

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSTANBUL'DA SATILAN SOKAK
SÜTLERİNİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ

Cemile DEDE
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2000

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSTANBUL'DA SATILAN SOKAK
SÜTLERİNİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ

Cemile DEDE
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN

GEBZE
2000

Cemile DEDE 'nin tez çalışması, G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21/08/2000 tarih ve 2000/18 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye : Prof.Dr. İ.Yavuz SEZEN
(Tez Danışmanı)

Üye : Yrd.Doç.Dr. Aziz TANRISEVEN

Üye : Yrd.Doç.Dr. Murat ÖZDEMİR

ONAY

GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../2000 tarih ve 2000/..... sayılı kararı

İmza/Mühür

ÖZET

Bu araştırmada İstanbul'un değişik semtlerinde satılmakta olan 44 adet sokak sütünde toplam mikroorganizma koliform grubu bakterilerin varlığı ve bu grup içinde yer alan türler belirlenmeye çalışılmıştır.

Örneklerden 164 adet koliform suşu izole edilmiştir. Koliform grubu bakterilerin tanımlanmasında İMVİC olarak belirtilen testler kullanılmıştır. Yapılan testler sonunda örneklerde *Enterobacter aerogenes*'in en fazla sayıda olduğu belirlenmiştir. Bunu sırasıyla *E.coli tip I*, *E.cloacea*, *E. coli tip II*, *E. freundii* izlemiş ve 15 suş da tanımlanamayarak diğer koliform grubu bakteriler olarak gruplandırılmıştır.

Örneklerle ait toplam mikroorganizma sayısı ortalama 2.36×10^7 adet/ ml, koliform grubu bakteri sayısı ise 2.66×10^6 adet /ml şeklinde bulunmuştur.

SUMMARY

In this research, the total bacteria and the coliform bacteria contents of 44 milk samples which were sold in different parts of İstanbul were determined. At the same time, coliform bacteria were isolated from the samples and identified.

The IMVIC tests were used to identify the coliform bacteria. 164 coliform strains were isolated from 44 samples.

According to the results *Enterobacter aerogenes* was in the largest number. *E. coli type I*, *E. cloacea*, *E. coli type II* and, *E. freundii* followed *E. aerogenes* respectively. Fifteen strains could not be identified and stated as the other coliform groups.

In the samples it was found that the number of total bacteria is average 2.36×10^7 /ml and the coliform bacteria is average 2.66×10^6 /ml.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın tüm aşamalarında ve şekillendirilmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım , değerli hocam sayın Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN'e,

GYTE Biyoloji Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. Abdülkadir AKÇİN'e ve Fen Fakültesindeki bütün hocalarıma,

Tez çalışmamın yazımında göstermiş oldukları ilgi ve yardımlarından dolayı araştırma görevlisi Mine GÜL , Mehmet TUNÇ, Fatma GÖKMEN'e ve GYTE Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ndeki bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tüm yardımlarından dolayı teknisyen arkadaşım Özlem ARDAHANLI'ya,

Hayatımın her evresinde olduğu gibi tez çalışmam sırasında da maddi ve manevi destekleri ile beni teşvik eden aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
GRAFİKLER DİZİNİ	XI
 1.GİRİŞ	 1
1.1.Genel Bilgiler	2
1.2.Süt ve Sütten Yapılan Yiyeceklerin Besin Değerleri	5
1.3.Süt ve Mamulleri ile İnsana Geçen Enfeksiyonlar	7
1.4.Sütte Bulunan Mikroorganizmalar	11
1.4.1.Küf Mantarları	11
1.4.2.Mayalar	11
1.4.3.Bakteriler	12
1.4.3.1.Süt Şekerini Parçalayan Bakteriler	12
1.4.3.2.Süt Proteinini Parçalayan Bakteriler	13
1.4.3.3.Süt Yağını Parçalayan Bakteriler	13
1.4.3.4.İnsan ve Hayvanlarda Hastalık Yapan Bakteriler	13
1.4.3.5.Aerob, Anaerob ve Fakültatif Bakteriler	13
1.4.3.6.Koli Bakterileri	14
1.5.Enterobacteriaceae Familyasının Genel Özellikleri	14
1.5.1.Üreme Özellikleri	15
1.5.2.Antijenik Özellikleri	15
1.5.2.1.Somatik Antijen	15
1.5.2.2.Flagellar Antijen	16

1.5.2.3.Kapsül Antijeni	16
1.5.3.Patogenez	16
1.6.Çiğ Sütlerde Koliform Grubu Mikroorganizma Bulunmasının Önemi	16
1.7.Koliform Grubu Mikroorganizmaların Zararlı Etkileri	17
2.KONU İLE İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR	18
3.MATERYAL VE METOD	20
3.1.Materyal	20
3.2.Metod	20
3.2.1.Örneklerin Analize Hazırlanması	20
3.2.2.Toplam Mikroorganizma Sayısının Saptanması	20
3.2.2.1.Yayma Plak Yöntemi	21
3.2.3.Koliform Grubu Mikroorganizmaların Sayımı ve Ön Ayırımı	22
3.2.4.Gram Boyama Yöntemi	26
3.2.5.Kültürlerin Tanımlanması	28
3.2.5.1.İndol Deneyi	28
3.2.5.2.Metil Kırmızısı Deneyi	29
3.2.5.3.Voges-Proskauer Deneyi	31
3.2.5.4.Sitrat Deneyi	32
4.SONUÇ	34
4.1.Toplam Mikroorganizma ve Koliform Grubu Bakteri Sayısı	34
4.2.Koliform Grubu Bakterilerin Tanımlanması	36
5.TARTIŞMA	37
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	Santimetre
EMS	En muhtemel sayı
g	Gram
Gram(-)	Gram negatif
Gram(+)	Gram pozitif
HCL	Hidroklorik asit
H ₂ S	Hidrojen sülfür
I ₂	İyot
I.U.	İnternational unit
Kal	Kalori
KI	Potasyum iyodür
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
MR-VP	Methyl Red-Voges Proskauer
TS	Türk standartları
TSİ	Three Sugar İron Agar
VRBA	Violet Red Bile Agar
%	Yüzde
GYTE	Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
1.1. İnek Sütünün Ortalama Yapısı	2
1.2. Süt ve Sütten Yapılan Bazı Ürünlerin 100 Gramlarının Sağladığı Enerji ve Besin Öğeleri Miktarları	6
1.3. Süt ve Mamülleri ile İnsanlara Geçen Enfeksiyon Etkenleri ile Bunların Sebep Olduğu İnvazyon ve Enfeksiyonlar	9
3.1. Koliform Grubu Bakterilerin İMVİC Testi Teşhis Anahtarı	33
4.1. Örneklerde Bulunan Toplam Mikroorganizma ve Koliform Grubu Mikroorganizma Sayıları	34

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik	Sayfa
4.1. Örneklerden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Dağılım Oranları	36

1.GİRİŞ

Canlıların en önemli besinlerinden biri olan süt; süt veren hayvanların memelerindeki süt bezlerinin doğal bir salgısıdır. Sütler alındığı hayvana göre isimlendirilir (Koyun sütü, keçi sütü vb.) (Geçgil, 1987, Ergün,1989).

Süt yaşayan her canlının ihtiyacı olan bütün besin maddeleri, protein, karbonhidrat, süt şekeri, yağ, eser elementler, vitaminler, mineraller ve enzimleri bünyesinde dengeli ve yeterli miktarda içermektedir. Ayrıca süt, kalsiyum bakımından da zengin bir üründür (Demirci ve Şimşek, 1996,Geçgil, 1987).

Süt ihtiva ettiği birçok besin maddelerinin sayesinde insanlar için ne kadar gerekli bir madde ise hayvanların beslenme ve üremeleri için de o nispette elverişli bir gıdadır (Sakız, 1973).

Fizyolojik yönden yüksek besin değerine sahip olan sütün kusursuzca içilebilmesi için onun, sağlıklı, iyi beslenmiş hayvanlardan elde edilmiş ve tüketiciye kadar giden yolda zararlı etkilere mümkün olduğunca korunmuş olması gereklidir. Mastitis profilaksisi ile kimyasal ve mikrobiyolojik kontaminasyon kaynaklarının erken teşhis edilerek, ortadan kaldırılması süt hijyeninde en önemli aşamadır (Ergün, 1989).

Sütteki mikroorganizmaların sayısı ve türü hayvanın bakımına, sağımın özelliğine, ahır şartlarına, elde edilen süte yapılan ilk muamele ve muhafaza şekline göre çok değişir (Sakız, 1973).

Sütler normal şartlar altında ve hijyenik kurallara uyularak hazırlansa bile, belli sayıda mikroorganizma bulundurabilmektedir. Yani hijyenik şartlara ne kadar uyulursa uyulursa mililitrede 20000 lere varan mikroorganizma sayıları normal kabul edilmektedir. Fakat bu sayıyı aşan değerler sütün çeşitli kaynaklardan kontamine olduğunu göstermektedir (Robinson, 1990).

Bu çalışmada İstanbul piyasasında satılmakta olan çiğ sütlerde toplam mikroorganizma yanında, koliform grubu bakterilerin miktarını ve bu grup içerisinde yer alan türleri belirlemek ve bu sütlerin hijyenik kalitesini ortaya koymak amaçlanmıştır.

1.1.Genel Bilgiler

Süt hafif sarı, beyaz renkli, su içinde yağ emülsiyonu yapısındadır. Yağ tanelerinin çapı 2-4 μ kadar olduğundan sindirimi kolaydır. PH=6,3-6,6 'dır. Yoğunluğu 1,03-1,033'dür. Bir litre sütün oluşabilmesi için 300-400 litre kanın süt bezlerinden geçmesi gerekir. Hayvan doğumdan sonra süt vermeye başlar ; ancak doğumdan sonraki süt besin olarak kullanılmaz.

