

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI GEOMETRİK ŞEKİLLERDEKİ GELENEKSEL KÖFTELERDE
(İNEGÖL ve KASAP) *Escherichia coli* O157:H7'nin TERMAL İNAKTİVASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge TOSUNCUK

HAZİRAN 2019
UŞAK

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI GEOMETRİK ŞEKİLLERDEKİ GELENEKSEL KÖFTELERDE
(İNEGÖL ve KASAP) *Escherichia coli* O157:H7'nin TERMAL İNAKTİVASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge TOSUNCUK

HAZİRAN 2019

Özge TOSUNCUK tarafından hazırlanan “**Farklı Geometrik Şekillerdeki Geleneksel Köftelerde (İnegöl ve Kasap) *Escherichia coli* O157:H7’nin Termal İnaktivasyonu**” adlı bu tezin Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ
Tez Danışmanı, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Başkanı, Uşak Üniversitesi

Doç. Dr. Onur GÜNEŞER
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Uşak Üniversitesi

Doç. Dr. Recep KARA
Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Tarih: 04.07.2019

Bu tez Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Doç. Dr. Murat Kemal KARACAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Özge TOSUNCUK

**FARKLI GEOMETRİK ŞEKİLLERDEKİ GELENEKSEL KÖFTELERDE
(İNEGÖL ve KASAP) *Escherichia coli* O157:H7'nin TERMAL İNAKTİVASYONU
(Yüksek Lisans Tezi)**

Özge TOSUNCUK

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Haziran 2019

ÖZET

Bu çalışmanın amacı ticari lokantalarda tüketime sunulan geleneksel kasap ve İnegöl köfte üretiminde ızgarada pişirme işleminin *Escherichia coli* O157:H7'nin termal inaktivasyonuna olan etkisini belirlemektir. Uşak'ta bulunan ve rastgele seçilen restoranlardan kasap ve İnegöl köfte örnekleri toplandı. Sahada ızgarada pişirilerek tüketiciye sunulan bu köfte örneklerinin, yerinde merkez sıcaklıkları, ızgara sıcaklıkları ve pişirme süreleri tespit edildi. Laboratuvarında deneysel olarak, kıymalara 7 ± 1 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 inoküle edildi. Şekil verilen köfteler merkez sıcaklığa bağlı olarak 170°C ve 180°C'de, elektrikli ızgarada pişirme işlemi gerçekleştirildi. Pişirme işlemi esnasında termokupllar kullanılarak ızgara yüzeyinde ve köfte merkez sıcaklığında meydana gelen değişiklikler izlendi. Pişirme işlemi sonunda *E. coli* O157:H7'nin sayısı selektif besiyeri kullanılarak belirlendi. Yapılan çalışmalar sonucunda mikrobiyolojik açıdan gıda güvenliğinin sağlanması için mikroorganizmadaki ≥ 5 logkob/g gerekli düşüşün gerçekleşmesi için, 170°C'de pişirilen kasap ve İnegöl köfte ile 180°C'de pişirilen İnegöl köftede merkez sıcaklık 85°C olarak belirlenirken, 180°C'de pişirilen kasap köfte için merkez sıcaklık 80°C olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli* O157:H7, Termal İnaktivasyon, Kasap ve İnegöl Köfte

Sayfa Adedi: 86

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ

THERMAL INACTIVATION of *Escherichia coli* O157:H7 in TRADITIONAL MEATBALLS of DIFFERENT GEOMETRIC SHAPES (KASAP and INEGOL)

(M.Sc. Thesis)

Özge TOSUNCUK

UNIVERSITY OF UŞAK

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of grill cooking process on thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in the production of traditional kasap and Inegol meatball presented to the consumers in commercial restaurants. Kasap and Inegol meatball samples were collected from randomly selected restaurants in Uşak. In the field studies, the center temperatures, grilling temperatures and cooking times of the meatball samples which were cooked on the grill and presented to the consumers were detected. In the laboratory experiments ground meat was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of 7 ± 1 log cfu/g then molded to produce meatballs. The shaped meatballs were cooked on an electric grill at 170°C and 180°C, and sampling was made based on the center temperature of the meatballs. During the cooking process, changes in grill surface and meatball internal temperature were observed using thermocouples. At the end of the cooking process, the number of *E. coli* O157:H7 was determined using selective media. Results of the study showed that for the achievement of the required ≥ 5 log cfu/g decrease in microorganism count in order to provide microbiological food safety, the center temperature should be 85°C for the kasap and Inegol meatballs cooked at 170°C and Inegol meatballs cooked at 180°C. Internal temperature for kasap meatballs cooked at 180°C should be 80°C in order to achieve ≥ 5 log cfu/g inactivation.

Key Words: *Escherichia coli* O157:H7, Thermal Inactivation, Kasap and Inegol Meatball

Page Number: 86

Adviser: Assoc. Prof. Dr. Abdullah DİKİCİ



“Hayatta En Hakiki Mürşit İlimdir.”

Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK

İzinden ayrılmadığım, ışığında yürüdüğüm M.Kemal ATATÜRK'e, saygı ve minnetle...

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca fikren ve manen katkılarıyla bana yol gösterip beni yönlendiren ve yücelten değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ'ye,

Sahip olduğu bilgi birikimini benimle paylaşmaktan çekinmeyen, ilgi ve önerilerini, güleryüzünü ve pozitif yaklaşımını hiçbir zaman eksik etmeyen Dr. S. Betül BOZATLI'ya

Bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana katkı sağlayan ve laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Ar.Gör. Berker NACAĞ'a,

Izgara temini konusundaki yardımlarından dolayı Uşak Üniversitesi İdari ve Mali İşler Daire Başkanı Sayın Süleyman ŞANLI'ya,

Aylar boyunca omuz omuza çalıştığım, birlikte ağlayıp birlikte güldüğüm, en zorlu ve en keyifli zamanlarımı birlikte geçirdiğim ve dostluğumuzun baki kalmasını dilediğim yol arkadaşlarım, Ayşegül KEMAH, Çağdaş KAŞ ve Ahmet TEPE'ye,

Değerlerine paha biçemediğim, her zaman, her şartta destek ellerini üzerimden eksik etmeyen kıymetli aileme, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	3
2.1.1. Klasifikasyonu ve Genel Özellikleri	3
2.1.2. Epidemiyolojisi ve Bulaşma Kaynağı	4
2.1.3. Halk Sağlığı Sorunları	5
2.1.4. Virulens Faktörleri ve Patojenitesi	7
2.1.5. Hastalık Bulguları.....	10
2.1.6. Enfeksiyonun Teşhisi	11
2.1.7. Enfeksiyondan Korunma Yolları.....	13
2.1.8. <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin Gıda İle İlişkisi.....	15
2.1.9. Et ve Et Ürünlerinde <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	15
2.1.10. <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin Termal İnaktivasyonunu Etkileyen Faktörler 18	
3. MATERYAL ve METOD.....	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar	21

3.1.2.	Köfte Örnekleri.....	22
3.1.3.	Elektrikli Izgara	22
3.1.4.	Besiyeri.....	22
3.2.	Metod.....	23
3.2.1.	Saha Çalışması.....	23
3.2.2.	İnoküle Edilecek Kültürün Hazırlanması	24
3.2.3.	Köfte Örneklerinin Hazırlanması	24
3.2.4.	Kasap ve İnegöl Köfte Örneklerine Kültürün İnokülasyonu.....	24
3.2.5.	Kontamine Köfte Örneklerinde Isıl İşlem Uygulamaları	25
3.2.6.	Mikrobiyolojik Analizler.....	27
3.2.6.1.	Sahadan Alınan Köfte Örneklerinde Aerob Mezofil Bakteri ve Koliform Bakteri Sayımı	27
3.2.6.2.	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Sayımı.....	27
3.2.7.	Kimyasal Analizler.....	28
3.2.7.1.	Kıymada Yağ Tayini	28
3.2.7.2.	Köftelerde Tuz Tayini	28
3.2.7.3.	Köftelerde pH Tayini	29
3.2.8.	İstatistiksel Analizler	29
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA.....	30
4.1.	Kimyasal Analiz Sonuçları	30
4.2.	Saha Çalışması.....	31
4.3.	Kasap Köfteye İnoküle Edilen <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin 170°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu	32
4.4.	İnegöl Köfteye İnoküle Edilen <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin 170°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu	36
4.5.	Kasap Köfteye İnoküle Edilen <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin 180°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu	40

4.6. İnegöl Köfteye İnoküle Edilen <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin 180°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu	43
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR.....	58



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 <i>E. coli</i> O157:H7 Verotoksinin Epitelyum Hücrelerinde Oluşturduğu Komplikasyonlar	9
Şekil 3.1. Kullanılan <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Suşları	21
Şekil 3.2. Köfte Pişirme İşlemlerinde Kullanılan Sanayi Tipi Elektrikli Izgara(sol) ve Elektrikli ızgara(sağ)	22
Şekil 3.3 Köfte İşletmelerinde Izgara Yüzey Sıcaklığı(sol) ile Köfte Merkez Sıcaklığının(sağ) Belirlenmesi	23
Şekil 3.4. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 İnoküle Edilmiş Köfteler	25
Şekil 3.5. Isıl İşlem Uygulanan Köfteler	26
Şekil 3.6. İnkübasyon Sonrası Petrilerin Görüntüsü	28
Şekil 4.1.170°C’de Pişirilmiş Kasap Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği.....	34
Şekil 4.2. 170°C’de Pişirilmiş İnegöl Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği.....	37
Şekil 4.3. 180°C’de Pişirilmiş Kasap Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği.....	41
Şekil 4.4. 180°C’de Pişirilmiş İnegöl Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği.....	44

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1. Kimyasal Analiz Sonuçları.....	30
Çizelge 4.2. Uşak'ta Bulunan Köfte İşletmelerinde Belirlenen Izgara Yüzey Sıcaklığı, Pişirme Süresi ve Köfte Merkez Sıcaklığı	31
Çizelge 4.3. Uşak'ta Bulunan Köfte İşletmelerinden Alınan Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Belirlenen Mikroorganizma Sayıları	32
Çizelge 4.4. 170°C'de Pişirilmiş Kasap Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri	33
Çizelge 4.5.170°C'de Pişirilmiş İnegöl Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri	36
Çizelge 4.6. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 İnoküle Edilmiş İnegöl ve Kasap Köftelerinin 170°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmesi Sırasında Artan Merkez Sıcaklıklarına Göre Mikrobiyolojik Değişimleri	39
Çizelge 4.7. 180°C Pişirilmiş Kasap Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri	40
Çizelge 4.8. 180°C Pişirilmiş İnegöl Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri	43
Çizelge 4.9. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 İnoküle Edilmiş İnegöl ve Kasap Köftelerinin 180°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmesi Sırasında Artan Merkez Sıcaklıklarına Göre Mikrobiyolojik Değişimleri	46

