

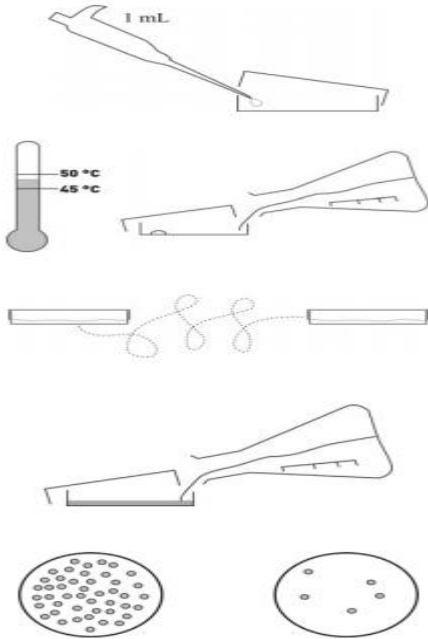
Katı Besiyeri Kullanılan Yöntemler

1. Genel Bilgiler

Katı besiyeri kullanılarak yapılan sayımın prensibi "her canlı hücrenin belirli bir inkübasyon sonunda 1 adet koloni oluşturması"dır. Bununla birlikte, canlı olduğu halde hasar görmüş ve gelişip koloni oluşturamayacak canlı hücreler de gıda maddesinde bulunabilir. Bu nedenle sayım sonuçları "sadece koloni oluşturabilenlerin" sayıldığını göstermek üzere "koloni oluşturan birim; kob (colony forming unit; cfu)" olarak verilmektedir. Katı besiyeri kullanılan standart yöntemler dökme, yayma ve damlatma olarak üç ana grupta ele alınır.

1.1. Dökme Yöntemi

Analiz edilecek gıda maddesi, gerekirse seyreltilerek ve/veya homojenize edilerek steril Petri kutusuna 1 mL olarak aktarılır; üzerine sterilize edilmiş ve 45–47 °C'da tutulan agarlı besiyerinden 12,5–15 mL kadar dökülür. Petri kutusunun masa üzerinde iken 888 çizilmesiyle örnek ile besiyeri karıştırılır. Besiyerinin katılaşmasından sonra Petri kutuları inkübatöre kaldırılır. Besiyeri ile örneğin karıştırılması el alışkanlığı gerektiren bir uygulamadır. Laboratuvara yeni gelmiş personel, ancak bu konuda yeterli deneyim kazandıktan sonra dökme yöntemi ile çalışmalıdır.



Şekil 1. Dökme Yöntemi Uygulanışı

Steril Petri kutusuna önce 1 mL örnek (sıvı gıda, homojenizati ya da uygun bir seyreltisi) - kontaminasyon olmamasına özen gösterilerek- aktarılır. Petri kutusu tabanlarına önceden gerekli tüm bilgiler yazılmış olmalıdır. Sayım için ardışık 2 seyreltiden paralel ekim yapılır.

Üzerine 45–50 °C'da tutulan steril besiyerinden, en az 2 mm kalınlık oluşturacak şekilde dökülür. Standart Petri kutuları için bu miktar 12–15 mL kadardır. Besiyeri dökme sıcaklığı çok kritiktir.

Daha sıcak ya da daha soğuk olmamalıdır. Besiyeri döküldükten hemen sonra düzgün bir zeminde ve dikkatli bir şekilde 888 çizilerek Petri kutusuna aktarılmış örnek ile besiyerinin

tam olarak karışması sağlanır. Petri kutuları düzgün bir zeminde kendi halinde jelleşmeye bırakılır.

Gerekirse, 45–50 °C'da tutulan 2. kat besiyerinden 5 mL kadar dökülür ve kendi halinde jelleşmeye bırakılır. 2. kat döküm standart uygulamada yoktur, koliform grup analizi gibi bazı özel analizlerde yapılır. 2. katın da tam olarak jelleşmesi beklenir. İnkübasyondan sonra Petri kutuları sayım, var/yok analizlerine uygun bir şekilde değerlendirilir. Analizden sonra, ekim yapılmış tüm malzeme otoklavda sterilize edilir ya da uygun bir kimyasal madde ile dezenfekte edilir. Daha sonra bu malzeme yıkanır ya da atılır.