Süt ; protein, yağ, karbonhidrat, eser elementler, vitaminler, mineral maddeleri içerir. Süt yağının partikül büyüklüğü 50°A'dur (1°A=10⁻⁸ cm.). Yağ parçacıklarının üstü fosfatid yapısında lesitin adlı madde ile sarılmıştır. Hayvan, aldığı besinlerdeki karbon ve hidrojenle süt yağını üretme yeteneğine sahiptir. Süt için protein / yağ oranı önemli bir sabitedir ve 0.82 oranına sahip olan sütün kalitesi iyidir. Eğer büyükse sütün yağı alınmıştır.

İnek sütünün ortalama yapısı tablo1.1.'de gösterilmiştir.

Tablo1.1. İnek Sütünün Ortalama Yapısı

MADDELER	MİKTARI (%)
Su	87,5
Protein	3,5
Yağ	3,7
Laktoz	4,8
Mineral	0,75

Sütün yapısı, hayvanın cinsi, yaşı, beslenme ve bakım şartlarına göre değişiklikler gösterir. Sütte asit karakterli bakteriler üreyip sütün asit konsantrasyonu %0,4'e yükselince süt kesilir. Bu nedenle süt kaynatılır.

Süt yağı ve proteinleri tad ve koku absorblama özelliğine sahiptir. Hayvanın yediği, içtiği maddelerden ve sütün saklandığı kaplardan gelen koku, tad maddelerini taşır. Uygun olmayan besin maddelerinden ve ayrıca zamanla bulunduğu kabın metali tadı ile koku (vb.) maddeler bulaşabilir.

Çiğ sütlerin bileşiminde bulunan herhangi bir maddenin alınması veya bu sütlere dışarıdan herhangi bir maddenin katılması kesinlikle yasaktır.

Nitelikleri aşağıda belirtilen sütler insan gıdası olarak asla kullanılamaz ve satılamaz:

1. Süt aracılığıyla insanlara bulaşan veya sütlerin niteliklerini bozan bir hastalık taşıyan hayvanların sütleri veya hastalık etkeni bulunan sütler;
2. Hayvanların doğurmasından 15 gün öncesinden 15 gün sonrasına kadar verdikleri sütler ve içinde ağız (kollostrom) bulunan sütler;
3. Sütle geçebilecek arsenik, antimon, civa, terebentin ruhu, sarı sabır (aloes), iyot, striknin ve diğer alkaloitler, antibiyotikler vb. ilaçlarla son 6 gün içinde tedavi edilen hayvanların sütleri;
4. Her türlü bozulmayı önleyici maddelerle, insan sağlığına zarar verecek ve sütün doğal niteliklerini bozacak veya değiştirecek maddeleri taşıyan sütler;
5. Fena kokulu, rengi değişmiş veya boyanmış, içinde gözle görülebilecek derecede ve çok miktarda yabancı madde bulunan bir yerde bırakıldığı zaman yarım saat içinde kabın dibinde belirli miktarda tortu bırakan sütler;

6. İçinde kan, cerahat veya hayvanın diğer salgı ve dışkı maddeleri bulunan sütler;

7. Ateşli bir ishale yahut herhangi bir meme hastalığına tutulmuş hayvanların sütleri;

8. Herhangi bir safhasında içine patojen mikroorganizma karışmış veya insan için zararlı bakteri toksinleri meydana gelmiş sütler (Geçgil, 1987).

Sağlıklı bir memeden sağılan süt protein, yağ, mineral maddeler ve vitaminler gibi kıymetli bileşenlerce zengindir ve bütün teknolojik olarak arzu edilen özelliklere sahiptir. Bunun için sütün hayvandan sağıldıktan sonraki kalitesini işlenmesine kadar geçen zamana kadar muhafaza etmek önemlidir.

Kusursuz bir çiğ sütte arzu edilen özellikler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Çiğ süt sağlıklı bir memeden elde edilmelidir. Memesi hasta ineğin sütü düşük değerlidir. Patojen mikroorganizmalar, beyaz kan cisimcikleri içerir ve bileşiminin değişmesi ortaya çıkar. Bunlar da süt işlemede kayıplar ve zararlara sebep olur.

2. Çiğ süt düşük mikroorganizma ihtiva etmelidir. Bütün süt ürünlerinin tadı ve dayanıklılığı çiğ sütün hijyenik kalitesine bağlıdır. Yani onun temizlik derecesiyle ilgilidir. Temizlik şartına dikkat edildiği takdirde elde edilecek süt en düşük miktarda mikroorganizma ihtiva edecektir.

3. Çiğ süt tad ve koku hataları göstermemelidir. Çiğ sütteki arzu edilmeyen tad ve koku maddeleri çoğunlukla yemleme ile ilgilidir veya yetersiz ahır hijyeninden kaynaklanmaktadır. Sağımdan sonra yemleme, silaj gibi yemlerin ahırın dışında depolanması, pis, dondurulmuş veya küflenmiş yemlerin yedirilmemesi, taze sağılmış sütün hızla ahırdan uzaklaştırılması gibi tedbirler arzu edilmeyen etkileri büyük ölçüde azaltmaktadır.

4. Çiğ süt hiçbir yabancı madde ihtiva etmemelidir. Antibiyotik temizlik ve dezenfektan maddeler, tarım ilaçları usulüne uygun kullanılmamaları sonucu süte geçmekte ve işleme sırasında güçlükler ortaya çıkmaktadır. Bundan başka bu maddeler sağlık yönünden de zararlı olmaktadır.

İyi bir çiğ süt kalitesi, işlemede rizikoyu en aza indirir ve ürün kalitesini yükseltir (Tarım ve hayvancılık dergisi,Hayvancılık serisi I).

1.2. Süt ve Sütten Yapılan Yiyeceklerin Besin Değerleri

Süt ve sütten yapılan yoğurt, ayran, çökelek, peynirler, süt tozu, tarhana, sütlü tatlılar gibi yiyecekler kalsiyumun en zengin kaynağıdır. Ayrıca iyi kaliteli hayvansal proteinlerle, riboflavin, B₁₂, niasin gibi B grubu vitaminleri de bol miktarda içerirler. Sütlerin ortalama 100 gramı 60-70 kalori, 3,3-4 gram protein, peynirlerin ortalama 100 gramı 250-300 kalori, 15-25 gram protein sağlar.

Süt ve sütten yapılan yiyeceklerin herhangi birinden veya birkaçından günde 1-3 porsiyon yenmelidir. Bir su bardağı süt veya yoğurt, 1-2 kibrit kutusu büyüklükte peynir, bir küçük kase muhallebi veya sütlaç bir porsiyon olarak kabul edilir. Bu gruptaki yiyecekler özellikle büyümekte olan çocuklar, gebe ve emzikli kadınlar ile yaşlılar için önemlidir. Yetişkin ve normal durumda olan kişilere günde 1-2 porsiyon süt grubu yiyecekler yeterli görülmekte, buna karşılık çocuklar, gebe ve emzikli kadınlar için yeterli miktar 2-3 porsiyon olarak kabul edilmektedir (Bertan ve Güler, 1995).

Tablo1.2.'de süt ve sütten yapılan bazı ürünlerin 100 gramlarının sağladığı enerji ve besin öğeleri miktarları gösterilmektedir.

Tablo 1.2. Süt ve Sütten Yapılan Bazı Ürünlerin 100 Gramlarının Sağladığı Enerji ve Besin Öğeleri Miktarları (Türkiye Diyetisyenler Derneği, 1988)

Yiyecekler	Ortalama Ölçü (100 gram için)	Enerji (Kal)	Karbonhidrat (gram)	Protein (gram)	Yağ (gram)	Kalsiyum (mg)	Demir (mg)	Vitaminler (l.)
İnek sütü (Orta Yağlı)	Bir çay bardağı	64	5,5	3,5	3	120	0,1	15
Yoğurt (Orta Yağlı)	Bir çay bardağı	59	5,4	3,2	2,6	120	0,1	12
Çökelek (Taze)	Bir küçük su bardağı	100	3,2	35	5,6	150	0,3	15
Beyaz Peynir (Yağlı)	Üç kibrit kutusu büyüklükte	289	0	22,5	21,6	162	0,5	72

1.3. Süt ve Mamülleri İle İnsana Geçen Enfeksiyonlar

Mikroorganizmalar gıdalara hava, toprak, su, böcekler, kemirgenler veya üretim aşamasında hammadde, katkıları, alet ve ekipmanlardan bulaşabilmektedir. Uygun ortam koşullarında gelişen bu mikroorganizmalar gerek gıda bozulmaları gerekse tüketici sağlığı açısından önemli olmaktadır. Bu konuda yapılan değerlendirmelerde gıda kaynaklı riskler arasında mikroorganizmaların ilk sırayı aldıkları belirlenmiştir (Kalafaaatoğlu, 1999).

Gıda kökenli hastalıklar enfeksiyonlar veya intoksikasyonlar şeklinde ortaya çıkabilirler. Enfeksiyonlarda hastalık etkeni veya toksin üreten mikroorganizma vücuda alındıktan sonra gelişmesine devam etmekte veya vücut içerisinde toksin oluşturmaktadır. İntoksikasyonlarda ise mikroorganizma gıda üzerinde gelişerek toksik bileşikler üretmektedir. Ancak intoksikasyona neden olan mikroorganizma her zaman gıdadan izole edilmeyebilir. İntoksikasyonlarda gıdanın vücuda alınmasıyla zehirlenme belirtilerinin ortaya çıkması için geçen süre daha kısa olmakla birlikte bazı küf toksinlerinin neden olduğu intoksikasyonlar kronik olarak seyredebilir (Aran, 1993).

Zoonoslar (Latince'de zoo=canlı hücre, noss=hastalık) omurgalı hayvanlarla insanlar arasında karşılıklı olarak bulaşabilen enfeksiyon etkenleridir (Ergün, 1989).

Sütün sağlık kontrolünden yoksun koşullarda elde edilmesi ve bunları işleyen işçiler ile bu alanda eksper olanların; sağlık kurallarına uymadan ürettikleri kaymak, tereyağ, dondurma ile peynir gibi süt ürünleri, kendileri ile birlikte bunları besin olarak tüketenlerin de zoonotik karakterdeki birçok enfeksiyonu almalarına neden olmaktadır (Omurtag ve Akın, 1981).