SİMGE ve KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

AgNO₃

Gümüş Nitrat

Dk

Dakika

EMS

En Muhtemel Sayı

K₂CrO₄

Potasyum Kromat

Kob

Koloni Oluşturan Birim

mDa

Mega Dalton

N

Normalite

Stx

Shiga Toksin

Kısaltmalar

Açıklama

ANOVA

Analysis of Variance

CDC

Centers for Disease Control and Prevention

CT-SMAC

Cefixime Tellurite Sorbitol McConkey Agar

EHEC

Enterohemorajik *Escherichia coli*

ELISA

Enzyme-Linked ImmonoSorbent Assay

EPEC

Enteropatojenik *Escherichia coli*

HC

Hemolitik Kolitis

HUS

Hemolitik Üremik Sendrom

mEC

Modifiye *Escherichia coli*

MID

Minimal Enfektif Doz

Kısaltmalar

Açıklama

MUG	4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide
PCA	Plate Count Agar
SLT	Shiga Like Toksin
SMAC	Sorbitol McConkey Agar
STEC	Shiga Toksin Üreten <i>Escherichia coli</i>
TÖS	Termal Ölüm Süresi
TSB	Tryptic Soy Broth
TSP	Trisodyum Fosfat
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura
VRB	Violet Red Bile Agar
VT	Verotoksin

1. GİRİŞ

Günümüzde dünya nüfusu hızla artmakta ve buna bağlı olarak çalışan birey sayısı da artış göstermektedir. Artan nüfusla birlikte sağlıklı ve dengeli beslenmenin insan hayatında önemli bir yer kazanması, kırmızı et ve et ürünlerinin tüketimini beraberinde getirmiştir [1]. İnsan gıdası olarak tüketilen et ve et ürünleri; B vitamini, kalsiyum, fosfat, demir gibi mineral maddeleri, aminoasitleri, glikojen, kollajen gibi besin öğelerini içermesi ve kolay üretimi sayesinde lezzetle tüketilmektedir [2].

Çalışan birey sayısındaki artış gıda tüketimini fazlaştırmış ve pratik yemek alışkanlıklarını da beraberinde getirmiştir. Pratik yemekler, yeni ve az işlem görmüş gıdalar, gıda çeşitliliği ve tüketiminin artışı, tüketici tarafından gıdaya uygulanacak olan ısıtma işleminin daha kısıtlı tutulması beklentisi gıda güvenliği konusunu daha da önemli kılmıştır. Gıda güvenliği tanım itibarıyla gıdaların amacına uygun şekilde hazırlanması ve gıda tüketiminin tüketicilere zarar vermemesidir [3].

Et, ülkemizde, kıyma ve parça et halinde tüketilmektedir. Kıyma ve kıymadan yapılan et ürünleri, pratik olması açısından günlük hayatta sıkça tercih edilmektedir [2]. Bununla birlikte, fast food beslenme şekline çok iyi adapte olan ve insanların pratik tüketimde sıkça tercih ettiği et ürünlerinden biri köftedir. Köfte, gerek evde gerek toplu tüketim alanlarında sıkça tercih edilen ve çabuk pişen bir üründür. Ancak farklı pişirme tercihleri (az, orta, çok) mikrobiyolojik açıdan bazı sorunları beraberinde getirmektedir. Gıdada bulunan mikroorganizmanın ısıtma direnci pişirme sırasında uygulanan ısıtma işleminin etkinliğine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Uygulanacak olan fazla pişirme işlemi istenmeyen duyu özellik ve besin değeri kaybına sebep olmaktadır. Bu yüzden pişirmede kullanılacak olan süre-sıcaklık ilişkisi mikrobiyal inaktivasyonun maksimum, organoleptik hasarın minimum seviyeye getirilmesiyle sağlanabilir. Yaygın olarak tercih edilen köftelerin başında İnegöl ve kasap köfte gelir. Bu iki köfte çeşidi farklı iki geometrik şekle sahiptir. Ana maddesi kıyma olan bu ürünlerde gıda kaynaklı hastalık görülme olasılığı oldukça yüksektir. Buradaki önemli nokta ise hedef mikroorganizmanın ısıtma direncinin doğru tespit edilmesidir. Yüksek olarak belirlenen ısıtma direnci, gıdanın kalite kaybı

yaşaması sorununu ortaya çıkaracakken; tespit edilecek düşük ısı direnç sonrası gıdada bulunacak olan mevcut patojenler ise gıda güvenliği riskini meydana getirecektir [4]. Gıdanın duyuşal özelliklerini (renk, aroma, lezzet, tekstür) ve mikrobiyal yükünü etkileyen, gıda güvenliğini sağlayan ısış işlem, pişirme esnasında uygulanan süre ve sıcaklığa bağlıdır [5]. Her gıdanın pişme süresi farklıdır. Köftenin de pişme sürelerinde değişiklikler gözlenir. Bu değişiklikler ısış işlemlerin yetersiz olması sonucunda farklı hastalıklara neden olmaktadır. Gıda kaynaklı birçok hastalığın sebebi uygulanan ısış işlemin yetersiz süre ve sıcaklıkta olmasıdır [6]. Bu sorunu ortadan kaldıracabilecek en önemli kriter, üretilen her gıdada bulunabilecek sayıdaki patojen mikroorganizmanın inaktif hale getirileceği ısış işlem süresinin (Termal Ölüm Süresi-TÖS) belirlenmesi olacaktır [7].

TÖS'ün belli bir oranı olan, inaktivasyon ile ilgili TÖS ve z değerlerinin belirlenmesinde kullanılan D değeri, daha kullanışlı bir parametredir [8]. Isış işlemin etkinlik parametreleri mikroorganizma türüne hatta suşuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Laboratuvar çalışmalarında belirlenen, suşa bağlı D ve z değerleri, ısış inaktivasyon etkinliğini ifade etmektedir. *Escherichia coli* O157:H7'nin ısıya karşı direnci diğer *E.coli* suşlarına göre farklılık göstermektedir. Belirtilen D değeri 57-64°C'de 270-9,6 saniye arasında değişebilmektedir [9].

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention-CDC) ette bulunabilecek zararlı mikroorganizmaları öldürmek için sığır eti biftek ve kızartmalarının, merkez sıcaklığı 62,6°C (145°F), kıymanın ise 70°C (160°F) olacak şekilde pişirilmesi ve eti ızgaradan/ocaktan aldıktan sonra 3 dakika dinlenmeye bırakılması gerektiğini bildirmiştir [10]. Pişirme işleminde ette gerçekleşen renk değişiminin güvenilirliğin bir göstergesi olmadığı ve termometre kullanılması gerektiği yine CDC tarafından önerilmiştir [11].

Türkiye'de İnegöl ve kasap köftelerin elektrikli ızgarada pişirilmesi sonucu patojen inaktivasyonunun sağlanması hakkında yapılan bilimsel çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu çalışma ile İnegöl ve kasap köftelerin gıda güvenliği açısından risk taşıması için gerekli ızgara yüzey sıcaklığı ve köfte merkez sıcaklığı parametrelerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1. *Escherichia coli* O157:H7

2.1.1. Klasifikasyonu ve Genel Özellikleri

Escherichia coli, 1885 yılında Alman Dr. Theodor Escherich tarafından yeni doğan bebeklerin dışkılarından izole edilmiştir. İlk olarak *Bacterium coli commune* olarak adlandırılan bakteri daha sonraları *Escherichia coli* ismiyle tanımlanmıştır.

E.coli tiplerinin içerisinde en önemlilerinden biri olan Enterohemorajik *E.coli* (EHEC), gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu olan O157:H7 serotipini içinde barındırır. *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *E.coli* O157:H7, fakültatif anaerob, gram negatif, kısa çubuk şeklinde, sporsuz, oksidaz negatif, katalaz pozitif ve peritrik flagellaları ile hareketlidir. Somatik (O), kapsüler (K veya V), flagella (H) antijenlerine göre serolojik olarak tiplendirme yapılır [12]. *E.coli* O157:H7 adını, kendine ilişkin 157 adet somatik (O) antijeninden ve 7 adet flagellar (H) antijeninden almıştır [13].

E.coli O157:H7 30-42°C arasında, optimum olarak 35°C'de gelişme gösterir. 44-45°C'lerde yavaş gelişirken, minimum üreme sıcaklığı 6°C'dir. Isıya duyarlı *E.coli* O157:H7 -20°C'de donmuş olarak muhafaza edilen kıymalarda canlılığını korur [12]. Düşük su aktivitesinde de uzun süre canlılığını koruyabilmesine karşın minimum a_w 0,95 iken optimum a_w değeri 0,99'dur [14, 15]. pH 5,7-7,5 arasında en iyi üremeyi gösteren bu bakteri, pH 3,6'da buzdolabı sıcaklığında canlılığını korur ve pH'ı 4 olan sıvı kültürlerde üreyebilmektedir. Asidik koşullara dirençli olması *E.coli* O157:H7'yi diğer patojenlerden ayıran önemli özelliklerden birisidir. Bakteri trisodyum fosfata ve organik asitlere dirençlidir [12, 15]. Enfektif dozunun düşük olmasına sebep olarak aside karşı direnç kazanma özelliği gösterilmektedir [14]. Bazı organik asitlerin *E.coli* O157:H7 üzerindeki baskılayıcı etkileri asetik> laktik> sitrik asit şeklindedir. Trisodyum fosfat (TSP)'a karşı direnç göstermelerine rağmen, kontamine gıdalar 1,5-3,0 kGy dozundaki gama ışınları ile inaktive edilebilmektedir. Artan gama ışını dozuyla beraber ölüm oranının da arttığı belirtilmektedir [16]. Yine, bakteri, antibiyotiklere karşı duyarlı olmakla birlikte, çoklu

direnç (tetrasiklin, streptomisin, sulfoksazol, nalidiksik asit) gösteren suşları da mevcuttur. Bunun yanı sıra *E.coli* O157:H7, %8,5'lik tuz konsantrasyonu ile baskılanmaktadır [15].

Diğer *E.coli* türlerinden farklı olarak, *E.coli* O157:H7, sorbitolü 48 saat içerisinde fermente edememesinden dolayı sorbitol negatiftir, β -glukoronidaz enzimi içermediği için MUG'lu (4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide) besi yerlerinde floresan vermez. O157:H7 serotipi tarafından oluşturulan enterohemolizin bir patojenite faktörüdür. Bir diğer virülens faktörü ise, eae geninine sahip olmasıdır. 60 mDa plazmid taşıması, 44,5°C ve üzerinde üreme gösterememesi de *E.coli* O157:H7'yi öteki *E.coli*'lerden ayıran özellikler arasındadır [17, 18, 19, 15].