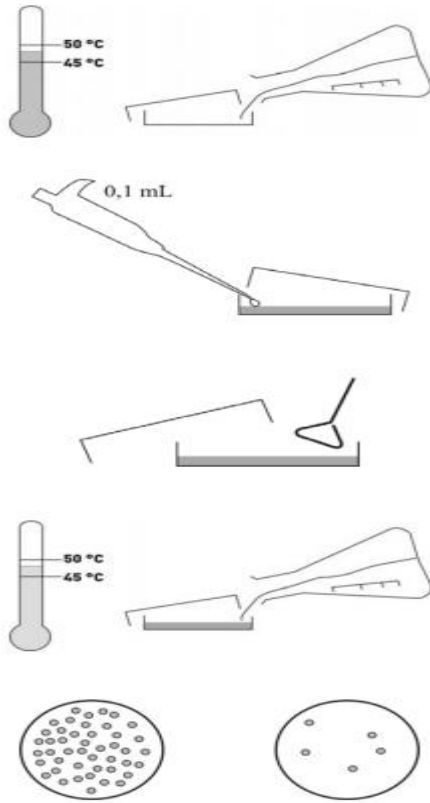
1.2. Yayma Yöntemi

Bu yöntemde sterilize edilmiş besiyeri, steril Petri kutusuna yaklaşık 12,5 mL hesabı ile dökülür. Bir diğer deyiş ile 100 mL besiyeri 8 Petri kutusuna eşit olarak dağıtılır. Besiyerinin katılaşması beklenir, yüzey kuruması sağlandıktan sonra 0,1 mL sıvı gıda örneği ya da homojenizatından 0,1 mL aktarılır. %76'lık (v/v) alkolde tutularak sterilize edilmiş olan cam ya da çelik Drigalski spatülü alevden geçirilerek alkol uzaklaştırılır. Tek kullanımlık steril plastik spatüller de vardır. Spatül kullanılarak besiyerine aktarılmış sıvı, tüm yüzeye homojen bir dağılım gösterecek şekilde yayılır. Yayma yöntemi kullanıldığında dikkat edilecek en önemli nokta, spatülün sterilizasyonudur. Zamanla alkolün buharlaşmasına bağlı olarak konsantrasyon azalması olur ve kimyasal sterilizasyon sağlanamaz. Alkolde önceki ekimlerden kontamine olmuş ve canlılıklarını sürdüren mikroorganizmalar da ekimi yapılan besiyerine geçerek koloni oluşturur. Bu olasılık, özellikle toplam bakteri sayımında önemlidir. Alkoldeki spatülün alevden geçirilmesi sadece alkolün uzaklaştırılması içindir ve alkol yanarak uzaklaşırken ortaya çıkan ısı, spatül üzerindeki mikroorganizmaları tahrip etmeyebilir. Spatülün sterilizasyonunda dikkat edilecek ikinci husus, alkolde kalma süresidir. Seri bir ekim sırasında spatülün alkolde 2 dakikadan daha az kalması yeterli bir sterilizasyon sağlamayabilir. Bu nedenle ekim yoğunluğuna göre çok sayıda spatül kullanılması, bunların sıra ile alkolden çıkarılarak kullanılması gerekmektedir. Son olarak, bunzen beki yanında duran alkolün alev alması ve yaralanmaya neden olma tehlikesinin hayli yüksek olduğu göz önünde tutulmalıdır.



Şekil 2. Drigalski Spatülü

Tüm bu sorunlar, bir kez kullanılıp atılan (disposal) spatül kullanılması ile giderilebilir. Her ne kadar laboratuvar analizlerinde disposal spatül kullanılması bir masraf unsuru olarak düşünülse de, cam spatüllerin kırılma olması, alkol giderleri, kontaminasyon tehlikesi gibi avantajlı olduğu görülür.



Şekil 3. Yayma Yöntemi Uygulanışı

Steril Petri kutularına önce steril besiyeri en az 2 mm kalınlıkta olacak şekilde dökülür (standart Petri kutuları için 12–15 mL). Besiyeri dökme sıcaklığı 45–50 °C olmalıdır. Ekim öncesi yüzey, yeterli bir şekilde kurutulmalıdır. Yüzey aşırı nemli ya da çok kuru olmamalıdır.

