

Hazır toz bebek mamaları ve *Enterobacter sakazakii*

Powdered infant formula and Enterobacter sakazakii

Mine Gültekin, Nükhet Nilüfer Demirel

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale

İletişim / Correspondence: Nükhet Nilüfer Demirel, Adres / Address: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 1700, Çanakkale
Tel: 0286 218 00 18 (1737), Fax: 0286 218 05 41, E-mail: dnuhket@comu.edu.tr

ÖZET

E.sakazakii bebeklerde menenjit ve enterit etkeni olan özellikle, yenidoğanlar, prematürel ve HIV pozitif annelerin çocuklarında ölüme neden olabilen tehlikeli bir bakteridir. Son yıllara kadar ekolojisi, taksonomisi, virülansı ve diğer özellikleri hakkında ayrıntılı bilgi bulunmayan *E.sakazakii*, değişik gıdalarda ve diğer çevresel kaynaklarda tespit edilmiştir. *E.sakazakii* kaynaklı salgınlarda kaynak olarak hazır toz bebek mamaları ön plana çıkmaktadır. Bunda bebeklerin gıda kaynaklı hastalıklara karşı daha duyarlı olmalarının yanı sıra hazır toz mamaların steril ürünler olmamaları ve hazırlanması veya muhafazası sırasında yapılan hataların etkisi büyüktür. Bu derlemede bebek mamalarında bulunabilen önemli bir patojen olan *E.sakazakii*'nin morfolojik, fizyolojik ve ekolojik özellikleri, patojenite ve virulans faktörleri, bulaşma yolları, analiz yöntemleri ve korunma yolları hakkında bilgi verilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Toz bebek maması, *E.sakazakii*, mikrobiyal risk

SUMMARY

E.sakazakii is a dangerous bacteria which causes meningitis and enteritis in infants especially in neonates, premature and babies of HIV positive mothers. Until recently, there has not been enough information about the bacteria's ecology, taxonomy, virulence and other characteristics. Although it has been detected in various foods and other environmental sources, powdered infant formulas are reported as the main sources of outbreaks. Improper handling or storage of powdered infant formulas which are not sterile and susceptibility of neonates to foodborne diseases are given as the main reasons of *E.sakazakii* outbreaks. In this review article, information about morphological, physiological and ecological characteristics, pathogenesis and virulence factors, contamination points and analysis methods of *E.sakazakii* and prevention ways from infection was summarized.

Key Words: Powdered Infant Formula, *E.sakazakii*, microbiological risk

GİRİŞ

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 (1). Codex alimentarius tarafından hazırlanan spesifikasyonlarda, hazır toz mamaların içeriğinde yer alması gereken besin elementleri ve ürün güvenliği açısından üründe bulunabilecek mikotoksin, ağır metal, pestisit, çeşitli patojen ve indikatör mikroorganizmalar ile ilgili önerilen sınırlamalar belirtilmiştir. Tablo 1'de Codex ali-

mentarius tarafından önerilen mikrobiyolojik spesifikasyonlar verilmiştir (2)

Tablo 1. Hazır Toz ve Kuru Bebek Mamaları için Önerilen Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar^a

	Durum	Örnekleme Planı	n	c	Limit/g ^b	
					m	M
Mezofilik aerobik bakteri	6	6	5	2	10 ³	10 ⁴
Koliform	6	6	5	1	<3 ^c	20
<i>Salmonella</i> ^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

Hazır toz bebek maması üretiminde sterilizasyon uygulanmadığı için bebek mamalarının önerilen mikrobiyolojik spesifikasyonları taşımaları son derece önemlidir. Bebek mamaları üzerine yapılan bir araştırmada farklı formülasyonlardaki mamaların %52'sinde *Enterobacteriaceae* üyesi bakteriler tespit edilmiştir. Bebeklerde *Enterobacteriaceae* üyesi çeşitli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar bildirilmiş olmakla birlikte bu enfeksiyonların etkeni olan bakterilerin bebek mamalarında nadir olarak tespit edildiği belirtilmektedir. Buna karşın, 1961 yılından itibaren bebeklerde ciddi enfeksiyonlara neden olduğu bildirilen *Enterobacter sakazakii* bebek mamalarından ve üretim hattında yer alan çeşitli kaynaklardan izole edilmiştir. Bu bakterinin mama üretim alanından da izole edilmiş olması ısı işlem sonrasında potansiyel kontaminasyon kaynağı olarak risk oluşturmaya neden olmaktadır. 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 gerekirse bu mikroorganizmaya da yer verilmesine karar verilmiştir. Aynı toplantıda bebeklerde enfeksiyona neden olabilecek ve bebek mamalarında bulunabilecek mikroorganizmalar tartışılarak bebek mamalarında yarattıkları risklere göre A, B ve C olmak üzere üç sınıfta kategorize edilmiştir. *E.sakazakii* ve *Salmonella*, bebek mamaları kaynaklı hastalıklar yaptıkları ve bebek mamalarından izole edildikleri epidemiyolojik ve mikrobiyolojik çalışmalar ile gösterildiğinden A sınıfında; *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; *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 (2, 3).

