLEŞİMİ, BAZI
MİKROBİYOJİK ÖZELLİKLERİ ve
Enterobacter sakazakii
VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Nazan TOKATLI
Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dah
Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI
2009

T.C.

NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI FORMÜLASYONLarda ÜRETİLEN BEBEK
MAMALARININ BİLEŞİMİ, BAZI MİKROBİYOJİK ÖZELLİKLERİ ve
Enterobacter sakazakii VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

Nazan TOKATLI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Muhammet ARICI

TEKİRDAĞ-2009

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Muhammet ARICI danışmanlığında, Nazan TOKATLI tarafından hazırlanan bu çalışma 17/08/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Muhammet ARICI *imza :*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ *imza :*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Özden ÇOBANOĞLU *imza :*

NKÜ Fen Edebiyat Fak. Biyoloji ABD.

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 21/08/2009 tarih ve 33.03 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Yukarıdaki sonucu onaylarım

**Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU
Enstitü Müdürü**

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI FORMÜLASYONLARDA ÜRETİLEN BEBEK MAMALARININ BİLEŞİMİ, BAZI MİKROBİYOJİK ÖZELLİKLERİ ve *Enterobacter sakazakii* VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Nazan TOKATLI

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Bu araştırmada tesadüfi örnekleme yöntemine göre seçilen toplam altmış iki adet toz bebek maması, Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sayısı (TMAB), Toplam Termofilik Bakteri (TTB) sayısı, Toplam Psikrofilik Bakteri (TPB) sayısı, Koliform Bakteri sayısı ve *E.sakazakii* varlığı bakımından incelenmiştir. İncelenen bebek maması örneklerinin Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) sayısı ortalama $4,67 \times 10^2$ kob/g; Toplam Termofilik Bakteri (TTB) sayısı ortalama 61 kob/g; Koliform Bakteri sayısı ortalama 30 kob/g olarak belirlenmiştir. İncelenen örneklerin sekizinde Mezofilik Aerobik Bakteri bulunamamış, on bir örnekte Termofilik Bakteri ve sekiz örnekte Koliform Bakteri bulunmuştur. Örneklerin hiç birinde Psikrofilik Bakteri bulunamamıştır. Örneklerin üçünden izole edilen izolatlar *E.sakazakii* olarak tanımlanmıştır. Örneklerde bulunan Toplam Mezofilik Bakteri sayısı Türk Gıda Kodeksinin Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde yer alan sınır değerleri içerisinde belirlenirken, örneklerin ikisinde Koliform Bakteri sayısı tebliğ sınır değerinin üzerinde bulunmuştur.

Örneklerin ortalama fizikokimyasal analiz sonuçları; İnvert şeker % 32,36; toplam şeker % 49,12; protein % 11,24 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bebek maması, Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikler, *Enterobacter sakazakii*

ABSTRACT

MSc. Thesis

DETERMINATION SOME MICROBIOLOGICAL PROPERTIES, PRESENT *Enterobacter sakazakii* and COMPOSITION IN INFANT FORMULA PRODUCTED DIFFERENT FORMULATION

Nazan TOKATLI

Namik Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet ARICI

In this study, sixty two infant formula samples were chosen according to casual sampling method; Total Mesophilic Aerobic Bacteria count, Total Thermophilic Bacteria count, Total Psikrophilic Bacteria count, Coliform Bacteria count and the present of *Enterobacter sakazakii* was examined. In the studied formulas, the average Total Mesophilic Aerobic Bacteria (TMAB) numbers were 4.67×10^2 cfu/g, the average Total Thermophilic Bacteria (TTB) was 61 cfu/g and 30 cfu/g Coliform Bacteria was identified. Total Mesophilic Aerobic Bacteria wasn't found in eight samples, Total Thermophilic Bacteria was found in eleven samples and Coliform Bacteria was found in eight samples. Psikrophilic Bacteria was not found in any sample. *E.sakazakii* was identified on three isolated samples. In the samples present the Total Mesophilic Bacteria numbers were in the accepted ranges provided in the Tukish Food Codex under Microbiological Criteria section. However in two of the Coliform Bacteria numbers were found to be higher than those in the cut off ranges.

Physicochemical analysis results on the examples were noted to be; invert sugar 32.36%; total sugar 49.12%; protein 11.24%.

Keywords: Infant Formula, Physicochemical and Microbiological Properties, *Enterobacter sakazakii*

2009, 53 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın planlanması ve sonuna kadar her aşamasında büyük bir özveri ile bana yardımcı olan, teşvik ve tavsiyelerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın hazırlanmasında değerli yardımcıları, nazik tavrı, engin hoşgörüsü ve sabrından dolayı sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ'e en derin şükranlarımı sunarım.

Tez savunma sınavımda juri üyesi olarak bulanarak, yaptığı yapıçı eleştiriler ile tezimin son halini almasında katkıda bulunan Sayın Yrd. Doç. Dr. Özden COBANOĞLU'ya, laboratuar çalışmam süresince ilgi ve desteklerini esirgemeyen Zootekni bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Levent COŞKUNTUNA'ya, başta Araş. Gör. Şükrü DEMİRCİ ve Araş. Gör. Gülnaz ÇELİKYURT olmak üzere tüm Gıda Mühendisliği bölümü öğretim üyelerine, Şafak YILDIRIM, Duygu KORUCU, Harun Emre GEÇGEL'e teşekkürlerimi sunarım.

Bebek maması örneklerinin bir kısmının teminini sağlayan Uz. Dr. Bilge SERTEL TÜFEKÇİ ve eşi Uz. Dr. Sinan TÜFEKÇİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Analiz çalışmalarımda değerli vakitlerinden ve işlerinden feragat edip bana çok yardımcı olan arkadaşlarım Azime MERİC ve Arzu ŞEKERCİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımdayken bulunamasalarda, attığım her adımda inanç ve sevgileriyle varlıklarını hep yanımdaya hissettiğim değerli dostlarım Şaziye YILMAZ ve Şuayıp BIYIKOĞLU'na teşekkür ederim.

Sevgi ve ilgilerini her zaman gördüğüm, başta çevirilerimde çok yardımcı olan kuzenlerim; Dr. Ömer TOKATLI, Dr. Handan TOKATLI ve İbrahim TOKATLI olmak üzere tüm aile bireylerine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, beni bugünlere getiren, cesaretlendirici tavırlarıyla ilgi ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, yoğun çalışma dönemlerimde bana huzurlu molalar verdiren, tezimin özellikle son aşamasında ders çalışmam için elliinden gelen tüm gayreti gösteren, başarabileceğime inanan varlıkllarıyla beni en mutlu insan kılan, canım annem Sevinç TOKATLI, canım babam Dr. Fuat TOKATLI, sevgili kardeşim Ahmet TOKATLI, değerli ablam Nur ŞENER, değerli eşi Dr. Mehmet ŞENER ve ailemize katılarak hayatımıza tarif edilemez güzellikte anımlar katan biricik yeğenim Ceren ŞENER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

Nazan TOKATLI
Ağustos 2009

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	8
2.1. Anne Sütü ve İlkame Maddelerinin Özellikleri	8
2.2. <i>Enterobacter sakazakii</i> ve Bebek Mamaları	12
3. MATERİYAL ve METOT	26
3.1. Materyal	26
3.2. Metot	26
3.2.1. Bebek Mamalarının Fizikokimyasal Analizleri	26
3.2.1.1. Şeker Tayini	26
3.2.1.2. Protein Tayini	28
3.2.2. Bebek Maması Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri	29
3.2.2.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı	29
3.2.2.2. Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı	29
3.2.2.3. Toplam Termofilik Bakteri Sayımı	29
3.2.2.4. Koliform Grubu Bakteri Sayımı	29
3.2.2.5. <i>Enterobacter sakazakii</i> Varlığının Belirlenmesi	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	33
4.1. Bebek Maması Örneklerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	33
4.2. Bebek Maması Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri	36
4.3. <i>E.sakazakii</i> İzolasyonu ve Tanımlama Sonuçları	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	43
6. KAYNAKLAR	45
EKLER	50
EK 1	50
EK 2	50
EK 3	51
EK 4	51
EK 5	52
EK 6	52
ÖZGEÇMİŞ	53

SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHI	Brain Heart Infusion Agar
dk	Dakika
DNA	Deoksinükleik Asit
EE	<i>Enterobacteriaceae</i> enrichment
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
g	Gram
GRAS	Generally recognized as safe
HCl	Hidroklorik Asit
kcal	Kilokalori
kg	Kilogram
kob	Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
log	Logaritma
mg	Miligram
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
mm	Milimetre
N	Normal
PCA	Plate Count Agar
rDNA	Ribozomal DNA
sn	Saniye
TMAB	Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
TNSA	Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması
TSA	Tryptone Soy Agar
TTB	Toplam Termofilik Bakteri
VRBA	Violet Red Bile Agar
VRBG	Violet Red Bile Glucose Agar
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
°C	Degree Celsius

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.	Bebek mamaları için Codex alimentarius tarafından önerilen mikrobiyolojik spesifikasyonlar	5
Çizelge 2.1.1.	Olguların 6 aylık süredeki beslenme durumu	9
Çizelge 2.1.2.	Anne sütü ve inek sütünün bileşimi (100 mL'de)	9
Çizelge 2.2.1.	Fırsatçı <i>Enterobacter</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	12
Çizelge 2.2.2.	Farklı sıcaklıklardaki bebek mamaında <i>E.sakazakii</i> 'nin generasyon süresi	15
Çizelge 2.2.3.	Bebek mamalarında <i>E.sakazakii</i> İçin D ve Z Değerleri	16
Çizelge 2.2.4.	<i>E.sakazakii</i> 'nin izole edildiği çevresel ve klinik kaynaklar	19
Çizelge 2.2.5.	<i>E.sakazakii</i> 'nin çeşitli sıcaklıklardaki sulandırılmış bebek mamaında enfeksiyon yapacak doza ulaşması için geçen süre	23
Çizelge 2.2.6.	Dünya üzerinde <i>E. sakazakii</i> 'nin neden olduğu salgınlar ve kaynakları	25
Çizelge 3.2.2.5.1.	BioMerieux API 20 E test sisteminde yer alan biyokimyasal testler ve test sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler	31
Çizelge 3.2.2.5.2.	API 20E'de <i>Enterobacter sakazakii</i> 'nin tanımlanması	32
Çizelge 4.1.	Bebek mama örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları	33
Çizelge 4.2.	Bebek mama örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.2.	Bebek mamasında <i>E.sakazakii</i> NCTC11467'nin sıcaklığa bağlı gelişim hızı	14
Şekil 4.2.	Mezofil bakteri bulunan mama örneklerinin toplam mama örnekleri içindeki payı	39
Şekil 4.3.1.	Bebek mamaları örneklerinden izole edilen iki nolu <i>E.sakazakii</i> izolatının TSA'da görünümü	40
Şekil 4.3.2.	<i>E.sakazakii</i> tespit edilen mama örneklerinin tüm mama örneklerinin içindeki payı	41

1. GİRİŞ

Canlı organizmanın varlığının idamesi, yitirdiklerinin yerine konması, yaşamı için gerekli fizyolojik fonksiyonların yapılabilmesi için ihtiyaç duyulan besin maddelerinin sindirim yolu ile alınmasına beslenme denir. Sağlıklı beslenme; büyümeye-gelişme, yaşamın idamesi ve sağlığın korunması için besinlerin kullanılması demektir. Nitelik ve nicelik açısından vücuttan gerçek ihtiyaçlarına göre düzenlenen besinlerle yapılan beslenme normal, yeterli ve dengeli beslenmedir (Arlotti ve ark. 1998).

Doğum sonrası ilk yıl, sağlıklı bir yaşamın temelinin atıldığı son derece önemli bir dönemdir. İnfant dönemi nutrisyonel bakımından en kritik ve hassas bir dönem olup hızlı büyümeyenin söz konusu olduğu bir süreçtir (Hambraeus 1990).

Yeni doğan bebeklerde beslenme şekil ve dönemleri; Anne sütü ile beslenme, yapay beslenme, Weaning (ek gıdalara başlama) döneminde beslenme ve karışık beslenme olmak üzere dört adettir.

Anne Sütü ile Beslenme; Anne sütünün doğumunu takiben 4-6 ay içinde çocuk için tek başına yeterli olabilecek ideal bir gıda olduğu ve birbirinden çok farklı çevre koşullarında bile bu önemini kaybetmediği bildirilmiştir (Soysa 1979, Whitehead ve ark. 1980, Anonim 1989, Amador ve ark. 1992).

Anne sütyle beslenme, bir yandan anneliğin doğal ve beklenen bir parçasını oluşturmaktır, diğer yandan ise enfeksiyona bağlı veya bağlı olmayan nedenlerle ilgili morbidite ve mortalite oranını azaltmaktadır (Cunningham 1977).

Anne sütünün inek sütü ve formül mama gibi gıdalardan önemli farklılıklarını ve üstünlüklerini (Bebek için en ideal kalite ve miktarda besleyici madde içerir, allerjen değildir, ekonomiktir, enfeksiyonu önleyici maddeler içerir, çocuğun psikolojik gelişiminde olumlu etkileri vardır, annede meme kanseri insidansını azaltır) mevcuttur. İlk 5 günde salgılanan süte kolostrum, 6-10 gün arasındaki süte geçiş sütü, 10. günden sonraki süte ise olgun süt denilir (Anonim 1992).

Anne sütüyle beslenmiş bebeklere kıyasla, bebek mamasıyla beslenmiş bebeklerde nekrotizan enterokolitin 10 kat daha yaygın olduğu belirtilmiştir (Gurtler ve ark 2005, Drudy ve ark 2006). Anne sütü ile beslenmenin bebeği *Haemophilus influenza* bakteriyemi ve menenjitten koruduğu bildirilmiştir (Cochi ve Fleming 1986).

Rutin aşılara antikor yanıtı ve görme keskinliği gelişmesi daha iyi olmaktadır. Küçük yaşlarda yeterli süreyle anne sütü almış erişkinlerde lenfoma, lösemi, multipl skleroz, diabetes mellitus, kronik karaciğer hastalığı, ülseratif kolit, obesite, crohn hastalığı, ağızda maloklüzyon ve çölyak hastalığı riski azalmaktadır (Dewey ve ark. 1995, Özalp 1996, Anonim 2003a).

Çeşitli sosyoekonomik, kültürel ve kişisel faktörler annenin bebeğini beslemeye hangi yolu izleyeceğine karar vermesinde rol oynar. Annenin anne sütü ile beslemeye ne kadar devam edeceğini, anne sütünü tek başına mı kullanacağı ya da bir mama ile birlikte verip vermeyeceğine karar vermesinde rol oynayan faktörler vardır. Doğum sırasındaki uygulamalar, hastanede anneye gerekli bilginin uygun zamanda ve yeterli süre ayrılarak verilmiş olması bu başarıda büyük rol oynar. Bebeğin kilosu, sağlık durumu, akrانlarının tutumu, varsa anneye doğum sonrası verilen izin ve işverenin işyerinde annenin çocuğunu kendi sütü ile beslemesine ve sütünü saklamasına elverişli olanakları hazırlaması annenin başlangıçtaki besleme planlarını etkileyebilen faktörlerdir (Anonim 2003a).

Anne sütünün bebeğin beslenmesindeki yeri tartışılmaz. Ancak annede bazı nadir sağlık sorunlarının varlığında bebeğini kendi sütüyle besleyememektedir. Yapay beslenmede dikkate alınması gereken hususlar; anne sütü yerine verilecek besleyiciyi seçmek, nasıl hazırlayacağı ve verilecek miktarı konusunda anneyi bilgilendirmek, bebeğin büyümeye ve gelişmesini izlemektir. Yapay beslenme; kompozisyonları anne sütüne yakın (Adapte ve yarı adapte formüller, Devam formüller) ve İnek sütü şeklinde yapılabilir (Özalp ve Köksal 1996).

Adapte süt formülleri; sıvı ve toz şeklinde bulunabilirler. Bitkisel yağ ilavesi ile modifiye edilmiştir. Linoleik asit yönünden zenginleştirilmiştir. Yenidoğanda amilaz enzimi fizyolojik olarak azdır bu nedenle adapte formüller nişasta içermezler, karbonhidratları laktozdur.

Nükleoprotein, karnitin, taurin, ek demir ve vitamin D içerirler. Osmolaritesi anne sütüne yakındır. Neonatal dönemde ve hayatın ilk aylarında bebeğin adapte formülalar ile beslenmesi önerilir (Ertuğrul ve Neyzi 1993, Özalp ve Köksal 1996).

Yarı adapte formülalar; Protein içeriği, enerji dansiteleri daha yüksektir. Laktoz ve mısır şurubu özünden oluşan karışık karbonhidrat yapıları bebeği beslenmeye alıştırır. Sükroz takviyelidir. Osmolariteleri anne sütüne yakındır. Uygun miktarlarda verildiklerinde 4-6 aya kadar bebeğin beslenmesinde yeterlidirler (Özalp ve Köksal 1996).

