

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PATOJEN *E. coli* O157:H7 SUŞUNUN
SUCUĞUN OLGUNLAŞMA
SÜRECİNDEKİ DEĞİŞİMİ**

76832

76832

Serap COŞANSU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 15/09/1998 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oy-çokluğu ile kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Kamuran AYHAN Prof. Dr. Nuray KOLSARICI Prof. Dr. Yavuz BEYATLI
(Danışman)**

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATOJEN *E. coli* O157:H7 SUŞUNUN SUCUĞUN OLGUNLAŞMA SÜRECİNDEKİ DEĞİŞİMİ

Serap COŞANSU

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dah

Danışman:Doç Dr. Kamuran AYHAN
1998, Sayfa:49

Jüri: Doç Dr. Kamuran AYHAN
Prof. Dr. Nuray KOLSARICI
Prof. Dr. Yavuz BEYATLI

Bu çalışmada, sucuk hamuruna 10^5 adet/g düzeyinde enterohemorajik *E. coli* O157:H7 suşu ilave edilmiş ve fermentasyon, kurutma ve depolama dönemindeki seyri araştırılmıştır. *E. coli* O157:H7 suşunun sayımı ile birlikte toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), laktik asit bakterileri (LAB), enterobakteriler, maya ve kük sayımları ve ayrıca pH ve nem tayini yapılmıştır ve sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Araştırma sonucunda, fermentasyon ve kurutma döneminde *E. coli* O157:H7 suşunun sayısında 3 log birimi azalma meydana geldiği, depolama döneminde vakum paketli sucuklarda açıkta depolananlara göre daha uzun süre canlı kaldığı, ancak +4°C de 3 aylık depolama dönemi sonunda pH ve % nem miktarının düşüşü ile tamamen inhibe olduğu sonucuna varılmıştır.

E. coli O157:H7 inoküle edilmiş sucuk örneklerinde, fermantasyonun 2. gününde LAB sayısı kontrol örneklerindeki LAB sayısından daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Depolama döneminde nem miktarının vakum paketli sucuklarda açıkta depolananlara göre daha yüksek olduğu saptanmış ve istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

TAMB sayısı fermantasyon ve kurutma döneminde artmış, depolama döneminde ise azalmıştır. TAMB sayısı bakımından günler arasındaki farklılık istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Fermantasyon, kurutma ve depolama dönemlerinde enterobakteri sayısında azalma meydana gelmiş ve bu azalmanın istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Maya-küf sayısı fermantasyon ve kurutma döneminde artmış, depolama döneminde ise azalmıştır. Bu artış ve azalma istatistiksel olarak sırasıyla %5 ve %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Entorohemorajik *E. coli*, *E. coli* O157:H7, sucuk, fermenten et ürünleri, inhibisyon, fermantasyon ve kurutma.

ABSTRACT**Master Thesis**

**BEHAVIOUR of PATHOGEN *E. coli* O157:H7 STRAIN
in TURKISH SOUDJOUCKS
DURING FERMENTATION and AGING**

Serap COŞANSU

**Supervisor: Assoc. Prof. Kamuran AYHAN
1998, Page:49**

**Jury: Assoc. Prof. Dr. Kamuran AYHAN
Prof. Dr. Nuray KOLSARICI
Prof. Dr. Yavuz BEYATLI**

In this study, enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 strain was added into soudjouck mixture at the level of 10^5 CFU/g and behaviour of this pathogen was investigated during fermentation, drying and storage periods. In addition of the pH level and moisture content determinations of the soudjoucks samples, the number of total mesophilic bacteria, lactic acid bacteria, enterobacteria, yeast and moulds were counted and results statically analysed.

Results showed that *E. coli* O157:H7 strain counts were gradually decreased (3 log units) during fermentation and drying periods. It is observed that *E. coli* O157:H7 were survived longer in vacuumed samples than non-vacuumed samples. However, all of *E. coli* O157:H7 were inhibited after a storage periods (3 months) at 4°C conditions with the effect of declining the pH levels and moisture contents.

It was revealed that LAB counts in *E. coli* O157:H7 added samples were higher than that of control samples. These differences were statically important

(P<0.01). During the storage period moisture contents were higher in vacuumed soudjoucks than non- vacuumed samples. These differences were also important (P<0.01).

Similar decreases were observed in TAMB, enterebacteria, yeast and mould counts. These differences were significantly important at the level of 1% for TAMB counts, enterebacteria and 5% for yeast and mould counts during the fermentation and drying time. On the other hand, it was found that TAMB, enterobacteria, yeast and mould counts were decreased during the storage period. These differences were statistically important (P<0.01).

Key Words: Entorohemorrhagic *E.coli*, *E.coli* O157:H7, soudjouck, fermented meat product, inhibition, fermentation and drying.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde ve yüksek lisans eğitimim süresince her türlü ilgi ve desteğini gördüğüm danışmanım Sayın Doç. Dr. Kamuran AYHAN'a ve tüm öğrenim hayatım süresince beni destekleyen aileme,

Sucuk yapımında yardım eden teknisyen Ali NACAK'a, ayrıca yardımcılarından dolayı Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN'a, Yrd. Doç Dr. Mustafa ÖZYURT'a (G.A.T.A Mikrobiyoloji. A.B.D), Araş Gör. Fügen D. ÖZKAYA'ya ve Dr. Mücahit ÖZKAYA'ya, Araş. Gör. Hilal B. DOĞAN'a, Dr. Melihe R. NOVEİR'e, M.Sc. Nadire KIRAL'a, M.Sc. Gürcan GÜRSU'ya, tüm arkadaşlarımı ve burada adını sayamadığım herkese teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No:</u> |
|---|------------------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | vii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | viii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI ve KURAMSAL TEMELLER..... | 3 |
| 2.1. <i>E. coli</i> O157:H7'nin özellikleri..... | 15 |
| 2.2. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Neden Olduğu Hastalıklar..... | 17 |
| 2.3. Patojenite..... | 19 |
| 3. MATERİYAL ve YÖNTEM..... | 21 |
| 3.1. Materyal..... | 21 |
| 3.2. Yöntem..... | 21 |
| 3.2.1. Bakteri kültürünün hazırlanması..... | 21 |
| 3.2.2. Sucuk üretimi..... | 22 |
| 3.2.3. Örneklerin analize hazırlanması..... | 23 |
| 3.2.4. Mikrobiyolojik analizler..... | 24 |
| 3.2.4.1. <i>E. coli</i> O157:H7 sayımı..... | 24 |
| 3.2.4.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı..... | 26 |
| 3.2.4.3. Laktik asit bakterilerinin sayımı..... | 26 |
| 3.2.4.4. Enterobakterilerin sayımı..... | 27 |
| 3.2.4.5. Maya ve küp sayımı..... | 28 |
| 3.2.5. Kimyasal analizler..... | 28 |
| 3.2.5.1. pH tayini..... | 28 |
| 3.2.5.2. Nem tayini..... | 28 |
| 3.2.6. İstatistiksel değerlendirme..... | 29 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 30 |
| 4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları..... | 30 |
| 4.1.1. <i>E. coli</i> O157:H7 suşunun sayımı..... | 30 |
| 4.1.2. Fermantasyon, kurutma ve depolama süresince <i>E. coli</i> O157:H7 suşunun değişimi..... | 30 |
| 4.1.3. Laktik asit bakterilerinin (LAB) sayısı..... | 34 |
| 4.1.4. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı..... | 35 |
| 4.1.5. Enterobakterilerin sayısı..... | 37 |
| 4.1.6. Maya ve küp sayısı..... | 37 |
| 4.2. Kimyasal Analiz Sonuçları..... | 39 |
| 4.2.1. pH tayini..... | 39 |
| 4.2.2. Nem tayini..... | 40 |
| 5.TARTIŞMA ve SONUÇ..... | 41 |
| KAYNAKLAR..... | 45 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa No:</u> |
|--|------------------|
| Şekil 3.1. Sucuk üretimi..... | 23 |
| Şekil 3.2. <i>E. coli</i> O157:H7 suşunun SMAC agarda gelişimi..... | 24 |
| Şekil 4.1 Olgunlaştırma (Fermantasyon+Kurutma) döneminde <i>E. coli</i> O157:H7, LAB, pH ve %nem ilişkisi..... | 32 |
| Şekil 4.2 Depolama döneminde <i>E. coli</i> O157:H7, LAB, pH ve %nem ilişkisi..... | 34 |



ÇİZELGELER DİZİNİ

| | <u>Sayfa No:</u> |
|---|------------------|
| Çizelge 4.1 Olgunlaştırma (Fermantasyon+Kurutma) döneminde <i>E. coli</i> O157:H7 sayısı, LAB sayısı, pH ve %nem miktarı..... | 31 |
| Çizelge 4.2 Depolama döneminde <i>E. coli</i> O157:H7 sayısı, LAB sayısı, pH ve %nem miktarı..... | 33 |
| Çizelge 4.3 Olgunlaştırma (Fermantasyon+Kurutma) döneminde TAMB, Enterobakteri, Maya-küf sayısı..... | 36 |
| Çizelge 4.4 Depolama döneminde TAMB, Enterobakteri, Maya-küf sayısı. | 38 |



1.GİRİŞ

Hemorajik kolit (kanlı diyare) ve hemolitik üremi sendromunun (böbrek yetmezliği) etiyolojik ajanı olan *E. coli* O157:H7, ilk kez ABD'de meydana gelen iki hemorajik kolit salgından sonra gıda kaynaklı patojen olarak tanımlanmıştır (Doyle and Schoeni 1987, Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992). İzole edildiği yıllarda ender olarak rastlanmaktadırken günümüzde oldukça yaygın ve önemli bir gıda kaynaklı patojen durumuna gelmiştir (Gürgün ve Ayhan 1996).

E. coli O157:H7 serotipinin genetik çalışmalar sırasında elde edildiği ve bir kaza sonucu doğaya salındığı şeklinde görüşler ileri sürülmüştür. Griffin and Tauxe'ye (1991) göre *E. coli* O157:H7 muhtemelen enteropatojenik bir atadan genetik çalışmalar sırasında oldukça yakın bir dönemde ortaya çıkmıştır (Gürgün ve Ayhan 1996, Halkman vd 1998).

Genel olarak süt sığırlarının *E. coli* O157:H7'nin kaynağı olduğu, salgınların dışkı ile bulaşan sütün pastörize edilmeden içilmesi ve sığır kıymasıyla hazırlanan hamburger, köfte gibi gıdaların yeterince pişirilmeden tüketilmesiyle bulaştığı kabul edilmektedir (Halkman vd 1996). *E. coli* O157:H7'nin karkasın yüzülmesi sırasında hayvanın post, deri ve bağırsak bölgesinden ete bulaşabileceğinin belirtilmektedir (Cutter and Siragusa 1994, Tomicka et al 1997, Delazari et al 1998). Kesim sırasında ete bulaşan *E. coli* O157:H7'nin herhangi bir ısıl işlem görmeyen ve mikrobiyolojik güvenliği sadece fermentasyon ve kurutma işlemine bağlı olan ferment et ürünlerini için risk oluşturabileceği ifade edilmektedir (Tomicka et al 1997).

Ülkemizde şimdije kadar yapılan araştırmalarda (Halkman vd 1998) bu bakteriye rastlanmamış olmakla birlikte sığır dışkısı örneklerinden izole edildiği ileri sürülmektedir (Akkuş 1996). Bu nedenle tehlike potansiyelinin göz ardı edilemeyeceği düşünülmektedir.

Ülkemizde sucugün et ürünleri üretiminin en önemli kısmını oluşturuğu ve bu ormanın %42'ye kadar çıktıgı bildirilmektedir (Öztan ve Vural 1992). Sucuk, kıyma makinesinden çekilen et ve ya ın, tuz, şeker, baharat ve diğer katkı maddeleriyle karıştırılarak, doğal veya yapay kılıflara doldurulup olgunlaştırılmasıyla elde edilen bir ürünüdür (Heperkan ve Sözen 1988).

Günümüzde et endüstrisinde patojen içermeyen güvenli ürünler üretmek için HACCP (Kritik Kontrol Noktalarındaki Tehlike Analizleri) programları geliştirilmektedir. Isıl işlem görmeden üretilen fermentte et ürünlerinin güvenliği için üretim yöntemlerinin seçiminin yanı sıra kullanılacak olan starterin seçiminde hızlı asit üretme yeteneğine sahip antimikrobiyel madde üreten suşlardan seçilmesi hedeflenmelidir. Ayrıca *E. coli* O157:H7'nin optimum gelişme sıcaklığına yakın yüksek fermantasyon ve kurutma dönemlerindeki sıcaklıkların kullanılmaması gerekmektedir.

Sucuk üretiminde hammadde olarak kıymanın kullanılması ve yaygın olarak tüketilmesi nedeniyle *E. coli* O157:H7 bakımından riskli gıda olarak düşünülmüş ve fermantasyon, kurutma ve depolama sırasında *E. coli* O157:H7 suşunun davranışının araştırılması gereklidir.



2.KAYNAK ARAŞTIRMASI VE KURAMSAL TEMELLER

Esherichia coli ilk kez Dr. Theodor Esherich tarafından 1885’de tanımlanmış ve *Bacterium coli commune* adı verilmiştir. Bakteri 1950’li yılların sonuna kadar insan ve memeli hayvanlar ile kanatlıların bağırsağında bulunan patojenik olmayan flora olarak nitelendirilirken bugün insan ve hayvanlarda ölüme kadar gidebilen pek çok hastalığın etmeni olduğu saptanmıştır (Noveir 1995, Halkman vd 1996, Halkman vd 1998).

E. coli gram-negatif, fakültatif anaerob bir bakteridir. Su ve gıdalarda *E. coli* bulunması, fekal kontaminasyonu göstermekte ve bu bakteri hijyenik kontrolde indikatör olarak kullanılmaktadır (Gönül ve Karapınar 1994).

E. coli’nin bazı suşlarının patojen olduğu bilinmekle birlikte bu bakteri yakın zamana kadar genelde gıda patojeni olarak kabul edilmemektedir. Ancak bazı salgınlarda *E. coli*’nin tek saf kültür olarak saptanması, aynı *E. coli* biyotipinin hastalardan ve şüpheli gıdalardan izole edilmesi, hastalık sırasında klinik örneklerde *E. coli*’nin belirli bir sayıya yükselp hastalık sonrasında düşmesi gibi delillerin ortaya konması bu bakterinin patojenik potansiyelinin anlaşılması yol açmıştır (Gönül ve Karapınar 1994).

E. coli’nin patojenik suşları çok çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Bunlar arasında en önemlileri diyareye yol açan enfeksiyonlar, idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, septisemi, arteroskleroz, hemolitik üremik sendrom ve römotoid artrit gibi immünolojik hastalıklardır. *E. coli* suşları insanlarda septisemi ve genitoüriner yolları enfeksiyonlarında en sık rastlanılan mikroorganizmalardır. Menenjit etmeni olarak da bu bakteri dördüncü sırayı almaktadır (Gönül ve Karapınar 1994, Halkman vd 1996).