2.1.2. Epidemiyolojisi ve Bulaşma Kaynağı

E.coli O157:H7'nin en önemli kaynaklarından birisi, hiçbir belirti göstermeden hastalık etkeni taşıyan ve dışkılarıyla çevreye bulaştıran sığırlardır [12]. Bunun yanı sıra keçi, koyun, kuzu, martı, geyik, domuz, kedi, köpek gibi sıcakkanlı hayvanlarda diğer kaynaklar arasında gösterilmektedir [14, 20, 21]. *E.coli* O157:H7, farklı ülkelerde yapılan taramalarda, süt sığırlarının %3,2'sinde, besi sığırlarının %1,6'sında tespit edilmiştir [15]. Hastalığın yayılması, gıdaların (sebze, süt vb.) ve suların etkeni taşıyan hayvanların dışkısı ile kontamine olmasıyla ilişkilendirilmiştir [22]. Dışkıdaki yaygınlığı %0-10 oranında değişmektedir. Daha fazla, genç hayvanlarda olduğu, sığır dışkısında ise 5°C'de 70 güne kadar canlılığını koruyabildiği ve bununla beraber verotoksin üretme kabiliyetini kaybetmediği belirtilmiştir [20, 23]. Yine genç sığırlar yaşlı sığırlara göre daha fazla taşıyıcı oldukları için 10^2 - 10^5 kob/g düzeyindeki etkenin dışkılarında bulunduğu tespit edilmiştir [15].

E. coli O157:H7'nin prevalansı; mevsim, hayvanın türü, coğrafi bölge, cinsiyeti, yaşı, beslenme şekli gibi faktörler tarafından etkilenmektedir [24]. Etkenin sığırlardaki insidensi yaz aylarında daha yüksektir. Yapılan uzun süreli çalışmalarda, çiftlik ve sürüler dikkate alındığında, etken, su ve yemlerden izole edilmiştir [15]. Kontaminasyon oranına bakıldığında, sığırların koyunlara göre, mısır silajıyla beslenen hayvanların beslenmeyenlere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir [24].

Dondurma ve soğutmaya, asidik ortamlara karşı dayanıklı olan ve göçmen kuşların sindirim florasında yaşayabilen *E.coli* O157:H7 serotipi, uzun süre dış ortamda ve toprakta canlı kalabildiği gibi, süt sığırları başta olmak üzere, memeli ve kanatlı hayvanların dışkılarıyla ete, süte, suya ve toprağa bulaşmasıyla tüm çevreye yayılmaktadır [25, 26, 27, 28].

Epidemiyolojik olarak bulaşma, hayvanlarla direkt temas ile, indirekt şekilde atıklar ve dışkı ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle, içme suları ve yüzme havuzu olarak kullanılan suların alınmasıyla, gıdaların yetersiz pişirilmesi ya da çiğ tüketilmesiyle ve bu gıdaların hazırlanması esnasında temasta bulunan alet ekipman veya eller aracılığıyla meydana gelebilen çapraz bulaşmalar ile ve en önemlisi insandan insana temas (oral-fekal yol ile) yoluyla geçebildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte enfekte olan asemptomatik taşıyıcı insanlar da patojenin geçişinde rol almaktadırlar [21, 29, 30, 22] . Özellikle 10 yaş altı çocuklarda tehlike arz eden *E. coli* O157:H7, anaokulu, bakım evi, hapishane, ruh sağlığı kurumu gibi kalabalık ve kişisel hijyenin yetersiz olduğu yerlerde de hızla yayılım gösterebilmektedir [31].

2.1.3.Halk Sağlığı Sorunları

Amerika Birleşik Devletleri'nden her yıl yaklaşık olarak 265.000 shiga toksin üreten *E. coli* enfeksiyonu meydana gelmektedir. Bu enfeksiyonların %36'sını *E. coli* O157 oluşturmaktadır. Normalde insanlar ve hayvanların bağırsaklarında yaşayan *E. coli* bakterisinin çoğu zararsızdır ve sağlıklı insan bağırsak sisteminin önemli bir parçasıdır. Fakat bazı *E. coli* türleri patojeniktir. Hastalıklara, ishale ya da bağırsak sistemi dışındaki hastalıklara sebep olabilirler. İshale sebep olabilen *E. coli* türleri, kirli su ve yiyecek yoluyla veya kontamine hayvanlarla ya da insanlarla temas esnasında da bulaşabilmektedir [32]. Bundan dolayı, yetersiz ısı işlem görmüş gıdaların (et ve et ürünleri), kontamine olmuş kanal sularıyla sulanan ve sığır dışkısıyla enfekte olmuş çeşitli sebzelerin aracılığıyla gerçekleşmiş olan başlıca salgınlar rapor edilmiştir.

2009 yılının Ekim ile Aralık ayları arasında değişen, ulusal biftek ve kümes hayvanlarından sığır eti ile ilişkili *E. coli* O157:H7 salgınına yakalanan 21 kişiden 9'unun hastaneye kaldırıldığı, 1 kişinin HUS'a yakalandığı ve ölümün gözlenmediği bildirilmiştir. Salgın ile ilgili gıdalar üretici şirket tarafından geri çağırılmıştır [33].

Hastalığın ilk olarak Eylül 2009'da başladığı ve kıyma kaynaklı *E. coli* O157:H7 salgınına yakalanan 26 kişiden 19'unun hastaneye yatırıldığı, 5'inin HUS'a yakalandığı ve 2 kişinin öldüğü bildirilmiştir. Üretici firma olan Fairbank Farms, salgına sebep olan kıymaları piyasadan geri çekmiştir [34].

2014 yılında Wolverine ambalaj şirketi tarafından üretilen kirli kıymaların, STEC O157:H7 enfeksiyonunun kaynağı olduğu bildirilmiştir. Enfekte olan 12 kişiden 4'ü hastanede yattı ve hiçbir hastada HUS gelişmedi ve ölüm gözlemlenmemiştir. Kontamine kıymalar üretim şirketi tarafından geri çağırılmıştır [35].

2016 yılında ABD'de Adams Farm Slaughterhouse tarafından üretilen sığır eti ürünlerinin STEC O157:H7 suşu ile kontamine olduğu ve bu ürünleri tüketen 11 kişiden 7'sinin hastaneye kaldırıldığı raporlanmıştır. Kontamine ürünler firma tarafından geri çağırılmıştır [36].

26 Haziran 2017'de STEC O157:H7 ile enfekte olmuş iki çocuğun HUS'a yakalandıkları ve birkaç gün sonra öldükleri bildirilmiştir. Yapılan incelemeler ve araştırmalar sonucunda çocukların evlerinin yakınında bulunan boğa ve at gübresi salgın ile ilişkilendirilmiştir. Bu araştırma sonucunda ise, atların, ruminantlardan farklı olarak STEC O157:H7 için rezervuar kabul edilemeyeceği, boğanın yakınında bulunan atların enfekte olmasıyla çocuklara bulaştığı belirtilmiştir [37].

2017 yılının Kasım ayında ABD'da yeşil yapraklı sebzelerin tüketilmesiyle birlikte *E. coli* O157:H7 salgınına yakalanan 25 kişi rapor edilmiştir. HUS gözlenen iki kişi de dahil olmak üzere 9 kişi hastaneye kaldırılmıştır. Kaliforniya'dan 1 ölüm bildirilmiştir [38].

7 Ekim 2018- 4 Aralık 2018 tarihleri arasında başlayan ve 9 Ocak 2019 itibarıyla 16 eyaletten 62 kişinin *E. coli* O157:H7 salgınına yakalandığı bildirilmiştir. Kaliforniya'nın kıyı bölgelerinde yetişen marullar salgının kaynağı olarak gösterilmektedir. Hastalardan 25'i hastaneye kaldırılmıştır ve iki kişide hemolitik üremik sendrom (HUS) gözlemlenmiştir. Salgında ölüm bildirilmemiştir [39].

Türkiye'de 25 Mayıs 2015 tarihinde Aksaray, Nevşehir ve Niğde illerinde toplam 60 okulda öğle yemeği dağıtan bir firmanın, yemekleri paketlenme sonrası soğumasını engelleyen kaplar içerisinde taşıyıp 35-40°C sıcaklıkta bekletilen yemekleri tüketen

kişilerin salgına yakalandığı bildirilmiştir. Yemek menüsünde, kıymalı bezelye, salçalı makarna ve ayran olduğu bilgisi verilmiştir. Makarna ve kıymalı bezelye yemeklerinde 7×10^6 kob/g *Bacillus cereus*, ayran da ise 23 EMS/g *E.coli* tespit edilmiştir. Yaşanan bu salgın salçalı makarnanın *Stafilococcus aureus* ve *Bacillus cereus* ile kontamine olmasından kaynaklı olsa da, *E. coli* ile kontamine olan ayranı tüketen kişilerden 178'inin hasta olduğu bildirilmiştir [40].

01 Ocak- 31 Aralık 2012 tarihleri arasında, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Merkez Tüketici Ürünleri Mikrobiyolojik Araştırma Laboratuvarlarına farklı illerden gelen 666 adet hazır yemek ürünü mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmek üzere analize alınmıştır. Bu örneklerin 587 adeti kontrol amaçlı olup 79 tanesinin zehirlenme ve şikayet üzerine incelenmesi yapılmıştır. Yapılan inceleme sonucunda 666 adet örneğin hiçbirinde *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157 tespit edilmemiştir. Ancak şikayet ve zehirlenme üzerine alınan lahmacun örneğinde *E. coli* tespit edilmiştir [41].

Türkiye'de gerekli çalışmalar yapılmadığından dolayı, veri tabanları oluşturulmadığı için hastalıkların ve can kayıplarının hangi düzeyde gerçekleştiği konusunda yeterli bilgilere ulaşamamaktayız [42].

