



TÜRKİYE 12. GIDA KONGRESİ
05-07 Ekim 2016, Edirne



Escherichia coli ve E. coli O157:H7'nin Tuza Adaptasyonu

***Araş. Gör. Şehriban UĞUZ
Prof. Dr. Fikret Nafi ÇOKSÖYLER
Ekim 2016, Edirne***

Gelişmeleri için gerekli olan optimum çevre koşullarındaki herhangi bir ekstrem değişiklik mikroorganizmalar üzerinde stres yaratmakta ve/veya mikroorganizmalar doğal gelişme ortamlarında bu tür stres yaratan koşullara maruz kalabilmektedirler.

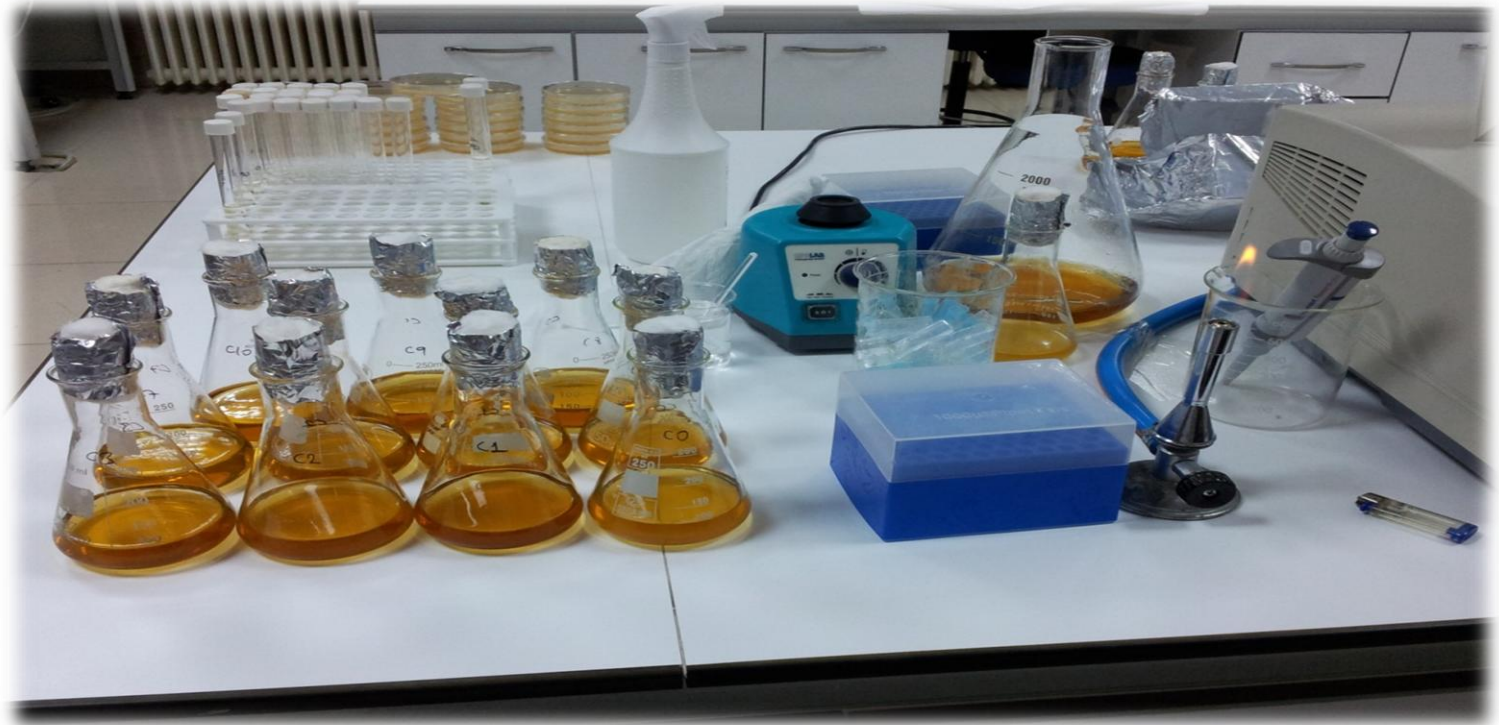
Mikroorganizmaların çoğu, çevresel parametrelerdeki küçük değişimleri tolere edebilmekte ve bu değişimlere dakikalar, saatler veya günler içinde adapte olabilmektedirler. Mikroorganizmaların giderek farklılaşan çevre koşullarına uyum sağlayabilmek için gösterdikleri yeteneğe **adaptasyon** denilmektedir. Adaptasyon bir defada olmamakla birlikte küçük küçük değişikliklerin zaman içinde meydana gelmesi ile oluşmaktadır.