Diyareye yol açan *E. coli* suşları yaptıkları hastalıklar, bağırsak mukozası ile olan etkileşimleri, klinik belirtileri, epidemiyolojileri ve O:H serogruplarındaki farklılıklarını göz önüne alınrak dört gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), entreroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) dir (Padhye and Doyle 1992).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), 1940 ve 1950’ li yıllarda ABD’ de ciddi sorunlara yol açmış ve bu yıllarda bu bakterinin bebeklerde neden olduğu hastalıklarda ölüm oranı % 50’ lere ulaşmıştır. Günümüzde ise iyi hijyenik standarda sahip ülkelerde yaygın olmamakla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde çocukların görülen diyarenin en önemli nedenlerinden biridir. Genellikle hastane personeli ve yeni doğan bebeklerde

görülme sıklığı yüksektir. Yetişkinlerde seyrek görülmekle birlikte taşıyıcı oranı yüksektir ve bu durum yetişkinlerin EPEC'ye karşı bağıskılık kazanabildiğini düşündürmektedir. Ancak yetişkinleri etkileyen su ve gıda kaynaklı salgınlar da söz konusudur. Bu salgınlarda klorlanmış kuyu suyu, önceden pişirilmiş soğuk domuz eti ve etli börek tipi gıdaların kaynak teşkil ettiği belirtilmektedir. Patojenitenin şekli halen tam olarak açıklanamamakla birlikte, bazı EPEC suşlarının ETEC'nin ürettiği enterotoksinlerden farklı olarak çeşitli toksinler, özellikle verotoksinleri üretikleri ve epitel hücreleri invazyona uğrattıkları bilinmektedir (Padhye and Doyle 1992, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995).

EPEC belirli O ve H antijenlerinden oluşan serolojik bir grup oluşturmaktadır. Bu serogrup içinde O18ab, O18ac, O26, O44, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128ab, O142 ve O157 yer almaktadır (Gönül ve Karapınar 1994).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), seyahat diyaresinin en önemli nedeni olarak görülmekte ve bu tür vakalarda %60-70 oranında ETEC'nin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Diğer yandan gelişmekte olan ülkelerde ise bebek ve çocuklardaki diyarenin önemli bir nedenidir. ETEC'nin en çok fekal kontamineli su ve böyle sularla temas eden çiğ sebzeler gibi yiyeceklerden bulaştığı belirtilmiştir (Padhye and Doyle 1992, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995). İnsanlarda ETEC enfeksiyonu oluşabilmesi için 10^6 veya daha fazla toksijenik mikroorganizmanın vücuda alınması ve ince bağırsak mukozası ile temas etmesi gerekmektedir. ETEC'nin insanlarda oluşturduğu enfeksiyon koleraya benzerlik göstermektedir. Belirtiler arasında sulu diyare, dehidrasyon ve bazen kusma görülür (Gönül ve Karapınar 1994). Patojenitede iki faktör rol oynamaktadır, bunlar kolonizasyon faktörleri ve enterotoksinlerdir. Kolonizasyon faktörleri ile bağırsaklara tutunan bakteriler toksinlerini salgılayarak hastalığa neden olurlar. ETEC suşları ısıya duyarlı (LT-1, LT-2) ve ısıya dayanıklı (STa, STb) bir veya birden fazla enterotoksin oluşturabilmektedirler (Padhye and Doyle 1992, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995).

ETEC'nin en yaygın serotiplerinin O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O80, O85, O115, O128ac, O139, O148, O153, O159 ve O167 olduğu bildirilmektedir (Gönül ve Karapınar 1994).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ilk olarak 1940'ların ortalarında diyare etkeni olarak tanımlanmıştır. Hastalık oluşturma şekli *Shigella*'ya benzer olup belirtileri dizanteri tipi diyare, ateş ve karın kramplarıdır. Gönüllü kişilerle yapılan çalışmalar enfektif dozun genelde 10^6 - 10^8 hücre gibi oldukça yüksek olduğunu göstermiştir. Enfeksiyon şekli sigellozise çok benzemekte olup, bakteriler kolon epitel hücrelerine nüfuz ettikten sonra bu hücreler içinde çoğalmakta ve yanındaki epitel hücrelere yayılmaktadır. Böylece kolon ülserasyonuna ve kanlı diyareye neden olmaktadır. EIEC'nin nüfuz etme yeteneğinin plazmide (140 MDa) bağımlı olduğu ve bu plazmidlerin bir çok dış membran polipeptidini kodladığı ifade edilmektedir (Padhye and Doyle 1992, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995).

EIEC, shiga-like (shiga benzeri) olarak adlandırılan bir veya daha fazla toksin oluşturan genlere sahiptir. Bu toksinler SLT-I ve SLT-II olarak adlandırılmıştır. EIEC enfeksiyonlardan sorumlu 11 farklı serotip bilinmekle birlikte en yaygın olanı O124 serotipidir. Diğer serotipler arasında O28ac, O29, O136, O143, O152, O164 ve O67 sayılabilir (Gönül ve Karapınar 1994).

Dördüncü grup patojenik *E. coli*, enterohemorajik *E. coli* (EHEC) olup *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O26:H11 suşlarını içermektedir. Gıda kaynaklı patojen *E. coli* grupları arasında ciddi hastalıklara yol açan EHEC en önemli olandır (Padhye and Doyle 1992, Noveir 1996).

E. coli O157:H7'nin ilk kez 1975'de ağır kanamalı diyare geçiren Kaliforniyalı bir kadın hastadan izole edildiği bildirilmektedir. Bakterinin önemli bir gıda patojeni olarak tanımlanması ise 1982 yılının başlarında Oregon ve Michigan'da kanamalı kolit olarak seyreden iki salgında hastalığa yol açan etken olarak bulunması ile gerçekleşmiştir. *E. coli* O157:H7 gıda ile ilişkili alışılmamış bu iki gastroenteritis salgınının ardından önemli bir gıda kaynaklı patojen olarak tanımlanmıştır. Hastalık Kontrol Merkezleri şiddetli karın ağrısı ve kanlı diyare görülen 47 hemorajik kolit vakası tanımlanmış ve bilinen enterik patojenler tarafından meydana getirilen enfeksiyon kanıtı olmadığı belirlenmiştir. Hastalık epidemiyolojik olarak bir ayak üstü yemek restoranları zincirinden temin edilen hamburgerlerin tüketimiyle bağlantılı bulunmuştur. *E. coli* O157:H7 hastaların yaklaşık yarısının dışkısından izole edilmiş fakat sağlıklı kontrol örneklerinin hiçbirinde bulunmamıştır. Aynı tip *E. coli* Michigan'daki restoranlara pate sağlayan et işleyicisi

tarafından üretilen donmuş siğir patelerinden izole edilmiştir. İzolatların EIEC gibi invasiv olmadıkları ve ETEC gibi enterotoksin üretmedikleri belirlenmiştir. Meydana getirdiği hastalık açısından EPEC'den farklı oldukları saptanmış ve bu nedenle gastrointestinal *E. coli*'nin 4. bir grubu olan enterohemorajik *E. coli* (EHEC) olarak tanımlanmıştır (Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995).

Bu bakterinin tanımlandığı tarihten günümüze kadar İngiltere, Amerika ve Kanada'da pek çok *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu salgınları rapor edilmiştir. *E. coli* O157:H7 için gözetimin artışı ile, Meksika, Arjantin ve Belçika dahil dünyanın diğer bölgelerinde organizmanın insan patojeni olarak tanınması sağlanmıştır. *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu hastalıkların dünyanın pek çok yerinde meydana geldiği görülmektedir (Doyle 1991).

Süt siğirları, özellikle sürü içindeki genç hayvanlar *E. coli* O157:H7'nin kaynağı olarak tanımlanmıştır. Organizma pek çok durumda *E. coli* ile enfekte olmuş 1-3 haftalık buzağılar dahil süt buzağıları ve gebe hayvanların dışkılardan izole edilmiştir (Doyle 1991).

Salgınlardaki başlıca aracının siğir kıyması olduğu belirtilmektedir. Kıyma 1982 yılında Oregon ve Michigan'da meydana gelen iki önemli salgında, 1987'de Utah'da meydana gelen salgında ve 1988'de Minnesota'da bir ortaokuldaki salgında aracı gıda olarak gösterilmiştir. Ayrıca 1982 yılında Ontario, 1984 yılında Nebraska, 1986 yılında Alberta'daki bakımevlerinde, 1986 ve 1990 yılında toplu olarak yemek yenilen yerlerde meydana gelen salgınlarda kıyma şüpheli gıda olarak belirlenmiştir (Padhye and Doyle 1992).

1985 yılında Ontario'da bir bakımevinde meydana gelen, bakımevinde kalan 55 kişi ile 18 çalışanın hastalandığı ve 17 kişinin ölümü ile sonuçlanan salgında (Krishnan et al 1987) ve İngiltere'de 1987 yılında meydana gelen iki salgında sırası ile jambon, hindi veya peynirli sandviç ve hindi rulo sandviçlerinin patojenin taşıyıcısı olduğu saptanmıştır (Padhye and Doyle 1992). Diğer yandan, bu vakalarda kontaminasyon kaynağının tanımlanamadığı belirtilmekle birlikte gidanın hazırlanması sırasında çiğ et ile kontaminasyonun meydana geldiği veya bu gıdaların enfekte personel elleri tarafından kontamine olduğu tahmin edilmektedir (Doyle 1991).

ABD'de bir lisede 1988 Ekim ayında görülen ve toplam 1562 öğrencinin 32'sinin (%2) *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu hemorajik kolite yakalandığı vakada hasta çocukların büyük çoğunluğunun aynı gün okul kantininde ön pişirilmiş ve dondurulmuş köfte yedikleri saptanmıştır. Aynı gün tüm okuldaki öğrencilerin %8'inin de aynı köfteden yedikleri tahmin edilmiş, üretici firmanın aynı tarihli ürünlerinde yapılan analizler sonucunda *E. coli*'ye rastlanmış, ancak *E. coli* O157:H7 bulunamamıştır (Halkman vd 1998).

1993 yılında ABD'de *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş yeterince pişirilmemiş hamburgerlerin tüketimi sonucu büyük bir salgın meydana gelmiş ve dört eyalette toplam olarak 700 kişinin zehirlenmesine neden olmuştur. Bu salgında 51 HUS (Hemolitik Üremik Sendrom) vakası görülmüş ve 4'ü ölümle sonuçlanmıştır (Venkateswaran et al 1997, Clavero et al 1998).

Yakın zamanda Japonya'da 8000'den fazla çocuk okulda yedikleri yemekten sonra zehirlenmişler ve 4 ölüm vakası meydana gelmiştir. Hastalanan çocuklardan alınan örneklerde *E. coli* O157: H7 suçu izole edilmiştir (Venkateswaran et al 1997).

Doyle and Schoeni (1987) yaptıkları araştırmada, 164 sığır eti örneğinin 6'sından (%3,7), 264 domuz eti örneğinin 4'ünden (%1,5), 263 kanatlı eti örneğinin 4'ünden (%1,5) ve 250 kuzu eti örneğinin 4'ünden (%2,0) *E. coli* O157:H7 suşunu izole etmişlerdir. Araştırcılar bu çalışmanın *E. coli* O157:H7'nin gıdalardan izolasyonu konusunda ilk rapor olduğunu ve taze et ve kanatlı etlerine kontaminasyonun azımsanmayacak boyutlarda olduğunu belirtmişlerdir.

İngiltere'de Chapman et al (1989) tarafından yapılan bir çalışmada, kesim sırasında hayvanlardan alınan 207 dişki örneğinin 2 adedinden verotoksijenik *E. coli* O157:H7 (VTEC) suçu izole edilmiştir (Smith et al 1991).

Read et al (1990) tarafından etler ile yapılan bir başka araştırmada ise nötralizasyon yöntemi ile, 225 sığır ve 235 domuz eti örneğinde VTEC oram sırasıyla %36,4 ve %10,6 olarak bulunmuştur. Ancak bu izolatların hiçbirinin O157:H7 serogrubuna ait olmadığı saptanmıştır (Padhye and Doyle 1992, Gönül ve Karapınar 1994).

DNA probları kullanılarak yapılan bir araştırmada, 44 adet gıda örneği ve süt buzağılarından elde edilen 28 adet dişki örneği koloni hibridizasyon metodu ile test

edilmiş ve kıyma, çiğ keçi sütü, yaban mersini ile surumi-şarküteri salatasından oluşan 4 adet gıda örneği ile 9 adet buzağı dışkı örneği SLT (shiga-like toksin) problemleri ile *E. coli* O157:H7'nin ürettiği bildirilen SLT bakumından pozitif bulunmuştur (Samadpour et al 1990).

Tayland'da yapılan bir araştırmada SLT üreten *E. coli*, market et örneklerinin %9'undan, kesimhanelerden alınan taze et örneklerinin %8-24'ünden ve sıgırlardan alınan dışkı örneklerinin %11-84'ünden izole edilmiştir. 119 adet SLT-pozitif *E. coli* izolatının %24'ü SLT-I probu ile, %31'i SLT-II probu ile %44'ü ise her iki SLT probu ile hibridize olmuş ve sıgırların *E. coli* O157:H7'nin kaynağı olduğu doğrulanmıştır (Suthienkul et al 1990).

Başka bir araştırmada taze sığır kıyması ve çiğ süt örnekleri analize alınmış ve 107 kıyma örneğinden 3'ü (%2,8) ve 115 çiğ süt örneğinden 11'i (%10) *E. coli* O157:H7 bakumından pozitif bulunmuştur. En Muhtemel Sayı yöntemi ile yapılan analiz sonucunda 3 kıyma örneğinde 0,4-1,5 hücre/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 suçu bulunmuştur (Padhye and Doyle 1991).

Griffin and Tauxe (1991) tarafından daha geniş ölçekte yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlara göre, *E. coli* O157:H7'nin çok daha düşük düzeyde bulunduğu belirtilmektedir. Buna göre organizma sığır eti örneklerinin %0,12'sinden, dana böbreği örneklerinin %0,06-0,5'inden izole edilmiş fakat çiğ tavuk etinde belirlenmemiştir (Willshaw et al 1993).

İngiltere'de VTEC'nin gıdalarda varlığını belirlemek için verotoksin genlerine özgü DNA problemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda VT- pozitif *E. coli* O157:H7 suçu izole edilememiştir. Bununla birlikte 184 adet sosis örneğinin %25'inden, O157:H7 dışındaki sekiz farklı O-serogrubuna ait VTEC suşunun izole edildiği, buna karşın tavuk eti örneklerinin hiçbirinde VTEC saptanamadığı bildirilmiştir (Smith et al 1991).

Willshaw et al (1993) tarafından yapılan çalışmada 310 adet çiğ et ürünü örneğinin 54 adedinin (%17) verotoksin genlerine özgü DNA problemleri ile belirlenen VTEC içeriği saptanmıştır. Bu yöntemle VT- pozitif *E. coli* O157: H7 belirlenememiş olmakla birlikte izole edilen VTEC suşlarının farklı O-serogruplarına ait oldukları ve suşlardan bazlarının insanlarda görülen diyare ve HUS ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Malezya'da yapılan benzer bir çalışmada perakende satış noktalarından alınan 25 sığır eti örneğinin 9'undan *E. coli* O157:H7 izole edildiği bildirilmiştir (Radu et al 1998).

Çiğ süt ilk kez 1986 yılında *E. coli* O157:H7'nin taşınmasında aracı olarak tanımlanmıştır. Wisconsin'de farklı ailelerden iki çocukta çiftlikten temin edilmiş çiğ sütün içilmesinden sonra hemorajik kolit ve HUS görülmüştür. *E. coli* O157:H7 hem hastalardan birinin dışkısından hem de iki çiftlikteki sağlıklı gebe ineklerin dışkalarından izole edilmiştir (Padhye and Doyle 1992).