Devam formülaları; 4-6 aydan sonra çocuğun ihtiyaçlarını karşılayacak veya destek olacak özelliktedirler. Fe içeriği arttırlılmıştır (Ertuğrul ve Neyzi 1993, Özalp ve Köksal 1996). Mama ile beslenen bebekler, anne sütü ile beslenen bebeklere göre daha çok kilo alırlar, ancak bu büyümeye doğal değildir (Yurdakök 1991).

İnek sütü; esasında bebeği ilk 4 ayda adapte süt dediğimiz ve bileşimi anne sütüne benzetilmiş endüstriyel sütler ile beslemek daha doğrudur. Ancak çok zorunlu hallerde ekonomik koşulları bozuk ailelerin çocukları anne sütü de alamıyorlarsa kısmen veya tam olarak inek sütü ile beslenmeye geçilir. İnek sütü yaşamın ilk ayları için hiç de uygun bir besin değildir (Arcasoy ve ark 1994).

Ek Besinlere Geçiş “Weaning” Dönemi: Weaning kelime olarak her ne kadar sütten kesme anlamına gelse de günümüzde anne sütü ile beraber ek gıdalara geçiş dönemini anlatır. Bu dönem uygun ve zamanında ek gıda desteği ile anne sütü beslenmesinin en az bir yıl devam ettirildiği bir dönemdir (Coşkun 1991).

Anne sütünün 4-6 ay tek başına çocuğun ihtiyaçlarını karşılayabildiği göz önüne alındığında ek gıdalara 4-6 ay arasında herhangi bir zamanda başlanabilir. Çocuğun ek gıdalara ihtiyacı olduğunun en iyi göstergesi büyümeye eğrisindeki sapmalardır. Bebeğin büyümesi izlenerek ek gıda verme zamanına karar verilebilir (Anderson 1985, Coşkun 1991).

Karışık Beslenme: Anne sütü alan bebeğe ek olarak başka sütlerin veya besinlerin de verilmesidir. Gelişmekte olan ülkelerin pek çoğunda ve ülkemizde, karışık beslenme çoğu kez gerçek bir endikasyon olmadan uygulanan yaygın ve zararlı bir gelenektir (Ertuğrul ve Neyzi 1993).

Birçok aile, karışık beslenmenin her çocuğa uygulanması gereken bir kural olduğuna inanır ve ilk 1-2 ay anne sütü ile beslenme uyguladıktan sonra günde bir veya birkaç öğün sulandırılmış inek sütü, su veya sulandırılmış sütle hazırlanmış muhallebi, bazen de formül mamalar ilave edilir. Bilinçsizce yapılan bu uygulamalar hem anne sütünün azalmasına hem de çocuğun sindirim bozukluklarına ve besinlerin temiz hazırlanmaması durumunda bağırsak enfeksiyonlarına yol açar (Ertuğrul ve Neyzi 1993).

Karışık beslenme için başlıca endikasyon; anne sütü ile beslenen ve herhangi bir sağlık sorunu olmayan bebeklerde tartışmasında duraklama ve bu durumun alınan tüm önlemlere karşı düzelmemesidir. Bunun dışında çalışan annelerin çocuklarında bazen karışık beslenmeye geçmek zorunlu olabilir (Ertuğrul ve Neyzi 1993).

Yeryüzündeki tüm insanlar sağlıklı bir yaşam sürdürmeyi, iyi beslenmiş ve yetişmiş, geleceğe umutla bakan çocuklar yetiştirmeyi amaçlar. Kişi ve toplum sağlığının gelişmesinde beslenmenin çok önemli bir yeri vardır. İyi beslenme; kişinin büyümesi, gelişmesi, beden ve ruh sağlığını sürdürmesi, hastalıklara özellikle de enfeksiyon hastalıklarına karşı dayanıklı olması için gereklidir (Bilgel 1997).

Beslenmenin kapsamlı ve uzun döneme yayılan yararları ne olursa olsun, insanların iyi beslenmelerinin sağlanması uluslararası yasa gereğidir. Bu yasallık, Çocuk Hakları Bildirgesi' nin benimsendiği 1924 yılından bu yana uluslararası bildirgelerde ve insan hakları belgelerinde çeşitli biçimlerde ifade edilmiştir (Bellamy 1998).

Bebek mamaları genellikle ilk 4 veya 6 ayı içerisinde olan ve anne sütü alamayan bebeklerin beslenme ihtiyacını karşılamak için bileşimi anne sütüne yakın olarak formüle edilen ürünlerdir (Anonim 1998).

Dünya Sağlık Örgütü, Gıda ve Tarım Örgütü (WHO, FAO) gibi kuruluşların 0-1 yaş grubu arasındaki bebeklerin beslenme konusuna bu dönemdeki bebeklerin yaşamsal sorunları ve ölümlerinin genel olarak bebeklerin beslenme problemlerinden kaynaklanması dolayısıyla çok önem verdikleri bilinmektedir (Alpsan 2008).

Codex Alimentarius tarafından hazırlanan spesifikasyonlarda, hazır toz mamaların içerisinde yer olması gereken besin elementleri ve ürün güvenliği açısından üründe bulunabilecek mikotoksin, ağır metal, pestisit, çeşitli patojen ve indikatör mikroorganizmalar ile ilgili önerilen sınırlamalar belirtilmiştir. Çizelge 1'de Codex Alimentarius tarafından önerilen mikrobiyolojik spesifikasyonlar verilmiştir (Anonim 2004b). Hazır toz bebek maması üretiminde sterilizasyon uygulanmadığı için bebek mamalarının önerilen mikrobiyolojik spesifikasyonları taşımaları son derece önemlidir.

Çizelge 1. Bebek mamaları için Codex Alimentarius tarafından önerilen mikrobiyolojik spesifikasyonlar^a (Anonim 2004b)

Durum	Örnekleme			Limit/g ^b		
	Planı	N	c	m	M	
Mezofilik aerobik bakteri	6	6	5	2	10 ³	10 ⁴
Koliform	6	6	5	1	<3 ^c	20
Salmonella ^d	12	12	60	0	0	-

^a Tüm kullanıma hazır sulandırılmış, kuru ve toz halindeki mamalar için

^b Kuru ürünler için uygulanan

^c <3, 3'lü tüp yöntemine göre hiç pozitif tüp olmamalı

^d Salmonella için 25 g örnek

Bebek mamalarının mikrobiyolojik kalitesini gösteren bakterilerden en önemlileri Koliform grubu bakterilerdir. Bu bakterilerden özellikle bebek mamalarında risk teşkil eden bakteri *Enterobacter sakazakii*'dır. Urmenyi ve Franklin *E.sakazakii*'nin 1961 yılında menenjit sebep olduğunu bildiren iki vaka olduğunu rapor etmiştir. Bununla birlikte bakterinin başta menenjit olmak üzere bazı nörolojik hastalıklara ve bağırsak iltihabı gibi rahatsızlıklara sebep olduğu belirlenmiştir (Hawkings ve ark. 1991).

Son on yılda özellikle yeni doğan yoğun bakım ünitelerinde başlıca menenjit olmak üzere sepsis, bakteriyemi ve nekrotizan enterokolit gibi değişik enfeksiyon belirtileriyle görülen hastalıklarla ilgili olarak yapılan izolasyon ve identifikasiyon çalışmaları neticesinde *E.sakazakii*'nin varlığı ortaya konulmuştur (Van Acker ve ark. 2001, Drudy ve ark. 2006, Polat ve Halkman 2007, Anonim 2008a).

Henüz tam olgunlaşmamış bağırsak yapısına sahip olan; prematüre, 28 günden daha küçük yaşta, 2 kg'dan az ağırlığa sahip ve medikal bakım gören bebekler *E.sakazakii* enfeksiyonu riski altındadırlar. Pek çok ülkede *E.sakazakii* enfeksiyonlarının çoğunun toz bebek mamaları ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Salgınlarda çoğunlukla yenidoğan bakım ünitelerinde gerçekleşmektedir (Anonim 2008a).

Dünya üzerinde şimdije kadar, 76 adet *E.sakazakii* enfeksiyonu vakası rapor edilmiştir. Bu salgınlarda hastalığa yakalanan bebeklerde ölüm oranı %40-80 ve hayatta kalanlar için süregelen sorunların nörolojik rahatsızlıklarla sonuçlanabildiği bildirilmiştir (Drudy ve ark. 2006, Mullane ve ark. 2006).

Kurutulmuş besinlerde özellikle ısı işlemi sonrasında kontamine olan oldukça fazla sayıda bakteri türü (*E.sakazakii*, diğer *Enterobacter* türleri, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* türleri) bulunmasına rağmen, *E.sakazakii* en sık rastlanılan tür olmuştur. Ayrıca diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinin bu besinlerde tespit edilmemesinin bu bakterinin bulunmadığı anlamına gelmeyeceği birçok araştırma sonucunda ortaya konmuştur. Özellikle yeni doğan bebeklerde *E.sakazakii*'nin sebep olduğu enfeksiyonların kaynağı ve bulaşma şekli tam olarak bilinmese de son yıllarda toz bebek mamalarının neonatal menenjitislerin başlıca sebebi olduğu bildirilmiştir (Anonim 2008a).

E.sakazakii, pek çok gıdada tespit edilmiş olmasına rağmen, güçlü bir ilişki sadece toz bebek maması arasında bulunmuştur. Bebek mamasının *E.sakazakii* ile kontaminasyonu doğrudan ve dolaylı yoldan olabilir. Doğrudan kontaminasyon bakterinin, üretimin bir aşamasında bebek mamasına bulaşmasından kaynaklanmaktadır. Dolaylı kontaminasyon bebek mamasının hazırlanması sırasında blender ve kaşık gibi kirli mutfak araçlarının kullanımından kaynaklanılmaktadır (Drudy ve ark. 2006).

FAO ve WHO tarafından organize edilerek Temmuz 2004'te İsviçre'de yapılan toz ve hazır bebek mamaları hakkındaki toplantıda bu bakterinin kaynağının, ekolojisi, taksonomisi ve diğer karakteristiklerinin daha iyi anlaşılması, dekontaminasyon için uygulanabilecek prosedürler, bulaşmayı engellemek için alınabilecek önlemler hakkında çalışmaların devam ettirilmesi ve ilgili standartlarda gereklirse bu mikroorganizmaya da yer verilmesine karar verilmiştir. Aynı toplantıda bebeklerde enfeksiyona neden olabilecek ve bebek mamalarında

bulunabilecek mikroorganizmalar tartışılarak bebek mamalarında oluşturdukları risklere göre A, B ve C olmak üzere üç sınıfta kategorize edilmiştir (Anonim 2004b, Forsythe 2005).

E.sakazakii ve *Salmonella*, bebek mamaları kaynaklı hastalıklar yaptıkları ve bebek mamalarından izole edildikleri epidemiyolojik ve mikrobiyolojik çalışmalar ile gösterildiğinden A sınıfında yer almışlardır (Anonim 2004b, Forsythe 2005).

Escherichia (Enterobacter) vulneris, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, bebeklerde hastalıklara neden oldukları halde bu hastalıklarda bebek mamalarının kaynak veya aracı olduğuna dair yeterli epidemiyolojik ve mikrobiyolojik veri olmadığı için B sınıfında yer almışlardır (Anonim 2004b, Forsythe 2005).

Clostridium botulinum, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* ise bebeklerde bebek mamalarından kaynaklı hastalıklarda etken olduklarına dair fazla bir bilgi bulunmadığı veya henüz gösterilemediği için C sınıfında yer almışlardır (Anonim 2004b, Forsythe 2005).

FDA, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki sağlık kuruluşlarını, toz bebek mamaları ile beslenen yeni doğan bebeklerde *E.sakazakii*'den kaynaklanan enfeksiyonun varlığı hakkında uyarmıştır (Anonim 2002). Türkiye'de satılan süt tozları, peynir altı suyu tozu, toz bebek mamaları, bebek ve küçük çocuk ek besinleri ve diğer gıdalarda bu bakterinin varlığı üzerinde yeterli bir çalışma bulunmamaktadır (Anonim 2008a).

E.sakazakii enfeksiyonlarının nadiren görülmesi nedeniyle, çoğu ülkede, bu problemin önemi bilinmemektedir. Çünkü birkaç gelişmiş ülke hariç, infant formülasyonlarından kaynaklanan *E.sakazakii* enfeksiyonu rapor edilmemiştir. Rapor edilmemiş olmasının nedeni, enfeksiyonun olmaması değil, dikkate alınmamasıdır (Anonim 2004b).

Bu araştırmada çeşitli bebek mamalarından alınan numunelerin bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal kontrolleri yapılip, *E.sakazakii* varlığı belirlenerek analiz sonuçlarının ülkemizde uygulanan yasal gıda mevzuatı kapsamında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Anne Sütü ve İkame Maddelerinin Özellikleri

Anne sütü ile beslenmenin (doğal beslenme) uygulanamadığı koşullarda genellikle inek sütünden üretilmiş, bileşimleri anne sütüne benzeyecek şekilde değiştirilmiş bebek mamaları kullanılabilir; doğal olmayan beslenme, yapay beslenme (Alpsan 2008). Doğal beslenme uygulanamayan, anne sütünün üstünlüklerinden yararlanmayan, bebek mama ile beslenen bebekte ek besinlere kesinlikle 4-6. ay arasında başlanmalıdır (Atlas 2006).

Ek besinlere başlamadan önce tek başına mama kullanımında adapte bebek mamaları, ek besinlerle mama kullanım döneminde inek sütüne daha yakınlaştırılmış devam mamaları kullanılır. Adapte bebek mamaları, Avrupa Birliği ve FDA (Food and Drug Administration – Gıda ve İlaç İdaresi)'nın kurallarına göre hazırlanmıştır. Avrupa Birliği kurallarına göre kullanımda kolaylık sağlamak için adapte mamalarının I, devam mamalarının da II olarak numaralandırılması önerilmiştir (Atlas 2006).

Ülkemizde kullanılan başlangıç (adapte) bebek mamaları da aynı standartları taşır. Bu nedenle belirtilen sınıflama dışında, aralarında ancak reklam amaçlı farklılıklar bulunmaktadır. Bebeğe tek başına adapte mama verildiği ilk 4-6 aylık dönemde, peynir suyu protein ağırlıklı herhangi bir formül seçilerek doğru kullanımının sağlanması önemlidir (Atlas 2006).

UNICEF Türkiye Milli Komitesi Ocak 2007 tarihli bülteninde Türkiye' de ilk 6 ay sadece anne sütü ile beslenen bebek oranı % 1,3 olarak belirtilmiştir (Anonim 2007).

1998 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması verilerine göre ülkemizde emzirme yaygın olup annelerin % 95' i bebeklerini değişen sürelerde kendi sütleri ile beslemişlerdir. Bebeklerin ilk ayında yalnız anne sütyle beslenme oranı % 14'tür (Anonim 2004a). TNSA-2003, altı aydan küçük çocuklarda biberon kullanım sıklığını % 37 olarak göstermektedir ve bu sıklık 8-9 aylık çocuklarda en yüksek seviyeye (%62) ulaşmaktadır (Yiğit ve Tezcan 2003).

TNSA-2003 verilerine göre altı aydan küçük ve emzirilen çocukların % 18'i hazır mama almıştır. Hazır mama kullanım oranı; 6-7 aylık bebeklerde % 32 iken, 8-9 aylık olanlarda diğer sıvı gıdaların verilmeye başlanması ile % 21'e düşmüştür (Anonim 2004a).

Ekim 2005 ile Kasım 2006 arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmada 445 bebek gözlenmiştir. Sadece anne sütü ile beslenenlerde enfeksiyon gelişimi diğer beslenme tipleri ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük tespit edilmiştir (Altay 2007). Çizelge 2.1.1.'de olguların 6 aylık süredeki beslenme durumu verilmiştir.