Adaptasyon, sağlık ve gıda mikrobiyolojisi alanında son dönemlerin en popüler konusu haline gelmiştir. Sağlıktaki en önemli sorunlardan biri patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı adaptasyon geliştirmeleri iken benzer şekilde gıda kaynaklı patojenlerde gıdalardaki antimikrobiyellere, tuza ve asitlere adapte olabilmektedirler.

Mikroorganizmaların olumsuz koşullara adaptasyonu, saprofitlerin ve gıda kaynaklı patojenlerin inaktivasyonunda bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Gıda güvenliği ve ürünlerin raf ömrü süresi düşünülünce patojenlerin bu özelliklerinin göz ardı edilmemesi gerekmektedir.

Patojenite ve tuz adaptasyonu hakkında çok az bilgi olmasından yola çıkarak bu araştırma yapılmıştır.

Çalışmamızda; patojen ve patojen olmayan *E. coli* suşları arasında adaptasyon yetenekleri bakımından bir farklılığın olup olmadığı araştırılmıştır.

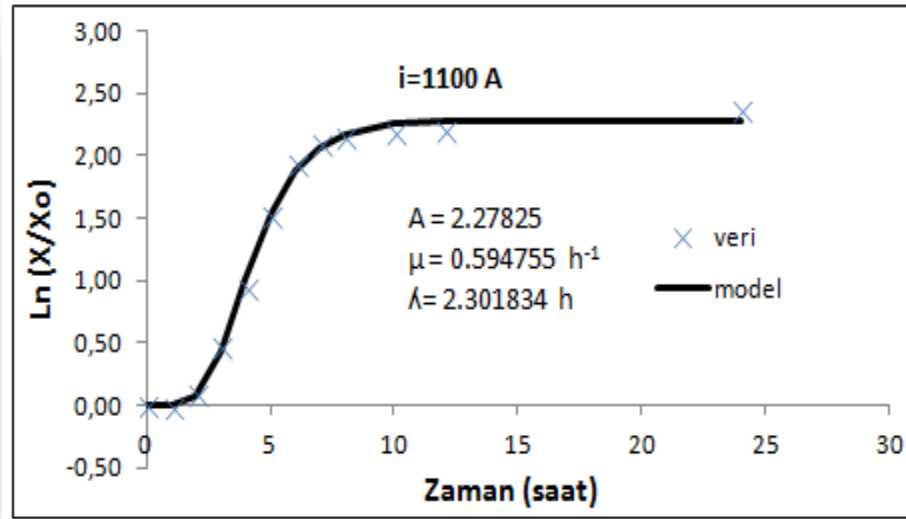


Çalışma için 4 kültür seti hazırlanmıştır:

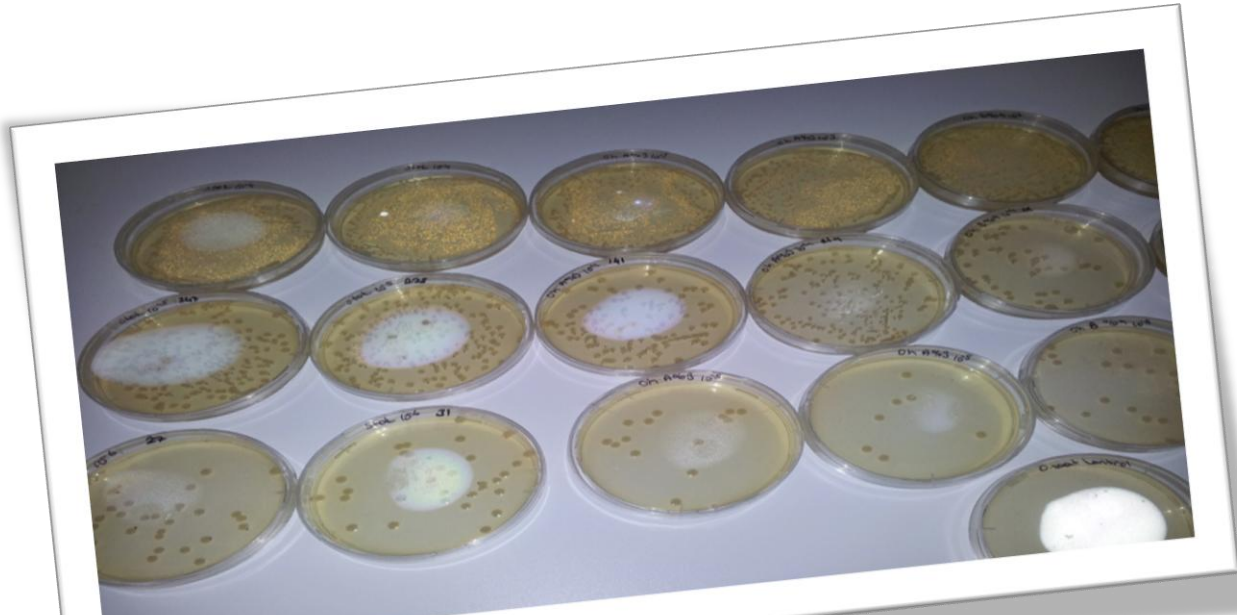
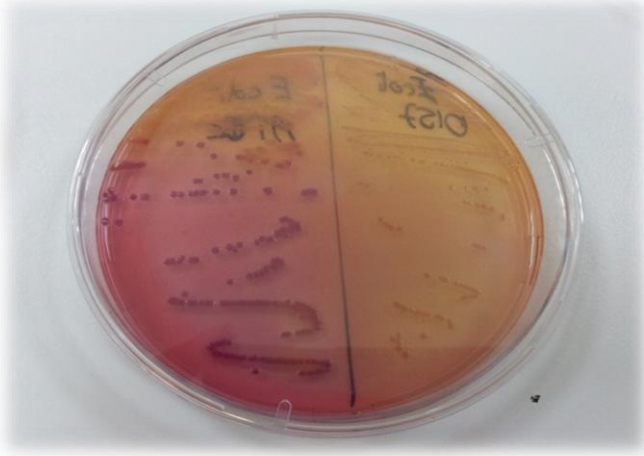
- 1. Tuza adapte edilmeyen *E. coli* (*E. coli* ATCC 25922)**
- 2. Tuza adapte edilmeyen patojen *E. coli* (*E. coli* O157:H7)**
- 3. Tuza adapte edilen *E. coli***
- 4. Tuza adapte edilen patojen *E. coli***

Tuz adaptasyonu %5 NaCl içeren TSB içerisinde 10 gün süren seri pasajlar şeklinde yapılmıştır. Her pasajlama işleminde kültüre bulaşının olup olmadığı hem gram boyama yöntemi ile hem de SMAC (O157:H7 suşu ve Tip-1 suşu için) ve TSA (herhangi bir bulaşı için)'ya sürme tekniği ile kontrol edilmiştir.

- ✓ Kùltùrler %0-10 NaCl eklenmiř TSB besiyerinde 11 tuz seviyesi ve 3'er paralel olmak üzere toplam 132 adet [(2 suř) x (2 adaptasyon) x (11 tuz dűzeyi) x (3 paralel)] geliřme denemesi uygulanmıřtır.
- ✓ Geliřimin izlenmesinde kùltürden periyodik olarak alınan örneklerdeki absorbans değişiminden yararlanılmış ve $\lambda=600$ nm'de belirli aralıklarla ölçümler alınmıştır.



- ✓ Bunun dışında kültürel sayım, direkt mikroskopik sayım, gram boyama ve sürme tekniği gibi yöntemler ile geniş aralıklarda alınan kültür örnekleri kontrol edilmiştir.



Her iki suşun tuza adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin gelişim süresince (24 saat) alınan absorban değerleri Modifiye Gompertz Modeli kullanılarak modellenmiştir.

$$\ln \left(\frac{X}{X_0} \right) = A * e^{-e^{\left(\mu * e^{\left(\frac{\lambda - t}{A} \right) + 1 \right)}}$$

λ = Lag fazı süresini (saat (h))

μ = Maksimum gelişme hızını (saat⁻¹ (h⁻¹))

A = Asimtot değer (Maksimum populasyon yoğunluğu)

X_0 = Mikroorganizmanın başlangıç yoğunluğu (kob/ml)

X = t anındaki mikroorganizma yoğunluğu (kob/ml)