Çiğ süt ile ilgili olarak başka bir önemli salgın Güneydoğu Ontario'da bir çiftliği ziyaret eden ve ciğ süt içen anaokulu çocuklarında meydana gelmiş ve çocukların üçünde HUS görülmüştür. Yapılan analizlerin sonucunda VTEC 7 inekten izole edilmiş ve izolatlardan ikisi *E. coli* O157:H7 olarak tanımlanmış, geriye kalan 5 izolat ise serotiplendirilememiştir. Pek çok çalışmada *E. coli* O157:H7'yi de içeren VTEC'nin hastalığın belirtilerini göstermeyen sığırların dışkısından ve ciğ sütten izole edilebileceği ifade edilmektedir (Padhye and Doyle 1992).

Su kaynaklı bir *E. coli* O157:H7 salgını 1990 yılında ABD'de ortaya çıkmıştır. Salgından önce kasabaya giden su borularının kırılmasına ve suyun kontamine olmasına neden olan anormal bir soğuk olmuştur. Ayrıca McGowan et al (1989) kırsal kesimindeki bir kaynaktan aldığı su örneğinde *E. coli* O157:H7'yi izole etmişlerdir. Böylece organizmanın su kaynaklı olabileceği dair başka bir kanıt elde edilmiştir (Doyle 1991).

1998 yılı Haziran ayında ABD'nin Atlanta eyaletinde bir yüzme havuzunda enfekte olan 9 çocuktan 4'üne *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu HUS tanısı konulmuştur (Anonymous 1998).

Hayvansal gıdalar dışındaki gıdaların da *E. coli* O157:H7'nin enfeksiyonlarında aracı olabileceği bildirilmektedir. 1980 yılında Kanada'da meydana gelen 14 HUS vakasında elma şarabı aracı gıda olarak tanımlanmıştır. Bu salgında da *E. coli* O157:H7'nin etken olduğu tahmin edilmektedir. Çünkü hastalarda HUS gelişiminden önce kanlı diyare ve kramplar görülmüştür (Zhao et al 1993).

Zhao et al (1993) ve Conner and Kotrola (1995) tarafından, 1991 yılında Massachusetts'de elma şarabının tüketimi sonucunda bir hemorajik kolit vakasının meydana geldiği ifade edilmiştir. 1996 yılında meydana gelen iki *E. coli* O157:H7

salgınında ise pastörize edilmemiş elma şarabı ve elma suyu aracı olarak gösterilmiştir (Ingham and Uljas 1998).

Japonya' da 1996 yaz aylarında görülen salgına ise "daikon sprouts" denilen (turp filiz) 8-10 cm uzunluğunda salatalara ve yemeklere garnitür olarak katılan hatta doğrudan kendisi salata olarak tüketilen bir gıdanın neden olduğu tahmin edilmektedir. Bakteriye, her ikisi de Japonya'ya özgü olan ve elle hazırlanan lokum benzeri bir tatlı ile "o-benta" denilen ve pilav, çiğ balık, turşu, salata, piliç veya domuz eti ile yapılan bir yemekte de rastlamılmıştır (Halkman vd 1998).

Türkiye'de *E. coli* O157:H7 suşu ile yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Halepliler (1991) 708 diyareli ve 100 sağlıklı insan dışkısında Sorbitol MacConkey (SMAC) agar ve sorbitollü bromtimol agar kullanarak *E. coli* O157:H7 aramış ancak bu bakteriye rastlayamadığını açıklamıştır (Halkman vd 1998).

Erensoy ve Tokbaş (1992) İzmir'de kanlı sürgünlerde *E. coli* O157:H7'nin etkisini araştırdıkları çalışmalarında toplam 400 dışkı örneğinde bu bakteriye rastlayamadıklarını bildirmiştir. Akça vd (1996) tarafından yapılan benzer bir çalışmada da 300 hasta ve 50 sağlıklı kişinin dışkalarında *E. coli* O157:H7 suşuna rastlanmamıştır (Halkman vd 1998).

Akkuş (1996) 60 sığır kıyması ve 20 genç dana ile 60 erişkin sığır dışkısında *E. coli* O157:H7 suşunu aramış, kıymalarda *E. coli* O157:H7' ye rastlayamamış ancak 3'ü erişkin 1'i genç olmak üzere 4 adet sığır dışkısı örneğinde bu bakteriyi belirlemiştir.

Özbaş (1996), iceberg marul ve havuç örneklerini *E. coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* ile inoküle ederek, bakterilerin canlılık ve gelişmesi üzerine normal ve modifiye atmosfer (%100 CO₂), depolama sıcaklığı ve depolama süresinin etkilerini araştırmıştır. Modifiye atmosferde depolamanın *E. coli* O157:H7'nin gelişmesini sadece geciktirdiğini ancak canlılık üzerine herhangi bir olumsuz etki yapmadığını saptamıştır (Halkman vd 1998).

Aytaç (1996) tarhana fermantasyonu sırasında *E. coli* O157:H7 ve *Yersinia enterocolitica*'nın indirgenmesini izlemiştir ve 7 gün süre ile 25±2°C de yapılan fermantasyon sonunda pH' nin 3,1'e düşmesine ve laktik asit bakterilerinin sayısının 5,3.10⁷ adet/g'a çıkmasına karşın *E. coli* O157:H7'nin sadece 3 log birimi azaldığını,

kurutma sonrasında ise sayının $\leq 10^2$ adet/g'a kadar azaldığını göstermiştir (Halkman vd 1998).

Özbaş ve Aytaç (1996) ise çeşitli laktobasil türleri ile fermantasyona uğratılan yağsız süt ortamlarında *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in canlılık ve gelişmelerini incelemiştir ve fermantasyon süresince, pH 4,5-5,0'e kadar düşmesine rağmen, laktobasillerin *E. coli* O157:H7'yi inhibe edemediğini belirlemiştir.

Gönül (1997) tarafından yapılan araştırmada 20 çiğ süt ve 30 peynir örneğinde SMAC agar besiyerinde *E. coli* O157:H7 suşu aranmış ve şüpheli izolatlar için latex kiti kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre teneke tulum örneklerinden sadece birinde *E. coli* O157:H7 suşunu belirlenmiştir. Ancak Halkman vd (1998) tarafından bu çalışmada kullanılan *E. coli* O157 latex kiti'nin (Oxoid) sadece O157 serotipini belirleyebildiği ve söz konusu izolatın H7 serotipi olduğundan şüphe duyulduğu bildirilmiştir.

Kaymaz vd (1998) ise 100'er adet hamburger ve İnegöl köftesi örneğinde yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 serotipini bulamamışlar, ancak 2 hamburger ve 5 inegöl köftesinde *E. coli* O157:H⁻ varlığını göstermişlerdir. Araştırmada bu 7 izolatın tümünün verotoksijenik olduğunu saptamışlardır (Halkman vd 1998).

Halkman vd (1998) 255 çiğ kıyma, 103 çiğ süt, 50 çiğ hamburger ve 101 sucuk örneğinde *E. coli* O157:H7 araştırmışlardır. Söz konusu örneklerde 3 adet *E. coli* O157 serotipi bulunurken bunların *E. coli* O157:H7 olmadığı belirlenmiş, diğer bir deyişle 509 hayvansal gıdada *E. coli* O157: H7 serotipine rastlayamamışlardır.

Son yıllarda kuru-kürlenmiş salam (dry-cured salami) *E. coli* O157:H7 enfeksiyonunun kaynağı olarak gösterilmiş ve fermentte sosislerin güvenliği konusundaki kaygıların artmasına neden olmuştur. 1994 yılında ABD'de *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş fermentte salamin tüketilmesi sonucu meydana gelen salgında 20 kişi Washington'da ve 3 kişi Kaliforniya'da olmak üzere toplam 23 kişi zehirlenmiş ve 2 çocukta HUS görüldüğü belirtilmiştir (Ellajosyula 1998, Faith et al 1998a).

Glass et al (1992) tarafından fermentte kuru sosiste *E. coli* O157:H7' nin davranışını üzerine pH ve sodyum klorürün (NaCl) etkileri araştırılmıştır. Sosis hamuruna $4,8 \cdot 10^4$ adet/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş ve pH 4,8'e düşünceye kadar fermentte edilmiştir. Nem/protein oranı $\leq 1,9:1$ olana kadar kurutulduktan sonra vakum paketleme yapılarak +4°C de iki ay depolanmıştır. Organizmanın fermantasyon, kurutma ve +4°C de

depolama süresince gelişmemekle birlikte canlı kaldığı, depolama sonunda sayısında 2 log birimi azalma meydana geldiği bildirilmiştir.

Abdul-Raouf et al (1993) tarafından pişmiş et ortamında pH, asitlendiriciler, sıcaklık ve sürenin *E. coli* O157:H7'nin davranışı üzerine etkileri araştırılmıştır. *E. coli* O157:H7'nin et salataları için karakteristik olan pH değerlerinde (5,40-6,07) gelişebildiği sonucu elde edilmiştir. Organizmanın gelişimini engellemeye organik asitlerin etkinlik sırası asetik asit>laktik asit>sitrik asit olarak belirlenmiştir. Diğer yandan MUG (4-methylumbelliferyl- β -D-glucoronide) ilave edilmiş Sorbitol MacConkey (SMAC) agarın ısından zarar görmüş *E. coli* O157:H7 hücrelerinin geri almında yetersiz olduğu sonucuna varılmıştır.

El-Khateib (1995) tarafından Mısır'a özgür taze sosis üzerinde yapılan çalışmada *E. coli* O157:H7 üzerine pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonunun etkileri araştırılmıştır. pH'nın iyi bir inhibitör etki sağlamaşının özellikle NaCl konsantrasyonu ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Denemede pH 4,5'in tuzlu ve tuzsuz ortamda tüm test sıcaklıklarında patojen üzerine bakterisidal etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak bu tür ürünlerde pH 5,8 ve %2 NaCl içeriğinin güvenli olduğu ve son ürünün +4°C de muhafaza edilmesinin tüketiciyi *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarına karşı koruyacağı belirtilmektedir.

Salam ve elma şarabı gibi asit karakterli gıdaların aracı olduğu salgınlardan sonra Leyer et al (1995) asit adaptasyonunun bu tür gıdalarda *E. coli* O157:H7'nin canlı kalma yeteneğini etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. *E. coli* O157:H7 suyu 1-2 generasyon zamanı süresince pH 5,0'da geliştirilmiş ve bu asitlige adapte edilmiştir. Aside adapte olmuş hücrelerin laktik aside daha dirençli oldukları, sosis fermantasyonu süresince adapte olmamış hücrelere göre daha fazla canlı kalma yeteneğine sahip oldukları ve dilimlenmiş kuru salamda pH 5,0'de ve elma şarabında ise pH 3,4'de yüksek canlı kalma yeteneği gösterdikleri belirlenmiştir.

Conner and Kotrola (1995), asetik (pH 5,2), sitrik (pH 5,4), laktik (pH 4,7), malik (pH 4,0), mandelik (pH 5,0) ve tartarik (pH 4,1) asit ile sağlanan pH indirgenmesinin %0,6 maya ekstraktı içeren tripticase soy broth (TSB) besiyerinde ve 25,10 ve 4°C gibi farklı sıcaklık derecelerinde 56 gün süresince *E. coli* O157:H7'nin gelişimi ve canlılığı üzerine etkilerini araştırmışlardır. *E. coli* O157:H7'nin asidik

koşullarda ($\text{pH} \geq 4,0$) 56 gün süreyle canlı kalabildiği ve canlılık üzerine asidin tipi ve sıcaklık derecesinin etkili olduğu sonucunu elde etmişlerdir.

Clavero et al (1996) tarafından sıvı besiyerinde ve salamda farklı pH, su aktivitesi ve sıcaklık koşullarında *E. coli* O157:H7'nin canlı kalma yeteneği araştırılmış ve organizmanın geri almında üç farklı besiyerinin (Sorbitol Mac Conkey Agar, Tripticase Soy Agar, Modifiye Eosin Methylen Blue Agar) uygunluğu karşılaştırılmıştır. Salamda 100 adet/g'dan daha düşük bir kontaminasyon olması halinde *E. coli* O157:H7 suşunun 5°C de ($\text{aw}=0,95$) 32 günlük depolamada canlı kalmayacağı ancak $10^4\text{-}10^5$ adet/g gibi daha yüksek sayıda kontaminasyon olması halinde 32 gün veya daha fazla süre canlılıklarını sürdürabilecekleri saptanmıştır. *E. coli* O157:H7 nin 20°Cde ($\text{aw}=0,95$) 16 gün gibi daha kısa süre canlı kalmalarına rağmen bu sıcaklıkta depolamanın diğer patojen mikroorganizmalar açısından (*Staphylococcus aureus*, mikotoksijenik küfler vs.) kabul edilebilir olmadığı belirtilmektedir. Diğer yandan organizmanın geri almında kullanılan üç farklı besiyerinin etkinlik sırası TSA > EMB > SMAC olarak belirlenmiştir.

Tomicka et al (1997) *E. coli* O157:H7'nin canlılığını fermentte sosis üretimini temsil eden iki model sistemde karşılaştırmalı olarak değerlendirmiştir. Bu iki modelden birincisi yüksek sıcaklıkta (37°C) kısa süreli (1 gün) fermantasyon gerektiren Amerikan tipidir. İkincisi ise Avrupa tipi olup 22°C de 3 gün fermantasyon gerektirmektedir. Sosis hamuruna farklı düzeylerde *E. coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş, fermantasyondan sonra örnekler 10°C de depolanmış ve *E. coli* O157:H7'nin seyri belirli aralıklarla izlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, fermentte sosis üretiminde *E. coli* O157:H7'nin düşük düzeydeki kontaminasyonlarının eliminasyonu için, düşük sıcaklıkta uzun süreli fermantasyonun (Avrupa tipi), yüksek sıcaklıkta kısa süreli fermantasyondan (Amerikan tipi) daha iyi sonuç verdiği anlaşılmıştır. Ayrıca başlangıç düzeyi 10^5 adet/g olduğunda Avrupa tipi fermantasyon uygulanan örneklerde organizma 30 günden daha fazla süre canlı kalmıştır. Buradan *E. coli* O157:H7'nin yüksek sayıdaki kontaminasyonlarının düşük fermantasyon sıcaklıklarında bile yok edilmesinin zor olabileceği sonucuna varmışlardır.

Brudzinski and Harrison (1998) organik asitlerin işlenmiş ve korunmuş gıdalarda bulunabildiğini ve bu asitlerin özellikle asidik gıdalarda *E. coli* O157:H7'nin aside adapte

olmasına ve daha sonra normalde organizmayı inaktive etmesi gereken pH düzeylerini tolere etmesine neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Benzer şekilde Garren et al (1998) tarafından yapılan bir çalışmada pH 5,5'de aside adapte edilen *E. coli* O157:H7 hücrelerinin daha sonra yüksek sodyum klorür (NaCl) ve sodyum laktat konsantrasyonlarını tolere edebildikleri deneysel olarak gösterilmiştir.

Faith et al (1998b) başlangıçta $2,0 \cdot 10^7$ adet/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 inoküle ettiğleri, farklı oranlarda yağ içeriğine sahip starter kültür içeren pepperoniyi (bir çeşit salam) fermantasyon ve kurutma işleminden sonra dilimleyerek açık ve vakumlu halde 4°C ve 21°C de depolamışlardır. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen pizza üzerinde patojenin sayısında meydana gelen değişimleri araştırmışlardır. Fermantasyon ve kurutma işlemi sırasında *E. coli* O157:H7 suşunun 2,0 log adet/g'dan daha düşük sayıdaki kontaminasyonlarında bu bakterinin inhibe edilmesinin mümkün olduğu sonucuna varmışlardır.