Bu derlemede şimdiye kadar yapılan çalışmalar kapsamında *E.sakazakii*'nin morfolojik ve fizyolojik özellikleri, ekolojik özellikleri, bulaşma yolları, analiz yöntemleri, bulaşmanın ve enfeksiyonların engellenmesi için alınması gereken önlemler hakkında bilgi verilmektedir.

1. *Enterobacter sakazakii*'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesinin bir üyesi olan *Enterobacter sakazakii*, Gram negatif, hareketli, sporsuz, fakültatif anaerop, çomak şeklinde bir bakteridir. 1980 yılına kadar sarı pigmentli *Enterobacter cloacae* olarak tanınan bu bakteri, Farmer ve ark. tarafından 1980 yılında DNA yapıları, pigment üretimi, biyokimyasal özellikleri ve antibiyotik dirençleri göz önüne alınarak yapılan yeni sınıflandırmada ayrı bir tür olarak *Enterobacter* cinsine dahil edilmiştir. Araştırmacılar bu yeni türe bakteriyolojiye yaptığı katkılar dolayısıyla Japon bakteriyolog Richi Sakazakii'nin adını vermişlerdir (4).

E.cloacae'nin aksine, *E.sakazakii*, D- sorbitolü fermente edememekte, DNaz enzimi üretimi daha geç olmaktadır. Tripton soy agar, BHI agar ve kanlı agarda 48-72 saat içerisinde sarı pigmentli koloniler oluşturan bakterinin 25°C'deki pigment oluşturmalarının 36°C'den daha iyi olduğu, ayrıca suşa bağlı olarak pigment üretiminin değiştiği belirtilmektedir. 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 (4).

Enzim aktiviteleri ile ilgili yapılan çalışmalarda *E sakazakii*'nin diğer *Enterobacter* türlerinden farklı olarak a-glukosidaz ve tween esteraz aktivitesi gösterdiği, buna karşın diğer türlerde görülen

fosfoamidaz enzimini üretmediği bildirilmiştir (4). Tablo 2’de *E.sakazakii* ile *E.cloacae* arasındaki biyokimyasal farklılıklar verilmiştir.

Geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilen bakterinin (6-47°C) farklı suşlarının üreyebildiği en düşük sıcaklıklar 3.4°C, 5.5°C ve 5.7°C olarak tespit edilmiştir (5). *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 (4, 5). Lehner ve Stephan (5) *E.sakazakii* suşlarının 10°C’deki ortalama generasyon süresini 4.98 saat olarak tespit etmiştir. Iversen ve Forsythe (4) ise toz bebek mamalarında yaptıkları çalışmalarında organizmanın 10°C’deki generasyon süresinin 10 saate yakın olduğunu, bu nedenle buzdolabı koşullarında da canlılığını sürdürebildiğini belirtmektedir. Tespit edilen sürelerdeki farklılıkların suş, kullanılan ortam ve yöntemle bağlı olduğu bildirilmektedir.

Nazarowec-White ve Farber (10) hazır toz bebek mamalarında *E.sakazakii*’nin desimal redüksiyon zamanı (D değeri) ve z değerini belirledikleri çalışmalarında D52°C değerini 54.8 dk, D60°C değerini 2.5 dk olarak tespit etmişlerdir. Edelson-Mammel ve Buchanan (7) 12 farklı suş ile yaptıkları denemelerinde D 58°C değerlerinin 30.5-591.9 sn arasında değiştiğini saptamışlardır. Iversen ve ark. (8) ise 71°C’deki D değerini 0.7 sn olarak belirlemiş ve standart bir pastörizasyon işleminin *E.sakazakii* sayısında 21 log’luk bir azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir.