2.1.4. Virulens Faktörleri ve Patojenitesi

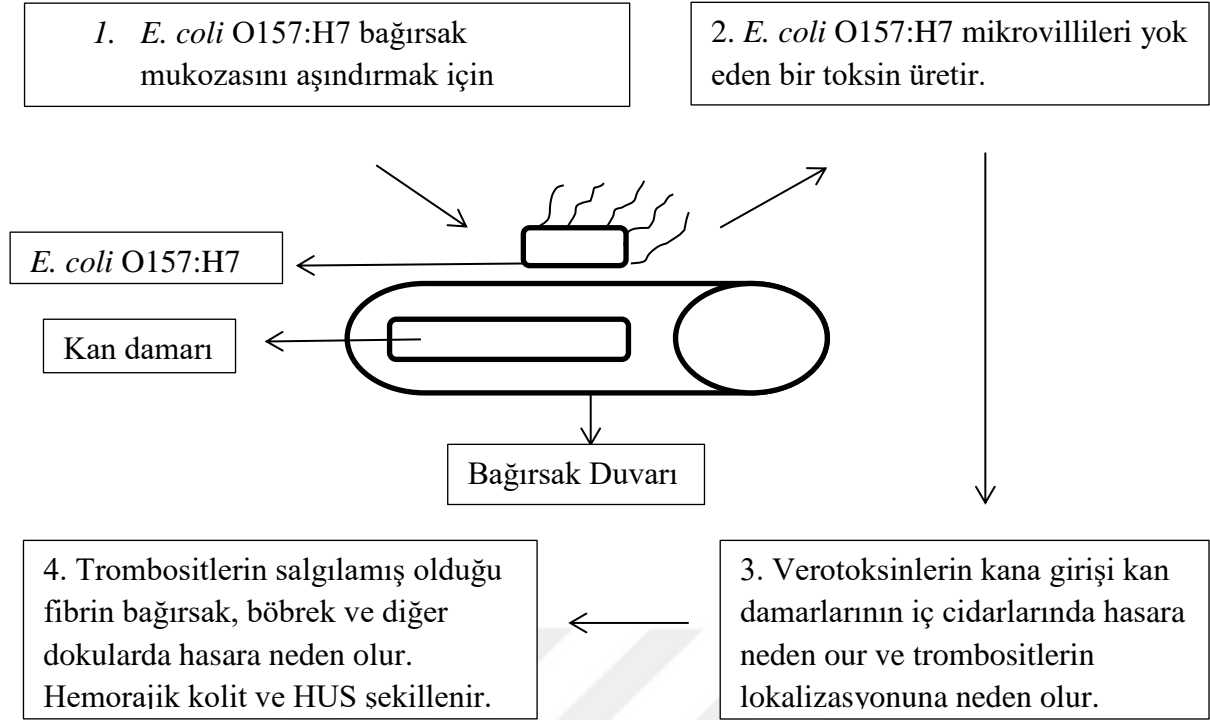
Asıl virülens faktörü olan stx'i patojenitede *E. coli* O157:H7 oluşturmaktadır. Bu sitotoksin enfekte olmuş insanlarda ölüm ve diğer bazı semptomlara neden olmaktadır. Toksinin birincil hedefi vasküler endotelyal hücrelerdir. Glikolipid olan globotriosyl ceramide (Gb3) toksinlerin reseptörüdür. Gb3 böbrek epitel hücrelerinde bulunmaktadır. Diğer virülens faktörleri hücre membranındaki aderez (eae genin tarafından kodlanan intimin) ve enterohemolizindir. *E. coli* O157:H7'nin içerdiği özel demir taşıma sistemi ile bakteri hemoglobini veya hem demir kaynağı olarak kullanabilmektedir [15, 43].

Shiga toksin, intimin, adhesin, hemolizin, tip III sekresyon sistemi ve O157 lipopolisakaritleri *E. coli* O157:H7 virülensinin bağlı olduğu çeşitli faktörler olarak bilinmektedir [19].

E. coli O157:H7'nin önemli virülens faktörleri teşhis edilmiştir. Bilinmekte olan klinik izolatlarının 1 ya da 2 verotoksin ürettikleri ve bu verotoksinlerin doku kültürlerinde geliştirilen HeLa ve Vero hücrelerine karşı sitotoksik oldukları belirlenmiştir. Shiga toksinin (Stxs) incelenen yapısına göre toksinler Verotoksin-1 (VT-1) ve Verotoksin-2 (VT-2) şeklinde isimlendirilmiştir. Bu verotoksinler, yapısal olarak ve immünolojik olarak *Salmonella dysenteriae*'nin oluşturduğu shiga toksinlere benzediği için Shiga-like toksinler (SLT-I = VT-1; SLT-II = VT-2) olarak da isimlendirilmektedir. SLT-I'in nükleotid dizilişi ise shiga toksine benzemektedir [44, 45, 46].

İmmünolojik olarak VT-1'e benzeyen toksinler, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio cholerae* gibi bakteriler tarafından da üretilmektedir. Bu verotoksinlerin shiga toksine benzerliği ELISA, immundifüzyon gibi yöntemler kullanılarak tespit edilse de *E. coli* verotoksinleri shiga toksinlerden, izoelektrik noktası ve molekül ağırlığı gibi özellikleriyle ayrılmaktadır [47, 48].

İntimin intestinal kanala tutunmayı kolaylaştırırken, shiga toksinler hemolitik üremik sendrom ve hemorajik kolit enfeksiyonlarının patogeneğinde rol alırlar [49]. Sadece Stx üreten bakteriler tarafından, hemolitik üremik sendrom meydana gelmektedir. EHEC serotiplerine benzeyen EPEC serotipletri, Stxs içermediğinden dolayı HUS'a sebep olmamaktadır [19]. Böbrek endotelial hücrelerine karşı toksik özellik gösteren Stx 2'nin, HUS'lu hastalardan izole edilmesiyle bu görüş desteklenmektedir [19]. Stxs, Stx 1 ve Stx 2 olmak üzere iki gruba ayrılır. Stx 2 'nin aminoasit dizilimi, Stx 1 ile %60 oranında benzer yapı gösterir [30, 19]. Stxs 1A ve 5B polipeptidlerinden oluşmaktadır [19]. *E. coli* O157:H'nin epitelyum hücrelerinde meydana getirdiği komplikasyonlar Şekil 2.1'de gösterilmiştir [50].



Şekil 2.1 *E. coli* O157:H7 Verotoksinin Epitelyum Hücrelerinde Oluşturduğu Komplikasyonlar [48]

Memeliler üzerinde, verotoksinlerin moleküler düzeydeki etki mekanizması tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, hücrelerin glikolipid reseptörlerine bağlanarak içeri giren, toksinin B alt birimi, enzimatik olarak A alt biriminin A₁ fragmentine indirgenir. İndirgenen bu fragment 60S ribozomlarına bağlanır ve protein sentezini inhibe ederek hücrenin ölümüne sebep olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.1). *E. coli* O157:H7 serotipinin taşıdığı 60 mDa'luk plazmid patojenitede önemli yer almaktadır [51].

E. coli O157:H7'nin gıdalarda verotoksin meydana getirip getirmediği bilinmemekle birlikte gıdalarda, önceden oluşan verotoksinin sindirilmesi ile insanlarda hastalık oluşturup oluşturmadığı da bilinmemektedir. Isıya dayanıklı olan VT-1 toksininin yetersiz şekilde ısıtılan gıdada aktif halde kalabileceği belirtilmiştir. 70°C'de 60 dakika ısıtılma uygulanan VT-1'in yüksek ölçüde stabil kaldığı, 80°C'de 15 dakikada %90 ve 80°C'de 30 dakikada %99 azaldığı ve 80°C'de 60 dakika veya 85°C'de 5 dakikalık ısıtılma uygulamasının başlangıç aktivitesi 1000-2000 Vero CD₅₀ olan verotoksinin tamamının inaktif hale geldiği belirlenmiştir. Isıl işleme karşı olan toleransı ve pH 4,5'da 16 saatte aktivitesi %90 düşen toksinin pH'ı gıda endüstrisinde önem taşımaktadır [51].

2.1.5.Hastalık Bulguları

Halk sağlığı açısından önemli bir patojen olarak bilinen *E. coli* O157:H7 minimal enfektif dozu (MID) 10-100 kob gibi düşük değerlerdedir ve hastalığın gelişip şekillenebilmesi için en az 10 adet etkenin alınmış olması yeterli olabilmektedir [52, 53, 54]. Enfeksiyonlardan sorumlu tutulan bazı gıdalarda saptanan etken sayısı ise 10-200 kob/g şeklinde bildirilmiştir [15].

Semptomlar, karın ağrısı ve şiddetli diare ile başlar ve sonrasında kanlı diareye dönüşür. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları; etken alındıktan sonra takip eden 2-4 günde krampla birlikte mide bulantısı, karın ağrısı, kusma, kanlı diare, gastroenteritis gibi semptomlara sebep olurken bazen ise orta şiddetli diareyle seyrederek veya hiçbir belirti göstermeyebilir. Çocuklarda ve yaşlılarda daha şiddetli görülen *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları, menenjit, septisemi ve idrar yolu enfeksiyonları gibi hastalıklara da neden olabilmektedir. Bir diğer önemli klinik bulgular arasında ise trombositopeni, hemolitik anemi ve akut nefropati yer almaktadır [48, 43, 19].

İnsanların farklı organ sistemlerinde önemli ve ölümlle sonuçlanabilen tablolar meydana getiren *E. coli* O157:H7'nin sebep olduğu hastalıklar, hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) dır [25, 55, 56, 15] .

İnvaziv bakteriler tarafından oluşturulan sitotoksin, EHEC için tipik bir belirti olan hemorajik kolitisin meydana gelmesine neden olur ve *E.coli* O157:H7 infeksiyöz enteral hastalık tablosu oluşturur. Özellikle yaşlı ve immun sistemi zayıf insanlar, 6 yaşına kadar olan küçük çocuklar bağırsak enfeksiyonlarına daha duyarlıdır. Bu yüzden bu gruba ‘risk grubu’ denilmektedir [15].

Hemorajik kolitte (HC) semptomlar kramplı karın ağrısı şeklinde aniden başlayabilir ya da kontamine olmuş gıdaların tüketiminden sonra takip eden 1-2 gün (en fazla 3-4 gün) içerisinde şekillenme gösterebilir. Hafif ve kanlı olmayan diare şiddetli karın ağrısı ile birlikte kısa süreli ateş şeklinde takip edebilir. Genellikle 2-9 gün süren hastalıkta çok düşük ateşin olması ya da şiddetli ateşin olmaması tipik bir özellik sayılır. 24-48 saat içerisinde diarenin şiddeti artarak 4-10 günlük aşamada dehidrasyon, kolite benzer şiddetli karın ağrısı, sulu diare ve 1-3 gün içinde günde 20 seferden fazla olmak üzere ağrılı ve kanlı diare gözlenir [15, 52]. şiddetli meydana gelen bu karın ağrısından sonra kanlı dışkı

görülmesi ve ateş olmaması ile shigellozisten ayrılmaktadır [58]. Görülen bazı komplikasyonlar hemorajik kolit hastalarında hayatı tehlikeye sokmaktadır. Bu komplikasyonlar, hemorajik kolitte 6-10 gün içerisinde iyileşme görülmeyen enfeksiyon ekstraintestinal komplikasyonlardan olan hemolitik üremik sendrom (HUS) başta olmak üzere oligo-anuri, mikroangiopatik hemolitik anemi, trombositopeni, akut renal yetmezlik ve ödemdir [15, 52].