Aynı araştırmacılar (Faith et al 1998a), salamda *E. coli* O157:H7'nin fermantasyon, kurutma ve depolama süresince seyrini belirlemek amacıyla yaptıkları bir diğer çalışmalarında salam hamuruna $2 \cdot 10^7$ adet/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 ve yaklaşık 10^8 adet/g düzeyinde pediococcal starter kültürünü ilave etmişler, 24°C de %90 nispi nemde $pH \leq 4,8$ 'e kadar ferment ettiğinden sonra 13°C'de %65 nispi nem koşullarında nem/protein oranı $\leq 1,9:1$ olana kadar kurutup, dilimlenmiş halde 4°C'de ve 21°C'de açık ve vakumlu olarak depolamışlardır. Fermantasyon sırasında patojenin sayısında 0,9-1,5 log birimi, kurutma işleminde ise 0,2-0,6 log birimi azalma meydana geldiğini belirlemiştir. Ayrıca 21°C'de depolanan örneklerde 4°C'de depolananlara göre, açıkta depolananlarda ise vakum paketlenmiş örneklerde göre daha fazla bir azalma gözlenmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar ferment et ürünlerinde fermantasyon ve kurutma işleminin *E. coli* O157:H7'nin sayısını 1-2 log birim düşürecek kadar etkili olabildiğini açıklamışlardır.

Ellajosyula et al (1998), Lebanon bologna tipi sosiste *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium*' un davranışları üzerine yaptıkları çalışmada başlangıçta 10^8 adet/g düzeyinde her iki patojenle de inoküle ettiğleri sosis hamurunu 26,7°C'de 12 saat ve daha sonra pH 5,2-4,7 olacak şekilde 37°C'de ferment ettiğinden sonra farklı sıcaklık derecelerinde (43,3; 46,1 ve 48,9°C) ıslı işlem uygulamışlardır. Tüm bu işlemler sırasında

örnek alarak her iki patojenin sayısında meydana gelen değişimleri araştırmışlardır. Fermantasyon her iki patojenin populasyonunda da ≤ 2 log birimi düzeyinde bir azalma ve ıslık işlem sonunda ise *E. coli* O157:H7'nin populasyonunda ≤ 3 log birimi azalma meydana getirmiştir. Hem fermantasyon ve hem de ıslık işlemler birlikte her iki patojenin populasyonlarında ≤ 7 log birimi azalmaya neden olmuştur. Ayrıca *E. coli* O157:H7'nin yıkımı açısından üç faktör (ferantasyon pH'sı, sıcaklık ve süre) arasında önemli interaksiyonların gözlendiği belirtilmiştir.

Colombo (1998), Milano tipi salamda yaptığı bir çalışmada farklı düzeylerde *E. coli* O157:H7 suyu ile inoküle edilen salam örneklerinde fermantasyon, kurutma ve depolama süresince bakterinin sayısında meydana gelen değişimleri araştırmıştır. Çalışmada patojenin sayısında önemli düzeyde azalma olduğunu saptamış ve bu nedenle Milano tipi salamın *E. coli* O157:H7 bakımından güvenli olduğunu ileri sürmüştür.

2.1. *E. coli* O157:H7'nin Özellikleri

E. coli O157:H7 izolatlarının çoğunun biyokimyasal reaksiyonları, sorbitol fermantasyonu, β glukoronidaz aktivitesi ve enterohemolisin üretimi dışında tipik *E. coli* reaksiyonlarının aynısı olarak kabul edilmektedir. İnsan kaynaklı *E. coli* izolatlarının %90'ından fazlası sorbitolu 24 saatte fermente edebilirken, *E. coli* O157:H7 serotipinin bunu gerçekleştiremediği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, *E. coli* suşlarının yaklaşık olarak %93' ü β -glukoronidaz enzime sahiptir ve bu özellik *E. coli*'nin belirlenebilmesi için hızlı bir yöntem geliştirilmesinde temel olarak alınmıştır. Bu besiyerinde kullanılan 4-methylumbelliferyl- β -D-glukoronide (MUG) indikatörü β -glukoronidaz enzimi ile parçalanarak UV ışığı altında flüoresan veren bir ürün oluşturur. Ancak *E. coli* O157:H7 β -glukoronidaz enzimi içermediginden MUG kullanılarak belirlenemez (Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995, Noveir 1996).

Yeni bir tip hemolisin olarak kabul edilen enterohemolisinin çoğu verotoksijenik *E. coli* O157:H7 veya O157:H- izolatı tarafından üretildiği belirlenmiştir. Bu hemolisin sadece yıkanmış eritrosin içeren kanlı agar üzerinde belirlenebilmektedir. Bu özelliğin verotoksin üreten *E. coli* suşlarında yaygın olarak bulunduğu ancak diğer *E. coli* suşlarında varolmadığı belirtilmektedir (Doyle 1991, Özbaş ve Aytaç 1995).

Düger bir önemli farklılık ise *E. coli* O157:H7 serotipinin 44-44,5°C'de iyi gelişmemesidir (Doyle and Schoeni 1984). Fekal koliformların ve *E. coli*'nin gıdalarda belirlenmesinde kullanılan inkübasyon sıcaklıkları 44-44,5°C arasındadır. *E. coli* O157:H7'nin EC-Broth besiyerinde 48 saatte gaz üretecek gelişmesi için gerekli sıcaklık aralığı 19,3-41,0°C olarak belirlenmiştir. Gaz oluşmaksızın gelişimin gözlendiği minimum ve maksimum sıcaklıklar 16,4 ve 42,5°C'dir. Buna göre *E. coli*'nin aranmasında kullanılan geleneksel yöntemler *E. coli* O157:H7 için uygun değildir (Raghubeer and Matches 1990).

Trypticase Soy Broth besiyerinde yapılan çalışmalarla, bakterinin 30-42°C aralığında hızlı bir şekilde gelişebildiği, generasyon süresinin ise 37°C'de 0,49 saat, 42°C de 0,64 saat olduğu belirlenmiştir (Doyle and Schoeni 1984, Padhye and Doyle 1992).

Sığır etlerinde gerçekleştirilen termal inaktivasyon çalışmaları *E. coli* O157:H7 serotipinin olağan dışı bir sıcaklık direnci olmadığını, D değerinin 57,2; 60,0; 62,8 ve 64,3°C'ler için sırası ile 270, 45, 24 ve 9,6 saniye olduğunu göstermiştir (Doyle and Schoeni 1984). Bu sonuçlar, uygun bir ıslı işlemin sığır etlerinde *E. coli* O157:H7'nin öldürülmesi için yeterli olabileceğini ortaya koymaktadır (Özbaş ve Aytaç 1995). Organizmanın ısıya, tipik *Salmonella* suşlarından daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Padhye and Doyle 1992). Diğer bir deyişle sığır etinin veya kıymanın tipik *Salmonella* suşlarını öldürmek için yeterli şekilde ıslı işleme tabi tutulması sırasında *E. coli* O157:H7 hücrelerinin de ölmesi sağlanmaktadır (Doyle 1991).

Murano and Pierson (1992) ısı şoku ve gelişme atmosferinin *E. coli* O157:H7 serotipinin ısı direnci üzerindeki etkisini incelemiştir. Bakteriler normal gelişme sıcaklıklarının bir kaç derece üzerindeki sıcaklıklara maruz bırakıldıklarında, hücreler yeni bir grup protein sentezler ve daha sonra normalde kendileri için öldürücü olabilecek sıcaklıklara karşı daha iyi direnç gösterirler. Aerobik ve anaerobik koşullarda üreyen *E. coli* O157:H7'ye ısı şoku uygulaması sonrasında, ıslı işlemlerde canlı kalan organizma sayısının arttığı gösterilmiştir. Bu sonuç, bakteriye uygulanan ılımlı ısı stresi veya ısı şokunun bakterinin inhibisyonu için seçilen proses sıcaklığında canlı kalabilme yeteneğini artıtabileceğini göstermiştir.

Juneja et al (1997) tarafından yapılan çalışmada, hamburgerlerin iç sıcaklığı 155°F (68,3°C) olacak şekilde ıslık işleme tabi tutulmasının *E. coli* O157:H7'nin populasyonunda 4 log birimi azalma sağladığı belirlenmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada ise, süte uygulanan pastörizasyon işlemi ile (72°C; 16,2 saniye) ml'de 10^4 adet *E. coli* O157:H7 den daha fazlasının öldürülebileceği tespit edilmiştir. Bu nedenle kryma veya süt tüketimi ile meydana gelen salgınlar muhtemelen yetersiz pişirilmiş et veya pastörize edilmemiş sütün içilmesi sonucu meydana gelmektedir (Doyle 1991, Özbaş ve Aytaç 1995).

Organizma donmuş halde depolama süresince canlılığını sürdürbilmektedir. Sığır etinin -20°C de 9 ay tutulması ile *E. coli* O157:H7 populasyonunda önemli bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Doyle and Schoeni 1984, Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995).

Yapılan pek çok çalışmada, *E. coli* O157:H7'nin asidik koşullara karşı dirençli olduğu ileri sürülmektedir. Örneğin pH'sı 3,6-4,0 olan elma şarabında 8°C de 31 gün canlı kalabildiği; laktik, asetik ve sitrik asit ile yapılan denemelerde de canlı kalabildiği belirlenmiştir (Özbaş ve Aytaç 1995).

Weagant et al (1994) tarafından *E. coli* O157:H7 serotipinin mayonez ve mayonez içeren soslarda 5-7°C'de yaklaşık 35 gün canlılığını sürdürdüğü saptanmıştır (Özbaş ve Aytaç 1995).

Brackett and Hao (1993) *E. coli* O157:H7 gelişimi üzerine modifiye atmosferin etkilerini incelemiştir. 5,10 ve 20°C'lerde yapılan çeşitli gaz kompozisyonlarının ($\text{CO}_2 / \text{O}_2 / \text{NO}_2$: 0/5/95; 0/10/90; 5/10/85; 2/20/75; 10/5/85 ve 10/20/70) bakteri üzerine inhibitör etkilerinin saptanamadığı belirtilmiştir. Bunun sonucunda, *E. coli* O157:H7'nin buzdolabı sıcaklığında canlı kalabildiği ve sebzeler için tolere edilebilen gaz kompozisyonlarının bu bakteri için inhibitör etki göstermediği, bakterinin çiğ ve yarı işlenmiş sebzelerde kolaylıkla bulunabileceği belirtilmiştir (Özbaş ve Aytaç 1995).

2.2. *E. coli* O157:H7'nin Neden Olduğu Hastalıklar

Gıda kaynaklı *E. coli* grupları arasında ciddi hastalıklara yol açan EHEC en önemli olmalıdır. EHEC' nin 3 temel sendromu vardır. Bunlar, Hemorajik kolit (bağırsak kanaması), Hemolitik Üremik Sendrom (böbrek yetmezliği) ve trombotik

trombositopenik purpura (trombosit noksanlığına bağlı nokta şeklinde kanamalar) dir (Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995).

Hemorajik kolitte ilk belirtiler 3-9 günde ortaya çıkar. Hastalık şiddetli kramplar ve karın ağruları ile başlar ve 24 saat içinde sulu diyare görülür, karın ağrısının doğum ağrısına benzer bir yoğunlukta olduğu, apandisit ağrısından ise daha şiddetli olduğu bildirilmektedir. Diyare daha sonra “dışkısız kan” haline dönüşür. Hemorajik kolit süresince ateş ya hiç olmaz veya çok az olabilir. Bunların yanı sıra bulantının meydana gelebileceği belirtilmektedir. Hastalık genelde 2-9 gün sürer (Doyle 1991, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995). Hastalık sigellozisde tanımlanan dizanteri veya invaziv *E. coli*'nin neden olduğu gastroenteritisden ateşin olmaması ve kanama ile ayırmaktadır (Özbaş ve Aytaç 1995).

Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) için bebekler ve yaşlılar en büyük risk grubunu oluşturur. Yaşlıarda HUS sonucu ölüm oranı yüksektir, örneğin bir bakımevinde bu bakteri ile kontamine olmuş sandviçlerden yiyen yaşlıarda %35 oranında ölüm görülmüştür. Diğer yandan, çocuklarda akut böbrek yetmezliğinin en önemli nedeni HUS'dur (Gönül ve Karapınar 1994). Hastalık hemolitik anemi, trombositopeni (trombosit noksanlığı) ve böbrek yetmezliği olarak seyretmektedir (Doyle 1991, Özbaş ve Aytaç 1995). Klinik olarak HUS gösteren hastalarda, ciddi bir hastalık seyri veya sarilık ve sıkılıkla yüksek tansiyon oluşmaktadır. Hastaların sıkılıkla diyaliz ve kan nakline gereksinim duydukları ve kalp yetmezliği, koma, kalp krizi gibi kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi hastalıklarının gelişebildiği bildirilmektedir (Özbaş ve Aytaç 1995).

HUS patojenitesinin, endotel hücreleri hasara uğratan ve pihtlaşma mekanizmasını bozan toksin ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Oluşan mikotrombinin (kan pihtları oluşumu) tamamen veya kısmen böbrekler veya diğer organlardaki kılcal damarları tıkayarak kanda atık ürünlerin birikimine yol açtığı bilinmektedir (Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995).

Trombotik trombositopenik purpura (TPP), HUS'a benzer klinik ve patolojik özellikler gösteren bir hastaliktır. Ancak beyinde oluşan kan pihtları yüzünden ölüm oranı çok yüksektir. Bu hastalık genellikle yetişkinlerde meydana gelen microangiopathic anemi, trombocytopenia, ateş ve değişken nörolojik belirtiler içeren bir sendromdur.

E. coli O157:H7 ile bağlantılı olan diğer bazı klinik komplikasyonlar ise sepsis, anemi, kanamalı sistit olarak tanımlanmıştır (Doyle 1991, Gönül ve Karapınar 1994, Özbaş ve Aytaç 1995, Noveir 1996)

2.3. Patojenite

E. coli O157:H7'nin patojenite mekanizması tam olarak açıklanmamış olmakla birlikte önemli virülsens faktörleri tanımlanmıştır. Tüm klinik izolatların bir veya iki farklı verotoksin üretikleri saptanmıştır. Bu toksinlerin doku kültüründe geliştirilen vero (Afrikalı yeşil maymun böbreği) hücrelerine karşı sitotoksik oldukları bilinmektedir. Verotoksininin aynı zamanda HeLa hücrelerine karşı da sitotoksik oldukları belirtilmektedir. Her iki toksin de saflaştırılmış ve tanımlanarak verotoksin 1 (VT-1) ve verotoksin 2 (VT-2) olarak isimlendirilmiştir (Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995, Noveir 1996).

VT-1 immünolojik ve yapısal olarak *Shigella dysenteriae* tarafından üretilen shiga toksinden ayırdedilemez. Bu nedenle bu toksinler shiga-like toksin olarak da adlandırılırlar. Buna göre shiga toksinle hazırlanmış antiserum ile nötralize olabilen toksin SLT-I veya VT-1 ve anti-shiga toksin ile nötralize olmayan diğer toksin ise SLT-II veya VT-2 olarak adlandırılmıştır (Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995).