Sütle insana geçen en önemli zoonoslar şunlardır;

- a) Brusellozis,
- b) Şap,
- c) Antraks,
- d) Leptosiprozis,
- e) Listerioz,
- f) Q-Fieber,
- g) Toksoplazmozis,
- h) Salmonellozis etkenleri,
- i) *Campylobacter fetus*,
- j) *Coxiella burneti*,
- k) *Pseudomonas aeruginosa*,
- l) *Staphylococcus aureus*,
- m) *Streptococcus agalactiae*,
- n) *Yersinia enterocolitica*,
- n) Viruslar (Herpes Virusu, Hetatitit-A Virusu)

Hayvan ve insanlarda patojen olan viruslar sütte üreyemezler, ancak aracı olarak işi görürler (Ergün, 1989).

Süt ve mamülleri ile insanlara geçen enfeksiyon etkenleri ile bunların sebep olduğu invazyon ve enfeksiyonlar tablo.1.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 1.3. Süt ve Mamülleri İle İnsanlara Geçen Enfeksiyon Etkenleri İle Bunların Sebep Olduğu İnvazyon ve Enfeksiyonlar (Omurtag, 1975)

HASTALIKLAR	ENFEKSİYON KAYNAKLARI		
	İnsan	Süt	Çevre
Viral Enfeksiyonlar			
Adenovirus enfeksiyonları(*)	X		
Enterovirus enfeksiyonları(*)	X		
Afta epizootika		X	
Enfeksiyöz hepatitler *	X		
Kene menşeli ensefalitis		X	
Riketsiyal Enfeksiyonlar			
Q Humması		X	
Bakteriyel Enfeksiyonlar			
Antraks *		X	X
Brusellozis		X	
Kolera	X		
Koli enfeksiyonları	X	X	
<i>Clostridium perfringens</i> (welchii) enfeksiyonu			X
Difteria	X		
Enteritis (*) (non-spesifik, çok miktarda ölü veya Canlı Coli, Proteus, Pseudomonas, Welchii (v.s.)			X
Leptospirozis (*)		X	
Listeriozis (*)		X	
Paratifoid fiyevr	X		
Fare ısırığı humması			X

Tablo 1.3. Süt ve Mamülleri İle İnsanlara Geçen Enfeksiyon Etkenleri İle Bunların Sebep Olduğu İnvazyon ve Enfeksiyonlar (Omurtag, 1975) (Devamı)

HASTALIKLAR	ENFEKSİYON KAYNAKLARI		
	İnsan	Süt	Çevre
Salmonellozis	X	X	
Şigellozis	X		
Streptokokkal enfeksiyonlar	X	X	
Tüberkülozis	X	X	
Tifoid fiyevr	X		
Bakteriyel Entoksikasyonlar			
Botulizm	X	X	X
Enterotoksigenik olan Stafilokokküsle ait gastroenteritis	X		
Protozoa invazyonları			
Amoebidzis(*)	X		
Balantidiazis(*)	X		X
Giardiasis (*)	X	X	
Tokzoplazmozis (*)	X		
Helmintler			
Enterobiazis (*)	X		
Teniasis (Taenia solium invasiyonu) *	X		
Diğerleri			
Antibiyotiklere duyarlılık reaksiyonları, İnsektisitlerin sebep olduğu Toksikozlar, bitkisel toksitler, radyoaktif ve diğer ağır metaller, prezervatifler ve diğer yabancı maddeler		X	X

*Süt kaynaklı olduğu ispat edilememiş, fakat epidemiyolojik olarak şüpheli bulunmuşlardır.

Bu tablonun incelenmesinden anlaşılabacağı gibi bir kısım hastalıklar doğrudan doğruya süt hayvanlarının kendisi, bir kısım hastalıklar hasta veya portör insanlar, bir kısım hastalıklar da temizlik amacıyla kullanılan su, haşere veya benzeri diğer hastalık taşıyıcı canlıların sütü kontamine etmesi gibi dış çevreye ait koşullar veya araçlar tarafından sütlere ulaşır.

1.4. Sütte Bulunan Mikroorganizmalar

Sütte bulunan mikroorganizmalar yaşama, çoğalma, beslenme faaliyetleri neticesinde meydana getirdikleri maddelerin özelliklerine göre 3 gruba ayrılabilir.

1.4.1. Küf Mantarları

Süt ve mamülleri bakımından en çok faydalı ve zararlı olanları şunlardır:

a-)Oidyumlar:Süt ve mamulleri üzerinde beyaz kadife gibi görünen küfler bunlardır.Özellikle tereyağı ve beyaz peynirler üzerinden hiç eksik olmazlar ve bu gıda maddelerinin tadını, lezzetini bozarlar.

b-)Penicillium'lar :Süt ve mamulleri için en tehlikeli küfler bu gruptan olmakla birlikte çok faydalı olanları da vardır.

c-)Mucor: Bunlar adi siyah küfler olup zararlı türlerdir. Daha çok süt ve süt mamülleri imalathanelerinde kullanılan ağaç tahta alet ve malzemelerin üzerinde görülürler. Bu gibi aletler iyi yıkanıp dezenfekte edilmeden kullanılırsa üzerindeki küflerin sporları dağılarak sütlü yiyeceklere geçerler ve böylece o yiyecek maddesine bulaşan küfler kısa zamanda hem bileşimini hem de tad ve lezzetini bozarak kullanılmaz hale getirirler.

1.4.2. Mayalar

Gıda teknolojisinde çok önemli olan bu mikroorganizma grubunun sütçülükte önemli rolleri vardır. Mayaların bazıları faydalı, bazıları da zararlı faaliyette bulunurlar. Mayalar genel olarak küf mantarlarından daha küçük ,bakterilerden de daha büyük olup uygun şartlarda tomurcuklanma yoluyla, uygun olmayan şartlarda ise sporlanma yoluyla çoğalırlar.

Sütçülükte faaliyet gösteren mayalar 3 sınıfa ayrılabilir

1-)Saccharomyces

2-)Torula

3-)Mycoderma

1.4.3. Bakteriler

Sütte bulunan bakteriler yaptıkları işe ve ayrıştırdıkları madde gruplarına göre şöyle sınıflandırılabilir :

- Süt şekerini parçalayan bakteriler
- Süt proteinini parçalayan bakteriler
- Süt yağını parçalayan bakteriler
- İnsan ve hayvanlarda hastalık yapan bakteriler
- Aerob, anaerob ve fakültatif bakteriler
- Koli bakterileri

1.4.3.1. Süt Şekerini Parçalayan Bakteriler

Bunlara süt asidi bakterileri de denir. Önemli bir grup olup hem faydalıları hem de zararlıları vardır. Bunlar süt şekerini parçalayarak süt asidi haline çevirirler. Bu değişme neticesinde sütün kendine mahsus tadı azalarak ekşilik yani asit lezzeti hakim olur. Bu halin neticesinde süt ekşir ve kesilir. Bu olaya sebep olan bakterilerin en önemlileri şunlardır;

1-Streptococcus

2-Thermobacterium

3-Streptobacterium

1.4.3.2. Sütteki Proteinleri Parçalayan Bakteriler

Süt ve mamulleri için genellikle zararlı olan bu grup bakteriler salgıladıkları enzimler sayesinde sütteki proteinleri parçalayarak peptonlara ve aminoasitlere çevirirler. Böylece o maddenin görünüşünü, tadını, kokusunu, kimyasal bileşimini değiştirirler.

Bu gruptaki bakteriler spor verenler ve vermeyenler olmak üzere ikiye ayrılabilirler (Adam, 1968).

Spor vermeyenler en çok temizlik suları, ot ve saman gibi maddelerle süte karışıp sütlerin kokmasına sebep olurlar.

Spor verenler ise, spor verdikleri için ısıtmakla ve kaynatmakla ölmezler. Havayı seven ve yüksek ısıya dirençli olan bu bakteriler sütçülük için çok önemli olup ot, saman, patates, toprak vasıtası ile süte geçerler.

1.4.3.3. Süt Yağını Parçalayan Bakteriler

Süt ve mamullerinin bileşimindeki yağ maddesinin parçalanması sonucu yağın görünüşü bozulur, lezzeti acılaşıp, kokusu keskinleşir. Süt yağının parçalanması her zaman bakteriler tarafından olmayıp bazı halde mayaların ve küflerin de aynı olaya sebep oldukları görülmektedir.

1.4.3.4. İnsan ve Hayvanlarda Hastalık Yapan Bakteriler

Süt vasıtasıyla ile hayvanlardan insanlara, insanlardan insanlara, insanlardan hayvanlara geçen en önemli hastalıklar; verem, bang, şap, çiçek, meme iltihabı, paratifo'dur . Bunlardan başka daha az tehlikeli olan kolera, difteri, kızıl, dizanteri gibi hastalıklar da mevcuttur.

Çiğ süt insanlar için patojenik olan mikroorganizmaları içerebilmektedir. Tablo.1.3.'de bu konu ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmiştir.

1.4.3.5. Aerobik –Anaerobik – Fakültatif Bakteriler

Aerobik bakteriler havayı ve oksijeni seven oksidasyon bakterileri olup bu grup süt ve mamulleri için çok önemli değildir.

Anaerobik bakteriler ise havayı sevmeyen ve dolayısı ile havasız şartlarda yaşayabilen bakteriler olduğu için süt ve mamulleri yönünden önemlidirler. Bunların bir kısmı spor vermeleri nedeniyle daha da önem kazanırlar. Anaerobik bakteriler bazen çeşitli maddeleri parçalayarak hoşagitmeyen gazları ve kokuları meydana getirirler.

Fakültatif bakteriler ise hem havalı hem de havasız şartlarda faaliyet gösterebilirler. Bu iki yönlü faaliyetleri bazen faydalı, bazen de zararlı sonuçlar doğurabilir (Sakız, 1973).

1.4.3.6. Koli Bakterileri

Enterobacteriaceae familyasının içerisinde yer alan koliform grubu bakteriler; aerobik veya fakültatif anaerobik, gram negatif, sporsuz, çubuk şekilli, glikoz ve diğer karbonhidratlardan gaz oluşturan bakterilerdir (Fishbein et al, 1976, Parker and Collier, 1990).