Çizelge 2.1.1. Olguların 6 aylık süredeki beslenme durumu (Altay 2007)

	Anne sütü		İnek sütü		Formül mama		Ek gıda	
	n	%	N	%	n	%	N	%
Hiç almamış	25	5,6	385	86,5	275	61,8	270	60,7
Almış	420	94,4	60	13,5	170	38,2	175	39,3

Anne sütü, insanlığın başlangıcından itibaren süt çocuğu (yaşamın ilk 12 ayı) için tek ve alternatifsiz gıda olarak yerini almıştır. 20. yüzyılın başlarında süt endüstrisinin gelişmesi ile adapte süt formüllerinin piyasaya çıkarılması, kentleşmenin ve çalışan kadın sayısının artması, hazır mama firmalarının reklam kampanyaları ile binlerce yıllık geleneksel beslenme tarzında değişimler gözlenmiştir (Atlas 2006). Bebek mamalarının hazırlanmasında başlıca protein kaynağı olarak inek sütü kullanılmaktadır (Morales ve ark. 2004). Çizelge 2.1.2.'de anne sütü ve inek sütünün bileşimi kıyaslamalı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.1.2. Anne sütü ve inek sütünün bileşimi (100 mL'de) (Thomas 1994)

Bileşen	Birim	Anne Sütü	İnek Sütü
Enerji	(kcal)	65-75	65
Protein	(g)	0,9	3,4
Yağ	(g)	4,1	3,9
Esansiyel yağ asitleri (linoleik / linolenik)		5/1	1/1
Karbonhidrat	(g)	7,2	4,6
Kalsiyum	(mg)	32-36	124
Fosfor	(mg)	14-15	98
Kalsiyum / Fosfor		2,3 / 1	1,3 / 1
Sodyum	(mg)	11-20	52
Potasium	(mg)	57-62	15
Klor	(mg)	35-55	98
Demir	(mikrogram)	62-93	50

Bebek mamalarında tiplerine bağlı olarak; mısır şurubu, laktوز, sakkaroz veya nişasta gibi şekerler karbonhidrat kaynakları olarak kullanılmaktadır (Morales ve ark. 2004).

Banos ve ark. (2000) gaz kromatografisiyle 5 ticari başlangıç mamasının mono ve disakkarit içeriğini incelemiştir. Mamalarda; maltoz (5,24-8,85 g/L), glukoz (1,06-2,41 g/L), laktوز (0-1,17 g/L), fruktoz (0-0,18 g/L), sakkaroz (0-0,07 g/L) ve maltuloz (0,12-1,07 g/L) saptamışlardır.

Laktoz anne sütü karbonhidratlarının en önemli bileşenidir. Anne sütünde inek sütüne oranla yüksek düzeydedir; 7,2 g/100 mL ve 4,6 g/100 mL (Öncü 2007).

Manglano ve ark. (2005), bebek mamalarında depolama sırasında yağ fraksiyonunun stabilitesini araştırdıkları çalışmada ortalama proteini % 11,2; ortalama karbonhidratı % 54,2; yağı % 29 olarak belirlemiştir.

Anne sütünün toplam protein içeriği (0,9 g/100 mL) inek sütüne (3,4 g/100 mL) oranla düşük ancak biyolojik değeri yüksektir ve yaşamın ilk altı ayında tek başına bebeğin protein gereksinimini karşılar (Öncü 2007).

Anne sütünde protein, sodyum, kalsiyum ve fosfor miktarları bebek mamalarına göre daha azdır (Chessex ve ark. 1983).

Anne sütü kalorisinin %50'sini sağlayan lipidler, anne sütünde, inek sütüne oranla daha yüksektir (4,1 g/100 mL ve 3,9 g/100 mL) ve küçük çaplı yağ globülleri halinde bulunur (Öncü 2007).

Alpsan (2008) yaptığı çalışmada başlangıç bebek maması örneklerinin ortalama % kurumadde değerini 97,13; ortalama % yağ değerini 2,49; ortalama toplam azot ve protein değerlerini sırasıyla % 1,70 ve % 10,85; sulandırılmış bebek mamalarının pH değerini ortalama 6,58 olarak bulmuştur.

Montilla ve ark. (2005), ticari süt örnekleri ve bebek maması içeren 27 örnekte pH değerlerini 6,6-6,8 arasında belirlemiştir. Michelle ve ark. (1999) toz bebek mamalarında ortalama 2,04 mg/g yağ bulmuşlardır.

Ferrer ve ark. (2000), başlangıç bebek mamalarının protein değerini % 11,6; karbonhidrat değerini (laktoz) %55; yağ değerini %28 olarak saptamışlardır.

Bebek mamalarının hazırlanmasında başlıca protein kaynağı olarak inek sütü kullanılır. Bundan dolayı genellikle bebek mamaları kazein ve peynir suyu proteinlerini içerir. Ayrıca, süt proteinlerine intolerant bebekler için soya fasülyesi proteini kullanılarak özel mamalar geliştirilmiştir (Morales ve ark. 2004).

Peynir suyu proteini ağırlıklı mammalarda (anne sütüne benzetilmiş) kazein/peynir suyu protein oranı 40/60; sodyum, protein, böbrek solüt yükü düşük; enerji içeriği anne sütündeki gibidir. Ek besinlerin başlanmadığı, tek başına mama kullanıldığı dönemde bu adapte formüller kullanılmaktadır (Atlas 2006).

Kazein ağırlıklı mammalarda (daha az modifiye) kazein/peynir suyu oranı 80/20, inek sütüne benzer; protein, sodyum ve böbrek solüt yükü inek sütünden fazla; enerji içeriği anne sütü gibidir. Süt çocukluğunun ilk döneminde bu mammaların kullanımı önerilmemelidir (Atlas 2006).

Süt proteinleri, insan beslenmesinde en iyi lisin kaynaklarından biridir. Bununla beraber, süt ürünleri bileşimindeki yüksek laktoz içeriği nedeniyle Maillard reaksiyonu tarafından protein yıkımına hassastır ve bu amino asidin yararlılığını azaltır (Malec ve ark. 2002).

Bebek mamaları yüksek karbonhidrat miktarı, lisince zengin proteinler, üretim sırasında uygulanan yüksek sıcaklık ve uzun sürelerde depolama gibi Maillard Reaksiyonuna oldukça hassas birçok faktörü içermektedir (Gonzales ve ark. 2003).

Bazı durumlarda anne sütünün inek sütü bazlı mammalarla ikame edilmesi veya desteklenmesi bazı rahatsızlıklara yol açabileceğinden iyi bir seçenek değildir. İnek sütü alerjisi görülme sikliğinin bebeklerde %8'e kadar ulaştığı belirlenmiştir. Çünkü inek sütünün temel protein fraksiyonları potansiyel antijenik ve alerjenik bileşiklerdir (Gurr 1981, Lo ve Kleinman 1996). Diğer taraftan bebeklerde her ne kadar laktoz intolerans çok sıklıkla görülmese de laktozun glikoz, fruktoz, misir şurubu veya maltodekstrin ile ikame edildiği bebek mammaları da bulunmaktadır (Gonzales ve ark. 2003).

Bebek mamalarının anne sütüyle aynı besinsel değere ulaşması için ciddi çalışmalar yapılmaktadır. Toz bebek mamaları, anne sütüne nazaran yüksek oranda; yağ, protein, mineral içerir. Toz bebek mamaların kullanımı sırasında su ile konsantrasyonları düşürülerek anne sütüyle aynı oranda yağ, protein, mineral içermesi sağlanır (Nazarowec-White ve Farber 1997a).

2.2. *Enterobacter sakazakii* ve Bebek Mamaları

Enterobacter sakazakii, *Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram negatif, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde, spor oluşturmayan, peritrik flagelllarıyla hareketli bir bakteridir. *E.sakazakii* önceleri *Enterobacter cloacae*'nın sarı pigment veren bir tipi olarak tanımlanırken, 1980 yılında DNA-DNA hibridizasyonu, biyokimyasal reaksiyonları, pigment üretimi ve antibiyotik duyarlılıklarındaki farklılıklar nedeniyle yeni bir tür olarak adlandırılmıştır (Farmer ve ark. 1980, Drudy ve ark. 2006, Gültekin ve Demirel 2006). Çizelge 2.2.1.'de Fırsatçı *Enterobacter* türlerinin biyokimyasal özellikleri kıyaslamalı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.2.1. Fırsatçı *Enterobacter* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Steigerwalt ve ark. 1976)

Test	Reaksiyon				
	<i>E.sakazakii</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>E.agglomerans</i>	<i>E.ergoviae</i>
Lisin dekarboksilaz	-	-	+	-	+
Fermentasyon	Arjinin dihidrolaz	+	+	-	-
	Ornitin dekarboksilaz	+	+	+	+
	KCN'de üreme	+	+	+	v
	sakkaroz	+	+	+	(+)
	dulsitol	-	(-)	-	(-)
	adonitol	-	(-)	+	-
	rafinoz	+	+	+	v
	D-sorbitol	-	+	+	v
	x-metil-D-glukozid	+	(+)	-	-
	D-arabitol	-	(-)	+	+
Sarı pigment oluşumu	+	-	-	(+)	-

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

Iversen ve ark. (2004b), *E.sakazakii*'nin filogenetik ilişkilerini araştırdıkları çalışmalarında suşların, taksonomik heterojenlik gösteren dört gruba ayrıldıklarını ve 16S rDNA dizisinin, *Citrobacter roseri* ile %97,8 *E. cloacae* ile %97,0 oranında benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

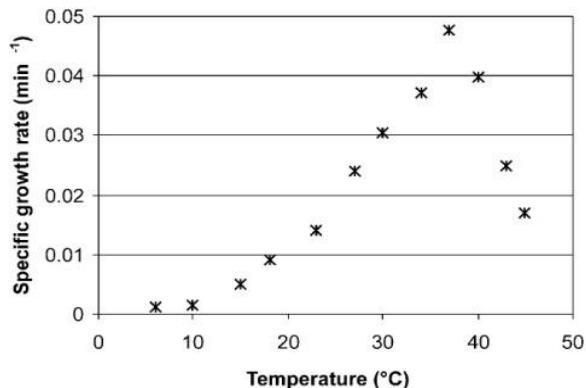
Katı besiyerinde düzgün ve parlak veya lastiğimsi ve mat yapıda iki farklı morfolojide koloni oluşturmaktadır. Koloni tipleri suşa ve besiyerine bağlı olarak değişmektedir. Bu farkın fenotipik veya genotipik özelliklerle veya virulans özellikleri ile bir ilişkisi olup olmadığı konusunda kesin bir bilgi yoktur (Iversen ve Forsythe 2003).

E.sakazakii, Tripton soy agar, Brain Heart Infusion agar ve kanlı agarda 48-72 saat içerisinde sarı pigmentli koloniler oluşturur. Bakterinin 25°C'de 24 ve 48 saatteki inkübasyon sonrası oluşturduğu koloni çapları sırasıyla 1-1,5 ve 2-3 mm; 36°C'de 24 saatlik inkübasyon sonrası oluşan koloni çapları 2-3 mm olduğu bildirilmiştir. Ayrıca suşa bağlı olarak pigment üretiminin değiştiği belirtilmektedir (Farmer ve ark. 1980, Nazarowec-White ve Farber 1997a, Iversen ve Forsythe 2003).

Enzim aktiviteleri ile ilgili yapılan çalışmalarda *E sakazakii*'nin diğer *Enterobacter* türlerinden farklı olarak α -glukosidaz ve tween esteraz aktivitesi gösterdiği, buna karşın diğer türlerde görülen fosfoamidaz enzimini üretmediği bildirilmiştir (Muytjens ve ark. 1984, Iversen ve Forsythe 2003).

Oda sıcaklığında tutulmuş toz bebek mamasındaki *E.sakazakii* canlılığının incelendiği bir araştırmada, 10^6 kob/g düzeyinde *E.sakazakii* içeren toz bebek mamaşı 2 yıl süre ile depolanmıştır. Depolamanın ilk 5 ayında popülasyonun 2,4 log azaldığı, bu süreyi takip eden 19 ay boyunca popülasyonun 1 log daha azaldığı belirlenmiştir (Edelson-Mammel ve ark. 2005). Bu durum, *E.sakazakii*'nin toz bebek mamasında uzun süreler boyunca canlı kalabileceğini göstermektedir. Bakterinin bu gibi koşullar altında 2 yıla varan süreler boyunca yaşamını sürdürmesinin, kapsül oluşumuna bağlanabileceği öne sürülmüştür. *E.sakazakii*'nin, ortamdaki azot kaynağı sınırlı olduğunda kapsül ürettiği ve kapsülü; organizmanın yüzeye tutunması ve biyofilm oluşturmrasında, dezenfektan ve temizleme ajanlarına dirençli olmasında önemli rolü olduğunu belirtmişlerdir (Iversen ve Forsythe 2003).

Geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilen bakterinin ($6\text{-}47^{\circ}\text{C}$) farklı suşlarının üreyebildiği en düşük sıcaklıklar $3,4^{\circ}\text{C}$; $5,5^{\circ}\text{C}$ ve $5,7^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir (Lehner ve Stephan 2004). Şekil 2.2.'de bebek mamasında *E.sakazakii* NCTC11467'nin sıcaklığa bağlı gelişim hızı görülmektedir.



Şekil 2.2. Bebek mamasında *E.sakazakii* NCTC11467'nin sıcaklığa bağlı gelişim hızı (Iversen ve ark. 2003)

E.sakazakii'nin 23°C 'deki ortalama generasyon süresi 40 dk olarak belirtilirken, 21°C 'deki bebek mamasındaki generasyon süresinin yaklaşık 75 dk olduğu bildirilmiştir (Iversen ve Forsythe 2003, Lehner ve Stephan 2004).

Skladal ve ark. (1993) karton UHT sütlerde yaptıkları çalışmada; 500 mL sütü 10-15 adet *E.sakazakii* ile kontamine edip 30°C 'de inkübasyona bırakmış, inkübasyon sonrası bakteri sayısında etkili bir artış gözlemlenmiştir; süt, bakteri tarafından D-lactate üretildiğinden asitlenmiştir.

Lehner ve Stephan (2004) *E.sakazakii* suşlarının 10°C 'deki ortalama generasyon süresini 4,98 saat olarak tespit etmiştir. Iversen ve Forsythe (2003) ise toz bebek mamalarında yaptıkları çalışmalarında organizmanın 10°C 'deki generasyon süresinin 10 saatte yakın olduğunu, bu nedenle buzdolabı koşullarında da canlılığını sürdürdürebildiğini belirtmektedir. Tespit edilen sürelerdeki farklılıkların suş, kullanılan ortam ve yönteme bağlı olduğu bildirilmektedir. Çizelge 2.2.2'de farklı sıcaklıklardaki bebek mamasında *E.sakazakii*'nin generasyon süresi verilmiştir.

Çizelge 2.2.2. Farklı sıcaklıklardaki bebek mamasında *E.sakazakii*'nin generasyon süresi (Rosset ve ark. 2007)

Farklı Sıcaklıklardaki Bebek Mamasında <i>E.sakazakii</i> 'nin Generasyon Süresi					
Referanslar	6 °C	10 °C	21 °C	23 °C	37 °C
Iversen ve ark. (2004a)	13,7		1,7		0,31
Nazarowec ve Farber (1997c)		5,52		0,65	0,35
		4,79		0,85	
		5,06		0,73	
		5,12		0,67	
		4,22		0,66	
		4,18		0,61	
		4,20		0,67	
		4,15		0,66	

Nazarowec-White ve Farber (1997b) hazır toz bebek mamalarında yaptıkları çalışmada *E.sakazakii*'nin desimal redüksiyon zamanı; D 52°C değerini 54,8 dk ve D 60°C değerini 2,5 dk olarak tespit etmişlerdir. Çizelge 2.5.'te bebek mamalarında *E.sakazakii* İçin D ve Z değerleri sunulmuştur. Edelson-Mammel ve Buchanan (2004) 12 farklı suş ile yaptıkları denemelerinde D 58°C değerlerinin 30,5-591,9 sn arasında değiştiğini saptamışlardır.

Iversen ve ark. (2004a) sulandırılmış toz bebek maması içindeki *E.sakazakii* için D değerlerini araştırmışlar ve standart suş için, 54; 56; 58; 60 ve 62 °C'de sırasıyla 16,4; 5,1; 2,6; 1,1 ve 0,3 dk'lık D değerleri bildirmiştir. Buna göre bebek mamasının HTST pastörizasyonu (71,2 °C'de 15 s) ile *E.sakazakii* hücreleri yeterince inaktive edilebilmektedir.

Breeuwer ve ark. (2003) durağan evredeki 5 adet *E.sakazakii* suşunun 58°C'deki D değerlerinin, 0,48 dk'lık bir ortalamayla 0,30 ile 0,60 dk arasında olduğu bildirilmiştir. Diğer çalışmalarda *E.sakazakii*'nin sulandırılmış bebek mamasındaki termal direnci test edilirken, bu çalışmada disodyum hidrojen fosfat/ potasyum dihidrojen fosfat tamponu kullanılmıştır. Bu çalışmada, ısıtma ortamı bileşiminin D değerlerinde önemli olduğu, bebek mamasındaki yükseltilmiş yağ, protein ve karbohidrat içeriğinin *E.sakazakii*'yi termal inaktivasyondan koruyabileceği, dolayısıyla daha yüksek D değerlerinin elde edileceği sonucuna varılmıştır. Çizelge 2.2.3.'te Bebek mamalarında *E.sakazakii* İçin D ve Z değerleri sunulmuştur.