VT-1 molekül ağırlıkları sırası ile 31.000 ve 5.000-7.000 olan A ve B alt ünitelerinden oluşur ve izoelektrik noktası 7,1'dir. VT-2 de molekül ağırlıkları VT-1'in alt ünitelerine benzer olan A ve B alt ünitelerinden oluşur, ancak izoelektrik noktası 5,2'dir. Hem VT-1 hem de VT-2 farelerde toksik etki yaparak paralizis ve ölüme neden olur (Doyle 1991).

Verotoksijenik *E. coli* enfeksiyonları ile ilişkili en önemli serotip O157:H7 olmakla birlikte VT üreten çeşitli serogruplara dahil suşların da olduğu rapor edilmiştir (Smith et al 1991, Özbaş ve Aytaç 1995). Son yıllarda O26:H11 serotipi de EHEC enfeksiyonlarında yaygın olarak görülmektedir (Gönül ve Karapınar 1994).

Verotoksinin memeli hücrelerindeki düşünülen aktivite modeli bir olaylar zincirini içermektedir. Toksinin B alt birimi hücrede glikolipit reseptörüne bağlanmakta, içeri

girdikten sonra A alt birimi enzimatik olarak A₁ fragmentine indirgenmektedir. Bu fragment daha sonra 60S ribozomlarına bağlanarak protein sentezini inhibe etmekte ve hücre ölümüne yol açmaktadır (Doyle 1991, Padhye and Doyle 1992, Özbaş ve Aytaç 1995, Noveir 1996).

VT-1 ve VT-2 reseptörü olarak tanımlanan globortriosyl ceramide (GC) insan böbreği korteksinde ve endotel hücre kültürlerinde bulunmaktadır. Bu durumda, GC'nin VT-1 ve VT-2'nin fonksiyonel reseptörü olarak tanımlanması VTEC'nin HUS'daki etiyolojik rolü ile uyumlu bulunmaktadır (Özbaş ve Aytaç 1995).

E. coli O157:H7'nin gıdalarda verotoksin üretip üretmediği veya gıdada önceden oluşmuş toksinin vücuda alınmasının hastalığa yol açıp açmayacağı tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalar VT-1'in kısmen ısıya dayanıklı olduğunu göstermiştir. Buna göre eğer gıda hafif bir ısıl işleme tabi tutulursa toksin aktif olarak kalabilmekte hatta, 40-70°C'de ısıtılması sonucunda VT-1'in toksititesinin değişmediği ifade edilmektedir. Ancak, 80°C'de 60 dakika veya 85°C'de 5 dakikalık ısıl işlem başlangıç aktivitesi 1000-2000 vero CD₅₀ olan VT-1'i tamamen inaktive edildiği belirtilmektedir (Doyle 1991, Özbaş ve Aytaç 1995).

E. coli O157:H7'nin bağırsak hücrelerine bağlanabilme özelliği organizmanın patojenik potansiyelinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bakterinin yol açtığı enfeksiyonlarda ateşin çok az veya hiç olmaması bakterinin invaziv olmadığı, dolaşım sistemine girmediği şeklinde açıklanmaktadır. Bu durumda, bakterinin bağırsak sisteminde çoğalıp daha sonra bağırsakta etkin olan toksini salgıladığı düşünülmektedir (Özbaş ve Aytaç 1995).

Araştırmalarda, çoğu O157:H7 serotipinin taşıdığı 60 MDa'luk plazmidin patojenitede ve bakterinin bağlanmasında önemli rol oynadığı şeklinde bulgulara rastlanmıştır (Doyle 1991). *E. coli* O157:H7'nin enfeksiyona neden olabilecek dozu hakkında literatürde yeterli bilgiye rastlanmamakla birlikte, 10 adet kadar düşük olabileceği belirtilmektedir (Tomicka et al 1997).

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

E. coli O157:H7 suyu Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteri kültürünün hazırlanması

E. coli O157:H7 suyu Nutrient Broth (Oxoid) besiyerinde 37°C'de 24 saatlik aktifleştirme işleminden sonra, içinde 100 ml Nutrient Broth besiyeri bulunan erlene aktif kültürden 0,1 ml inoküle edilmiş ve 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha önce yapılan ön denemelerde tespit edildiği gibi 9 saatlik inkübasyon sonucunda 10^7 adet/ml düzeyine ulaşan aktif kültür 10^5 adet/g olacak şekilde seyreltilerek sucuk hamuruna ilave edilmiştir.

Aynı zamanda saf kültürde ml deki bakteri sayısını belirlemek amacıyla sucuk hamuruna inoküle edilmeden önce dilişyon yapılmış ve damla kültür sayılm yöntemi (Gürgün ve Halkman 1988) kullanılarak Plate Count Agar besiyerine ekim yapılmıştır.

Plate Count Agar (PCA) (Merck) :

| | |
|----------------|---------|
| Tripton | 5,0 g |
| Maya ekstraktı | 2,5 g |
| D (+) glikoz | 1,0 g |
| Agar | 14,0 g |
| Destile su | 1000 ml |
| pH :7,0±0,2 | |

Bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 22,5 g tartılarak 1 L destile suda çözündürülmüş olup 121°C de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Nutrient Broth (Oxoid) :

| | |
|----------------------|---------|
| Et ekstraktı | 1,0 g |
| Maya ekstraktı | 2,0 g |
| Pepton | 5,0 g |
| Sodyum klorür (NaCl) | 5,0 g |
| Destile su | 1000 ml |
| pH :7,4±0,2 | |

Bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 13 g tartılarak 1 L destile suda çözündürülür. 121°C'de 15 dakika süre ile sterilize edilir.

3.2.2. Sucuk üretimi

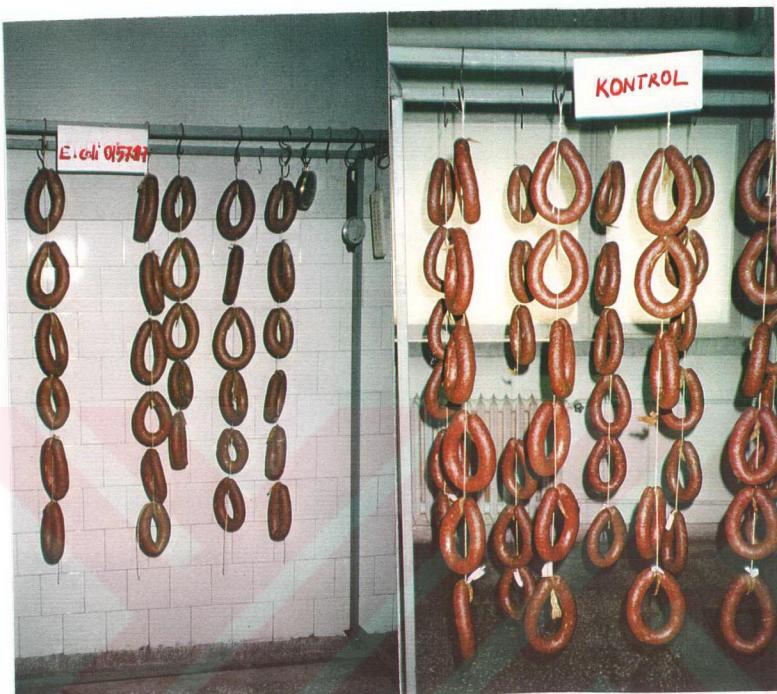
Sığır eti ve %15 oranında ilave edilen kuyruk yağı 12 mm çaplı diskten geçirilerek kuşbaşı doğranmış ve daha sonra diğer bileşenler (%2,5 askorbik asit, %1,0 kırmızı biber, %0,06 karabiber, %1,0 kimyon, %2,0 tuz, %0,6 toz şeker, %2,5 sarımsak ve %0,05 sodyum nitrat) ilave edilmiş ve 3 mm çaplı diskten geçirilerek hamur haline getirilmiştir.

Sucuk hamuru iki eşit parçaya bölünmüş ve bir kısmı kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Diğer kısmına ise 3.2.1 de açıklandığı şekilde *E. coli* O157:H7 kültürü ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak homojen dağılması sağlanmıştır. Her iki grup sucuk hamuru da +4 °C'de buzdolabında 1 gece süreyle bekletilmiş ve böylece katkılarının ete daha iyi nüfuz etmesi sağlanmıştır. Daha sonra sucuk hamuru 300-400 g'lik kangallar olacak şekilde el makinesi ile doldurulmuştur.

Sucukların olgunlaştırılması, ilk üç gün 24±2°C sıcaklık ve %90-95 nispi nem koşullarında, daha sonraki 5 gün ise 22±2°C sıcaklık ve %80-85 nispi nem koşullarında sağlanmıştır (Kolsarıcı vd 1993).

Olgunlaştırma işleminin tamamlanmasının ardından, sucukların bir kısmı açık olarak bir kısmı da vakum paketlenerek +4°C'de 3 ay süre ile depolanmışlardır.

Deneme iki tekerrürlü ve iki paralelli olacak şekilde yürütülmüştür.



Şekil 3.1 Sucuk üretimi

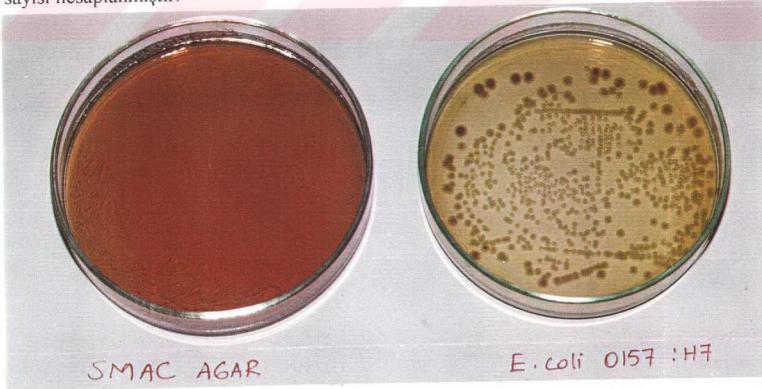
3.2.3. Örneklerin analize hazırlanması

Kıyma da dahil olmak üzere olgunlaştırma süresince 0, 1, 2, 3, 4, 6 ve 8. günlerde ve 3 aylık depolama süresince ilk olarak 15. günde ve daha sonra aylık olarak her bir gruptan iki kangal olacak şekilde örnek alınmıştır. Aseptik koşullarda 25 g sucuk örneği tartılmış ve steril blendirda (Warring, USA) 225 ml %0,1'lik peptonlu su ilave edilerek düşük devirde 1 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Bu karışımından 1 ml alınmış ve 9 ml steril %0,1'lik peptonlu su veya 0,85'lik fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılarak seri dilüsyonlar yapılmıştır.

3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler

3.2.4.1. *E. coli* O157:H7 sayımı

E. coli O157:H7 sayımı üçlü tüp sistemi kullanılarak En Muhtemel Sayı (EMS) Yöntemi ile yapılmıştır (Anonymous 1984). Uygun dilüsyonlardan içinde 10 ml Lauryl Sulphate Tryptose (LST) Broth besiyeri ve durham tüpü bulunan tüplere 1'er ml aşılanmış ve tüpler 37°C'de 48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda gaz-pozitif tüplerden doğrulama yapmak amacıyla 10^{-5} 'e kadar dilüsyon yapılmış ve içlerinde Sorbitol MacConkey (SMAC) agar (Difco) bulunan petri kutularına 10^{-4} ve 10^{-5} 'lik dilüsyonlardan 0,1'er ml inoküle edilip yayma yapılmıştır. Petrilere 37°C'de 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda oluşan renksiz (sorbitol-negatif) koloniler (Şekil 3.2) alınarak *E. coli* O157 Latex test kiti (Oxoid) ile test edilmiştir. Gaz oluşumu gözlenen tüplerden SMAC agar'a yapılan ekim sonucunda oluşan renksiz kolonilerden en az bir tanesinin *E. coli* O157 Latex kiti ile pozitif sonuç vermesi ile gaz-pozitif tüpün aynı zamanda *E. coli* O157:H7 bakımından da pozitif olduğu sonucuna varılmıştır. Bu işlem sonucunda *E. coli* O157:H7 bakımından pozitif olduğuna karar verilen tüpler göz önüne alınarak EMS tablosundan *E. coli* O157:H7 sayısı hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. *E. coli* O157:H7 suşunun SMAC Agar besiyerinde gelişimi

Lauryl Sulphate Tryptose (LST)- Broth (Merck) :

| | |
|---------------------------------|---------|
| Triptoz | 20,0 g |
| Laktoz | 5,0 g |
| NaCl | 5,0 g |
| Sodyum-Lauril Sülfat | 0,1 g |
| K ₂ HPO ₄ | 2,75 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2,75 g |
| Destile su | 1000 ml |
| pH:6,8±0,2 | |

Yukarıda bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 35,5 g tartılarak 1 L destile suda çözündürülmüş ve tüplere dağıtıldıktan sonra besiyeri 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Sorbitol MacConkey (SMAC) agar (Difco) :

| | |
|----------------|---------|
| Pepton | 15,5 g |
| Proteaz pepton | 3,0 g |
| D-Sorbitol | 10,0 g |
| Safra tuzu | 1,5 g |
| NaCl | 5,0 g |
| Agar | 15,0 g |
| Nötral Red | 0,03 g |
| Kristal viyole | 0,001 g |
| Destile su | 1000 ml |
| pH:7±0,2 | |

Bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 50 g tartılarak 1 L destile suda çözündürülmüş ve 121-124°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

3.2.4.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı Gürgün ve Halkman'a göre (1988) damla kültür sayımı yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla Plate Count Agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 3.2.1.'de açıklandığı şekilde hazırlanmıştır.

TAMB sayımı için petriler 28°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonucu oluşan tüm koloniler sayılmıştır.

3.2.4.3. Laktik asit bakterilerinin sayımı

Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) sayımı De Man Rogosa Sharpe Agar (Merck) besiyeri kullanılarak damla kültür yöntemi ile yapılmıştır (Gürgün ve Halkman 1988).

De Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Merck) :

| | |
|------------------------------------|---------|
| Pepton | 10,0 g |
| Maya ekstraktı | 4,0 g |
| Et ekstraktı | 8,0 g |
| Glikoz | 20,0 g |
| Tween 80 | 1 ml |
| K ₂ HPO ₄ | 2,0 g |
| Sodyum asetat 3H ₂ O | 5,0 g |
| Triamonyum sitrat | 2,0 g |
| Magnezyum Sülfat 7H ₂ O | 0,2 g |
| Manganez Sülfat 4H ₂ O | 0,05 g |
| Destile su | 1000 ml |
| pH: 5,7±0,2 | |

Yukarıda bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 66,5 g tartılarak 1 L destile suda çözündürülmüş ve 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

LAB'nin sayımı amacıyla petriler 28°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiş ve 48 saat sonunda oluşan tüm koloniler sayılmıştır.

3.2.4.4. Enterobakterilerin sayımı

Enterobakterilerin sayımı için Violet Red Bile Agar (Merck) besiyerine %1 oranında glikoz eklenmiş (Anonymous 1984) ve örnekteki enterobakterilerin sayısı damla kültür yöntemi (Gürgün ve Halkman 1988) kullanılarak belirlenmiştir.

