



Cronobacter sakazakii'nin Gıda Güvenliği Açısından Önemi

Esra DOĞANGÜN¹, Vildan UYLAŞER^{1*}

¹Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa.
*e-posta: uylaserv@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi:19.08.2016; Kabul Tarihi:04.11.2016

Öz: *Cronobacter sakazakii*, özellikle erken doğmuş ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde hayati risk oluşturan enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir. Değişik gıdalarda ve diğer çevresel kaynaklarda tespit edilmiş olmasına rağmen, sadece kontamine olmuş toz bebek mamaları (bebek formülü) *C. sakazakii*'nin neden olduğu bebek enfeksiyonları ile epidemiyolojik olarak ilişkilendirilmiştir. Bu derlemede, bebek mamalarında bulunabilen ve önemli bir patojen olan *C. sakazakii*'nin taksonomisi, genel özellikleri, kontaminasyon kaynakları, neden olduğu enfeksiyonlar ve enfeksiyonlardan korunma yolları ile izolasyon yöntemleri hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Cronobacter sakazakii*, gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar, gıda kaynaklı enfeksiyonlar, toz bebek maması, güvenli gıda.

The Importance of *Cronobacter Sakazakii* for Food Safety

Abstract: *Cronobacter sakazakii* is a opportunistic pathogen causing life threatening infections for babies especially premature and underweight. Although it has been detected in various foods and other environmental sources, only contaminated powdered infant formula has been linked epidemiologically with infant infections caused by *C. sakazakii*. This review article aims to inform about *C. sakazakii*'s taxonomy, general features, contamination sources, infections it caused and prevention ways from infections and the methods of isolation.

Key Words: *Cronobacter sakazakii*, Foodborne Pathogenic Microorganisms, Foodborne Infections, Powdered Infant Formula, Safe Food.

Giriş

Cronobacter sakazakii, bebeklerde hayati risk oluşturan menenjit, septisemi ve nekrotizan enterokolit enfeksiyonlarına neden olan fırsatçı bir patojendir (Arsalan ve ark., 2013; Huertas ve ark., 2014; Hu ve ark., 2015; Park ve ark., 2016). Enfeksiyonlar, özellikle düşük doğum ağırlıklı, prematüre bebeklerde risk oluşturmakta ve bu enfeksiyonlardaki bebek ölüm oranları % 40-80 arasında değişmektedir (Bowen ve Braden, 2006; Shaker ve ark., 2007; Jaradat ve ark., 2014). *C. Sakazakii*'nin ilk kez yeni doğan bebeklerle ilişkilendirilmesi, 1958 yılında İngiltere'de iki bebeğin ölümü ile sonuçlanan bir vaka sonucunda yapılmış ve bu bakterinin menenjit etmeni olduğu belirtilmiştir (Urmenyi ve Franklin, 1961; Iversen ve Forsythe, 2003). Uluslararası Mikrobiyolojik Gıda Standartları Komisyonu (ICMSF) 2002 yılında *C. sakazakii*'yi, bağışıklık sistemi zayıf insanlar için yaşamı tehdit eden bir etken olarak bildirmiş ve ardından su ve gıda kaynaklı *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* tip A ve B ve *Cryptosporidium parvum* gibi patojenlerle aynı kategoride sınıflandırmıştır (Iversen ve Forsythe, 2003).

Gıda ve Tarım Örgütü ile Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) tarafından 2004 yılında düzenlenen bir toplantıda, toz bebek mamalarında (bebek formüllerinde) bulunabilen ve bebeklerde enfeksiyona neden olabilen mikroorganizmalar, oluşturdukları risklere göre A, B ve C olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Buna göre *C. sakazakii*, *Salmonella enterica* ile birlikte A grubuna sınıflandırılmıştır (Anonim, 2004).

Bebeklerde görülen *C. sakazakii* kaynaklı enfeksiyonlarda riskli gıda grubunu bebek mamaları (formülleri) oluşturmaktadır (Hunter ve Bean, 2013; Jaradat ve ark., 2014). Bu nedenle ülkemizde Türk Gıda Kodeksi'nde 2008 yılında yapılan değişiklikle bebek formülleri ve devam formüllerinde *C. sakazakii* analizinin yapılması zorunlu hale getirilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre bebek formülleri ve devam formüllerinin (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil) 25g veya 25 mL'sinde *C. sakazakii* bulunmamalıdır (n=10, c=0, m= 0/25 M=0/25g-mL) (Anonim, 2011).