Hemolitik üremik sendrom (HUS), ilk olarak 1955 yılında trombositopeni, mikroangiopatik hemolitik anemi ve akut böbrek yetmezliğinden oluşan üçlü klinik bulgularla tanımlanmıştır [15, 43, 19]. Gastrointestinal semptomlarının ortaya çıkmasını takip eden süreçten yaklaşık bir hafta sonra HUS semptomları görülmektedir. 10 yaşından küçük çocuklarda sıklıkla görülen hemolitik üremik sendromda hastalar genellikle diyalize ihtiyaç duymaktadır. %3-5 oranında ise mortalite görülmektedir [52]. Enfeksiyonun tüm şiddetiyle oluştuğu dönemlerinde %8-10 oranında gastrointestinal bozukluklar (şiddetli kolitis, rektal prolaps) veya pankreatik yetersizlik, çoğu hastada %20 oranında nörolojik semptomlar (baş ağrısı, uyuşukluk, kasılma, koma, felç, nöbet), %30-50 oranında hipertansiyon gözlenmektedir. Şiddetli seyreden HUS olgularında sinir sistemi etkilendiğinden dolayı koma ve ölümler görülmektedir [43, 59].

Ayrıca, *E. coli* O157:H7, trombotik trombositopenik purpuraya (TTP)'ye neden olmaktadır. TTP, HUS'a benzemekle beraber, TTP'da ateş ve beyinde hasara neden olan semptomlar da görülür. HUS'un aksine özellikle yetişkinlerde gözlenir. Bu hastalığın önemli belirtileri ise, böbrek yetmezliği, trombositopeni, hemoliz, dalgalı ateş ve nörolojik bozukluklardır. TTP'yi HUS'tan ayıran özellik, ilk belirtinin diare olmaması ve merkezi sinir sistemine etki etmesidir. Hastalarda çoğunlukla beyinde kan pıhtısı oluşmakta ve hastalık ölümle sonuçlanmaktadır [15, 60, 19].

2.1.6. Enfeksiyonun Teşhisi

Gıdalarda bulunmaması gereken *E. coli* O157:H7, var/yok testi ile belirlenmektedir. Bu amaçla yapılan doğrulama yöntemleri; selektif katı besiyerine sürme, selektif zenginleştirme, biyokimyasal identifikasyon ve serolojik yöntemlerdir. *E. coli* O157:H7'nin sorbitolü kullanamaması ve MUG reaksiyonunun negatif olması, bu serotipin standart kültürel yöntemlerle belirlenmesinde baz alınır. Temel olan bu iki reaksiyon ile

katı besiyerinde gelişen koloniler arasından *E. coli* O157:H7 serotipleri seçilebilir. Gıda maddesinde bulunabilecek olan diğer bakterilerin *E. coli* O157:H7'yi maskeleyip sahte negatif sonuçlar vermemesi için çok daha duyarlı olan serolojik, moleküler ve enzimatik yöntemler kullanılmaktadır [61, 58].

E. coli O157:H7 suşlarından HC ve HUS ile ilişkili olanları sorbitolu fermente edebileceğinden dolayı negatif sonuçlar verebilir. Bundan dolayı her sorbitol negatif *E. coli* suşu O157:H7 serotipi olarak değerlendirilmemelidir ve MUG testi ile izolatan *E. coli* tip 1 olup olmadığının kontrolü sağlanmalıdır. *Enterobacter* 'lerde meydana gelen sorbitol reaksiyonu türlere göre değişmekle birlikte florada yaygın bulunan bakterilerden olan *E. coli* tip 1, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp.* sorbitol pozitif iken, *Hafnia alvei* sorbitol negatiftir. Bazı enterik bakteriler ve *Escherichia hermannii*, biyokimyasal açıdan tipik *E. coli* O157 sonuçlarını verirler. Sahte pozitif sonuçlardan sakınılması için biyokimyasal identifikasyonda dikkatli olunması ve serolojik yöntemlerle doğrulama yapılması gerektiği savunulmaktadır [62, 63, 64,58].

Lateks Aglutinasyon testi, *E.coli* O157:H7 suşlarının serolojik özelliklerini belirlerken sıklıkla kullanılan bir testtir. Bu doğrulama testi yüksek duyarlılığa sahip olup, *E. coli* O157:H7 suşlarının hızlı identifikasyonunu sağlar. İki adet latex solüsyonu içeren kitte, test solüsyonu *E. coli* O157:H7 antijenine özel tavşan antikorları ile kaplanmış lateks partiküllerinden oluşur iken, diğeri pre-immun halde tavşan globinleri içeren kontrol solüsyonu bulunur. İzolasyon esnasında elde edilen sorbitol negatif koloniler lateks testine tabi tutularak bir dakika içinde etken belirlenebilmektedir [58].

mEC Broth+Novobiosin, beyaz ve kırmızı et ürünlerinde *E. coli* O157:H7 aranmasında kullanılan zenginleştirme besi yeridir. Bu yöntemle, zenginleştirme kültüründen Fluorocult HC Agar, Fluorocult *E. coli* O157:H7 Agar, SMAC Agar veya CT-SMAC Agar besi yerlerinden herhangi birine sürme işlemi uygulanıp 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılarak tanımlanmış olan *E.coli* O157:H7'nin doğrulanması yapılır. İnkübasyondan sonra 1-5 adet renksiz ve şüpheli koloni alınıp 0,2 ml saf su içerisinde çözündürülerek identifikasyon cihazı ile kontrolü yapılarak doğrulanmaktadır [65, 66].

Etlerde *E. coli* O157 varlığını göstermek için hızlı ve güvenilir testlerden birisi ise, Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemidir. Fakat enfekte olan hastaların

belirlenmesinde nötralizasyon testleri ve ELISA uygulamaları duyarlı değildir. Bununla birlikte ELISA teknikleri *E. coli* O157 lipopolisakarit antikoru için spesifik ve duyarlı olarak bulunmuş, *E. coli* O157:H7 ile enfekte olan kişilerin belirlenmesinde ise antitoksik antikordardan daha faydalı olacağı yorumlanmıştır. Selektif zenginleştirme kültürünün ‘sandwich’ ELISA *E. coli* O157 antijeni için spesifik bir poliklonal antikor ile uygulanmasıdır. Et ve tavuk ürünlerinden *E. coli* O157:H7 izolasyonunda O157 antijeni için ‘reactive disc blot’ ELISA sisteminin kullanıldığı tarama yöntemi tasarlanmıştır [67, 66, 58].

Gıda maddelerinde ve diğer örneklerde mikroorganizma aranmasında kullanılan yüksek spesifikliğe sahip, hızlı ve uygulaması kolay bir diğer teknik ise, İmmünomanyetik ayırım (immunomagnetic separation) dır. Bu tekniğin çalışma prensibi spesifik immünokimyasal ajanlar (poliklonal, monoklonal ve rekombinant antikoru) ile kaplanmış olan manyetize boncuklar kullanarak istenen mikroorganizmanın aranması esasına dayanmaktadır [67, 68].

Teknolojinin gelişmesiyle *E. coli* O157:H7'nin teşhisi sağlanırken DNA esaslı testler ve immunenzimatik yöntemler gibi çeşitli analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bakterilerin belirlenmesinin daha kolay ve kısa sürede gerçekleşmesini sağlayan bazı serolojik testler ise şunlardır; Radioimmunoassay (RIA), immunoassay, enzim immunoassay (EIA), fluorescent immunoassay (FIA) ve immün peroksidaz. Ayrıca henüz gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılmayan, DNA probu kullanılarak uygulanan testler ve *E. coli* suşlarına ait spesifik yapısal veya toksin proteinlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılarak elektroforez işlemi ile tespit edilmesi esasına dayanan yöntemler de bulunmaktadır [69, 68, 70].

2.1.7. Enfeksiyondan Korunma Yolları

Escherichia coli insanların ve hayvanların bağırsaklarında yaşar ve gıda hijyeninde indikatör mikroorganizma olarak kabul edilir. Gıdalarda bulunması durumunda fekal bulaşmanın varlığını belirtir. *E.coli* O157:H7 serotipinin gıdadaki varlığı mevcut gıdanın hijyenik kalitesini gösterir ve ölümcül olabileceğinin belirtisidir. Bakterinin doğal bulunma ortamı sıcak kanlı hayvanların bağırsakları olduğundan dolayı tüm et ve et ürünleri bakterinin bulaşmasında önemli yer almaktadır [71].

Başta sığırın yer aldığı ruminantların intestinal sisteminin enfeksiyonun kaynağı olması, öncelikle korunmak için çiftlikten tüketiciye kadar olan tüm basamaklarda gerekli olan hijyenik tedbirlerin alınmasını zorunlu hale getirmektedir. Gıda işletmelerinde çalışan personeller kontaminasyonun azaltılması amacıyla bilinçlendirilmeli ve tesislerde gerekli ve yeterli hijyen koşulları sağlanmalı, personellerin gıdayla doğrudan teması engellenmeli ve bunun için uygun iş kıyafetleri giyilmeli, ağız ve saçlar kapatılmalı, el ve tırnak temizliğine özen gösterilmelidir. Kesimden önce hayvanlar iyice temizlenmeli, kasaplar kesim esnasında karkasa fekal bulaşma ve çapraz kontaminasyonu önleyecek iyi kesim tekniklerini uygulamalıdır. Özellikle, iç organların çıkarılması (eviserasyon) ve derinin yüzülmesi aşamasında karkasın kontamine olmaması sağlanmaya çalışılmalıdır. Karkasların taşınması esnasında kullanılacak olan araçların ısı muhafazalarına dikkat edilmelidir ve araçların düzenli şekilde dezenfeksiyonu sağlanmalıdır [21, 72]. Ayrıca koruyucu bir önlem olarak, etin kesim sonrasında hızla 7°C'nin altına soğutulması gerekmektedir [73].

E. coli O157:H7'nin eliminasyonu için et ve et ürünlerinde 68,3°C'de 15 saniye pişirme işlemi uygulanması gerekmektedir. Kürlenmiş et ürünlerinde, fermantasyon, kurutma ve depolama aşamaları boyunca etkenin canlı kalmasından kaynaklı olarak ısıl işlem görmemiş geleneksel ürünlerin üretimi ve tüketiminden kaçınılmalıdır [74, 19].

Sığır etinin *E. coli* O157:H7 kontaminasyonunun en düşük düzeye indirilebilmesi için, tedarik zincirinin her aşamasında, Good Manufacture Practice (GMP), Good Agricultural Practise (GAP) ve Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) kontrolünde takibi sağlanması gerekmektedir [54].

Isıya duyarlı olan *E. coli* O157:H7 etkeninin gıda maddelerinde ölmesi için tavsiye edilen ısıda pişirilmesi ile inaktivasyonunun sağlanması gereklidir. Bundan dolayı et ve et ürünlerinde uygulanacak olan ısıl işlem ürünün her yerinde 70°C'nin üzerinde olması sağlanarak inaktivasyon işlemi gerçekleştirilebilir [75, 76, 77, 64].