Violet Red Bile (VRB) Agar (Merck) :

| | |
|-------------------------|----------------|
| Maya ekstraktı | 3,0 g |
| Pepton | 7,0 g |
| Safra tuzu No. 3 | 1,5 g |
| Laktoz | 10,0 g |
| NaCl | 5,0 g |
| Agar | 13,0 g |
| Nötral Red | 0,03 g |
| Kristal viyole | 0,002 |
| Destile su | 1000 ml |
| pH: 7,0±0,2 | |

Bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 39,5 g tartılarak 1 L destile su ilave edilmiş ve besiyeri kaynar su banyosunda tutularak çözündürülmüştür. Üzerine daha önceden 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiş olan glikoz çözeltisi ilave edilmiştir. Besiyerinin ayrıca sterilize edilmesine gerek yoktur.

Petriler 37°C'de 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonucunda oluşan pembe-kırmızı koloniler sayılmıştır.

3.2.4.5. Maya ve küf sayımı

Örnekteki maya ve küf sayısı damla kültür yöntemi ile (Gürgün ve Halkman 1988) Patato Dextrose Agar (Oxoid) besiyeri kullanılarak belirlenmiştir.

Patato Dextrose Agar (PDA) (Oxoid) :

| | |
|-----------------|---------|
| Patates eksaktı | 4,0 g |
| Glikoz | 20,0 g |
| Agar | 15,0 g |
| Destile su | 1000 ml |
| pH:5,6±0,2 | |

Bileşimi verilen hazır dehidre besiyerinden 39 g tartılıp 1 L destile suda çözündürülmuş ve 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

Sayım için petri kutuları 28°C 48-72 saat süre ile inkübe edilmiş ve inkübasyon süresinin bitiminde gelişen koloniler sayılmıştır.

3.2.5. Kimyasal Analizler

3.2.5.1. pH tayini

10 g sucuk örneği üzerine 100 ml saf su ilave edilerek homojenize edilmiş ve Knick marka pH-metre de okunmuştur (Lees 1975).

3.2.5.2. Nem tayini

Sucuk örneklerinde nem tayini Lees (1975)'e göre yapılmıştır. Bu amaçla kurutma kapları 105±2°C de 1,5 saat süre ile kurutulduktan sonra nem çekmelerini önlemek amacıyla desikatöre alınmış ve oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 5'er g örnek konularak tekrar tartılmışlardır. Örnekler etüvde 105±2°C de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuşlardır. Sabit ağırlığa gelen kurutma kapları desikatörde

soğutulduktan sonra tekrar tartılmışlardır. Örnekteki nem miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kuru madde (g/100 g)} = B / A * 100$$

$$\% \text{ Nem (g/100 g)} = 100 - \% \text{ kuru madde}$$

A: Tartılan örnek miktarı

B: Alınan örnek içindeki kuru madde miktarı

3.2.6. İstatistiksel değerlendirme

Araştırmada mikrobiyolojik ve kimyasal analiz sonuçlarına ilişkin verilerin varyans analizleri yapılmış olup (Düzgüneş vd 1987) günler arasındaki farklılık Duncan testi ile saptanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, 3.2.2.' de anlatıldığı şekilde hazırlanan sucuk hamuruna *E. coli* O157:H7 suyu inoküle edilmiş ve ardından fermantasyon, kurutma ve depolama süresince suşun seyri araştırılmıştır.

4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.1.1. *E. coli* O157:H7 suşunun saf kültürdeki sayısı

Araştırmada, 3.2.1.' de açıklandığı şekilde üretilen ve sucuk hamuruna ilave edilen *E. coli* O157:H7 suşunun saf kültürdeki sayısı damla kültürel sayım yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bakterinin Nutrient Broth besiyerindeki aktif kültürünün sayısı 7,33 log adet/ml olarak bulunmuştur.

4.1.2. Fermantasyon, kurutma ve depolama süresince *E. coli* O157:H7 suşunun değişimi

Araştırmada, sucuk örneklerinde *E. coli* O157:H7 suşunun sayısı, 3.2.4.1' de açıklandığı şekilde EMS yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Sucuk hamuruna 5,51 log adet/g düzeyinde ilave edilen *E. coli* O157:H7 sayısının, sucuk hamurunun bir gece +4°C' de bekletilmesi sonucunda 5,66 log adet/g düzeyine ulaşlığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1). Fermantasyonun 2. gününde sayı azalmaya başlamış olup, sucukların kurutmaya alındığı 3. günden itibaren *E. coli* O157:H7 sayısında daha hızlı bir azalma meydana gelmiştir. Kurutma döneminin sonunda patojenin sayısı 2,01 log adet/g olarak belirlenmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, fermantasyon ve kurutma döneminde *E. coli* O157:H7 sayısında meydana gelen azalmanın %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

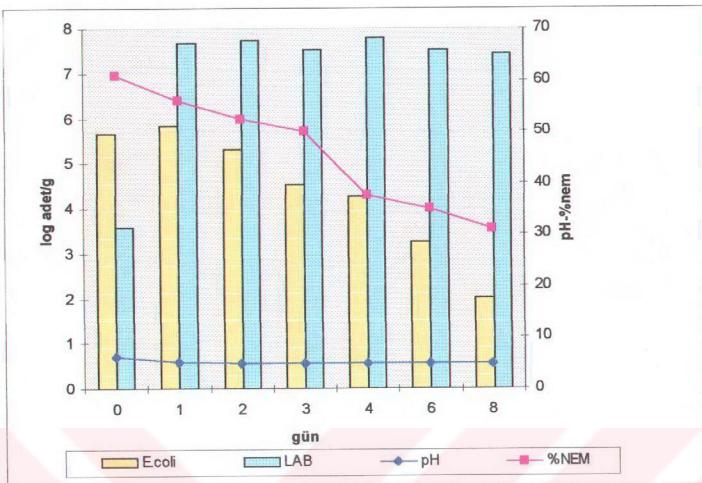
Çizelge 4.1. Olgunlaştırma (Fermantasyon+Kurutma) döneminde *E. coli* O157:H7 sayısı, LAB sayısı, pH, %nem miktarı (***)

3H

| | <i>E. coli</i> O157:H7 (log adet/g) | LAB (log adet/g) | pH | %NEM |
|---------|--|---------------------|--|--|
| Kıyma | - | 4,30 | - | - |
| | <i>E. coli</i> O157:H7 inokülle edilmiş | KONTROL | <i>E. coli</i> O157:H7 inokülle edilmiş | <i>E. coli</i> O157:H7 inokülle edilmiş |
| Hamur | 5,51 ab | 3,00 b | 3,47 e | KONTROL |
| 0. gün | 5,66 a | 3,58 b | 4,23 d | 6,13 a |
| 1. gün | 5,85 a | 7,66 a | 7,16 bc | 6,13 a |
| 2. gün | 5,31 ab | 7,74 a | 6,82 c | 5,16 b |
| 3*. gün | 4,54abc | 7,54 a | 8,00 a | 4,90 bc |
| 4*. gün | 4,26 bc | 7,78 a | 7,89 ab | 5,06 b |
| 6*. gün | 3,27 c | 7,53 a | 7,84 ab | 5,16 bc |
| 8*. gün | 2,01 d | 7,43 a | 7,87 ab | 5,16 bc |

* Kurutma dönemi

(***) Her bir değer iki tekerlek ortalamasıdır.



Şekil 4.1.Olgunlaştırma (Fermantasyon+Kurutma) döneminde *E. coli* O157:H7, LAB, pH ve % nem ilişkisi

Depolama döneminde, başlangıçta 2,01 log adet/g olan patojenin sayısı (Çizelge 4.2, Şekil 4.2), depolama döneminin 15. gününde açıkta depolanan sucuklarda 0,47 log adet/g , vakum paketli sucuk örneklerinde ise 0,77 log adet/g olarak bulunmuştur. Açıkta depolanan sucuklarda 1. ayda *E. coli* O157:H7 suşunun sayısı 0,30 log adet/g olarak belirlenirken, vakum paketli sucuklarda 0,84 log adet/g düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Vakum paketli örneklerde 2. ayda 0,23 log adet/g *E. coli* O157:H7 bulunmuş ancak, açıkta depolanan sucuklarda belirlenmemiştir. Depolamanın 3. ayında ise sucuk örneklerinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 bulunamamıştır. Depolama döneminde *E. coli* O157:H7 sayısı bakımından açık ve vakum paketli örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Buna karşın, depolama döneminde patojenin sayısında günlere göre meydana gelen azalmanın %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

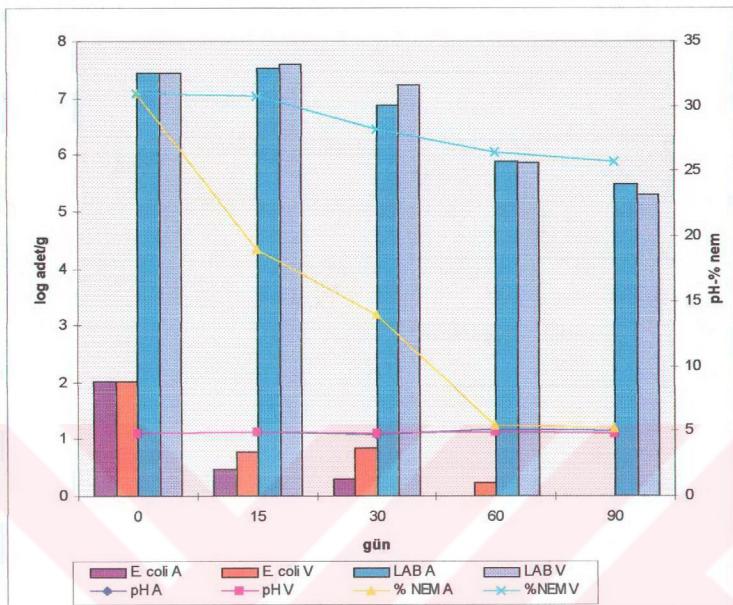
Çizelge 4.2. Depolama döneminde *E. coli* O157:H7, LAB sayısı, pH, %nem miktarı (**)

| Depolama | <i>E. coli</i> O157:H7 (log adet/g) | | LAB (log adet/g) | | | | pH | | | | %NEM | | | | | |
|----------|--|----------------|---------------------|--------|--------|--------|--|------|---------|------|----------------|----------------|--|----------------|----------------|----------------|
| | <i>E. coli</i> O157:H7 inokülle edilmiş | | KONTROL | | | | <i>E. coli</i> O157:H7 inokülle edilmiş | | KONTROL | | | | <i>E. coli</i> O157:H7 inokülle edilmiş | | KONTROL | |
| | A ^a | V ^b | A | V | A | V | A | V | A | V | A ^c | V ^c | A ^d | V ^d | A ^e | V ^e |
| 0. gün | 2,01 a | 2,01 a | 7,43 a | 7,43 a | 7,43 a | 7,87 a | 4,86 | 4,86 | 5,02 | 5,02 | 31,01 | 31,01 | 32,54 | 32,54 | | |
| 15. gün | 0,47 b | 0,77 b | 7,52 a | 7,59 a | 7,56 a | 7,63 a | 4,93 | 4,88 | 4,97 | 4,97 | 18,99 | 30,78 | 18,88 | 32,07 | | |
| 1. ay | 0,30 b | 0,84 b | 6,87 a | 7,22 a | 7,71 a | 7,65 a | 4,71 | 4,83 | 5,20 | 5,13 | 13,93 | 28,25 | 13,08 | 29,06 | | |
| 2. ay | - | 0,23 b | 5,89 b | 5,87 b | 6,51 b | 6,63 b | 5,17 | 4,92 | 4,84 | 4,78 | 5,41 | 26,49 | 6,18 | 26,58 | | |
| 3. ay | - | - | 5,50 b | 5,30 b | 7,17 b | 7,02 b | 5,02 | 4,80 | 4,67 | 4,67 | 5,20 | 25,77 | 6,05 | 25,26 | | |

a, açıkta depolanan örnekler; b, vakum paketli olarak depolanan örnekler

(**) Her bir değer iki tekerler ortalamasıdır.

(^c) Açık ve vakum paketli örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak %1 önemlidir.



Şekil 4. 2. Depolama döneminde *E. coli* O157:H7, LAB, pH ve % nem ilişkisi

4.1.3. Laktik asit bakterilerinin (LAB) sayısı

Araştırmada, LAB sayısı kıymada 4,30 log adet/g olarak belirlenirken *E. coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş sucuk hamurunda 3,00 log adet/g , kontrol hamurunda ise 3,47 log adet/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1). Hem kontrol örneklerinde hem de *E. coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş örneklerde fermantasyonun başlaması ile artan LAB sayısı fermantasyonun 1. gününde sırasıyla 7,16 log adet/g ve 7,66 log adet/g olarak bulunmuştur. Fermantasyon ikinci gününde, *E. coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş sucuk örneklerinde 7,74 log adet/g, kontrol örneklerinde ise 6,82 log adet/g düzeyinde LAB belirlenmiş olup bu farkın istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. En yüksek değerler *E. coli* O157:H7 içeren örneklerde 4. günde 7,78 log adet/g, kontrol örneklerinde ise 3. günde 8,00 log adet/g olarak tespit edilmiştir.

Kurutma döneminin sonunda (8. gün) ise LAB sayısının *E. coli* O157:H7 içeren örneklerde 7,43 log adet/g, kontrol örneklerinde ise 7,87 log adet/g olduğu belirlenmiştir. Fermantasyon döneminde her iki örnek grubu için geçerli olmak üzere LAB sayısında meydana gelen artış istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Depolama döneminde ise 0. gün ve 15. günlerde tüm sucuk örneklerinde LAB sayısı bakımından önemli bir farklılık olmadığı ve sayıının 7 log adet/g civarında olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Buna karşın depolamanın 1. ayında *E. coli* O157:H7 içeren örneklerde açıkta depolananlarda sayı azalmış ve 6,87 log adet/g olarak bulunmuştur. Depolamanın 1. ayında *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş vakum paketli sucuk örneklerinde ise LAB sayısının 7,22 log adet/g olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 2. ve 3. ayında *E. coli* O157:H7 içeren açık ve vakum paketli örneklerde LAB sayısının azaldığı ve 5 log adet/g civarında olduğu gözlenmiştir. Kontrol örneklerinde ise 2. ayda LAB sayısının azaldığı, açık ve vakum paketli örneklerde sırasıyla 6,51 ve 6,63 log adet/g olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 3. ayında kontrol örneklerindeki LAB sayısının artmış ve açıkta depolanan sucuk örneklerinde 7,17 log adet/g, vakum paketli sucuklarda ise 7,02 log adet/g olarak bulunmuştur. İstatistiksel analiz sonucu depolama dönemi kontrol ile *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş örnekler ve açık ile vakum paketli örnekler arasında bir fark bulunmamıştır. Ancak LAB sayısında depolama süresince meydana gelen azalmanın %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

4.1.4. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı

Araştırmada, kıymada 5,60 log adet/g olarak saptanın TAMB sayısının *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sucuk hamurunda 5,47 log adet/g, kontrol hamurunda ise 5,17 log adet/g olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3). Fermantasyonun birinci gününde, TAMB sayısı *E. coli* O157:H7 içeren sucuk örneklerinde 7,68 log adet/g, kontrol örneklerinde ise 7,46 log adet/g düzeyine ulaşmıştır. Kurutma döneminin sonunda TAMB sayısının *E. coli* O157:H7 içeren örneklerde 7,71 log adet/g, kontrol örneklerinde ise 7,84 log adet/g olduğu tespit edilmiştir. Fermantasyon ve kurutma döneminde TAMB sayısı bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Ancak her iki örnek

grubunda TAMB sayısında meydana gelen artışın istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Olgunlaştırma (Fermantasyon+Kurutma) döneminde TAMB, Enterobakteri, Maya-küf sayısı ()**

| | TAMB (log adet/g) | | ENTEROBAKTERİLER (log adet/g) | | MAYA-KÜF (log adet/g) | |
|---------|------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|------------------------------------|-----------|
| | K. coli O157:H7 inoküle edilmiş | KONTROL | E. coli O157:H7 inoküle edilmiş | KONTROL | E. coli O157:H7 inoküle edilmiş | KONTROL |
| Kıyma | 5,60 | | 2,47 | | 4,84 | |
| Hamur | 5,47 b | 5,17 b | 4,22 ab | 3,04 ab | 4,29 d | 4,87 d |
| 0. gün | 4,99 b | 5,72 b | 3,79 b | 3,22 ab | 4,81 cd | 4,92 cd |
| 1. gün | 7,68 a | 7,46 a | 4,89 a | 3,40 a | 6,34 a | 6,08 a |
| 2. gün | 7,63 a | 7,09 a | 3,62 bc | 2,57 ab | 5,79 ab | 5,81 ab |
| 3*. gün | 7,61 a | 7,75 a | 2,84 c | 2,65 ab | 5,18 abcd | 5,67 abcd |
| 4*. gün | 7,73 a | 7,99 a | 2,79 c | 2,79 ab | 5,11 abc | 5,96 abc |
| 6*. gün | 7,67 a | 7,85 a | 2,93 c | 2,79 b | 5,68 abcd | 5,11 abcd |
| 8*. gün | 7,71 a | 7,84 a | 1,74 d | 2,35 ab | 4,85 bcd | 5,52 bcd |

* kurutma dönemi

(**) Her bir değer iki tekerrür ortalamasıdır.