Bunun üzerine 0,1 (0,33; 1,0) mL örnek (sıvı gıda, homojenizatı veya uygun seyreltisi) kontaminasyon olmamasına özen gösterilerek aktarılır. Önceden dökülüp, depolanmış olan besiyerleri kullanılabilir. Petri kutusunun tabanına daha önceden gerekli tüm bilgilerin yazılmış olması gerekir.

Örnek aktarımından hemen sonra alkolde en az 2 dakika bekletilerek sterilize edilmiş Drigalski spatülü ile besiyeri yüzeyine homojen bir şekilde yayılır. Drigalski spatülü, bunzen beki alevinden hafifçe geçirilerek alkolü uzaklaştırılmış olmalıdır. Disposal spatül kullanılabilir.

Gerekirse, 45–50 °C'da tutulan 2. kat besiyerinden 5 mL kadar dökülür ve düzgün bir zeminde kendi halinde jelleşmeye bırakılır. 2. kat döküm standart uygulamada yoktur, koliform grup analizi gibi bazı özel analizlerde yapılan bir uygulamadır. İnkübasyondan sonra Petri kutuları sayım, var/yok analizlerine uygun bir şekilde değerlendirilir. Analizden sonra, ekim yapılmış tüm malzeme otoklavda sterilize ya da uygun bir kimyasal madde ile dezenfekte edilir. Daha sonra bu malzeme yıkanır ya da atılır.

Koliform bakterilerin VRB Agar besiyerindeki analizinde olduğu gibi hafif bir anaerob ortam sağlamak, PCA besiyerinde kolonilerin yayılmasını önlemek vb. nedenlerle bazı standartlarda ekimden sonra besiyeri üzerine ikinci kat besiyeri dökülür. Bu uygulama gerek yayma gerek dökme yöntemlerinde görülmektedir. Yayma yönteminde, çözelti besiyerine aktarıldıktan yaklaşık 10 dakika sonra (besiyeri çözeltiyi yeteri kadar emdikten sonra), dökme yönteminde ise agarlı besiyeri tam olarak katılaştıktan sonra, su banyosunda 45–50 °C'da tutulan besiyerinden 4–5 mL kadar ikinci kat olarak dökülür. İlave edilen bu kısım da tam olarak katılaştıktan sonra Petri kutuları inkübatöre kaldırılır.

Genel uygulamada ikinci kat olarak aynı besiyeri dökülmekle beraber, bazı özel standartlarda farklı besiyeri dökülmesi de görülmektedir. Bu uygulamada dikkat edilmesi gereken bir diğer konu, ikinci kat besiyerinin 4-5 mL olarak dökülmesi ve bunun tüm Petri kutusu yüzeyini kaplamasıdır. Bu işlem, el alışkanlığı ile kolaylıkla sağlanabilir. Standart analizde yayma ve dökme yöntemi için yaklaşık 12,5 mL besiyeri kullanılması yeterlidir. Bazı standartlarda, ikinci kat besiyeri dökülecek ise bu değerler 10 mL + 4–5 mL olarak verilmektedir.

➤ **Dökme ve yayma yönteminin kıyaslanmasında her iki yöntemin de birbirlerine göre üstünlükleri olduğu görülür:**

- Açıklamalardan görüldüğü gibi, her iki yöntemin de birbirlerine göre üstün tarafları vardır. Genel olarak gıda mikrobiyolojisi laboratuvarı günlük analizlerinde yayma yöntemi ile çalışılır. Yukarıda da belirtildiği gibi, sıvı gıdada az sayıda mikroorganizma olduğu tahmin ediliyorsa, herhangi bir seyreltme yapılmadan doğrudan analiz için kullanılır. Katı gıda mutlaka uygun bir seyreltme çözeltilinde homojenize edilmiş olmalıdır. Yayma yönteminde 0,1 mL pipetlenmesinin nedeni, besiyerinin daha fazla hacmi emmemesi değil, sadece hesap kolaylığıdır. Böylece 0,1 mL aktarıma sonunda koloni sayısı basit olarak 10 ile çarpılarak seyreltme çözeltilisinin 1 mL'sindeki sayı bulunup, seyreltme faktörü ile çarpılarak orijinal örnekteki sayı hesaplanır.