Taksonomisi

Cronobacter sakazakii, *Enterobacteriaceae* familyasına ait bir bakteri olup 1980 yılına kadar *Enterobacter cloacae*'nin sarı pigment oluşturan tipi olarak tanımlanmıştır. 1980 yılında DNA-DNA hibridizasyonu, biyokimyasal reaksiyonlar, pigment üretimi ve antibiyotik duyarlılıklarındaki farklılıklar göz önüne alınarak yapılan yeni sınıflandırmada ayrı bir tür olarak *Enterobacter* cinsine dahil edilmiş ve bu türe Japon bakteriyolog Richi Sakazakii'nin adı verilmiştir (Farmer ve ark., 1980).

Iversen ve ark. (2007) tarafından çeşitli *Enterobacter sakazakii* suşları arasındaki taksonomik ilişki f-AFLP (Floresan Güçlendirilmiş Fragman Uzunluğu Polimorfizmi), otomatize ribotiplendirme, 16S rRNA dizilim analizi ve DNA-DNA hibridizasyonu kullanılarak incelenmiş ve bu çalışma sonucunda *E. sakazakii* suşlarının tamamı *Cronobacter* adında yeni bir cinse dahil edilmiştir. *Cronobacter* adının, Yunan mitolojisindeki yeni doğan bebekleri yutan "Cronos" adındaki tanrıdan esinlenerek verildiği belirtilmektedir. Başlangıçta *Cronobacter* cinsi *C. sakazakii*, *C. turicensis*, *C. muytjensii* ve *C. dublinensis* olmak üzere 4 türden oluşurken, daha sonra *C. malonaticus* (Iversen ve ark., 2008), *C. Universalis* ve *C. condimenti* (Joseph ve ark., 2012) yeni türler olarak bu cinse dahil edilmişlerdir.

Genel Özellikleri

Cronobacter sakazakii, *Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram negatif, fakültatif anaerob, çomak şeklinde, spor oluşturmeyen, peritrik flagellalarıyla hareketli bir bakteridir. Katı besiyerinde parlak veya mat koloniler oluşturmakta olup koloni tipleri suşa ve besiyerine bağlı olarak değişmektedir (Iversen ve Forsythe, 2003).

C. sakazakii 6-47 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmektedir. Iversen ve ark. (2004a) çalışmalarında altı suşun optimum 37-43 °C'de geliştiğini, kapsül oluşturmuş bir suşun ise sadece 47°C'de gelişebildiğini belirlemişlerdir. Farmer ve ark. (1980) 57 suşun gelişme sıcaklığı aralığını inceledikleri araştırmalarında tüm suşların 25, 36 ve 45°C'de gelişebildiğini, hiçbir suşun 4 ve 50 °C'de gelişemediğini belirlemişlerdir.

C. sakazakii yüksek sıcaklık derecelerine dirençli olmasına rağmen, toz bebek maması üretiminde uygulanan standart pastörizasyon koşullarının, yüksek sıcaklığa dirençli birçok *C. sakazakii* suşunu inaktive etmek için yeterli olduğu belirtilmektedir (Iversen ve ark., 2004a; Shaker ve ark., 2007; Al-Nabulsi ve ark., 2011; Jaradat ve ark., 2014). Bebek mamalarına pastörizasyon işleminden sonra ilave edilen mikro besin elementleri ve sulandırma işlemlerinin bu mikroorganizma için ikincil kontaminasyon kaynakları olduğu bildirilmektedir (Toğay ve ark., 2008).

C. sakazakii'nin 23°C'deki ortalama generasyon süresi 40 dakika olarak belirtilirken, 21°C'deki hazırlanmış sıvı bebek mamasındaki generasyon süresinin yaklaşık 75 dakika olduğu bildirilmiştir (Fiore ve ark., 2008). Genel olarak ev tipi buzdolabı sıcaklıklarının 6-10 °C aralığında değiştiği varsayılırsa, bu bakterinin buzdolabı koşullarında gelişmeye devam ederek risk oluşturabileceği unutulmamalıdır.

C. sakazakii düşük pH koşullarına önemli ölçüde direnç gösteren bir mikroorganizmadır. Dancer ve ark. (2009) tarafından 72 *C. sakazakii* suşunun düşük pH koşullarında gelişme yeteneğinin incelendiği çalışmada, tüm suşların pH 4.5'te gelişebildiği görüldürken, pH 4.3, 4.1 ve 3.9'da sırasıyla %98.6, 95.8 ve 79.2 oranında gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Edelson-Mammel ve Buchanan (2006), 12 *C. sakazakii* suşunun HCl ile pH'sı 3.0 ve 3.5'e ayarlanmış Tryptic Soy Brothda (TSB) canlı kalma düzeylerini incelemişler ve pH 3.5'te 37 °C'de 5 saatten uzun bir sürede ortaya çıkan canlı hücre sayısındaki azalmanın 10 suş için 1 logaritmik birimden az olduğunu, pH 3.0'de ise bu azalmanın tüm suşlar için >4log kob/mL düzeyinde olduğunu tespit etmişlerdir. Fakruddin ve ark. (2014) farklı gıda maddelerinden izole edilen *C. sakazakii* suşlarının pH 2.5'te canlılıklarını sürdüremediğini ifade etmişlerdir. Ancak yeni doğanlarda özellikle de prematüre bebeklerde mide asitliğinin tam gelişmemiş olmasının risk oluşturduğuna dikkat çekmişlerdir.

C. sakazakii yüksek osmotik basınç ve kuru ortamlara oldukça dirençlidir. Edelson-Mammel ve Buchanan (2005) tarafından toz bebek mamasındaki *C. sakazakii* canlılığının incelendiği bir araştırmada, oda sıcaklığında başlangıçta 10⁶ kob/g *C. sakazakii* içeren toz bebek maması 2 yıl depolanmış, depolamanın ilk 5 ayında popülasyonun 2.4 logaritmik birim azaldığı, bu süreyi takip eden 19 ay boyunca da popülasyonun 1 logaritmik birim daha azaldığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonucu, *C. sakazakii*'nin toz bebek mamasında uzun süre canlı kalabileceğinin bir göstergesi olarak değerlendirmişlerdir.

C. sakazakii ortamdaki azot kaynağı sınırlı olduğunda kapsül üretir. Bu kapsülün hazır toz mamalarında, raf ömrü boyunca mikroorganizmanın canlılığını sürdürmesine yardımcı

olmasının yanı sıra yüzeylere tutunmasında ve biyofilm oluşturmasında, temizleme ajanlarına ve dezenfektanlara dirençli olmasında da önemli rolü olduğu belirtilmektedir (Iversen ve Forsythe, 2003; Lehner ve ark., 2005; Kim ve ark., 2006; Grimm ve ark., 2008; Chenu ve Cox, 2009). *C. sakazakii* silikon, lateks, polikarbonat, paslanmaz çelik, cam ve polivinil klorid gibi yüzeylere tutunarak biyofilm oluşturabilmektedir (Iversen ve ark., 2004a; Toğay ve ark., 2008; Beauchat ve ark., 2009; Arsalan ve ark., 2013). WHO/FAO (2006)'ya göre *C. sakazakii*'nin oluşturduğu biyofilm tabakası, mamaların hazırlanmasında kullanılan malzemelerde ve bebek mamalarının üretim alanlarında normal temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin yetersiz kalmasını sağlayarak risk oluşturmakta ve sürekli bir kontaminasyon kaynağı haline dönüşmektedir.

Kontaminasyon Kaynakları

C. sakazakii'nin insan ve hayvanların sindirim sisteminden izole edilemediği, başlıca kontaminasyon kaynaklarının toprak, su ve sebzeler olduğu, ayrıca kemirgenler ve sineklerin de taşıyıcı olabileceği belirtilmektedir (Iversen ve Forsythe, 2003).

C. sakazakii birçok gıdada tespit edilmiş olmakla birlikte bebeklerde neden olduğu enfeksiyonların özellikle kontamine olmuş toz bebek mamalarından kaynaklandığı belirtilmektedir (Jaradat ve ark., 2014). Bebek mamalarının *C. sakazakii* ile kontaminasyonu doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Doğrudan kontaminasyon, bakterinin üretimin herhangi bir aşamasında bebek mamasına bulaşmasından, dolaylı kontaminasyon ise bebek mamasının hazırlanması sırasında kullanılan ve hijyenik olmayan kaşık, biberon, mama tabağı gibi malzemelerden kaynaklanmaktadır.

Toz bebek maması üreten işletmelerde üretimin yapıldığı hat boyunca ve söz konusu işletmelerin toprak, su gibi çevresel kaynaklarında *C. sakazakii*'ye farklı düzeylerde rastlandığı belirtilmektedir (Craven ve ark., 2010; Reich ve ark., 2010; Fu ve ark., 2011; Fang ve ark., 2015). Reich ve ark.(2010) toz bebek maması üreten bir işletmenin vakumlu temizleyicileri, doldurma makineleri ve doldurma hattından topladıkları örneklerden sırasıyla %28, %5,3 ve %8 oranında *Cronobacter spp.* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Toz bebek mamalarının dışında *C. sakazaki*'nin tespit edildiği bazı gıdalar ve içecekler arasında peynir, yumurta, balık, süt, tavuk eti, sucuk, kabuklu deniz ürünleri, karides, arpa, kahvaltılık gevrek, baharatlar, marul, pirinç, çay ve domatesin bulunduğu da ifade edilmektedir (Beuchat ve ark., 2009).

Neden Olduğu Enfeksiyonlar

C. sakazakii bebeklerde hayati tehlike yaratan menenjit, sepsis ve nekrotizan enterokolit enfeksiyonlarına neden olabilmektedir (Arsalan ve ark., 2013). Menenjit, yenidoğan *C. sakazakii* vakalarında en sık görülen enfeksiyondur. *C. sakazakii*'nin neden olduğu menenjitin doğumdan birkaç gün sonra ortaya çıktığı ve bebeklerde ölüm oranının %40-80 olduğu bildirilmektedir. Hayatta kalanlar için ise kalıcı nörolojik sorunların oluşabileceği ifade edilmektedir (Jaradat ve ark., 2014). Pek çok neonatal *C. sakazakii* menenjiti vakasının, yeni doğan bebeklerde en yaygın görülen gastrointestinal hastalık olan nekrotizan enterokolitle bir ilişkisinin olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca anne sütüyle beslenen bebeklere kıyasla, sadece bebek mamasıyla beslenen bebeklerde nekrotizan enterokolitin 10 kat daha yaygın olduğu bildirilmektedir (Arsalan ve ark., 2013).

Tüm yaş gruplarında enfeksiyonlara neden olmakla birlikte yaş dağılımına bakıldığında özellikle 1 yaşın altındaki çocukların risk grubunda olduğu ifade edilmektedir. Bağışıklık sistemi zayıf ve yeni doğanlar (<28 gün) ile düşük doğum ağırlıklı bebekler ise (<2500 g) yüksek risk grubu olarak görülmektedir. Ayrıca HIV pozitif annelerin bebeklerinin, özel olarak bebek mamasına ihtiyaç duydukları için enfeksiyonlara karşı daha duyarlı olabileceği ifade edilmektedir (Anonim, 2004).

C. sakazakii'nin neden olduğu enfeksiyonlar nadiren kayıtlara geçmiş olup ilk kayıtlara geçen *C. sakazakii* vakası 1958'de İngiltere'de gerçekleşmiştir. Literatürde şu ana kadar kayıtlara geçen yaklaşık 150 vakanın olduğu belirtilmektedir (Ravisankar ve ark., 2014). Yeni doğan ve bebeklerdeki bazı *C. sakazakii* enfeksiyonları ve enfeksiyon kaynakları Çizelge 1'de verilmiştir (Iversen ve Forsythe, 2003; Anonim 2008).

Çizelge 1. Yenidoğanlar ve bebeklerdeki *C. sakazakii* enfeksiyonları

Salgın Yılı	Bebek sayısı	Yaş	Ölü sayısı	Semptomlar	Kaynak
1958	2	5 ve 10 günlük	2	Menenjit	Bilinmiyor
1977-1981	8	Belirtilmemiş	6	Menenjit	Toz bebek maması (formülü)
1984	11	2 günlük-2 aylık	5	Kolonizasyon	Bilinmiyor
1986-1987	3	5 günlük	2	Menenjit	Toz bebek maması (formülü)
2001	11	11 günlük	1	Menenjit, entorokolit	Toz bebek maması (formülü)
2002	1	4 günlük	1	Menenjit	Bilinmiyor
2006	9	6 günlük	2	Menenjit	Toz bebek maması (formülü)
2007	1	5 günlük	1	Menenjit	Toz bebek maması (formülü)
2007	2	<1 ay	1	Bakteriyemi/ menenjit	Bilinmiyor

Minimal Enfeksiyon Dozu

C. sakazakii'nin enfeksiyon dozu hakkında yeterli epidemiyolojik veriler olmamasına karşın *Neisseria meningitidis*, *E. coli O157:H7* ve *L. monocytogenes*'de olduğu gibi minimal enfeksiyon dozunun 1000 adet hücre olarak kabul edilebileceği ifade edilmektedir (Iversen ve Forsythe, 2003; Parra-Flores ve ark., 2015). Ayrıca bu dozun mikroorganizmanın geçmişine yani çevresel stres koşullarına maruz kalıp kalmamasına, konağın sağlıklı ya da bağışıklık sisteminin zayıf olmasına ve gıdanın içeriğine göre değişiklik gösterebileceği belirtilmektedir (Iversen ve Forsythe, 2003).

Iversen ve Forsythe (2003) yaptıkları bir çalışmada, hazır toz mamalarda 0.36 kob/100g *C. sakazakii* bulunduğunu ve bebeğin bir öğünü için kullanılan mamanın hazırlanmasında 18g toz mama + 115mL su kullanıldığı varsayılırsa, minimal enfeksiyon dozuna ulaşılabilmesi için hazırlanan mamanın 9 gün 8°C'de veya 17.9 saat oda sıcaklığında tutulması gerektiğini bildirmişlerdir. Hesaplama yapılırken mikroorganizmanın mamanın hazırlanışı sırasında kullanılan suyun sıcaklığıyla ölmediği ve midede çoğalmadığı varsayılmıştır.

***C. sakazakii* Enfeksiyonu Riskini Azaltmak İçin Alınması Gereken Önlemler**

C. sakazakii kaynaklı enfeksiyonların ortaya çıkışında özellikle kontamine olmuş toz bebek mamaları ön plandadır. Kontaminasyon kaynaklarının tam olarak bilinmemesine rağmen bebek mamalarının üretimi, hazırlanması ve hazırlanan mamaların muhafaza edilmesi sırasında temel hijyen kurallarına uyulmaması bu enfeksiyonların ortaya çıkışında en büyük etmen olarak görülmektedir (Kalyandanta ve ark., 2015). Bu nedenle bazı kuruluşlar *C. sakazaki*'nin neden olduğu enfeksiyon riskini azaltmak için birtakım önlemlerin alınması gerektiğini vurgulamaktadırlar (Anonim, 2003; Anonim, 2004).

Bebek Mamaları Üretimi Sırasında Alınması Gereken Önlemler

- Üretimde kullanılacak hammaddelerin, özelliklede son karışım hazırlanırken daha önce ısı uygulaması gerektirmeyen maddelerin denetimine önem verilmeli,
- Üretim için kullanılan alanlarda pastörizasyon sonrası kontaminasyonu önlemek için ortamdaki *Enterobacteriaceae* familyasına dahil mikroorganizma sayısı azaltılmalı,
- Gıdanın üretimi sırasında ve son ürünlerdeki denetim sıklığı artırılmalı,
- Olası kontaminasyon kaynakları tanımlanmalı ve doğru önlemler alınmalı,
- Üretilen bebek mamalarının etiket bilgilerinde depolama, tüketime hazırlama ve sonrasında uyulması gereken kuralların açıklanması sağlanmalı,
- Üretim sırasında sütün hazırlanmasında çok yüksek sıcaklıkların ürünün besleyici değerine zarar vereceği de göz önünde bulundurularak nispeten yüksek sıcaklıklar (70-90°C) tercih edilmeli.

Evde Bebek Mamaları Hazırlanmasında Alınması Gereken Önlemler

- Mamanın hazırlanmasında kullanılan alet-ekipmanların temizliğine dikkat edilmeli,
- Bir öğünde tüketilecek kadar mama hazırlanmalı ve mamanın hazırlanması ile tüketimi arasında geçen zaman mümkün olduğunca azaltılmalı,
- Hazırlanan bebek maması oda sıcaklığında muhafaza edilmemeli, buzdolabında muhafaza edilmeli,
- Mamanın hazırlanmasında kullanılan su kaynatılmalı ve 70-90°C'lerde toz bebek maması üzerine ilave edilmeli.

Hastanelerde Bebek Mamalarının Hazırlanmasında Alınması Gereken Önlemler

- *C. sakazakii* enfeksiyonu bilincinin artırılması için bebek mamasının hazırlanması, taşınması ve muhafaza edilmesi sırasında görev alan tüm personele bu mikroorganizmanın potansiyel tehlikeleri hakkında düzenli eğitimler verilmeli,
- Bebek maması hazırlanması için ayrılmış ve sadece personelin girebileceği odalar ya da alanlar olmalı,
- Mama hazırlamada kullanılan ekipmanlar bulaşık makinesinde yıkanmalı veya otoklavda sterilize edilmeli,
- Eğer mümkünse mamaların hazırlanmasında tek kullanımlık ekipmanlar kullanılmalı,
- Bebek mamasının hazırlanması ile tüketimi arasında geçen zaman mümkün olduğunca azaltılmalı,

- Hazırlandıktan sonra tüketilmeden kalan sıvı formdaki bebek maması uygun şekilde bir ambalaja konularak etiket üzerine son kullanma tarihi/saati bilgileri yazılmalı,
- Yüksek risk grubunda olan bebeklerde toz bebek mamaları yerine ticari sterilize edilmiş, sıvı ürünlerin kullanımı tercih edilmeli.

C. sakazakii'nin İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler

FDA'nın 2002 yılında toz bebek mamalarında *C. sakazakii'nin* aranmasında önerdiği yöntem; steril saf su ile ön zenginleştirme, selektif sıvı besiyerinde (*Enterobacteriaceae* Enrichment Broth) zenginleştirme, selektif katı besiyerinde (Violet Red Bile Glucose Agar) izolasyon aşamalarından oluşmaktadır. Bu yöntemin doğrulama aşamasında VRBG Agardan 5 adet olası *C. sakazakii* kolonisi seçilir ve Tryptic Soy Agarda 25 °C'de 48-72 saat inkübasyon sonunda pigment üretimi belirlenir. Bunu takiben API 20E biyokimyasal identifikasyon sistemi ve oksidaz testi kullanılarak doğrulama işlemi sonuçlandırılır (Anonim, 2002).

Toz bebek mamalarında *C. sakazakii'nin* belirlenmesi için FDA'nın önerdiği yöntemin uzun sürmesi nedeniyle doğru sonuca daha hızlı şekilde ulaşılan basit yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla yapılan çeşitli çalışmalarda *C. sakazakii'nin* biyokimyasal özelliklerinden yola çıkılarak bu mikroorganizmanın izolasyonu için kromojenik ve florojenik besiyerleri formüle edilmiştir (Iversen ve ark. 2004b; Oh ve Kang 2004; Restaino ve ark. 2006). ISO (International Standards Organization) tarafından 2006 yılında süt ve süt ürünlerinde *C. sakazakii'nin* belirlenmesine yönelik standart bir analiz yöntemi yayınlanmıştır. Bu yöntemi FDA'nın önerdiği yöntemden ayıran en önemli özellik, izolasyonda *C. sakazakii* için belirleyici olan kromojenik besiyerinin kullanımıdır.

C. sakazakii'nin Darbeli Alan Jel Elektroforezi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Çoklu Lokus Dizilim Tiplendirmesi, 16S rRNA Dizilim Analizi, Matris Destekli Lazer Desorpsiyonu/İyonizasyonu Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi gibi moleküler yöntemlerle tanımlamasının yapıldığı çalışmalar da mevcuttur (Iversen ve ark., 2007; Çetinkaya, 2011; Gitapratwi ve ark 2012; Forsythe ve ark., 2014).

Sonuç

Yüksek ölüm oranı ve iyileşenlerde görülen kalıcı nörolojik bozukluklar sebebiyle *C. sakazakii*, özellikle yeni doğan bebekler için yüksek risk oluşturan patojen bir mikroorganizmadır. Buna rağmen *C. sakazakii* kaynaklı problemler, yetersiz raporlama işlemleri nedeniyle tam olarak ortaya konamamaktadır. Bu bakterinin yüksek sıcaklığa direncinin *Enterobacteriaceae* familyasının birçok üyesinden yüksek olması, kuru ortamlarda 2 yıldan fazla yaşayabilmesi, çeşitli materyallere tutunup biyofilm oluşturabilmesi, risk düzeyi yüksek ürünlerin üretiminde bazı önlemlerin alınmasını mutlak gerekli kılmaktadır.

Gıda kaynaklı hastalıklara karşı yetişkinlere göre çok daha fazla duyarlı olan bebekler, *C. sakazakii* kaynaklı enfeksiyonlarda risk grubunu oluşturmaktadır. Bu enfeksiyonlarda riskli gıda grubu olarak da, steril ürünler olmamaları ve hazırlanmaları veya muhafazaları sırasında yapılan hatalar nedeni ile hazır toz bebek ve devam mamaları ön plana çıkmaktadır. Üretim aşamasında işletme hijyen kurallarına dikkat edilmesi ve HACCP sistemine uygun olarak gıdanın güvenliği açısından risk oluşturabilecek tüm kritik kontrol

noktalarının belirlenerek uygun önleyici ve düzeltici faaliyetlerin gerçekleştirilmesi, üretilen toz bebek mamalarının mikrobiyolojik güvenliğinin sağlanmasında ilk adımdır. Ayrıca bu ürünlerin mikrobiyolojik güvenliliğinin sürdürülebilmesi için, ürünlerin hazırlanması ve muhafazasında hem ev hem de hastane ortamındaki kullanıcıların üreticilerin tavsiyelerine özen göstermeleri ve konu hakkında bilinçlendirilmeleri gerekmektedir.