Koliform grubu bakterilerin içerisinde yer aldığı Enterobacteriaceae familyasının genel özellikleri aşağıda açıklanmıştır.

1.5. Enterobacteriaceae Familyasının Genel Özellikleri

İnsan ve hayvan gastrointestinal sisteminde normal florada bulunan ya da dışarıdan vücuda girerek hastalık oluşturan bakterileri içeren geniş bir gruptur. DNA analizlerine, biyokimyasal özelliklerine, serolojik reaksiyonlarına, bakteriyofaj ve antibiyotiklere duyarlılıklarına göre değişik sınıflamalar yapılmıştır (Kılıçturgay ve ark., 1994). Bununla birlikte, ortak bir sınıflama yoktur. En çok kullanılan sınıflamaya göre;

<u>Familiya</u>	<u>Genus</u>
1-Escherichieae	Escherichia, Shigella
2-Edwardsiellae	Edwardsiella
3-Salmonellae	Samonella

4-Citrobacteriaceae	Citrobacter
5-Klebsiellae	Klebsiella, Enterobacter, Hafnia, Serratia
6-Proteeae	Proteus, Morganella, Providencia
7-Yersinieae	Yersinia
8-Erwinieae	Erwinia

Bu bakterilerin hepsi gram (-), sporsuz basillerdir. Klebsiella, diğerlerinden farklı olarak belirgin bir kapsüle sahiptir. Değişken biyokimyasal özellikler (şekerlerin fermentasyonu, aminoasitlerin deaminasyonu gibi) gösterirler. Ancak hepsi glukozu fermente ederek, asit ve bazen gaz oluştururlar. Nitratları nitritlere indirgerler. Oksidaz (-) olmaları karakteristiktir ve diğer gram (-) basillerden ayırimda önemlidir (Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Notları,1995).

1.5.1. Üreme Özellikleri

Aerop ve fakültatif anaeropturlar. Enterik bakteriler, laboratuvarında kullanılan birçok besiyerinde üreyebilirler. Enterobakterileri tanımlamak için zenginleştirilmiş ve ayırıcı besiyerleri kullanılır.

1.5.2. Antijenik Özellikler

Üç tür antijenleri vardır.

1.5.2.1. O-Somatik Antijen

Bakterinin hücre duvarında yer alan, ısıya dirençli bir yapıdır. Hücre duvarında yer alan lipopolisakkarit tabakası 3 bölgeden oluşur. Birinci bölge 3 veya 4 monosakkaritin tekrarı ile oluşan polimer şeklindedir. Bu polimerlerdeki değişiklikler farklı subgrupları oluşturur. İkinci bölge kor polisakkaritidir. Tür spesifikliğini sağlar. Üçüncü bölge ise; lipid A tabakasıdır. Antijenik özelliği yoktur. O antijeni, bakterinin serolojik tanısında grup identifikasyonunu sağlar.

1.5.2.2. H-Flagellar Antijen

Flagellada yer alan, ısıya duyarlı bir yapıdır. H antijeninin değişkenliği aminoasit dizilerindeki varyasyonlara bağlıdır. O serogrubunun serotiplere ayrımını sağlar.

1.5.2.3. K-Kapsül Antijeni

Kapsüllü bakterilerde bulunurlar. Isıya duyarlıdır. *Salmonella typhi*'nin kapsül antijeni Vi adını alır, çünkü bakterinin virulansında rolü vardır (Kılıçturgay ve ark. , 1994).

1.5.3. Patogenez

Tüm gram (-) bakterilerde endotoksin bulunur ve hastalandırıcılık özelliğini sağlar. Lipopolisakkarit yapısındadır ve lipid A fraksiyonu tarafından etkilerini gösterir. Endotoksin, kan basıncı, koagülasyon, vücut ısısı, sıvısal ve hücrel bağışıklık üzerinde etkilidir. Yüksek dozda ise öldürücüdür. Isıya dayanıklıdır (Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Notları, 1995).

1.6. Çiğ Sütlerde Koliform Grubu Mikroorganizmaların Önemi

Entrobacteriaceae familyası içerisinde yer alan ve laktozu gaz oluşturarak fermente eden mikroorganizmalar gıda maddelerinde, özellikle süt ve mamulleri teknolojisinde önemli rol oynarlar. Süt ve mamullerinin kalitesini olumsuz yönde etkileyen bu gruptaki bakteriler ayrıca gıda maddeleri üretim ve işlenmesinde genellikle temizlik ölçüsü ve indikatörü olarak da belirlenirler (Ergüllü,1984).

Bir gıda maddesinde bu bakterilere rastlanması o gıdanın dışkı ile bulaşmış olduğuna, dolayısıyla patojen mikroorganizmalar tarafından kontamine olabileceğine bir işaret sayılmaktadır (Nickerson et al, 1974, Frazier et al, 1978).

1.7. Koliform Grubu Bakterilerin Zararlı Etkileri

Koliform grubu bakteriler normal barsak florasının önemli bir kısmını teşkil ederler. Hastalık yapmadıkları gibi, sindirime de yardımcı olurlar. Ancak sindirim sistemi dışına çıktıklarında, patojen etki göstererek çeşitli hastalıklara sebep olabilirler. Patojen olarak bilinen koliform grubu bakteriler arasında *Klebsiella pneumoniae* akciğerde sertleşme bölgeleri oluşturarak pneumoni denilen hastalığa sebep olurlar. *Enterobacter aerogenes*'in bazı suşları idrar yolu enfeksiyonlarından, *Escherichia coli* 'nin bazı serolojik tipleri de yenidoğan bebeklerde ishal salgınından sorumludurlar (Akman ve Gülmezoğlu, 1980).

Koliform grubu bakterilerin en büyük zararları peynir teknolojisinde görülür. Genellikle oksijenli ortamda gelişen koliform grubu bakteriler, peynirde yaşamaları için gerekli oksijen azaldığında süt şekerini parçalarlar. Kendileri için gereksinim duydukları oksijeni süt şekerinden sağlayan koliform grubu bakteriler madde değişimi sonucu süt asidi, sirke asidi, alkol,karbodioksit ve hidrojen oluştururlar.

Bu olay sonucu oluşan gaz, peynirin iç kısımlarında toplanmakta ve bu noktalarda gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır. Gözenekler peynir kitlesinin tüm yüzeyini kaplayabildiği gibi, belirli yerlerde de ortaya çıkabilmektedir.

Oluşan gazın miktarına göre bazen peynir kitlesi tamamen parçalanabilmektedir. Bu durum özellikle teneke içerisinde olgunlaşmaya bırakılan peynirlerde çok büyük sorun olmaktadır. Tenekelere konularak ağızları kapatılan ve soğuk hava depolarında olgunlaşmaya bırakılan peynir tenekeleri, oluşan gaz nedeniyle kısa sürede şişmekte ve meydana gelen gaz, tenekelerin patlamasına dahi yol açabilmektedir. Bu durumda peynirlerin satış olanağı ortadan kalktığından, ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır (Ergüllü,1983).

2. KONU İLE İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR

Yalçın ve arkadaşları (1991) yaptıkları bir araştırmada çiğ inek sütlerinden 456 adet koliform gurubu bakteri izole etmişlerdir. Bu bakterilerden 82 (%18,0) 'sinin *E.coli tip I*, 37 (%8,1) 'sinin *E.coli tip II*, 16 (%3,5) 'sinin *E.freundii*, 167 (%36,6) 'sinin *E.aerogenes* ve 33 (%7,2)'ünün de *E.cloacea* olduğunu saptamışlardır. 121 (% 26,6) koliform suşu ise, tanımlanamayarak diğer koliform grubu bakteriler olarak gruplandırmışlardır.

Ergüllü (1984), bir araştırmasında çiğ inek sütünden izole ettiği 942 adet koliform suşunun 186'sının *E.aerogenes* ve 517'sinin de *E.coli* olduğunu belirlemiştir.

Barboro ve arkadaşları (1984) pastörize süt örneklerinden izole ettikleri 325 koliform suşunun %13,65'inin *E.coli tip I*, %14,4'ünün *E.aerogenes*, %23,8'inin *E.cloacea* ve %19,8'inin de *Klebsiella* cinsi içinde yereldiğini tespit etmişlerdir.

Weber ve Hamann (1981) 186 süt numunesinden izole ettikleri koliform suşlarında *E.coli* ve *E.aerogenes* sayısının birbirine yakın olduğunu saptamışlardır.

Aboul-Khier ve arkadaşları (1989) Mısır'da yaptıkları bir araştırmada ise 64 koliform suşunun %48'inin *E.coli* olduğu ve %31'inin de *Enterobacter* cinsi içinde yereldiği belirlenmiştir.

Varadaj ve Namburipad (1983) bazı *S.aureus* suşlarının *E.coli* ve *E.aerogenes*'in bulunduğu ortamda gelişip enteretoksin üreterek sağlık problemi ortaya çıkarabileceğini bildirmişlerdir.

Demeter (1956) 49 tereyağ numunesinin 19'unda *E.coli* ve *E.aerogenes*, 15 örnekte sadece *E.aerogenes* tespit etmiştir.

Singh ve Ranganathan (1974) Hindistan'da 825 süt ve süt ürününden Eosine Methylene Blue Agar ve Violet Red Bile Agar besi yerleri üzerinde, *E.coli* olarak tahmin edilen 1200'den fazla koloninin ancak %67'sinin *E.coli* olduğu ve bunlardan 147'sinin *E.coli tip I*, 9'unun tip II, 11'inin tip III olarak tanımlandığı bildirilmiştir.

Beyaz peynirlerin olgunlaşması sırasında bakteri değişimini inceleyen Ergüllü (1980) ham peynir örneklerinde *E.aerogenes* ve *E.coli*'nin yüksek oranda bulunduğunu, olgunlaşmanın 20'nci gününde *E.cloacae*'nin, 90'nıncı günde *Klebsiella*'ların, 120'nci günde *Citrobacter*'lerin tamamen ortadan kalktığını belirlemiştir.