Çizelge 2.2.3. Bebek mamalarında *E.sakazakii* İçin D ve Z değerleri (Rosset ve ark. 2007, Kaya ve Heperkan 2009)

Bebek Mamalarında *E.sakazakii* İçin D ve Z Değerleri

D Değeri (dk) 56°C	Z Değeri (°C)	Referanslar
5,1	5,8	Iversen ve ark. (2004a) _a
3,9	5,7	Iversen ve ark. (2004a) _b
9,75	5,6	Nazarowec ve ark. (1997b) _c
18,5	5,6	Edelson ve ark. (2004)

a)Vejetatif formundan elde edilen değerler

b)Kapsülü formundan elde edilen değerler

c)Gidalardan izole edilen suşlar için değerler

Kindle ve ark. (1996), bebek mamasının biberonlarda 85-100 s boyunca 82-93 °C'de mikrodalgada ısıtmasının, *E.sakazakii* sayısında >4 log kob/mL'lik bir indirgeme sağlayabileceği bildirilmiştir. Sağladığı ıslık işlem etkisi nedeniyle, sulandırılmış bebek mamasının yeniden ısıtılmrasında geleneksel yöntemlerin yerine mikrodalga kullanılmasını tavsiye etmişlerdir.

E.sakazakii'nin asit pH'ya önemli ölçüde direnç gösterdiği belirlenmiştir. Edelson-Mammel ve ark. (2006), HCl ile pH 3,0 ve 3,5'e ayarlanmış Tryptic Soy Brothda (TSB) 12 *E.sakazakii* suşunun canlı kalma düzeylerini incelemiştir. On iki suştan onunun, 37°C'de 5 saatten fazla bir sürede 1 logaritmdan az düşüş gösterdiği, pH 3,0'da TSB'deki indirgemenin 4,9->6,3 log kob/mL düzeyinde olduğu belirtilmiştir.

Breeuwer ve ark. (2003), *E.sakazakii*'nin durgun fazda ozmotik basıncı ve kurutmaya diğer *Enterobacter* türlerinden daha dirençli olduğunu bildirmiştir.

Nazarowec-White ve Farber (1999), gıda suşlarından 5/8'inin, klinik suşlardan da 8/9'unun yalnızca sülfisoksazol ve sefalotine karşı dirençli olduğu belirlemiştir. Diğer klinik suşun tüm ajanlara karşı duyarlılık gösterdiği, diğer üç gıda izolatının ise kloramfenikole dirençli olduğu saptanmıştır.

Kuzina ve ark. (2001), Meksika meyve sineklerinin bağırsaklarından izole edilen *E.sakazakii*'nin, ampisilin, sefalotin, eritromisin, novobiyosin ve penisiline karşı dirençli olduğunu belirlemiştir. Muytjens ve ark. (1983), araştırdıkları vakalardaki *E.sakazakii* izolatlarının in vitro testlerde ampisilin, gentamisin, kloramfenikol ve kanamisine duyarlılık göstermesine rağmen, sekiz hastadan altısının yetersiz cevap verdiği ve öldüğünü rapor etmişlerdir.

Edelson-Mammel ve Buchanan (2004) tarafından 12 *E.sakazakii* suşunun termal direncinin incelendiği araştırmada, sulandırılmış bebek maması yaklaşık 8 log kob/mL düzeyinde *E.sakazakii* ile aşılanmış ve 56, 58, 60, 65 ve 70 °C'de ıslık işlem uygulanmıştır. izolatlar arasında termal dirençlilik açısından yaklaşık 20 kata varan farklar olduğu belirlenmiştir. ATCC 51329 suşunun en düşük termal dirence sahip suş olduğu, en yüksek termal dirence sahip suşun ise klinik bir izolat olduğu saptanmıştır.

Caubilla-Barron ve ark. (2004), *E.sakazakii*'nin 9 klinik ve 1 gıda izolatının toz bebek mamasında canlılık düzeyini inceledikleri çalışmalarında ilk 6 ay içinde 2-4 log ve sonrasında 4-7 log düzeyinde bir azalma olduğu belirlemiştir (Gurtler ve ark. 2005).

Bebek mamalarında *E.sakazakii* inaktivasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, anne ve inek sütünde doğal olarak bulunan kaprilik asidin monogliseric esterinin (monokaprilin) sulandırılmış bebek mamalarında *E.sakazakii* üzerine antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Araştırmada, monokaprilin içeren sulandırılmış bebek mamaları 6 log kob/mL düzeyinde *E.sakazakii* ile aşılanmış ve 4, 8, 23 ve 37 °C sıcaklıkta inkübasyona tabi tutulmuş ve inkübasyonun 0, 1, 6, 24 ve 48 saatlerinde canlılık düzeyleri belirlenmiştir. Bebek mamalarında 23 ve 37 °C'de inkübasyonun 1. saatinde *E.sakazakii* popülasyonunda >5 log kob/mL düzeyinde indirgeme sağlanmıştır. Araştırma sonunda FDA tarafından GRAS olarak değerlendirilen monokaprilinin, sulandırılmış bebek mamalarında *E.sakazakii* inaktivasyonunda potansiyel olarak kullanılabileceği ancak duyusal çalışmalar ile bu uygulamanın desteklenmesi gerektiği vurgulanmıştır (Nair ve ark. 2004).

Kindle ve ark. (1996), elektromanyetik radyasyonun (2450 MHz) *E.sakazakii* ATCC 29544 suşu ve diğer iki suş üzerindeki etkilerini incelemiştir. Test bakterileri, 5 log kob/mL'lik bir popülasyonda sulandırılmış beş farklı toz bebek mamasına aşılanmış ve mamalar ilk kaynama belirtilerine kadar mikrodalga fırında ısıtılp, ardından soğutulmuştur. Beş örnekten dördünün *E.sakazakii* için negatif sonuç verdiği, bir mama örneğinin ise 20 kob/mL düzeyinde *E.sakazakii* içerdiği saptanmıştır.

E.sakazakii'nin temel çevresel kaynaklarının su, toprak ve sebzeler olduğu, ikincil bir kontaminasyon yolunun da sinekler ve kemirgenler gibi vektörler olabileceği belirtilmiştir (Iversen ve Forsythe 2003).

Muytjens ve Kollee (1988) tarafından yapılan bir araştırmada *E.sakazakii*'nin yüzey sularından, toprak, çamur, tahıllar, sürüngenler evcil hayvanlar sıçırlar ve çığ inek sütünden izole edilemediği belirtilmiştir. Daha sonra yapılan bir çalışmada gölde yüzen yetişkin bir bayanda bu bakterinin neden olduğu vaginal bir infeksiyon görülmesi, *E.sakazakii*'nin ılık yüzey sularında yaşayabildiğini ortaya koymuştur (Iversen ve Forsythe 2003).

E.sakazakii'nin doğal gelişme ortamı tam bilinmemekle birlikte, *Enterobacteriaceae* familyasının diğer türleri gibi insan ve hayvan bağırsağında ve çevrede bulunmaktadır. Bakteriye sağlıklı insanların bağışıklarında da rastlanabilmektedir (Anonim 2004b).

Organizmanın hayvansal kaynakları ile ilgili ilk ipucu, bu bakterinin bazı böceklerin ve sineklerin sindirim sisteminden izole edildiğinin rapor edilmesi olmuştur. Özellikle *Stomoxys calcitrans* sineğinin dünyadaki yayılışı ile *E.sakazakii* enfeksiyonlarının rapor edildiği bölgeler arasında yüksek korelasyon olduğu belirtilmektedir. Bu da *E.sakazakii* kontaminasyonunda bu sineklerin de önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Lehner ve Stephan 2004).

Yapılan çalışmalarda gıda ve içeceklerde *E.sakazakii*'nin bulaşabileceği, bulaşma kaynaklarının da infant formülasyonları, mamaların hazırlanmasında kullanılan kaşık ve karıştırıcı, süt tozu, su, pirinç, kürlenmiş et, fermenteli ekmek, salata, tofu, peynir, kıyma, sucuk ve sebzeler olabileceği bildirilmektedir (Iversen ve Forsythe 2003). Çizelge 2.2.4.'te *E.sakazakii*'nin izole edildiği çevresel ve klinik kaynaklar verilmiştir.

Çizelge 2.2.4. *E.sakazakii*'nin izole edildiği çevresel ve klinik kaynaklar (Iversen ve Forsythe 2003)

Yeni Doğanlar	Yetişkinler	Çevre	Gıda
Menenjit	Bakteriyemi	Klinik malzemeleri	Yeni doğanlar için süt tozu
Bakteriyemi		Hastane havası	
Kangrene yol açan bağırsak iltihabı		Sinekler	Kullanılan ekipmanlar (blender, kaşık gibi)
Yara, Apandisit		Sıçanlar	
Konjonktiv iltihabı		Toprak	Süt tozu
		Rizosfer	Su, boru hattı & biofilm
		Bataklık	Hidrotermal su
		İşlenmemiş yağ	Pirinç
			Bira bardağı
			Tütsülenmiş et
			Fermente ekmek
			Marul
			Tofu
			Ekşi çay (sour tea)
			Peynir, kıyma, sosis, sebzeler

Analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ve bu bakteri üzerinde yapılan araştırmaların artması ile *E.sakazakii*'nin peynir, fermente ekmek, tofu, ekşi çay, kürlenmiş ve fermente et ürünleri kıyma vb. gibi ürünlerden izole edildiği bildirilmektedir. Khamir ekmeği adı verilen bir ürünüde kullanılan sorgum çekirdeklerinin yüzey mikrobiyotasında ve pirinç kabuklarında da *E.sakazakii*'nin yer aldığı bildirilmiştir (Lehner ve Stephan 2004).

UHT süt fabrikasındaki üretim alanından ve sütten izole edildiği belirtilmektedir (Lehner ve Stephan 2004). Kandhai ve ark. (2004) *E.sakazakii*'yi süttozu üretim tesislerinden (9 örneğin 8'i) ve ev tipi elektrik süpürgesinden (16 örneğin 5'i) izole etmişlerdir. Yapılan araştırmalarda bira bardakları, süt tozu ve çikolata fabrikalarından *E.sakazakii* izole edildiği saptanmıştır (Forsythe 2005).

E.sakazakii'nin bebek mamalarına bulaşma kaynakları; gıda formülasyonlarında kullanılan hammaddeler, pastörizasyon sonrası gıdalara ilave edilen katkılar ve beslenme öncesindeki hazırlık aşaması olarak özetlenmektedir (Anonim 2004b).

Organizmanın fekal yolla taşıdığı henüz gösterilmemiştir ve mama hazırlanışı sırasında kontaminasyon düzeyinin ne kadar olduğu konusunda yeterli veri yoktur. Ancak, personelin temel hijyenik kuralları ihmal etmesi salgıların temel kaynağı olarak kabul edilmektedir (Forsythe 2005).

Organizmanın izole edildiği klinik kaynaklar arasında omurilik sıvısı, kan, kemik iliği, idrar, balgam, bağırsaklar, solunum sistemi, göz, kulak, deri üzerindeki yaralar ve dışkı yer almaktadır. Ayrıca hastane ortamında mama hazırlanmasında kullanılan blender, kaşık vb araçlardan, doktor steteskobundan izole edildiği bildirilmiştir (Iversen ve Forsythe 2003).

Beş neonatal menenjit vakasından oluşan bir salgında, bebek mamasını hazırlamak için kullanılan bir karıştırma kaşığı ve bir tabak fırçasından ve hazırlanmış bebek mamasından *E.sakazakii* izole edilmiştir (Muytjens ve ark. 1983).

Yapılan çalışmalar gıdaların da kontaminasyon kaynağı olduğunu göstermektedir. Muytjens ve ark. (1988) 35 ülkeden toplam 141 devam sütü tozu örneğinin % 52,2'sinde *E.agglomerans*, *E.cloacae*, *E.sakazakii* ve *Klebsiella pneumoniae* belirlenmiştir. Toplam 141 örneğin 20'sinde ise farklı düzeylerde (0,36–66 kob/100 g) *E.sakazakii* tespit edilmiştir. Bu düzey, yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki bir salgın sırasında kullanılmış olan açık bir toz mama kutusu için Simmons ve ark. (1989)'nin belirlediği 8 hücre/100 g'lik değere yakındır.

Üzüm (2006) Ankara'da tüketime sunulan 100 adet çiğ süt örneği ile ilgili yaptığı çalışmada elde ettiği 115 izolattan 17'sini *Enterobacter* (11 *E.sakazakii*, 6 *E. cloacae*) olarak tanımlamıştır.

Kanada'da piyasaya sunulmuş toz bebek mamaları ile ilgili yapılan bir çalışmada, analiz edilen 120 örneğin 8'inin (% 6,7) *E.sakazakii* açısından pozitif bulunduğu rapor edilmiştir. Pozitif örneklerdeki *E.sakazakii* düzeylerinin sıklıkla 0,36 kob/100 g civarında olduğu belirtilmiştir (Nazarowec-White ve Farber 1997c).

Iversen ve Forsythe (2004) toplam 82 infant süt tozu ve 404 adet gıdaörneğinde, *E.sakazakii* varlığını araştırmış ve 82 örnekle 2'sinde, 49 kurutulmuş infant gıdasının 5'inde, 72 süt tozu örneğinin 3'ünde, 62 peynir ve kuru gıda bileşeninin 2'sinde, 122 bitki ve baharatın 40'ında *E.sakazakii* tespit etmişlerdir. Shaker ve ark. (2007), 106 örnekte yaptıkları çalışmada; 15 toz gıda ürününün 2'sinde ve 8 toz bebek mamasının 2'sinde *E.sakazakii* izole etmişlerdir.

Heuvelink ve ark. tarafından toz bebek maması ve süt tozu örneklerinde 25 g'da *E.sakazakii* var/yok testi yapılmış, incelenen 170 süt tozu örneğinin 7'sinde ve 40 toz bebek mamasının 1'inde *E.sakazakii* belirlenmiştir (Gurtler ve ark. 2005). Bebek maması, kurutulmuş bebek gıdası ve süttozu örneklerinden *Salmonella* izole edilmemiştir. Mama ve süttozunun, *Salmonella* kontrolü ile gözlem altında tutularak hijyenik üretiminin ve *Enterobacteriacea* sayımının *E.sakazakii*'yi kontrol altına almadığı sonucuna varılmıştır. Yapılan başka bir araştırmada 58 bebek maması örneğinin 8'inde (%13,8) *E.sakazakii* belirlenmiştir (Leuschner ve ark. 2004).

Van Acker ve ark. (2001) 1998'de Belçika'da nekrotizan enterokolit görülen 12 bebeğin etkilendiği bir *E.sakazakii* salgını bildirmiştir. Bu salgında *E.sakazakii* toz bebek mamasından hazırlanan sıvı formülden izole edilmiştir. Belçika'da 2002 yılında ticari olarak piyasa sürülmüş bir bebek maması tüketiminin ardından *E.sakazakii* kaynaklı menenjit nedeniyle bir bebek hayatını yitirmiştir. Hastalığın bulaştığı bebek mamasında düşük değerlerde *E.sakazakii* belirlenmesinin ardından ürün piyasadan toplatılmıştır.

Haziran 2004'te Yeni Zelanda'da erken doğan bir bebekte *E.sakazakii* kaynaklı menenjit belirlenmiş ve vaka ölümle sonuçlanmıştır. Bunun ardından yürütülen incelemede neonatal yoğun bakım ünitesinde diğer 4 bebeğin de bu mikroorganizmayı taşıdığını ortaya çıkarmış ancak bebeklerden hiçbirinin durumu kötüleşmemiştir. İnceleme sonunda, mikroorganizmanın kaynağının kullanılan bebek maması olduğu öne sürülmüştür (Drudy ve ark. 2006).

Daha önce hiç açılmamış bebek maması kutularından alınan örneklerden de *E.sakazakii*'nin izole edilmiş olması nedeniyle, toz bebek mamalarının ticari üretiminde pastörizasyon sonrası kontaminasyonun meydana geldiği sonucunun çıkacağı bildirilmektedir (Himelright ve ark. 2002).

Pagotto ve ark. (2003) *E.sakazakii*'nin klinik ve gıda izolatlarını kullanarak patojenitesi ve potansiyel virulans faktörlerini belirlemek için yaptıkları araştırmada 18 *E.sakazakii* suşundan (sekiz gıda, dokuz klinik, bir ATCC 29544) 4'ünün enterotoksin ürettiğini bulmuşlardır. Bazı suşların ise patojenik olmadıkları belirlemişlerdir (Anonim 2004b, Lehner ve Stephan 2004).

Bakterinin bulaşma kaynağı ve şekli tam olarak bilinmemekle birlikte, yeni doğanlarda menenjit, septisemi, kangrene yol açan enterokolite neden olduğu bildirilmiştir. Bebeklerin çoğunun enfeksiyona yakalandıktan sonra birkaç gün içinde öldüğü ve ölüm oranının % 40-80 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Anonim 2001).

Bebeklerde menenjit ve septisemide görülebilecek semptomlar; Ateş, yemek yemeyi reddetme veya kusma, soluk lekeli cilt, halsizlik, tepkisizlik, uykı hali, uyanmada güçlük, huysuzluk kucağa alındığında huzursuz olma, olağan dışı ağlama, lekeler veya kızarıklıklar, hızlı soluk alıp verme ve hırıldamadır (Anonim 2008b).