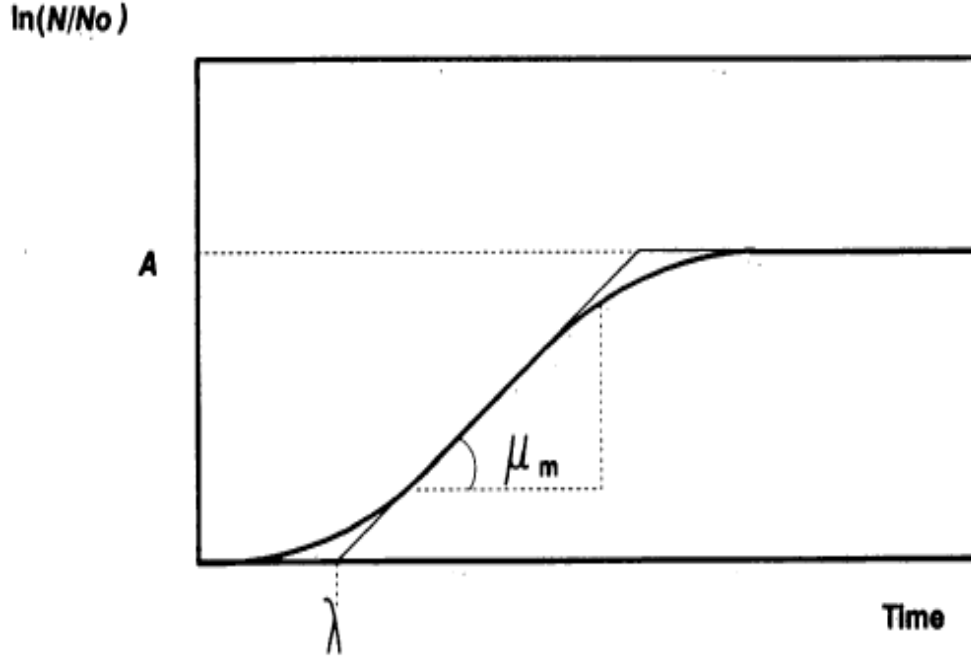


FIG. 1. A growth curve.

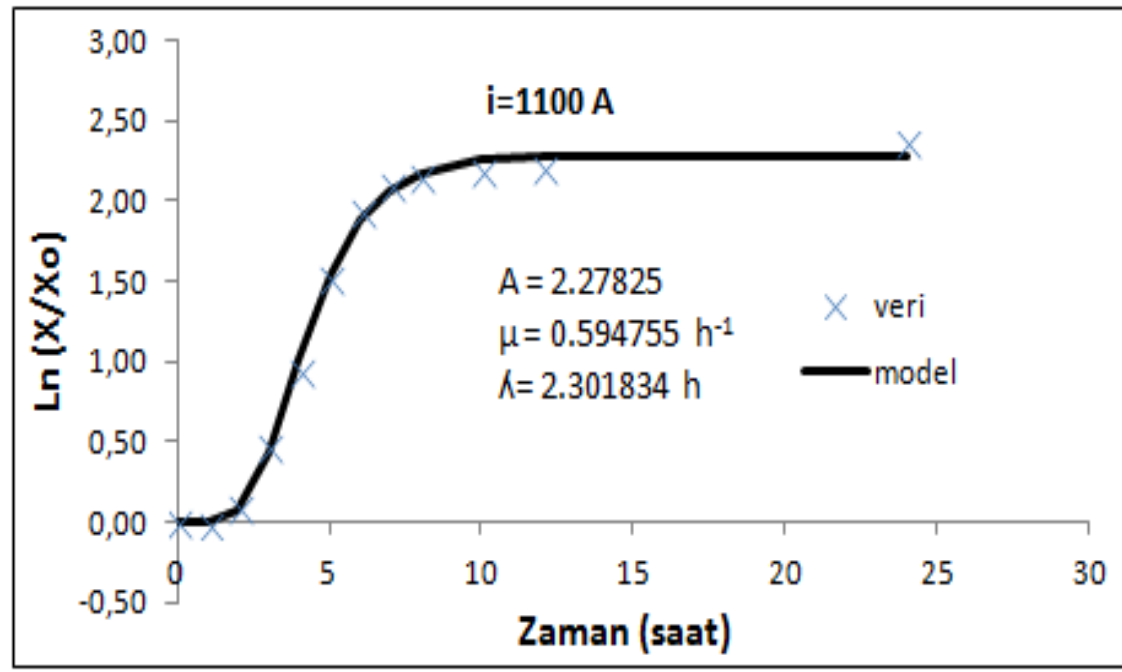
Bir mikroorganizmanın gelişme eğrisi (Zwietering, 1991)

λ = Lag fazı süresi (gelişmenin başladığı anı)

μ = Maksimum gelişme hızını (model eğrisinin dönüm noktasındaki eğimi-birim zamandaki kültürün gelişme oranını)