Yapılan in vitro çalışmalar, yumurta sarısı antikorlarının *E. coli* O157:H7 gelişimini engelleyici özelliği olduğunu göstermiştir [78].

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Gıda Güvenlik ve Denetim Servisi *E. coli* O157:H7'nin sığır eti yüzeyinde ışınlama işlemi ile inaktive edilebileceğini belirtmiştir. Bu ışınlama

sonrasında sığır etinin tadında ve besin değerlerinde bir değişiklik olmadığı da bildirilmiştir [79, 80]. Ayrıca *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu için denenmiş çeşitli kimyasallardan birisi klordur ve sular için etki gösterebilmektedir, hidrojen peroksit ise yağlı ve yağsız sığır etleri için etkili olabilmektedir [81, 79, 80].

Çiğ ya da yetersiz şekilde pişirilmiş olan gıdaların hazırlanması esnasında temas halinde bulunulan araçlar ve eller aracılığıyla oluşabilecek *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının bulaşması engellenmelidir [28, 21]. Özellikle çocukların, yemek öncesi, tuvalet sonrasında, çiğ gıdalar ve çiftlik hayvanları ile temastan sonra ellerini uygun ve yeterli şekilde yıkaması sağlanmalıdır [21].

2.1.8. *Escherichia coli* O157:H7'nin Gıda İle İlişkisi

Escherichia coli O157:H7, ilk olarak 1982 yılında Amerika'da ve Kanada'da bulunan fastfood restoranlarında az pişmiş hamburgerlerin tüketilmesi sonucu iki diare salgınıyla birlikte ortaya çıkmıştır [19]. Salgınlara kaynak olarak gösterilen diğer gıda maddeleri ise; çiğ meyve ve sebzeler (özellikle marul), elma şırası, alfalfa filizi, beyaz turp filizi, pastörize edilmeyen meyve suları (portakal, elma), yoğurt, çiğ süttten yapılmış peynirler, soğuk sandviçler, mayonez, pişmiş mısır, kurutulmuş kurlenmiş salam, kurutulmuş fermente sucuk, kanatlı hayvan, domuz ve kuzu etleridir [21, 82].

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının büyük kısmını yetersiz pişirilen ya da çiğ tüketilen sığır kıyması veya kıyma içerikli gıdaların tüketilmesinden kaynaklı olduğunu ortaya koymuştur [15]. Tüketilen et, kıyma ya da kıyma içerikli gıdalar, kesimhanelerde iç organların çıkartılması ve derinin yüzülmesi esnasında kontamine olmaktadır. Etin parçalanması ve kıyılması esnasında yüzeyden iç kısımlara geçen bakteri, yeterli ısı işlem uygulanmadığı takdirde canlılığını korumakta ve halk sağlığı açısından önemli risk faktörü haline gelmektedir [71].

2.1.9. Et ve Et Ürünlerinde *Escherichia coli* O157:H7

Artan dünya nüfusuyla birlikte, beslenmede ve insan sağlığı açısından önemli bir yere sahip olan et ve et ürünlerine olan talep giderek artmaktadır. Et ve et ürünleri içerdiği besin öğeleri sayesinde ve kolay elde edilebilmesinden dolayı insanlar için temel gıda maddesi olma özelliğine sahiptir.

Besleyici değerleri yüksek olan et ve et ürünleri, hijyen kurallarına göre üretilmediğinde ve gerekli Şekilde muhafaza edilmediğinde mikroorganizmaların geliŐmesi için uygun hale gelmektedir [83]. Et ve et ürünlerinde gelişme gösterebilen mikroorganizmaların bazıları, direkt olarak insan sağlığını etkilemeden üründe bozulmaya sebep olurken, bazıları ise et ve et ürünlerinde bozulma göstermeksizin insanlarda intoksikasyon ve enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Bundan dolayı et ve et ürünleri gıda kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir yere sahiptir [84, 85].

Kasaplık hayvanların steril olarak kabul edilen iskelet kasları kesim aŐamalarında kontamine olabilmektedir [89,59]. Kontaminasyon kaynakları; hayvanın derisi, gastrointestinal içerik ve dışkısı, kirli olan alet ekipmanlar ve hijyen kurallarına uymadan ete muamele eden personeldir [59].

İç organların çıkarılması esnasında, ette en önemli kontaminasyon meydana gelmektedir. Toplam kontaminasyonun %35-40'ı, gastrointestinal içerikten kaynaklıdır. Mikroorganizma ihtivaları ise; kalınbağırsak da 10^{11} - 10^{12} /g, incebağırsak da 10^7 - 10^8 /g dır. Kesim iŐlemlerinden önce başlayan ve kesim esnasında da devam eden mikrobiyal bulaşmalar, karkasın parçalanması ve kıyma haline getirilmesi aşamaları boyunca da devam etmektedir [59].

Gelişen teknolojiyle birlikte değişen yeme aŐıŐkanlıkları, insanları, sucuk ürünleri, taze kıyma, köfte gibi yarı hazır veya hazır ürünlerin tüketimine yöneltilmiŐtir [87]. abuk ve kolay hazırlanabildiğinden dolayı daha çok tercih sebebi olan kıyma, köfte ve hamburger gibi ürünler, satıŐına kadar çiğ olarak beklediği için muhafaza esnasında çabuk bozulabilmektedir [88].

abuk bozulabilen ürünlerden biri olan ve bakterilerin geliŐip çoğalması için uygun ortam sağlayan kıyma, etlerin fiziksel olarak parçalanması sonucunda elde edilmektedir. Et yüzeyindeki mevcut mikroorganizmalar kıymanın hazırlanması yani etin çekilmesi ve karıŐtırılması sırasında ürünün tümüne bulaŐarak kıymanın raf ömrünün kısalmasına sebep olmaktadır [89]. Kıymanın değişkenlik gösteren mikrobiyolojik kalitesi, kıyma haline getirilecek olan etin mikrobiyal yüküne, üretim esnasında uyulması gereken hijyen kurallarına, paketleme çeşidine ve saklama Őartlarına bağlıdır [90]. Buna bağlı olarak

kaliteli kıymadan üretilecek olan ürünlerin de uygun koşullar sağlanarak hazırlanması elde edilen ürünün iyi kalitede olmasını sağlayacaktır.

Kıymadan üretilen, hazırlık aşaması kolay ve pişirilmesi hızlı olan ve en fazla tercih edilen ürünlerin başında ise köfte gelmektedir [1,91].

Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği'ne göre (tebliğ no: 2018/52) köfte, "Kıyılmış büyükbaş ve küçükbaş hayvan karkas etlerinin veya kanatlı hayvan karkas etlerinin bu Tebliğe uygun olacak şekilde biri veya birkaçının karışımına, aynı ve/veya farklı tür hayvanların yağları, lezzet vericiler ile diğer gıda bileşenlerinden biri veya birkaçı ilave edilerek çeşitli şekillerde hazırlanan pişirmeye hazır kırmızı veya kanatlı et karışımı veya pişirilmiş et ürünü" şeklinde tanımlanmaktadır [92].

Köfte, kıymanın içerisine değişik katkıların eklenmesi ile meydana gelen köfte hamuruna farklı şekiller verilip soğutma, dondurma ve farklı pişirme metotları uygulanması ile üretilir ve tüketilir [93]. Üretim esnasında kullanılan etlerin, köfte hamuruna eklenen maddelerin, köftelere uygulanan pişirme yöntemleri ve teknolojik işlemlerin farklı olması ülkemizde her yer ve yöreye göre değişiklik gösteren köfte çeşidini (yaklaşık 290 çeşit) arttırmaktadır. İzmir köfte, Tekirdağ köftesi, Biga köftesi, Çiğ köfte, Akçaabat köftesi, Satır köfte, Kasap köfte ve İnegöl köfte sıklıkla tercih edilen çeşitlerin başında gelmektedir [93, 91, 94] .

Mikrobiyolojik kriterlerin incelendiği çalışmalarda köfte ve köfte benzeri ürünlerin, patojen mikroorganizma içerdiği ve bununla beraber mikrobiyal yükünün fazla olduğu tespit edilmiştir [95, 93]. Ankara'da tüketime sunulan İnegöl köftelerinin ve Bursa'da tüketime sunulan çiğ ve pişmiş ızgara köftelerinin halk sağlığı açısından risk taşıdığı yapılan çalışmalarda görülmüştür [94, ,96]. Kıyma haline gelen etler mikrobiyal kontaminasyona çok yaktın olduğundan dolayı köfte gibi et ürünleri bu duruma bağlı olarak çabuk bozulmaya elverişlidir. Patojen mikroorganizma içerebilen bu gıdalar, halk sağlığı açısından risk grubu yüksek kabul edilmektedir. Çeşitli ülkelerde ve Türkiye'de patojen mikroorganizmalar üzerine yapılan bir araştırmada kıyma, köfte ve benzeri gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 varlığı tespit edilmiştir. Bu mikroorganizma ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucu çeşitli hastalıklar ve ölüm gözlenebilir [93]. Hastalık ya da ölüm gibi durumların yaşanmaması ve halk sağlığı için Türk Gıda Kodeksi

Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde çiğ kırmızı et ve hazırlanmış et karışımlarında, 5 adet köfte numunesinden hiçbirisinin 25 g'ında *E.coli* O157 ve *Salmonella* bulunmamalı şeklinde tanımlanmıştır [97].

2.1.10. *Escherichia coli* O157:H7'nin Termal İnaktivasyonunu Etkileyen Faktörler

Birçok gıda işleme prosesinde patojenlerin yok edilmesinde ısı işlem kullanılmaktadır. Isıl işlem ile birlikte ortaya çıkan hasar, hücrede öldürücü ya da yarı öldürücü etki yapabilir. Öldürücü etki mikroorganizmayı tamamen yok eder iken yarı öldürücü etki mikroorganizmanın tamir mekanizması ile birlikte tekrar gelişme göstermesine neden olabilir [98].

Hücre zarındaki bozulmaların en önemli sebebi olan ısı işlem, hücre zarının seçici geçirgen özelliğini bozarak geçirgenliğini artırır. Hücre dengesinin yok olmasına ve giriş çıkış denetiminin ortadan kalkmasına etkiyen yüksek sıcaklıklar hücre zarı lipitlerinin yapısını tamamen bozar. 85°C ve üzerindeki sıcaklıklarda kırılma gösteren DNA polinükleotit zincirleri arasındaki hidrojen bağları gibi, artan sıcaklık veya uygulama süresince DNA iskeletinde bulunan fosfodiester bağları da kırılma gösterebilirler. Bununla birlikte RNA ve ribozomlarda ısı işleminden etkilenirler. *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* yüksek sıcaklığa bağlı olarak ribozomun 30S alt ünitesinin tamamen yok olmasıyla birlikte canlılıklarını kaybederler. Yine, ısı işleminden etkilenen mikroorganizmalarda protein yapıdaki moleküller yer almaktadır. 50-60°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda disülfid ve hidrojen bağlarını yitiren çoğu protein denatüre olmaktadır. Böylece denatüre olan enzimlerin işlevini kaybetmesiyle birlikte hücrede protein sentezi ve nükleik asit sentezi gibi bir çok faaliyet durur [99].