Nekrotizan Enterokolit'in semptomları; Apne/ solunum sıkıntısı, halsiz görünüm, beslenme intoleransı, ısı dengesizliği, safraaltı kusma, mide boşalımının gecikmesi, kanlı ishaldır (Ceylan ve ark. 1998).

Pagotto ve ark. (2003), süt emen fare modelini kullanana kadar, *E.sakazakii* 'nin minimum infektif dozunu, öldürücü dozunu veya virülensliğini belirli bir biçimde gösteren hiçbir hayvan modeli tanımlanmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *E.sakazakii* 'nin, ağız yoluyla veya peritonlar arası aşılanmış süt emen fareler için patojenik olduğunu ve enterotoksin benzeri bir bileşen üretmeye yetkin olduğunu bulmuşlardır. Bugüne kadar *E.sakazakii* enfeksiyonu saptanmış 76'dan fazla neonatal vakada infektif doz belirlenememiştir.

E.sakazakii'nin infektif dozu hakkında epidemiyolojik veriler olmadığı için *Neisseria meningitidis*, *E.coli O 157:H7* ve *L. monocytogenes*'de olduğu gibi minimal infektif dozun 1000 adet hücre olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir. Bu dozun mikroorganizmanın geçmişine, konağın durumuna ve gıda matriksine göre değişiklik gösterebileceği belirtilmektedir (Muytjens ve ark. 1988, Nazarowec-White ve Farber 1997a, 1997b, 1997c).

Hazır toz mammalarda 0,36 kob/100g düzeyinde *E.sakazakii* bulunduğu ve bir besleme sırasında 18 g toz mama (115 mL suyla sulandırılmış) kullanıldığı varsayılrsa bu doza ulaşılabilmesi için rekonstüte formülü 9 gün 8°C'de veya 17,9 saat oda sıcaklığında tutulması gerektiği bildirilmiştir. Hesap yapıılırken bakterinin mamanın hazırlanışı sırasında kullanılan sıcak su nedeniyle ölmemiği ve midede çoğalmadığı varsayılmıştır (Muytjens ve ark. 1988, Nazarowec-White ve Farber 1997a, 1997b, 1997c). Çizelge 2.2.5'te *E.sakazakii*'nin çeşitli sıcaklıklardaki sulandırılmış bebek mamasında enfeksiyon yapacak doza ulaşması için geçen süre verilmiştir.

Çizelge 2.2.5. *E.sakazakii*'nin çeşitli sıcaklıklardaki sulandırılmış bebek mamasında enfeksiyon yapacak doza ulaşması için geçen süre (Forsythe 2002)

Sıcaklık °C	Enfeksiyon Yapabileceği Doza Ulaştığı Süre
10	7,9 Gün
18	1,7 Gün
21	17,9 Saat
37	7 Saat

E.sakazakii, genel olarak tüm yaş gruplarında hastalığa neden olabilmektedir. Ancak yaş dağılımına bakıldığından özellikle bir yaşıdan küçük çocukların risk altında olduğu görülmüştür (Anonim 2004b). *E.sakazakii* ile enfekte çocukların % 50'sinin 1 haftalıkta, %75'inin ise 1 aylıktan daha küçük olduğu bildirilmektedir (Lai 2001).

E.sakazakii enfeksiyonları bebeklerde hayatı tehlike oluşturan menenjit, sepsis ve nekrotizan enterokolit vakalarının önemli bir sebebidir Yetişkinlerde ise çok daha az sayıda *E.sakazakii* enfeksiyonu bildirilmiş ve genellikle hayatı tehlike oluşturmadığı saptanmıştır (Nazarowec-White ve Farber 1997a, Drudy ve ark. 2006, Polat ve Halkman 2007).

A.B.D'de yapılan bir araştırmada bir yaşın altında bu bakteriyle infekte olanları oranının yüz binde 1 olduğu, düşük kiloda doğanlarda ise bu oranın yüz binde 8,7'ye çıktıgı belirtilmiştir (Lehner ve Stephan 2004).

Yeni doğanlar arasında en riskli grubun prematüre bebekler olduğu belirtilmiştir. Bunun nedeni yeni doğanların özellikle de prematürelerin mide asitliğinin yetişkinlere nazaran daha düşük olması ve bu nedenle bakterinin uzun süre canlı kalabilmesi olarak gösterilmektedir. Ayrıca HIV pozitif annelerin bebekleri bağıışıklık sistemleri daha zayıf olduğundan enfeksiyona daha duyarlı olabilmektedir (Anonim 2004b). Ancak, İzlanda'da sağlıklı, zamanında doğmuş bir bebeğin, hastaneden çıkarılmadan önce hasta olduğu ve *E.sakazakii* enfeksiyonunun kalıcı nörolojik bozukluklara neden olduğu bildirilmiştir. Yeni doğmuş bebeklerde enfeksiyon riskini artırmaya katkıda bulunan faktörler, prematüre doğum ve düşük doğum ağırlığıdır (Gurtler ve ark. 2005, Drudy ve ark. 2006).

Menenjit, neonatal *E.sakazakii* enfeksiyonlarında rapor edilen en sık görülen durumdur. *E.sakazakii* menenjiti için bebek ölüm oranının %40-80 arasında olduğu, ölümün genellikle enfeksiyonun birkaç saat içinde gerçekleştiği ve hayatı kalanlar için süregelen sorunların nörolojik rahatsızlıklarla sonuçlanıldığı bildirilmiştir (Drudy ve ark. 2006).

Pek çok neonatal *E.sakazakii* menenjiti vakasının yeni doğmuş bebeklerde en yaygın görülen gastrointestinal hastalık olan nekrotizan enterokolitle bir ilişkisi olabileceği bildirilmiştir. Hastalık; yaklaşık %2-5 oranında prematüre bebeği etkilerken, %10-55'inde ölümeye yol açmaktadır. Anne sütüyle beslenmiş bebeklere kıyasla, bebek mamasıyla beslenmiş bebeklerde nekrotizan enterokolitin 10 kat daha yaygın olduğu belirtilmiştir (Gurtler ve ark. 2005, Drudy ve ark. 2006).

Massachusetts Üniversitesi Tıp Merkezi'nde (1994-1996 yılları arasında) septisemili hastaların %3,6'sı, 1996'da septisemili hastaların %0,4'ü *E.sakazakii* bakımından pozitif bulunmuş, 1995-1996 yıllarında, beş vakada nozokomiyal *E.sakazakii* enfeksiyonu teşhis edilmiştir (Lai 2001).

Yenidoğanların da dahil olduğu 4 yaşından küçük çocuklarda, en az 76 enfeksiyon vakası ve 19 ölüm vakası bildirilmiştir (Iversen ve Forsythe 2003). Çizelge 2.2.6.'da dünya üzerinde *E.sakazakii*'nin neden olduğu salgınlar ve kaynakları verilmiştir.

Çizelge 2.2.6. Dünya üzerinde *E.sakazakii*'nin neden olduğu salgınlar ve kaynakları (Mullane ve ark. 2006, Barron ve ark. 2007)

Yıl	Ülke	Vaka Sayısı (Ölüm Sayısı)	Ölüm Oranı %	Bulaşma Kaynağı
1958	İngiltere	2 (2)	100	Bilinmiyor
1958	Danimarka	1 (1)	100	Bilinmiyor
1958	A.B.D.	1 (0)	-	Bilinmiyor
1958	A.B.D.	1 (1)	100	Bilinmiyor
1958	A.B.D.	1 (0)	-	Bilinmiyor
1977-81	Danimarka	8 (6)	75	Toz Bebek Maması
1977-81	Yunanistan	1 (1)	100	Bilinmiyor
1984	Yunanistan	11 (4)	36	Bilinmiyor
1984	A.B.D	1 (0)	-	Bilinmiyor
1984	A.B.D.	2 (1)	50	Bilinmiyor
1986-87	İzlanda	3 (1)	33	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)	-	Bilinmiyor
1994	Fransa	13 (3)	23	Toz Bebek Maması
1998	Belçika	12 (2)	17	Toz Bebek Maması
1999-00	İsrail	2 (0)	-	Toz Bebek Maması, Blender
2001	A.B.D	11 (1)	9	Toz Bebek Maması
2002	Belçika	1 (1)	100	Toz Bebek Maması
2004	Yeni Zelanda	5 (1)	20	Toz Bebek Maması
2004	Fransa	4 (2)	50	Toz Bebek Maması

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Materyal

Araştırma materyali olarak kullanılan farklı formülasyonlardaki; 6 farklı firmaya ait 33 çeşit, toplam 62 ticari bebek maması çeşitli marketlerden tesadüfi örneklemeye yöntemine göre temin edilip laboratuara getirilmiştir. Mamaların öncelikle mikrobiyolojik analizleri, sonra fizikokimyasal analizleri yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1 Bebek Maması Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri

3.2.1.1. Şeker Tayini

Bebek mamalarında invert ve toplam şeker miktarı Lane-Eynon metoduyla belirlenmiştir (Cemeroğlu 2007). Bu amaçla toz mamalardan 5 g tartılmış ve 250 mL'lik ölçü balonuna aktarılmıştır. Üzerine Carez I ve Carez II çözeltileri hazırlanarak ilave edilip, süzülmüştür.

Berrak filtrattan toplam şeker tayini için 50 mL ayrılmış, kalan filtrat bir bürete alınmıştır. Bir erlen içeresine, Fehling I (5 mL) ve Fehling II (5 mL) çözeltileri hazırlanarak ilave edilip, kaynatılmıştır. Kaynama başladığında metilen mavisi ilave edilerek, büretteki çözelti ile kiremit kırmızısı renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Toplam invert şeker miktarı (%) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnvert Şeker (g/L)} = \frac{(V2 \times K)}{V \times V1}$$

V1 = Alınan numune miktarı

V2 = Seyretilen hacim

V = Titrasyonda harcanan çözelti miktarı (mL)

K = Faktör

Ayrılan 50 mL berrak filtrat 100 mL'lik ölçü balonuna aktarılarak üzerine % 25'lik HCL'den 6 mL eklenmiştir. Su banyosunda 67-70 °C arasında 5 dk inversiyona uğratılarak hızla soğutulmuştur. 4 N NaOH ile nötralize edilmiş ve ölçü balonuna saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti bir bürete alınmıştır.

Bir erlen içeresine, Fehling I (5 mL) ve Fehling II (5 mL) çözeltileri hazırlanarak ilave edilip, kaynatılmıştır. Kaynama başladığında metilen mavisi ilave edilerek, büretteki çözelti ile kiremit kırmızısı renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Toplam şeker miktarı (%) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ toplam şeker} = \frac{100 \times K \times \text{seyreltme miktarı}}{V}$$

K = Faktör

V = Titrasyonda harcanan çözelti miktarı (mL)

Şeker tayininde kullanılan çözeltiler;

Carez I çözeltisi: 15 g potasyum ferrosiyanyid $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$ saf suda çözünerek 100 mL ye tamamlanmıştır.

Carez II çözeltisi: 30 g çinko sülfat $(ZnSO_4 \cdot 7H_2O)$ saf suda çözülerek 100 mL ye tamamlanmıştır.

Fehling I çözeltisi: 69,278 g bakır sülfat $(CuSO_4 \cdot 5H_2O)$ 250 mL saf suda çözülerek 1 litrelük balonjojeye aktarılmıştır. Hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanmış, çözelti süzüldükten sonra kahverengi şişede ağızı kapatılarak muhafaza edilmiştir.

Fehling II çözeltisi: 346 g potasyum sodyum tartarat ($KNa\text{-tartarat} \cdot 4H_2O$) ve 100 g sodyum hidroksit tartılarak bir miktar saf suda çözülmüş ve iki çözelti birbiri ile karıştırılıp 1 litrelik hacme saf su ile tamamlanmıştır.

3.2.1.2. Protein Tayini

Protein analizinde kullanılmak üzere mama örneğinden 0,6-1 g örnek, 0,1 mg'a duyarlı hassas terazide tartılmıştır. Üzerine 12,5 mL H₂SO₄ ile kjeldahl tabletı (katalizör) eklenerek tüplerin içerisindeki örnek yeşil sarı saydam bir renk oluşturuncaya kadar yakma bloğuna yerleştirilerek yakılmıştır.

Yakma işleminin ardından bu tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış, soğuma sağlandıktan sonra tüpler distilasyon ünitesine konulmuştur. Distilasyon ünitesinin diğer ucuna içinde 25 mL borik asit ve 1'er mL metil red ile brom krezol green indikatörleri bulunan erlenmayer bağlanmıştır. Distilasyona yaklaşık 150 mL distilat toplanınca son verilmiş, elde edilen distilat 0,1N HCl ile titre edilmiş ve % toplam azot hesaplanmıştır (Anonim 1990).

$$\text{Toplam azot (\%)} = \frac{(A - B) \times N \times 0,014}{\text{Örnek miktarı (g)}} \times 100$$

A= Titrasyonda harcanan 0,1 N HCl (mL)

B= Şahit deneme için harcanan 0,1 N HCl (mL)

N=HCl'nin normalitesi

Bulunan değer 6,38 faktörüyle çarpılarak çıkan sonuç protein değeri olarak hesaplanmıştır.

3.2.2. Bebek Maması Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri

Mama örneklerinden aseptik koşullarda 10 g örnek 90 mL peptonlu seyreltme sıvısına tartılarak 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanmıştır. Daha sonra 10^{-3} 'e kadar gerekli dilüsyonlar hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik analizler, ikişer paralel olarak yapılmıştır.

3.2.2.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı

Mama örneklerinin TMAB sayımı için, Plate Count agar (PCA) (Oxoid Ltd.) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına dökme plak yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Marshall 1992).

3.2.2.2. Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı

Mama örneklerinin TPB sayımı için, Plate Count agar (PCA) (Oxoid Ltd.) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına yayma plak yöntemi ile 0,1 mL ekim yapıldıktan sonra $5-7^{\circ}\text{C}$ 'de 7-10 gün inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Marshall 1992).

3.2.2.3. Toplam Termofilik Bakteri Sayımı

Mama örneklerinin TTB sayımı için, Plate Count agar (PCA) (Oxoid Ltd.) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına yayma plak yöntemi ile 0,1 mL ekim yapıldıktan sonra 55°C 'de 2 - 3 gün inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Marshall 1992).

3.2.2.4. Koliform Grubu Bakteri Sayımı

Mama örneklerinde koliform grubu bakteri sayımı için Violet Red Bile agar (VRBA) (Hi-Media) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına 1 mL ilave edilmiş, üzerine 45°C 'ye kadar soğutulmuş VRBA'dan 13-15 mL kadar ilave edilerek ters çevrilmiş ve $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda çapı 0,5 mm'den daha büyük olan koloniler sayılmıştır (Marshall 1992).

3.2.2.5. *Enterobacter sakazakii* Varlığının Belirlenmesi

Enterobacter sakazakii tespiti için FDA tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır.

- a) Önzenginleştirme: 10 gram örnek; içerisinde 90 mL dilisyon sıvısı bulunan erlenlere tartılarak, 24 saat 36°C’ de inkübasyona bırakılmıştır.
- b) Selektif sıvı besiyerinde (EE broth) zenginleştirme: 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda, önzenginleştirimesi yapılmış örnekten 10 mL alınarak içerisinde 90 mL EE broth bulunan erlenlere eklenip 24 saat 36°C’ de inkübasyona bırakılmıştır.
- c) Selektif katı besiyerine (VRBG) ekim: Selektif sıvı besiyerinde zenginleştirilmiş örneklerden 0,1 mL alınarak VRBG agaraya yüzeye ekim yapılmış, 36°C’ de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- d) Doğrulama aşamaları: VRBG agarlarda gelişme gözlenen petrilerden TSA’ya çizim yapılmıştır (Anonim 2002).

Gelişme gözlenen petrilerdeki (TSA) şüpheli kolonilere *Enterobacter sakazakii* identifikasiyonu için API 20E ve oksidaz testleri uygulanmış, aynı zamanda örneklerden *E.sakazakii* agaraya (Hi-Media) ekim yapılmıştır.

API 20E, 21 minyatür hale getirilmiş biyokimyasal test ve veritabanı kullanan, *Enterobacteriaceae* ve zor üremeyen Gram negatif çomaklar için standart hale getirilmiş tanımlama sistemidir. API 20E, stribi dehidrate substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır.

Tanımlanması yapılacak olan izolatlar TSA ortamında 24–48 saat süreyle tek koloni düşecek şekilde aktifleştirilmiştir. Katı besi ortamında geliştirilmiş olan kültürler steril şekilde 5 mL’lik API süspansiyon ortamına aktarılmış ve vortex mikserde homojenize edilmiştir.