- Petri kutusuna dökme yönteminde 1 mL, yayma yönteminde 0,1 mL örnek aktarıldığı için, dökme yöntemi yayma yönteminden 10 misli daha duyarlıdır. Örneğin, katı bir gıdada 10 kob/g düzeyinde *S. aureus* bulunmasına izin veriliyorsa ve o gıdada 30 kob/g *S. aureus* varsa, 10^{-1} seyreltinin 1 mL'sinde 3 adet *S. aureus* olacaktır. Dökme yönteminde 1 mL kullanıldığına göre Petri kutusunda 3 koloni oluşacak ve seyreltme faktörü ile çarpılarak 1 gramda 30 sayısına ulaşılabilecektir. Aynı örnek yayma yöntemi ile ekildiğinde 0,1 mL içinde 1 adet *S. aureus* olma şansı sadece %30'dur. Buna göre inkübasyon sonunda %30 olasılıkla 1, %70 olasılıkla 0 koloni olacaktır. 1 koloni oluşur ise sonuç $(1 \times 10 / 0,1)$ hesabı ile 100 kob/g, hiç koloni oluşmazsa 1 gramda 100'den daha az olarak verilecektir. Bu örneğe göre katı gıdalarda 100 adet/g, sıvı gıdalarda 10 adet/mL'den daha az sayıda mikroorganizma varsa, yayma yöntemi uygun değildir.
- Dökme yönteminde mikroorganizmalar tüm besiyeri kütesine dağılır ve buna bağlı olarak tabana yakın ve yüzeye yakın olan mikroorganizmalar oksijenden yararlanma farkı nedeni ile farklı büyüklükte ve morfolojide koloni oluşturur. Oysa yayma yönteminde tüm mikroorganizmalar yüzeyde olduğu için aynı şekilde oksijenden yararlanarak aynı büyüklükte ve morfolojide koloni oluştururlar. Bu açıdan değerlendirildiğinde yayma yöntemi avantajlıdır.
- Yaygın kullanım alanı olmamakla beraber, 10^{-1} seyreltiden 4 adet boş steril Petri kutusuna toplam 10 mL'nin dağıtılması ve üzerlerine 15'er mL kadar besiyeri dökülmesi ile fiilen 1 gram katı gıda analiz edilmiş olur.
- Dökme yönteminde agarlı besiyeri çok sıcak olursa, termal şok nedeni ile mikroorganizmaya zarar verebilir. Çok soğuk olursa, dökme sırasında besiyeri katılaşıp ve iyi bir karıştırma sağlanamayabilir. Besiyeri sıcaklığı optimum olsa bile besiyeri ile çözeltinin homojen karışmasını sağlamak el deneyimi gerektirir. Buna bağlı olarak da dökme yönteminde kullanılacak agarlı besiyerleri en fazla 250 mL olarak hazırlanmalıdır. Yayma yönteminde bu gibi sorunlar yoktur, cam çubuk ile daha homojen bir dağılım sağlanır.
- Yayma yönteminde, besiyeri Petri kutusuna döküldükten sonra bir süre yüzeyin kurumaması beklenmelidir. Oysa dökme yönteminde böyle bir sorun yoktur. Dolayısıyla acil ekimlerde stokta önceden dökülmüş hazır besiyeri yoksa ve bu nedenle yeterince kurumamış besiyeri kullanılırsa kolonilerde yayılma oluşabilir. Yayma yönteminde,

stok Petri kutularının organizasyonu kolaylıkla sağlanabilir. Dökme yönteminde ise, besiyeri sterilize edildikten sonra erlende katılaştırılıp stoklanır ise yeniden eritmek gerekir. Bu işlem, besiyerine zarar verebilir. Ayrıca her besiyeri bu şekilde yeniden eritilemez.

- Yayma yönteminde kullanılan cam (bazen metal) çubuğun sterilizasyonu alkol ile yapılmaktadır. Alkol, konsantrasyon düşmesi sonucu sterilizasyon etkisini göstermez ve kontaminasyona neden olabilir. Dökme yönteminde alkolden ya da Drigalski spatülünden gelebilecek bir kontaminasyon riski yoktur. Buna karşı, disposal steril plastik Drigalski spatülü kullanılabilir.