Depolama döneminde, 2. aya kadar tüm sucuk örnekleri için geçerli olmak üzere TAMB sayısında önemli bir değişiklik gözlenmemiş olup, 7 log adet/g civarında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Buna karşın 2. ayda, TAMB sayısı tüm sucuk örneklerinde 1 log birimi azalmıştır. Depolama döneminin 3. ayında ise, *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sucuk örneklerinde TAMB sayısı azalmaya devam etmiş, açık ve vakum paketli örneklerde sırasıyla 5,90 ve 5,00 log adet/g olarak belirlenmiştir. Kontrol örneklerinde, 3. ayda TAMB sayısının arttığı gözlenmiş olup, açık ve vakum paketli örneklerde sırası ile 7,21 ve 7,05 log adet/g düzeyinde olduğu saptanmıştır. İstatistiksel analiz sonucu, depolama döneminde kontrol ve *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş örnek grupları arasında

TAMB sayısı bakımından önemli bir fark gözlenmemiştir. Ancak TAMB sayısında meydana gelen azalmanın %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

4.1.5. Enterobakterilerin sayısı

Araştırmada, enterobakterilerin sayısı kıymada 2,47 log adet/g olarak belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sucuk hamurunda 4,22 log adet/g olan enterobakteri sayısı fermantasyonun 0. gününde 3,79 log adet/g iken fermantasyonun 1. gününde artmış ve 4,89 log adet/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Ancak *E. coli* O157:H7 içeren örneklerde, enterobakteri sayısı fermantasyonun 2. gününden itibaren azalmaya başlamış ve kurutma dönemi sonunda 1,74 log adet/g olarak belirlenmiştir. Kontrol örneklerinde de, hamurda 3,04 log adet/g enterobakteri sayısı azalmış ve kurutma dönemi sonunda 2,35 log adet/g olarak bulunmuştur. Her iki örnek grubu için de geçerli olmak üzere fermantasyon ve kurutma döneminde enterobakteri sayısında görülen azalma istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Depolama döneminde ise, *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sucuk örneklerinde başlangıçta 1,74 log adet/g olan enterobakteri sayısı, depolamanın 3. ayında açık ve vakum paketli örneklerde sırasıyla 1,30 ve 1,38 log adet/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kontrol örneklerinde depolamanın başlangıcında 2,35 log adet/g olan enterobakteri sayısının depolamanın 3. ayında, açıkta depolanan sucuklarda 1,00 log adet/g, vakum paketli sucuklarda ise 1,30 log adet/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucu örnek grupları arasında önemli bir fark bulunmamış ancak aylara göre enterobakteri sayısındaki azalma %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

4.1.6. Maya-küf sayısı

Denemedede, kıymada 4,84 log adet/g olan maya-küf sayısı, *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sucuk hamurunda 4,29 log adet/g, kontrol hamurunda ise 4,87 log adet/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Fermantasyonun 1. gününde maya-küf sayısı her iki örnek grubunda da 2 log birimi artmıştır. Kurutma dönemi sonunda *E. coli* O157:H7

Çizelge 4.4. Depolama döneminde TAMB, Enterobakteri, Maya-küf sayısı (***)

| Depolama | TAMB (log adet/g) | | | | ENTEROBAKTERİLER (log adet/g) | | | | MAYA-KÜF (log adet/g) | | | |
|----------|--|----------------|---------|--------|--|--------|---------|--------|--|--------|---------|--------|
| | <i>E. coli</i> O157:H7 infokule edilmiş | | KONTROL | | <i>E. coli</i> O157:H7 infokule edilmiş | | KONTROL | | <i>E. coli</i> O157:H7 infokule edilmiş | | KONTROL | |
| | A ^a | V ^b | A | V | A | V | A | V | A | V | A | V |
| 0. gün | 7,71 a | 7,71 a | 7,84 a | 7,84 a | 1,74 a | 1,74 a | 2,35 a | 2,35 a | 4,85 a | 4,85 a | 5,52 a | 5,52 a |
| 15. gün | 7,65 a | 7,77 a | 7,75 a | 7,70 a | 1,60ab | 1,64ab | 1,45ab | 1,83ab | 5,30 a | 4,94 a | 5,36 a | 5,44 a |
| 1. ay | 7,09 a | 7,23 a | 7,89 a | 7,64 a | 2,14 a | 1,93 a | 1,86 a | 1,77 a | 5,46 a | 4,65 a | 5,49 a | 5,28 a |
| 2. ay | 6,59 b | 6,05 b | 6,85 b | 6,54 b | 1,59 a | 1,59 a | 1,76 a | 1,96 a | 4,69 b | 3,94 b | 4,27 b | 4,46 b |
| 3. ay | 5,90 b | 5,00 b | 7,21 b | 7,05 b | 1,30 b | 1,38 b | 1,00 b | 1,30 b | 4,27 b | 3,38 b | 4,12 b | 3,73 b |

a, açıkta depolanan; b, vakum paketli olarak depolanan örnekler

(***) Her bir değer iki tekrar ortalamasıdır

içeren sucuklarda 4,85 log adet/g , kontrol örneklerinde ise 5,52 log adet/g düzeyinde maya-küf belirlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucu, kontrol ve *E. coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş örnekler arasında maya-küf sayısı bakımından fark gözlenmezken, günler arasındaki farkın %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Depolama döneminde, *E. coli* O157:H7 içeren ve açıkta depolanan örneklerde maya-küf sayısının 15. günde 1 log birimi yükseldiği ancak sonra tekrar düşüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Depolamanın 3. ayında, maya-küf sayısı *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş açık ve vakum paketli örneklerde sırasıyla 4,27 ve 3,38 log adet/g olarak belirlenmiştir. Kontrol örneklerinde ise depolamanın başlangıcında 5,52 log adet/g olan maya - küf sayısı, 3. ayda açık ve vakum paketli örneklerde sırasıyla 4,12 ve 3,73 log adet/g olarak saptanmıştır. Depolama döneminde örnek grupları arasında maya-küf sayısı bakımından bir fark olmadığı, ancak günler arasında gözlenen farkın istatistiksel olarak %1 düzeyine önemli olduğu belirlenmiştir.

4.2. Kimyasal Analiz Sonuçları

4.2.1. pH tayini

Araştırmada, hamurda 6,13 olarak ölçülen pH değerinin fermantasyonun başlamasıyla düşüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1) pH değeri, fermantasyonun 2. gününde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş örneklerde 4,90 'a, kontrol örneklerinde ise 4,85' e düşmüştür. Kurutma dönemi sonunda ise sırasıyla 4,86 ve 5,02 olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu iki örnek grubu arasında pH bakımından farklılık gözlenmemiştir ancak, günlere göre meydana gelen azalmanın %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

E. coli O157:H7 içeren açık ve vakum paketli örneklerde depolamanın başlangıcında 4,86 olan pH değeri 3. ayda sırasıyla 5,02 ve 4,80 olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Kontrol örneklerinde ise başlangıçta 5,02 olan pH değeri depolama dönemi sonunda hem açıkta depolananlarda hem de vakum paketlilerde 4,67 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucu depolama döneminde örnek grupları arasında pH bakımından önemli bir farklılık saptanmamıştır.

4.2.2. Nem Tayini

Denemedede, *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sucuk örneklerinde, başlangıçta %60,81 olan nem miktarı özellikle kurutma döneminde hızlı bir azalma göstermiş ve kurutma dönemi sonunda %31,01 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1 , Şekil 4.1). Benzer şekilde, kontrol örneklerinde başlangıçta %57,79 olan nem miktarı kurutma dönemi sonunda %32,54 olarak belirlenmiştir. Fermantasyon ve kurutma döneminde nem miktarı bakımından iki örnek grubu arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir ancak, günler itibarıyla meydana gelen azalma %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Depolama döneminde ise açıkta depolanan örneklerde nem miktarı azalmaya devam etmiştir. Depolamanın 3. ayında, nem miktarı *E. coli* O157:H7 içeren ve açıkta depolanan örneklerde %5,20 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Açıkta depolanan kontrol örneklerinde ise nem miktarının 3. ayda %6,05 olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın depolama dönemi sonunda nem miktarı, *E. coli* O157:H7 içeren vakum paketli örneklerde %25,77, vakum paketli kontrol örneklerinde ise %25,26 olarak saptanmıştır. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre depolama döneminde açık ve vakum paketli örnekler arasında görülen farkın %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada *E. coli* O157:H7 suşunun sayımı EMS yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Daha önce gerçekleştirilen benzer çalışmalar (Glass et al 1992, Abdul-Raouf et al 1993, Clavero et al 1996, Ellajosyula 1998) patojenin sayımı SMAC agara yapılan ekimden sonra besiyerinde gelişen *E. coli* O157:H7 olması muhtemel renksiz (sorbitol-negatif) kolonilerin izole edilerek biyokimyasal ve serolojik testlerle doğrulanması şeklinde gerçekleştirılmıştır. Farklı bir yöntem olarak Faith et al (1998a ve 1998b) tarafından yapılan çalışmalar ise, hammaddeden gelebilecek *E. coli* O157:H7 ve diğer sorbitol negatif bakterileri belirlemek amacıyla aynı zamanda kontrol örnekleri de kullanılmış ve kontrol örneklerindeki sorbitol negatif kolonilerin sayısı göz önüne alınarak *E. coli* O157:H7 suşunun sayısı belirlenmiştir. Ancak bakterinin sayısının azalması halinde bu sayım yönteminin yeterince hassas sonuç vermeyeceği ve çeşitli nedenlerle zarar görmüş hücrelerin sıvı besiyerinde daha iyi gelişebileceği düşünülderek EMS yöntemi tercih edilmiştir. Araştırmada çizelge 4.2'de görüldüğü gibi patojenin sayısı 1 log adet/g'dan daha düşük olduğunda bile tespit edilememiştir. Benzer şekilde Padhye ve Doyle (1991) tarafından yapılan çalışmada EMS yöntemi kullanılarak kıyma örneklerinde 0,4-1,5 hücre/g düzeyindeki *E. coli* O157:H7 belirlenebilmiştir.

Araştırmada, fermantasyonun 1. gününde pH'ın 1 birim düşmesine bağlı olarak *E. coli* O157:H7 suşunun sayısının da azalması beklenmiştir. Ancak patojenin sayısında 0, 1 ve 2. günlerde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir olup sırasıyla 5,66, 5,85 ve 5,31 log adet/g olarak belirlenmiştir. Leyer et al (1995), Conner and Kotrola (1995), Brudzunki and Harrison (1998), Garren et al (1998) tarafından *E. coli* O157:H7 suşunun aside toleransı olduğu, hücrelerin hafif asidik ortamda bir süre tutulmaları sonucunda daha düşük pH değerlerini tolere etmelerini sağlayacak proteinlerin sentezlendiği ileri sürülmüştür.

Denemedede, sucuk hamurunun 5,51 log adet/g düzeyinde ilave edilen *E. coli* O157:H7 sayısının olgunlaştırma (Fermantasyon + kurutma) dönemi sonunda 2,01 log adet/g düşüğü saptanmıştır. Benzer şekilde, ferment et ürünleri ile ilgili olarak daha önce yapılan çalışmalar (Glass et al 1992, Clavero et al 1996, Tomicka et al 1997, Ellajosyula et al 1998, Faith et al 1998a, Faith et al 1998b, Colombo 1998) fermantasyon

ve kurutma işleminin *E. coli* O157:H7 suşunun sayısında 1-2 log birimi azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.

Araştırmada, *E. coli* O157:H7 suşunun +4°C de depolama süresince, 3 aydan daha kısa bir süre canlılığını devam ettirdiği anlaşılmıştır. Benzer şekilde, Glass et al (1992) +4°C'de 8 haftalık depolama süresince ferment kuru sosiste 10^4 adet/g düzeyinde inoküle edilen *E. coli* O157:H7 nin canlı kaldığını, Clavero et al (1996) ise salamda başlangıçta 10^4 - 10^5 adet/g canlı hücre olduğunda +5°C de 32 günden daha uzun süre canlı kaldığını bildirmiştirlerdir. Diğer bir çalışmada ise (Colombo 1998), Milano tipi salamda başlangıç düzeyi 5,31 log adet/g olan *E. coli* O157:H7 suşunun 60 günlük depolama dönemi sonuna kadar canlı kaldığı ifade edilmektedir.

Bu çalışmada, depolama süresince vakum paketli sucuk örneklerinde açıkta depolananlara göre *E. coli* O157:H7 sayısının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 2. ayında ise vakum paketlerde 0,23 log adet/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 bulunurken açıkta depolananlarda saptanamamıştır. Bu bulguları destekler şekilde Faith et al (1998a) tarafından yapılan bir çalışmada, vakum altında depolanan salam örneklerinde açıkta depolananlara göre bu bakterinin sayısının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Nem miktarının azalması *E. coli* O157:H7 suşunun inhibe edilmesinde önemli bir faktör olarak görülmektedir (Glass et al 1992). Araştırmada 15. gün ve 1. ayda açıkta depolanan sucuk örneklerinde pH daha yüksek olmasına rağmen, vakum paketli örneklerde göre patojenin sayısı daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.2). Glass et al (1992) tarafından yapılan çalışmada da, 21 günlük kurutma döneminden sonra nem/protein oranı 1,6:1 olan ferment kuru sosiste *E. coli* O157:H7 sayısının $4,6 \cdot 10^4$ adet/g'dan $2,3 \cdot 10^3$ adet/g'a düşüğü, buna karşın 18 günlük kurutma döneminden sonra nem/protein oranı 1,9:1 olan ferment kuru sosiste ise, sayının $4,9 \cdot 10^4$ adet/g' dan $1,3 \cdot 10^4$ adet/g'a düşüğü belirlenmiştir. Araştırmacılar her iki deneme de pH ve titrasyon asitliğinin aynı olması nedeniyle bu iki sonuç arasındaki farklılığın nem/protein oranına bağlı olduğunu karar vermişlerdir.