Saf olarak elde edilen mikroorganizma, test sisteminin içerisinde bulunan sıvı inkübasyon besiyerlerine aseptik şartlara dikkat edilerek inoküle edilmiştir. Test sisteminde bulunan ADH, LDH, ODC, H₂S, ve Üre kuyucukları inokülasyon yapıldıktan sonra mineral yağ ile kaplanmıştır.

İnokülasyon işlemi bitmiş olan striptler, test sisteminde yer alan özel kutularına yerleştirilerek 37°C'lik etüve kaldırılmıştır. Burada 24 saat bekletilip, bu sürenin sonunda Çizelge 3.2.2.5.1.'de açıklandığı şekilde, sonuçlar bu çizelgeden yararlanılarak değerlendirilmiştir. (İnkübasyon sırasında, metabolizma sonucu spontan olarak ya da reaktiflerin eklenmesiyle renk değişimi oluşmaktadır.)

Çizelge 3.2.2.5.1. BioMerieux API 20E test sisteminde yer alan biyokimyasal testler ve test sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler

Testler	Aktif İçerikler	Reaksiyon/Enzim	Negatif	Pozitif
ONPG	2-nitrofenil-βD-galaktopiranozid	beta galaktosidaz	renksiz	sarı
ADH	L-arjinin	arjinin dihidrolaz	sarı	kırmızı/turuncu
LDC	L-lisin	lisin dekarboksilaz	sarı	kırmızı/turuncu
ODC	L-ornitin	ornitin dekarboksilaz	sarı	kırmızı/turuncu
CIT	Trisodyum sitrat	sitrat kullanımı	açık yeşil/sarı	mavi-yesil/mavi
H ₂ S	Sodyum tiyosülfat	H ₂ S üretimi	renksiz/gri	siyah çökelti / ince çizgi
ÜRE	Üre	üreaz	sarı	kırmızı/turuncu
TDA	L-triptofan	triptofan deaminaz	sarı	<u>TDA /hemen</u> kırmızımsı kahverengi
IND	L-triptofan	indol üretimi		<u>JAMES/hemen</u> renkiz zayıf pembe yeşil/sarı
VP	Sodyum pirüvat	asetoin üretimi	<u>VP1 + VP2/ 10 dk.</u> renksiz/açık pembe	pembe/kırmızı pembe
GEL	Jelatin (sığır kaynaklı)	jelatinaz	siyah pigment yaygın değil	siyah pigment yaygın
GLU	D-glikoz	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı/grimsi sarı
MAN	D-mannitol	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
INO	İnositol	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
SOR	D-sorbitol	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
RHA	L-rhamnoz	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
SAC	D-sükroz	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
MEL	D-melibioz	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
AMY	Amygdalin	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
ARA	L-arabinoz	fermentasyon/oksidasyon	mavi/mavi yeşil	sarı
OX	N,N,N,N-tetrametil-1,4-fenilalenin	sitokrom-oksidaz	ox indikatörü/30 sn. renksiz	menekşe rengi

Reaksiyonlar, okuma tablosuna göre değerlendirilmiş ve bilgisayar ortamında tanımlama programı (biomerieux/apiweb) kullanılarak sonuçlar elde edilmiştir.

Oksidaz testi; Sitokrom oksidaz, oksidatif fosforilasyon yapan bakterilerin kullandıkları enzimdir. Oksidaz testi bu enzimin aktivitesini ölçmeye yönelik bir testtir. Sitokrom oksidaz, fenilendiamin bileşiklerini okside ederek mor renkli indofenole dönüştürür. *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan türler oksidaz negatiftir.

Steril bir petri kutusu içerisinde 5-6 mm kurutma kağıdı yerleştirilmiştir. Üzerine, öze ile şüpheli koloniden bir miktar alınarak sürülmüş ve 2-3 damla oksidaz ayıracı damlatılmıştır. 10-60 saniye içerisinde mor veya kahverengi-siyah bir renk oluşması pozitif test olarak değerlendirilmiştir (Aksoy 2006).

E.sakazakii: % 29–32 glukuronik asit, % 23–30 D-glukoz, % 19–24 D-galaktoz, % 13–22 D-fukoz and % 0–8, D-mannozdan oluşan bir heteropolisakkarit üretir (Harris ve Oriel 1989). Optimum üretim Nitrojen miktarının ortamda sınırlı olduğu zamanda gözlenir: C/N=20/1 (Scheepe-Leberkuhne ve Wagner 1986). *E. cloacae*'nın aksine; D- sorbitolü ferment edememekte, DNaz testinde geç pozitif sonuç vermekte ve TSA'da 25°C'deki inkübasyonda yayılmayan sarı pigment üretmektedir (Steigerwalt ve ark. 1976).

Enterobacter sakazakii'nin API 20E'de 24-48 saat 36°C ± 2°C inkübasyon sonrası gösterdiği % pozitif reaksiyon Çizelge 3.2.2.5.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.5.2. API 20E'de *Enterobacter sakazakii*'nin tanımlanması
(24-48 saat 36°C inkübasyon sonrası % pozitif reaksiyon)

API 20E	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX
<i>E.sakazakii</i>	100	96	0	91	94	0	1	0	25	91	10	100	100	75	8	99	99	99	99	99	0

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bebek Maması Örneklerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Yapılan çalışmada materyal olarak kullanılan 62 bebek mama örneklerinin % protein, % invert şeker ve % toplam şeker değerleri incelenmiştir. Örneklerin fizikokimyasal analiz sonuçlarına Çizelge 4.1'de ayrıntılı olarak yer verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bebek mama örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

Örnek No	% Ham Protein	% Invert Şeker	% Toplam Şeker
1	13,74	23,89	33,85
2	12,50	22,68	33,04
3	9,85	31,17	50,38
4	9,78	34,70	62,27
5	10,18	28,83	39,92
6	10,64	34,64	53,88
7	10,61	26,99	66,52
8	9,05	23,97	65,77
9	10,09	30,21	55,69
10	9,93	31,70	57,84
11	14,40	22,51	49,05
12	14,55	26,45	45,68
13	7,31	28,69	36,43
14	7,10	27,08	33,11
15	10,70	34,66	50,64
16	10,73	38,40	58,26
17	9,35	30,87	40,63
18	9,01	37,74	51,99
19	11,21	36,70	52,86
20	11,17	33,46	56,77
21	9,00	36,99	53,98
22	9,06	43,29	59,74
23	7,64	29,10	54,33
24	7,14	28,09	51,03
25	10,15	30,29	41,63
26	11,84	30,74	41,26
27	10,92	49,47	61,32
28	11,92	45,78	64,84
29	7,08	49,90	68,95
30	6,47	42,86	70,68
31	13,53	42,95	51,24
32	13,93	43,69	52,37
33	11,20	17,99	35,87
34	10,78	21,65	34,21
35	13,09	52,00	65,12
36	11,82	51,35	62,86
37	12,82	23,49	37,17
38	12,32	24,74	36,58
39	13,52	23,83	42,90
40	13,56	25,79	41,32
41	14,09	28,88	48,14
42	14,52	26,71	48,19
43	13,35	31,01	55,45
44	12,55	37,16	53,28
45	12,46	29,25	45,96

Çizelge 4.1. (devam) Bebek maması örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

Örnek No	% Ham Protein	% İvert Şeker	% Toplam Şeker
46	11,58	27,36	41,13
47	13,53	28,89	43,54
48	14,29	29,64	40,98
49	10,71	25,56	35,72
50	9,63	26,39	41,08
51	14,92	39,39	48,14
52	14,02	37,63	47,95
53	12,52	33,38	48,01
54	10,13	33,11	46,85
55	10,77	43,90	48,84
56	9,46	29,45	34,27
57	10,03	26,67	46,24
58	9,48	24,95	47,31
59	11,56	42,90	58,00
60	11,73	30,88	41,38
61	12,58	27,15	53,95
62	13,73	27,08	49,28
En düşük	6,47	17,99	33,04
En yüksek	14,92	52,00	70,68
Ortalama	11,24	32,36	49,12

İncelenen örneklerin protein değerleri % 6,47 ile % 14,92 arasında ve ortalama % 11,24 olarak tespit edilmiştir.

Ferrer ve ark. (2000), başlangıç bebek mamalarının protein değerini % 11,6 olarak saptamışlardır. Alpsan (2008), başlangıç bebek maması örneklerinin ortalama protein değerini % 10,85 bulmuştur.

Örneklerin belirlenen ortalama % protein değerleri Ferrer ve ark.'nın ve Alpsan'ın bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Bulunan % protein değerleriyle bebek maması örneklerinin etiket bilgilerindeki % protein değerleri genel olarak benzerlik göstermekle birlikte, iki örnekteki (% 3) % protein değeri; örneklerin etiketlerinde verilen % protein değerinin oldukça altında bulunmuştur.

İncelenen örneklerde; İvert şeker oranları en düşük % 17,99 en yüksek % 52,00 ve ortalama % 32,36 olarak belirlenirken Toplam şeker oranları en düşük % 33,04 en yüksek % 70,68 ve ortalama % 49,12 olarak tespit edilmiştir.

Ferrer ve ark. (2000), başlangıç bebek mamalarının şeker miktarını %55 olarak saptamışlardır. Örneklerin karbonhidrat değerleri Ferrer ve ark.'nın saptadığı ortalama değerden daha düşük bulunmuştur.

Etiket bilgilerinde % şeker oranına yer verilmiş örnek mamaların (24) analizleri sonucu elde edilen % şeker değerlerinde; dokuz örneğin analiz sonucu etikette verilen değerlerle parellellik gösterirken, on beş (% 63) örnekte bulunan % şeker oranı yüksek bulunmuştur.

4.2. Bebek Maması Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri

Bebek maması örneklerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB), Toplam Termofilik bakteri (TTB), Toplam Psikrofilik bakteri (TPB) ve koliform bakteri sayımı ile *Enterobacter sakazakii* varlığının belirlenmesi gibi bazı mikrobiyolojik analizler yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Bebek maması örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları (kob/g)

Örnek No	TMAB	TTB	Koliform Bakteri	EE Broth	VRBG Agar	TSA	<i>E.sakazakii</i> API 20E
1	2,09 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
2	2,62 x 10 ²	-	1,23 x 10 ²	+	+	+	+
3	1,51 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
4	1,13 x 10 ³	-	-	-	-	*	*
5	1,46 x 10 ³	-	-	-	-	*	*
6	9,26 x 10 ²	1,65 x 10 ²	-	-	-	*	*
7	2,45 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
8	1,76 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
9	1,13 x 10 ³	-	-	-	-	*	*
10	1,18 x 10 ³	-	-	-	-	*	*
11	6	-	-	-	-	*	*
12	3,25 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
13	-	-	-	-	-	*	*
14	1,78 x 10 ³	-	-	-	-	*	*
15	2,50 x 10 ²	-	12	+	+	-	*
16	1,78 x 10 ²	12	-	-	-	*	*
17	1,31 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
18	12	-	-	-	-	*	*
19	7,89 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
20	-	-	-	-	-	*	*
21	1,36 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
22	4,88 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
23	2,35 x 10 ²	-	19	+	+	+	-
24	1,39 x 10 ²	-	19	+	+	+	+
25	3,84 x 10 ²	38	-	-	-	*	*
26	3,66 x 10 ²	46	-	-	-	*	*
27	1,72 x 10 ²	-	16	-	-	*	*
28	1,16 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
29	2,56 x 10 ³	-	12	+	+	+	+
30	1,15 x 10 ³	-	15	+	+	+	-
31	1,58 x 10 ²	-	-	-	-	*	*
32	-	-	-	-	-	*	*
33	-	-	-	-	-	*	*
34	13	-	-	-	-	*	*

Çizelge 4.2. (devam) Bebek maması örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları (kob/g)

Örnek No	TMAB	TTB	Koliform Bakteri	EE Broth	VRBG Agar	TSA Agar	<i>E.sakazakii</i> API 20E
35	-	-	-	-	-	*	*
36	$2,72 \times 10^2$	19	-	-	-	*	*
37	$2,88 \times 10^2$	17	-	-	-	*	*
38	$2,64 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
39	$1,55 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
40	$1,36 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
41	$1,16 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
42	$1,80 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
43	38	-	-	-	-	*	*
44	17	-	-	-	-	*	*
45	46	-	-	-	-	*	*
46	72	-	-	-	-	*	*
47	-	-	-	-	-	*	*
48	11	-	-	-	-	*	*
49	19	-	-	-	-	*	*
50	$2,37 \times 10^3$	-	-	-	-	*	*
51	15	-	-	-	-	*	*
52	24	-	-	-	-	*	*
53	$3,72 \times 10^2$	$1,64 \times 10^2$	-	-	-	*	*
54	$2,69 \times 10^3$	$1,45 \times 10^2$	25	+	+	+	-
55	$3,26 \times 10^2$	19	-	-	-	*	*
56	$1,08 \times 10^2$	23	-	-	-	*	*
57	-	-	-	-	-	*	*
58	$1,98 \times 10^2$	24	-	-	-	*	*
59	$1,53 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
60	$5,32 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*
61	-	-	-	-	-	*	*
62	$5,33 \times 10^2$	-	-	-	-	*	*

- Bulunamadı.

* Yapılmadı.

İncelenen bebek maması örneklerinin 54'ünde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sayısı, 6 kob/g ile $2,69 \times 10^3$ kob/g arasında bulunmuş olup, ortalama $4,67 \times 10^2$ kob/g olarak tespit edilmiştir. Örneklerin sekizinde Mezofilik Aerobik Bakteri belirlenememiştir. Şekil 4.2.'de Mezofil bakteri bulunan mama örneklerinin toplam mama örnekleri içindeki payı verilmiştir.

Örnek bebek ve devam formüllerindeki Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sayısı, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği 2009/6 nolu Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uygun bulunmuştur.

Polat ve Halkman (2008), kırk adet bebek maması ve kırk bir adet bebek maması bileşeninde yaptıkları çalışmada; bebek mamalarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını $< 10 - 1,95 \times 10^3$ kob/g, bebek maması bileşenlerinde ise < 10 kob/g ile $6,85 \times 10^3$ değerleri arasında tespit etmişlerdir. Toplam mezofilik aerobik sayısı bulunan değerlerle benzerlik göstermektedir.

Örneklerin 11’inde Toplam Termofilik bakteri sayısı 12 kob/g ile $1,65 \times 10^2$ kob/g arasında bulunmuş olup, bu örneklerdeki Toplam Termofilik bakteri sayısı ortalama 61 kob/g olarak tespit edilmiştir.

Örneklerin hiçbirinde Toplam Psikrofilik Bakteri bulunamamıştır.

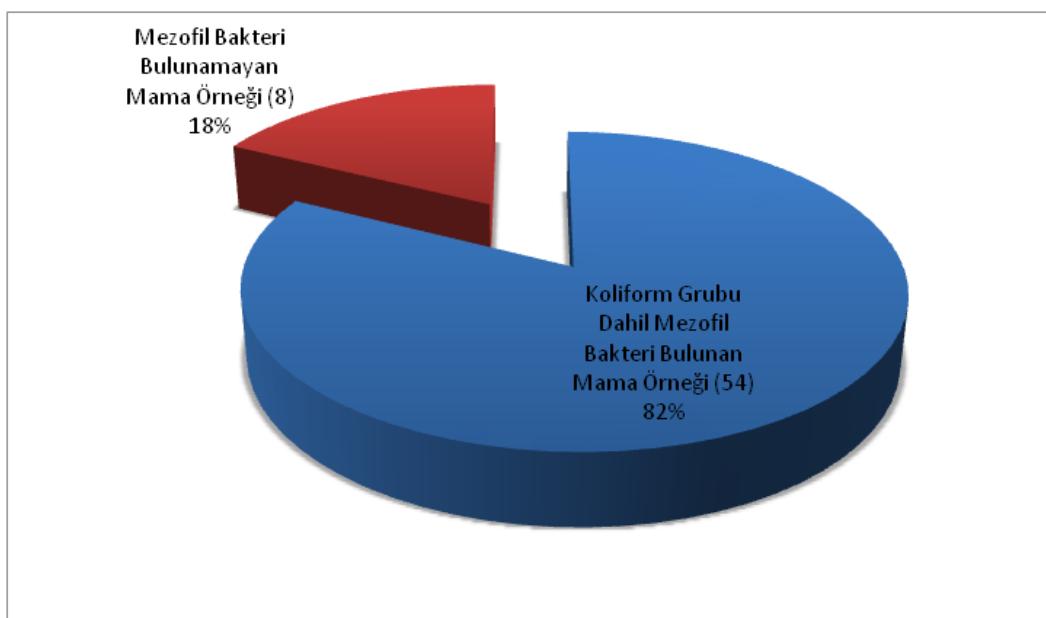
İncelenen örneklerin sekizinde Koliform grubu bakteri bulunmuştur. Koliform bakteri sayılarının 12 kob/g ile $1,23 \times 10^2$ kob/g arasında (ortalama 30 kob/g) olduğu tespit edilmiştir. Bebek maması örneklerinin ikisinde koliform bakteri sayısı, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği 2009/6 nolu Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde yer alan sınır değerinin üzerinde bulunmuştur.