1.4. Damlatma Yöntemi

Damlatma yönteminde, daha önceden dökülüp katılmış besiyerine 10 µL (0,01 mL) damlatılır ve kendi halinde kurumaya bırakılır. Potato Dextrose Agar gibi besiyerleri damlayı çok iyi emdiği için, 50 µL damlatma yapılabilir. Kuruma sırasında yaklaşık 2 cm çaplı bir daire içinde oluşan koloniler genellikle büyüteç altında sayılır. Bu yöntemin en büyük avantajı tek Petri kutusu üzerine 4–6 damla aktarılması, diğer bir deyiş ile, besiyerinden 4–6 misli tasarruftur. Ancak, kolonilerin sağlıklı bir şekilde sayılamaması nedeni ile hiçbir koşulda günlük analizde kullanılmaz. Zorunlu hallerde titre belirlenmesi için kullanılabilir.

2. Koloni Sayısının Hesaplanması

İnkübasyon sonunda Petri kutularında sayım hızla yapılmalıdır. Herhangi bir nedenle inkübasyon sonrasında sayım yapılamayacak ise, Petri kutuları +4 °C'da en fazla 24 saat depolanabilir. Daha uzun süre ile depolanmış Petri kutularında sayım yapılma zorunluluğu varsa, elde edilecek sonuçlar güvenilir değildir ve analiz raporlarında bu durum açıkça belirtilmelidir. Daha önce 30–300 arasında koloni içeren seyreltilerdeki ekimler dikkate alınır iken, artık ardışık iki seyreltiden yapılan ekim sonuçlarının ağırlıklı aritmetik ortalaması alınarak örnekteki sayı hesaplanır. Bu hesaplamada kullanılan formül; $N = C / [V \times (n1 + 0,1 \times n2) \times d]$ şeklindedir.

Burada; N = Gıda örneğinin 1 gram ya da 1 mL'sinde mikroorganizma sayısı

C = Sayımı yapılan tüm Petri kutularındaki koloni sayısı toplamı

V = Sayımı yapılan Petri kutularına aktarılan hacim (mL)

n1= İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan Petri kutusu adedi

n2= İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan Petri kutusu adedi

d= Sayımın yapıldığı ardışık 2 seyreltiden daha konsantre olanın seyreltme oranıdır.

Bu formülde, 15–300 arasındaki koloni sayımları dikkate alınmaktadır. Farklı kaynaklarda 15–250, 25–250 vb. gibi farklı sınırlara da rastlanmaktadır. Ayrıca sayımı yapılacak mikroorganizmaya göre bu değer değişebilmektedir. Örneğin FDA, süt ve ürünleri için PCA sayımlarında 25–250, VRB Agar sayımlarında 1–154 sınırlarını esas almaktadır. Maya–küf sayımlarında ise 15–150 olan Petri kutuları dikkate alınır. Aşağıda bir sayım sonucunun değerlendirme örneği vardır. Örnek: Yayma kültürel sayım yöntemi uygulanmış ve her seyreltiden 2 Petri kutusuna ekim yapılmış ve 10–2 seyreltide 219 ve 185, 10–3 seyreltide 28 ve 21 adet koloni elde edilmiştir. Formüle göre;

$C = 219 + 185 + 28 + 21 = 453$ $V = 0,1$ (yayma kültürel sayım için Petri kutularına 0,1'er mL pipetlenmiştir)

$n_1 = 2$ (10–2 seyreltiden ekim yapılan 2 Petri değerlendirmeye alınmıştır)

$n_2 = 2$ (10–3 seyreltiden ekim yapılan 2 Petri değerlendirmeye alınmıştır)

$d = 10^{-2} = 0,01$ (ardışık 2 seyreltinin daha konsantre olanın seyreltme oranıdır)

$N = C / [V \times (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d]$ $N = 453 / [0,1 \times (2 + 0,1 \times 2) \times 10^{-2}]$ $N = 453 / [0,1 (2,2 \times 0,01)]$ $N = 205.909,09$

Bu değer, virgülden sonra 1 desimal ile gösterilmeli ve sonuç $2,1 \times 10^5$ kob/g (sıvı ise kob/mL) olarak verilmelidir.

Yukarıdaki örnekte 15–250 koloni/Petri kutusu sınırında değerlendirilmiştir. Eğer 25–250 koloni sınırında değerlendirilirse, sonuç aşağıdaki gibi olacaktır:

$C = 219 + 185 + 28 = 432$

$V = 0,1$ (yayma kültürel sayım için Petri kutularına 0,1'er mL pipetlenmiştir)

$n_1 = 2$ (10–2 seyreltiden ekim yapılan 2 Petri değerlendirmeye alınmıştır)

$n_2 = 1$ (10–3 seyreltiden ekim yapılan 1 Petri değerlendirmeye alınmıştır)

$d = 10^{-2} = 0,01$ (ardışık 2 seyreltinin daha konsantre olanın seyreltme oranıdır)

$N = C / [V \times (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d]$ $N = 432 / [0,1 \times (2 + 0,1 \times 1) \times 10^{-2}]$ $N = 432 / [0,1 (2,1 \times 0,01)]$ $N = 205.714,29; 2,1 \times 10^5$

Görüldüğü gibi daha seyreltik olan ekimlerdeki Petri kutularının değerlendirilmeye alınması ya da alınmaması sayım sonucunu pek etkilememektedir. Benzer şekilde sırası ile 240, 260; 34, 41 koloni elde edilen sayım sonucu 25–250 sınırında değerlendirildiğinde $2,6 \times 10^5$ sonucu alınacak, 30–300 sınırında yine $2,6 \times 10^5$ değeri elde edilecektir. Desimalin yuvarlatılması

konusunda da farklı yaklaşımlar olabilmektedir. Standart olarak 205 sayısı 210 olarak yuvarlatılmakla beraber, yuvarlatılacak sayı 5 ise, bunun önündeki sayının tek ya da çift olmasına göre yuvarlatma, sırası ile yukarı ya da aşağı doğru yapılabilir. Bu örnekte 205 sayısındaki "0" çift sayıldığı için yuvarlatma aşağı doğru yapılarak, 200 olarak verilmektedir. Kuşkusuz, bu yöntemle göre 195 sayısı da yuvarlatıldığı zaman 200 değeri elde edilmektedir. Bu uygulama, FDA tarafından benimsenmektedir. Her ne kadar mikrobiyolojik analiz sonucu olarak yukarıdaki örneklerde hesaplanan değer kullanılsa da, gerçek sayının bu olduğu beklenmemelidir. Petri kutusundaki koloni sayısı azaldıkça istatistik açıdan hata olasılığı artmakta, tersine olarak Petri kutularındaki koloni sayısı arttıkça bu tip hata olasılığı azalmaktadır. Ancak, bu kez sayım yapılırken hata oluşması ve bazı kolonilerin sayılmaması nedeni ile, üst sınır olarak mikroorganizmaya göre değişen değerler alınmaktadır.

Sayımda 250, 300 gibi belirlenen üst sınırın üzerinde koloni varsa ve sayım yapılması zorunlu ise tercihen koloni sayacı ve mutlaka büyüteç kullanılarak 1 cm² alan içinde kaç koloni olduğuna bakılır. Ortalama olarak 1 cm² alanda 5–10 arasında koloni varsa koloni sayacı kullanılarak yatay ve düşey olarak 1 cm² olan 6'şar hatta sayım yapılarak, ortalaması alınır ve Petri kutusu alanı ile orantı kurularak sayım sonucu hesaplanır. 1 cm² alanda 10'dan fazla koloni varsa herhangi 4 alanda sayım yapılarak, ortalama alınır ve yine Petri kutusu alanı ile oranlanarak sonuç bulunur. Her iki koşulda da sonuç "tahmin" olarak verilir. Koloni sayısının hesaplanmasında sıklıkla karşılaşılan bir sorun, aynı seyreltiden 2 paralel ekim yapıldığında sayım sonuçları arasındaki farktır. Genel olarak; %0–10 farklılık "çok iyi", %10–15 farklılık "iyi" ve %15–20 farklılık "kabul edilebilir" olarak değerlendirilmektedir. Daha yüksek koloni sayısı farklılıkları görülüyor ise bunun nedenleri sistematik olarak araştırılmalı ve farkın aşağıya çekilmesi için düzeltici uygulama yapılmalıdır. Burada dikkati çeken bir ayrıntı vardır. 2 paralel ekimde 80 ve 100 koloni sayımı elde edildi ise, tolerans hesabında hangi sayının dikkate alınacağı tartışılmalıdır. 80 koloni dikkate alınırsa, bunun %20 fazlası 96 olup, kabul edilebilir sınırın dışındadır. Oysa 100 koloni esas alınırsa, bunun %20 eksikliği 80 olup, bu kez kabul edilebilir sınır içindedir. Analiz yapan kişinin lehine olarak büyük değer esas alınabileceği gibi, analiz sonucunun daha duyarlı olması açısından küçük değer de dikkate alınabilir. Bu konu, ilgili talimatta belirtilmelidir. Sayımda dikkat edilmesi gereken bir diğer özellik, performans testidir ve ayda en az bir kez yapılması önerilir. Buna göre sayım yapan personelin aynı Petri kutusunda bir kez daha sayım yapması sağlanır. 2 sonuç arasında kabul edilebilecek en yüksek fark %8'dir. Aynı Petri kutusunda 2 ayrı personelin sayım sonuçları