Başarılı bir ısı işlem uygulanması için gıdada bulunacak olan hedef patojenin ısıl direncinin saptanması önemli bir noktadır. Patojenlerin belirlenen ısıl direnci ise iç ve dış faktörlere göre değişiklik göstermektedir [99,100]. Bu faktörlerden bazıları şu şekildedir;

Patojen sayısı; Ortamda bulunan patojen mikroorganizma sayısının artması ısıl direnci artırır. Isıl işlem uygulamasıyla yok olan patojenler hücre dışına proteinleri, yağları ve karbonhidratları salgılar ve salgılanan bu organik maddeler hayatta kalan mikroorganizmalar üzerinde koruyucu etki yaparlar. Ortamdaki popülasyonun artmasıyla

birlikte salgılanan organik maddeler de artış gösterdiğinden dolayı ısı direnç artmaktadır [99].

Gelişme fazı ve sıcaklığı; durağan faz esnasında sentezlenen stres proteinleri ve hücrede su oranının azalması, durağan fazda bulunan mikroorganizmaların logaritmik faza göre ısı işleme daha dirençli olmasının nedenidir. Mikroorganizmanın optimum gelişme gösterdiği sıcaklığa göre çeşitli adaptasyonlara sahip olmasından dolayı uygulanan ısı işlemlere, psikrofiller mezofillerden, mezofiller termofillerden daha duyarlıdır. Enzimleri ve proteinleri de yüksek sıcaklıklara daha dirençli olan termofillerin hücre zarı yapısında bulunan doymuş yağ asitleri, hücre zarının yapısını daha az akışkan hale getirdiği için dayanıklılıkları fazladır. Isıl şok proteinleri olarak adlandırılan proteinlerin sentezlenmesine neden olan ve optimum gelişme sıcaklığından yüksek ya da düşük sıcaklıkların patojen mikroorganizmada yarattığı stres etkisi ısı direnci arttırmaktadır [99].

Patojenin spor formu; ısı direnci vejetatif hücrelerden fazla olan sporların, katmanlarının kalın olması, spor plazmasının düşük su ve yüksek Ca^{+2} içeriğine sahip olması ısı direnci arttırmaktadır [99].

Su aktivitesi; su aktivitesi yüksek iken mikroorganizmalarda ısı transferi fazla olur. Bu durum hücrelerde hasara ve protein yapılarının hızlı şekilde bozulmasına sebep olur. Böylece artan su aktivitesi değerlerinde ısı direnç azalma göstermektedir [101,99].

Yağ ikamesi; mikroorganizmalar üzerinde koruyucu etki gösteren yağlar, ortamdaki yağ asitlerinin uzunluk durumuna göre su moleküllerini itmekte ve suyun hücrelere ulaşabilmesini ve ısı transferini engellemektedir. Genellikle uzun zincirli yağ asitleri, kısa zincirli yağ asitlerine göre daha fazla ısı direnç gösterir [103, 102, 99], . Line ve arkadaşlarının 1991'de yaptığı çalışmada, yağ içeriği %2'den %30,5'e yükseltile sığır eti kıymasında *E. coli* O157:H7'nin D değerinin 51,8°C'de 78,2 dakikadan 115,5 dakikaya, 62,8°C'de 0,3 dakikadan 0,5 dakikaya çıktığını ortaya koymuşlardır.

Tuz içeriği; tuzun miktarı ve çeşidine göre değişiklik göstermektedir [104]. Blackburn ve arkadaşları (1997) [105], NaCl içeriği %0,5 olduğunda $D_{62,5}$ değerinin 19 saniye, %3,5 iken 62 saniye, %5,5 iken 140 saniye bulmuşlardır ve NaCl içeriğinin artmasıyla birlikte *E. coli* O157:H7'nin $D_{62,5}$ değerinin arttığını belirlemişlerdir.

pH; patojenler için optimum gelişme pH'ında ısıl direnç en yüksek değerindedir. Optimum değerlerin altına inen ya da üstüne çıkan pH'da ısıl işleme karşı duyarlılık artış gösterir. Bundan dolayı nötr pH'ya yakın gıdalara yüksek asitli gıdalardan daha yüksek sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanması gerekmektedir [99].

Süre ve sıcaklık; uygulanacak olan süre ve sıcaklığın artırılması mikroorganizmaların hayatta kalma oranlarının azalmasını sağlar. Sıcaklığın 6×10^{10} kob/ml oranındaki *Clostridium botulinum*'un termal ölüm süresinin bulunmasıyla ilgili yapılan çalışmada, 120°C'de 5 dakika, 115°C'de 12 dakika, 110°C'de 36 dakika, 105°C'de 120 dakika ve 100°C'de 260 dakika olduğu tespit edilmiştir [99].

McQuestin ve arkadaşları (2009) [106], fermente et ürünlerinde *E. coli*'nin inaktivasyonu üzerine yapılmış 44 çalışmayı incelediklerinde, inaktivasyon üzerinde su aktivitesi ve pH'ın daha az etkili olduğunu, önemli faktörün ise sıcaklık olduğunu belirtmişlerdir. Belli sıcaklıklarda uygulanan ısıl işlem zamana karşı hücre sayısında logaritmik bir azalma olmasına sebep olur. D değeri olarak adlandırılan termal inaktivasyon, belli ortam ve sıcaklıktaki canlı mikroorganizma sayısının bir logaritmik devre azalması için geçen süre şeklinde tanımlanmaktadır [8].

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmalarda kullanılan *Escherichia coli* O157:H7 kültürleri Uşak Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edildi. Deneyde;

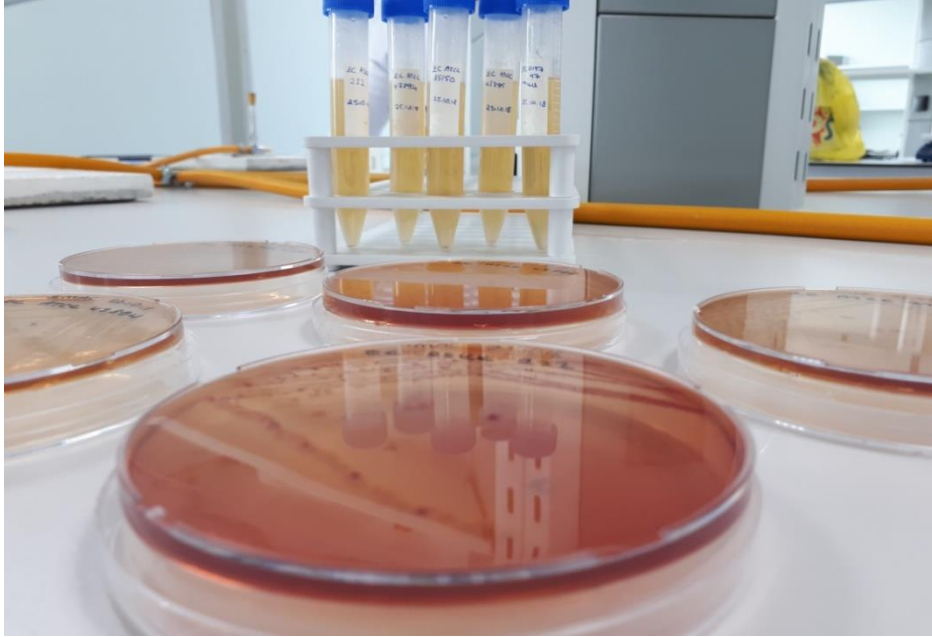
American Type Culture Collection 35150 (*E. coli* O157:H7),

American Type Culture Collection 43894 (*E. coli* O157:H7),

American Type Culture Collection 43895 (*E. coli* O157:H7),

Refik Saydam Kültür Koleksiyonu 232 (*E. coli* O157:H7),

Mustafa Kemal Üniversitesi *E. coli* O157:H7 suşları kullanıldı.



Şekil 3.1. Kullanılan *Escherichia coli* O157:H7 Suşları

3.1.2. Köfte Örnekleri

Köfte örneklerinin hazırlanması için, Uşak'ta yerel bir kasaptan (Bölme Et Ürünleri) %15±5 yağlı olacak şekilde kıyma temin edildi. Kasap ve İnegöl köfte yapımında içerisinde koruyucu içermeyen ticari harç (Knorr marka kasap ve İnegöl köfte harcı) kullanıldı. Firmanın belirttiği öneri ve direktiflere göre kasap köfte için yaklaşık 25g yumurta (Keskinoğlu Tavukçuluk ve Damızlık İşletmeleri Sanayi ve Ticaret A.Ş., Manisa) kullanıldı.

3.1.3. Elektrikli Izgara

Köftelerin pişirme işlemleri için Mangalet (Korkmaz, İstanbul) marka elektrikli ızgara ve Gigant (6I200E, Bursa) marka sanayi tipi elektrikli ızgara olmak üzere iki farklı ızgara kullanılarak yapıldı. Izgara sıcaklıkları IKA RCT (Hot Plate'e bağlı IKA ETS-D5, Almanya) marka termometre, köfte merkez sıcaklıkları TFA (30.1018, Almanya) marka termometre ve HANNA (HI 9057 microcomputer KJT thermocouple thermometer, Amerika) marka termokapl ile ölçüldü. Çalışmalar en az 3 kez tekrar edildi.



Şekil 3.2. Köfte Pişirme İşlemlerinde Kullanılan Sanayi Tipi Elektrikli Izgara(sol) ve Elektrikli ızgara(sağ)

3.1.4. Besiyeri

Toplam mezofil aerob bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) (LAB149, Lancashire, İngiltere) kullanıldı. Koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB) (LAB031, Lancashire, İngiltere) kullanıldı. Isıl işlem uygulanmış köftelerin *Escherichia coli* O157:H7 sayımı için Sorbitol MacConkey agar (SMAC) (LABM161, Lancashire, UK) kullanıldı. *E. coli* O157:H7 kültürünün geliştirilmesinde Tryptic Soy Broth (TSB)

(MERCK, Darmstad, Germany) kullanıldı. Besi yerleri üretici firmanın kullanım önerisi doğrultusunda hazırlandı.