Polat ve Halkman (2008), 40 adet bebek maması ve 41 adet bebek maması bileşeninde yaptıkları çalışmada; bebek mamalarında koliform bakteri sayısını < 10 kob/g, bebek maması bileşenlerinde ise < 10 kob/g ile $3,5 \times 10^2$ kob/g değerleri arasında tespit etmişlerdir. Koliform bakteri sayısı bulunan değerlerle benzerlik göstermektedir.

Bebek maması örneklerinin %13’ünde koliform bakteri tespit edilmiştir. Koliform grup mikroorganizmalara pek çok gıda hammaddesinde rastlanmaktadır. Bunların başında; taze sebzeler, taze yumurta, çiğ süt, kanatlı etleri ve koliform bakımından sayıca zengin sulardan alınan kabuklu ve diğer su ürünleri gelmektedir. Gıdalarda koliform mikroorganizmaların bulunması; kötü sanitasyon koşullarının, yetersiz veya yanlış pastörizasyon uygulamalarının, pişirme ve pastörizasyon sonrası tekrar bulaşma olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Bebek mamalarının mikrobiyolojik kalitesini gösteren bakterilerden en önemlileri Koliform grubu bakterilerdir. Mamalarda koliform bakteri bulunması, üretim ve/veya paketleme sırasında kontaminasyona işaret etmesi açısından önem arzettmektedir.

Koliform grubu bakterilerden özellikle bebek mamalarında risk teşkil eden bakteri *Entorobacter sakazakii*'dir. *E.sakazakii*'nin, başta menenjit olmak üzere sepsis, bakteriyemi ve nekrotizan enterokolit gibi değişik enfeksiyon belirtileriyle görülen hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir. (Van Acker ve ark. 2001, Drudy ve ark. 2006, Polat ve Halkman 2007, Anonim 2008a).



Şekil 4.2. Mezofil bakteri bulunan mama örneklerinin toplam mama örnekleri içindeki payı

4.3. *E.sakazakii* İzolasyonu ve Tanımlama Sonuçları

FDA tarafından önerilen *E.sakazakii* belirleme yönteminde tamponlanmış peptonlu su içinde bir ön zenginleştirme ve bunu takiben de *Enterobacteriaceae* Enrichment Broth'da zenginleştirme işlemi yapılmış ve Violet Red Bile Glucose Agar bulunan petrilere steril öze ile sürme ekim yapılmış, gelişen şüpheli kolonilerden 5 adet koloni Tryptone Soy Agar (TSA) besiyerine alınarak inkübe edilmiştir. Şekil 4.3.1.'de bebek mamaları örneklerinden izole edilen iki nolu *E.sakazakii* izolatının TSA'da görünümü sunulmuştur.

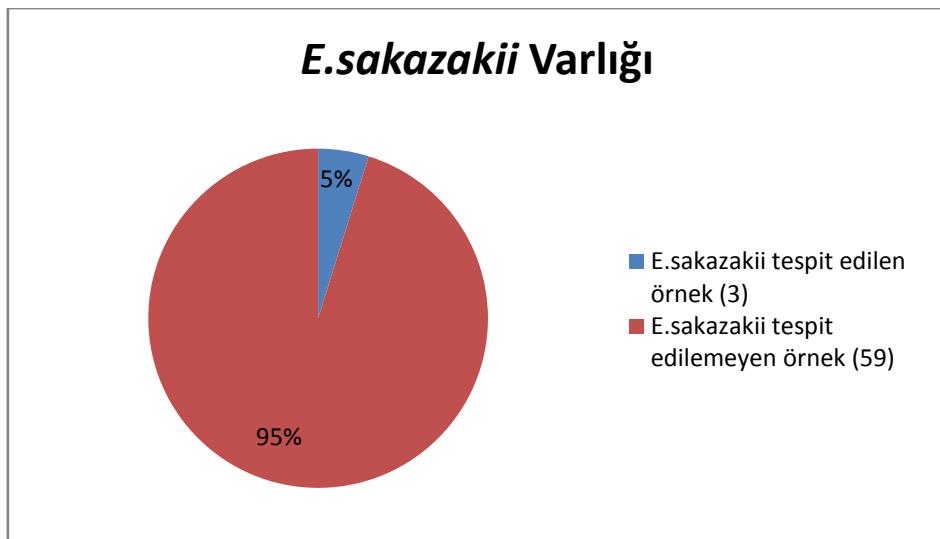


Şekil 4.3.1. Bebek mamaları örneklerinden izole edilen iki nolu *E.sakazakii* izolatının TSA'da görünümü

Zenginleştirmeler sonrası TSA'ya ekim sonucunda; incelenen 62 örneğin 6'sına ait 15 izolata *E.sakazakii* şüphesiyle tanımlama testleri (API 20E (Biomerieux) ve Oksidaz) uygulanmıştır. API 20E'de reaksiyonlar, okuma tablosuna göre değerlendirilmiş ve bilgisayar ortamında tanımlama programı kullanılarak sonuçlar elde edilmiştir.

API 20E ve oksidaz testleri sonucu üç örnekten (% 5) izole edilen altı izolat *E.sakazakii*, iki örnekten (% 3) izole edilen yedi izolat *Flavimonas oryzihabitans*, bir örnekten (% 2) izole edilen iki izolat *Serratia ficaria* olarak tanımlanmıştır.

Altı örneğe ait şüpheli görülen izolatların tanımlanma sonuçları ekte yer almaktadır. Şekil 4.3.2.'de *E.sakazakii* tespit edilen mama örneklerinin tüm mama örneklerinin içindeki payı verilmiştir.



Şekil 4.3.2. *E.sakazakii* tespit edilen mama örneklerinin tüm mama örneklerinin içindeki payı

Daha önce hiç açılmamış bebek maması kutularından alınan örneklerden de *E.sakazakii*'nin izole edilmiş olması nedeniyle, toz bebek mamalarının üretiminde pastörizasyon sonrası kontaminasyon meydana geldiği sonucu şeklinde değerlendirilebilir. Nitekim Himelright ve ark. (2002)'de bu hususa dikkat çekmişlerdir.

Her ne kadar üç örnekten altı adet *E.sakazakii* izole edilmişse de, bunların patojenitesi hakkında bir araştırma yapılmamıştır. Bütün *E.sakazakii* suşlarının patojen oldukları söylenemez. Pagotto ve ark. (2003) izole ettikleri 18 *E.sakazakii* suşundan bazılarının patojenik olmadığını tespit etmişlerdir.

Muytjens ve ark. (1988) 35 ülkeden toplam 141 devam sütü tozu örneğinin % 52,2'sinde *E.agglomerans*, *E.cloacae*, *E.sakazakii* ve *Klebsiella pneumoniae* belirlemiştir. Toplam 141 örneğin 20'sinde (% 14) ise farklı düzeylerde *E.sakazakii* tespit etmişlerdir.

Kanada'da piyasaya sunulmuş toz bebek mamaları ile ilgili yapılan bir çalışmada, analiz edilen 120 örneğin 8'inin (% 6,7) *E.sakazakii* açısından pozitif bulunduğu rapor edilmiştir (Nazarowec-White ve Farber 1997c).

Leuschner ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, 11 ülkeden toplanan 58 adet infant formula ürününün 8'inden (% 14) *E.sakazakii* izole etmişlerdir.

Iversen ve Forsythe (2004) toplam 82 infant süt tozu ve 404 adet gıdaörneğinde, *E.sakazakii* varlığını araştırmış ve 82 örnektenden 2'sinde (% 2,5) *E.sakazakii* tespit etmişlerdir.

Shaker ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada 8 toz bebek mamasının 2'sinden (% 25) *E.sakazakii* izole etmişlerdir.

Heuvelink ve ark. tarafından toz bebek maması örneklerinde 25 g'da var/yok testi yapılmış, incelenen 40 toz bebek mamasının 1'inde (% 2,5) *E.sakazakii* belirlenmiştir (Gurtler ve ark. 2005).

İçerisinde *E.sakazakii* tespit ettiğimiz bebek maması oranı (% 5); Muytjens ve ark. (1988), Leuschner ve ark. (2004), Shaker ve ark. (2007)'nın buldukları orandan düşük; Iversen ve Forsythe (2004), Heuvelink ve ark.'nın bulduğu % değerden yüksek iken; Nazarowec-White ve Farber (1997)'nın belirlediği % değerle benzerlik göstermektedir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre bebek maması formülleri ve devam formüllerinde (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil) 25 g örnekte *E.sakazakii* bulunmamalıdır (Anonim 2009).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada 62 bebek maması örneği fizikokimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelemiştir, ayrıca bu örneklerde *E.sakazakii* varlığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu araştırma sonucunda aşağıda belirtilen bulgular elde edilmiş ve öneriler yapılmıştır.

1. İncelenen mama örneklerinin ortalama protein, invert ve toplam şeker değerleri sırasıyla % 11,24; % 32,36; % 49,12 olarak tespit edilmiştir.
2. Mama örneklerinin ortalama TMAB, TTB, Koliform bakteri sayıları sırasıyla $4,67 \times 10^2$; 61; 30 kob/g olarak belirlenmiştir. Hiçbir örnekte Psikrofilik bakteri belirlenememiştir.
3. API 20E ve oksidaz testleri sonucu üç örnekten izole edilen altı izolat *E.sakazakii*, iki örnekten izole edilen yedi izolat *Flavimonas oryzihabitans*, bir örnekten izole edilen iki izolat *Serratia ficaria* olarak tanımlanmıştır.

Hazır toz bebek mamaları *E.sakazakii* ve diğer patojen bakterilerin düşük miktarda da olsa bulunabileceği ürünlerdir. Bu nedenle bu tip mamaların kullanımı ve hazırlanması sırasında verilen kurallara uyulması son derece önemlidir. WHO/FAO (2004) tarafından şu öneriler getirilmiştir:

- Yeni doğan bebekler ilk altı ay anne sütü ile beslenmelidir.
- Mamaların etiketlerinde ürünün steril olmadığı uyarısı bulunmalı ve ancak ürün doğru bir şekilde hazırlandığı takdirde *E.sakazakii*'nin hastalığa neden olmayacağı belirtilmelidir.
- Gereğinden fazla mama hazırlanmamalı, mümkünse her besleme zamanı geldiğinde gereği kadar mama hazırlanmalıdır.
- Mamaların hazırlanmasında kullanılan su kaynatılıp 70-90°C'lerde ürüne eklenmelidir.
- Prematüre bebekler anne sütü yoksa toz mamalar yerine steril hazır mamalarla beslenmelidir.
- Kalan mama buzdolabında saklanmalı ve 24 saat içinde tüketilmelidir.
- Bebek gıdaları endüstrisi yüksek riskli gruplar için daha steril alternatif formüller geliştirmelidir (Anonim 2004b).

Anne sütü yenidoğan için en uygun besin maddesidir. WHO ve UNICEF bebeklerin ilk altı ay boyunca yalnızca anne sütü almalarını yedinci aydan itibaren ek gıdalara başlanması, ek gıdalarla birlikte emzirmeye iki yaşına kadar devam edilmesini önermektedir (Anonim 2000, Anonim 2003b).

Bebek mamalarının çok fazla kullanılmasından dolayı *E.sakazakii*'nin yol açabileceği enfeksiyonlar önemli halk sağlığı problemlerine neden olabilir. Özellikle bebek ve devam mamalarının mikrobiyolojik güvenliği bu bakımdan çok önemlidir.

Neden olduğu yüksek ölüm oranlı enfeksiyonlar dolayısı ile *E.sakazakii*'nin bebek mamalarında bulunması yüksek risk teşkil etmektedir. Bu nedenle; bebek mamaası üretiminde, hammadde temininden paketleme aşamasına kadar gerekli kontroller eksiksiz olarak yapılmalıdır. Toz bebek mamalarının hazırlanması sırasında; özellikle yeni doğan servislerindeki çalışanlar, ürünün steril olmadığı ve hazırlanmasından tüketimine kadar hijyen kurallarına uymada gerekli özeni göstermeleri gerektiği hususunda bilgilendirilmelidirler.

Ülkemizde mevcut kayıt sistemlerinin yetersiz oluşu nedeniyle bebek mamaası kaynaklı *E.sakazakii* enfeksiyonu bildirilmemiştir. 06.02.2009 tarihinde yürürlüğe giren 2009/6 nolu Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde; Bebek ve Devam Formülleri için belirtilen mikrobiyolojik özellikler içerisinde *E.sakazakii*'ye yer verilmesi sevindiricidir. Bebek mamalarındaki denetim ve kayıt sistemleri gözden geçirilmelidir.

Ülkemizde *E.sakazakii* ile ilgili yapılmış çalışmalar sınırlı sayıda mevcuttur. Bu konudaki çalışmalar desteklenmeli ve *E.sakazakii* enfeksiyonlarına olan duyarlılığın artırılması adına çoğaltılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Aksoy AM (2006). Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasiyon Yöntemleri. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AB.D., Ankara, <http://teb.medicine.ankara.edu.tr/egitim/donemler/donem1/modul6/BAKTERI%20IZOLASYON%20VE%20IDENTIFIKASYON%20YONTEMLERI%20LABORATUVAR.doc> (erişim tarihi, 20.03.2009).
- Alpsan FA (2008). Bebek Mamalarında Mevcut Lisin ve Laktuloz Değerlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Altay DN (2007). Infant Dönemi Bebeklerde Beslenme Epidemiyolojisi ve Enfeksiyon Hastalıkları İle Beslenme Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum.
- Amador M, Hermelo MP, Valdes M, Ruiz M (1992). Feeding practices and growth in a healthy population of Cuban infants. Food and Nutr Bull., 14: 108-114.
- Anderson HG (1985). Human milk feeding. Ped Clin North Am., 32: 355-353.
- Anonim (1989). World Health Organization. Research on improving infant feeding practices to prevent diarrhoea or reduce its severity: Bull WHO, 67: 27-33.
- Anonim (1990). Official Methods of Analysis, 15th Edition, Association of Official Analysis Chemists, Washington.
- Anonim (1992). Children in the Tropics, feeding babies: From breast milk to the family dish. International Childern's Centre, Paris.
- Anonim (1998). Türk Gıda Kodeksi Bebek Mamaları-Bebek Formülleri Tebliği No: 98/20
- Anonim (2000). WHO/UNICEF. 2000'li Yıllarda Bebeklerin Anne Sütü ile Beslenmesi. UNICEF Türkiye Temsilciliği, Ankara.
- Anonim (2001). *Enterobacter sakazakii* in powdered infant formula. International Food Safety Authorities Network. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_01_Esakazakii_Jan05_en.pdf. 200511. Bar-Oz B, Preminger A, Peleg O, Block C, Arad I. Enterobacter sakazakii infection in the newborn. Clin Obs; 90: 356.
- Anonim (2002). FDA, Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. <http://www.foodsafety.gov/~comm/mmesakaz.html>. (erişim tarihi, 08.09.2008)
- Anonim (2003a). Sosyal Pediatri II, Katkı Pediatri Dergisi 25.
- Anonim (2003b). Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması TNSA. Emzirme Ve Ek Gıda. Hacettepe Nüfus Etütleri Enstitüsü. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü.
- Anonim (2004a). T.C. Sağlık Bakanlığı resmi web sitesi, Basın ve Halkla İlişkiler müşavirliği sayfası. 29.07.2004 tarihli bakanlık haber, <http://www.saglik.gov.tr/default.asp?sayfa=detay&id=1078> (erişim tarihi, 24.06.2009).
- Anonim (2004b). *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula: Meeting report. World Health Organization and Food and Agriculture Organization Microbiological Risk Assessment Series 6
- Anonim (2007). UNICEF Türkiye Milli Komitesi Bülteni.
- Anonim (2008a). Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Gıda ve Yem Araştırmaları Program Değerlendirme Toplantısı, Antalya.
- Anonim (2008b). Meningococcal disease – the facts. http://www.health.vic.gov.au/_data/assets/pdf_file/0016/30319/men_turkish.pdf (erişim tarihi, 03.04. 2008).
- Anonim (2009). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği 2009/6 – T.C. Resmi Gazete 06.02.2009 Sayı: 27133. Ankara.