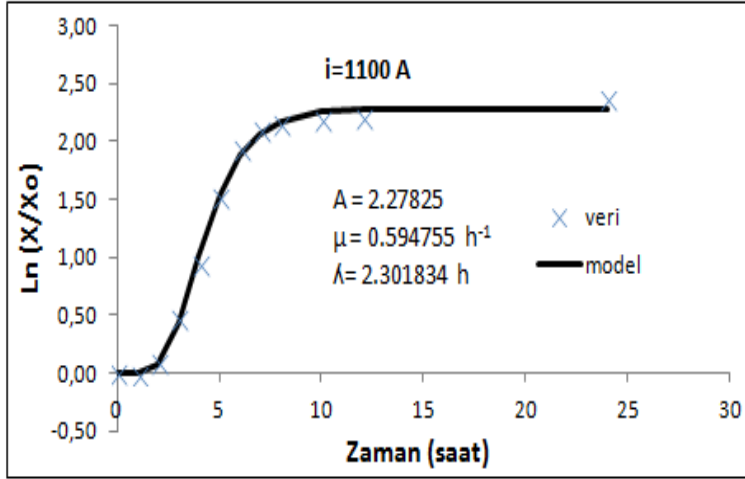
A = Asimtot değer (kültür yoğunluğunun en fazla kaç 'ln' olduğunu)

Mikroorganizma gelişiminin en önemli parametresi, maksimum spesifik gelişme hızı (μ_{\max})'dır. Bu nedenle tuza adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerin tuza karşı dayanıklılıklarının ölçüsü olarak μ_{\max} kullanılmıştır.

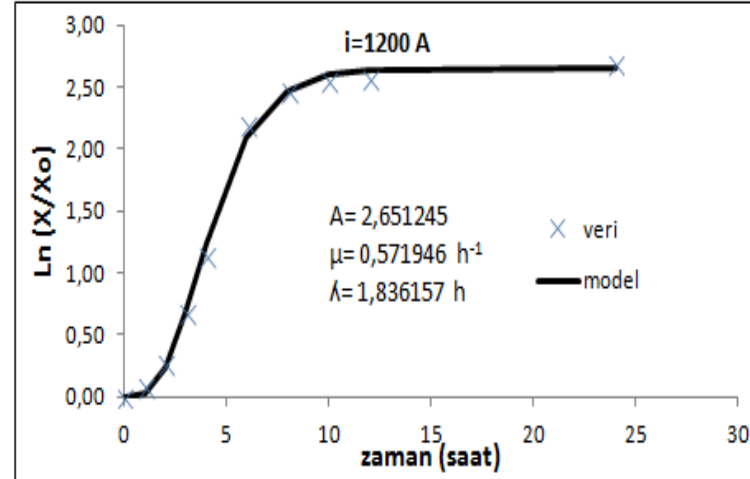


Adapte edilmiş/Adapte edilmemiş; *E. coli*/Patojen *E. coli* (%0 tuz-TSB)

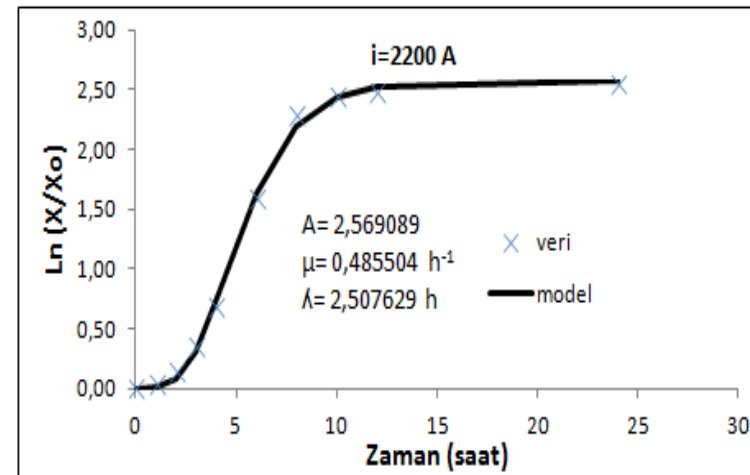
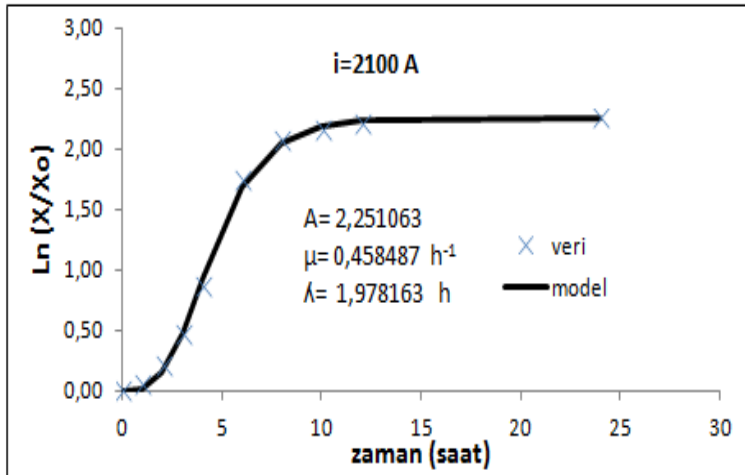
Adapte edilmemiş