Sert ve arkadaşları (1990) yaptıkları bir araştırmada Erzurum piyasasında kahvaltılık olarak satılan tereyağlarından koliform grubu bakteriler izole etmişlerdir. 24 örnekten elde ettikleri 187 adet koliform suşundan 41 (%21,9) 'inin *E.coli tip II*, 27 (%14,4) 'sinin *E.coli tip I*, 22 (%11,8) 'sinin *Enterobacter aerogenes*, 18 (%9,6) 'inin *K.pneumoniae*, 12 (%6,4) 'sinin *E.cloae*, 12 (%6,4) 'sinin *E.agglomerans*, 8 (%4,3) 'inin *Citrobacter freundii* ve 6 (%3,2) 'sinin da *C.divercus* olduğunu belirlemişlerdir. 9(%4,8) suş ise tanımlanamamıştır.

Sert ve arkadaşları (1987) Erzurum piyasasında satılan taze beyaz peynirlerden koliform bakteriler izole ederek tanımlamışlardır. 24 adet beyaz peynir örneğinden 214 adet koliform suşu izole edilmiş ve *E.coli tip I*'in en fazla sayıda (86) olduğunu saptamışlardır. Bunu sırasıyla *E.coli tip II* (25), *Citrobacter divercus* (20), *Klepsiella ssp.* (18), *C.freundii* (16), *K.pnumoniae* (10), *Enterobacter aerogenes* (9), *E.agglomerans* (6) ve *E.cloacae* (5) takip etmiş ve 19 suş da tanımlanamamıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

İstanbul' un değişik semtlerinden 1999 Aralık ve 2000 Mayıs ayları arasında şansa bağlı olarak seçilen satıcılardan toplam 44 adet çiğ süt numunesi usulüne uygun bir şekilde alınmıştır.

Numune alma işleminde aseptik koşulların sağlanmasına dikkat edilmiştir. Numuneler için 121°C de 20 dakika süreyle otoklavda steril edilmiş ve mikroplarından arındırılmış 150 ml hacimli, kapaklı şişeler kullanılmıştır.

Alınan numuneler 4 ± 2 °C de muhafaza edilerek incelenmek üzere G.Y.T.E. Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Örnek alma şişelerinde iyice karıştırılan örneklerden steril pipetlerle 1 ml alınarak içerisinde 9 ml steril peptonlu tuz çözeltisi bulunan kapaklı şişelere aktarılmış ve örneğin 10^{-1} lik seyreltmesi yapılmıştır. Aynı işleme uygun seyreltme oranı elde edilinceye kadar devam edilmiştir.

Süt numunesi ve sulandırmaların yapıldığı ağız burgulu, kapaklı cam şişeler her dilüsyonun yapılmasından sonra 25 ila 30 defa düzgün olarak kol dirsekten hareket edecek şekilde aşağı, yukarı olmak üzere 30 ila 40 cm mesafe içinde sıkıca çalkalanmıştır (Omurtag, 1982).

3.2.2. Toplam Mikroorganizma Sayısının Saptanması

Sütte total bakteri miktarı sütün elde edilişinde hijyenik kurallara uyulup uyulmadığı, soğukta depolanıp depolanmadığı,ve soğutma tertibatlı araçlarla

sevk edilip edilmediğinin, saptanması bakımından büyük değer taşır (Omurtag, 1982).

Yaygın kullanımıyla kültürel sayım yöntemleri dökme plak, yayma plak ve en muhtemel sayı (EMS) tekniklerini kapsamaktadır. Bunlardan dökme ve yayma plak tekniklerinde katı besi ortamları, EMS tekniğinde ise sıvı besi ortamları kullanılmaktadır.

Dökme ve yayma ekim tekniklerinin temel prensipleri ortak olup, mikroorganizma hücresi, hücre çifti, zinciri veya kümesinin agar plaklar üzerinde birbirinden ayrı, gözle görülebilir koloniler oluşturmaya dayanır (Borcaklı ve ark, 1994).

Numunelerdeki toplam mikroorganizma sayısı yayma plak yöntemi ile saptanmıştır.

3.2.2.1. Yayma Plak Yöntemi

Bu yöntem daha önce petrilere dökülerek katılaşması sağlanmış ortamların yüzeyine numunenin hazırlanan seyreltimlerinden konularak özel cam çubuk (Drigalski spatülü) ile besiyerinin yüzeyine homojen olarak yayılması ve uygun koşullarda inkübasyon sonucu oluşan kolonilerin sayılması esasına dayanır (Borcaklı ve ark., 1994).

Kullanılan Besiyeri ve Hazırlanması

Numunelerdeki toplam mikroorganizma sayısının belirlenmesi için Nutrient Agar kullanılmıştır.

Nutrient Agar

Pepton	5.00 gr
--------	---------

Et ekstraktı	3.00 gr
--------------	---------

Agar	12.00 gr
------	----------

Besiyeri tartılarak damıtık su içine konur. Isıtıcı manyetik karıştırıcıda kaynama sıcaklığında karıştırılarak eritilir. PH değeri 7 olacak şekilde ayarlanır. Erlenlere dağıtılarak 121 °C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilir.

Besiyeri 50 ° C 'ye kadar soğutulur. Petrilere 15-20 ml dökülerek gelişecek kolonilerin yayılmasını ve birbirine karışmasını önlemek için ekimden önce agar yüzeyleri kurutulur

Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan ve petrilere dökülen besi ortamlarının katılaşmasını takiben ekim işlemine geçilmiştir.

Ekim için hazırlanan seyreltim tüplerinden 0.1'er ml alınarak çift petri plaklarına aktarıldı. Steril drigalski spatülleri ile besi ortamının yüzeyine homojen olarak dağılımları sağlandı.

Çiğ sütte bakteri sayısı fazla olacağından petrilere ekim 10^{-3} , 10^{-6} 'lık dilüzyonlardan yapılır (Özdemir ve Sert, 1996).

Ekim yapılan petri kapları 30 ± 1 °C ve 72 ± 2 saat sürede inkübasyona bırakılmışlardır.

Sonuçların okunması:

30-300 adet koloni içeren petri kaplarında sayım yapılmış ve 0.1 ml ekim yapıldığı göz önünde bulundurularak sayılan ortalama değerler seyreltim faktörü ve 10 ile çarpılarak örneğin mililitresindeki mikroorganizma sayısı tespit edilmiştir.

3.2.3. Koliformların Sayımı ve Ön Ayırımı

Koliformların sayımı ve ön ayırımı için selektif besiyerine ekim yöntemi, kullanılmıştır.

Selektif besi yerinde koli – aerogenes grubu bakterilerin üremesine bağlı olarak PH değerinin düşmesi, yani bakterilerden kaynaklanan asit oluşumu besi yerinin ihtiva ettiği indikatörler yardımıyla belirlenir (İnal, 1990).

Koliformların sayımı ve ön ayırımı Violet Red Bile Agar 'da yapılmıştır.

-Violet Red Bile Agar (VRBA)

-Maya Ekstraktı	3 g
-Pepton	7 g
-Sodyum Klorür	5 g
-Safra Tuzu	1.5 g
-Laktoz	10 g
-Nötral Red Agar	15 g
-Saf Su	1l

Bileşenler saf su içinde çözündürülür. PH 7.4'e ayarlanır ve 2 dakika kaynatılır.

Bu besi ortamı taze halde iken sterilize edilmeye gerek kalmaksızın kullanılır.

Bu besi ortamında laktozu fermente eden koliform grubu mikroorganizmalar 1-2 mm çapında ve çoğunlukla safra tuzunun presipitasyonu sonunda oluşan kırmızı bir alanla çevrili 0.5 mm veya daha fazla çapta kırmızı veya kırmızı mor koloniler oluştururlar.

Ekilecek besiyerleri ekimden önce 24 saat süre ile etüvde kurutulmuştur.

Hazırlanan 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} 'lük dilüsyonlardan çift petri plağına 0,1 ml 'lik miktarlar yüzeysel ekilmiş ve Drigalski bageti ile bütün besi yeri yüzeyine yayılmıştır.

Ekim yapılan petriler 35 ± 1 °C' de 48 ± 3 saat inkübe edilmiştir.

Bu besi ortamıyla iyi sonuç almak için besi ortamı 24 saatten fazla üremeye terk edilmemiştir. Bunun da sebebi besi ortamının sterilize edilmeden hazırlanmış olmasıdır.

Koloniler yansıyan ışıkla muayene edildi . 0.5 mm' den daha büyük kırmızı renkli koloniler sayılmış, dilüsyon faktörü ve 10 ile çarpılarak sonuca gidilmiştir.

Daha sonra bu kolonilerden 8-10 adet steril öze ile alınarak yatık Nutrient Agara aktarılmıştır. Ekim yapılan tüpler 35 ± 1 °C' de 48 ± 3 saat inkübe edilmiş ve böylece saf kültürler elde edilmiştir.

Saf kültürlerden laktoz (+) kolonilerin tanınması için TSİ (Three Sugar İron Agar)besiyerine ekim yapıldı.

Besiyerinin Hazırlanışı

TSİ Agar

-Polipepton	20 g
-Laktoz	10 g
-Sükroz	10 g
-Glikoz	1 g
-Sodyum klorür	5 g
-Demir amonyum sülfat	0.2 g
-Sodyum tiyosülfat	0.2 g
-Fenol kırmızısı	0.025 g
-Agar	13 g
-Saf su	1 l
-PH	7.4

Bileşenler 1 litre saf su içinde kaynatılarak eritilir. Tüplere 8-9 ml dağıtılır. Bu tüpler 121 °C' de 15 dakika sterilize edilir.

Deneyin yapılışı: İğne öze şüpheli bakteri kolonisine dokundurularak materyal alınır. İğne öze önce besiyerinin dip kısmına batırılır, sonra da yatık kısmının yüzeyinde zik zak çizilmesiyle ekim yapılır. Ekimler 35 °C' de 18-24 saat inkübe edilmiştir.