arasında ise, en çok %10 fark kabul edilebilir. Bu şekilde personelde performans düşüklüğü fark edilirse, düzeltici önlem alınmalıdır.

3. Sonuçların Verilmesi

Katı besiyerinde yapılan sayım sonuçlarının verilmesinde koloni oluşturan birim esas alınır. Koloni sayısı hesaplandıktan sonra sonuç, katı gıdalarda (örneğin 7,3X10²) kob/g, sıvı gıdalarda (örneğin 3,2X10¹) kob/mL olarak verilir. Bu değerler, yukarıdaki örneklerde olduğu gibi ya da sırasıyla 730 kob/g ve 32 kob/mL olarak da verilebilir. Ekim yapılan en derişik seyreltide bile koloni gelişmesi görülmezse sayının 0 olarak verilmesi hatalı olur. Bu gibi sonuçlar ancak 1 mL ya da 1 gram numunenin doğrudan var/yok testi sonucunda ve aşağıdaki örnekte olduğu gibi, sıvı gıdadan 1 mL ekim yapılması halinde verilebilir. Petri kutularında koloni gelişmesi olmazsa, aşağıdaki formüle göre hesaplanan değer analiz sonucu olarak verilir: Sayı: $\lt \{ 1 / [(seyreltme faktörü) \times (Petri kutusuna pipetlenen hacim)] \}$

Örnek: Katı gıdanın 10–1 seyreltisinden yayma yöntemi ile analiz yapılmış ve koloni gelişmesi olmamıştır. Formüle göre sayı: $\lt \{ 1 / [(10-1) \times (0,1)] \} = 1 / 0,1 \times 0,1 = 100$; sonuç "100 kob/gramdan daha az" olarak verilir. Örnek: Katı gıdanın 10–1 seyreltisinden yayma yöntemi ile 3 Petri kutusuna toplam 1 mL dağıtılmış ve koloni gelişmesi olmamıştır. Formüle göre sayı: $\lt \{ 1 / [(10-1) \times (1)] \} = 1 / 0,1 \times 1 = 10$; sonuç "10 kob/gramdan daha az" olarak verilir. Örnek: Sıvı gıdanın kendisinden (100 seyrelti) yayma yöntemi 3 Petri kutusuna toplam 1 mL dağıtılmış ve koloni gelişmesi olmamıştır. Formüle göre sayı: $\lt \{ 1 / [(100) \times (1)] \} = 1 / 1 \times 1 = 1$; sonuç "1 kob/mL'den daha az" olarak verilir. Bu örnekte fiilen 1 mL numune analize alındığı için sonuç "1 mL'de yok" şeklinde verilebilir. Sayım sonuçlarının verilmesinde farklı kurallar da uygulanabilmektedir. Örneğin FDA, süt ve ürünleri analizinde PCA besiyerinde toplam bakteri sayımı için 0–24 arasında koloni bulunan Petri kutularını "<25 x seyreltme faktörü" olarak verilmesini isterken, koliform analizinde Petri kutularında 1–154 arası koloni olmasını kabul ettiği için Petri kutusunda 6 ya da 153 gibi bir koloni sayısını doğrudan kullanmakta, tersine olarak 154'ten fazla olan sayıları ise ">150 x seyreltme faktörü" olarak değerlendirmektedir.