Adapte edilmiş



E. coli



Patojen
E. coli

%0 tuz seviyesinde gelişme eğrileri arasında bir fark bulunmamaktadır.

Adapte edilmiş *E. coli*



Adapte edilmemiş *E. coli*



Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin μ_{max} 'ı genel olarak adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin μ_{max} 'ından daha büyüktür. Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922, %8 tuz konsantrasyonuna kadar gelişme gösterirken adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 %5 tuz konsantrasyonuna kadar gelişme gösterebilmiştir.

Adapte edilmiş *E. coli* O157:H7



Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7



İki kültürün μ_{max} 'ları farklılık göstermektedir. %1 ve %3 tuz konsantrasyonlarında tuza adapte edilmiş suşun μ_{max} 'ı adapte edilmemiş suşunkinden daha yüksek iken diğer tuz konsantrasyonlarında adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7'nin μ_{max} 'ı adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin μ_{max} 'ından daha yüksek olmuştur.

Adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922



Adapte edilmiş *E. coli* O157:H7



Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin tüm tuz konsantrasyonlarındaki ortalama μ_{max} değeri tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin ortalama μ_{max} değerinden daha yüksek olmuştur. Adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922, %8 tuz konsantrasyonuna kadar gelişim gösterebilirken adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin gelişim gösterdiği tuz konsantrasyonu %7'de kalmıştır.

Adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922



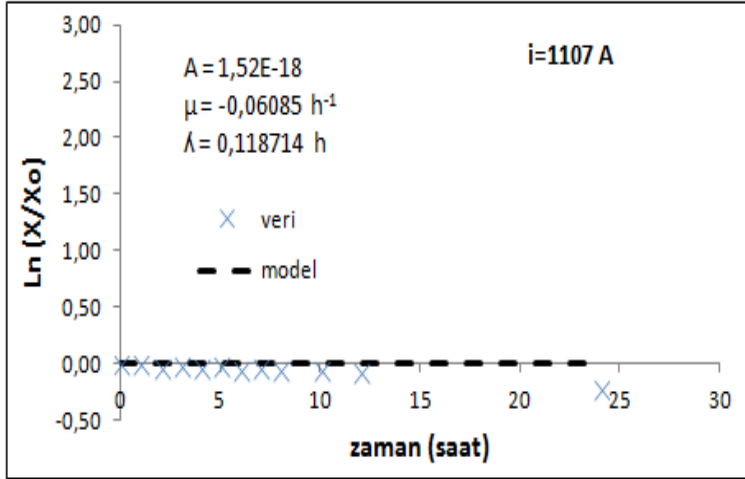
Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7



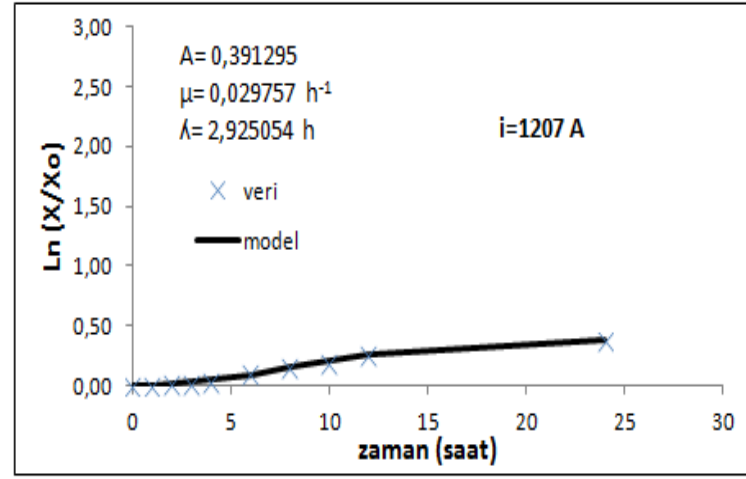
Tuza adapte edilmemiş kültürlerde %3'e kadar olan düşük tuz düzeylerinde *E. coli* ATCC 25922'nin μ_{max} 'ı daha yüksek iken %4 ve üzerindeki tuz düzeylerinde ise *E. coli* O157:H7'nin μ_{max} 'ı daha yüksektir. Bu durumu patojenin direnç mekanizması sayesinde adapte edilmemiş kültüründe bile *E. coli* O157:H7'nin tuza karşı daha dirençli olduğu şeklinde izah edilebilir.

Adapte edilmiş/Adapte edilmemiş; *E. coli*/Patojen *E. coli* (%7 tuz-TSB)

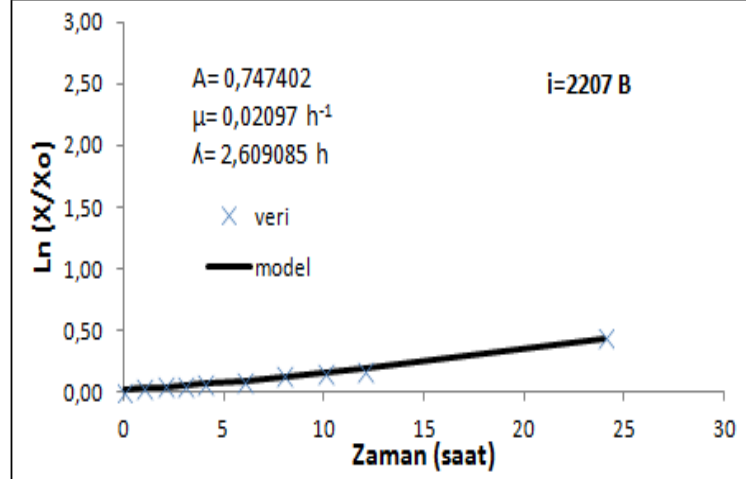
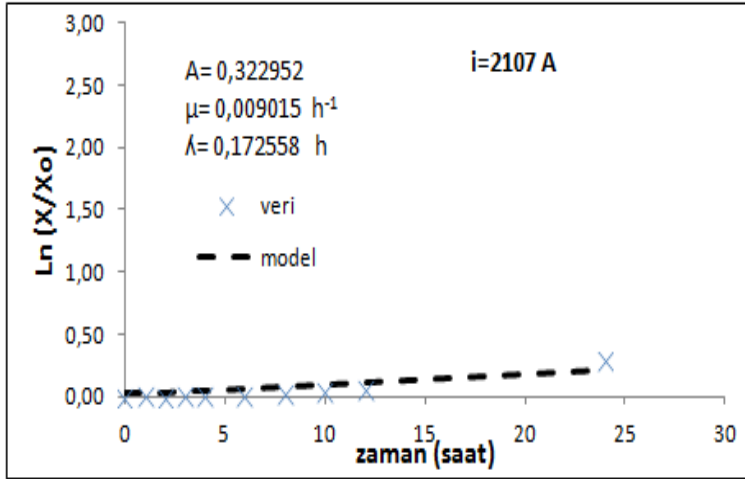
Adapte edilmemiş



Adapte edilmiş



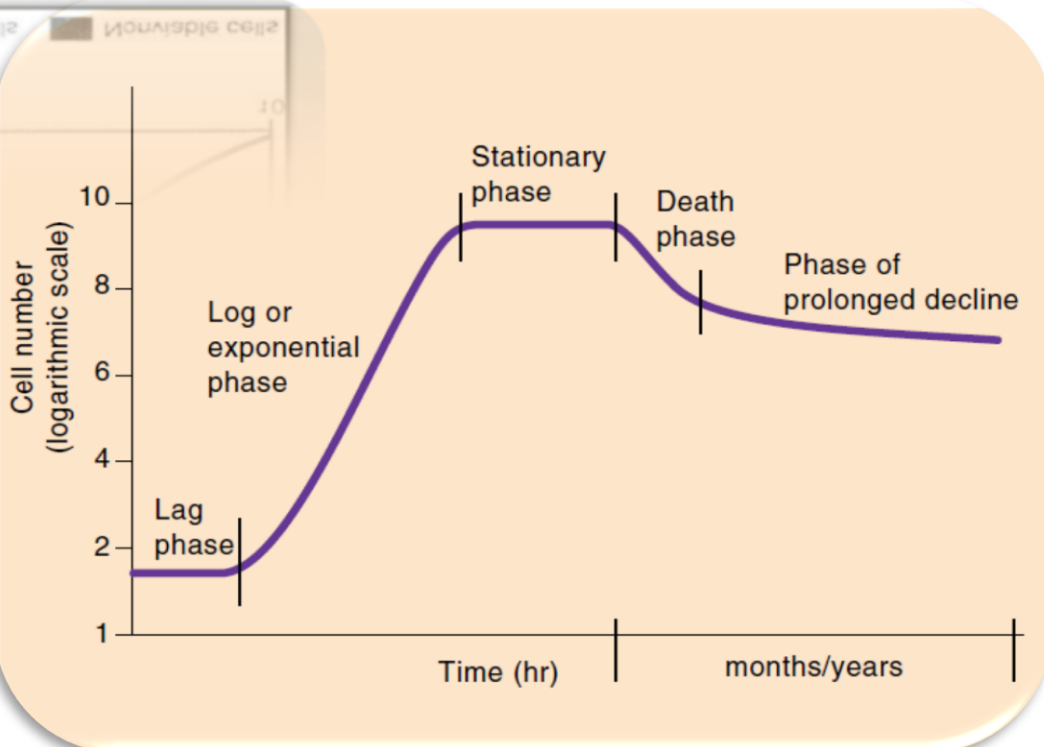
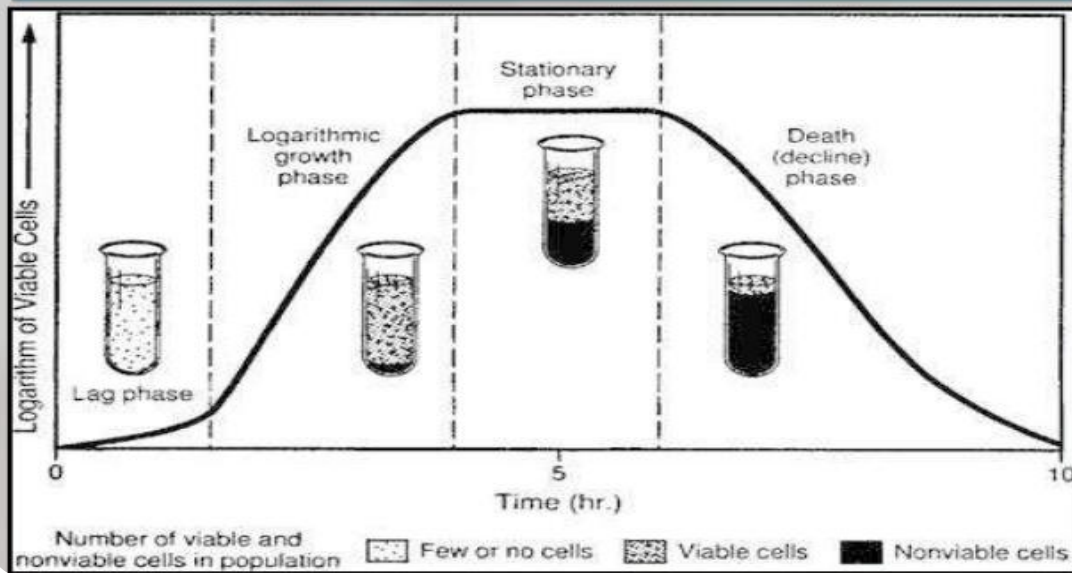
E. coli



Patojen
E. coli

Tuza adapte edilmemiş *E. coli* %7 tuz konsantrasyonunda gelişim göstermezken tuza adapte edilmemiş Patojen *E. coli* gelişim göstermektedir.

The microbial growth curve



Mikroorganizmaların inhibe ve inaktive edici faktörlere karşı adaptasyonunun incelenmesi oldukça yeni ve bir o kadar da önemlidir. Adaptasyon mekanizması fark edildikçe/anlaşıldıkça bildiğimiz klasik bilgilerin değiştiğini görmekteyiz. Moleküllerine kadar tanıdığımızı sandığımız bakterilerin stres faktörleri ile karşılaştıklarında çok daha derinlemesine bir mekanizmasının olduğu ortaya çıkmıştır. Adaptasyon mekanizmalarındaki çeşitlilik bilimsel anlamda heyecan verici iken sağlık anlamında korkutucu olmaktadır.



TEŞEKKÜRLER...