Sonuçların okunması ve değerlendirilmesi: TSİ Agar Gr (-) bakterilerin glukoz, laktoz ve sükroz üzerindeki etkilerini ve H₂S oluşturup oluşturmadıklarını araştırma temeline dayalı olarak gösteren, ön tanı değeri taşıyan bir besiyeridir (Harley and Prescott, 1993). Besiyerinde glukozun on katı kadar laktoz ve sükroz bulunmaktadır. Glukozu fermente eden bakteriler, oluşturdukları asit ile fenol kırmızısı ayıracını etkileyerek sarı renge dönüştürürler. Ayrıca bakteriler besiyerindeki peptonun oksidatif dekarboksilasyonundan alkali ürünler oluştururlar.

Bu alkali ürünler besiyeri yüzeyindeki glukozdan oluşan asitleri nötralize ettikleri halde dipteki yoğun asiti nötralize edemezler .Bu nedenle glukozu fermente edip, laktoz ve sükrozu parçalamayan bakteriler dipte sarı, yatık kısımda ise kırmızı renk oluştururlar. Laktoz,sükroz veya her ikisini de fermente eden bakteriler bol miktarda asit oluşturduklarından oluşan alkali ürünler, ne dipteki ne de yatık besiyerindeki asiti nötralize etmeye yetmezler. Bu nedenle laktozu, sükrozu ya da her ikisini fermente edebilen bakteriler her iki besiyerinde de sarı renk oluştururlar.

Fermantasyon esnasında gaz oluşması, besiyerinin içinde gaz kabarcıklarının veya besiyerinin parçalanmasının görülmesiyle anlaşılır. Tiyosülfatın üzerine etki ederek H₂S oluşturan bakteriler bu maddenin demir amonyum sülfat üzerine etkisi ile siyah renkli demir sülfid meydana getirirler. Besiyerinin dip kısmının siyah renk alması bakterinin H₂S oluşturduğunu gösterir. Tiyosülfat üzerine etki ancak asit ortamda meydana gelir. Bu nedenle besiyerinin sarı rengi görülme de bakterilerin H₂S oluşturmuş olmaları glukoz üzerine de etki ettiğini göstermiştir.

Laktoz (+) kültürlerden gram boyama yapılarak koliform grubu bakterilerin varlığı doğrulanmıştır.

3.2.4. Gram Boyama Yöntemi

İlk kez 1884'de Christiansen Gram tarafından önerilmiştir. Bu boyama yöntemi mantar ve protozoonların boyanması için uygun değildir. Bu boyama yöntemi ile bakteriler iki büyük ve temel grup olarak tanımlanırlar: Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler. Gram negatif bakteriler Gram boyama yönteminde kullanılan iki farklı boyadan ilkinin (Jansiyen moru veya kristal viyole) preparatın alkolle muamelesi sonucunda vererek renksizleşir ve ikinci boya (fuksin veya safranin) ile boyanarak pembe (veya kırmızı), Gram pozitifler ise ilk boya olan Jansiyen sorunu (veya kristal viyole) alkolle muamelede vermeyip bununla boyanarak mor renk alırlar.

Koliform bakteriler Gram (-) özelliktedirler.

Boyaların hazırlanması:

Fuksin Boyası ;

Stok solüsyon

Bazik fuksin 3 g.

Alkol (%95) 100 ml.

Bazik fuksin havanda alkolle ezilip eritildikten sonra bir şişe içerisinde 5 saat çalkalanır ve 24 saat bekletildikten sonra filtre kağıdından süzülür kehribar renkli şişelerde saklanır.

Sulu Fuksin Solüsyonu

Bazik fuksin (Stok) 10 ml

Distile su 100 ml

Fuksin distile su ile iyice karıştırılır ve filtre kağıdından süzülür.

Kristal – viyole boyası;

Stok solüsyon

Kristal – viyole	5 g
Etil alkol % 95'lik	100 ml

Kristal – viyole Solüsyonu

Kristal – viyole (Stok)	10 ml
Distile su	100 ml

Boya tartılır, içine alkol ilave edilir. Boyanın alkolde iyice çözünmesi sağlanır.

Lugol's solüsyonu

I ₂	1 g
KI	2 g
Damıtık su	300 ml

Potasyum iyodür ve iyot kristalleri bir havan içinde öğütülür, üzerine bir miktar damıtık su ilave edilir. Kristaller damıtık su içinde tamamıyla çözündükten sonra solüsyon elde edilir. Kehribar renkli bir cam şişe içine dökülen solüsyon üzerine bir miktar damıtık su eklendikten sonra (son kontrasyonun 300 ml olması istenir) çalkalanır.

İşlem:

1. Kullanmadan önce ve kullandıktan sonra öze kızıl dereceye dek ısıtılır. Açmadan önce ve kapatırken tüpün ağzı alevden geçirilerek bir öze dolusu kültür alınıp lamin üzerinde yayılır ve kuruması beklenir.

2. Preparat üste gelmek üzeri alevden 3 kere geçirilip tespit edilir (GÜNGÖR ve BALCI, 1995).

3. Lam üzerindeki örneğin üzerine gelecek ve örneği örtecek şekilde Jansiyen moru dökülür, iki dakika beklenir.

4. Bekleme süresi tamamlandıktan sonra boya dökülerek preparat çeşme suyu ile yıkanır.

5. Örnek üzerine lügol eriyiği (iyodin solüsyonu) dökülerek iki dakika bekletilir.

6. Lugol dökülür ve preparat önce su, sonra alkolle (%96) mor boya akmayana kadar yıkanır.

7. Renk giderme işleminden sonra preparatın üzerine sulu fuksin koyarak 30 – 60 saniye kadar bekletilir.

8. Boya dökülerek preparat çeşme suyu ile yıkanır ve kurutma kağıdı ile kurutulur.

Yukarıdaki işlemler tamamlandıktan sonra gram boyama yöntemi ile boyanan preparat, immersiyon objektifine sahip bir mikroskop yardımıyla incelendi. Gram (-) bakteriler tespit edildi.

3.2.5. Kültürlerin Tanımlanması

Süt örneklerinden izole edilen koliform grubuna ait bakterileri tür düzeyinde belirlemek için İMVİC (İndole - Methly Red – Voges Proskauer – Citrate) testleri uygulanmıştır.

3.2.5.1. İndol Deneyi

Bakterilerin triptofandan indol oluşturup oluşturmadığını tespit etmek için bu deney yapılır (Özdemir ve Sert, 1996) .Bazı bakteriler bir amino asit olan triptofanı enzimatik olarak hidrolize ederek piruvik asit, amonyak ve indol adı verilen nitrojenli bir bileşik meydana getirirler. İndol oluşumu pek çok bakterinin tanısı için önemli bir ölçüttür (Erganiş, 1994, Çotuk ve Küçüker, 1992).

Bu deney için karbonhidratsız besiyeri kullanılır. Eğer besiyerinde karbonhidrat olursa bakteri karbonhidratı kullanır. Triptofanı parçalamaz. triptofan besiyerlerinde kullanılan preparatlarda bulunan bir aminoasittir.

İndol deneyi için peptonlu su, kovacs ayıracı ve mikroorganizma kullanılmıştır.

Besiyeri ve ayıracın hazırlanması ;

Peptonlu Su

Pepton 5 g

Saf su 1 l

Pepton saf su içinde çözülür, PH 6.8'e ayarlanır ve tüplere 5'er ml dağıtılır.Otoklavda 121 ° C' de 15 dakika sterilize edilir.

Kovacks Ayıracı

Para-dimetilamino benzaldehit 5 g

Amil alkol 75 ml

HCL 25 ml

Madde iyice eriyinceye kadar çalkalanır ve sıkıca kapatılabilen koyu renkli şişeler içinde saklanır.

Mikroorganizma petonlu suya ekilerek 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kültürle 0.5 cc kovacs ayıracı ilave edilerek ayıraç ile besiyeri yüzeyi arasında kırmızı renkli bir halka oluşup oluşmadığı saptanmıştır. Kırmızı halkanın oluşması pozitif sonuç olarak yorumlanmıştır.

3.2.5.2. Metil Kırmızısı Deneyi

Glukoz içeren besiyerlerinde glukoz fermentasyonu sürecinde piruvatı karışık asit fermentasyonu ile yıkıma uğratan bakteriler genellikle üreme ortamının PH değerini buradaki tampon sistemine karşın 4.4'ün altına

indirirler. Oluşan asit ortam, diğer indikatör boyalardan farklı olarak çok düşük PH değerinde indikatör işlevi görebilen metil kırmızısı boyasından (PH 6'da sarı, PH 4.4 'de kırmızı) 5 damlanın 48-72 saatlik kültüre damlatıldığında besiyerinin renginin kırmızılaşmasıyla anlaşılır (Çotuk ve Küçüker, 1992, Bailey and Scott, 1994).

Besiyeri ve Solüsyonunun Hazırlanışı :

MR –VP Broth

Pankreatik kazein özeti 3.5 g

Pankreatik hayvan dokusu özeti 3.5 g

Dekstroz 5.0 g

Potasyum fosfat 5.0 g

PH 6.9'a ayarlanır. 17 gram besiyortamı bir litre saf suda tamamen eriyinceye kadar karıştırılarak ısıtılır. Test tüplerine dağıtılarak otoklavda 121 °C' de 15 dakika süreyle steril edilir.

Metil Kırmızısı Solüsyonu

Metil kırmızısı 0,1 g

Etil alkol % 95' lik 300 ml

Damıtık su 200 ml

Boya alkolde eritilir. Damıtık su ile 500 ml' ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı: Kültürler MR – VP buyyonuna steril bir öze yardımıyla inoküle edilir. Bir tüp besiyeri kontrol olarak bırakılır. Kültürler 121° C' de 48 saat İnkübe edilir. İnkübasyondan sonra kültürler ve kontrol tüpüne 5 –6 damla metil kırmızısı solüsyonu katılarak tüpler çalkalanır. Besiyerinin

kırmızılaşması pozitif, sarı renkli olması ise negatif sonuç olarak değerlendirilir.