Breeuwe ve ark. (9) *E.sakazakii*’nin durgun fazda osmotik basınca ve kurutmaya diğer *Enterobacter türlerinden* daha dirençli olduğunu göstermiştir.

Tablo 2. *E.sakazakii* ile *E.cloacae* Arasındaki Biyokimyasal Farklılıklar (5).

Test	<i>E.sakazakii</i>	<i>E.cloacae</i>
Oksidaz üretimi	-	+
a-glukozidaz üretimi	+	-
Tween 80 esteraz üretimi	+	-
Fosfoamidaz üretimi	-	+
Triptik soy agarda sarı pigment üretimi	+	-

Araştırmacılar, ısı uygulandığında durgun fazdaki *E.sakazakii* hücrelerinde trihaloz birikiminin arttığını, logaritmik fazdaki hücrelerde ise bu durumun gözlenmediğini belirlemişlerdir. Bu indirgenmeyen glikoz disakkaritinin bakterinin korunmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

Enterobacter sakazakii ortamdaki azot kaynağı sınırlı olduğunda kapsül üretir. Bu kapsülün, organizmanın hazır toz mamaların raf ömrü boyunca canlılığını sürdürmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca organizmanın yüzeye tutunmasında ve biyofilm oluşturmasında, dezenfektan ve temizleme ajanlarına dirençli olmasında önemli rolü olduğu belirtilmektedir (4).

2. Ekolojik Özellikleri

E.sakazakii, normal insan ve hayvan sindirim sisteminden izole edilememiştir. Bu nedenle organizmanın muhtemel temel kaynağının toprak, su ve sebzeler olabileceği belirtilmektedir. Bununla birlikte Mutyjens ve Kollee tarafından yapılan bir çalışmada *E.sakazakii*’nin yüzey sularından, toprak, çamur, tahıllar, sürüngenler evcil hayvanlar sıçıklar ve çiğ inek sütünden izole edilemediği belirtilmiştir. Daha sonra yapılan bir çalışmada gölde yüzen yetişkin bir bayanda bu bakterinin neden olduğu vaginal bir enfeksiyon görülmesi, *E.sakazakii*’nin ılık yüzey sularında yaşayabildiğini ortaya koymuştur (4). Organizmanın çevresel kaynakları ile ilgili ilk ipucu, bu bakterinin bazı böceklerin ve sineklerin sindirim sisteminden izole edildiğinin rapor edilmesi olmuştur. Özellikle *Stomoxys calcitrans* sineği’nin dünyadaki yayılışı ile *E.sakazakii* enfeksiyonlarının rapor edildiği bölgeler arasında korelasyon olduğu belirtilmektedir. Bu da *E.sakazakii* kontaminasyonunda bu sineklerin de önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (5).

Analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ve bu bakteri üzerinde yapılan araştırmaların artması ile *E.sakazakii*’nin peynir, fermente ekme, tofu, ekşi çay, kürlenmiş ve fermente et ürünleri kıyma vb. gibi ürünlerden izole edildiği bildirilmektedir. Khamir ekmeği adı verilen bir üründe kullanılan

sorgum çekirdeklerinin yüzey florasında, ve pirinç kabuklarında da *E.sakazakii*'nin yer aldığı bildirilmiştir. Ayrıca UHT süt fabrikasındaki üretim alanından ve süttten izole edildiği de belirtilmektedir (5). Yapılan araştırmalarda bira bardakları, süt tozu ve çikolata fabrikalarından da izole edildiği saptanmıştır (3).

Organizmanın izole edildiği klinik kaynaklar arasın-

da 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. Tablo 3'de *E.sakazakii*'nin izole edildiği çevresel ve klinik kaynaklar verilmiştir (4).

3. Patojenitesi ve Virulans Özellikleri

Tablo 3. *E.sakazakii* Kaynakları (4).