Kaynaklar

- Al-Nabulsi, A.A., T.M. Osaili, N.A. Elabedeen, Z.W. Jaradat, R.R. Shaker, K.A. Kheirallah, Y.H. Tarazi and R.A. Holley. 2011. Impact of environmental stress desiccation, acidity, alkalinity, heat or cold on antibiotic susceptibility of *Cronobacter sakazakii*. Int. J. Food Microbiol. 146:137–143.
- Anonim 2002. FDA. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm114665.htm>.
- July 2002, Revised August 2002 (Erişim Tarihi:01.06.2015)
- Anonim 2003. ADA. Guidelines for preparation of formula and breastmilk in health care facilities. Pediatric practice group of the American Dietetic Association.
- Anonim 2004. WHO/FAO. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula: Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series 6. World Health Organization and Food and Agriculture Organization . Geneva, Switzerland.
- Anonim 2008. WHO/FAO. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp.*) in powdered follow-up formula:Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series 15. World Health Organization and Food and Agriculture Organization. Geneva, Switzerland.
- Anonim 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği- T.C. Resmi Gazete 29.12.2011 Sayı: 28157. Ankara.
- Arsalan, A., Z. Anwar, I. Ahmad, Z. Shad and Z. Ahmed. 2013. *Cronobacter Sakazakii*: An Emerging Contaminant in Pediatric Infant Formula. Int. Res. J. Pharm. 4(4):17-22.
- Beuchat, L.R., H. Kim, J.B. Gurtler, L.C. Lin, J.H. Ryu and G.M. Richards. 2009. *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth, and inactivation. Int. J. Food Microbiol. 136:204–213.
- Bowen, A.B. and C.R. Braden. 2006. Invasive *Enterobacter sakazakii* disease in infants. Emerg. Infect Dis. 12: 1185–1189.
- Chenu, J.W. and J.M. Cox. 2009. *Cronobacter* ('*Enterobacter sakazakii*'): current status and future prospects. The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology, 49:153–159.
- Craven, H. M., C.M. McAuley, L.L. Duffy and N. Fegan. 2010. Distribution, prevalence and persistence of *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) in the nonprocessing and processing environments of five milk powder factories. Journal of applied microbiology, 109(3):1044-1052.
- Çetinkaya, E. 2011. Gıdalardan İzole Edilen *Enterobacter Sp.* ve *Cronobacter sakazakii* Suşlarının Biyokimyasal ve Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Gıda Mühendisliği Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dancer, G.I., J.H. Mah, M.S. Rhee, I.S. Hwang and D.H. Kang. 2009. Resistance of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp.*) to environmental stresses. Journal of Applied Microbiology, 107:1606–1614.

- Edelson-Mammel, S.G., M.K. Porteus and R.L. Buchanan. 2005. Survival of *Enterobacter sakazakii* in a dehydrated powdered infant formula. *J. Food Protect.* 68(9): 1900-1902.
- Edelson-Mammel, S., M. Porteous and R. Buchanan. 2006. Acid resistance of twelve strains of *Enterobacter sakazakii* and the impact of habituating the cells to an acidic environment. *J. Food Sci.* 71: 201–207.
- Fang, R., Q. Wang, B. Yang, J. Zhang, B. Cao, W. Geng, X. Feng, J. Yang and W. Ge. 2015. Prevalence and subtyping of *Cronobacter* species in goat milk powder factories in Shaanxi province, China. *Journal of Dairy Science*, 98(11): 7552-7559.
- Fiore, A., M. Casale and P. Aureli. 2008. *Enterobacter sakazakii*: epidemiology, clinical presentation, prevention and control. *Ann. Ist. Super Sanità.* 44(3): 275-280.
- Forsythe, S.J., B. Dickins and K.A. Jolley. 2014. *Cronobacter*, the emergent bacterial pathogen *Enterobacter sakazakii* comes of age; MLST and whole genome sequence analysis. *BMC Genomics.* 15:11-21.
- Fu, S., J. Gao, Y. Liu and H. Chen. 2011. Isolation of *Cronobacter* spp. isolates from infant formulas and their survival in the production process of infant formula. *Czech. J. Food Sci.* 29: 391-399.
- Gitapratwi, D., R. Dewanti-Hariyadi and S.H. Hidayat. 2012. Genetic relatedness of *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) isolated from dried food products in Indonesia. *International Food Research Journal*, 19: 1745-1749.
- Grimm, M., R. Stephan, C. Iversen, G.G.G. Manzano, T. Rattei, K. Riedel, A. Ruepp and D. Frishman. 2008. Cellulose as an extracellular matrix component present in *Enterobacter sakazakii* biofilms. *J. Food Prot.* 71: 13–18.
- Hu, L., C.J. Grim, A.A. Franco, K.G. Jarvis, V. Sathyamoorthy, M.H. Kothary, B.A. McCardell and B.D. Tall. 2015. Analysis of the cellulose synthase operon genes, *bcsA*, *bcsB*, and *bcsC* in *Cronobacter* species: Prevalence among species and their roles in biofilm formation and cell-cell aggregation. *Food Microbiology*, 52: 97-105.
- Huertas, J.P., M. Ros, M. Esteban, A. Palop, C. Hill and A. Alvarez. 2014. Determination of genes involved in heat resistance response of *Cronobacter sakazakii*. III Workshop en Investigación Agroalimentaria – WiA3.14. Cartagena, 12-13 de mayo de 2014.
- Hunter, C.J. and J.F. Bean. 2013. *Cronobacter*: an emerging opportunistic pathogen associated with neonatal meningitis, sepsis and necrotizing enterocolitis. *J. Perinatol.* 33:581–585.
- Iversen, C. and S. Forsythe. 2003. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science and Technology*, 14:443–454.
- Iversen, C., M. Lane and S. Forsythe. 2004a. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 38:378-382.
- Iversen, C., P. Druggan and S. Forsythe. 2004b. A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*. *Int. J. Food Microbiol.* 96: 133-139.
- Iversen, C., A. Lehner, N. Mullane, E. Bidlas, I. Cleenwerck, J. Marugg, S. Fanning, R. Stephan and H. Joosten. 2007. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies 1. *BMC Evol. Biol.* 7:64.
- Iversen, C., N. Mullane, B. Mccardell, B.D. Tall, A. Lehner, S. Fanning, R. Stephan and H. Joosten. 2008. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov.,

- Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter* genomospecies 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. Int. J. Syst. Evol. Micr. 58: 1442-1447.
- Fakruddin, M., M.M. Rahaman, M.M. Ahmed and M.M. Hoque. 2014. Stress tolerant virulent strains of *Cronobacter sakazakii* from food. Biological Research, 47:63.
- Jaradat, Z.W., W. Al Mousa, A. Elbetieha, A. Al Nabulsi and B.D. Tall. 2014. *Cronobacter* spp. – opportunistic food-borne pathogens. A review of their virulence and environmental-adaptive traits. Journal of Medical Microbiology, 63: 1023–1037.
- Joseph, S., E. Çetinkaya, H. Drahovska, A. Levican, M.J. Figueras and S.J. Forsythe. 2012. *Cronobacter condimenti* sp. nov., isolated from spiced meat and *Cronobacter universalis* sp. nov., a novel species designation for *Cronobacter* sp. genomospecies 1, recovered from a leg infection, water, and food ingredients. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 62:1277–1283.
- Kim, H., J.H. Ryu and L.R. Beuchat. 2006. Attachment of and biofilm formation by *Enterobacter sakazakii* on stainless steel and enteral feeding tubes. Appl. Environ. Microbiol. 72:5846–5856.
- Lehner, A., K. Riedel, L. Eberl, P. Breeuwer, B. Diep and R. Stephan. 2005. Biofilm formation, extracellular polysaccharide production and cell-to-cell signalling in various *Enterobacter sakazakii* strains: aspects promoting environmental stress persistence. J. Food Prot. 68: 2287–2294.
- Oh, S.W. and D.H. Kang. 2004. Fluorogenic selective and differential medium for isolation of *Enterobacter sakazakii*. Appl. Environ. Microbiol. 70:5692-5694.
- Park, S.Y., M. F. R. Mizan and S.D. Ha. 2016. Inactivation of *Cronobacter sakazakii* in head lettuce by using a combination of ultrasound and sodium hypochlorite. Food Control, 60: 582-587.
- Parra-Flores, J., A. Rodriguez, F. Riffo, S.M. Arvizu-Medrano, E.V. Arias-Rios and J. Aguirre. 2015. Investigation on the factors affecting *Cronobacter sakazakii* contamination levels in reconstituted powdered infant formula. Frontiers in Pediatrics, 3:72.
- Ravisankar, S., S.S. Syed, P. Garg, J. Higginson. 2014. Is *Cronobacter sakazakii* infection possible in an exclusively breastfed premature neonate in the neonatal intensive care unit? Journal of Perinatology, 34:408-409.
- Reich, F., R. König, W. Von Wiese and G. Klein. 2010. Prevalence of *Cronobacter* spp. in a powdered infant formula processing environment. International Journal of Food Microbiology, 140(2): 214-217.
- Restaino, L., EW. Frampton, W.C. Lionberg and R.J. Becker. 2006. A Chromogenic plating medium for the isolation and identification of *Enterobacter sakazakii* from foods, food ingredients and environmental sources. J. Food Protect. 69:315-322.
- Shaker, R., T. Osaili, W. Al-Omary, Z. Jaradat and M. Al-Zuby. 2007. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. Food Control, 18 :1241–1245.
- Toğay, S.Ö., U. Bağcı ve A. Şener. *Enterobacter sakazakii* ve Gıda Endüstrisindeki Önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Urmenyi, A.M.C. and A.W. Franklin. 1961. Neonatal death from pigmented coliform infection. Lancet. 11: 313–315.