

E.COLI SAYIMINDA EC BROTH+TRİPTOFAN İLE LST BROTH+MUG BESİYERLERİNİN KULLANIMI

USING OF EC BROTH+TRYPTOPHANE AND LST BROTH+MUG MEDIA FOR E. COLI COUNTING

Hilal Beyhan DOĞAN, A. Kadir HALKMAN

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

ÖZET: Bu çalışmada, koliform grup bakteriler/fekal koliform bakteriler / *E. coli*'nin EMS yöntemi ile sayımında kullanılan TS/ISO 6063 yönteminde analiz süresinin kısaltılabilme olasılığı araştırılmıştır. Denemelerde EC Broth besiyerine %0,1 triptofan ilavesi ile kombine edilmiş bir besiyerinde 290 adet bakteri 44,5±0,5°C'da gelişme, gaz ve indol oluşturma bakımından analiz edilmiştir. Buna ilave olarak 290 bakteri için LST Broth+MUG besiyeri kontrol olarak kullanılmış, bu besiyerinin TS/ISO 6063'e alternatif olup olamayacağı incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre EC Broth+Triptofan kombine besiyeri ile kontrol besiyeri olarak kullanılan LST Broth+MUG besiyeri *E. coli* için %100 uyum göstermiş ve buna göre 6 gün süren bir analiz yöntemi yerine EC Broth+Triptofan ile 3 gün süren analiz yönteminin kullanılabilmesi, LST Broth+MUG besiyeri ile denenen 290 bakteri arasında sahte negatif ve sahte pozitif floresan reaksiyonu alınmadığı görülmüştür.

ABSTRACT: In this research, to decrease the period for analysis of coliform, fecal coliform, *E. coli* analyzing according to TS/ISO 6063 by MPN method were investigated. A combined medium was developed by adding 0.1% tryptophane to EC Broth and 290 enterobacteria isolates (mostly coliforms) were analyzed for growth, gas and indol production at 44.5±0.5°C. LST Broth+MUG was used as control medium for these tests in addition to fluorescence reaction so that if this medium may be an alternative to TS/ISO method. According to results, all 190 *E. coli* isolates gave equal result as expected in both culture media. It revealed that time period for analysis can be decreased to 3 days by using EC Broth + Tryptophane Medium instead of 6 days by the TSE/ISO 6063 method. No false reaction were obtained in LST Broth+MUG for 290 bacteria.

GİRİŞ

Koliform grup bakteriler gıda mikrobiyolojisinin en önemli grupları arasında yer almaktadır. *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri olan bu grup bakteriler familyanın tipik özellikleri olan Gram negatif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen çubuk bakterilerdir ve bu genel özelliklere ilaveten grubun tanımı çerçevesinde 37°C'da 48 saat içinde laktozdan gaz oluştururlar. Bu çerçevede koliform grup bakteriler olarak tarif edilenler *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Ent. cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* türleridir. Bu grup bakterilerden *E. coli*, doğada sadece sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarında bulunduğu için analiz edilen bir *materyalde E. coli*'ye rastlanması o örneğe doğrudan veya lağım suyu ile dolaylı olarak dışkı bulaştığının mutlak göstergesidir. Bu nedenle gıdalarda, yemlerde, içme ve kullanma sularında *E. coli* bulunmasına izin verilmez. Buna karşı grubun diğer üyeleri dışkı kökenli olabileceği gibi bitki ve toprak kökenli de olabilirler. *E. coli*'de olduğu gibi dışkı kökenli olanlara izin verilmez iken bitki ve toprak kökenli olanların gıdalar ve yemlerde belirli sayılarda bulunmasına izin verilmektedir (BEKAR, 1990; HALKMAN ve ark., 1994; JAY, 1996).

Koliform grup bakterilerden dışkı kökenli olanlar 44,5°C'da EC Broth besiyerinde gelişmeleri ve gaz oluşturmaları ile bitki/toprak kökenli olanlardan ayrılabilir. Bunlardan *E. coli*'nin ayrılması ise yine 44,5°C'da triptofan içeren triptondan (ya da doğrudan triptofandan) indol oluşturma testi ile yapılmaktadır. Bu test sonucu pozitif olan kültürler *E. coli* olarak, negatif olanlar ise fekal koliform olarak değerlendirilmektedir (HITCHINS ve ark., 1998; SMOOT ve PIERSON, 1997).

Özellikle gıda ve su örneklerinde koliform grup bakteriler, fekal koliformlar ve *E. coli* belirlenmesi üzerinde yapılmış pek çok çalışma vardır. Bu çalışmaların tümü sırası ile doğru, çabuk, kolay ve ucuz yöntemlerin geliştirilmesi üzerine kurulmuştur. Geleneksel kültür yöntemleri ile yapılan analizlerin uzun sürmesine çö-

züm olarak hızlı/yeni yöntemler olarak pek çok genetik ve serolojik esaslı test bu gün araştırma laboratuvarlarında başarılı bir şekilde kullanılmakla beraber, bu yöntemler yüksek analiz maliyetleri nedeni ile rutin gıda kontrollerinde yaygın bir kullanım alanı bulamamışlardır. Buna alternatif olarak geleneksel kültür yöntemlerinin hızlandırılması üzerinde de pek çok çalışma yapılmaktadır. Son zamanlarda elektrikli geçirgenlik değişiminin belirlenmesi üzerine kurulu sistemler ile rutin uygulamada oldukça başarılı sonuçlar alınmış ise de bu yöntemin kullanım alanı bugün için sadece koliform bakteriler ile sınırlıdır. Yeni geliştirilen tüm yöntemler kontrol olarak geleneksel kültür yöntemlerini kıyas olarak almakta ve yeni yöntemin kıyas olarak alınan yöntemden üstün olan tarafları başarı olarak sunulmaktadır (BAIRD-PARKER, 1987; FENG, 1998; SMOOT ve PIERSON, 1997).

Geleneksel kültür yöntemleri olarak uluslararası platformda kabul görmüş standart analiz yöntemlerinde de zaman içinde değişiklikler olmaktadır. Kuşkusuz, Uluslararası Standartlar Enstitüsü (ISO) ile ABD Gıda ve Müstahzar İdaresi (FDA) yöntem değişikliklerini ve yeni yöntemleri kolaylıkla benimsememekte, söz konusu değişiklikler ve yenilikler bu kuruluşların kendi bünyelerinde yıllar süren araştırmalar ve bilimsel yayınlar sonrasında kabul edilmektedir. Bu gibi kuruluşların, analiz sonuçlarında en küçük bir kuşku duyulmayacak düzeyde titiz davranmaları, hemen hemen tüm mikrobiyolojik analizlerin rutin gıda kontrollerinde uygulanamayacak kadar uzun sürmesi sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Bu çalışmanın yapıldığı tarihte *E. coli* analizinin ISO'ya göre 6, FDA'ya göre 8 gün sürmesi bunun en tipik örneğidir (ANONYMOUS, 1996a; HITCHINS ve ark., 1998).

ISO ve dolayısı ile Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından önerilen standart *E. coli* sayım yöntemi En Mühtemel Sayı (EMS) tekniğidir. Bu yöntemde ardışık 3 seyreltiden Lauryl Sulfate Tryptose (LST) Broth besiyerine ekim yapılmakta, 37°C'da 48 saat inkübasyon sonunda gelişme ve durham tüpünde gaz birikimi görülen tüpler muhtemel koliform grup bakteriler olarak işaretlenmekte, bunlardan koliform grup bakterisi doğrulanması için Brilliant Green Bile (BGB) Broth besiyerine ve fekal koliform sayımı için EC Broth besiyerine aşılama yapılmaktadır. 37°C'da 24 saat inkübasyon sonunda gelişme ve durham tüpünde gaz birikmesi görülen tüpler doğrulanmış koliform grup bakteriler olarak, EC Broth besiyerinde 45±0,5°C'da 48 saat inkübasyon sonunda gelişme ve gaz görülen tüpler fekal koliform bakteriler olarak değerlendirilir. Fekal koliform bakterilerin içinde *E. coli* olanların belirlenmesi ise pozitif tüplerden Tryptone Water besiyerine inokülasyon, 45 ± 0,5°C'da 48 saat inkübasyon ve gelişme görülen tüplerde indol testi ile yapılır ve indol pozitif sonuç veren tüpler *E. coli* olarak değerlendirilir. Buna göre koliform bakteri analizi 3 gün, fekal koliform bakteri analizi 4 gün ve *E. coli* analizi 6 gün sürmektedir. (ANONYMOUS, 1996a).

FDA tarafından gösterilen standart yöntem ise ISO'nun eski analiz yöntemidir. Buna göre EC Broth besiyerinde pozitif sonuç veren kültürler Eosin Methylene Blue Agar besiyerine sürülmekte, 37°C'da 24 saat inkübasyondan sonra metalik parlak görümlü koloniler muhtemel *E. coli* olarak izole edilip Nutrient Agar besiyerine geçilmekte, 37°C'da 24 saat süren inkübasyon sonrasında kültürler Gram boyama yapılmakta, Gram negatif kolonilere IMVIC testi uygulanmakta, böylece bir gıdada *E. coli* analizi toplam 10 gün sürmektedir. FDA'ya göre EC Broth besiyerine LST Broth yerine, koliform grup bakterisi doğrulanması için kullanılan BGB Broth besiyerinden geçilmesi daha doğrudur, ancak bu koşulda analiz 10 yerine 11 gün sürmektedir. FDA tarafından önerilen standart analiz yönteminde fekal koliformların inkübasyon sıcaklığı ISO'dan farklı olarak 44,5±0,5°C'dır (HITCHINS ve ark., 1998).

Özellikle gıda endüstrisindeki oto kontrol uygulamalarında 6 gün süren bir yöntem ile *E. coli* analizi yapılması beklenemez iken kamu araştırma ve kontrol kuruluşları dahi kayda değer ölçüde kısa sürede sonuç veren ve modifiye edilmiş geleneksel kültür yöntemlerini kullanan analizleri tercih etmektedirler.

ISO ve FDA gibi kuruluşların doğruluğu tümüyle kanıtlanmış standart geleneksel kültür yöntemlerini daha hızlı hale getirmek için temel olarak 2 modifikasyon şekli üzerinde çalışılmaktadır. Bunlar; bakteriye özgü spesifik enzimlerin geleneksel kültür yöntemleri ile belirlenerek bir anlamda hızlı identifikasyon yapılması, diğeri ise birbiri ardına gelen analizlerin kombine besiyeri kullanımı ile birleştirilerek zamandan kazanılmasıdır (ANONYMOUS, 1996b; KIRAL, 1997; NOTERMANS ve ark., 1997).

Spesifik enzimlerin belirlenmesi üzerinde verilecek en tipik örnek *E. coli*'nin β -Glucuronidase enziminin 4-Methylumbelliferone glucuronide (MUG) substratını 366 nm uzun dalga boylu UV ışığı ile floresan ışımaya veren bileşiğe parçalamasıdır. MUG substratı katı ve sıvı besiyerlerine ilave edilerek 18-24 saat inkübasyon sonunda *E.coli*'nin aranması ve/veya sayılması ile tamamlanabilmektedir. Benzer şekilde *Clostridium perfringens*, *Candida albicans* gibi mikroorganizmalar da kısa süre içinde belirlenebilmektedir (ANONYMOUS, 1996b, HITCHINS ve ark., 1998).

Diğer yöntem olan besiyerlerinin kombinasyonu ise yukarıda da belirtildiği gibi üzerinde sayılamayacak kadar çok çalışma yapılmış olan bir konudur. *Salmonella* identifikasyonunda uluslararası standartlarda yer almış Triple Sugar Iron Agar besiyeri de bir kombine besiyeri iken burada zamandan değil sadece emekten tasarruf hedeflenmiştir. Buna karşın, yine *Salmonella* aranmasında kullanılan *Salmonella* rapid test (Oxoid) ve Modifiye Semi Solid Rappaport Vassiliadis (Merck) gibi selektif besiyerleri *Salmonella* analizinde selektif zenginleştirme ve selektif katı besiyerine sürme işlemlerini bir arada yaptıkları için bir anlamda geleneksel kültür yöntemlerinin analiz süresini kısaltmaya yönelik olan modifikasyonlarıdır (ANONYMOUS 1990; ANONYMOUS, 1996b).

E. coli'nin hızlı analizi için pek çok modifiye yöntem bulunmakla beraber koliform grup bakteriler ve fekal koliform bakteriler için aynı yoğunlukta çalışmaya rastlanamamaktadır. Bugün için en geçerli fekal koliform bakteri analizi standart analiz yönteminde olduğu gibi EC Broth besiyerinde $44,5\pm 0,5^\circ\text{C}$ veya $45\pm 0,5^\circ\text{C}$ 'daki inkübasyonda gaz oluşturma testidir. Bununla beraber "yüksektilmiş sıcaklık testi" olarak tanımlanan bu test üzerinde de açık kuşku bulunmaktadı (HALKMAN ve DOĞAN, 1998). Benzer şekilde LST Broth besiyerinde elde edilen muhtemel koliform bakteri sayısının BGB Broth besiyerinde doğrulanma gerekliliği de tartışılmaktadır (GÜRSU, 1998; HALKMAN ve ark., 1994).

Kombine edilmiş besiyerleri ile hızlı izolasyon ve/veya identifikasyon konusunda Türkiye'de de çalışmalar yapılmaktadır. Bunlara verilebilecek tipik örnekler sırası ile ÖZBAŞ (1987), DOĞAN ve ark. (1996) ile KIRAL (1997)'nin çalışmalarıdır. ÖZBAŞ (1987) EC Broth besiyerinde doğrudan indol testi uygulamış ve bulguları standart EMS yöntemi ile kıyaslamış, bu şekilde tatmin edici sonuçlar almıştır. DOĞAN ve ark. (1996) ile KIRAL (1997)'nin çalışmaları doğrudan *E. coli* analizi değil *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinin hızlı identifikasyonu üzerine kurulmuştur. Her iki çalışmada da elde edilen bulguların yine tatmin edici düzeyde olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada *E.coli* analizinde EC Broth besiyerinde gelişme ve gaz oluşumu testi ile Tryptone Water besiyerinde indol oluşum testi birleştirilmiş ve 290 adet enterobakteri izolatu için bu kombine besiyerinin nasıl bir sonuç verdiği analiz edilmiştir. EC Broth+Triptofan besiyerindeki gaz oluşturma ve indol reaksiyonları sonuçlarının kontrolü için LST Broth+MUG besiyeri kullanılmış, böylece özellikle denemede kullanılan bakterilerin floresan reaksiyonları da incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada kullanılan 190 *E. coli*, 45 *Enterobacter* spp., 19 *Citr. freundii*, 20 *Kleb. terrigena* ve 16 *Kleb. pneumoniae* izolatu Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi kültür koleksiyonundan sağlanmıştır. Denemelerde kullanılan bakterilerin tümü gıdalardan izole edilmiş olan suşlardır.

Metot

Çalışmanın amacı EC Broth besiyerinde $44,5\pm 0,5^\circ\text{C}$ 'da gelişme ve gaz oluşturma testleri ile $44,5\pm 0,5^\circ\text{C}$ 'da triptofandan indol oluşturma testlerinin birleştirilmesi olduğuna göre önce ÖZBAŞ (1987) tarafından denendiği şekilde doğrudan EC Broth besiyerinde inkübasyon sonunda indol testi yapılmış ancak indol reaksiyonunda açık olmayan sonuçlar alınmıştır. Bunun nedeni olarak EC Broth besiyerinde doğrudan triptofan yerine bu amino asidi içeren triptoz bulunduğu ve bir anlamda triptofan içeriğinin açık bir indol testi almaya

yetmediği düşünölmüş, bunun üzerine EC Broth besiyerine %0.1 triptofan ilave edilerek modifiye bir besiyeri oluşturulmuştur. Denemede kullanılan izolatlar Nutrient Broth (Merck) besiyerinde aktiveleştirildikten sonra durham tüpü içeren 10'ar ml EC Broth (Merck) + Triptofan (Merck) ve MUG içeren Fluorocult LST Broth (Merck) besiyerine aşılanmışlardır.

Modifiye EC Broth+Triptofan besiyeri 44,5±0,5°C'da, Fluorocult LST Broth besiyeri 36±1°C'da olmak üzere 24 saat inkübe edilmişler, bu sürenin sonunda modifiye EC Broth+Triptofan besiyerinde gelişme, gaz oluşumu ve indol testleri, LST Broth besiyerinde ise bu 3 teste ilave olarak floresan testi uygulanmıştır. Standart analiz yöntemlerinde EC Broth ve triptonlu su besiyerlerinde 44,5±0,5°C'da 48 saat inkübasyon önerilirken bu çalışma inkübasyonun 24 saat olarak yapılmasının nedeni özel olarak bu test sonuçlarının bu sürede nasıl bir sonuç verdiği izlenmesidir.

Çalışmalarda TS/ISO 6063'e göre 45±0,5°C olan inkübasyon sıcaklığı yerine 44,5±0,5°C kullanılması'nın nedeni fekal koliformların 44-45°C'larda gelişebilmesi (NOTERMANS ve ark., 1997), FDA'ya göre 44,5±0,5°C inkübasyon önerilmesidir (HITCHINS ve ark., 1998).

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Denemelerde elde edilen bulgular çizelge 1'de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 1. 290 bakterinin 2 farklı besiyerinde gaz, indol ve floresan sonuçları.

Bakteriler	EC Broth+Triptofan (44,5±0,5°C)		Fluorocult LST Broth (36±1°C)		
	Gaz	İndol	Floresan	Gaz	İndol
<i>E. coli</i>	+(190)	+(190)	+(190)	+(190)	+(190)
<i>Enterobacter spp.</i>	-(42), +(3)	-(45)	-(45)	+(45)	-(45)
<i>Citr. freundii</i>	-(19)	-(19)	-(19)	+(19)	-(19)
<i>Kleb. terrigena</i>	-(20)	-(20)	-(20)	-(20)	-(20)
<i>Kleb. pneumoniae</i>	-(14), +(2)	-(16)	-(16)	+(16)	-(16)

Çizelgenin izlenmesi ile gerek EC Broth +Triptofan gerek Fluorocult LST Broth besiyerinin denenen 290 izolatın tümünün beklenen sonuçları verdiği görölmektedir.

E. coli: 190 suşun tümü EC Broth +Triptofan ve LST Broth +MUG besiyerlerinde

gaz ve indol oluşturmuş, ayrıca tümü LST Broth +MUG besiyerinde floresan pozitif sonuç vermiştir. Burada dikkati çeken husus floresan reaksiyonudur. *E. coli* suşları içinde genel olarak %4-5 oranında sahte negatif sonuçlara rastlanabildiği (ANONYMOUS, 1996b) belirtilirken, FDA'ya göre insanlardan elde edilen *E. coli* izolatlarının %34'ü MUG negatif sonuç vermektedir (HITCHING ve ark., 1998). *E. coli* suşları içinde enterohemorajik olanların MUG negatif olduğu, ve örneğin *E. coli* O157:H7 serotipinin bu özelliği ile tanımlanmış olduğu bilinmekte ve Türkiye'de analiz edilen 509 hayvansal gıdada bu serotipe rastlanmadığı belirtilmektedir (HALKMAN ve ark., 1998). Burada izolatların %100 düzeyinde MUG pozitif sonuç vermesi bunların insan değil hayvan kökenli *E. coli* suşları olması ve içlerinde *E. coli* O157:H7 serotipi olmaması şeklinde yorumlanabilir. Yine *E. coli*'de indol reaksiyonun %100 düzeyinde pozitif olarak saptanması beklenen bir durumdur. Bu testin modifiye EC Broth+Triptofan besiyerinde de pozitif olarak alınması bu besiyerinin kullanımı ile yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığına dayalı analiz yöntemlerinde 4 gün yerine 1 gün süreli inkübasyonun yeterli olabileceğini göstermiştir. Kuşkusuz, *E. coli* için standart analiz yöntemi olarak gösterilen ve 6 gün süren TS/ISO 6063'e alternatif olarak doğrudan LST Broth+MUG besiyerinin kullanılması üzerindeki çalışmalar sürmektedir ve burada *E. coli* için elde edilen gaz, indol ve floresan reaksiyonları gerek bu çalışmalardaki araştırma gereçlerini gerek sonuçları doğrulamaktadır (GÜRSU, 1998; HALKMAN ve ark., 1997; HALKMAN ve DOĞAN 1998).

Diğer Enterobakteri türleri: Farklı 4 enterobakteri türüne ait toplam 100 suş EC Broth+Triptofan besiyerinde indol testi ile LST Broth+MUG besiyerinde floresan, gaz oluşturma ve indol testlerinde beklenen sonuçları vermişlerdir. EC Broth+Triptofan besiyerinde yapılan 44,5±0,5°C'da *E. coli* dışında gaz pozitif sonuç veren sadece 3 adet *Enterobacter spp.* ile 2 adet *Kleb. pneumoniae*'dir. Diğer 95 enterobakteri üyesi bakteri bu inkübasyon sıcaklığında gaz oluşturmamışlardır. Bu 100 bakterinin *Kleb. terrigena* dışında kalan 80 adedinin LST Broth+MUG besiyerinde 36±1°C'da gaz oluşturmaları ise koliform bakterilerin tipik bir özelliğidir. EC

Broth+Triptofan besiyerinde gaz oluşturan bakteriler fekal koliformlar olarak tanımlanmaktadır. Gıda analizlerinde $44,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'da yapılan inkübasyonda *E. coli* dışındaki bakteriler bulunma sıklığına göre *Kleb. pneumoniae*, *Ent. aerogenes*, *Ent. agglomerans* ve *Ent. aerogenes* olarak tanımlanırken (SPLITTSTOESSER, 1983), gıda analizlerinde fekal koliformlar olarak tanımlanan izolatların büyük bir çoğunluğunun zaten *E. coli* olması nedeni ile fekal koliform bakteri analizinin gerçekten gerekli olup olmadığı da tartışılmaktadır (GÜRSU, 1998; HALKMAN ve ark., 1997). Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre 45 *Enterobacter* suşundan 3 (%6,7), 19 *Citr. freundii* suşundan 0 ve 16 *Kleb. pneumoniae* suşundan 2 (%12,5); toplam olarak 80 koliform bakteriden sadece %6.25 düzeyinde 5 adedinin fekal koliform bakteri olarak saptanması söz konusu tartışmalar ile uyum içindedir. Literatürde *E. coli* dışında da MUG pozitif *Shigella sonnei*, *Ent. aerogenes*, *Ent. cloacae*, *Citr. freundii* ve *Salmonella enteritidis* suşlarına nadiren rastlandığı belirtilmekte (ANONYMOUS, 1998) iken bu çalışmada MUG pozitif bakteriler sadece *E. coli* olarak bulunmuştur.

SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen somut bulgular aşağıda özetlenmiştir.

– EC Broth+Triptofan besiyerinde denenen 290 bakteri ile beklenen test sonuçları alınmıştır. Bu bulgular yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığına dayalı ve her biri 48 saat süren ardışık 2 test yerine 24 saatlik inkübasyon ile ve tek besiyeri kullanarak sonucun alınabileceğini göstermektedir. Kuşkusuz sadece 290 bakterinin test sonucuna göre uluslararası düzeyde uygulanan bir analiz yönteminin değiştirilmesi beklenmemektedir. Bununla birlikte bu tip çalışmaların artırılması ve buradaki bulguları doğrular sonuçların alınması ile bu değişiklik gündeme gelebilir. Bu çalışma ile elde edilen bulgular sadece bu konudaki potansiyeli göstermektedir.

– Fekal koliformların sayımından vazgeçilir ise LST Broth+MUG besiyeri ile koliform grup bakteriler ve *E. coli* sayımında su banyosunda $44,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ' gibi kritik bir inkübasyon sıcaklığı yerine inkübatörde $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'da yapılan inkübasyon kullanılabileceği bir kez daha belirlenmiştir. EC Broth+Triptofan besiyerine oranla LST Broth+MUG besiyeri "sadece bir potansiyeli göstermenin çok ötesinde bir kullanım şansına" sahiptir. *E. coli* suşlarının sahte negatif MUG reaksiyonu bu çalışmada kullanılan 190 gıda kökenli *E. coli*'de elde edilmemiştir.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS 1990. The Oxoid Manual. 6th Ed. Unipath Ltd. Basingstoke.
- ANONYMOUS 1996a. Mikrobiyoloji-Muhtemel *Escherichia coli* Sayımı için Genel Kurallar-En Muhtemel Sayı Tekniği. TS 6063. Türk Standartları Enstitüsü Matbaası, Ankara, 9 s.
- ANONYMOUS. 1996b. Merck Microbiology Manual. Merck KGaA Darmstad 402 s.
- ANONYMOUS 1998. Gıda Mikrobiyolojisi '98. Orkim Ltd. Yayınları. Armoni Matbaacılık Ltd. Ankara, 68s.
- BAIRD-PARKER, A.C. 1987. The Present and Future Role of Rapid Microbiological Methods in Assuring Food Safety. In, "Rapid Methods and Automation in Microbiology" p. 276-281. (Eds) A. Balows, R.C. Tilton, A. Turano. Brixia Academic Press Brescia.
- BEKAR, M. 1990. *Enterobacteriaceae* Sınıfı Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri Seminer Notları. Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü. Ankara, 49 s + ekler, basılmamış seminer notları.
- DOĞAN, H.B., SARIKAYA, E., HALKMAN, A.K. 1996. Enterobakteri İdentifikasyonunda Birleştirilmiş Testler Üzerine Bir Araştırma. Gıda 21(6) 431-434.
- FENG, P. 1998. Rapid Methods for Detecting Food Borne Pathogens. In, "Bacteriological Analytical Manual" 8th Edition, Revision A. Published and Distributed by AOAC International. 28 bölüm +3 ek.
- GÜRSU, G. (1998). Çeşitli Salatalarda Fekal Koliform Aranması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Ankara, yayınlanmamış 60s.
- HALKMAN, A.K., DOĞAN, H.B. 1998. Gıdalarda *E. coli* Sayımında TS/ISO 6063'ün İrdelenmesi. KÜKEM Dergisi 21 (3) 41-48).
- HALKMAN, A.K., DOĞAN, H.B., NOVEIR, M.R. 1994. Gıda Maddelerinde *Salmonella* ile *E. coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Gıda Teknolojisi Demeği Yayın No. 21. Armoni Matbaacılık Btd. Şti. Ankara 93s.
- HALKMAN, A.K., NOVEIR, M.R., DOĞAN, H.B. 1998. Çeşitli Hayvansal Gıda Ürünlerinde *E. coli* O 157:H7 Aranması. TÜBİTAK-VHAG 1192 nolu Proje, basılmamış 76 s.
- HALKMAN, A.K., DOĞAN, H.B., ÇAKIR, İ., KIRAL, N., İNAN, T.T., COŞANSU, S., GÜRSU, G. 1997. Gıdalarda Fekal Koliform Aranması Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu 97 11 12 01 nolu proje, devam ediyor.
- JAY, S.M. 1996. Modern Food Microbiology 5th Ed. Chapman&Hall, USA 661p.
- HITCHINS, A.D., FENG, P., WATKINS, W.D., RIPPEY, S.C., CHANDLER, L.A. 1998. *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. In, "Bacteriological Analytical Manual" 8th Edition, Revision A. Published and Distributed by AOAC International. 28 bölüm + 3 ek.
- KIRAL, N. 1997. Enterobakteri İdentifikasyon Testlerinin Birleştirilmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Yayınlanmamış.
- NOTERMANS, S., BEUMER, R., ROMBOUTS, F. 1997. Detecting Foodborne Pathogens and Their Toxins; Conventional versus Rapid and Automated Methods. In "Food Microbiology Fundamentals and Frontiers", pp. 697-709 (Eds) M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.M. Montville. American Society of Microbiology USA.
- ÖZBAŞ, Z.Y. 1987. Çeşitli Gıdalarda *Escherichia coli* Sayımında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması Üzerine Bir Araştırma. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Yayınlanmamış 145 s.
- SMOOT, L.M., PIERSON, M.D. 1997. Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. In "Food Microbiology Fundamentals and Frontiers", pp. 66-80. (Eds) M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.M. Montville. American Society of Microbiology USA.
- SPLITTSTOESSER, D.F. 1983. Indicator Organisms of Frozen Blanched Vegetables. Food Tech. (June) 105-106.