Kaynak	Detaylar	Referanslar
Yeni Doğanlar	Menenjit Bakterisemi Kangrene yol açan bağırsak iltihabı Yara, apandisit, konjonktiv iltihabı	Urmenyi ve Frankin (1961), Muyltjens ve Kollee (1983), Biering ve ark. (1989), Clark ve ark. (1990), Bar-Oz ve ark. (2001), Lai (2001) Monroe ve Tift (1979), Clark ve ark. (1990), Bar-Oz ve ark. (2001) Van Acker ve ark. (2001) Reina ve ark. (1989)
Yetişkinler	Bakterisemi	Jimenez ve Gimenez (1982), Pribyl ve ark. (1985), Murray, Welch ve Kuhls (1990), Hawkins ve ark. (1991), Lai (2001), Dennison ve Morris (2002)
Yiyecek ve İçecek	Yeni doğanlar için süt tozu Kullanılan ekipmanlar (blender, kaşık gibi) Süt tozu Su, boru hattı & biofilm Hidrotermal su Pirinç Bira bardağı Tütsülenmiş et Fermente ekmek Marul Tofu Ekşi çay (sour tea) Peynir, kıyma, sosis, sebzeler	Farmer ve ark. (1980), Postupa ve Aldova (1984), Block ve ark. (1988), Smeets ve ark. (1998), Bar-Oz ve ark. (2001), Heuvelink ve ark. (2001), Himelright ve ark. (2002) Block ve ark. (1988), Clark ve ark. (1990), Smeets ve ark. (1998), Bar-Oz ve ark. (2001) Postupa ve Aldova (1984), Muyltjens ve ark. (1988), Heuvelink ve ark. (2001) Bartolucci, Pariani, Westall, Gardini, Guerzoni (1995), Al-Hadithi ve Al-Edani (1995), Oliver (1997) Mosso, de la Rosa, Vivar, Medina (1994) Cottyn ve ark. (2001) Schindler ve Metz (1990) Watanabe ve Esaki (1994) Gassem (1999) Soriano, Rico, Molto ve Manes (2001) No, Park, Lee, Hwang, Meyers (2002) Tamura, Kato, Omori, Nanba, Miyagawa, Wang ve Zhou (1995) Leclercq, Wanegue ve Baylac (2002)
Çevresel	Hastane havası Klinik malzemeleri Sinekler Sıçanlar Toprak Rizosfer Bataklık İşlenmemiş yağ	Masaki ve ark. (2001) Tuncer ve Özkan (1988), Janicka, Kania, Ulatowska, Krusznka ve Wojda (1999) Kuzina ve ark. (2001) Gakuya, Kyule, Gathura ve Kariuki (2001) Neelam, Nawaz ve Riazuddin (1987) Emilani, Lajmanovich ve Gonzalez (2001) Espeland ve Wetzel (2001) Assadi ve Mathur (1991)

Günümüzde *E.sakazakii*'nin potansiyel virulans faktörleri ve patojenite mekanizması hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Suşlar heterojen bir virulans göstermektedir. Bu durumun midenin asit ortamında organizmanın canlı kalması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Gram negatif özellikle olan *Enterobacter* türlerinin endotoksin üreten fırsatçı patojen oldukları belirtilmektedir. Pagotto ve ark. *E.sakazakii*'nin klinik ve gıda izolatlarını kullanarak patojenitesi ve potansiyel virulans faktörlerini belirlemek için yaptıkları çalışmada 18 *E.sakazakii* suşundan (sekiz gıda, dokuz klinik, bir ATCC 29544) 4'ünün enterotoksin ürettiğini bulmuşlardır. sekiz kaynaklı suştan sadece biri enterotoksin üretmektedir. Bazı suşların ise patojenik olmadıkları belirlenmiştir (2, 5).

4. Minimal Infektif Doz

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 matrisine göre değişiklik gösterebileceği belirtilmektedir. Forsythe hazır toz mamalarda 0.36cfu/100g düzeyinde *E.sakazakii* bulunduğu ve bir besleme sırasında 18 g toz mama kullanıldığı varsayılırsa bu doza ulaşılabilmesi için rekonstrüte formülün 9 gün 8°C'de veya 17.9 saat oda sıcaklığında tutulması gerektiğini bildirmiştir. Hesap yapılırken bakterinin mamanın hazırlanışı sırasında kullanılan sıcak su nedeniyle ölmediği ve midede çoğalmadığı varsayılmıştır. Ayrıca bir beslemede bu doza ulaşılacağı düşünülerek hesaplama yapılmıştır(4).

5. *E.sakazakii*'nin Neden Olduğu Hastalıklar

E.sakazakii, genel olarak tüm yaş gruplarında hastalığa neden olabilmektedir. Ancak yaş dağılımına bakıldığında özellikle bir yaşından küçük çocukların risk altında olduğu görülmüştür. Yeni doğanlar arasında ise en riskli grubun prematüre bebekler olduğu belirtilmiştir. Bunun nedeni yeni doğanların özellikle de prematürelerin mide asitliğinin ye-

tışkinlere nazaran daha düşük olması ve bu nedenle bakterinin uzun süre canlı kalabilmesi olarak gösterilmektedir. Ayrıca HIV pozitif annelerin bebekleri bağışıklık sistemleri daha zayıf olduğundan enfeksiyona daha duyarlı olabilmektedir (2).

A.B.D'de yapılan bir çalışmada bir yaşın altında bu bakteriyle enfekte olanları oranının yüz binde 1 olduğu, düşük kiloda doğanlarda ise bu oranın yüz binde 8.7'ye çıktığı belirtilmiştir (5).

Bakterinin bulaşma kaynağı ve şekli 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 (10).

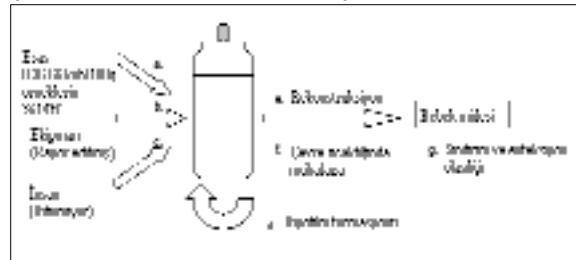
6. *E.sakazakii*'nin Bulaşma Şekli

Şekil 1'de toz bebek formüllerinin muhtemel kontaminasyon kaynakları görülmektedir.

Organizmanın fekal yolla taşındığı henüz gösterilmemiştir ve hazırlanışı sırasındaki kontaminasyon düzeyinin ne kadar olduğu konusunda yeterli veri yoktur. Ancak, personelin temel hijyenik kuralları ihmal etmesi salgınların temel kaynağı olarak kabul edilmektedir (3).

7. *E.sakazakii*'nin Mikrobiyolojik Analiz Metodu

Şekil 1. *E.sakazakii*'nin sindirimi ile ilişkili risk faktörleri (3).



- Toz bebek formüllerinin kontaminasyon kaynağı
- Rekonstrüksiyon sırasında formüllerin kontamine olması
- Rekonstrüksiyon sırasında kullanılan kaşık gibi ekipmanlardan kaynaklanan kontaminasyonlar
- Kontamine biberonun yetersiz temizlenmesi
- Kullanılan suyun sıcaklığından dolayı bakterilerin ölmesi
- Rekonstrüksiyondan sonra bakterinin oda sıcaklığında çoğalması
- Bebeğin midesinde bakterinin canlı kalıp çoğalması

Toz mamalar steril ürünler olmamaları nedeni ile çeşitli mikroorganizmaları ve bazı patojenleri ihtiva edebilmektedirler. Ülkemizde bebek mamaları ile ilgili tebliğ de verilen mikrobiyolojik kriterler arasında yer almamakla birlikte çeşitli ülkelerde bebek mamaları ilgili standartlarda *E. sakazakii*'ye de yer verilmiştir. Uluslararası Standartlarda 100 g bebek mamasında en fazla 4 kob düzeyinde *E.sakazakii* bulunmasına izin verilmektedir (1, 6).

E.sakazakii analizlerinde genel *Enterobacteriaceae* sayımı ve izolasyonuna yönelik besiyerleri kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmacılar tarafından önerilen yöntemler zenginleştirme aşamasını takip eden izolasyon ve biyokimyasal tanımlamayı içermektedir. FDA (2002) tarafından önerilen yöntem 4 aşamadan oluşmaktadır. Bunlar;

1. Önzenginleştirme,
2. Selektif sıvı besiyerinde (EE broth) zenginleştirme,
3. Selektif katı besiyerine (VRBG) ekim,
4. Doğrulama aşamalarıdır (11).

En muhtemel sayı tekniğinin kullanıldığı bu yöntem ile sonuç almak 5 gün sürmektedir. Bu yöntem, Muytjens ve ark. (12) ve Nazarowec-White ve Farber (13) tarafından kullanılan yöntemlere benzemekle beraber, araştırmacılar bebek mamalarının ilk süspansiyonunun hazırlanmasında tamponlanmış peptonlu su kullanırken, FDA yönteminde toz bebek mamaları su ile süspanse edilmektedir. Ayrıca FDA yönteminde izolasyon aşamasında yayma veya çizme yöntemi kullanımı verilmektedir. Buna karşın her iki araştırmacı grubu da dökme plak yöntemini kullanmışlardır. Şekil 2'de FDA ve bu araştırmacılar tarafından kullanılan analiz yöntemleri karşılaştırılmalı olarak verilmiştir (4).

Kandhai ve ark (14) ise çevresel kaynaklardan *E.sakazakii* izolasyonunda 0.5 mol/lt tuz ilave ettikleri LSTB sıvı besiyerinde 45°C de 22-24 saat inkübasyonu takiben VRBL agar'da (37°C/24s)

izolasyon yapmışlardır. Besiyerinde üreyen tüm kolonilerden tripton soy agara ekim yapılarak 25°C'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra sarı pigment oluşturan koloniler biyokimyasal testler ile tanımlanmıştır.

Leuschner ve ark (15) sarı pigmentasyon ve enzimatik aktiviteyi kombine ederek jeloz besiyerine 4-metil-umbelliferil- α -d-glukozid ilave ederek sarı floresans veren suşları *E.sakazakii* olarak tanımlamışlardır. Bu besiyerinin kullanımı analiz süresini kısaltmaktadır. Laboratuvarlar arası bir çalışma ile yöntemin validasyonu yapılmıştır.

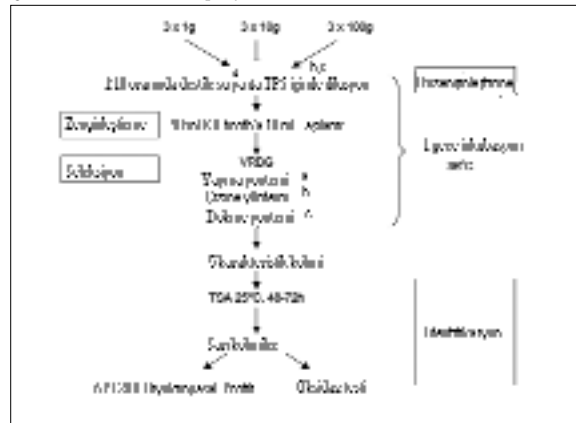
Bunun dışında *E.sakazakii*'nin direkt belirlenmesine yönelik çeşitli besiyerleri geliştirilmiştir. Bu besiyerlerinden Draggan-Forsythe-Iversen agar ve *Enterobacter sakazakii* isolation agar'a ticari olarak ulaşmak mümkündür.

Bakterinin tanımlanmasında API20E ve API32E kitlerinden yararlanılmaktadır. Bunun yanı sıra PCR kullanılarak belirlenmesine yönelik araştırmalar da mevcuttur.

8. *E.sakazakii* İnfeksiyonlarından Korunma Yöntemleri

Uluslararası standartlara göre ürünün gramında 1-10 adet koliform bakteri bulunabilir. *E.sakazakii* de bir koliform olduğundan riskin düşük olduğu düşünülmekle birlikte bu durum yeteri kadar gü-

Şekil 2. *E.sakazakii* tespit yöntemleri (4).



venliği sağlamamaktadır. Bu nedenle WHO/FAO tarafından şu öneriler getirilmiştir:

1. Yeni doğan bebekler ilk altı ay anne sütü ile beslenmelidir.
2. Mamaların etiketlerinde ürünün steril olmadığı uyarısı bulunmalı ve ancak ürün doğru bir şekilde hazırlandığı takdirde *E.sakazakii*'nin hastalığa neden olmayacağı belirtilmelidir.
3. Gereğinden fazla mama hazırlanmamalı, mümkünse her besleme zamanı geldiğinde gerektiği kadar mama hazırlanmalıdır.
4. Mamaların hazırlanmasında kullanılan su kaynatılıp 70-90°C'lerde ürüne eklenmelidir.
5. Prematüre bebekler anne sütü yoksa toz mamalar yerine steril hazır mamalarla beslenmelidir.
6. Kalan mama buzdolabında saklanmalı ve 24 saat içinde tüketilmelidir.
7. Bebek gıdaları endüstrisi yüksek riskli gruplar için daha steril alternatif formüller geliştirmelidir.
8. İlgili standardın revizyonunda kodeks toz formüllerin mikrobiyal riskleri daha iyi göstermeli ve gerekirse *E.sakazakii* için spesifikasyonlar eklenmelidir.
9. Uluslararası tespit ve moleküler tiplendirme metodları üzerinde çalışmalar yapılmalıdır.
10. *E.sakazakii* ve diğer *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarının kaynağı araştırılmalı ve rapor edilmelidir.
11. Bakterinin ekolojisi, taksonomisi, virulansı ve diğer karakteristiklerinin daha iyi anlaşılması için araştırmalar yapılmalıdır (2, 4, 9, 16).

Yapılan araştırmalarda bebek mamalarına monokapriline gibi doğal koruyucular ilave edilerek *E.sakazakii* gelişiminin önlenebileceği gösterilmiştir. Fakat bu konuda yapılan çalışmaların duyuşsal analizler ile desteklenmesi gerektiği belirtilmiştir (18). Sonuç olarak hazır toz bebek mamaları *E.sakazakii* ve diğer patojen bakterilerin düşük miktarda da olsa bulunabileceği ürünlerdir. Bu ne-

denle bu tip mamaların kullanımı ve hazırlanması sırasında verilen kurallara uyulması son derece önemlidir.

Kaynaklar

1. Anonymous. Türk Gıda Kodeksi Bebek Mamaları-Bebek Formülleri Tebliği No: 98/20 (1998).
2. Anonymous. Enterobacter sakazakii and other microorganisms in powdered infant formula: Meeting report. World Health Organization and Food and Agriculture Organization Microbiological Risk Assessment Series 6 (2004).
3. Forsythe S. Enterobacter sakazakii and other bacteria in powdered infant milk formula. Maternal and Child Nutr 2005; 1: 44.
4. Iversen C, Forsythe S. Risk profile of Enterobacter sakazakii, an emergent pathogen associated with infant milk formula. Trends Food Sci Tech 2003; 14: 443.
5. Lehner A, Stephan R. Microbiological, epidemiological, and food safety aspects of Enterobacter sakazakii. J Food Protect 2004; 67: 2850.
6. Nazarowec-White M, Farber JM. Enterobacter sakazakii: A review. Int J Food Microbiol 1997; 34: 103.
7. Edelson-Mammel SG, Buchanan R. Thermal inactivation of Enterobacter sakazakii in rehydrated infant formula. J Food Protect 2004; 67: 60.
8. Iversen C, Lane M, Forsythe SJ. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of Enterobacter sakazakii grown in infant formula milk. Let Appl Microbiol 2004; 38: 378.
9. Breeuwer P, Lardeau A, Peterz M, Joosten HM. Desiccation and heat tolerance of Enterobacter sakazakii. J Appl Microbiol 2003; 95: 967.
10. Anonymous. 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 2001; 90: 356.
11. Muytjens HL, Roelofs WH, Jaspar GHJ. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. J Clinical Microbiol 1988; 26: 743.
12. Nazarowec-White, Farber JM. Incidence, survival and growth of Enterobacter sakazakii in infant formula. J Food Protect 1997; 60: 226.
13. Kandhai MC, Reij MW, van Puyvelde, Guillaume-Gentil K, Beumer O, van Schothorst RR. Occurrence of Enterobacter sakazakii in food production environments and households. Lancet 2004; 363:39.
14. Leuschner RG, Bew J. A medium for the presumptive detection of Enterobacter sakazakii in infant formula: interlaboratory study. J AOAC Int 2004; 87: 604.
15. Anonymous. Advice for parents regarding infant formula from the Ministry of Health and NZ Food Safety Authority. <http://www.nzfsa.govt.nz/consumers/food-safety-topics/re>

calls-and-product-advice/infant-formula-sakazakii/index.htm?
(2005).

16. Nair MKM, Joy J, Venkitanarayan KS. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in Reconstituted Infant Formula by Monocaprylin. *J Food Protect* 2004; 67:2815.