Çalışmada sucuk hamuruna %3 oranında ilave edilen NaCl'ün *E. coli* O157:H7 suşunun sayısının azalmasında bir diğer faktör olarak düşünülmüştür. Literatür verilerine göre, Glass et al (1992) tarafından yapılan çalışmada, Trypticase Soy Broth (TSB) besiyerinde hücrelerin %2,5 ve daha düşük NaCl konsantrasyonlarında iyi bir şekilde

geliştiği, daha yüksek konsantrasyonlarda gelişme hızının azaldığı, %8,5 ve daha yüksek NaCl varlığında ise patojenin inaktive edildiği belirlenmiştir. El-Khateib (1995) ise NaCl konsantrasyonu, sıcaklık ve pH arasında önemli etkileşimlerin olduğunu ve 5,8 pH da sıcaklık düştükçe patojeni inhibe etmek için gerekli NaCl konsantrasyonunun azaldığını bildirmiştir. Aynı araştırcı tarafından Mısır'a özgü taze sosis emülsiyonuna ilave edilen *E. coli* O157:H7 suşunun sayısında, %2 ve %3 NaCl konsantrasyonlarında sırasıyla 0,6 ve 0,9 log birimi azalma meydana geldiği ve 5,8 pH da %3 NaCl içeriğinde ise 10°C ve 4°C de gelişmenin tamamen inhibe edildiği bildirilmiştir.

TAMB sayısı da fermantasyon döneminde artmış, depolamada ise azalmıştır. TAMB sayısı bakımından örnek grupları arasında önemli bir fark bulunmamış, ancak fermantasyon, kurutma ve depolama dönemlerinde günler arasındaki farkın istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3 ve 4.4).

Enterobakteri sayısının fermantasyon, kurutma ve depolama süresince azaldığı gözlenmiştir. Enterobakterilerin sayısında örnek grupları arasında önemli bir fark olmadığı ancak günler arasındaki farkın fermantasyon ve kurutma dönemi ile depolama döneminde %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve 4.4).

Maya ve küp sayısının fermantasyon döneminde arttığı, depolama döneminde ise azaldığı saptanmıştır. Maya ve küp sayısında da örnek grupları arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Buna karşın günler arasındaki farklılık fermantasyon ve kurutma döneminde %5, depolama döneminde ise %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3 ve 4.4).

pH değerinin fermantasyonun başlaması ile düşüğü ve günler arasında meydana gelen farkın fermantasyon ve kurutma döneminde istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. Ancak fermantasyon, kurutma ve depolama dönemlerinde örnek grupları arasında pH değeri bakımından önemli bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2).

Nem miktarı bakımından depolama döneminde açık ve vakum paketli sucuk örnekleri arasındaki farkın %1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. Nem miktarının kurutma döneminden itibaren sürekli azaldığı belirlenmiştir. Diğer yandan fermantasyon, kurutma ve depolama dönemlerinde günler arasındaki farklılık %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1 ve 4.2).

Sonuç olarak, bu araştırmada elde edilen bulgulara göre sucuğun fermantasyonu sırasında meydana gelen pH düşüşünün *E. coli* O157:H7 suşunu inhibe etmek için tek başına yeterli olmadığı, ancak pH düşüşü ile birlikte nem miktarının azalmasına bağlı olarak etkili bir inhibisyon sağlandığı anlaşılmıştır. Ek olarak, pH ve nem miktarı başta olmak üzere NaCl konsantrasyonu ve sucuk hamuruna ilave edilen diğer tüm bileşenlerin (NaNO₃, sarımsak ve baharat) birlikte etkileri sonucunda *E. coli* O157:H7 suşunun inhibe edildiği düşünülmektedir.

Başlangıçta 10⁵ adet/g düzeyinde ilave edilen *E. coli* O157:H7 suşunun sucuğun olgunlaştırılması sırasında 3 log birimi azaldığı, +4°C'de depolama süresince vakum paketli sucuklarda açıkta depolananlara göre daha uzun süre canlı kaldığı ancak, 3 aylık depolama dönemi sonunda tamamen inhibe olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- ABDUL-RAOUF, U. M., BEUCHAT, L. R., AMMAR, M. S., 1993. Survival and Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground, Roasted Beef as Affected by pH, Acidulants, and Temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(8), 2364 - 2368.
- AKKUŞ, F., 1996. Hazır Sığır Kıymalarında Verotoksin Oluşturan *Escherichia coli* O157:H7 İzolasyonu. Ank. Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 68 sayfa.
- ANONYMOUS, 1984. Bacteriological Analytical Manual, 6th edition. Published and distributed by Association of Official Analytical Chemist Suite, Virginia, USA. 31 bölüm + 3 ek.
- ANONYMOUS, 1998. Water parks eye rare *E. coli* outbreak. *USA TODAY*, JUNE 26.
- BRUDZINSKI, L., HARRISON, M. A., 1998. Influence of Incubation Conditions on Survival and Acid Tolerance Response of *Escherichia coli* O157:H7 and Non-O157:H7 Isolates Exposed to Acetic Acid. *J. Food Protect.*, 61(5), 542 - 546.
- CLAVERO, M. R., BEUCHAT, L. R., 1996. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in Broth and Processed Salami as Influenced by pH, Water Activity, and Temperature and Suitability of Media for its Recovery. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(8), 2735 - 2740.
- COLOMBO, S., 1998. Survival of *E. coli* O157:H7 in Salami. *Notiziario*, 11(4), 2 - 3.
- CONNER, D. E., KOTROLA, J. S., 1994, Growth and Survival of *Escherichia coli* O157:H7 under Acidic Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(1), 382 - 385.
- CUTTER, C. N. and SIRAGUSA G. R., 1994. Efficiency of organic acids against *Escherichia coli* O157:H7 attached to beef carcass tissue using a pilot scale model washer. *J. Food Protect.*, 57 (2), 97-103.
- DELAZARI, I., IARIA, S. T., RIEMAN, H. P., CLIVER, D. O., MORI, T., 1998. Decontaminating Beef for *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Protect.*, 61(5), 547-550.
- DOYLE, M. P., 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 12, 289 - 301.

- DOYLE, M. P., SCHOENI, J. L., 1984. Survival and Growth Characteristics of *Escherichia coli* Associated With Hemorrhagic Colitis. *Appl. Environ Microbiol.*, 48(4), 855-856.
- DOYLE, M. P., SCHOENI, J. L., 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Retail Fresh Meats and Poultry. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(10), 2394-2396.
- DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O., GÜRBÜZ, F., 1987. Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik Metotları II) A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayın No:1021, A.Ü., Basımevi, Ankara
- EL-KHATEIB, T., 1995. Behaviour of *E. coli* in Egyptian fresh sausage emulsion influence and interaction of temperature, pH and sodium chloride. *FleischWirtsch.* 75(2), 161-163.
- ELLAJOSYULA, K. R., DOORES, S., MILLS, E. W., WILSON, R.A., VANKATESWARAN, R. C., KNABEL, S. J., 1998. Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in Lebanon Bolonga by Interaction of Fermentation pH, Heating Temperature, and Time. *J.Food Protect.*, 61(2), 152-157.
- FAITH, N. G., PARNIERE, N., LARSON, T., LORANG, T. D., KASPAR, C. W., LUCHANSKY, J. B., 1998a. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in Salami Following Conditioning of Batter, Fermentation and Drying of Sticks and Storage of Slices. *J. Food Protect.* 61(4), 377-382.
- FAITH, N. G., WIERZBA, R. K., IHNOT, A. M., ROERING, A. M., LORANG, D., KASPAR, C. W., LUCHANSKY, J. B., 1998b. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Full and Reduced Fat Pepperoni after Manufacture of Sticks, Storage of Slices at 4°C or 21°C under Air and Vacuum, and Baking of Slices on Frozen Pizza at 135, 191 and 246°C *J. Food Protect.*, 61(4), 383-389.
- GARREN, D. M., HARRISON, M. A., RUSSEL, S. M., 1998. Acid Tolerance and Acid Shock Response of *Escherichia coli* O157:H7 and Non-O157:H7 Isolates Provide Cross Protection to Sodium Lactate and Sodium Chloride. *J. Food Protect.*, 61(2), 158-161.
- GEISEN, R., LÜCKE, F.K. and KRÖCKEL, L., 1992. Starter and Protective Cultures for Meat and Meat Products. *Meat Sci.*, 36, 155-168.

- GLASS, K. A., LOEFFELHOLZ, J. M. , FORD, J. P., DOYLE, P., 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as Affected by pH or Sodium Chloride and in Fermented, Dry Sausage. *Appl. Environ. Microbiol.* , 58(8), 2513-2516.
- GÖNÜL. Ş. A., 1997. Çiğ Süt ve Peynir Örneklerinde Enterohemorajik *E. coli*' ye (O157:H7) Rastlama Sıklığı. *KÜKEM Dergisi*, 20(2), 69-73.
- GÖNÜL, Ş. A., KARAPINAR, M. 1994. *Escherichia coli*: Patojenitesi ve Gidalardaki Önemi. *Tr. J. Of Biology*, 18, 47-60.
- GÜRGÜN, V. ve AYHAN, K., 1996. Gıdalar ve Mikrobiyolojik Riskler I. *Gıda Dergisi*, 21(1), 23-29.
- GÜRGÜN, V., HALKMAN, K., 1988. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri *Gıda Teknolojisi Derneği* Yayın No: 7, 146 sayfa.
- HALKMAN, A. K., NOVEIR, M. R., DOĞAN, H. B., 1998. Çeşitli Hayvansal Gıda Ürünlerinde *E. coli* O157: H7 aranması. Proje No: VHAG - 1192, TÜBİTAK, 75 sayfa.
- HALKMAN, K., YILMAZ, I., NOVEIR, M. R., ERDAL, N., 1996. Koli Basili O157:H7. *Bilim ve Teknik*, 347, 96-98.
- HEPERKAN, D. ve SÖZEN, M., 1988. Fermente et ürünleri üretimi ve mikrobiyel proseslerin kaliteye etkisi. *Gıda*, 13, 5, 371-378.
- INGHAM, S. C., ULJAS, H. E., 1998. Prior Storage Conditions Influence the Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 during Heating of Apple Cider and Juice. *J. Food Protect.*, 61(4), 390-394.
- JUNEJA, V. K., SNYDER, O. P., WILLIAMS, A. C., MARMER, B. S., 1997. Thermal Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in Hamburger. *J. Food Protect.*, 60(10), 1163-1166.
- KOLSARICI, N., SOYER, A., TURHAN, K., 1993. Tiftik keçisi etinin sucuk üretiminde kullanılabilme olanakları üzerine araştırma. Ankara Üniversitesi Yayınları, No:1292(716), 16 sayfa.
- KRISHNAN, C., FITZGERALD, V. A., DAKIN, S. J., BEHME, R. J., 1987. Laboratory Investigation of Outbreak of Hemorrhagic Colitis Caused by *Escherichia coli* O157: H7. *J. Clin. Microbiol.*, 25(6), 1043-1047.

- LEES, R., 1975. Food analysis analytical and quality control methods for the food manufacture and buyer. Third Edition. Leonard Hill Books. London.
- LEYER, G. J., WANG, L., JOHNSON, E. A., 1995. Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 Increases Survival in Acidic Foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(10), 3752-3755.
- MURANO, E. A., PIERSON, M. D., 1992. Effect of Heat Shock and Growth Atmosphere on the Heat Resistance of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Protect.* 55(3), 171-175.
- NOVEİR, M.R, 1995. Enterik Enfeksiyon Yapan *E. coli*'nin Tanımlanması. Ank. Üniv. Fen Bilimleri Ens. Semineri. Basılmamış, 20 sayfa.
- NOVEİR, M.R, 1996. Enzimatik ve İmmünogenetik Yöntemlerle Hemorajik *E. coli* ve Ürettiği Toksinlerin İzolasyon ve İdentifikasiyonu. Ank. Üniv. Fen Bilimleri Ens. Semineri. Basılmamış, 27 sayfa.
- ÖZBAŞ, Z. Y., AYTAÇ, S. A., 1995. *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri. *Türk. Hij. Biyol. Dergisi*. 52(1), 47-53.
- ÖZBAŞ, Z. Y., AYTAÇ, S. A., 1996. Çeşitli laktobasil türlerinin yağsız süt ortamında *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* üzerine etkilerinin incelenmesi. KÜKEM Dergisi, 19(1), 45-57.
- ÖZTAN, A. ve VURAL, H., 1992. Et ürünlerinde ticari starter kullanımı üzerine araştırmalar. *Gıda*, 17, 1, 53-60.
- PADHYE, N. V., DOYLE, M. P., 1992. *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiology, Pathogenesis, and Methods for Detection in Food. *J. Food Protect.* 55(7), 555-565.
- RADU, S., MUTALIB, S. A., RUSUL, G., AHMAD, Z., MORIGAKI, T., ASAI, M., KIM, Y. B., OKUDA, J., NISHBUCHI, M., 1998. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in the Beef Marketed in Malasia. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(3), 1153-1156.
- RAGHUBEER, E. V., MATCHES. J. R., 1990. Temperature Range for Growth of *Escherichia coli* Serotype O157: H7 and Selected Coliforms in *E. coli* Medium. *J. Clin. Microbiol.* 28(4), 803-805.

- SAMADPOUR, M., LISTON, J., ONGERTH, J. E., TARR, P. I., 1990. Evaluation of DNA Probes for Detection of Shiga-like Toxin Producing *Escherichia coli* in Food and Calf Fecal Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(5), 1212-1215.
- SMITH, H. R., CHEASTY, T., ROBERTS, D., THOMAS, A., ROWE, B., 1991. Examination of Retail Chickens and Sausages in Britain for vero Cytotoxin-Producing *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(7), 2091-2093.
- SUTHIENKUL, O., BROWN, J. E., SERIWATANA, J., TIENTHONGDEE, S., SASTRAVAHA, S., ECHEVERRIA, P., 1990. Shiga-Like-Toxin-Producing *Escherichia coli* in Retail Meats and Cattle in Thailand. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(1), 1135-1139.
- TOMICKA, A., CHEN, J., BARBUT, S., GRIFFITHA, M. W., 1997. Survival of Bioluminescent *Escherichia coli* O157:H7 in a Model System Representing Fermented Sausage Production. *J. Food Protect.* 60(12), 1487-1492.
- VENKATESWARAN, K., KAMIJOH, Y., OHASHI, E., NAKANISKI, H., 1997. A simple Filtration Technique to Detect Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and its Toxins in Beef by Multiplex PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(10), 4127-4131.
- WILLSHAW, G. A., SMITH, H. R., ROBERTS, D., THIRWELL, J., CHEASTY, T., ROWE, B., 1993. Examination of raw beef products for the presence of vero cytotoxin producing *Escherichia coli*, particularly those of serogroup O157. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 420-426.
- ZHAO, T., DOYLE, M. P., BESSER, R. E., 1993. Fate of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Cider With and Without Preservatives. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(8), 2526-2530.

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 1994 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 1996 yılında aynı bölümde Gıda Mikrobiyolojisi bilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı.

Halen yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.