- Arcasoy M, Mir S, Taneli B (1994). Çocukta Fizik Bakım ve Beslenme. 1. Baskı. Saray Tıp Kitapevi, İzmir, 269-273.
- Arlotti JP, Catrell BH, Curtin JJ (1998). Breast Feeding Among Low-Income Women With And Without Peer Support. *Journal Of Community Health Nursing*, 15: 163-168.
- Atlas B (2006). Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aşı Merkezi ve Yenidoğan İzleme Unitesine Başvuran Annelerin Anne Sütü Konulu Eğitiminin Etkinliğinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörlüğü, İstanbul.
- Banos JL, Olano A, Corzo N (2000) Determination of mono and disaccharide content of enteral formulations by gas chromatography, *Chromatographia*, 52: 221-224.
- Barron JC, Hurrell E, Townsend S, Cheetham P, Loc-Carillo C, Fayet O, Prere MF, Forsythe SJ (2007). Genotypic and phenotypic analysis of *Enterobacter sakazakii* strains from an outbreak resulting in fatalities in a neonatal intensive care unit in France. *J Clinic Microbiol*, 45: 3979-3985.
- Bellamy C (1998). Dünya Çocuklarının Durumu UNICEF: Barok ofset Matb. Ankara.
- Bilgel N (1997). Halk Sağlığı Bakışıyla Ana ve Çocuk Sağlığı. Hünkar Ofest Matb. 233-236, 342-350.
- Breeuwer P, Lardeau A, Peterz M, Joosten HM (2003). Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. *J. Appl. Microbiol.*, 95: 967-973.
- Cemeroğlu B (2007). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Deneği Yayınları, No:34, Ankara.
- Ceylan A, Arslan Ş, Kırimi E, Öner AF (1998). Nekrotizan Enterokolit: Patogenez, Tanı, Tedavi ve Yeni Görüşler. *Van Tıp Dergisi*, 5: 188-193.
- Chessex P, Reichman B, Verellen G, Patet G, Smith JM, Heim T (1983). Quality of growth in premature infants fed their own mother's milk. *J Pediatr*, 102: 107-12.
- Cochi SL, Fleming DW (1986). Primary invasive H.İnfluenza typ b disease a population-based assesment of risk factors. *J. Pediatr*, 108 p.
- Coşkun T (1991). Ek Besinlere Başlama "Weaning" Döneminde Beslenme. Katkı Pediatri Dergisi. Anne Sütü Özel Sayısı. Hacettepe Üni. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıları AD ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayımları, 12: 630-636, Ankara.
- Dewey KG, Heinig MJ, Nommesen LA (1995). Differences in morbidity between breast-fed and formula-fed infants. *J Pediatr*, 126: 696-702.
- Drudy D, Mullane NR, Quinn T, Wall PG, Fanning S (2006). *Enterobacter sakazakii*: An Emerging Pathogen in Powdered Infant Formula. *Clin. Infec. Dis*, 42: 996-1002.
- Edelson-Mammel SG, Buchanan RL (2004). Thermal inactivation of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant formula. *J. Food Protect*, 67: 60-63.
- Edelson-Mammel SG, Porteus MK, Buchanan RL (2005). Survival of *Enterobacter sakazakii* in a dehydrated powdered infant formula. *J. Food Protect*, 68: 1900-1902.
- Edelson-Mammel S, Porteus MK, Buchanan RL (2006). Acid Resistance of Twelve Strains of *Enterobacter sakazakii*, and the Impact of Habituating the Cells to an Acidic Environment. *J. Food Sci*, 71: 201-207.
- Ertuğrul T, Neyzi O (1993). Pediatri, Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul.
- Farmer JJ, Asbury MA, Hickman FW, Brenner DJ (1980). *Enterobacter sakazakii*, new species of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 30: 569-584.
- Ferrer E, Alegria A, Fare R, Abellan P, Romero F (2000). Effects of thermal processing and storage on available lysine and furfural compounds cententa of infant formulas, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1817-1822.
- Forsythe SJ (2002). The microbiological risk assessment of food. Chapter 3. Risk Analysis. Oxford: Blackwell Publishing.

- Forsythe SJ (2005). *Enterobacter sakazakii* and other bacteria in powdered infant milk formula. *Maternal and Child Nutr.*, 1: 44.
- Gonzales ASP, Naronjo GB, Malec LS, Vigo MS (2003). Available Lysine, Protein Digestibility and Lactulose in Commercial Infant Formulas, *International Dairy Journal* 13: 95-99.
- Gurr MI (1981) Review on the progress of dairy science: Human and artificial milks for infant feeding. *Journal of Dairy Research*, 48: 519-554.
- Gurtler JB, Kornacki JL, Beuchat LR (2005). *Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health. *Int. J. Food Microbiol*, 104: 1-34.
- Gültekin M, Demirel N (2006). Hazır toz bebek mamaları ve *Enterobacter sakazakii*. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 36: 67 - 74
- Hambraeus L (1990). Human milk nutritional aspect. *Clinical nutrition of the young Child*, Nectec Ltd., Ve vey/Raven Pres, Ltd., 290-300. New York.
- Harris LS, Oriel PJ (1989). Heteropolysaccharide produced by *Enterobacter sakazakii*. US Patent, 4: 606 636.
- Hawkins RE, Lissner CR, Sanford JP (1991). *E.sakazakii* bacteremia in an adult. *South Med J*, 84: 793-795.
- Himelright I, Haris E, Lorch V, Anderson M, (2002). *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula, *J. Am. Med. Assoc.*, 287: 2204-2205.
- Iversen C, Forsythe S (2003). Risk profile of *E.sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk Formula, *Trends in Food Sci. Technol*, 14: 443-454.
- Iversen C, Hargreaves A, Forsythe S (2003). Growth rates and D-values of *Enterobacter sakazakii* in 5 suspending media. ASM conference, 17-22 May, Washington.
- Iversen C, Forsythe S (2004). Isolation of *E.sakazakii* and other *Enterobacteraceae* from powdered formula milk and related products, *Food Microbiol*, 21: 771-777.
- Iversen C, Lane M, Forsythe SJ. (2004a). The growth profile, thermostolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Letters in Applied Microbiology*, 38: 378-382.
- Iversen C, Vaddington M, On SLW, Forsythe S. (2004b). Identification and phylogeny of *Enterobacter sakazakii* relative to *Enterobacter* and *Citrobacter* species. *J. Clin. Microbiol*, 42: 5368-5370.
- Kandhai MC, Reij MW, Gorris LGM, Guillaume-Gentil O, Van Schothorst M (2004). Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet*, 363: 39-40.
- Kaya GD, Heperkan D (2009). Gıdalarda *Enterobacter sakazakii* varlığı, önemi ve tayin metodları. *Gıda dergisi*. Haziran: 79-86.
- Kindle G, Buse A, Kampa D, Meyer-Koenig U, Daschner FD (1996). Killing activity of microwaves in milk. *J. Hosp. Infect*, 33: 273-278.
- Kuzina LV, Peloquin JJ, Vacek DC, Miller TA (2001). Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Curr. Microbiol*, 42: 290-294.
- Lai KK (2001). *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children and adults: case reports and review of the literature. *Med. Baltimore*, 80: 113-122.
- Lechner A, Stephan R (2004). Microbiological, epidemiological, and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. *J Food Protect*, 67: 2850.
- Leuschner RGK, Baird F, Donald B, Cox LJ (2004). A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Food Microbiol*, 21: 527-533.
- Lo CW, Kleinman RE (1996). Infant formula, past and future: Opportunities for improvement, *American Journal of Clinical Nutrition*, 63: 646-650.

- Malec LS, Gonzales ASP, Vigo MS (2002). Influence of Water Activity and Storage Temperature on Lysine Availability of A Milk Like System, Food Research International, 35: 849-852.
- Manglano P, Lagarda MJ, Silvestre MD, Vidal C, Clementre G, Farre R (2005). Stability of the lipid fraction of milk-based infant formulas during storage. Eur. J. Lipid Sci. Technology, 107: 815–823.
- Marshall RT (1992). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. (16th ed.), American Public Health Association, Washington, DC.
- Michelle K, Yongsoon P, Rebecca A, Behre RN, Lisa Y, Harrison BS, Terry D, Mark A (1999). Conjugated linoleic acid concentrations of human milk and infant Formula, Food Sci. & Hum. Nutr. Washington State Univ: 99164-6376, USA.
- Montilla A, Moreno FJ, Olano A (2005). A Reliable Gas Capillary Chromatographic Determination of Lactulose in Dairy Samples, Chromatographia, 62: 311-314.
- Morales V, Olano A, Corzo N (2004). Ratio of Maltulose and Furosine as Quality Parameters for Infant Formula, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 6732-6736.
- Mullane NR, Drudy D, Whyte P, O'Mahony M, Scannell AGM, Wall PG, Fanning S (2006). *Enterobacter sakazakii*: Biological properties and significance in dried infant milk Formula (IMF) powder. Int. J. Dairy Technol, 59: 102-111.
- Muytjens HL, Zanen HC, Sonderkamp HJ, Kolee LA, Wachsmuth IK, Farmer JJ (1983). Analysis of eight cases of neonatal meningitis and sepsis due to *Enterobacter sakazakii*. J. Clin. Microbiol, 18: 115-120.
- Muytjens HL, Van Der Ros-Van De Repe J, Van Druten HAM (1984). Enzymatic profiles of *Enterobacter sakazakii* and related species with special reference to the alpha glucosidase reaction and reproducibility of the test system. J. Clin. Microbiol, 20: 684-687.
- Muytjens HL, Roelofs WH, Jaspar GHJ (1988). Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family *Enterobacteriaceae*. J. Clinical Microbiol, 26: 743-746.
- Nair MKM, Joy J, Venkitanarayanan KS (2004). Inactivation *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by monocaprylin. J. Food Protect, 67: 2815-2819.
- Nazarowec-White M, Farber JM (1997a). *Enterobacter sakazakii*: a review. International Journal of Food Microbiology, 34: 103-113.
- Nazarowec-White M, Farber JM (1997b). Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. Letters in Applied Microbiology, 24: 9-13.
- Nazarowec-White M, Farber JM (1997c). Incidence, survival, and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. Journal of Food Protection, 60: 226-230.
- Nazarowec-White M, Farber JM (1999). Phenotypic and genotypic typing of food and clinical isolates of *Enterobacter sakazakii*. J. Med. Microbiol, 48: 559-567.
- Öncü Ü (2007). 1-5 yaş arası çocukların persantillerine ailenin sosyoekonomik düzeyinin ve annenin beslenme konusundaki bilginin etkisi. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, İstanbul.
- Özalp İ (1996). Anne sütü ve anne sütü ile beslenme. Katkı Pediatri Dergisi 1: 37-52.
- Özalp İ, Köksal G (1996). Anne Sütü ile Beslenmeyi Engelleleyen Durumlar ve Anne Sütü Almayan Süt Çocuğunun Beslenmesi (Yapay Beslenme). Katkı Pediatri Dergisi. Beslenme I Özel Sayısı. Hacettepe Üni. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastaları AD ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayınevi, Ankara. 17: 73-86.
- Pagotto FJ, Nazarowec-White M, Bidawid S, Farber JM. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and on vivo. J. Food Protect, 66: 370-377.

- Polat G, Halkman AK (2007). Bebek Mamalarında *Enterobacter sakazakii* ve Önemi. Derleme, Gıda, 32: 151-161.
- Polat G, Halkman AK (2008). Bebek Maması ve Bileşenlerinin *E.sakazakii* Varlığı Açısından İncelenmesi. 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- Rosset P, Noel V, Morelli E (2007). Time-temperature profiles of infant milk formula in hospitals and analysis of *Enterobacter sakazakii* growth. Food Control, 18: 1412–1418
- Scheepe-Leberkuhne M, Wagner F (1986). Optimization and preliminary characterization of an exopolysaccharide synthesized by *Enterobacter sakazakii*. Biotechnology Letters, 8: 695–700.
- Shaker R, Osaili T, Al-Omary W, Jaradat Z, Al-Zuby M (2007). Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. Food Control, 18: 1241–1245.
- Simmons BP, Gelfand MS, Haas M, Metts L, Ferguson J (1989). *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. Infect. Cont Hosp. Ep, 10: 398-401.
- Skladal P, Mascini M, Salvadori C, Zannoni G (1993). Detection of bacterial contamination in sterile UHT milk using an l-lactate biosensor. Enzyme and Microbial Technology, 15: 508-512.
- Soysa P (1979). Timing for complementary feeding in proceedings of work shop on breast-feeding and supplementary foods, Ed by Volyasevi, and Baker J, p 41, Bangkok, Thailand.
- Steigerwalt AG, Fanning GR, Fife Asbury MA, Brenner DJ (1976). DNA relatedness among species of *Enterobacter* and *Serratia*. Can. J. Microbial, 22: 121-137.
- Thomas B (1994). Manual of Dietetic Practice, Oxford: Blackwell Science Publications, 250.
- Üzüm M (2006). Ankara Yöresinde Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde *Salmonella-Shigella* ve Bazı Patojenlerin İzolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Van Acker J, De Smet F, Muylderma G, Bougatef A, Naessens A, Lauwers S (2001). Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. J. Clin. Microbiol, 39: 293-297.
- Whitehead RG, Allison AP, Rowland MGM (1980). Lactation in Cambridge and in the Gambia. Nutrition in childhood, Brian A Wharton ed. Tumdridge Wells Pitman Medical.
- Yiğit EK, Tezcan S (2003). Bebeklerin beslenme alışkanlıkları, çocukların ve annelerin beslenme durumu. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 2003. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, 141-146, Ankara.
- Yurdakök M (1991). Anne Sütü İle Beslenme ve Erişkin Sağlığı. Katkı Pediatri Dergisi, Anne Sütü Özel Sayısı, Hacettepe Üni. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayıncı, 12: 526-531, Ankara.

EKLER

API 20E Tanımlama Sonuçları

EK 1

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V4.0				
Profile	3 3 0 7 3 7 3				
Note	POSSIBILITY OF <i>Enterobacter cloacae</i>				
Significant taxa	% ID	T	Tests against		
<i>Enterobacter sakazakii</i>	99.9	0.84	GEL 10%		
Next taxon	% ID	T	Tests against		
<i>Enterobacter cloacae</i>	0.1	0.2	GEL 0%	INO 12%	SOR 90%
Complementary test(s)	YELLOW		ESC (HYD.)		
<i>Enterobacter cloacae</i>	0%		30%		
<i>Enterobacter sakazakii</i>	98%		100%		

Bebek mamalarından iki nolu örneğe ait API 20E tanımlama sonuçları

EK 2

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V4.0				
Profile	0 2 0 0 0 0 2				
Note	POSSIBILITY OF <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>				
Significant taxa	% ID	T	Tests against		
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	97.3	0.99			
Next taxon	% ID	T	Tests against		
<i>Chryseomonas luteola</i>	1.1	0.68	ONPG86%	ADH 75%	GLU 84%
Complementary test(s)	YELLOW		42°C	Tween 80	GLUCOSEas
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	98%		2%	2%	98%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0%		+	100%	-(+)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0%		-	100%	-(+)

Bebek mamalarından yirmi üç nolu örneğe ait API 20E tanımlama sonuçları

EK 3

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V4.0			
Profile	3 3 0 5 3 7 3			
Note	POSSIBILITY OF Enterobacter cloacae			
Significant taxa	% ID	T	Tests against	
Enterobacter sakazakii	98.4	1.0		
Next taxon	% ID	T	Tests against	
Enterobacter cloacae	1.5	0.7	INO 12%	SOR 90%
Complementary test(s)	YELLOW		ESC (HYD.)	
Enterobacter cloacae	0%		30%	
Enterobacter sakazakii	98%		100%	

Bebek mamalarından yirmi dört nolu örneğe ait API 20E tanımlama sonuçları

EK 4

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V4.0			
Profile	3 3 0 7 7 7 3			
Note	POSSIBILITY OF Enterobacter cloacae			
Significant taxa	% ID	T	Tests against	
Enterobacter sakazakii	98.4	0.67	GEL 10%	SOR 8%
Next taxon	% ID	T	Tests against	
Enterobacter cloacae	1.2	0.36	GEL 0%	INO 12%
Complementary test(s)	YELLOW		ESC (HYD.)	
Enterobacter cloacae	0%		30%	
Enterobacter sakazakii	98%		100%	

Bebek mamalarından yirmi dokuz nolu örneğe ait API 20E tanımlama sonuçları

EK 5

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V4.0
Profile	1 2 0 7 7 7 3
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Serratia ficaria</i>	97.3	0.97	

Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Pantoea</i> spp 2	1.8	0.72	GEL 4%

Bebek mamalarından otuz nolu örneğe ait API 20E tanımlama sonuçları

EK 6

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V4.0
Profile	0 2 0 0 0 0 2
Note	POSSIBILITY OF <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	97.3	0.99	

Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Chryseomonas luteola</i>	1.1	0.68	ONPG 86% ADH 75% GLU 84%

Complementary test(s)	YELLOW	42°C	Tween 80	GLUCOSEas
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	98%	2%	2%	98%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0%	+	100%	-(+)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0%	-	100%	-(+)

Bebek mamalarından ellı dört nolu örneğe ait API 20E tanımlama sonuçları

ÖZGEÇMİŞ

24 Mayıs 1984 tarihinde Bağdat'da doğdum. Lise öğrenimimi 2002 yılında Malkara Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2003 yılında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde başladığım öğrenimimi 2007 yılında bitirdim. Aynı yıl Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladım.