

278983

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

**ÇOCUK MAMALARININ MİKROBİYOLOJİK İNCELEMELERİNDE
ÖNERİLEN YÖNTEMLERİN RUTİN ANALİZLER YÖNÜNDEN
KARŞILAŞTIRILMASI ve ANKARA'DA SATILAN
ÇOCUK MAMALARININ MİKROBİYOLOJİK
NİTELİKLERİNİN SAPTANMASI**

Beslenme ve Gıda Bilimleri Programı
DOKTORA TEZİ

AYHAN TEMİZ

ANKARA — 1978

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

**ÇOCUK MAMALARININ MİKROBİYOLOJİK İNCELEMELERİNDE
ÖNERİLEN YÖNTEMLERİN RUTİN ANALİZLER YÖNÜNDEN
KARŞILAŞTIRILMASI ve ANKARA'DA SATILAN
ÇOCUK MAMALARININ MİKROBİYOLOJİK
NİTELİKLERİNİN SAPTANMASI**

Beslenme ve Gıda Bilimleri Programı
DOKTORA TEZİ

AYHAN TEMİZ

REHBER ÖĞRETİM ÜYESİ : Prof. Dr. ORHAN KÖKSAL

ANKARA — 1978

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa No.

GİRİŞ	1
BEBEKLERİN BESLENMESİ	3
Bebeklerin Besin Gereksinmesi ve Diyetlerinin Bazı Özellikleri	3
Anne Sütü Emzirmenin Önemi	4
TÜRKİYE'DE BEBEKLERİN BÜYÜME VE GELİŞME DURUMU	7
TÜRKİYE'DE BEBEK BESLEME UYGULAMALARI	10
Anne Sütü Emzirme Durumu	10
Ek Gıdaların Yedirilmesine Başlama Zamanı	14
Yedirilen Ek Gıda Türleri ve Öncelik Sırası	15
YAPAY BESLEME NEDENLERİ VE TİCARİ ÇOCUK MAMALARI	18
Yapay Besleme Nedenleri	18
Ticari Çocuk Mamaları	19
Çocuk Mamaları Tüzüğü ve Hazır Ticari Mamaların Besleyici Değeri	19
Hazır Ticari Mamaların Kullanılma Durumu	24
TİCARİ ÇOCUK MAMALARI VE MİKROBİYOLOJİK STANDARTLAR	25
Bebeklerin Barsak Florasına Beslenme Durumunun Etkisi	25
Mikrobiyolojik Standartlar	28
A. Genel Prensipler	28
B. Mikrobiyolojik Kalite Kriterleri	30
C. Mikrobiyolojik Limitler	33
D. Çeşitli Ülkelerde Çocuk Mamaları Mikrobiyolojik Standartları	34
E. Çeşitli Ülkelerde Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Durumuna İlişkin Araştırmalar	36
ARAŞTIRMANIN AMACI	38
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ ve ARAÇLAR	39
YER VE ÖRNEKLEM SEÇİMİ	39
MAMA ÖRNEKLERİNİN SAKLAMA KAPLARINA ALINMASI VE SAKLANMASI	40

	<u>Sayfa No.</u>
UYGULANAN ANALİZ YÖNTEMLERİ _____	41
UNICEF Yöntemleri _____	41
Kullanılan Besiyerleri _____	42
Uygulama _____	48
Hıfzıssıhha Yöntemleri _____	54
Kullanılan Besiyerleri _____	55
Uygulama _____	59
Tamamlayıcı Testler _____	63
İstatistiksel Değerlendirme _____	70
BULGULAR _____	71
CANLI AEROBİK BAKTERİ SAYIMI _____	71
ENTERİK BAKTERİLERİN DURUMU _____	73
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DURUMU _____	74
KÜF SAYIMI _____	74
CANLI AEROBİK SPOR SAYIMI _____	75
ESCHERİCHİA COLİ DURUMU _____	76
LANCİFIELD GRUP-D (FAECAL) STREPTOCOCCUSLARIN DURUMU _____	76
CLOSTRİDİUM PERFRİNGENS VE DİĞER ANAEROBLAR _____	77
PSEUDOMONAS AERUGİNOSA DURUMU _____	78
SALMONELLA VE SHİGELLA DURUMU _____	78
TARTIŞMA _____	80
SONUC _____	86
ÖNERİLER _____	88
ÖZET _____	90
KAYNAKLAR _____	91
EKLER _____	101

T A B L O L A R D İ Z İ N İ

<u>Tablo No.</u>		<u>Sayfa No.</u>
1	100ml İnsan ve İnek Sütünün Ortalama Bileşimi _____	4
2	Türkiye'de 0-60 ¹ Yaş Grubunda Sınıflara ve Yaş Gruplarına Göre Ağırlık Yönünden Büyüme Geriliği Gösterenlerin Yüzde Olarak Dağılımı _____	9
3	Türkiye'de Bölge ve Sınıflara Göre Annelerin Çocuklarını Emzirme Süreleri _____	11
4	Türkiye'de Annelerin Eğitim Düzeyi ile Yetersiz-Gereksiz Emzirme Süreleri Arasındaki İlişkiler _____	13
5	Bölge ve Sınıflara Göre Türkiye'de Çocukların Ek Gıdaya Başlama Zamanı _____	16
6	Türkiye'de Tüm Bölge ve Sınıflarda Çocuklara Yedirilen Ek Gıda Türleri ve Öncelik Sıraları _____	17
7	Türkiye, ABD ve Dünya Gıda Kodeksinde Çocuk Mamalarının Besin Değerine İlişkin Hükümler _____	21
8	S.S.Y. Bakanlığında Ruhsatlı Ticari Çocuk Mamalarının Bileşimi _____	22
9	Türkiye'de İmal Edilen Hazır Ticari Çocuk Mamalarının Sulandırıldıklarında 100 ml. lik Miktarlarında Besleyici Değerleri _____	23
10	Bölgelere Göre Hazır Ticari Mama Yedirilme Durumu _____	24
11	Sınıflara Göre Hazır Ticari Mama Yedirilme Durumu _____	25
12	Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kesin Klebsiella Tanısı Konan 228 Örneğin Çocukların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı _____	27
13	ABD ve Fransa'da Bebek ve Çocuk Gıdaları İçin Önerilen Mikrobiyolojik Standartlar _____	35
14	Hollanda'da Kuru Haldeki Çocuk Mamaları İçin Önerilen Mikrobiyolojik Limitler _____	36
15	Ankara Piyasasında Satılmakta Olan Hazır Ticari Çocuk Maması Çeşitleri ve Bunları İmal Eden Firmalar _____	40
16	Kuru Haldeki Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Spesifikasyonları _____	42

<u>Tablo No.</u>		<u>Sayfa No.</u>
17	Toz Halindeki Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Spesifikasyonları _____	55
18	Ankara Piyasasında Satılan Hazır Çocuk Mamalarında UNICEF ve Hıfzıssıhha Yöntemleriyle Saptanan En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Canlı Aerobik Bakteri Sayıları _____	72
19	Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mamalarının Ortalama Canlı Aerobik Bakteri Gruplarına Göre Dağılımı _____	73
20	Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mamalarında Enterik Bakterilerin Varlığı _____	74
21	Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mamalarından Küf Üremesi Saptananlarda En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Küf Sayıları _____	74
22	Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mamalarının Ortalama Küf Sayısı Gruplarına Göre Dağılımı _____	75
23	UNICEF Yöntemlerine Göre Arımama, Paromama ve Calsilac'da Saptanan En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Canlı Aerobik Spor Sayıları _____	76
24	Arımama, Paromama ve Calsilac'da UNICEF Yöntemlerine Göre Saptanan Lancefield D (faecal) Streptococcus'ların Varlığı _____	77
25	UNICEF Yöntemlerine Göre Arımama, Paromama ve Calsilac Örneklerinde En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Clostridium perfringens Sayıları _____	77
26	Hıfzıssıhha Yöntemlerine Göre Ankara Piyasasında Satılmakta Olan Hazır Ticari Çocuk Mamalarında Clostridium perfringens ve Diğer Anaerobların Varlığı _____	79

G İ R İ Ő

Dünyada her yıl üç milyondan fazla çocuğun ya doğrudan doğruya veya dolaylı olarak yetersiz ve dengesiz beslenmeden öldüğü saptanmıştır (1). Yetersiz ve dengesiz beslenmenin en önemli ve korkulan sonucu, ölmeyip yaşayabilen çocukların fiziksel, ruhsal ve mental gelişimlerini olumsuz yönde etkileyerek toplumun geleceğini tehlikeye düşürmesidir.

Günümüzde, büyüme ve gelişmenin hızlı, besin maddelerine ihtiyacın yüksek olduğu bebeklik döneminde (doğumdan 12. ayın sonuna kadar) yeterli ve dengeli beslenmenin önemi ve gereği yaygınlıkla kabul edilmektedir. Bebeğin bilhassa ilk aylarda büyüme ve gelişmesinin sağlanmasında, anne sütü emzirmenin yerini tam anlamıyla tutabilecek bir başka yöntem yoktur (2).

Çocuk mamaları ilk defa, annenin çeşitli nedenlerle bebeğini emziremediği durumlarda anne sütüne seçenek olarak kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Ancak, son yıllarda, Türkiye'de ve gelişmekte olan diğer ülkelerde sosyal ve kültürel faktörlerin etkisiyle hazır ticari çocuk mamalarına yönelen ailelerin oranı artmaktadır.

Geleceğin yetenekli insan gücünü oluşturacak bebek ve çocuk grubunun sağlıklı büyümesi için, ticari çocuk mamalarının besleyici değeri, hijyenik

durumu ve diğer niteliklerinin koşullara bağlanması zorunludur. Çocuk mamalarının tanımı, besleyici değeri, hijyenik durumu, hazırlama, teknoloji, ambalaj, reklam ve satış durumları ile kontrol sistemini esaslara bağlayan bir tüzük, dünyada ilk defa Türkiye'de olmak üzere 1968 yılında yürürlüğe konmuştur (3). Ülkemizdekine benzer bir mevzuat, 1971 yılından bu yana Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yürürlükte dir. FAO/WHO Dünya Gıda Kodeksi Komisyonu da benzeri kapsamda bir standard hazırlamaktadır (4).

Gıda mevzuatı ve standartların en önemli amacı, tüketicinin sağlığını korumaktır. Üretimden tüketime kadar geçen sürede gıdaların kalite ve sağlık açılarından güvenilirliği, ilgili mevzuat ve standartlarda öngörülen çeşitli kalite kriterlerine uygun olup olmadıkları incelenerek saptanır. Hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik kaliteleri konusunda, ülkemizde 1976 yılında yapılan bir değişiklikle çocuk mamaları tüzüğüne bazı mikrobiyolojik limitler getirilmişse de uygulanacak mikrobiyolojik analiz yöntemleri belirlenmemiştir (5). UNICEF, kuru haldeki çocuk mamalarının rutin mikrobiyolojik analizlerinde uygulanmak üzere sistemli-standard yöntemler önermiştir (6).

Öte yanda, Türkiye'de çocuk mamalarının mikrobiyolojik kaliteleri üzerinde yapılan araştırmalar ve toplanan veriler yok denecek kadar azdır. UNICEF'in önerdiği yöntemlerle ve çocuk mamaları üzerinde mikrobiyolojik analizler yapmaya yetkili Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakteriyoloji Şubesinde uygulanan yöntemlerle Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik kalitelerinin saptanması doğrultusundaki çabalar, konuya ışık tutup katkıda bulunabilir.

BEBEKLERİN BESLENMESİ

Bebeklerin Besin Gereksinmesi ve Diyetlerinin Bazı Özellikleri :

Bebeklerin beslenmesinde amaç sağlıklı, normal büyüme ve gelişmeyi sağlamaktır. Bebeklerin gereksinimleri yetişkinlerden üç yönden farklıdır (2,7) :

1. Enerji harcaması, vücut ölçüsü birimi başına yetişkinlerden oldukça yüksektir.

2. Yeni dokuların yapımı, protein-mineral ve vitaminlere olan gereksinimleri artırmaktadır.

3. Bebeğin kendi kendine yiyebilme yeteneğinin kısıtlı oluşu ve sindirim sisteminin özel durumu, kompozisyon ve hazırlama yönlerinden diyetle bazı özellikler getirmektedir.

a. Bebeğe verilen gıdalar sindirim sistemine uygun olmalıdır.

1. Dişleri olmadığından bebeğe emilebilir kıvamda gıdalar verilmelidir.

2. Yeni doğanlarda amilazın azlığı nedeniyle, ilk ayda bebeğin diyetinde nişasta kullanılmamalıdır.

b. Verilen yiyecek ve içeceklerin miktarı, bebeğin alabilme niteliğine uygun olmalıdır. Bebek, kilogram başına günde 150-175 mililitre (ml) sıvı ister. Bebeğe, günlük enerji ve diğer gereksinimleri bu miktar hacim içinde sağlanmalıdır.

c. Bebeğin diyeti temizlik ve sağlık kurullarına uygun olarak hazırlanmalıdır.

Anne Sütü Emzirmenin Önemi :

Fareden file kadar bütün memeliler, yavrularını emzirirler. Bu yetenek, nesillerin devamı açısından, en az üreme yeteneği kadar önemlidir (8).

Yeni doğanlar için en uygun gıda süttür. Süt, memeliler tarafından yavrularının beslenmesi için salgılanır (2). İnsan ve inek sütleri bileşimlerinin karşılaştırıldığı Tablo 1 deki verilerden tahmin edileceği gibi, insan ve hayvan sütleri miktar ve bileşim yönünden farklıdır. Yeni doğan yavruya en yararlı olanı kendi annesinin sütüdür, çünkü bileşim yönünden yavrunun büyüme hızı ve sindirim sistemi özelliklerine uygun niteliktedir.

Tablo 1 : 100 ml İnsan ve İnek Sütünün Ortalama Bileşimi (2,7).

		İnsan Sütü	İnek Sütü
Enerji	Kilokalori	67	66
Su	gram	87.6	87.3
Toplam katı M.	"	12.4	12.7
Protein	"	1.2	3.3
Yağ	"	3.8	3.7
Laktoz	"	7.0	4.8
Kül	"	0.2	0.7
Kalsiyum	miligram	33	125
Mağnezyum	"	4	12
Fosfor	"	15	96
Kükürt	"	14	3
Demir	"	0.15	0.10
Bakır	"	0.04	0.03
Vitamin-A (retinol)	mikrogram	53	34
Karoten	"	27	38
Vitamin-D	"	0.01	0.06
Vitamin-E	miligram	0.56	0.06
Vitamin-C	"	4.30	1.80
Niyasin	"	1.72	0.85
Riboflavin	"	0.43	1.57
Thiamin	"	0.16	0.42
Vitamin-B ₁₂	mikrogram	0.18	0.56

Anne sütü emzirmenin yararlarından bazıları Tablo 1 de gösterilen de-
gerler tartışılarak açıklanabilir :

a. İnek sütünde total protein miktarca insan stndekinden fazladır ancak, proteinin çoğu kazeindir. Kazeinin bu fazlalığı, bebeğin midesinde sert bir pıhtının oluşmasına neden olur. Buna karşılık insan sütünde kazein oranı azdır, midede oluşan pıhtı yumuşaktır ve sindirimi daha kolaydır. Ayrıca proteinlerindeki amino asit çeşidi, dizesi ve miktarı önemli ölçüde ayrıcalık göstermektedir.

b. İnsan sütünün sağladığı enerjinin yarısından fazlası yağdan gelmektedir. İnsan sütündeki yağın emiliminin inek sütündeki yağın emiliminden daha kolay olduğu araştırmalarla gösterilmiştir (8).

c. Laktoz oranı insan sütünde inek stndekinden çok fazladır. Kolayca sindirilebilen bir enerji kaynağı sağlamasının yanı sıra, ince barsaklarda laktozdan oluşan laktik asit, istenmeyen bakterilerin üremesini önler, minerallerin emilimini kolaylaştırır.

d. İnsan sütündeki kalsiyum ve demir inek stndekinden daha kolay emilmektedir.

İnsan ve diğer memelilerin sütleri arasında, anne sütünün yararlarını ortaya koyan başka ayrıcalıklar da vardır (2,7,8) :

1. Bebeğin sağlığı yönünden :

a. İnsan sütünde, diğer memeli sütlerinden daha değişik türde ve fazla miktarda nükleotidlerin bulunduğu saptanmıştır. Bunların, protein sentezinde görev aldıkları ve bu nedenle büyümeyi hızlandırdıkları sanılmaktadır.

b. Bebeklerin ince barsak duvarlarından yabancı proteinler daha

kolaylıkla geçtiklerinden, diğer memeli sütlerinin bebeklerde allerjik etkilerinin daha fazla olduğu ileri sürülmektedir.

c. Araştırmalar, insan sütünün enfeksiyonlara karşı direnç artırıcı özellikleri bulunduğuna işaret etmektedirler. Anne sütünün bu özellikleri, bebeklerin enfeksiyonlardan korunmasında büyük önem taşır.

1. Anne sütü, bebeğin ince barsaklarında *Lactobacillus bifidus* gibi koruyucu bakterilerin üreyip çoğalmalarını kamçılar.

Bu bakteriler, laktozu laktik aside çevirerek enfeksiyon ve paraziter ajanların gelişmelerini engelleyen bir ortam yaratırlar.

2. Özel bir protein olan "lactoferrin" bazı zararlı bakterilerin üremelerini, onları demirden yoksun bırakarak, önlemektedir.

2. Annenin sağlığı yönünden :

a. Bebek ile anne arasında emzirme ile sağlanan yakın ilişkiler, bebeğin davranışlarını olumlu yönde etkiler.

b. Emzirme, memede süt birikimi nedeniyle oluşabilecek komplikasyonları önler.

c. Meme kanserine emziren kadınlarda emzirmeyenlere göre daha az oranda rastlanıldığını belgeleyen araştırmalar vardır (9).

3. Ekonomik yönden :

a. İnsan sütünün, hazırlama ve saklama gibi sorunları yoktur.

b. Anne sütü ile emzirme, bebeği beslemek için araç-gereç ve bunların temizliğini gerektirmez.

c. Anne çok ekonomik bir üreticidir. Süt üretimi yönünden annede verimlilik oranı % 80 dolaylarındadır. Yani 100 kalori sağlan-

dışında, anne 80 kalorilik süt üretebilmektedir. Böylece anne sütü ucuza üretilebilmektedir.

TÜRKİYE'DE BEBEKLERİN BÜYÜME VE GELİŞME DURUMU

Büyüme ve gelişme, kısaca, organların ölçü ve çalışma düzenlerinde ergenliğe doğru olan gelişmelerdir (10). Başka bir tanımla : büyüme fiziksel ölçüler bakımından olgunluk, gelişme ise organların çalışma düzenindeki değişmelerdir (11).

Yeterli ve dengeli beslenen çocuklarda, çeşitli faktörlerin etkilerine rağmen büyüme ve gelişme hızları birbirine yakındır (12). Vücudun, yetersizlik belirtilerine karşı ilk tepkisi büyümede geriliktir (13,14). Bu nedenle :

1. Yaşa göre ağırlık ve boy ölçülerek bu yaşlara ilişkin standartlarla kıyaslanarak büyüme-gelişme düzeyinin saptanması, bebeklerde beslenme durumunun ortaya konmasında güvenilir ve kolay uygulanan yöntemlerden birisidir.
2. Bilhassa ana-çocuk sağlığı yönünden bir ülkenin durumunu en iyi ortaya koyan ölçütlerden birisi bebeklerde ölüm oranıdır. Özellikle 6 ay 1 yaş arasında ölümlerin fazla olması beslenme yetersizliği ile ilgili kabul edilmektedir.

Çeşitli araştırmacıların (15,16,17,18,19,20,21) Ülkemiz'in değişik yörelerinde saptadıkları büyüme-gelişme geriliği ve protein-kalori yetersizliği bulgularına göre, bebeklerde büyüme-gelişme geriliği oranı bölgelere ve yerleşme yerlerinin özelliklerine göre değişmektedir.

Neyzi ve Gürson (22), İstanbul yöresinde iyi çevrede büyüyen çocuk-

ların ilk 18 ay boyunca büyüme ve gelişmelerinin Boston-Harvard standardına uyduğunu saptamışlardır. 0-12 ay yaş grubunda Rami gecekondu semtinde düşük ağırlıklı bebeklerin oranı % 29.5, bebek ölüm hızı ise % 16.8 dir.

Uzel (19) Kayseri Tomarza ilçe merkezi ile 6 köyünde 0-6 yaş grubu çocukların % 41 ini bebeklerin oluşturduğunu ve bu yaş grubunda % 25 oranında protein-enerji yetersizliğine bağlı büyüme-gelişme geriliği bulunduğunu bildirmiştir. Oral (17), Etimesgut Bölgesi'nde 0-6 yaş grubu çocuklar arasında bebek popülasyonunun % 60, malnutrisyon oranının da % 15.32 olduğunu saptamıştır. Bilir ve Ersözlü (23) bu bölgede bebek ölüm oranının 0-6 ay yaş grubunda % 55.5, 7-12 ay yaş grubunda % 35.0 olduğunu bildirmişlerdir. Uzel ve arkadaşları (16) nın Edirne yöresinde 0-6 yaş grubu çocukların büyüme-gelişme durumuna ilişkin bulgularına göre, bu yaş grubunda malnutrisyona bağlı büyüme-gelişme geriliği gösterenlerin oranı % 27 olup, yaş grubunun % 14 ünü bebekler oluşturmaktadır. Bebeklerde malnutrisyon oranı % 4 dür.

Ülkemizde, bebeklerin büyüme ve gelişme durumuna ilişkin en yeni bilgiler 1974 yılında derlenmiştir (15). 0-60 ay yaş grubunda ağırlık bakımından standardın % 80 ve daha altında bulunan çocukların oranı ulusal düzeyde % 20 olup, bölgelere göre % 14.1 (Karadeniz Bölgesi) ile % 28.8 (Doğu Anadolu Bölgesi) arasında değişmektedir.

Ulusal düzeyde ağırlık bakımından gelişme geriliği gösteren bebek oranı 0-6 ay yaş grubunda 16.2 dir (Tablo 2). Büyüme-gelişme geriliği 6. aydan sonra artma eğilimi göstermektedir.

Tablo 2 : Türkiye'de 0-60 Ay Yaş Grubunda Sınıflara ve Yaş Gruplarına Göre Ağırlık Yönünden Büyüme Geriliği Gösterenlerin Yüzde Olarak Dağılımı (15).

Sınıflar	Tartılan Çocuk Sayısı	Yaş Grupları (ay)				0-60
		0-6	7-12	13-24	25-36	
Büyük Şehir	723	7.9	10.3	9.8	11.0	10.5
Şehir	1943	18.7	29.1	20.1	24.1	22.3
Köy-Kent	463	12.3	19.4	17.0	15.5	18.6
Köy	1263	20.1	29.2	23.2	22.0	22.6
ULUSAL	4392	16.2	24.4	19.8	20.5	20.0

----- ağırlık bakımından geri kalanların oranı (%) -----

TÜRKİYE'DE BEBEK BESLEME UYGULAMALARI

Bebekler, gereksinimlerini karşılama olanakları açısından bazı faktörlere zorunlu olarak bağımlıdırlar (24) :

1. Hayatlarının ilk günlerinde süte (tek tip yiyeceğe) dayanmak zorundadırlar.
2. Altıncı aydan başlayarak diğer yiyeceklerden yararlanabilmelerine rağmen, alınan yiyeceğin çeşidi yine sınırlıdır.
3. Bebek, gereksinimlerini karşılamak için başkalarına dayanmak zorundadır.

Bu nedenle, bebeklerin beslenmesi, tamamiyle onun bakımı ile sorumlu kişilerin üzerindedir (anne, büyükanne, kızkardeş vb.). Bu kişilerin bilgi-görgü-alışkanlık-anlayış- ilgileri, ailenin satınalma gücü, yaşanılan çevrenin özellikleri ve olanakları bebeğin beslenme durumunu etkileyen önemli faktörler arasındadır (18,24).

Anne Sütü Emzirme Süresi :

Baysal ve Köksal (24), ülkemizin çeşitli bölgelerinin değişik illerinde, ailelerle mülakat yoluyla topladıkları bilgileri değerlendirerek, Türkiye'de annelerin büyük çoğunluğunun bebeklerini emzirdiklerini saptamışlardır. Köksal (4), bölgelere göre ortalama anne sütü emzirme süresi konusunda, kesinlikle aynı rakamlara ulaşmakla bu yargıyı doğrulamıştır. Ülkemizde anne sütü emzirme süresine ilişkin en son derlenen bilgiler Tablo 3 de özetlenmiştir.

Tablo 3 : Türkiye'de Bölge ve Sınıflara Göre Annelerin Çocuklarını Emzirme Süreleri (15).

Bölge-Sınıf	Emzirme Süresi (ay)						TOPLAM	TOPLAM	TOPLAM	TOPLAM	TOPLAM										
	Yetersiz			Normal								Gereksiz									
	HİÇ Emzirmeyen	3 ay <	TOPLAM	4-6 ay	7-12 ay	TOPLAM						13-18 ay	19 ay +	TOPLAM							
	Cevap veren anne sayısı																				
----- Annelerin oranı (%) -----																					
Bölgeler :																					
Ege-Marmara-Trakya	1595	11.0	9.4	20.4	34.0	28.6	62.6	12.7	4.2	16.9											
Karadeniz	718	11.1	7.7	18.8	33.6	23.1	56.7	20.1	4.5	24.6											
İç Anadolu	1356	11.7	6.3	18.0	29.3	26.4	55.7	18.8	7.5	26.3											
Akdeniz	871	6.4	7.0	13.4	27.9	31.0	58.9	22.0	5.6	27.6											
Doğu Anadolu	830	6.0	3.5	9.5	22.3	25.4	47.7	31.7	11.1	42.8											
Sınıflar :																					
Büyük şehir	1155	15.6	11.2	26.8	38.6	20.6	59.2	10.2	3.4	14.0											
Şehir	2346	9.7	6.8	16.5	30.3	28.8	59.1	18.7	5.6	24.3											
Köy-kent	586	8.7	6.1	14.8	27.5	31.2	58.7	21.3	5.1	26.4											
Köy	1283	4.8	4.4	9.2	22.8	28.4	51.2	29.2	10.4	39.6											
ULUSAL	5370	9.7	7.1	16.8	30.0	27.2	57.2	19.7	6.4	26.1											

Yurdumuzda, bebeklerin % 57.2 si 4-12 ay arasında (normal süre), % 16.8 i ise yetersiz süre emzirilmektedir. Yetersiz süre emzirilen bebekler en fazla Ege-Marmara-Trakya Bölgesindedir (% 20.4), ancak Karadeniz ve İç Anadolu Bölgelerinde de durum pek farklı değildir (% 18.8 ve % 18).

Büyük şehirlerdeki annelerin % 26.8 i bebeklerini yetersiz süre emzirirken, bu oran köylerde % 9.2 dir. Hiç anne sütü emmeyen bebek oranı büyük şehirlerde % 15.6 ile en yüksek düzeydedir.

Batıdan doğuya ve büyük şehirlerden kırsal bölgelere doğru gidildikçe gereksiz ve zararlı süre emzirilen bebeklerin oranı artmaktadır (15,16, 18,24).

Annelerin öğrenim durumu ile bebeklerini emzirme süreleri arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi (Tablo 4), annenin eğitim düzeyinin yükselmesi ile emzirme süresinin çeşitli yönlerden etkilendiğini göstermektedir (15):

1. Orta ve yüksek öğrenim görmüş annelerin hemen hepsi gereksiz süre emzirme uygulamasını terketmiş durumdadırlar. Bu nedenle, annenin öğrenim düzeyi yükseldikçe gereksiz süre emzirilen çocuk oranı azalmaktadır.
2. Yetersiz süre emzirilen bebeklerin oranı artmaktadır. Yüksek öğrenim gören annelerin % 55.3 ü, orta öğrenimli annelerin % 44 ü bebeklerini yetersiz süre emzirmektedirler.
3. İlkokul düzeyinde öğrenim görmüş anneler arasında dahi bebeklerini hiç emzirmeyenlerin oranı yüksek düzeydedir.

Tablo 4 : Türkiye'de Annelerin Eğitim Düzeyi ile Yetersiz-Gereksiz Emzirme Süreleri Arasındaki İlişkiler (15).

Annelerin Eğitim- Öğrenim Düzeyi	Cevap veren anne sayısı	Emzirme Süresi (ay)					
		Yetersiz			Gereksiz		
		Hiç Emzirmeyen	3 ay ve daha az	TOPLAM	13-18 ay	19 ay +	TOPLAM
		----- annelerin oranı (%) -----					
Cahil	2831	5.8	4.9	10.7	28.0	8.7	36.7
Okur-yazar	685	9.2	5.7	14.9	18.9	6.5	25.4
İlk Okul	1456	12.9	8.9	21.8	8.8	3.2	12.0
Orta Öğretim	341	25.8	18.2	44.0	2.0	0.6	2.6
Yüksek Öğretim	47	36.2	19.1	55.3	0.0	0.0	0.0

Ek Gıdaların Yedirilmesine Başlama Zamanı :

Günümüzde pediatristlerin çoğu, bebeğe ilk aylarda ek gıdaların yedirilmeye başlanması, yaklaşık 4. aylıkken yarı-katı gıdaların verilmeye başlanarak 9. ayda tamamen memeden kesilmesi eğilimindedirler (25). Çünkü :

1. Bebeğin tad zevki erken yaşlarda daha kolaylıkla genişletilebilmekte, böylece bebeği yeni aromalara alıştırmak ve memeden kesmek kolaylaşmaktadır.
2. Anne sütünde bilhassa 6. aydan sonra bebeğin gereksinmelerine yeterli olmayan protein, mineral ve vitaminler ek gıdalarla sağlanabilmektedir.
3. Ek kalori sağlanarak miktarca da yeterli olmayan anne sütüyle sağlanan kalori desteklenmektedir.

Gerçekten, ülkemizde Köksal (4,26) annelerin süt veriminin zamanla önemli miktarda azalma gösterdiğini, Baysal ve Köksal (24) bilhassa kısa süre içerisinde çok doğum yapan annelerde sütün daha ilk günlerden itibaren bebeğin ihtiyacını karşılayamadığını saptamışlardır. Bebek genellikle 3-6 ay arasında yalnızca anne sütü ile beslenemez duruma geldiğinden ek yiyeceklere başlamak zorunlu olmaktadır (4,27). Ek gıdaların verilmesine bebek 6 aylık olduktan sonra başlanıldığında, bebeğin beslenme durumu gecikme süresine bağımlı olarak olumsuz yönde etkilenmektedir (1,28).

Oral (17,18), Etimesgut Bölgesi'nde annelerin yarısından fazlasının çocuklarına ilk ek yiyeceği 12. aydan sonra verdiklerini, verilen yiyeceklerin protein bakımından düşük kaliteli olduğunu saptamıştır. Uzel ve arkadaşları (16) nın Edirne ilinde annelerin % 50 sinin çocuklarını 12. aydan sonra da emzirmeye devam ettiklerini bildirmeleri ve 12-24 ay yaş

grubunda malnütrisyon oranının % 33 olması Oral'ın bulgularıyla uyuşmaktadır. Bunları, Arslan (29) ın Hacettepe Hastanesine yatan malnütrisyonlu çocuklar üzerindeki çalışmaları sonunda bu çocukların hiçbirisine biyolojik değeri yüksek proteinli gıdaların (et, yumurta gibi) verilmediği, 4. aydan sonra verilen inek sütünün çocukların % 82.35 ine sulandırılarak verildiği yolundaki bulguları desteklemektedir.

Ulusal düzeyde toplanan son bilgiler (15), ülkemizde çocukların % 24.7 sine ek gıdaların yedirilmesine başlanmakta geç kalındığını (7-12 ay); çocukların % 19.3 üne ise ek gıdaların yedirilmesine çok geç başladığını (12. aydan sonra) göstermektedir (Tablo 5). Ek gıdalara çok geç başlayan çocuk oranı batıdan doğuya ve büyük şehirden köye doğru gidildikçe artmaktadır.

Çocuklarına ek gıda vermeye geç başlayan annelerin oranı, annenin eğitim düzeyi yükseldikçe önemli derecede azalmaktadır (15). Anne sütü, 4-6 aydan sonra bebeğin gereksinimlerini yeterli derecede karşılayamadığından, Köksal (15) a göre ek gıdaya geç başlayan çocuklar açtır ve genellikle orta ya da ağır derecede protein-kalori malnutrisyonu durumundadırlar.

Yedirilen Ek Gıda Türleri ve Öncelik Sırası :

Bebeklerin beslenmesinde, ek gıdalara başlama zamanının yanısıra yedirilen ek gıdaların türleri ve günlük tüketim miktarlarının da önemi büyüktür. Baysal ve Köksal (24), ülkemizde bebeklere verilen ek gıdaların başında şeker-nişasta karışımının yer aldığını, Oral (18) da Etimesgut Bölgesinde bebeklere yedirilen ilk ek gıdanın muhallebi, ikincisinin yoğurt olduğunu bildirmişlerdir. Uzel ve arkadaşları (16), Edirne yöresinde ek yiyecekler arasında bebeklere en sık verilenleri sırasıyla : şeker-nişasta-lokum (% 66), makarna-bisküvit-tahıl (% 50), süt (% 48), sebze-meyve (% 41), yoğurt (% 37) ve yumurta (% 20) olarak saptamışlardır.

Tablo 5 : Bölge ve Sınıflara Göre Türkiye'de Çocukların Ek Gıdaya Başlama Zamanı (15).

Bölge ve Sınıf	Cevap veren anne sayısı	Ek Gıdaya Başlama Zamanı (ay)						TOPLAM	Çok geç
		Normal		Geç		TOPLAM	19 ay +		
		3 ay ve daha önce	4-6 ay	7-12 ay	13-18 ay				
----- annelerin oranı (%) -----									
Bölgeler :									
Ege-Marmara-Trakya	978	50.9	12.8	63.7	22.2	11.7	2.4	14.1	
Karadeniz	435	56.8	14.3	71.1	20.9	7.8	0.2	8.0	
İç Anadolu	877	38.3	11.4	49.7	25.8	21.5	3.0	24.5	
Akdeniz	649	42.9	18.3	61.2	22.0	15.7	1.1	16.8	
Doğu Anadolu	659	26.3	11.5	37.8	32.2	26.7	3.3	30.0	
Sınıflar :									
Büyük Şehir	610	57.7	11.1	68.8	20.8	7.9	2.5	10.4	
Şehir	1601	42.0	14.0	56.0	25.2	17.2	1.6	18.8	
Köy-Kent	407	40.2	12.8	53.0	22.6	22.4	2.0	24.4	
Köy	980	35.1	14.1	49.2	27.1	20.6	3.1	23.7	
ULUSAL	3598	42.6	13.4	56.0	24.7	17.1	2.2	19.3	

Tablo 6 da özetlenen Türkiye 1974 Beslenme-Sağlık ve Gıda Tüketim Araştırması (15) bulgularına göre, ülkemizde çocuklara en çok yedirilen 6 grup ek gıda arasında ilk önce verilme yönünden süt-yoğurt % 52.7 ile en yüksek orandadır. Bunu, % 23.8 ile tahıla dayalı gıdalar izlemektedir. İkinci sırada yedirilen gıdaların dağılımı incelendiğinde, tahıl ve meyve-sebze grubu gıdaların yedirilme oranlarının yükseldiği görülmektedir. Meyve-sebze grubu gıdaların üçüncü sırada yedirilme oranının % 52.8 e yükselmesine karşılık süt-yoğurt yedirilme oranı % 7.7 ye düşmektedir.

Şeker-nişasta grubu dışındaki ek gıdaların çocuk başına düşen günlük tüketim düzeyleri oldukça düşüktür (24) :

Süt-yoğurt	: 40-167 gram/gün/çocuk
Et-yumurta	: Çok az - 7 gram/gün/çocuk
Tahıl ürünleri	: 9-17 gram/gün/çocuk
Şeker-nişasta	: 12-30 gram/gün/çocuk

Tablo 6 : Türkiye'de Tüm Bölge ve Sınıflarda Çocuklara Yedirilen Ek Gıda Türleri ve Öncelik Sıraları (15).

Ek Gıda Türü	Öncelik Sırası		
	İlk önce yedirilen	İkinci sırada yedirilen	Üçüncü sırada yedirilen
----- Verilme oranı (%) -----			
Süt-yoğurt	52.7	12.0	7.7
Tahıl unu-Ekmek-Bisküvit	23.8	46.9	21.8
Et-yumurta	1.2	4.2	5.7
Taze meyve - sebze	14.9	30.1	52.8
Tarhana	0.4	0.6	1.6
Şeker-lokum-nişasta	7.1	6.2	10.4

YAPAY BESLEME NEDENLERİ VE TİCARİ ÇOCUK MAMALARI :

Yapay Besleme Nedenleri :

Emzirme olanağının sürekli ya da geçici olarak ortadan kalktığı koşullarda, anne sütüne seçenek kaynaklardan yararlanılarak yapay besleme uygulanmaktadır (10). Ailelerin yapay beslemeye yönelmelerinin nedenlerinden bazıları şunlardır (7,8,10,30,40) :

1. Emzirme zorlukları :

a. Anneye bağlı nedenler :

- Meme başı anomalileri.
- Meme başlarında çatlak, yarık vb.
- Göğüslerin ve meme başlarının çok büyük olması.
- Göğüslerin çok küçük olması.
- Kronik hastalıklar (tüberküloz, sifiliz vb.).
- Metabolizma hastalıkları (diyabet vb).
- Ağır kan hastalıkları (nefrit, lösemi vb.).
- Süt ateşi.

b. Bebeğe bağlı nedenler :

- Prematüre doğum.
- Doğum ağırlığının düşük olması.
- Doğum anomalileri (yarık dudak,damak vb).
- Hastalık durumları.

2. Anne sütünün yetersizliği veya olmaması :

- Maternal malnutrisyon.
- İleri derecede hastalık durumları.
- Psikolojik faktörler.

3. Sosyal ve ekonomik faktörler :

- Annenin çalışması.
- Estetik düşünceler.
- Anne sütünün bebeğe yaramadığı gerekçesi.
- Yapay beslemenin modern yöntem olduğuna inanılması.
- Zararlı reklam.

Ticari Çocuk Mamaları :

Mutlak bir zorunluluk yoksa (annenin doğumda ölmesi, doğum anomalileri vb) genellikle yapay beslemeye başvurulmaması önerilmektedir. Ancak, anne sütünden çeşitli nedenlerle yararlanamayan bebeklerin büyüme ve gelişmelerini sağlayabilmek için anne sütüne seçenek diğer yararlanma olanaklarının aranacağı şüphesizdir. Anne sütü yerine ilk kullanılmaya başlanan kaynaklar çeşitli hayvan sütleri (başta inek sütü olmak üzere) olmuştur. Bilimsel sütçülük, kutu-konserveciliği ve ambalajlamada kaydedilen aşamalar sonunda da anne sütünün yerini tutan ya da anne sütünü tamamlayıcı nitelikte ticari çocuk mamaları geliştirilmiştir.

Ticari çocuk mamalarının başarıyla kullanılabilmesi için önemli üç sorunun gözönünde tutulması zorunludur (7) :

1. Bebeğin gereksinimlerini karşılamak
2. Mekanik sindirim zorluklarına neden olmamak
3. Patojen mikroorganizmalardan sakınmak.

Çocuk Mamaları Tüzüğü ve Hazır Ticari Mamaların Besleyici Değeri :

Ülkemizde çocuk mamaları tüzüğü (3) çocuk mamalarını "Bebek ve süt çocuğunun beslenmesi amacıyla hazırlanıp satışa çıkarılan gıda karışımları"

şeklinde tanımlamaktadır. Çocuk mamaları tüzüğünün 1968 yılında yürürlüğe konmasından önce, Türkiye'de sağlık ve beslenme yönlerinden yeterli kalitede olmayan ticari çocuk mamaları, sürümü artırmaya yönelik faaliyetler sonucu kendilerini halka kabul ettirmişler, aleyhte çabalara rağmen tüketimleri artmıştır (4,24).

Tüzük, dünyada ilk defa Ülkemizde olmak üzere, çocuk mamalarının tarif ve tanımını yapmış, besleyici değerini, hijyenik durumunu, hazırlama-teknoloji, ambalaj, reklam ve satış durumları ile kontrol sistemini esasla-ra başlamıştır. Diğer ülkelerde de çocuk mamaları mevzuatı konusunda çalışmalara rastlanmaktadır. Birleşmiş Milletlere bağlı FAO/WHO Gıda Kodeksi Komisyonu, çocuk mamalarının bileşimini belirlemiş, ABD Gıda ve İlaç Organizasyonu (FDA) 1971 yılında çocuk mamaları standartlarını onaylamıştır (4,31).

Türkiye'de çocuk mamaları tüzüğünün yürürlüğe girmesinden sonra, imalatçı firmalarca çocuk mamalarının formülleri ve besin değerleri tüzük hükümlerine göre ayarlanmıştır (4). Türkiye, ABD ve Dünya Gıda Kodeksinde öngörülen çocuk mamalarının besin değerlerine ilişkin rakamlar birbirine çok yakındır (Tablo 7).

Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığınca (S.S.Y.B.) çocuk mamaları tüzüğü hükümlerine uygunluğu gerekçesiyle Türkiye'de üretim ve satışına izin verilen mamalar ve bunların besleyici değerleri Köksal (4), Baysal ve Köksal (24) tarafından araştırılmıştır. Bu mamaların bileşimleri ile 100 gramlık miktarlarının besin değerleri Tablo 8 de, sulandırılmış durumda 100 kalorilik miktarlarının besin değerleri de Tablo 9 da görülmektedir.

Tablo 7 : Türkiye, ABD ve Dünya Gıda Kodeksinde Çocuk Mamalarının Besin Değerine İlişkin Hükümler (4).

Besin ögesi	Birim	Türkiye-1968		ABD-1971		Dünya Gıda Kodeksi-1970	
		Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.
Protein	Gram	2.0 (örnek protein) değerinde		1.8 (Kazein) değerinde		1.8 (Yumurta proteini) değerinde	
Vitamin-A	IU	200	400	250		250	750
Vitamin-D	IU	50	100	40		40	100
Vitamin-C	miligram	4		7.8		8	
Thiamin	mikrogram	60		25		25	
Riboflavin	mikrogram	90		60		60	
Niasin	mikrogram	990		800		250	
Kalsiyum	miligram	70		50		50	
Demir	miligram	1.0		1.0		1.0	

-----100 kalorilik miktarda besin değerleri -----

Tablo 8 : S.S.Y. Bakanlığından Ruhsatlı Ticari Çocuk Mamalarının Bileşimi (4).

Mama Adı	Bileşimi	100 gramlık miktarda besin değeri			
		Kalori	Protein (g)	Yağ (g)	Karbonhidrat (g)
SMA-S-26	Süt tozu, whey proteini, yağ, laktoz	525	12	28	56
Lamed	Yağsız süt tozu, yağ, şeker	500	15	17	59
Citrolac	Yağsız süt tozu, yağ, şeker	435	24	8	57
Homolac	Yağsız süt tozu, yağ, şeker	435	24	8	57
Babörlac	Yağsız süt tozu, yağ, şeker	370	30	1	53
Calcilac	Yağsız süt tozu, yağ, nişasta, şeker	400	17	1	69
Bebefe	Yağsız süt tozu, yağ, nişasta, şeker	402	20	11	60
Ari Mama	Yağsız süt tozu, piring unu, nişasta, şeker	363	10.7	0.5	78
Paro Mama	Yağsız süt tozu, piring unu, nişasta, şeker	365	11.8	0.5	77
Sekmama	Yağsız süt tozu, buğday unu, soya, piring unu, şeker	380	23	2	58

Tablo 9 : Türkiye'de İmal Edilen Hazır Ticari Çocuk Mamalarının Sulandırıldıklarında 100 ml. lik Miktarlarında Besleyici Değerleri (4).

Talismata göre sulandırıldığında 100 ml. miktar içinde	M a m a l a r						
	SMA -S-26	Bebefe	Citrolac	Babörlac	Lamed	Ari Mama	Paro Mama
Kalori	67	68	74	63	77	73	72
Protein (g)	1.5	3.1	4.1	5.2	2.8	2.1	2.3
Yağ (g)	3.6	1.9	1.3	0.2	2.9	0.1	0.1
Karbonhidrat (g)	7.2	10.5	9.5	0.0	10.0	16.0	15.0
Kalsiyum (mg)	42	121	55	64	50	50	50
Demir (mg)	0.8	0.8	0.9	1.2	0.7	0.7	0.7
Vitamin-A (IU)	265	310	315	380	300	320	300
Vitamin-D (IU)	42	77	80	97	75	75	75
Vitamin-C (mg)	5.3	3.1	3.3	4.13	3.0	3.0	3.0
Thiamin (mg)	0.071	0.047	0.050	0.059	0.045	0.045	0.045
Riboflavin (mg)	0.110	0.070	0.072	0.088	0.068	0.068	0.068
Niasin (mg)	0.530	0.700	0.710	0.870	0.680	0.680	0.680

Hazır Ticari Mamaların Kullanılma Durumu :

Baysal ve Köksal (24) 1967 de, Köksal (4) 1969-70 de yaptıkları araştırmalarla ülkemizde bazı bölgelerde çocukların yarıya yakın bir kısmının hazır ticari mamalarla beslendiklerine dikkati çekmişlerdir. Hazır ticari mamaların yedirilme durumuna ilişkin son bulgular (15) ülkemizde ailelerin büyük çoğunluğunun (% 87.44) çocuklarına ticari mama yedirmediklerini, mama yedirilen çocuk oranının ulusal düzeyde % 12.56 olduğunu göstermektedir. (Tablo 10 ve 11). Karadeniz Bölgesi (% 16.37) ile büyük şehirlerde (% 15.12) mama yedirilenlerin oranının biraz fazla olduğu anlaşılmaktadır. En fazla Arımama tüketilmektedir (% 5.20).

Tablo 10 : Bölgelere Göre Hazır Ticari Mama Yedirilme Durumu (15).

Mama Adı	ULUSAL	Bölgeler				
		Ege - Marmara- Trakya	Kara- deniz	İç Anadolu	Ak- deniz	Doğu ve Güneydoğu Anadolu
		----- Mama yedirilen çocuk oranı (%) -----				
SMA-S-26	3.49	4.93	2.35	4.20	2.52	1.83
Lamed	0.50	1.09	0.27	0.20	0.53	0.09
Bebefe	0.34	0.38	0.00	0.29	0.53	0.43
Arımama	5.20	4.98	8.96	5.35	4.28	3.18
Paromama	2.35	1.54	4.64	2.80	2.25	1.26
Sekmama	0.14	0.05	0.05	0.06	0.44	0.18
Yabancı menşeli (Eledon vb)	0.20	0.46	0.05	0.17	0.09	0.04
Adı bilinmeyen	0.34	0.33	0.05	0.60	0.18	0.35
TOPLAM	12.56	13.76	16.37	13.67	10.82	7.36
Mama yedirilmeyen	87.44	86.24	83.63	86.33	89.18	92.64

Tablo 11 : Sınıflara Göre Hazır Ticari Mama Yedirilme Durumu (15).

Mama Adı	ULUSAL	Sınıflar			
		Büyük Şehir	Şehir	Köy-Kent	Köy
SMA-S-26	3.49	6.93	3.42	3.23	0.89
Lamed	0.50	1.33	0.28	0.34	0.26
Bebefe	0.34	0.35	0.48	0.34	0.09
Arımama	5.20	3.46	6.00	7.48	4.25
Paromama	2.35	1.68	2.93	2.43	1.85
Sekmama	0.14	0.11	0.23	0.07	0.03
Yabancı menşeli (Eledon vb)	0.20	0.77	0.06	0.07	0.03
Adı bilinmeyen	0.34	0.49	0.29	0.27	0.32
TOPLAM	12.56	15.12	13.69	14.22	7.72
Mama yedirilmeyen	87.44	84.88	86.31	85.78	92.28

TİCARİ ÇOCUK MAMALARI VE MİKROBİYOLOJİK STANDARTLAR

Bebeklerin Barsak Florasına Beslenme Durumunun Etkisi :

Yeni doğan bebeğin sindirim sistemi genellikle sterildir (32,33,34, 35,36,37). Doğum sırasında birkaç mikroorganizma alınmış olabilir (37). Doğumdan yaklaşık 6 saat sonra (2.-3. mekonyumun çıktığı süreçte), bebek gıda almaya başlamadan önce ağızdan mikroorganizmaların alınması sonucu da mekonyumda bakteriler görülmeye başlar (32,33). Soysal (33) a göre, doğumdan az bir zaman sonra ağız, mide ve incebarsakların normal floraları aşağıdaki şekildedir :

Ağız : *Oidium albicans*

Mide ve incebarsaklar : Sarcine ve levür hariç midede bakteri azdır; ancak Staphylococ ve Enterecoc'lar muntazaman bulunur. Durum, duodenumda da aynıdır. Dispepsi geçirmeyen sağlam süt çocuğunun midesinde Coliform'lar bulunmaz denilirse de, kültürel olarak bebeklerin % 25 inde Coliform saptanmıştır.

Maffei ve Nobrega (38), kronik protein-enerji yetersizliği ya da diyare görülen bebeklerin mide içeriğinde bakteri üremesinin fazla olduğunu, floranın gram negatif Enterecoclardan ve Pseudomonaslardan oluştuğunu saptamışlardır.

Anne sütü emen bebeklerde ince barsakların üst kısımları yapay beslenen bebeklere göre daha uzun süreli steril kalmaktadır (32). Buna neden olarak, anne sütü emen bebeklerin midesinde asiditenin yüksek olması gösterilmektedir.

Mekonyum : Karbonhidrat azlığı, su noksanlığı ve fazla safralı olması nedeniyle, mekonyum bakteriler için iyi bir ortam değildir. Ancak flora cins bakımından zengindir ve feçes florasının belli başlı bakterilerine rastlanır.

Feçes : Üç grup bakteri bulunur.

1. Lactobacillus bifidus ve Enterecoclar
2. Coli - Aeregenes Grubu
3. Sporlu Anaeroblar

Anne sütü emen bebeklerin feçesleri yumuşak, sarı-kahverengi ve hafif asidik kokuludur. Lactobacillus bifidus (çoğunlukla D-IV tipi) dominant mikroorganizma olup (% 99 dan fazla), diğerleri (yaklaşık % 1) Enterecoclar, Coliformlar ve Staphylococlardır (32,36,37,39). Yapay beslenenlerde feçes sert, koyu-kahverengi, pis kokuludur ve pH sı yüksektir (37,40).

Flora, *Lactobacillus acidophilus*, Coliform, *Enterococ* ve anaerobik basil-leri (*Clostridia* dahil) içerir (37). Floradaki bu farklılığın anne sütü emen bebeklerde mide-barsak bozukluklarına yapay beslenenlerden daha az rastlanmasında etkili olduğu ileri sürülmektedir (32).

Orskov ve Sorensen (41) anne sütü emen 87 ve yapay beslenen 95 bebeğin feçes analizlerinde genellikle O-tipi *Escherichia coli* (*E.coli*) ye rastlamışlardır. Anne sütü emenlerde *E.coli* 06 suşunun yaygın olmasına karşılık yapay beslenenlerde daha çok *Klebsiella* saptanmıştır. *Klebsiella* basili- nin değişik tipleri bebeklerde epidemik üst solunum yolu enfeksiyonları, menenjit, sepsis, diyare, idrar yolu enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Bayrı (42), Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında şüpheli 300 örnekten kesin *Klebsiella* tanısı koyduğu 228 örneğin % 60 ının (Tablo 12) bebeklerden alınan örnekler (feçes, idrar, göbek vb) olduğunu bildirmiştir.

Tablo 12 : Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kesin *Klebsiella* Tanısı Konan 228 Örneğin Çocukların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı (42).

Yaş Grubu	<i>Klebsiella</i>	
	Sayı	%
Bebek (0-12 ay)	137	60.09
Prematüre	30	13.16
0-1 ay	44	19.30
1-12 ay	63	27.63
Çocuk (1-10 yaş)	91	39.91
TOPLAM	228	100.00

Kenan (43) da Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi Prematüre Servisinde görülen bir ishal salgını sırasında 152 prematüre bebeğin feçes, boğaz kültürü ve göbek örnekleri ile pediatrik cerrahi servisinden 50 bebeğin feçes kültürlerini incelemiştir. Araştırma, prematüre bebeklerden alınan örneklerde % 30.9, pediatrik cerrahi servisindeki bebeklerden alınan örneklerde de % 56 oranında enteropatojenik E.coli bulunduğunu göstermiştir.

Mikrobiyolojik Standartlar :

A. Genel Prensipler :

Gıda, insan için bir ihtiyaç olmaktan daha fazla anlam taşımaktadır. Gıda, çevre koşullarından en fazla zarar gören kaynaklardan birisidir ve insanın tükettiği potansiyel olarak zararlı maddelerin (pestisit kalıntıları, mikroorganizmalar vb) % 80-90 ının kaynağıdır (44). Üretimin merkezileşmesi, toplu beslenme uygulamasının yaygınlaşması, uluslararası ticaret ve turizmin gelişmesi sonucu gıdalara bağlı olarak sağlığın tehlikeye düşme olasılığı artmaktadır. Bu nedenle, birçok ülkelerde gıdaların emin, temiz ve uygun sağlık koşulları altında üretim ve tüketiminin sağlanması konusu üzerinde önemle durulmaktadır.

Gıdaların dayanma süresi ve sağlık yönünden güvenilirliği gıdaların mikrobiyolojik durumuna bağlıdır. Sağlıklı gıda üretimine yardımcı olacak iki büyük faktör vardır (45,46) :

1. Kaynağından başlayıp tüketime kadar geçen süreçte gıda maddelerinin mikroorganizmalarla bulaşmasını önlemek.
2. Koruyucu bütün tedbirlere rağmen gıdada bulunan ya da bulaşmış zararlı ve patojen mikroorganizmaların devamlı olarak bulunmasına ve hastalık yapacak miktarda üremelerine engel olmak.

Gıdalarda mikroorganizmaların kontroluna verilen büyük önem, konuya sağlık-tarım ve endüstri otoritelerince duyulan ilgi, mikrobiyolojik kalite ve güvenilirlik kriterlerinin tanımlanarak standartların konulmasına yönelik çalışmaları hızlandırmıştır (44,47).

Hobbs (46) ve Nagel (48) gıdalarda mikrobiyolojik standartları toplum sağlığını korumak, kaliteyi homojenleştirmek ve sürekli kılmak gibi gereksinimlere cevap veren resmi gereklilik olarak görmekte-dirler. Standartların yararları üç ana noktada toplanabilir (49,50) :

1. Tüketicinin sağlığına uygun gıda temini
2. Mamülün kalitesini iyileştirmek
 - a. İşleme hatalarının saptanması
 - b. Kayıpların önlenmesi
 - c. Mamülün dayanma süresinin uzatılması
3. Uluslararası ticaretin gelişmesine yardımcı olması.

Elliot ve Michener (51) gıdalarda mikrobiyolojik standartlar saptanırken gözönünde tutulması zorunlu koşulları aşağıdaki şekilde sıralamaktadırlar :

1. Bileşimlerindeki farklılıklar, işleme yöntemleri ve saklama süreçleri gözönüne alınarak, mikrobiyolojik standartlar en kolay bozulan yiyecek-lere öncelik verilerek hazırlanmalı ve uygulanmalıdır.

2. Çeşitli hazırlama ve işleme yöntemlerinin uygulandığı gıdalar için tek bir standart konması hem olanaksız hem de geçersizdir.

3. Hazırlanan standart ile bu standardın halk sağlığını koruma amacına dönük ilişkileri tutarlı ve belirgin olmalıdır.

4. Doğru ve geçerli bir çalışma yapabilmek için, standart örneklem

ve analiz yöntemlerini detaylı olarak kapsayacak şekilde hazırlanmalıdır.

5. Örneklem ve analiz yöntemlerinin hata payları gözönüne alınarak, tolerans sınırları standartta belirtilmelidir.

6. Standartın kesin ve zorunlu uygulamasına geçilmeden önce, geçici bir süre için ve gönüllü olarak deneme uygulaması yapılmalıdır.

7. Standart dikkatsiz ve bilgisizce hazırlanırsa, mahkemelerde kabulü olanaksızdır.

Shiffman ve Kronick (52) tarafından mikrobiyolojik standartların taşınması gereken özellikler dört grupta toplanmıştır :

1. Standartın teorik ve bilimsel değeri olmalıdır. Standart gerçek ve geçerli verilere dayanarak hazırlanmalıdır.

2. Standartın teknolojik açıdan yapılabilme hususu çözümlenmiş olmalıdır.

3. Standartın idari bakımdan, gıda kontrol programlarında kullanılabilme olanağı bulunmalıdır.

4. Standart yasal yönden kabul edilebilir nitelikte olmalıdır.

B. Mikrobiyolojik Kalite Kriterleri :

Sağlığa zararlı mikroorganizma bulunup bulunmadığı yönünden her gıda maddesini incelemek pratik olmamakta, bunun yerine belirli indikatör mikroorganizmaların miktarları saptanarak mikrobiyolojik kalite ortaya konmaktadır (53). Günümüzde en önemli indikatör mikroorganizmalar iki grupta toplanmaktadır.

1. Coliformlar
2. Entereococlar

Bunların yanısıra, total bakteri ve küf sayılarının bilinmesi de yararlı kabul edilmektedir (54,55).

Coliform grubunda *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Klebsiella* vardır. Coliformlar insan ve hayvanların ince barsaklarında muntazaman bulunduğundan, 1892 den bu yana Coliformlar gıdalarda fekal kontaminasyonun işareti olarak kabul edilegelmişlerdir (51).

Bilhassa su ve süt mamülleri için Coliformlar fekal kontaminasyon indeksi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Birçok gıdalarda Coliformların varlığını göstermek mümkündür. Bu nedenle, gıdalarda Coliformların bulunuşu kadar sayıları da önemlidir.

E.coli fekal kontaminasyonu, *Klebsiella*'dan daha emin bir şekilde ortaya koyduğundan, birçok durumlarda Coliform popülasyonu içinde *E.coli*'nin insidansını saptamak yararlı olmaktadır. Bu amaçla IMVIC (İ: indol teşekkülü, M: methyl red reaksiyonu, V: Voges-Proskauer reaksiyonu, C: citrate kullanımı) formülü uygulanarak bu iki mikroorganizma birbirinden ayrılabilir.

McCoy (56), intestinal mikroorganizmaların gıdaların muayenesinde sadece temizlik indeksi olarak kullanılmaları gerektiğini, sağlığa zararsızlık halinin değerlendirilmesinin ancak patojenler yönünden inceleme yapılarak ortaya konabileceğini savunmaktadır.

Enterococlar, bir grup Streptococlar olup katalaz negatif olmakla diğer gram pozitif kokların çoğundan ayrılırlar. Hangi Streptococların Enterococ terimi içinde bulunması gerektiği konusu günümüzde dahi tartışılmaktadır. Ancak, Lancefield'in serolojik Grup-D Streptococlarının hepsinin Enterococ oldukları kabul edilmektedir (57).

Gıdalarda en önemli Enterecoclar, Faecal Streptecoclar olarak bilinen *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium*dur.

Enterik bakterilerin çoğu (*Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter vb*) ince barsaklarda buldukları halde, hiçbiri indikatör olarak *E.coli*nin sağladığı avantajlara sahip değildir.

Total Bakteri Sayısı : Gıdalarda aerobik bakteri popülasyonunun tamamına işaret eder ve diğer indikatörlerle arasında iyi bir korrelasyon vardır (58). Silliker (54) e göre, taze gıdaların depolama sürecinde dayanıklılığının ortaya konmasında ve mikropların üremesine elverişli olmayan kuru ve dondurulmuş gıdalarda mikrobiyolojik kaliteyi en iyi değerlendiren kriter total bakteri sayısıdır. Ancak, total bakteri sayısının düşük olması, gıdanın sağlık açısından mutlaka güvenilir olduğu anlamını taşımaz. Monford ve Thatcher (59) total bakteri sayısı 350/g olan çeşitli gıdalardan *Salmonella* izole etmişlerdir. Fermente süt mamülleri gibi mikroorganizmaların aktivitesi sonucu elde edilen gıdalarda total bakteri sayısı ile kaliteyi kesin olarak ortaya koyma olanağı da yoktur.

İndikatör mikroorganizmaların standartlara esas alınmasına karşı olanların görüşleri aşağıdaki noktalarda toplanmaktadır (51) :

1. Standartlar gıdalarda patojen tehlikesini tamamen ortadan kaldırmamaktadır.
2. Fekal indikatör standardının yararları sınırlıdır.
3. Total bakteri sayısının gıda bozulması ya da sağlığa zararlı olma ile alakası yoktur.
4. Gıdaların işleme ve depolama koşulları canlı sayımları etkilemektedir.
5. Standarda uymak için gıda ya çok pişirilecek ya da prezervatifler kullanılacaktır.

6. Numune alma ve analiz yöntemleri yetersizdir.

Davis (49,50) bu görüşlere katılanların ve halk sağlığı otoritelerinin yalnız patojenlerle ilgilendiklerini belirtmekte, gıdalarda *Salmonella* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus* bulunmasının tehlikeli kabul edilerek diğerlerinin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Flavobacterium*, *Proteus* vb) dikkate alınmamasını büyük bir hata olarak nitelendirmektedir. Omurtag (55), endüstri ve hijyen indeksi mikroorganizmaların yanısıra gıda enfeksiyonu ve intoksikasyonuna neden olanların (*Salmonella*, *Shigella*, hemolytic *Streptococcus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, koagulaz pozitif *Staphylococcus*) da standartlar saptanırken dikkate alınmasını önermektedir.

C. Mikrobiyolojik Limitler :

Tüketicieye sağlığına uygun ve dayanıklı gıda sunulması, gıda bozulmalarına neden olan, gıda enfeksiyonlarına ve intoksikasyonlara yol açan mikroorganizmalar ve etkilerinin bilinmesini zorunlu kılmaktadır (46). Çoğu kez, bu olumsuz etkilerden birini ya da ikisini birden başlatacak mikroorganizma sayısı kritik olduğundan, mikrobiyolojik standartlar saptanırken incelenmesi zorunludur. Anlamlı ve geçerli mikrobiyolojik limitlerin ortaya konabilmesi için gıdanın özellikleri bilinmeli (gıdanın tipi ve yaşı, üretim teknolojisi, dağıtım ve depolama koşulları, gıdanın mikrobik popülasyonu ve bozulma yapan önemli tipler), etkili-güvenilir-kolay-süratli ve standart mikrobiyolojik testler kullanılmalıdır (49,50,58,60).

Bazı gıdalarda popülasyonun süratle değişmesi ve testlerde her zaman aynı sonucun alınmaması nedeniyle Jay (53), gıdaların mikrobiyolojik analizlerinde ve mikrobiyolojik limitlerin saptanmasında American Public Health Association (APHA) ın ya da Lewis ve Angelotti (61) nin tavsiye ettikleri yöntemlerin kullanılmasını önermektedir.

D. Çeşitli Ülkelerde Çocuk Mamaları Mikrobiyolojik Standartları :

Çocuk mamaları imalinde mikrobiyolojik yönden dikkate alınması zorunlu genel prensipler, Fransız Çocuk Mamaları Kararnamesi (62) nde belirtilmiştir :

1. Çocuk mamaları, çocuk beslenmesi amacına dönük bütün özelliklere sahip olmalıdır.
2. Çocuk mamaları imalinde kullanılan bütün maddeler kalite ve hijyenin bütün gereksinimlerine uyacak şekilde seçilmiş ve kontrol edilmiş olmalıdır.
3. Çocuk mamaları özel bir dikkatle ve teknolojik katkı maddelerinin kullanılmasından kaçınılacak fabrikasyon yöntemleriyle hazırlanmalıdır.
4. Çocuk mamaları, organoleptik-besleyici ve hijyenik kaliteyi koruyabilecek ambalajlar içinde saklanmalıdır.
5. Çocuk mamalarına tüketim sırasında bir sıvının ilavesi gerekiyorsa, bu işin nasıl yapılacağı açık ve detaylı bir şekilde etiket üzerinde yazılmalıdır.

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Fransa'da çocuk mamaları için önerilen mikrobiyolojik standartlar Tablo 13 de görülmektedir.

Thatcher ve Clark (63), bebekler enfeksiyona karşı hassas olduklarından, mikrobiyolojik limitlerin kuru haldeki çocuk mamaları için oldukça düşük tutulmasını önermektedirler. Nitekim, Hollanda'da önerilen mikrobiyolojik limitler (Tablo 14) ABD ve Fransa'da öngörülenlerden daha düşüktür.

Kuru haldeki çocuk mamaları için UNICEF (6) tarafından da mikrobiyolojik limitler önerilmiştir. UNICEF spesifikasyonları araştırmanın bir bölümünü oluşturduğundan, araştırma yöntemi ve araçlar bölümünde detaylı olarak incelenecektir.

Tablo 13 : ABD ve Fransa'da Bebek ve Çocuk Gıdaları İçin Önerilen Mikrobiyolojik Standartlar (62,63).

Mikrobiyolojik Kriter	Sıvı ilavesi sonun- Tüketimden önce		Kapalı kutularda ısı tatbikatıyla 3 dakika pişiril-muhafaza edilenler ve steril koşullarda ambalajlanan mamüller
	Kullanılmaya hazır mamüller	da tüketilen kuru mamüller	
Total bakteri sayımı (a)	ABD Fr	$\leq 50.000/g$ $\leq 50.000/g$	$\leq 200.000/g$ $\leq 200.000/g$
Coliform	ABD Fr	$\leq 1/0.1 g$ $\leq 10/g$	$\leq 1/0.001 g$ $\leq 1000/g$
E.coli	ABD Fr	$\leq 1/g$ $\leq 1/g$	$\leq 1/0.1 g$ $\leq 1/0.1 g$
Maya ve küf	ABD Fr	$\leq 300/g$ $\leq 1000/g$	$\leq 1000/g$ $\leq 1000/g$
Clostridia	ABD Fr	$\leq 1/0.1 g$ $\leq 1/0.1 g$	$\leq 1/0.01 g$ $\leq 10/g$
Salmonella Shigella	ABD Fr	$\leq 1/30 g$ $\leq 1/25 g$	$\leq 1/g$ $\leq 1/25 g$
Koagulaz+Staphylococcus	ABD Fr	$\leq 1/g$ $\leq 1/g$	$\leq 1/g$ $\leq 1/g$

(a) : Laktik asit bakterileriyle asitleştirilen gıdalara uygulanmaz.

Tablo 14 : Hollanda'da Kuru Haldeki Çocuk Mamaları İçin Önerilen Mikrobiyolojik Limitler (64).

Mikrobiyolojik Kriter	Limitler
Total bakteri sayısı	10^4 / g
E.coli	10 g da bulunmayacak
Staphylococcus aureus	1 g da bulunmayacak
Küf	10 / g
Salmonella	100 g da bulunmayacak
Lancefield Grup D-Streptococci	100 / g

Ülkemizde, çocuk mamaları tüzüğünde 1976 yılında yapılan değişiklik (5) ile getirilen yeni hükümler : toz halindeki çocuk mamalarının 1 gramında 5000 den fazla saprofit bakteri bulunmayacak, patojen mikroorganizma ve küf üremeyecek, E.coli bulunmayacak şeklindedir.

E. Çeşitli Ülkelerde Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Durumuna İlişkin Araştırmalar :

Meyer (65) Federal Almanya'da 4 laboratuvarında alınan sonuçların çocuk mamalarında 300-400 / 0.1 g proteolitik bakteri bulunduğunu ortaya koyduğunu, oysa bu ülkede standartların mamalarda proteolitik bakteri miktarını 150 / 0.1 g olarak sınırladığını bildirmektedir. Öte yanda Krampe (66) 60 çocuk maması örneğinde total bakteri sayısının 15-540 000 / g arasında değiştiğini ve örneklerin % 52 sinde Lancefield Grup D-Streptococların bulunduğunu saptamıştır. Bu nedenle, Federal Almanya'da "Diyetetik Gıdalar Ordinansı"nın analitik yöntemlere ilişkin kurallarında aksaklıklar bulunduğu ileri sürülmekte, kuralların değiştirilmesi önerilmektedir (65,66).

Rusya'da çocuk mamalarını da kapsayan 320 örneğin incelenmesi sonunda

% 89.1 oranında *E.coli*, % 14 hemolytic *Staphylococcus*, % 2 oranında da patojenik *Enterococ* saptanmış, mamaların imalat sırasında *E.coli* ile kontamine olduğu sonucuna varılmıştır (67). İonescu (68) Romanya'da iki enstitüde bebek beslemede kullanılan 100 mama örneğinin % 26 sında *Bacillus cereus*, % 26 sında koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus*, % 74 ünde de *E.coli* saptandığını ve *E.coli*lerin % 10 unun patojenik suşlar olduğunu bildirmiştir.

Çekoslovakya'da 1961-1974 yılları arasında 16399 çocuk maması örneğinin *Enterobacter*ler yönünden incelenmesi, örneklerin % 2.4 ünde *E.coli* ve *Klebsiella* bulunduğunu göstermiştir (69).

Riu (70) İtalya'da 20 çeşit çocuk mamasının herbirinden 5 örnek alarak yaptığı araştırmada total bakteri sayısının $350-21 \times 10^3/g$ arasında değiştiğini, Coliform saptayamadığını, buna karşılık 4 çeşit mamada $10^3-10^4/g$ düzeyinde *Bacillus cereus* bulunduğunu bildirmiştir.

Ülkemizde çocuk mamalarının mikrobiyolojik durumuna ilişkin yayınlanmış araştırmalar yok denecek kadar azdır. Özer (71) 1962 yılında incelediği 12 mama çeşidinde total bakteri sayısının $3.8 \times 10^4 - 2.2 \times 10^6/g$ arasında sıralandığını, mamaların 4 çeşidinde Coliform ($6.8 - 240/100 g$) bulunduğunu, 5 çeşit mamada da hemolytic *Staphylococcus* ve hemolytic *Streptococcus* saptadığını bildirmiştir. Sekmamanın 1977 yılında yapılan mikrobiyolojik analizleri (72), Sekmamada *Salmonella*, Coliform, koagulaz pozitif *Staphylococcus* ve *Bacillus cereus* bulunmadığını, total bakteri sayısının $7.6 - 7.9 \times 10^3/g$ olduğunu ve Fekal *Streptococ*ların $12/g$ düzeyinde bulunduğunu göstermiştir.

ARAŞTIRMANIN AMACI

Bu çalışma, Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamalarının UNICEF tarafından çocuk mamalarının rutin mikrobiyolojik analizlerinde kullanılması önerilen yöntemler ve Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakteriyoloji Şubesinde çocuk mamalarına uygulanan yöntemlerle incelenerek : mamaların mikrobiyolojik kalitelerinin ortaya konmasına, kullanılan yöntemlerin olumlu ve olumsuz yönlerinin kıyaslanarak Türkiye'de çocuk mamalarının rutin mikrobiyolojik analizlerinde kullanılacak standart yöntemlerin seçimine ve ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik kalite faktörlerinin saptanmasına ışık tutmak amacıyla yapılmıştır.

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ ve ARAÇLAR

YER VE ÖRNEKLEM SEÇİMİ :

Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamaları araştırmada evren olarak seçilmiştir.

Araştırma yeri olarak Ankara'nın seçilme nedenleri :

- 1- Türkiye'de satılmakta olan her türlü hazır ticari çocuk mamasının bulunabileceği varsayımı.
- 2- Araştırmanın yürütüleceği laboratuvar ve diğer olanakların Ankara'da bulunması.
- 3- 1974 Ulusal Beslenme ve Gıda Tüketimi Araştırması (15) sonuçlarına göre Ankara'da ticari çocuk maması tüketiminin fazla olması.

Hazır ticari çocuk mamalarının on çeşit olarak (Tablo 15) beş ayrı firma tarafından imal edilip Ankara piyasasında satıldıkları dikkate alınarak, evren on kümeye ayrılmış, bu mamaları satan eczane, süpermarket ve bakkallardan basit tesadüfi örnekleme her kümeden üçer paket olmak üzere 30 paket mama satın alınmıştır.

Tablo 15 : Ankara Piyasasında Satılmakta Olan Hazır Ticari Çocuk Maması Çeşitleri ve Bunları İmal Eden firmalar.

Mama Adı	İmal Eden Firma
Bebefe	Bebe Holland
Calsilac	
Citrolac	
Homolac	
Lamed	
SMA-S-26	Wyeth Laboratuvarları A.Ş
Arımama	Arı Gıda Sanayii
Çapamarka Hazır Çocuk Maması	Çapamarka Gıda Sanayii
Paromama	Paro Gıda Sanayii
Sekmama	Süt Endüstrisi Kurumu

Satın alınarak araştırmada kullanılan mama örneklerinin adları, seri numaraları, paketlenme sistemleri, imal ve son kullanma tarihleri ile sağlandıkları yerler Ek 1 de gösterilmiştir.

Araştırma uygulaması Aralık 1976 - Aralık 1977 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Sağlık Teknolojisi Yüksek Okulu, Gıda Analizleri ve Teknolojisi Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi laboratuvarlarında yapılmıştır.

MAMA ÖRNEKLERİNİN SAKLAMA KAPLARINA ALINMASI VE SAKLANMASI :

Satın alınan mamalar vakit kaybetmeden laboratuvara getirilerek kodlanmış, mama kutusunun açılacağı yer % 70 lik etil alkol emdirilmiş pamukla iyice silindikten sonra kutu steril makas ve spatül yardımıyla açılmıştır. Açılan bölge tekrar alkollü pamukla temizlenip yüzeydeki bir kısım mama steril spatülle sıyrılarak atılmıştır. Önceden sterilize edilerek kodlanmış 250 gr.lık metal vida kapaklı, koyu renkli cam şişeye 50 gr. kadar mama örneği aseptik koşullarda aktarılarak kullanılacağı zamana kadar buzdolabında (0-5°C) saklanmıştır.

UYGULANAN ANALİZ YÖNTEMLERİ :

Herbir mama çeşidinden alınan üç örneğin mikrobiyolojik analizleri, UNICEF (6) in kuru haldeki çocuk mamaları için önerdiği rutin mikrobiyolojik analiz yöntemleri ve Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakteriyoloji Şubesi'nce (74,7778) çocuk mamalarına uygulanmakta olan rutin mikrobiyolojik analiz yöntemlerine göre yapılmıştır. Bu kuruluşlarca öngörülen mikrobiyolojik analizlerin her birisi her örnek için iki defa tekrarlanmıştır.

Yöntemlerin önerdiği miktarlar kullanılarak her örneğin dilüsyon serileri hazırlanmış yine yöntemlerin önerdiği dilüsyon serilerinden uygun miktarlarda iki adedi paralel olarak çalışmaya alınmıştır.

UNICEF YÖNTEMLERİ :

Analizler, UNICEF tarafından önerildiği gibi üç grupta toplanarak uygulanmıştır.

Birinci grup testler : Canlı aerobik bakteri sayımı, enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması, Staphylococcus aureus bulunup bulunmadığının ortaya konması ve küf sayımını kapsamıştır.

İkinci grup testler : Canlı aerobik spor sayımı, Escherichia coli'nin bulunup bulunmadığının ortaya konması, Lancefield grup D (faecal) streptococcusların bulunup bulunmadığının saptanması ve Clostridium perfringens sayımı yapılmıştır.

Üçüncü grup testler : Salmonella, Arizona, Edwardsiella, Pseudomonas aeruginosa ve Vibrio parahaemolyticus aranmıştır.

Test sonuçlarının değerlendirilmesi, Tablo 16 da görülen UNICEF'in kuru haldeki çocuk mamalarının mikrobiyolojik spesifikasyonlarına göre yapılmıştır.

Tablo 16 : Kuru Haldeki Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Spesifikasyonları (6).

Test Grubu	Mikroorganizma	Sınırlar	
		Hedef	Maksimum Tolerans
1	Canlı aerobik bakteri sayısı	$10^4/1$ gr.	$10^5/1$ gr.
	Enterik bakteri	1 gr.da bulunmayacak	0.1 gr. da bulunmayacak
	Staphylococcus aureus	1 gr. da bulunmayacak	1 gr. da bulunmayacak
	Küf sayısı	$10^2/1$ gr.	$10^3/1$ gr.
2	Canlı aerobik spor sayısı	$10^4/1$ gr.	$10^5/1$ gr.
	Escherichia coli	10 gr.da bulunmayacak	1 gr.da bulunmayacak
	Lancefield Grup D Streptococci	$10^2/1$ gr.	$10^3/1$ gr.
	Clostridium perfringens	10/1 gr.	$10^2/1$ gr.
3	Salmonella	25 gr. da bulunmayacak	
	Arizona		
	Edwardsiella		
	Pseudomonas aeruginosa		
	Vibrio parahaemolyticus		

Birinci grup testlerin sonuçları Tablo 16 da belirtilen tolerans sınırlarını aşmış ise ikinci grup testlerin uygulanmasına geçildi. Sonuçlar tablodaki hedef rakamlarla uyum halinde ise mama örneğinin uygun kalitede olduğu varsayılarak incelemeye son verildi. İkinci grup testler için de aynı kriter uygulanarak sonuçlar tablodaki tolerans sınırlarını aşmış ise üçüncü grup testler uygulandı.

KULLANILAN BESİYERLERİ (6)

Dilüsyon Sıvısı

Tryptone Water :

Tryptone 10.0 gr
Sodium chloride 5.0 gr

Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak iyice eritildikten sonra pH = 7.5 ± 0.1 e ayarlandı. Birinci grup testler için 99 ml miktarlarda dilüsyon şişelerine, birinci grup testler arasında yer alan Enterik Bakteri bulunup bulunmadığının ortaya konması ile ikinci ve üçüncü grup testler için 9 ml miktarlarda test tüplerine dağıtıldı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

I. Birinci Grup Testler :

1. Canlı aerobik bakteri sayımı

Tryptone Soya Agar (TSA) (Oxoid, dehydrated)

Tryptone	15.0 gr.
Soya peptone	15.0 gr.
Sodium Chloride	5.0 gr.
Agar	15.0 gr.

Hazır karışımdan 40 gr. tartılarak 1000 ml damıtık su içine aktarıldı. Hafif ısıda erimesi sağlandıktan sonra pH = 7.3 ± 0.1 e ayarlandı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

2. Enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması

a. Canlandırma besiyeri

Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid, dehydrated)

Tryptone	17.0 gr.
Soya peptone	3.0 gr.
Dextrose	2.5 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Dipotassium phosphate	2.5 gr.

Hazır karışımdan 30 gr. tartılarak 1000 ml damıtık su içine aktarıldı. iyice karıştırılarak pH = 7.3 ± 0.1 e ayarlandı. 100 ml.lik erlenlere 9 ml. miktarlarda dağıtıldı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

b. Zenginleştirme besiyeri

Enterobacteriaceae Enrichment Broth, çift kuvvette (EE-Broth)
(Oxoid, dehydrated)

Peptone	20.0 gr.
Dextrose	10.0 gr.

Disodium hydrogen phosphate	12.9 gr.
Potassium dihydrogen phosphate	4.0 gr.
Oxhile, purified	40.0 gr.
Brilliant green, certified	0.027 gr.

Hazır karışımdan 86.927 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı. iyice eritildikten sonra pH = 7.2 ± 0.1 e ayarlandı. Test tüplerine 10 ml. miktarlarda aktarılarak 100°C lik su banyosunda 30 dakika tutuldu. Hemen akan çeşme suyu altında soğutuldu.

c. Tehşis besiyeri

Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBD) (Oxoid, dehydrated)

Yeast extract	3.0 gr.
Peptone	7.0 gr.
Sodium Chloride	5.0 gr.
Bile salts	1.5 gr.
Lactose	10.0 gr.
Neutral red	0.03 gr.
Crystal violet	0.002 gr.
Agar No:3	12.0 gr.

Hazır karışımdan 38.532 gr. tartılarak 10 gr dextrose ve 3 gr. Agar No:3 ilave edildi. Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak iyice karıştırıldı. 15 dakika kadar bekletildikten sonra pH = 7.3 ± 0.1 e ayarlandı. Kaynar su banyosunda sık sık karıştırılarak besiyerinin erimesi sağlandı. Çabucak akan çeşme suyu altında yaklaşık 47°C ye kadar soğutularak test tüplerine, steril bir pipetle 15 ml. miktarlarda dağıtıldı.

3. Staphylococcus aureus bulunup bulunmadığının ortaya konması

a. Zenginleştirme besiyeri

Staphylococcus Enrichment Broth (GC-Broth)

Tryptone	10.0 gr.
Beef extract	5.0 gr.
Yeast extract	5.0 gr.
Lithium chloride	5.0 gr.
D-Mannitol	20.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Glycine	1.2 gr.
Sodium pyruvate	3.0 gr.

Karışım 1000 ml damıtık su içine aktarılarak iyice eritildikten sonra pH = 6.9 \pm 0.1 e ayarlandı. 25 mm çaplı büyük test tüplerine 19 ml. miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Tüpler otoklavdan alındıktan sonra akan çeşme suyu altında hemen soğutuldu. Millipore filtre (Cathivex, 0.22 μ m) ile sterilize edilmiş % 3.5 potassium tellurite solüsyonundan, aseptik koşullarda her tüpe 0.3 ml. ilave edildi.

b. İzolasyon besiyeri

Baird Parker Agar Base (BP-Agar) (Difco, dehydrated)

Tryptone	10.0 gr.
Beef extract	5.0 gr.
Yeast extract	1.0 gr.
Sodium pyruvate	10.0 gr.
Glycine	12.0 gr.
Lithium chloride	5.0 gr.
Agar	20.0 gr.

Hazır karışımdan 63 gr tartılarak 1000 ml. damıtık suya aktarıldı, 15 dakika bekletildikten sonra pH = 6.8 \pm 0.1 e ayarlandı. Hafif ısıda tutarak eritildi ve 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra 50°C ye kadar soğutulularak üzerine aseptik koşullarda 50 ml. steril % 20 egg yolk emülsiyonu (Oxoid) ve 3.5 ml. milipore filtre ile sterilize edilmiş % 3.5 potassium tellurite solüsyonu ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra steril petri kutularına 15-20 ml. miktarlarında dağıtıldı.

4. Küf sayımı

UNICEF Küf Besiyeri

Dextrose	20.0 gr.
Yeast extract	5.0 gr.
Agar	20.0 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak 15 dakika bekletildikten sonra pH = 7.2 \pm 0.1 e ayarlandı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra 50°C ye kadar soğutulularak milipore filtre ile sterilize edilmiş, mililitresinde 1 mg. oxytetracycline (terramycine) (Nevzat ecza deposu) içeren solüsyondan 100 ml. ilave edildi.

II. İkinci Grup Testler :

1. Canlı aerobik spor sayımı

Tryptone Soya Agar (TSA) (Oxoid, dehydrated)

Canlı aerobik bakteri sayımı için hazırlanan besiyeri (TSA) (Sayfa 43) kullanıldı.

2. Escherichia coli'nin bulunup bulunmadığının saptanması

a- Canlandırma besiyeri

Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid, dehydrated)

Enterik bakteriler için hazırlanan canlandırma besiyeri (TSB) (Sayfa 43) kullanıldı.

b- Zenginleştirme besiyeri

Brilliant Green Bile Broth % 2, çift kuvvette (BGBL) (Difco, dehydrated)

Peptone	10.0 gr.
Lactose	10.0 gr.
Oxibile, purified	20.0 gr.
Brilliant green, certified	0.0133 gr.

Hazır karışımdan 80.027 gr. tartılarak 1000 ml damıtık su içinde eritildikten sonra pH = 7.4 \pm 0.1 e ayarlandı. 10 ml miktarlarda test tüplerine dağıtılarak 100°C lik su banyosunda 30 dakika tutuldu. Akan çeşme suyu altında hemen soğutuldu.

c- Teşhis besiyeri

McConkey Agar (Difco, dehydrated)

Peptone	20.0 gr.
Lactose	10.0 gr.
Bile salts, purified	1.5 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Neutral red	0.03 gr.
Crystal violet, certified	0.001 gr.
Agar	15.0 gr.

Hazır karışımdan 51.531 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı,

15 dakika bekletilerek pH = 7.1 \pm 0.1 e ayarlandı. Kaynar su banyosunda sık sık karıştırılarak erimesi sağlandı. Akan çeşme suyu altında yaklaşık 47°C ye kadar soğutularak 25x80 mm test tüplerine 5 ml. miktarlarda dağıtıldı. Tüpler yatık vaziyette tutularak besiyerinin katılaşması sağlandı.

d- Tanımlama besiyeri I

Brilliant Green Bile Broth % 2, tek kuvvette (BGBL) (Difco, dehydrated)

Hazır karışımdan (sayfa 46) 40.0133 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içinde eritildikten sonra pH = 7.4 \pm 0.1 e ayarlandı. Test tüplerine 9 ml. miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

e- Tanımlama besiyeri II

Tryptone water (TW)

Dilüsyon sıvısı olarak hazırlanan besiyeri (TW) (sayfa 42) kullanıldı.

3. Lancefield grup D (faecal) Streptococcus'lerin bulunup bulunmadığının ortaya konması

a- Zenginleştirme besiyeri

Streptococcus Enrichment Broth (SE-Broth)

Tryptone	20.0 gr.
Yeast extract	5.0 gr.
Ox bile dessicated	10.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Sodium citrate	1.0 gr.
Aesculin	1.0 gr.
Ferric ammonium citrate	0.5 gr.
Sodium azide	0.25 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı. İyice eritilerek pH = 7.0 \pm 0.1 e ayarlandı. Test tüplerine 9 ml. miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

b. İzolasyon besiyeri

Streptococcus Confirmatory Agar (SC-Agar)

Tryptone	20.0 gr
Yeast extract	5.0 gr.
Ox bile desiccated	10.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Sodium citrate	1.0 gr.
Aesculin	1.0 gr.
Ferric ammonium citrate	0.5 gr.
Sodium azide	0.25 gr.
Agar	15.0 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı. 15 dakika bekletilerek pH = 7.0 ± 0.1 e ayarlandı. 121°C de 20 dakika sterilize edildikten sonra iyice karıştırılarak steril petri kutularına 15 ml. miktarlarda dağıtıldı, katılaşmaya terkedildi.

4. Clostridium perfringens sayımı

Iron Sulphite Agar (Oxoid, dehydrated)

Tryptone	10.0 gr.
Sodium sulphite dehydrate	0.5 gr.
Iron citrate	0.5 gr.
Agar	12.0 gr

Hazır karışımdan 23 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı, 15 dakika bekletilerek pH = 7.1 ± 0.1 e ayarlandı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra 50°C ye kadar soğutuldu, millipore filtre ile sterilize edilmiş % 4 D-Cycloserine (Nevzat Ecza Deposu) solüsyonundan 10 ml. eklendi (Daima taze hazırlanmış olarak kullanıldı).

UYGULAMA

A- Örneğin Analize Hazırlanması

Analizi yapılacak mama örneğini içeren şişe buzdolabından alınarak ısısı oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Bir gram mama örneği hassas terazide (Sartorius, 2842), aseptik koşullarda, steril alimünyum kağıt (Fastaş folyo) üzerinde tartıldı.

Birinci grup testler için mama örneği steril 99 cc dilüsyon sıvısı (Sayfa 42) içeren dilüsyon şişesine, birinci grup testler arasında yer alan Enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının ortaya konması ve ikinci, üçüncü grup testler için ise steril 9 cc dilüsyon sıvısı içeren dilüsyon tüplerine aseptik koşullarda aktarılarak iyice karıştırıldı. Bu ilk dilüsyonlardan uygun dilüsyonlar hazırlanarak testlerin uygulanmasına geçildi.

B- Uygulanan Testler

I- Birinci grup testler

1. Canlı aerobik bakteri sayımı

1 gr. mama örneğinin steril dilüsyon sıvısı ile hazırlanan 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlardan steril pipetle 1'er ml. miktarlarda alınan ikişer örnek steril petri kutularına aktarıldı.

Petrilere, eritilip $47 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ye soğutulmuş Tryptone Soya Agar'dan 15 ml kadar ilave edildi. Petri kutuları dikkatlice bir kaç defa saat yönünde birkaç defa da aksi yönde hareket ettirilerek örneğin besiyerine homojen olarak dağılması sağlandı.

Besiyeri katılaştıktan sonra petri kutuları ters çevrilerek $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de üç gün süreyle inkubasyona terkedildi. Inkubasyon sonunda 300 den az koloni içeren petri kutularındaki koloniler sayıldı. Sonuç dilüsyon faktörü ile çarpılarak 1 gr. örnekteki canlı aerobik bakteri sayısı saptandı.

2. Enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması

Mama örneğinin 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlarından 1'er ml. miktarlarında ikişer örnek alınarak, 100 ml.lik erlenlerde bulunan steril 9 ml. canlandırma besiyeri (Tryptone Soya Broth) inoküle edildi

ve erlenler iyice karıştırıldı. Bir saat süreyle beklemeye terkedilen erlenler bu sürenin sonunda tekrar karıştırıldı. İkinci kere bir saat beklemeye terkedilen erlenlere bu sürenin sonunda 10 ml. çift kuvvette zenginleştirme besiyeri (Enterobacteriaceae Enrichment Broth) ilave edildi. Erlenler iyice karıştırıldıktan sonra $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 18-24 saat inkubasyona alındı. İnkubasyon sonunda erlenlerin içeriği iyice karıştırıldıktan sonra buradan uzun-düzgün bir öze ile tüplerin en altına uzayacak şekilde teşhis besiyeri (Violet Red Bile Dextrose Agar) ne saplama ekim yapıldı. VRBD tüpleri $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 16-24 saat inkubasyona terkedildi. Besiyerinde gaz oluşumu ya da bütün ekim çizgisi boyunca üreme gözlenen örneklerde enterik bakterilerin bulunduğu varsayıldı.

3. Staphylococcus aureus'un bulunup bulunmadığının ortaya konması

1 gr. mama, 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlardan da 1'er ml. miktarda olmak üzere ikişer örnek alınarak 19 ml. steril zenginleştirme besiyeri (Staphylococcus Enrichment Broth) içeren tüplere inoküle edilip, iyice karıştırıldıktan sonra besiyerinin üzeri 2 cm. kalınlığında parafin (erime noktası $42-44^{\circ}\text{C}$) ile kapatıldı ve $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 48 saat inkubasyona terk edildi. İnkubasyon sonunda besiyerinde esmerleşme görülmeyen örneklerde Staphylococcus aureus'un bulunmadığı kabul edildi. Besiyerinde esmerleşme gözlendiğinde, izolasyon besiyeri (Baird-Parker Agar) yüzeyine tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapıldı. 37°C de 32 ± 2 saat inkubasyon sonunda besiyerinde etrafı berrak bir halka ile çevrili koyu siyah kolonilerin gözlendiği örneklerde Staphylococcus aureus'un bulunduğu sonucuna varıldı. Doğrulama olarak şüpheli görülen kolonilere gram boyama (sayfa 69), koagülaz (sayfa 63) ve mannitol (sayfa 69) testleri uygulandı. Gram

boyamada tipik üzümlü salkımı görünümünde olan koloniler, koagülaz ve mannitol pozitif iseler *Staphylococcus aureus* olarak belirlendi.

4- Küf sayımı

Mama örneğinin 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlarından 1'er ml. miktarlarında ikişer örnek steril petrilere aktarılarak üzerine 15 ml. kadar UNİCEF küf besiyeri ilave edildi. Bir kaç defa saat yönünde bir kaç defa da aksi yönde hareket ettirilerek örneğin besiyerine homojen olarak dağılması sağlandı. Petriler düz şekilde oda sıcaklığında ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), açıkta 5 gün süreyle inkubasyona alındı. İkinci günden itibaren petriler kontrol edilerek sayımı zorlaştıracak kadar miçelyum içeren koloniler sayıma alındı. Sayılan koloni miktarıyla dilüsyon faktörü çarpılarak 1 gr. mama örneğindeki küf üremesi hesaplandı.

II- İkinci Grup Testler

1. Canlı aerobik spor sayımı

Mama örneğinin 10^{-1} dilüsyonunu içeren test tüpü su banyosunda 79°C ye kadar ısıtıldı (su banyosu ısısının kontrolü, 10 ml. damıtık su ve $0-100^{\circ}\text{C}$ göstergeli bir termometre içeren test tüpünü, örneklerle birlikte su banyosunda tutarak yapıldı). Vakit kaybetmeden, örnek $80 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ye ayarlanmış su banyosuna alınarak tam bir dakika tutuldu. İçinde eşit oranda su buz karışımı bulunan behere alınarak soğutuldu. Buradan örneğin 10^{-2} ve 10^{-3} dilüsyonları hazırlandı. Her üç dilüsyondan 1'er ml. miktarda ikişer örnek petri kutularına aktarıldı. Petrilere 15 ml. kadar, eritilip $47 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ye soğutulmuş Tryptone Soya Agar ilave edilerek birkaç defa saat yönünde birkaç defa da aksi yönde hareket ettirilerek örneğin besiyerine homojen olarak dağılması sağlandı. Besiyeri katılaştıktan sonra petriler ters çevrilerek $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 18-24 saat inkubasyona terkedildi. Inkubasyon

sonunda 300 den az koloni içeren petri kutularındaki koloniler sayıldı. Sonuç dilüsyon faktörü ile çarpılarak 1 gr. örnekteki canlı aerobik spor sayısı hesaplandı.

2. Escherichia coli'nin bulunup bulunmadığının saptanması

Mama örneğinin 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} dilüsyonlarından 1'er ml. miktarlarında ikişer örnek alınarak 9 ml. canlandırma besiyeri (Tryptone Soya Broth) içeren 100 ml.lik erlenlere inoküle edildi ve erlenler iyice karıştırıldı. Bir saat süreyle beklemeye terkedilen erlenler bu sürenin sonunda tekrar karıştırıldı. İkinci bir saat bekleme-ye terkedilen erlenlere bu sürenin sonunda 10 ml. zenginleştirme besiyeri (Brilliant Green Bile Broth % 2, çift kuvvette) ilave edildi. Erlenler iyice karıştırıldıktan sonra $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 18-24 saat inkubasyona alındı.

Inkubasyon sonunda erlenlerin içeriği karıştırılarak buradan uzun-
düzgün bir öze ile teşhis besiyerinin (McConkey Agar) yatık yüzüne çizgi ekimi yapıldı. Tüpler $44 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ deki su banyosunda 30 saat inkubasyona alındı. Besiyerinde ekim çizgisi boyunca üreme gözlenmişse, etrafı mor haleli kolonilerden öze ile alınıp tanımlama besiyeri I'e (Brilliant Green Bile Broth % 2, tek kuvvette) ve tanımlama besiyeri II'ye (Tryptone water) ekimler yapılarak $44 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ deki su banyosunda 48 saat inkubasyona terkedildi. Tanımlama besiyeri I'de gaz oluşumu, tanımlama besiyeri II'de Kovaks ayırıcı (sayfa 64) ilave edildiğinde üst kısmında kırmızı bir halkanın meydana gelişi gözlenmişse Escherichia coli'nin bulunduğu varsayıldı.

3. Lancefield Grup D(faecal) Streptococcus'ların bulunup bulunmadığının ortaya konması

Mama örneğinin 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} dilüsyonlarından 1'er ml.

miktarlarında ikişer örnek alınarak, 9 ml. zenginleştirme besiyeri (Streptococcus Enrichment Broth) içeren test tüplerine aktarıldı. İyice karıştırıldıktan sonra $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 16-24 saat inkubasyona terkedildi. Besiyerinde esmerleşme görülürse, buradan öze ile petrilerdeki izolasyon besiyeri (Streptococcus Confirmatory Agar) yüzeyine tek koloni düşürme tekniği ile ekimler yapıldı. Petrilere, $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 16-24 saat inkubasyona alındı. Inkubasyon sonunda etrafı siyah halka ile çevrili koloniler gözlenmiş ise Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların bulunduğu sonucuna varıldı.

Doğrulama olarak, şüpheli kolonilere gram boyama ve katalaz (sayfa 67) testi uygulandı. Gram boyamada tipik zincir görünümünde olan koloniler, katalaz negatif iseler Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus olarak belirlendiler.

4. Clostridium perfringens sayımı

Mama örneğinin 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} dilüsyonlarından 1'er ml. miktarında ikişer örnek alınarak standart plastik torbalara (UNICEF yönteminde önerilen standart plastik torbalar yerine piyasada satılan bir çocuk biberonunun Pamen marka 8x16 cm. boyutlarında steril süt torbaları kullanılmıştır) aktarıldı. Her torbaya yaklaşık 47°C ye soğutulmuş Iron Sulphite Agar'dan steril pipetle alınan 10 ml. aktarılarak dikkatlice karıştırıldı. Torbaların ağız kısımları mum alevinden seri olarak geçirilerek mühürlendi. Torbalar $46 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 16-24 saat inkubasyona alındı. Inkubasyon sonunda, etrafı siyah bir halka ile çevrili 50 den az koloni içeren torbalardaki koloniler sayıldı. Sonuç dilüsyon faktörü ile çarpılarak 1 gr. örnekteki Clostridium perfringens sayısı saptandı.

HIFZISSIHA YÖNTEMLERİ :

UNICEF yöntemleri ile karşılaştırma yapabilmek amacı ile araştırmanın bu bölümünde yer alan yöntemler; Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakteriyoloji Şubesi ilgilileriyle bu konuda yapılan görüşmeler, araştıracının Bakteriyoloji Şubesinde yöntemlerin uygulanması ile ilgili çalışmaları ve gözlemlerinin ışığı altında tek bir aşamada ve iki grupta toplanarak uygulanmıştır :

I- Aerobik Koşullarda Uygulanan Testler

1. Canlı aerobik bakteri sayımı.
2. Koliform bakteriler tesbit edilerek enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması.
3. Staphylococcus aureus'un bulunup bulunmadığının ortaya konması.
4. Küf sayımı.
5. Lancefield grup D (faecal) Streptococcus'ların bulunup bulunmadığının saptanması.
6. Pseudomonas aeruginosa aranması.
7. Salmonella ve Shigella aranması.

II- Anaerobik Koşullarda Uygulanan Testler

1. Clostridium perfringens ve diğer anaerobik mikroorganizmaların bulunup bulunmadığının saptanması.

Analiz sonuçlarının değerlendirilmesi Tablo 17 de özetlenen "Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük'ün Bazı Maddelerinin Değiştirilmesine Dair Tüzük"te yer alan 231.maddenin (C) bendi ve 239. maddenin (a) bendine göre "Perhiz Yiyecekleri ve Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Spesifikasyonları"na göre yapılmıştır (5).

Tablo 17 : Toz Halindeki Çocuk Mamalarının Mikrobiyolojik Spesifikasyonları (5).

Mikroorganizma	Sınır
Canlı aerobik bakteri sayısı	$\leq 5 \times 10^3$ / 1 gr.
E.Coli	0/1 gr.
Patojen mikroorganizmalar	Üremeyecek
Küf	Üremeyecek

KULLANILAN BESİYERLERİ

Dilüsyon Sıvıları (74)

a. Damıtık Su

Damıtık su 99 ml. miktarlarda dilüsyon şişelerine aktarılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

b. Serum Fizyolojik

8.5 gr. Sodium chloride 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak iyice eritildi. İçinde yirmi kadar cam boncuk bulunan 100 ml. lik erlenlere 45 ml. miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

I. Aerobik Koşullarda Uygulanan Testler

1. Canlı aerobik bakteri sayımı.

Plate Count Agar (PCA) (Tryptone Glucose Yeast Extract Agar)

(Oxoid, dehydrated)

Yeast extract	25.0 gr.
Tryptone	5.0 gr.
Dextrose	1.0 gr.
Agar No:1	9.0 gr.

Hazır karışımdan 17.5 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldıktan sonra pH= 7.0±0.1 'e ayarlandı. Hafif ısıda sık sık karıştırılarak besiyerinin erimesi sağlandı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

2. Koliform bakteriler tesbit edilerek enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması

Eosine Methylene Blue Agar (EMB Agar) (Difco, dehydrated)

Bacto peptone	10.0 gr.
Bacto lactose	5.0 gr.
Saccharose	5.0 gr.
Dipotassium phosphate	2.0 gr.
Bacto Agar	13.5 gr.
Bacto eosine Y	0.4 gr.
Bacto methylene blue	0.065 gr.

Hazır karışımdan 36 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı, pH = 7.2 \pm 0.1 e ayarlandı. Hafif ısıda tutularak eritildi ve 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Besiyeri otoklavdan çıkarılarak yaklaşık 47°C ye soğuması beklendi. Steril petri kutularına 15 ml. kadar dağıtıldı.

3. Staphylococcus aureus'un bulunup bulunmadığının ortaya konması

Kanlı Plak besiyeri (80)

Peptone	10.0 gr.
Beef extract	6.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Agar	15.0 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak iyice karıştırıldı. pH = 7.2 \pm 0.1 e ayarlandı. Besiyeri hafif ısıda sık sık karıştırılarak eritildi. 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 47°C ye kadar soğutularak üzerine steril 50 ml. fibrinsiz insan kanı (Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Kan Bankasından sağlandı) aseptik koşullarda ilave edilerek iyice karıştırıldı. Steril petri kutularına 15 ml. miktarlarda dağıtıldı.

4. Küf Sayımı

Potato Dextrose Agar (Difco, dehydrated)

Potato (Infusion from)	200.0 gr.
Bacto Dextrose	20.0 gr.
Bacto Agar	15.0 gr.

Hazır karışımdan 39 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldı. Hafif ısıda karıştırılarak besiyerinin erimesi sağlandı. 100 ml. miktarlarda

balonlara dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra yaklaşık 47°C ye kadar soğutularak, aseptik koşullarda her balona 1.1 ml. miktarlarda, millipore filtre ile sterilize edilmiş % 10 luk tartarik asit ilave edilerek iyice karıştırıldı (pH = 5.6 ± 0.1).

5. Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların bulunup bulunmadığının saptanması

Kanlı Plak besiyeri :

Staphylococcus aureus'un bulunup bulunmadığının ortaya konması için hazırlanan Kanlı Plak besiyeri (sayfa 56) kullanıldı.

6. Pseudomonas aeruginosa aranması

Buyyon besiyeri (81)

Peptone	10.0 gr.
Beef extract	6.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içinde eritilerek, pH = 6.8 ± 0.1 e ayarlandı. Tüplere 10 ml. miktarlarda dağıtılarak, 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

Yatık Jeloz besiyeri (81)

Peptone	10.0 gr.
Beef extract	6.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Agar	15.0 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak 15 dakika beklendi. İyice karıştırılarak pH = 7.2 ± 0.1 e ayarlandı. Hafif ısıda sık sık karıştırarak besiyerinin erimesi sağlandı. Tüplere 10 ml miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra tüpler yatık durumda tutularak besiyerinin katılaşması sağlandı.

7. Salmonella ve Shigella aranması

Salmonella-Shigella Agar (SS-Agar) (Oxoid, dehydrated)

"Lablemco" Powder	5.0 gr.
Peptone	5.0 gr.
Lactose	10.0 gr.
Bile salts No:3	8.5 gr.
Sodium citrate	10.0 gr.
Sodium thiosulphate	8.5 gr.
Ferric citrate	1.0 gr.
Brilliant green	0.00033 gr.
Neutral red	0.025 gr.
Agar No:3	15.0 gr.

Hazır karışımdan 63 gr. tartılıp 1000 ml. damıtık su içine aktarılarak, pH = 7.0 \pm 0.1 e ayarlandı. Kaynar su banyosunda sık sık karıştırılarak besiyerinin erimesi sağlandı. Besiyeri yaklaşık 47°C ye kadar soğutulularak steril petri kutularına 15 ml kadar dağıtıldı.

II- Anaerobik Koşullarda Uygulanan Testler

1. Clostridium perfringens ve diğer anaerob mikroorganizmaların bulunup bulunmadığının saptanması

Cooked Meat Medium (Difco, dehydrated)

Beef Heart	454.0 gr.
Proteose peptone	20.0 gr.
Bacto Dextrose	2.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.

Hazır karışımdan her tüp için 1.25 gr. tartılarak test tüplerine aktarıldı. Üzerlerine 10 ml. damıtık su ilave edilerek 15 dakika kadar bekletildikten sonra pH = 7.2 \pm 0.1 e ayarlandı. 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

Dik Jeloz besiyeri

Besiyeri Yatık Jeloz besiyerinde (sayfa 57) anlatıldığı gibi hazırlanarak sterilize edildi. Ancak otoklavdan alındıktan sonra tüplerdeki besiyerinin dik durumda katılaşması sağlandı.

UYGULAMA

A- Örneğin Analiz için Hazırlanması

Analizi yapılacak mama örneğini içeren şişe buzdolabından alınarak 15151 oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi.

- a. 1 gr. mama örneği hassas terazide aseptik koşullarda steril aliminyumlu kağıt üzerinde tartılarak, 99 ml. steril damıtık su (sayfa 55) içeren dilüsyon şişelerine aktarıldı. iyice karıştırıldıktan sonra canlı aerobik bakteri sayımı ve küf sayımı testlerinde ana dilüsyon olarak kullanıldı.
- b. 5 gr. mama örneği hassas terazide aseptik koşullarda tartılarak 45 ml. steril serum fizyolojik (sayfa 55) içeren 100 ml.lik erlenlere aktarıldı. Etüvde 37°C de 20-30 dakika tutularak iyice karıştırıldıktan sonra, koliform bakteriler tesbit edilerek enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması, Staphylococcus aureus'un bulunup bulunmadığının ortaya konması, Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların bulunup bulunmadığının saptanması, Pseudomonas aeruginosa aranması, Salmonella ve Shigella aranması, Clostridium perfringens ve diğer anaerob mikroorganizmaların bulunup bulunmadığının saptanması testleri için ana dilüsyon olarak kullanıldı.

B- Uygulanan Testler

I- Aerobik koşullarda uygulanan testler

1. Canlı aerobik bakteri sayımı

1 gr. mama ile hazırlanmış 10^{-2} dilüsyondan 1 ml ve 0.1 ml (10^{-3} dilüsyon) miktarlarında steril pipetlerle alınan ikişer örnek steril petri kutularına aktarıldı. Eritilerek yaklaşık 47°C ye soğutulmuş Plate Count Agar'dan petrilere 15 ml kadar

ilave edildi. Petriler, dikkatlice bir kaç defa saat yönünde bir kaç defa da aksi yönde hareket ettirilerek örneğin besiyerine homojen olarak dağılması sağlandı. Besiyeri katılaştıktan sonra petri kutuları ters çevrilerek $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 48 saat inkubasyona alındı. Inkubasyon sonunda 300 den az koloni içeren petri kutularındaki koloniler sayıldı. Sonuç dilüsyon faktörü ile çarpılarak 1 gr. örnekteki canlı aerobik bakteri sayısı hesaplandı (74,77).

2. Koliform bakteriler tesbit edilerek enterik bakterilerin bulunup bulunmadığının saptanması

5 gr. mama ile hazırlanmış 10^{-1} dilüsyondan 0.1 ml (10^{-2} dilüsyon) miktarda alınan iki örnek Eosine Methylene Blue besiyerinin orta kısmına aktarıldı. Örnek, aseptik koşullarda steril cam yaba öze ile besiyeri yüzeyine yayıldı. Petri kutuları ters çevrilerek $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkubasyona terk edildi. Besiyerinde madeni refle vererek üreyen *Escherichia coli* ve yumuşak yapışkan görünümlü *Klebsiella* şüpheli kolonilere gram boyama, IMVIC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Citrate), TSI (Triple Sugar Iron) ve Üre testleri uygulandı. Gram negatif basil görünümünde olan koloniler IMVIC, TSI ve Üre testleri sonuçları tablolarla (82,36) karşılaştırarak *Escherichia coli* veya *Klebsiella* olarak belirlendi (36,76,77,78).

3. *Staphylococcus aureus*'un bulunup bulunmadığının ortaya konması

5 gr. mama ile hazırlanmış 10^{-1} dilüsyonundan 0.1 ml. (10^{-2} dilüsyonu) miktarında alınan iki örnek Kanlı Plak besiyerinin orta kısmına aktarıldı. Örnek, aseptik koşullarda steril cam yaba öze ile besiyeri yüzeyine yayıldı. Petri kutuları ters

çevrilerek $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkübasyona terkedildi (76).
İnkübasyon sonunda besiyerinde β -hemoliz gösteren *Staphylococcus aureus* şüpheli kolonilere, gram boyama, koagüloz ve mannitol testleri uygulandı. Gram boyamada tipik üzüm salkımı görünümünde olan koloniler koagülaz ve mannitol pozitif iseler *Staphylococcus aureus* olarak belirlendi (75,76,78,79).

4. Küf sayımı

1 gr. mama ile hazırlanmış 10^{-2} dilüsyondan 1 ml. ve 0.1 ml. (10^{-3} dilüsyon) miktarlarda ikişer örnek steril petri kutularına aktarıldı. Petrilere 15 ml. kadar, eritilerek yaklaşık 47°C ye soğutulmuş Potato Dextrose Agar ilave edildi. Petriler dikkatlice birkaç defa saat yönünde birkaç defa da aksi yönde hareket ettirilerek örneğin besiyerine homojen olarak dağılması sağlandı. Petriler düz şekilde, oda sıcaklığında ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 5 gün süre ile inkübasyona alındı. İkinci günden itibaren petriler kontrol edilerek sayımı zorlaştıracak kadar miçelyum içeren koloniler sayıma alındı. Sayılan koloni miktarı ile dilüsyon faktörü çarpılarak 1 gr. mama örneğindeki küf ürememesi hesaplandı (77,83).

5. Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların bulunup bulunmadığının saptanması

Staphylococcus aureus'un bulunup bulunmadığının ortaya konması testinde inkübasyona alınan Kanlı Plak besiyeri üzerinde küçük, yuvarlak *Streptococcus* şüpheli kolonilere gram boyama ve katalaz testi uygulandı. Gram boyamada tipik zincir görünümünde olan koloniler katalaz negatif iseler Lancefield Grup D (faecal) *Streptococcus* olarak belirlendi (76,80).

6. *Pseudomonas aeruginosa* aranması

5 gr. mama ile hazırlanan 10^{-1} dilüsyondan 1 ml miktarlarda

alınan ikişer örnek Buyyon besiyeri ve Yatık Jeloz besiyerine inoküle edildi. Tüpler $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de, 24-48 saat inkübasyona terk edildi. Besiyerinde yaygın mavi-yeşil renk görülürse *Pseudomonas aeruginosa* bulunduğu sonucuna varıldı. Doğrulama olarak gram boyama ve şeker testleri uygulandı. Gram negatif basil görünümünde olan kolonilerin şeker test sonuçları tablolarla (36) karşılaştırılarak *Pseudomonas aeruginosa* olup olmadığına karar verildi.

7. Salmonella ve Shigella aranması

5 gr. mama ile hazırlanan 10^{-1} dilüsyondan 0.1 ml (10^{-2} dilüsyonu) miktarlarda iki örnek *Salmonella-Shigella* Agar'ın orta kısmına aktarıldı. Örnek, aseptik koşullarda steril cam yaba öze ile besiyeri yüzeyine yayıldı. Petri kutuları ters çevrilerek $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkübasyona terkedildi. Inkübasyon sonunda besiyerinde küçük, yuvarlak, renksiz, kenarları düzgün *Salmonella* ve *Shigella* şüpheli kolonilere gram boyama, TSI ve Üre testleri uygulandı. Gram negatif basil görünümünde olan kolonilerin TSI ve Üre test sonuçları tablolarla (36,82) karşılaştırılarak *Salmonella* ve *Shigella* olup olmadıkları saptandı.

Doğrulama olarak *Salmonella* ve *Shigella* polivalent O anti-serumuyla aglutinasyon testleri uygulanarak *Salmonella* veya *Shigella* olup olmadıklarına karar verildi. (74,76,77,78).

II- Anaerobik koşullarda uygulanan testler :

1. *Clostridium perfringens* ve diğer anaerob mikroorganizmaların bulunup bulunmadığının saptanması

5 gr. mama ile hazırlanan 10^{-1} dilüsyondan 0.5 ml miktarlarda

ikişer örnek, 80-85°C deki Cooked Meat Medium ve Dik Jeloz besiyerlerine, tüpleri fazlaca sarsmadan inoküle edildi. Tüplerin ağızlarındaki pamuk yakılarak tüpün içine doğru itildi. Tüplerin ağızları parafilm ile kaplanarak 37 ± 1°C de 48 saat inkübasyona alındı. Inkübasyon sonunda her iki besiyerinde üreme olup olmadığı ve gaz oluşumu gözlemlendi. Dik Jeloz besiyerinin dip kısmında görülen kolonilerden gram boyama yapıldı. Cooked Meat Medium besiyerinden steril pastör pipeti ile alınan örneklerle şeker testleri uygulandı (Sayfa 69). Gram pozitif, subterminal sporlu ya da sporsuz Clostridium perfringens şüpheli kolonilerin şeker test sonuçları tablolarla (84) karşılaştırılarak Clostridium perfringens olup olmadığına karar verildi (76, 78, 85).

TAMAMLAYICI TESTLER

1. Koagülaz Testi

A. Lamda koagülaz testi

Temiz bir lam üzerine bir damla damıtık su damlatıldı. Öze ile Staphylococcus aureus şüpheli koloniden örnek alınarak su damlası ile birlikte süt görünümünde bir suspansiyon elde edilinceye kadar ezildi. Bunun üzerine bir damla plasma (Bacto Coagulase Plasma, Difco dehydrated) damlatıldıktan sonra lama döndürme hareketleri yaptırılarak bir dakika beklendi. Siyah bir zemin üzerinde gözlenen lamda koagüle kitleler veya flokanlar görüldüğünde netice pozitif olarak kabul edildi (78).

B. Tüpte koagülaz testi

Kullanılan besiyeri :

Brain Heart Infusion Broth (Oxoid, dehydrated)

Calf Brain Infusion Solids	12.5 gr.
Beef Heart Infusion solids	5.0 gr.
Protease Peptone	10.0 gr.
Sodium Peptone	5.0 gr.
Dextrose	2.0 gr.
Disodium phosphate	2.5 gr.

Hazır karışımdan 37 gr. tartılarak 1000 ml damıtık su içinde eritilip, pH = 7.4 ± 0.1 e ayarlandı. Tüplere 10 ml miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

Testin yapılışı :

Besiyerinden *Staphylococcus aureus* şüphesi ile ayrılan koloniden Brain Heart Infusion Broth besiyerine ekimler yapıldı. Tüpler 37 ± 1°C de 18-24 saat inkübasyona alındı. Steril bir test tüpüne 0.3 ml sulandırılmış plasma (Bacto Coagulase Pölasma, Difco dehydrated) ve üzerine 0.2 ml *Staphylococcus aureus* şüpheli kültürden aktarılarak 37 ± 1°C de inkübasyona alındı. Tüpler birinci yarım saatten itibaren devamlı kontrol edilerek pıhtılaşma olup olmadığı gözlemlendi. Test, 24 saat sonunda pıhtılaşma yoksa negatif olarak kabul edildi (78).

2. IMVIC Testleri

A. İndol Testi :

Kullanılan besiyeri :

Tryptone Water (sayfa 42) bu test için besiyeri olarak kullanıldı.

Kovac's ayıracı :

Para-dimethylaminobenzaldehyde	5 gr.
Amyl alcohol	75 ml.
Hydrochloric acid	25 ml.

Para-dimethylaminobenzaldehyde, Amyl alcohol üzerine aktarılarak iyice karıştırıldı. Bunun üzerine Hydrochloric acid ilave edilerek tekrar iyice karıştırıldı.

Testin Yapılışı :

Besiyerinden *Escherichia coli* veya *Klebsiella şüphesi* ile ayrılan koloniden Tryptone Water besiyerine ekimler yapıldı. Tüpler $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24 saat inkübasyona terkedildi. Inkübasyon sonunda tüplere 0.2-0.3 ml Kovac's ayıracı ilave edildi. Besiyerinin üst kısmında kırmızı bir halka gözlenildiğinde netice pozitif olarak kabul edildi (78).

B- Methyl Red Testi :

Kullanılan besiyeri :

Clark-Lubs Besiyeri (78)

Peptone	5.0gr.
Dextrose	5.0 gr.
Dipotassium phosphate	5.0 gr.

Karışım 800 ml damıtık su içine aktarıldı. Hafif ısıda tutularak iyice karıştırıldı, $\text{pH} = 7.5 \pm 0.1$ e ayarlandı. Süzgeç kağıdından (Carlschleicher ve Schüll, No: 5891, Germany) geçirilip soğutulduktan sonra hacmi 1000 ml ye tamamlandı. Küçük test tüplerine 6-7 ml dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi.

Methyl Red Ayıracı :

Methyl Red	0.1 gr.
Ethyl alcohol (% 96)	300 ml.

Methyl red, Ethyl alcohol içinde eritildikten sonra 200 ml damıtık su ilave edildi ve iyice karıştırıldı.

Testin Yapılışı :

Besiyerinden *Escherichia coli* veya *Klebsiella şüphesi* ile ayrılan koloniden Clark - Lubs besiyerine ekimler yapıldı. Tüpler $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkübasyona terkedildi. Inkübasyon sonunda besiyerine 6-7 damla Methyl red ayıracı ilave edildi. Besiyerinde kırmızı renk meydana geldiği gözlenirse netice pozitif olarak kabul edildi (78).

C. Voges - Proskauer Testi :

Kullanılan Besiyeri :

Clark - Lubs besiyeri (sayfa 65) bu test için de besiyeri olarak kullanıldı.

Ayıraç I :

Alfa naphtol	0.5 gr.
Ethyl alcohol (% 96)	10 ml.

Alpha naphtol, Ethyl alcohol içinde, iyice karıştırılarak eritildi.

Ayıraç II :

40 gr. potassium hidrokside damıtık su ile 100 ml. ye tamamlanarak iyice karıştırıldı.

Testin Yapılışı :

Besiyerinden *Escherichia coli* veya *Klebsiella şüphesi* ile ayrılan koloniden Clark - Lubs besiyerine ekimler yapıldı. Tüpler $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkübasyona terkedildi. Inkübasyon sonunda besiyerinin 1 ml si üzerine 0.6 ml Ayıraç I ve 0.2 ml Ayıraç II ilave edildi. İyice karıştırılarak 5 dakika beklendi. Bu süre sonunda besiyerinde kırmızı renk meydana gelirse netice pozitif olarak kabul edildi (78).

D- Citrate Testi :

Kullanılan Besiyeri (78) :

Simmon'un Citrate Jeloz Besiyeri

Sodium chloride	5.0 gr.
Magnesium sulphate	0.2 gr.
Amonium dihydrogen phosphate	1.0 gr.
Dipotassium phosphate	1.0 gr.
Sodium citrate	2.0 gr.
Agar	20.0 gr.

Karışım 1000 ml. damıtık su içinde eritildi. Brom tymol mavisinin sudaki 1/500 solusyonundan 40 ml. ilave edildi. $\text{pH} = 6.8 \pm 0.1$ e ayarlandı.

Tüplere 5 ml. miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Tüpler otoklavdan alındıktan sonra yatık durumda besiyerinin katılaşması sağlandı.

Testin Yapılışı :

Besiyerinden *Escherichia coli* veya *Klebsiella şüphesi* ile ayrılan koloniden Simmon'un Citrate Jeloz besiyerine çizgi ekimi yapıldı. Tüpler $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkubasyona alındı. Inkubasyon sonunda besiyerinin rengi mavileşirse netice pozitif olarak kabul edildi (78).

3- Katalaz Testi :

Temiz bir lam üzerine 1 ml. % 3 lük H_2O_2 aktarıldı. Besiyerinden Lancefield Grup D (faecal) *Streptococcus şüphesi* ile ayrılan kolonilerden örnek alınıp, H_2O_2 içinde ezilerek dağıtıldı. H_2O_2 den oksijenin açığa çıkması ile belirlenen gaz kabarcıkları gözlenirse netice pozitif olarak kabul edildi (78).

4- Üre Testi :

Kullanılan besiyeri.

Christensen'in Üre Jeloz besiyeri (78)

Üre	20.0 gr.
Dextrose	1.0 gr.
Peptone	1.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Monopotassium phosphate	2.0 gr.
Phenol red	0.125 gr.

Karışım 100 ml. damıtık su içinde eritilerek $\text{pH} = 6.8 \pm 0.1$ e ayarlandı. Seitz filtresinden süzülerek sterilize edildi.

15 gr. agar 900 ml. damıtık su içine aktarılarak hafif ısıda eritilip, 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 47°C ye soğutularak, aseptik koşullarda yukardaki karışıma aktarıldı ve iyice karıştırıldı. Steril tüplere 7 ml miktarlarda dağıtılarak yatık durumda besiyerinin katılaşması sağlandı.

Testin Yapılışı :

Besiyerinden şüphe üzerine alınan koloniden Christensen'in Üre Jeloz Besiyerinin yatık yüzüne çizgi ekimi yapıldı. $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkubasyona terkedildi. Inkubasyon sonunda besiyerinin rengi kırmızıya dönüşmüşse netice pozitif olarak kabul edildi (78).

5- TSI Testi :

Kullanılan besiyeri.

Triple-Sugar Iron ^{Agar} (TSI) (Oxoid, dehydrated)

"Lab-lemco" Beef extract	3.0 gr.
Yeast extract	3.0 gr.
Peptone	20.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Lactose	10.0 gr.
Sucrose	10.0 gr.
Dextrose	1.0 gr.
Ferric citrate	0.3 gr.
Sodium thiosulphate	0.3 gr.
Phenol red	q.s
Agar No.3	12.0 gr.

Hazır karışımdan 65 gr. tartılarak 1000 ml. damıtık su içine aktarıldıktan sonra pH = 7.4 ± 0.1 e ayarlandı. Besiyeri hafif ısıda sık sık karıştırılarak eritildi. Küçük test tüplerine 5 ml. miktarlarda dağıtılarak 121°C de 20 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra tüpler yatık durumda tutularak besiyerinin katılaşması sağlandı.

Testin Yapılışı :

Besiyerinden şüphe üzerine alınan koloniden TSI besiyerinin yatık yüzüne çizgi ekimi yapıldı ve $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkubasyona terkedildi. Inkubasyon sonunda besiyerinde görülecek renk değişiklikleri tesbit edilerek değerlendirmeye gidildi (78,82).

6. Şeker Testleri :

Kullanılan besiyeri :

Karbonhidratlı Fermantasyon besiyeri (78)

Peptone	10.0 gr.
Beef extract	6.0 gr.
Sodium chloride	5.0 gr.
Phenol red	0.025 gr.
Carbohydrate (istenen)	10.0 gr.

Karışım 1000 ml damıtık su içinde eritilerek pH = 7.4 ± 0.1 e ayarlandı. Ters durumda durham tüpü içeren test tüplerine 5 ml miktarlarda dağıtılarak, 121°C de 10 dakika sterilize edildi. Otoklavdan alındıktan sonra, durham tüplerinde hava kabarcığı olup olmadığı kontrol edildi.

Testin Yapılışı :

İncelenecek koloniden öze. ile alınarak Karbonhidratlı Fermantasyon besiyerine ekimler yapılarak 37 ± 1°C de 24-48 saat inkubasyona terkedildi. İnkubasyon sonunda besiyerinde meydana gelecek renk değişikliği ve gaz oluşumu incelendi.

GRAM BOYAMA TEKNİĞİ (78) :

Kullanılan Çözeltiler :

1. Hucker'in Crystal Violet çözeltisi.

a) Crystal violet	10 gr.
Ethyl alcohol (% 96)	100 ml.

Crystal violet uygun porselen bir kroze içinde iyice ezilerek üzerine 100 ml. Ethyl alcohol ilave edildi ve süzgeç kağıdından süzüldü.

b) Ammonium oxalate	10 gr.
Damıtık su	100 ml.

Ammonium oxalate damıtık su içinde iyice ezilerek karıştırıldı. Kullanılacağı zaman (a) ve (b) çözeltileri birbirine karıştırıldı.

2. İyot çözeltisi

Iode "crystal"	1 gr.
Potassium iodure	2 gr.
Damıtık su	300 ml.

İyot ve potassium iyodüre damıtık su içinde kuvvetlice çalkalanarak eritildi.

3. Safranine çözeltisi

Safranine	0.25 gr.
Ethyl alcohol (% 96)	10 ml.
Damıtık su	100 ml.

Önce safranine, Ethyl alcohol içinde eritildi. Daha sonra damıtık su ilave edilerek süzgeç kağıdından süzüldü.

Bir bakterinin gram reaksiyonunu saptamak için önce temiz bir lam üzerinde preparatı hazırlandı. Bunun üzerine Hucker'in Crystal violet çözeltisi yayılarak 1 dakika bekletildi. Preparat damıtık su ile yıkandıktan sonra iyot çözeltisi damlatılarak bir dakika daha beklendi. Preparat, % 96 lık Ethyl alcohol ile deklöre edilerek damıtık su ile tekrar yıkandı. Preparata Safranine çözeltisinden damlatılarak 10-20 saniye kadar beklendi. Damıtık su ile yıkanarak kurutuldu.

Bu preparat üzerine immersion yağı damlatılarak immersiyon merceğinde, mikroskopta incelendi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Araştırmada UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemlerine göre incelenen ve hazır ticari çocuk mamalarında saptanan ortalama canlı aerobik bakteri sayıları ve ortalama küf sayıları arasındaki ayrıcalıkların istatistiksel bakımdan önemli olup olmadığı t-testi ile kontrol edildi (86).

B U L G U L A R

UNICEF yöntemleri ile birinci grup testlerde bütün mama örnekleri incelenmeye alınmıştır. Bulgular, UNICEF'in kuru haldeki çocuk mamalarının spesifikasyonları ile karşılaştırılmış; sadece Arımama, Paromama ve Calsilac örneklerinin ikinci grup testlerde incelenmesine gerek duyulmuştur. Bu mamarlarla ikinci grup testlerden elde edilen bulgular spesifikasyonlardaki tolerans değerleriyle karşılaştırıldığında üçüncü grup testlerin uygulanmasına gerek duyulmadığı görülmüştür.

Hıfzıssıhha yöntemleriyle bütün mama örnekleri tek bir aşamada ve iki grupta incelenmeye alınmış ve elde edilen bulgular tüzüğümüzde belirlenen spesifikasyon değerleriyle karşılaştırılmıştır.

Her iki yöntemle elde edilen bulgular sırasıyla şöyledir :

Canlı Aerobik Bakteri Sayımı :

Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamalarının 1 gramlarında saptanan ortalama canlı aerobik bakteri sayısı ile en düşük ve en yüksek değerler Tablo 18 de görülmektedir.

Tablo 18 : Ankara Piyasasında Satılan Hazır Çocuk Mamalarında UNICEF ve Hıfzıssıhha Yöntemleriyle Saptanan En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Canlı Aerobik Bakteri Sayıları.

Mama Adı (b)	Yöntem (c)	Canlı Aerobik Bakteri Sayısı / gr. (a)		
		En Düşük	En Yüksek	Ortalama
Sekmama	UNICEF	300	900	450
	HIFZISSIHHA	300	800	425
Behefe	UNICEF	700	1000	867
	HIFZISSIHHA	600	1200	842
Homolac	UNICEF	1100	1500	1258
	HIFZISSIHHA	1100	1500	1258
Calsilac	UNICEF	800	2500	1375
	HIFZISSIHHA	800	2200	1375
SMA-S-26	UNICEF	1100	2100	1575
	HIFZISSIHHA	1000	2200	1391
Citrolac	UNICEF	2100	3600	2866
	HIFZISSIHHA	2000	3100	2675
Çapamarka	UNICEF	2800	3300	3000
	HIFZISSIHHA	2800	3600	3266
Lamed	UNICEF	2400	4000	3050
	HIFZISSIHHA	2200	3000	2475
Paromama	UNICEF	4200	9000	6233
	HIFZISSIHHA	4000	8800	6341
Arımama	UNICEF	5800	60000	27666
	HIFZISSIHHA	5800	60000	26108

(a) Değerler 12 sayımın (3 örnek x 2 tekrar x 2 paralel çalışma) ortalamasıdır.

(b) Mama adlarının sıralanışı ortalama bakteri sayısı UNICEF yöntemine göre düşük olandan yüksek olana doğrudur.

(c) UNICEF : UNICEF tarafından önerilen yöntemle saptanan.
HIFZISSIHHA : SSYB. Hıf. Enst. Bak. Şb. de uygulanan yöntemle saptanan.

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleriyle incelenen mama örneklerinde saptanan ortalama canlı aerobik bakteri sayıları arasındaki ayrıcalık t-testi ile değerlendirilmiş ve % 95 güven eşiğinde önemsiz olduğu görülmüştür ($P > 0.257$).

Mamaların ortalama canlı aerobik bakteri sayısı gruplarına göre dağılımı Tablo 19 da görüldüğü gibidir.

Tablo 19 : Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mamalarının Ortalama Canlı Aerobik Bakteri Gruplarına Göre Dağılımı (a).

Öntem	Ortalama Canlı Aerobik Bakteri Sayısı / gr.							
	< 500	500-999	1000-1999	2000-2499	2500-2999	3000-3499	6000-6499	25000-30000
UNICEF	Sekmama	Bebefe	Homolac Calsilac SMA-S-26	-	Citrolac	Çapa Lamed	Paromama	Arımama
HIFZISSI.	Sekmama	Bebefe	Homolac Calsilac SMA-S-26	Lamed	Citrolac	Çapa	Paromama	Arımama

(a) Mama adlarının sıralanışı ortalama canlı aerobik bakteri sayısı, UNICEF yöntemine göre düşük olandan yüksek olana doğrudur.

Enterik Bakterilerin Durumu :

Uygulanan yöntemlerin her ikisi ile alınan sonuçlar, Arımama ve Paromama hariç (Tablo 20) Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamalarında enterik bakterilerin bulunmadığı doğrultusundadır.

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleri ile Arımama ve Paromama örneklerinin 10^{-2} dilüsyonlarında enterik bakteri varlığı belirlenmiş, Hıfzıssıhha yöntemlerine göre yapılan tiplendirme sonucu enterik bakterinin "Klebsiella" olduğu saptanmıştır.

Tablo 20 : Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mama-
larında Enterik Bakterilerin Varlığı (a) (b).

Mama Adı	UNICEF Yöntemi			Hıfzıssıhha Yöntemi			Teşhis	
	Dilüsyon			Dilüsyon 10 ⁻²	Tiplendirme Testleri			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴		IMVIC	TSI		Üre
Arımama	+	+	-	+	---++	+	-	Klebsiella
Paromama	+	+	-	+	---++	+	-	Klebsiella
Diğer mamalar	-	-	-	-	Değişik	-	-	-

- (a) Her mama için yapılan 12 analizin sonuçları aynı olduğundan değerlendirme tek (+) veya tek (-) işaretiyle gösterilmiştir.
- (b) (+) işareti kesin enterik bakteri varlığını, (-) işareti enterik bakterilerin saptanamadığını göstermektedir.

Staphylococcus aureus Durumu :

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemlerine göre incelenen 30 mama örneğinin hiçbirisinde Staphylococcus aureus varlığı saptanamamıştır.

Küf Sayımı :

Her iki yönteme göre küf üremesi saptanan mamalar (Arımama, Paromama ve Calsilac) ile bu mamalarda en düşük, en yüksek ve ortalama küf sayıları Tablo 21 de verilmiştir. Diğer mama örneklerinde küf üremesi gözlenememiştir.

Tablo 21 : Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mama-
larından Küf Üremesi Saptananlarda En Düşük, En Yük-
sek ve Ortalama Küf Sayıları.

Küf Üremesi Saptanan Mama	Yöntem	Küf Sayısı / gr. (a)		
		En Düşük	En Yüksek	Ortalama
Paromama	UNICEF	200	3800	2250
	HIFZISSIHHA	200	3900	2291
Arımama	UNICEF	400	3500	1766
	HIFZISSIHHA	700	3500	2133
Calsilac	UNICEF	500	1900	1175
	HIFZISSIHHA	700	1900	1158

(a) Değerler 12 sayımın (3 örnek x 2 tekrar x 2 paralel çalışma) ortalamasıdır.

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleriyle incelenen mamalarda saptanan ortalama küf sayıları arasındaki ayrıcalık t-testi ile değerlendirilmiş ve % 95 güven eşiğinde önemsiz olduğu görülmüştür ($P > 0.2766$).

Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamalarının ortalama küf sayısı gruplarına göre dağılımı ise Tablo 22 de görüldüğü gibidir.

Tablo 22 : Ankara Piyasasında Satılan Hazır Ticari Çocuk Mamalarının Ortalama Küf Sayısı Gruplarına Göre Dağılımı.

Yöntem	Ortalama Küf Sayısı / gr.			
	Üreme Yok	1100-1199	1700-2199	2200-2299
UNICEF	Sekmama SMA-S-26 Çapamarka Homolac Citrolac Bebefe Lamed	Calsilac	Arımama	Paromama
HIFZISSIHHA	Sekmama SMA-S-26 Çapamarka Homolac Citrolac Bebefe Lamed	Calsilac	Arımama	Paromama

Canlı Aerobik Spor Sayımı :

UNICEF yöntemine göre kuru haldeki çocuk mamalarında canlı aerobik spor sayımı ikinci grup testler arasında öngörüldüğünden, UNICEF yöntemiyle sadece Arımama, Paromama ve Calsilac örnekleri incelenmiştir. Bu mamalarda saptanan en düşük, en yüksek ve ortalama canlı aerobik spor sayıları Tablo 23 de görülmektedir.

Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakteriyoloji Şubesinde hazır ticari çocuk mamaları canlı aerobik spor sayıları yönünden incelenmemektedir.

Tablo 23 : UNICEF Yöntemlerine Göre Arımama, Paromama ve Calsilac'da Saptanan En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Canlı Aerobik Spor Sayıları.

Mama Adı	Canlı aerobik spor sayısı / gr. (a)		
	En Düşük	En Yüksek	Ortalama
Arımama	800	2150	1385
Paromama	250	410	307
Calsilac	50	80	66

(a) Değerler 12 sayımın (3 örnek x 2 tekrar x 2 paralel çalışma) ortalamasıdır.

Escherichia coli Durumu :

UNICEF yöntemlerine göre kuru haldeki çocuk mamalarında Escherichia coli bulunup bulunmadığının saptanması ikinci grup testler arasında öngörüldüğünden UNICEF yöntemleriyle sadece Arımama, Paromama ve Calsilac incelenmiştir.

Hıfzıssıhha yöntemleri Escherichia coli'nin bulunup bulunmadığının ortaya konması amacıyla bütün mama örneklerine uygulanmıştır.

Her iki yöntemle de incelenen mama örneklerinin hiçbirisinde Escherichia coli'nin varlığı saptanamamıştır.

Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların Durumu :

UNICEF yöntemlerine göre kuru haldeki çocuk mamalarında Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların bulunup bulunmadığının saptanması ikinci grup testler arasında öngörüldüğünden, UNICEF yöntemleriyle sadece Arımama, Paromama ve Calsilac incelenmiştir. Bu mamalarda Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus'ların varlığı Tablo 24 de gösterilmiştir.

Tablo 24 : Arımama, Paromama ve Calsilac'da UNICEF Yöntemlerine Göre Saptanan Lancefield D (faecal) Streptococcus'ların Varlığı (a) (b).

Mama Adı	Örnek No.	Dilüsyon		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Arımama	1	+	-	-
	2	+	+	+
	3	+	-	-
Paromama	1	+	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
Calsilac	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-

(a) Her örnek için 4 (2 tekrar x 2 paralel) değerlendirilmenin sonucudur.

(b) + = Var
- = Yok

Hıfzıssıhha yöntemlerine göre yapılan analizlerde mama örneklerinin hiçbirisinde Lancefield Grup D (faecal) Streptococcus varlığı saptanmamıştır.

Clostridium perfringens ve Diğer Anaeroblar :

Arımama, Paromama ve Calsilac örneklerine uygulanan ve UNICEF yöntemlerinde ikinci grup testlerde yer alan Clostridium perfringens sayım sonuçları Tablo 25 de görülmektedir.

Tablo 25 : UNICEF Yöntemlerine Göre Arımama, Paromama ve Calsilac Örneklerinde En Düşük, En Yüksek ve Ortalama Clostridium Perfringens Sayıları.

Mama Adı	Clostridium perfringens sayısı / gr. (a)		
	En Düşük	En Yüksek	Ortalama
Arımama	20	30	25
Paromama	10	20	13
Calsilac	-	-	-

(a) Değerler her mama çeşidi üzerinde yapılan 12 analiz (3 örnek x 2 paralel x 2 tekrar çalışma) sonucu ortalamasıdır.

Hıfzıssıhha yöntemlerine göre anaerobik koşullarda bütün mama örneklerine uygulanan, Clostridium perfringens ve diğer anaerobların aranmasına ilişkin testler (Tablo 26); Clostridium butyricum (Çapamarka ve Sekmama hariç incelenen mama çeşitlerinin hepsinde), Clostridium sporogenes (Çapamarka ve Paromama'da) ve Clostridium novyi Tip-A (Selmama) nin varlığına işaret etmektedir.

Pseudomonas aeruginosa durumu :

Hıfzıssıhha yöntemlerine göre incelenen mama örneklerinin hiçbirinde Pseudomonas aeruginosa varlığı saptanamamıştır.

Salmonella ve Shigella durumu :

Hıfzıssıhha yöntemlerine göre incelenen mama örneklerinin hiçbirinde Salmonella ve Shigella varlığı saptanamamıştır.

Tablo 26 : Hıfzıssıhha Yöntemlerine Göre Ankara Piyasasında Satılmakta Olan Hazır Ticari Çocuk Mamalarında Clostridium perfringens ve Diğer Anaerobların Varlığı.

Mama adı (a)	Besiyerinde gözlenen (b)		Mikrokokobik bulgular		Şeker Testleri					Teşhis	
	Cooked Meat Medium	Dik Jeloz	Gram Boyama	Morfoloji	Spor	Lak.	Sak.	Man.	Glu.		Dul. Sal.
Arımama (1,2,3)	H,G	G	+	Basil	Subterminal						
SMA-S-26 (2)	Y	G	+	Basil	Subterminal						
Paromama (2)	H,G	G	+	Basil							
Calsilac (1,2,3)	H	G	+	Basil		+	+	+	+	-	+ Clostridium butyricum
Lamed (2)	G	G	+	Basil							
Citrolac (2,3)	H,G	U	+	Basil							
Bebefe (2,3)	H	G	+	Basil	Subterminal						
Homolac (1,2,3)	H,G	G	+	Basil	Subterminal						
Çapamarka (1,2,3)	Y	D	+	Basil		-	+	-	+	+	-/+ Clostridium sporogenes
Paromama (3)	Y	D	+	Basil	Subterminal						
Sekmama (2)	G	D	+	Basil		-	+	-	-/+	+	- Clostridium novyi Tip-A

(a) Mama adları altındaki rakamlar, mama çeşidinin hangi örneklerinin incelendiğini göstermektedir. (Cooked Meat Medium'da karışık flora görülen örnekler, şeker testleri sonuçlarının yanlış değerlendirmeye yol açacağı nedeniyle elimine edilmişlerdir).

(b) H = Hazım, G = Gaz, Y = Hazım ve gaz yok, D = Dipte üreme, U = Üreme yok.

T A R T I Ő M A

Çocuk mamaları, ilk defa emzirme olanağının güçleŐtiğı ya da ortadan kalktığı koşullarda anne sütü yerine kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Günümüzde, çeşitli ticari isimler altında, anne sütünün yerini tutan ya da anne ve inek sütünü tamamlayıcı nitelikte çocuk mamaları pazarlarda satılmaktadır (4,31).

GeliŐmiŐ ve gelişmekte olan ülkelerde son yıllarda, çeşitli sosyal ve kültürel faktörlerin etkisiyle çocuk besleme uygulamalarında görülen değıŐmelere paralel olarak hazır ticari çocuk mamaları tüketimi artmaktadır (4,24). Çocuk mamaları, çocuğın sağılıklı beslenmesi amacına dönük bütün özelliklere sahip olmalıdır. Bu nedenle, hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik durumunun incelenmesinin ve mikrobiyolojik standartlar geliŐtirilmesinin gereğı ve önemi, çocuk sağılığı yönünden yararları açıktır.

Gıdalarda mikrobiyolojik standartlar 2 türdür :

1. Spesifik patojen mikroorganizmalar için standartlar,
2. Belirli indikatör mikroorganizmaların sayımına ya da total bakteri sayısına dayanan standartlar.

Genellikle her iki tip standardı bir arada kapsayan mikrobiyolojik standartlar tercih edilmektedir.

Türkiye'de hazır ticari mamaların mikrobiyolojik kalitesine ilişkin araştırmalar yok denecek kadar azdır (71,72). Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakterioloji Şubesi, kendilerine gönderilen şikâyet konusu mamaları incelemektedir. Ancak, yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar yayınlanmamıştır. Bu nedenle gıda hijyeni ve sanitasyonun öneminin henüz yeterince anlaşılmadığı Ülkemizde, tüketim düzeyi gün geçtikçe artan hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik kalitelerine ilişkin araştırmaların yapılması zorunludur.

Bu çalışma, Ankara piyasasında satılmakta olan hazır ticari çocuk mamalarının UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleriyle mikrobiyolojik durumunu ortaya koyan bulguları karşılaştırmalı olarak sunmaktadır.

İncelenen 10 çeşit hazır ticari çocuk maması 5 ayrı firma tarafından yapılarak piyasaya sürülmektedir. Mamaların yapım tekniği ve bileşimleri hakkında her firmadan ayrı ayrı bilgi istenmişse de Wyeth firması dışındakilerden cevap alınamamıştır. Bu nedenle, mamaların yapım tekniği, mikrobiyolojik analizler öncesi süreçte içinde buldukları koşullar ile araştırma bulguları arasındaki ilişkinin derecesi saptanamamıştır.

Uygulanan Yöntemler : Mamaların mikrobiyolojik analizlerinde kullanılan UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleri (6,73) arasında gerek uygulama ve gerekse değerlendirme bakımından bazı ayrıcalıklar bulunmaktadır. Bu ayrıcalıklar, UNICEF ve Hıfzıssıhha tarafından farklı spesifikasyonların kullanılmasından doğmaktadır (Tablo 16 ve 17).

Ülkemizde çocuk mamaları tüzüğü hükümleri (3,5) genel kapsamlıdır ve

mamalarda mikrobiyolojik kaliteyi daha çok kalitatif olarak değerlendirmektedir (E.coli ve canlı aerobik bakteri sayımı hariç). Hıfzıssıhha Enstitüsü yetkilileri de uyguladıkları yöntemlerin çocuk mamaları tüzüğü esas alınarak ve genellikle kalitatif sonuçlar verecek şekilde seçildiğini belirtmektedirler (73). Böylece, Hıfzıssıhha yöntemlerinde genel besiyerleri kullanılmaktadır ve bulguların değerlendirilmesinde yetenekli teknik elemanlara ihtiyaç duyulmaktadır.

UNICEF yöntemlerinde, mikrobiyolojik spesifikasyonlarda belirlenen hedefler doğrultusunda ve sistemli olarak sıralanan testler için daha spesifik besiyerleri kullanılmakta, bulguların değerlendirilmesi kolaylaşmaktadır.

UNICEF yöntemlerinde, mama örneğinin canlandırma veya zenginleştirme besiyerinde ya da her ikisinde birden bir süre inkübasyona alındıktan sonra mikroorganizmanın tanımlanması yoluna gidilmesi, yöntemler arasındaki bir başka ayrıcalık olarak gözlenmiştir.

Canlı Aerobik Bakteri Sayısı : İncelenen mamaların tümünde ortalama canlı aerobik bakteri popülasyonu (Tablo 18 ve 19) UNICEF'in önerdiği maksimum tolerans sınırlarından ($10^5/g$) daha düşüktür. Ancak, Hıfzıssıhha yöntemiyle alınan sonuçlar, Arımama (26108/g) ve Paromama (6341/g) da popülasyonun çocuk mamaları tüzüğünde öngörülen sınırı ($5 \times 10^3/g$) aştığını göstermektedir. En düşük düzeyde canlı aerobik bakteri sayısı Sekmama örneklerinde (425-450/g) saptanmıştır. Diğer mama çeşitlerinde popülasyon Sekmama ve Arımama değerleri arasında dağılım göstermektedir.

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemlerine göre ayrı ayrı saptanan ortalama canlı aerobik bakteri sayıları arasındaki ayrıcalık % 95 güven eşiğinde önemsiz bulunmuştur.

Enterik Bakteriler : Her iki yöntemle de yapılan analizler, yalnızca Arımama ve Paromama örneklerinde Enterik bakteri bulunduğunu göstermiştir (Tablo 20). Hıfzıssıhha yöntemlerine göre uygulanan testlerle enterik bakterilerin Klebsiella oldukları saptanmıştır. Bu sonuçlar, Orskov ve Sorensen (41) in yapay beslenen bebeklerde daha çok Klebsiella'ya rastlandığı yolundaki bulguları ile Bayrı (42) nin Klebsiella tanısı koyduğu örneklerin % 60 ının bebeklerden alınmış olduğunu belirten tezini desteklemektedir.

Çocuk mamaları tüzüğümüzde E.colinin yanısıra enterik bakteriler yönünden bağlayıcı koşulların bulunmaması, sağlık açısından sakıncalar yaratabilir.

Staphylococcus aureus : Her iki yöntemle göre incelenen örneklerin hiçbirisinde patojen Staphylococcus aureus saptanamamış olması sevindiricidir. Toplum sağlığı açısından/^{önemi} gözönüne alınarak çocuk mamaları tüzüğünde Staphylococcus aureus hakkında özel koşullar bulunmaması eksiklik olarak görölmektedir.

Küf üremesi : Her iki yöntemle göre incelenen mamalardan Arımama, Calsilac ve Paromama örneklerinde UNICEF'in önerdiği maksimum tolerans sınırlarını ($10^3/g$) aşan miktarlarda küf saptanmıştır (Tablo 21 ve 22). Çocuk mamaları tüzüğünde "çocuk mamalarında küflenme görölmeyecektir" koşulunun bulunması bu mamaların tüzüğümüze göre kullanılmayacak durumda olduğuna işaret etmektedir.

Her iki yöntemle göre küf üremesi görölen mamalardaki ortalama küf sayıları arasındaki ayrıcalık % 95 güven eşiğinde önemsiz bulunmuştur. Bu nedenle, hazır ticari çocuk mamalarında yöntemlerin her ikisi ile de küf sayımında aynı sonuçların alınacağı söylenebilir.

Canlı Aerobik Spor Sayısı : Yalnızca UNICEF yöntemleriyle ikinci grup testlerle incelenen Arımama, Calcilac ve Paromama örneklerindeki canlı aerobik spor popülasyonunun (Tablo 23) UNICEF spesifikasyonlarında belirlenen rakamlardan ($10^4/g$) daha düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Tüzüğümüzde bu konuda hükümlerin yer alıp almayacağı hususunun yapılacak araştırmaların ışığı altında belirlenmesi yararlı olacaktır.

Escherichia coli : Hıfzıssıhha yöntemleriyle incelenen tüm mama örneklerinde ve UNICEF yöntemleriyle incelenen Arımama, Calcilac ve Paromama örneklerinde E.coli saptanamamıştır. Özellikle çocuklarda diyare ile ortaya çıkan enfeksiyonlara neden oluşu ve gıdalarda fekal kontaminasyona işaret etmesi nedeniyle, mamalarda E.coli bulunmayışı memnunluk vericidir.

Lancefield Grup D Streptococlar : UNICEF yöntemleriyle incelenen Arımama örneklerinin hepsinde, Paromama örneklerinin yalnız birisinde Lancefield Grup D Streptococların bulunduğu saptanmıştır (Tablo 24). Karşılaştırma amacıyla mamalarda Hıfzıssıhha yöntemleriyle yapılan incelemede Lancefield Grup D Streptococlara rastlanmayışı, çocuk mamaları tüzüğünde bu konuda bir kayıt bulunmaması nedeniyle Hıfzıssıhha yöntemlerinde spesifik bir besiyerinin kullanılmaması ile açıklanabilir.

Clostridium perfringens ve Diğer Anaeroblar : UNICEF yöntemleri ile incelenen Calcilac örneklerinde Clostridium perfringens (Cl.perfringens) bulunmamasına karşılık, Arımama ve Paromama örneklerinde saptanan Cl. perfringens sayılarının (Tablo 25) UNICEF spesifikasyonlarında belirlenen hedef değerleri ($10/g$) aştıkları, ancak maksimum tolerans değerleriyle uyum halinde oldukları görülmüştür.

Hıfzıssıhha yöntemleriyle, çocuk mamaları tüzüğünde belirtilen koşul-

lar gereği, mamalarda patojen anaerobik mikroorganizmaların durumu incelenmiştir. Alınan sonuçlar, incelenen mama örneklerinin hiçbirisinde *Cl. perfringens* bulunmadığını göstermiştir. Ancak, Çapamarka ve Paromama örneklerinde *Cl.sporogenes*, Sekmamada *Cl.noyvi* Tip-A, Sekmama ve Çapamarka dışındaki diğer bütün mama örneklerinde *Cl.butyricum* bulunduğu saptanmıştır (Tablo 26).

S O N U Ç

Bu araştırma Türkiye'de hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik yönden incelenmesinde, UNICEF ve Hıfzıssıhha tarafından önerilen yöntemlerin rutin analizler açısından karşılaştırılması ve Ankara piyasasında satılan hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik niteliklerinin saptanmasına yönelik bir çalışmadır.

Her iki yönteme göre ayrı ayrı incelenen 10 çeşit hazır ticari çocuk mamasının mikrobiyolojik kaliteleri spesifikasyonlarda belirlenen değerlerle karşılaştırılarak ortaya konmaya çalışılmıştır.

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemlerine göre Sekmama, SMA-S-26, Lamed, Citrolac, Homolac, Bebefe ve Çapamarka'nın mikrobiyolojik kaliteleri bu mamaların bebek beslenmesinde güvenle kullanılacaklarını göstermektedir.

Arımama, Calcilac ve Paromama örneklerinde her iki yöntemle de spesifikasyon değerlerini aşan düzeylerde küf saptanması, bu mamaların kullanılmalarının sağlık açısından sakıncalı olacağına işaret etmektedir.

Arımama ve Paromamada Klebsiella bulunması, ülkemizde tüketim düzeyi yüksek olan bu iki mamanın diyare ile seyreden epidemilere ve diğer enfeksiyonlara neden olabileceklerini vurgulamaktadır. Arımama ve Paromama

örneklerinde saptanan *Cl.perfringens* sayılarının UNICEF'in hedef değerlerinden yüksek düzeyde olması da bu mamaların kullanılmalarının intoksikasyonlara yol açarak bebek ölümlerine neden olabileceğini düşündürmektedir.

UNICEF yöntemlerine göre, Arımama ve Paromama örneklerinde saptanan canlı aerobik spor sayıları tolerans değerlerinin altında olmasına rağmen, bebeklerde zararlı maddeleri detoksifiye etme yeteneğinin henüz tam teşekkül etmemiş olacağı nedeniyle üzerinde durulması gereken bir konu olarak görülmektedir.

İncelenen mama örneklerinin hiçbirisinde *E.coli* ve patojen *Staphylococcus aureus* bulunmamış olması, toplum sağlığı yönünden bu iki indikatör mikroorganizmanın önemleri dikkate alınınca büyük değer taşımaktadır.

Uygulanan UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleri rutin analizler açısından karşılaştırıldığında :

- a. Her iki yöntemle alınan sonuçlar arasındaki ayrıcalıklar önemsiz görülmüştür.
- b. Mikrobiyolojik analizlerin üç aşama içinde yapılmasını öngören UNICEF yöntemleri zaman kaybını ve besiyeri ısrafını önlediğinden genellikle Hıfzıssıhha yöntemlerinden daha pratik olma avantajına sahiptir.
- c. Hıfzıssıhha yöntemlerinde kullanılan besiyerleri spesifik olmadığınan, sonuçların değerlendirilmesinde kalifiye teknik elemanların kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Buna karşılık spesifik besiyerlerinin kullanıldığı UNICEF yöntemlerinde değerlendirme daha kolay yapılabilmektedir.
- d. UNICEF yöntemleri genel olarak indikatör mikroorganizmaların saptanmasını öngörmekte, buna karşılık Hıfzıssıhha yöntemleri patojen mikroorganizmaların saptanmasını hedef almaktadır.

Ö N E R İ L E R

Ülkemizde, hazır ticari çocuk mamalarının mikrobiyolojik durumunu ortaya koyan çalışmaların azlığı nedeniyle, çocuk mamalarının kalitesi ve sağlık açılarından güvenilirliği konusunda bilgilerimiz yetersizdir. Çocuk mamaları tüzüğünde mamaların tanımı, besleyici değeri ve diğer nitelikleri koşullara bağlanmış, bazı mikrobiyolojik limitler konulmuşsa da ihtiyaca cevap verecek nitelikte bir standardın hazırlanarak yürürlüğe konması zorunlu görülmektedir.

Çocuk mamalarının kalitesi ve sağlığa uygunluğu bu mamaların mikrobiyolojik durumuna bağlıdır. Bu nedenle, geliştirilecek standartta mamaların mikrobiyolojik kalitesine ilişkin hükümlere yer verilmelidir.

Ülkemizdeki hazır ticari çocuk mamalarının daha geniş kapsamlı araştırmalarla incelenerek mikrobiyolojik kalitelerinin saptanması zorunludur. Standart, bu araştırmalarla saptanan gerçek ve geçerli verilere dayanmalıdır.

Diğer ülkelerde çocuk mamaları standartlarında belirlenen örneklem ve analiz yöntemleri ülke koşullarında uygulamalarda karşılaştırmalı olarak denenmeli, seçilecek örneklem ve analiz yöntemleri standartlaştırılmalıdır. Geliştirilecek çocuk mamaları standardı, standart analiz ve örneklem

yöntemlerini detaylı olarak kapsamalıdır.

Patojen ve indikatör mikroorganizmaların hangilerinin kalite kriteri olarak öngörüleceği araştırmalarla saptanmalıdır. Örneklem ve analiz yöntemlerinin hata payları gözönüne alınarak, tolerans sınıfları standartta belirtilmelidir.

Çocuk mamaları tüzüğüne, araştırmalardan elde edilecek bilgilerin ışığı altında mikrobiyolojik kaliteye ilişkin kantitatif hükümler getirilmesi yararlı olacaktır.

Çocuk mamalarını üretim-tüketim süreci içinde ham maddeden başlayarak yeterli düzeyde denetleyecek yetkili bir kuruluşa Ülkemizin sahip olması ve ihtiyaca yeterli laboratuvar, teknik personel ve denetim sistemine kavuşması zorunlu görülmektedir.

Ö Z E T

Ankara piyasasında satılan 10 çeşit hazır ticari çocuk maması UNICEF in önerdiği ve Hıfzıssıhhada uygulanan yöntemlerle ayrı ayrı mikrobiyolojik yönden incelenmiş ve bulgular ortaya konmuştur.

Sekmama, SMA-S-26, Lamed, Citrolac, Homolac, Bebefe ve Çapamarka adlı hazır ticari çocuk mamalarının spesifikasyonlara uyum gösterdiği ve bebek beslemede güvenle kullanılabilceği, öte yanda Arımama, Paromama ve Arımama ve Paromamanın ayrıca canlı aerobik bakteri sayısı Calcilac adlı mamaların küf, açısından tüzüümüz koşullarına ters düştüğü ve bu mamalar kullanıldıklarında sağlığa zararlı olabilecekleri saptanmıştır.

UNICEF ve Hıfzıssıhha yöntemleriyle elde edilen veriler, arasında görülen ayrıcalıkların, belirli spesifikasyonlara bağlı olarak uygulamada bulguların değerlendirilmesindeki farklılıklardan ileri geldiği gözlenmiştir.

UNICEF tarafından önerilen analiz yöntemlerinin oldukça sistematik ve kantitatif olmalarına karşılık Hıfzıssıhhada uygulanan yöntemlerin kantitatif oldukları görülmüştür.

K A Y N A K L A R

1. Köksal, O., Soyuer, M. : *Bebek ve Çocukların Yetersiz ve Dengesiz Beslenme Sorunlarını Önlemede Tamamlayıcı Çocuk Mamaları Karışımları Üzerine Çalışmalar. Teksir, Hıfzıssıhha Okulu, Ankara, 1969.*
2. Baysal, A. : *Beslenme. II. Baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. A.13., Ankara 353-391, 1977.*
3. T.C. Resmi Gazete : *Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük. Sayı: 12835, 24 Şubat 1968.*
4. Köksal, O. : *Türkiye'de Çocuk Beslenmesinde Kullanılan Ticari Mamalar ve Besin Değerleri. IV. Bilim Kongresine Rapor. TBTA, Ankara, 1973.*
5. T.C. Resmi Gazete : *Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük'ün Bazı Maddelerinin Değiştirilmesine Dair Tüzük. Sayı: 15784, 9 Aralık 1976.*
6. Mossel, D.A.A., Harrewijn, G.A. : *Recommended Routine Monitoring Procedures for the Microbiological Examination of (Infant) Foods and Drinking Water. Unicef. Geneva, 1973.*

7. Snyderman, S.E., Holt, L.E. : Nutrition in Infancy and Adolescence. In Modern Nutrition in Health and Disease. Goodhart, R.S., Shils, M.E. (Editors). Lea and Febiger, Philadelphia 659-680, 1973.
8. Cameron, M., Hofvander, Y. : Manual on Feeding Infants and Young Children. Second Edition. Protein-Calorie Advisory Group of the United Nations System, New York, 1976.
9. Haagensen, D. : Diseases of the Breast. Saunders, Philadelphia, 1971.
10. Bilir. Ş. : Ana ve Çocuk Sağlığı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A.14., Ankara 114, 1975.
11. Mitchell, H.S., Rynbergen, H.J., Anderson, L., Dibble, M.V. : Growth and Development. In Nutrition in Health and Disease. J.B.Lippincott Company, Philadelphia 235, 1976.
12. Regional Office for the Western Pacific of the WHO. Some Anthropometric Indicators of Nutritional Status. The Health Aspects of Food and Nutrition, Taiwan 275, 1972.
13. Jelliffe, D.B. : The Assessment of the Nutritional Status of the Community. WHO Monograph Series, No.53, Geneva, 1966.
14. Seoane, N., Latham, M.C. : Nutritional Anthropometry in the Identification of Malnutrition in Childhood. The Journal of Tropical Pediatrics and Environmental Child Health, 17: 98, 1971.
15. Köksal, O. : Türkiye'de Beslenme. Türkiye 1974 Beslenme-Sağlık ve Gıda Tüketimi Araştırması. Aydın Matbaası, Ankara, 1977.
16. Uzel, A., Yücecan, S., Ekinciler, T., Özbayer, V. : Edirne İlinde Beslenme Araştırması II. Aile Bireylerinin Sağlık Durumu ve Çocuk Besleme

Alışkanlıkları. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 3: 155, 1972.

17. Oral, S. : Okul Öncesi Çocuklarla İlkokul Çağındaki Çocukların Beslenme Sorunları. *Beslenme Sorunları Semineri, Milli Prodüktivite Merkezi Yayını. No.73, Ankara, 1970.*

18. Oral, S. : Okul Öncesi Çocuklarında Beslenme Sorunu. *Beslenme Sorunları Semineri, Milli Prodüktivite Merkezi Yayını. Özel Baskı, Ankara, 1970.*

19. Uzel, A. : Kayseri İline Bağlı Tomarza İlçe Merkezi ve Altı Köyünde Beslenme Durumu ve Eğitimi Araştırması. *Doçentlik Tezi. H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ankara, 1970.*

20. Köksal, O. : Türk Halkının Beslenme Durumu, Sorunları ve Nedenleri. *Türkiye Tıp Akademisi Mecmuası, Rapor III-2, 1972.*

21. Uzel, A., Yücecan, S., Ekinciler, T., Özbayer, V. : Edirne İlinde Beslenme Araştırması I. *Beslenme ve Diyet Dergisi, 2 (1): 77-86, 1972.*

22. Neyzi, O., Gürson, C.T. : İstanbul Bölgesinde Çocukluk Yaşlarında Beslenme Durumu. *Besin Simpozyumu, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Yayını, Ankara, 1969.*

23. Bilir, Ş., Ersözlü, A. : Ankara Etimesgut Bölgesinde Etimesgut Merkez ve Ona Bağlı Beş Köyde Çocuk Sağlığı ve Gelişimi Üzerinde Yapılan Araştırma. *Beslenme ve Diyet Dergisi, 3 (2): 101-112, 1974.*

24. Baysal, A., Köksal, O. : Türkiye'de Çocuk Mama ve Gıdalarının Beslenme ve Sağlık Yönünden Değeri. *Besin Simpozyumu, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Yayını, Ankara 206-215, 1969.*

25. Jelliffe, D.B. : *Infant Nutrition in the Subtropics and Tropics. Second Edition. WHO Monograph Series. No 29. Geneva, 1968.*
26. Köksal, O. : *Nutritional Problems in Turkey During Weaning Period and Some Solutions. The Turkish Journal Pediatrics, 13: 59, Ankara, 1971.*
27. Uzel, A. : *Besin İhtiyaçları ve Standartları. Türkiye Tıp Akademisi Mecmuası, Rapor III-1, 1972.*
28. Köksal, O. : *Memleketimizde Milli Seviyede Beslenme Problemleri ve Çözüm Yolları. IV. Türk Pediatri Kurumu Semineri, Yayınlayan Tumay, B., 1965.*
29. Aslan, P. : *Orta Zincirli Yağ Asitlerinin Malnutrisyonlu Çocuklarda Kullanılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ankara, 1975.*
30. Özgür, S. : *Memeden Kesme, İzmir ve Civarında İlk Başlanan Mamalar Hakında Araştırma. Besin Simpozyumu, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Yayını, Ankara 200-205, 1969.*
31. Merdol, T.O. : *Türkiye'de Kullanılan Bazı Çocuk Mamalarının Protein Kalitesi Üzerine Bir Araştırma. Beslenme ve Diyetetik Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ankara, 1977.*
32. Mitchell, R.G. : *Child Life and Health. Pitman Press, London 108, 1970.*
33. Soysal, Ş.S. : *Çocuk Sağlığı. Kader Basımevi. İstanbul 262-263, 1952.*
34. Jones, C., Witton, M.A. : *Microbiology with Application to Nursing. McGraw Hill Book Co. New York 156-157, 1950.*

35. Frobisher, M., Sommermeyer, L. : *Microbiology for Nurses*. W.B.Sounders Co. London 124-125, 1960.
36. Akman, M., Gülmezoğlu, E. : *Tıbbi Mikrobiyoloji. İkinci Baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A.15.*, Ankara 338-359, 434, 1976.
37. Wolfgang, K.J., Willette, H.P. : *Zinsser Microbiology. Sixth Edition.* Appleton-Century Crafts. New York 410-411, 1976.
38. Maffei, H.V.L., Nobrega, F.J. : *Gastric pH and Microflora of Normal and Diarrhoeic Infants. Gut, 16(9): 719-726, 1975.*
39. Haenel, H. : *Human Normal and Abnormal Gastrointestinal Flora. Am. J. Clin. Nutr., 23(11): 1433-1439, 1970.*
40. Bullen, C.L., Tearle, P.V., Willis, A.T. : *Bifidobacteria in the Intestinal Tract of Infants. Journal of Medical Microbiology, 9(3): 325-333, 1976.*
41. Orskov, F., Sorensen, K.B. : *Escherichia coli Serogroups in Breast-Fed and Bottle-Fed Infants. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. 83(1): 25-30, 1975.*
42. Bayrı, G. : *Klinik Olgulardan İzole Edilen Klebsiella Grubu Bakteriler Üzerinde Bir Çalışma. Mikrobiyoloji Bilim Dalı İhtisas Tezi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Böl., 1977.*
43. Kenan, O. : *Hacettepe Çocuk Hastanesi Prematüre Servisindeki Bebeklerde Görülen Bir İshal Salgınında Enteropatojenik E.coli Tipleri. Mikrobiyoloji Bilim Dalı İhtisas Tezi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Böl., 1975.*
44. Lewis, K.H., Campbell, J.E. : *Recent Developments in the Prevention of*

- Foodborne Disease. *J. Milk and Food Tech.* 32: 133-136, 1969.
45. Hobson, W. : *Halk Sağlığı Bilimi ve Uygulaması. Cilt I. Gürsoy Basımevi, Ankara, 1970.*
46. Hobbs, B.C. : *Problems and Solutions in Food Microbiology. Food Tech., 31(1): 90, 1977.*
47. Davies, J.H.V. : *International Food Standarts. Food Tech., 22: 1118-1120, 1968.*
48. Nagel, A.H. : *Voluntary Food Standarts. Food Tech., 26(11): 57, 1972.*
49. Davis, J.G. : *Microbiological Standarts for Foods, Part I. Lab. Practice, 18: 749-753, 764, 1969.*
50. Davis, J.G. : *Microbiological Standarts For Foods, Part II. Lab. Practice, 18: 839-844, 1969.*
51. Elliot, H.P., Michener, H.D. : *Microbiological Standarts and Handling Codes For Chilled and Frozen Foods (A Review). App. Microbiology, 9: 452-468, 1961.*
52. Shiffman, M.A., Kronick, D. : *The Development of Microbiological Standarts For Foods. J. Milk and Food Tech., 26: 110-114, 1963.*
53. Jay, J.M. : *Modern Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold Co. New York, 170-190, 1970.*
54. Silliker, J.H. : *Total Counts as Indexes of Food Quality. In The Microbiological Quality of Foods. Slanetz, L.W. et al. (Editors). Academic Press, New York 102-112, 1963.*
55. Omurtag, C.A. : *Yurdumuzda Besin Mikrobiyolojisi Açısından Araştırma*

ve Tavsiye Edilen Mikrobiyolojik Standartlar. Türk Veteriner He-
kimleri Derneği Dergisi, 38(6): 3-10, 1968.

56. McCoy, J.H. : The Safety and Cleanliness of Waters and Foods. *J. App. Bact.*, 24: 365-367, 1961.
57. Niven, C.F. : Microbial Indexes of Food Quality. Faecal Streptococci. in *Microbiological Quality of Foods*. Slanetz, L.W. et al (Editors). Academic Press, New York 119-131, 1963.
58. Corlott, D.A. : Setting Microbiological Limits in the Food Industry. *Food Tech.*, 28(10): 34-40, 1974.
59. Monford, J., Thatcher, F.S. : Comparison of Four Methods of Isolating Salmonella from Foods. *J. Food Sci.*, 26: 510-517, 1961.
60. Yeterian, M., Chugg, L., Smith, W., Coles, C. : Are Microbiological Quality Standards Workable. *Food Tech.*, 28(10): 23-32, 1974.
61. Lewis, K.H., Angelotti, R.A. : Examination of Foods for Enteropathogenic and Indicator Bacteria. U.S. Public Health Serv., Washington D.C., 1964.
62. J. Officiel Rép. Française : Aliments d'Enfant et Régime. 5519, 1976.
63. Thatcher, F.S., Clark, D.S. : Microorganisms in Foods. Their Significance and Methods of Enumeration. In *International Committes on Microbiological Specifications for Foods* (Editors). Univ. Toronto Press, 1975.
64. Mossel, D.A.A., Grün, L. : Hygienic Requirements for Infant Foods. *Zentbl. Bakt. Parasit K de, I. Abt. Orig., Ser. B.* 155(2): 103-116, 1971.

65. Meyer, H. : Detection of Proteolytic Bacteria (Caseolytes) in Infant Food. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 71(9): 314-317, 1975.
66. Krampe, F. : Investigation of the Microbiological Quality of Dried Milk Products. Ph.D. Thesis, Hannover, West Germany, 1972.
67. Ryndich, A.A., Khomik, S.R. : Bacteriological Characteristics of Milk and Cultured Milk Products from the Public Health Standpoint. *Gigiena J. Sanitariya*, 10: 102-104, 1975.
68. Ionescu, G., Ionescu, C. : Bacteriology of Some Infant Feeds. *Igiena* 20(1): 39-46, 1971.
69. Jarchovska, H., Hartmanova, J. : Incidence of Gram-negative Organisms in Dried Milk Products. *Veterinärství*, 25(9): 399-400, 1975.
70. Riu, G.C., Renga, G., Soscia, M. : Microbiology of Dried Milks. *Igiene Moderna*, 65 (1/2): 52-58, 1972.
71. Özer, İ. : Süt Çocuklarının Sun'ü Beslenmesi ve Ankara Piyasasında Bulunan Yerli ve Yabancı Orijinli Çocuk Mamalarının Hijyenik Kaliteleri Üzerinde Araştırma. *Türk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*, 32(188-189): 239-247, 1962.
72. Philips, S. : Microbiological Examination of Sekmama, Turkey. Tropical Product Institute, London, 1977.
73. Alkış, N. : Özel Görüşme, Hıfzıssıhha Enstitüsü Bakteriyoloji Şubesi, Ankara, 1977.
74. Sharf, J.M. : Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington, 1966.

75. Berkin, T., Alkış, N. : Bakteriyal Gıda Zehirlenmelerinde *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*'un Önemi. *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, XIX: 10-13, 1959.
76. Alkış, N., Tuna, İ. : Gıda Maddelerimizin Durumu ve Bakteriyal Gıda Zehirlenmeleri. *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, 24(3): 260-269, 1964.
77. Akman, M. : Su, Süt ve Türevlerinin Rutin Bakteriyolojik Muayeneleri. *Ege Matbaası, Ankara, 1961.*
78. Bilgehan, H. : Klinik Mikrobiyoloji Pratiği. *Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir, 1965.*
79. Alkış, N. : Ankara'da İzole Etmiş Olduğumuz *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*'ların Lysotipleri, Antibiyotiklere Hassasiyetleri, Eksotoksinleri ve Affiniteleri Üzerinde Bir Araştırma. *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, XXII: 2-3, 1962.
80. Fişek, H.N. : Bulaşıcı Hastalıklarla Mücadele ve Laboratuvar Teşhis Usulleri. *Yeni Desen Matbaası, Ankara, 43-57, 1956.*
81. Payzın, S., Akyay, N. : Yiyecek ve İçeceklerin Bakteriyolojik Tahlil ve Kontrolları, *Ankara 234-258, 1949.*
82. Schneirerson, S.S. : *Atlas of Diagnostic Microbiology. North Chicago, Illinois 76, 1975.*
83. Walter, W.G. : *Standart Methods for the Examination Dairy Products. Twelfth Edition. American Public Health Association, New York 89-90, 1967.*
84. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. The Williams, Wilkins Co. Baltimore 551-572, 1974.*

85. *Society of American Bacteriologists : Manual of Microbiological Methods.*
The Maple Press Co. New York 120-139, 1957.
86. Kutsal, A., Muluk, Z. : *Uygulamalı Temel İstatistik. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A.2., Ankara 126-129, 1972..*

Sıra No	Mama Adı	Verilen Kod No.	İmalatçı Seri No.	İmal Tarihi	Son kullanma Tarihi	Mamanın temin edildiği yer	Ambalaj Tipi
1	Arimama 7 vitaminli, sütlü	A ₁ A ₂ A ₃	76134 77031 77042	25.10.1976 28.2.1977 9.4.1977	- - -	Eczane Bakkal Supermarket	Karton kutu içinde poli- etilen torba
2	SMA-S-26	S ₁ S ₂ S ₃	8 847 8 017 8 912	4.4.1975 5.9.1976 1975	4.4.1978 5.9.1979 1978	Eczane Eczane Eczane	Hermetikli teneke kutu
3	Sekmama	SEK ₁ SEK ₂ SEK ₃	99 55 36	1.9.1976 8.4.1976 6.3.1976	- - -	Supermarket Eczane Bakkal	Karton kutu içinde poli- etilen torba
4	Paromama 7 vitaminli, yeni formül sütlü	P ₁ P ₂ P ₃	3-056 2-0161 2-0161	25.2.1974 10.6.1975 10.6.1975	- - -	Supermarket Supermarket Bakkal	Karton kutu içinde poli- etilen torba
5	Calasilac	CA ₁ CA ₂ CA ₃	704033 704033 704033	Nisan 1977 Nisan 1977 Nisan 1977	Mayıs 1978 Mayıs 1978 Mayıs 1978	Eczane Eczane Eczane	Hermetikli teneke kutu
6	Lamed	L ₁ L ₂ L ₃	701228 703010 703010	Ocak 1977 Mart 1977 Mart 1977	Şubat 1978 Nisan 1978 Nisan 1978	Eczane Eczane Eczane	Hermetikli teneke kutu
7	Citrolac	C ₁ C ₂ C ₃	607121 701041 701041	Temmuz 1976 Ocak 1977 Ocak 1977	Ağustos 1977 Şubat 1978 Şubat 1978	Eczane Eczane Eczane	Hermetikli teneke kutu
8	Bebefe	B ₁ B ₂ B ₃	70709 705042 70711	Temmuz 1977 Mayıs 1977 Temmuz 1977	Ağustos 1978 Haziran 1978 Ağustos 1978	Eczane Eczane Eczane	Hermetikli teneke kutu
9	Homolac	H ₁ H ₂ H ₃	701048 701048 701048	Ocak 1977 Ocak 1977 Ocak 1977	Şubat 1978 Şubat 1978 Şubat 1978	Eczane Eczane Eczane	Hermetikli teneke kutu
10	Çapamarka Hazır Çocuk Maması	Ç ₁ Ç ₂ Ç ₃	000036 000036 000036	14.3.1977 14.3.1977 14.3.1977	- - -	Supermarket Eczane Bakkal	Karton kutu içinde poli- etilen torba