3.2.5.3. Voges – Proskauer Testi

Bakterilerin karbonhidrat metabolizmalarının ara ürünü olan asetil – metil – karbinol oluşturup oluşturmadıklarının saptanması tanıda önemlidir. Oluşan asetil- metil – karbinol'ün diasetile dönüşümünü göstermek bu deneyin temelidir.

Besiyeri ve Solüsyonların Hazırlanışı:

Bu deneyde besiyeri olarak MR –VP buyyonu kullanılmıştır. Besiyeri metil kırmızısı deneyinde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır.

Solüsyonların Hazırlanışı

Alfa-naftol solüsyonu

Naftol	5 g
Etil alkol (%95)	100 ml

a-Naftol 100 ml alkol içinde tamamen çözününceye kadar çalkalanır. Solüsyon saman renginden daha koyu olmalıdır. Gerekirse alfa naftol tekrar damlatılır.

KOH solüsyonu

Potasyum hidroksit (KOH)	40 g
Damıtık su	100 ml

Potasyum hidroksit tamamen çözününceye kadar çalkalanır.

Deneyin Yapılışı: Kültürler MR-VP buyyonuna inokule edilir. Bir tüp besiyeri kontrol olarak bırakılır. 37 ° C 'de 48 saatlik İnkübasyondan sonra test tüplerine 0,6 ml alfa naftol solüsyonu katılarak iyice çalkalanır. Kültürlere 0.2 ml KOH solüsyonu eklenir ve tekrar çalkalanır. 37 ° C 'lik etüvde 2-5 saat bekletilerek sonuç okunur. Yüzeyden başlayarak besiyerinin tümüne dağılan pembe renk pozitif olarak yorumlanır. Deney çoğu kez 5-10 dakika içinde de pozitif sonuç verebilir.

3.2.5.4. Sitrat Deneyi

Bazı mikroorganizmalar karbon ve enerji kaynağı olarak yalnızca sodyum sitratın bulunduğu besiyerlerinde üreme yeteneğindedirler. Sitratı kullanabilme yeteneği karbon kaynağı olarak sodyum sitrat ve azot kaynağı olarak amonyum fosfat içeren bir besiyerinde alkali yan ürünlerin oluşumunun besiyerindeki indikatör boya yardımıyla saptanmasıyla anlaşılır (A. Çotuk, M. Küçük, 1992, Koneman et al, 1997).

Bu testte besiyeri olarak Simmons'un Sitrat Besiyeri kullanılmıştır.

Besiyerinin Hazırlanması:

Simmons'un Sitrat Besiyeri:

Magnezyum Sülfat	0.2 g
Amonyum fosfat	1 g
Dipotasyum fosfat	1 g

Sodyum sitrat	2 g
Bromtimol mavisi	2.08 g
Sodyum klorür	5 gr
Agar	20 gr
Saf su	1l

Bileşenler saf su içinde çözündürülür ve pH 6.8'e ayarlanır. Tüplere dağıtıldıktan sonra 121 °C'de 15 dakika sterilize edilir.

Deneyin yapılışı ve değerlendirme: Koliform grubu bakteriler Simmons'un Sitrat Besiyerine ekilerek 37 °C'de 1-7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonunda mavi renk ve çizgi şeklindeki üreme (+), orijinal yeşil renk ise (-) olarak değerlendirildi.

İMVİC testleri sonunda elde edilen bulgular tablo 3.1.'de verilen teşhis anahtarı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3.1. Koliform Grubu Bakterilerin İMVİC Testi Teşhis Anahtarı

TANIMLANAN KOLİFORM GRUBU BAKTERİLER					
İMVİC Testleri	E. coli Tip I	E.coli Tip II	E. freundii	E. aerogenes	E. cloacea
İndol	+	-	+	-	+
Metil Kırmızısı	+	+	+	±	-
Voges Proskauer	-	-	-	±	+
Sitrat	-	-	+	+	+

4. SONUÇ

4.1. Toplam Mikroorganizma ve Koliform Grubu Bakteri Sayısı

İncelenen örneklerle ait toplam mikroorganizma ve koliform grubu mikroorganizma sayıları tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Örneklerde Bulunan Toplam Mikroorganizma ve Koliform Grubu Mikroorganizma Sayıları

NUMUNE NO	ALINIŞ TARİHİ	TOPLAM MİKROORGANİZMA SAYISI	KOLİFORM GRUBU MİKROORGANİZMA SAYISI
1	22.12.1999	9.80×10^5	3.60×10^4
2	22.12.1999	3.51×10^6	7.40×10^4
3	22.12.1999	6.30×10^6	7.00×10^4
4	22.12.1999	2.17×10^7	1.30×10^6
5	27.12.1999	2.30×10^6	6.00×10^4
6	27.12.1999	1.20×10^6	9.00×10^4
7	27.12.1999	1.83×10^7	2.90×10^6
8	27.12.1999	1.34×10^6	4.20×10^4
9	12.01.2000	2.05×10^8	3.73×10^7
10	12.01.2000	6.40×10^6	4.10×10^5
11	12.01.2000	2.10×10^6	7.00×10^5
12	12.01.2000	4.90×10^6	1.20×10^5
13	19.01.2000	8.70×10^6	5.00×10^5
14	19.01.2000	7.80×10^5	3.30×10^5
15	19.01.2000	1.50×10^6	4.60×10^5
16	19.01.2000	2.27×10^6	8.10×10^4
17	15.02.2000	8.70×10^6	1.80×10^5
18	15.02.2000	3.40×10^6	1.43×10^5
19	15.02.2000	4.77×10^7	2.20×10^6
20	15.02.2000	2.84×10^8	2.45×10^6
21	23.02.2000	1.61×10^7	2.90×10^6
22	23.02.2000	1.25×10^7	9.60×10^5
23	23.02.2000	1.24×10^7	3.80×10^6
24	23.02.2000	2.40×10^7	6.50×10^5
25	03.03.2000	1.28×10^6	3.80×10^5
26	03.03.2000	8.10×10^6	4.30×10^4

Tablo 4.1. Örneklerde Bulunan Toplam Mikroorganizma ve Koliform Grubu Mikroorganizma Sayıları (Devamı)

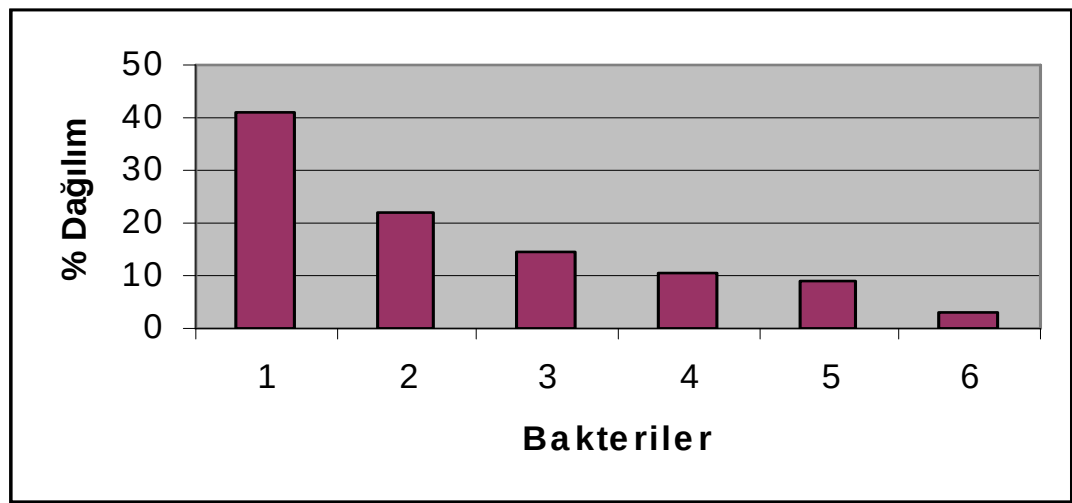
27	03.03.2000	5.90×10^5	3.70×10^4
28	03.03.2000	8.70×10^5	6.20×10^4
29	07.03.2000	6.85×10^6	7.20×10^5
30	07.03.2000	7.50×10^6	5.60×10^5
31	07.03.2000	1.10×10^6	2.30×10^5
32	07.03.2000	7.20×10^6	8.27×10^5
33	03.04.2000	1.60×10^6	1.10×10^5
34	03.04.2000	2.70×10^6	5.80×10^5
35	03.04.2000	2.80×10^7	1.68×10^6
36	03.04.2000	6.70×10^7	4.70×10^6
37	10.04.2000	4.80×10^7	7.50×10^6
38	10.04.2000	2.10×10^6	8.00×10^5
39	10.04.2000	2.83×10^7	7.70×10^6
40	10.04.2000	1.76×10^7	3.95×10^6
41	03.05.2000	4.30×10^7	1.30×10^7
42	03.05.2000	3.70×10^7	9.30×10^6
43	03.05.2000	1.90×10^7	6.20×10^6
44	03.05.2000	1.30×10^7	1.24×10^6

Örneklerde bulunan en düşük toplam mikroorganizma sayısı 590000 adet/ml, en yüksek 2.84×10^8 adet /ml, ve ortalama 2.36×10^7 adet/ml dir. Aynı örneklerdeki en düşük, en yüksek ve ortalama koliform grubu mikroorganizma sayıları sırasıyla 3.60×10^4 adet/ml, 3.73×10^7 adet/ml, 2.66×10^6 adet/ml olarak belirlenmiştir. TS 1018'de ml' de 0-500000 adet toplam mikroorganizma içeren sütler ekstra, 500001-2500000 toplam mikroorganizma içeren sütler I. sınıf, bu sayıyı aşan miktarda toplam mikroorganizma içeren sütler ise II. sınıf süt olarak nitelendirilmektedir.

Deneyler sonunda elde edilen veriler incelendiğinde 13 örneğin (%29.55) I. sınıf süt, 31 örneğin ise(%70.45) II. sınıf süt kalitesinde olduğu saptanmıştır.

4.2. Koliform Grubu Baskterilerin Tanımlanması

Araştırmada 164 koliform grubu bakteri tanımlanmıştır. Bu bakterilerin 67 (%40.85) 'sinin *E.aerogenes*, 36 (%21.95) 'sının *E. coli* tipII,24 (14.63) 'ünün *E.cloacea*, 17 (%10.37) 'sinin *E.coli tip I*,5 (%3.05) 'inin *E. freundii* olduğu tespit edilmiştir. 15 (%9.15) koliform suşu ise tanımlanamayarak diğer koliform grubu bakteriler olarak gruplandırılmıştır.



* 1- *E. aerogenes*, 2- *E. coli tp II*, 3-*E.cloacea*, 4- *E.coli tip I*, 5- Diğer Koliform Grubu Bakteriler 6- *E. freundii*

Grafik 4.1. Örneklerden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Dağılım Oranları

5. TARTIŞMA

Ergüllü,(1982) Şubat ve Ağustos ayları arasında 3 farklı mandıradan aldığı 21 çiğ süt örneğinde toplam mikroorganizma sayısının mandıralara göre çok büyük farklılık gösterdiğini belirlemiş ve tüm örneklerin toplam mikroorganizma sayısı ortalaması olarak 2.99×10^8 adet/ml mikroorganizma sayısı saptamıştır.

Koliform grubu bakteri sayısının ise genellikle daha düşük oranda olduğunu belirlemiş, ancak tüm örneklerde bu gruptaki bakterilerin bulunduğunu gözlemiştir. Ergüllü (1982), örneklerde ortalama 3.15×10^7 adet/ml koliform grubu bakteri sayısı elde etmiştir.

Bu araştırmada elde edilen toplam mikroorganizma ve koliform grubu bakteri sayıları Ergüllü (1982)' nün araştırma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur.

Akyüz ve ark. (1995) Van ilinde satışa sunulan sokak sütleri üzerinde yaptıkları bir araştırmada; ortalama olarak 3.16×10^6 adet/ml toplam mikroorganizmaya 1.01×10^5 adet/ml koliform grubu bakteriye rastlamışlardır.

Araştırma sonuçları Akyüz ve ark.(1995)'nin bulduğu değerler ile karşılaştırıldığında ise toplam mikroorganizma sayısının benzerlik gösterdiği ancak koliform bakteri sayısının bu araştırmada daha yüksek değerde olduğu tespit edilmiştir.

Yalçın ve ark.(1991) süt örneklerinden 456 adet koliform grubu bakteri izole etmişler ve bu örneklerde en yüksek sayıda *E.aerogenes*, en düşük sayıda ise *E. freundii* bulunduğunu belirlemişlerdir.

Bu araştırmada *E. aerogenes* 'in en yüksek sayıda olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuç Yalçın ve ark.(1991)'nın araştırma bulguları ile paralellik göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. ABOUL-KHIER, F.A., EL. BASSIANY, T., Gad. El. Rad. H., Incidence of Coliforms in Raw Milk in Shag City. Dairy Sci. Abs. 48(10), 673, 1983.
2. ADAM, R. C., Süt Mikrobiyolojisi, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, 1968.
3. AKMAN, M., GÜLMEZOĞLU, E., Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara, 1980.
4. AKYÜZ, N., AYAR, A., ANDİNC, Ş., ve TUTŞI, F., 1995; Van Piyasasında Satışa Sunulan Çiğ İnek Sütlerinin Bazı Kalite Özellikleri Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 5 (2): 143-154
5. ARAN, N., Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Toksinler, Gıda Sanayii, 7(1);31-46, 1983.
6. BAILEY AND SCOTT, Diagnostig Microbiology, Ninth Edition, 1994.
7. BARBORO, D., GENTİLİ, S.B., GIANELLİ, R., PANCİNİ, R., İdentification of Coliforms İsolated from Pasteurized Milk and from the Environment of Florener Central, Dairy Sci. Abs. 46(8), 5243, 1984.
8. BERTAN , M., GÜLER, Ç., Halk Sağlığı Temel Bilgiler, Ankara, 1995.
9. BORCAKLI, M., KALAFATOĞLU, H., ARAN, N., TOPAL, Ş., KARAKUŞ, M., Gıdalarda Temel Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri, Marmara Araştırma Merkezi, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, Yayın no:128, 1994.
10. ÇOTUK, A., KÜÇÜKER, M., Biyologlar İçin Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu, Nobel Tıp Kitabevleri, 1992.
11. DEMETER, K.J., Microbiologie der Butter-Verlog Evgen Ulmer, Stuttgart, 1956.
12. DEMİRCİ, M., ŞİMŞEK, O., Süt Sağım Makinalarının Temizlik ve Dezenfeksiyonu, Süt Teknolojisi, Yıl:1, Cilt:1, Sayı: 3,Kasım-Aralık, 1996.
13. ERGANİŞ, O., Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Konya Sağlık Eğitim Enstitüsü Yayınları no:11, Konya, 1994.
14. ERGÜLLÜ, E., Beyaz Peynirlerin Olgunlaşması Sırasında Mikrofloranın Özellikle Gaz Yapan Bakterilerin Değişimi Üzerinde Araştırmalar, Doçentlik Tezi, İzmir, 1980.
15. ERGÜLLÜ, E., Çiğ Sütte Koliform Grubu Bakteri Florası Üzerinde Araştırmalar, Gıda, Sayı:6, Kasım-Aralık,1982.

16. ERGÜLLÜ, E., Koliform Grubu Bakteriler ve Peynir Teknolojisindeki Zararlı Etkileri, E.Ü.Z.F. Derg. 20/2, 93-99, 1983.
17. ERGÜLLÜ, E., Süt ve Mamüllerinden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Tanımı Üzerinde Araştırmalar, İzmir, 1984.
18. ERGÜN, Ö., Süt Hijyeni, İstanbul, 1989.
19. FİSHBEIN, M., MEHLMAN, I. J., CHUGG, L., OLSON, JR. J. C., Coliforms, Fecal Coliforms, E. coli and Enteropathogenic E. coli, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Washington DC. 20036, American Public Health Association, Inc., 277-300, 1976.
20. FRAZIER, W.C., WESTOFF, D.C., Food Microbiology, New York, Mc Graw Hill Book Company, 1978.
21. GEÇGİL, Ş., Besin Analizi, Fatih Yayınevi Matbaası, 1987.
22. GÜNGÖR, S., BALCI, İ., Pratik Mikrobiyoloji, Gaziantep Üniversitesi, 1995.
23. HARLEY, J.P., PRESCOTT, L.M., Laboratory Exercises in Microbiology , Second Edition, 1993.
24. İNAL, T., Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi, İstanbul, 1990.
25. KALAFATOĞLU, H., Gıda Kaynaklı Patojen Mikroorganizmalar ve Kontrol Altına Alınması, Gıda, Eylül, 1999.
26. KILIÇTURGAY, K., GÖKIRMAK, F., TÖRE, O., GEDİKOĞLU, G., HELVACI, S., Klinik Mikrobiyoloji , Nobel Tıp Kitabevleri, Yenileştirilmiş 2. Baskı, 1994.
27. KONEMAN, E. W., ALLEN, S. D., JANDA, W. M., SCHRECKENBERGER, P. C., WINN, W. C., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Edition, 1997.
28. NICKERSON, J.T., SINKEY, A.C., Microbiology of Foods and Food Processing, New York, American Elsevier Publishing Company, 1974.
29. OMURTAG, A. C., AKIN, A., Değişik Termal İşlem Uygulanan Sütlerin Hijyenik Kalitelerinin Saptanması Üzerinde Araştırma, 1981.
30. OMURTAG, A. C., Besin Analizleri, Cilt:1, Ankara, 1975.
31. OMURTAG, A.C., Besin Analizleri, Cilt:3, İstanbul Matbaa Meslek Lisesi, 1982.
32. ÖZDEMİR, S., SERT, S., Gıda Mikrobiyolojisi Tatbikat Notları, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi ,Erzurum, 1996.

33. PARKER, M. T., COLLIER, L.H., Principles of Bacteriology, Virology, and Immunity, Eighth Edition, London, 1990.
34. ROBINSON, R. K. (Ed.) Dairy Microbiology, The Microbiology of Milk. Elsevier Applied Science, Volume 1, London and New York, p.301, 1990.
35. SAKIZ, Ü., Genel ve Özel Sütçülük, 1973.
36. SERT, S., ÖZDEMİR, S., Taze Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Tanımlanması, DOĞA TU Tar ve or. D., 1988.
37. SERT, S., ÖZDEMİR, S., Tereyağlarından İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Tanımlanması, Gıda, 15(3),145-149, 1990.
38. SING, R.S., RANGANATHAN, B., Occurrence of Enteropathogenic Escherichia coli Serotypes in Milk and Milk Products, Milchwissenschaft, 29(9), 529-532, 1974.
39. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Notları, Hacettepe,1994-1995.
40. TS 1018, İnek Sütü-Çiğ, Nisan, 1994.
41. VARADAJ, M.C., NAMBU DRIPAD, V.K.N., Staphylococcus aerous in Association with a few Contaminants in a Dairy. Dairy Sci., Abs., 36(2), 142, 1983.
42. WEBER, H., HAMANN, R., Determination of Coliform bacteria or Enterobacteriaceae for Evaluating the Hygienic Status of Raw Milk. Dairy Sci. Abs. 43(9),710, 1981.
43. YALÇIN, H., ÖZDEMİR, S., GÖKALP, H.Y., KURT, A., Çiğ İnek Sütlerinden İzole Edilen Koliform Grubu ve Staphylococcus aureus Bakterilerinin Tanımlanması, Gıda, 16(2), 107-110, 1991.

ÖZGEÇMİŞ

Cemile DEDE 1974 yılında Çankırı’da doğdu. İlk, orta, lise eğitimini İstanbul’da tamamladı.

1996 yılında İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Gebze İleri teknoloji Enstitüsü’nde yüksek lisans eğitimine başladı.

1998 yılında Tezer Taşkiran İlköğretim Okulu’nda öğretmen olarak göreve başladı.

Halen Tuzla İlçesinde öğretmen olarak görevine devam etmekte olan Cemile DEDE İngilizce bilmektedir.