3.2. Metod

Tez çalışması 2 aşamalı olarak gerçekleştirildi. 1. aşama olarak sahadan köfte ile ilgili veriler toplandı. Sahada ızgarada pişirilerek tüketiciye sunulan kasap ve İnegöl köfte örneklerinin yerinde merkez sıcaklıkları, ızgara sıcaklıkları ve pişirme süreleri tespit edildi. Yapılan bu saha çalışması doğrultusunda tez çalışmasının 2. aşaması olarak *Escherichia coli* O157:H7 inoküle edilen kıymalara, farklı şekillerdeki kasap ve İnegöl köfte formları verilerek, elektrikli ızgarada pişirilmesi ile termal inaktivasyonu tespit edildi. Tez çalışmasında denemeler en az 3 tekrar ve 2 paralelli olarak tasarlandı.

3.2.1. Saha Çalışması

Saha çalışmaları, Uşakta bulunan ve rastgele seçilmiş olan restoran ve kafelerde tüketime sunulan kasap ve İnegöl köftenin pişirilmesi için kullanılan ısı kaynağı (elektrikli ızgara, doğalgazlı ızgara, kömürlü ızgara gibi), köftelerin pişirme esnasında üzerinde bulunduğu ızgaranın yüzey sıcaklığı (ölçümler, pişirme için kullanılan alanın sol üst ve alt köşelerinden, sağ üst ve alt köşelerinden, ızgaranın orta noktasından alınmıştır) , köftenin pişirildikten sonraki merkez sıcaklığı, köfte pişirme süresi ile ilgili veriler toplandı. Ayrıca çiğ ve pişmiş olarak toplanan kasap ve İnegöl köftelerin mikrobiyolojik (toplam aerobik mezofil bakteri sayısı ve toplam koliform bakteri sayısı) analizleri yapıldı.



Şekil 3.3 Köfte İşletmelerinde Izgara Yüzey Sıcaklığı(sol) ile Köfte Merkez Sıcaklığının(sağ) Belirlenmesi

3.2.2. İnoküle Edilecek Kültürün Hazırlanması

Buzdolabında (+4°C) saklanan stok kültürden alınan *E. coli* O157:H7 suşları Tryptic Soy Broth (TSB) besi yerine inoküle edilerek 37°C'de 18-24 saat gelişime bırakıldı. İnkübasyon sonunda sıvı besi yerinden pelet elde edilmesi için 4000 devirde 4dk santrifüj (LAB312 5000 RPM, Ankara) edildi. Dibe çökmüş olan peletler %0,9'luk NaCl ile yıkandı ve tekrar 4000 devirde 4 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte toplanan süpernatant ortamdaki uzaklaştırılarak pelet kırma işlemi yapıldı ve tüm suşlar bir tüpte toplanacak şekilde birleştirildi ve mix elde edildi.

3.2.3. Köfte Örneklerinin Hazırlanması

Köfte yapımı için kullanılacak harç karışımları, her uygulamada bir örnek olabilmesi için ulusal bir firmadan kasap ve İnegöl köfte harcı (Knorr) tercih edildi. İlgili ürünün tercih edilmesindeki en önemli faktör antimikrobiyal içermemesi idi. Köfte yapımı esnasındaki prosedürlerde ticari firmanın belirttiği öneri ve direktifler kullanıldı. Kasap köfte örnekleri için 300g, %15±5 yağlı dana kıyma içerisine, 24,6 g hazır Knorr kasap köfte harcı, 25 g yumurta ve 100ml su ilave edilerek kıyma yoğuruldu. İnegöl köfte örnekleri için 250g, %15±5 yağlı dana kıyma içerisine, 21,5 g hazır Knorr İnegöl köfte harcı, 75 ml su ilave edildi ve yoğuruldu.

3.2.4. Kasap ve İnegöl Köfte Örneklerine Kültürün İnokülasyonu

Kasap köfte kıyma karışımının içerisine homojen olarak yaklaşık 7±1 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 mix kültürü inoküle edildi. Her bir adedi yaklaşık olarak 6x6x1 cm (en x boy x yükseklik) boyutlarında ve 25 g olmak üzere toplamda 12 adet kasap köfte hazırlandı. Pişirme işlemi için ızgara ve diğer malzemelerin hazırlanması süresince yaklaşık olarak 30-45 dk aralığında buzdolabında (+4°C) dinlendirildi.

İnegöl köfte kıyma karışımının içerisine homojen olarak yaklaşık 7±1 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 mix kültürü inoküle edildi. Her bir adedi yaklaşık olarak 1,5x7x1,5 cm (en x boy x yükseklik) boyutlarında ve 20 g olmak üzere toplamda 12 adet İnegöl köfte hazırlandı. Pişirme işlemi için ızgara ve diğer malzemelerin hazırlanması süresince yaklaşık olarak 30-45 dk aralığında buzdolabında (+4°C) dinlendirildi.



Şekil 3.4. *Escherichia coli* O157:H7 İnoküle Edilmiş Köfteler

3.2.5. Kontamine Köfte Örneklerinde Isıl İşlem Uygulamaları

Kasap ve İnegöl köfteye inoküle edilen yaklaşık 7 ± 1 logkob/g düzeyindeki *E. coli* O157:H7'nin termal inaktivasyonunu belirlemek amacıyla öncelikle saha çalışmaları yapıldı. Saha çalışmaları sonucunda elde edilen değerler doğrultusunda, minimum ızgara yüzey sıcaklığı ve minimum süre verileri tercih edilerek köfteler 140°C ızgara sıcaklığında 330s (5,5dk) ısıl işlem uygulanarak pişirildi. Mikrobiyolojik analiz için, 150s, 210s, 240s, 270s, 300s, 330s'de numuneler alındı. Yapılan bu pişirmede *E. coli* O157:H7 sayısındaki azalmada istenilen termal inaktivasyon sağlanamadı. *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu istenilen düzeyde sağlanamadığı için ızgara sıcaklığı arttırılmaya karar verildi. 150°C ızgara sıcaklığında, süre 30 saniye uzatılarak 360s (6dk) yapılan pişirmede de istenilen inaktivasyon sağlanamadı. Bu kez ızgara sıcaklığı 10°C arttırılıp 160°C olurken, buna bağlı olarak pişirme süresi 30s kısaltılarak 330s (5,5 dk) ısıl işlem uygulandı. Bu ısıl işlemin sonucunda *E. coli* O157:H7 sayısında azalma gözlemlendi fakat istenilen inaktivasyon sağlanamadı. 170°C'ye geçildiğinde ki ilk pişirme işlemi yine süre bazlı yapıldı ve 390s (6,5 dk) ısıl işlem uygulandı. Çalışma esnasında ızgara yüzey sıcaklığı ve köfte merkez sıcaklığı ölçümü yapıldı. Başlangıçta süre baz alınarak yapılan bu çalışmada 330s, 360s, 390 saniyelerin sonunda ulaşılması gereken 71.1°C merkez sıcaklığa ulaşamadı ve ızgara yüzey sıcaklıkları bölgesel olarak çok fazla dalgalanma gösterdi. Kullanılan sürelerde ve sıcaklıklarda gerekli inaktivasyon sağlanamadığı için çalışmada merkez sıcaklığı baz alınarak analizlere 170°C ve 180°C ızgara sıcaklığında devam edildi.

170°C ve 180°C ızgara sıcaklıklarında merkez sıcaklık ölçümlerine bağlı olarak *E. coli* O157:H7 sayısındaki azalma gözlemlendi. Merkez sıcaklığa ulaşılan süreler ve ızgara sıcaklıkları da kaydedildi. Izgara sıcaklıklarındaki değişkenlik ve dalgalanmalar nedeni ile köfteler ızgaranın sabit olarak orta bölgesinde ardışık olarak 3 grup şeklinde pişirildi.

1.grup: Bu grupta toplamda 4 adet köfte örneği ızgaraya yerleştirildi. 1 köfte örneği içerisinde termometrenin yerleşik olduğu ölçümlerin yapıldığı kontrol grubu ve diğer 3 köfte örneği ise merkez sıcaklıkları 50-55-60°C sıcaklığa ulaştığında alınan köfte grupları idi.

2.grup: Bu grupta da toplamda 4 adet köfte örneği ızgaraya yerleştirildi. 1 köfte örneği içerisinde termometrenin yerleşik olduğu ölçümlerin yapıldığı kontrol grubu ve diğer 3 köfte örneği ise merkez sıcaklıkları 65-70-75°C sıcaklığa ulaştığında alınan köfte grupları idi.

3.grup: Bu grupta da toplamda 4 adet köfte örneği ızgaraya yerleştirildi. 1 adet köfte örneği içerisinde termometrenin yerleşik olduğu ölçümlerin yapıldığı kontrol grubu ve diğer 3 köfte örneği ise merkez sıcaklığı 80-85-90°C sıcaklığa ulaştığında alınan köfte grupları idi.



Şekil 3.5. Isıl İşlem Uygulanan Köfteler

3.2.6. Mikrobiyolojik Analizler

3.2.6.1. Sahadan Alınan Köfte Örneklerinde Aerob Mezofil Bakteri ve Koliform Bakteri Sayımı

Saha çalışmaları esnasında toplanmış olan çiğ ve pişmiş köfte örneklerinin her birisinden 10g tartılıp üzerine 90ml peptonlu su (LAB104, Lancashire, İngiltere) eklenerek, stomacher cihazında (Masticator- IUL, İspanya) homojen hale getirildikten sonra aerob mezofil bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA)'a (LAB149, Lancashire, İngiltere) dökme plak yöntemiyle ekimi yapıldı ve 35°C'de 48-72 saat inkübe edildi. Koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB)'a (LAB031, Lancashire, İngiltere) dökme plak yöntemiyle ekim yapıldı, çift kat agar döküldükten sonra 35°C'de 24 saat inkübe edildi [107].

3.2.6.2. *Escherichia coli* O157:H7 Sayımı

Köfte örneklerinin pişirme işlemi tamamlandıktan sonra buzlu suda hızlı bir şekilde soğutuldu. Soğutulan köfte örneklerinin ayrı ayrı tartımı yapıldı ve her bir tartımın 10 katı kadar peptonlu su (LAB104, Lancashire, İngiltere) ilave edilerek 1/10'luk dilüsyon elde edildi. Stomacher cihazında (Masticator- IUL, İspanya) yaklaşık 2 dk boyunca homojenize edildi. Homojenize edilen karışımdan 1ml alınarak, 1/10'luk düzende 10⁶'ya kadar seyreltilip, her dilüsyondan çift seri SMAC plaklarına 0,1 ml yüzey yayma yöntemi ile ekimler yapıldı ve 35°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Süre sonunda tipik kolonilerin (beyaz renkli koloniler) sayımı yapıldı [108].



Şekil 3.6. İnkübasyon Sonrası Petrilerin Görüntüsü

3.2.7. Kimyasal Analizler

3.2.7.1. Kıymada Yağ Tayini

Yağ tayini için kartuşlara $10 \pm 0,1$ g örnek tartılarak Soxhlet metodu kullanıldı. Metot gereği düzeneğe (Gerhardt Soxhlet SOX 414, Almanya) yerleştirilen kartuşlar için çözücü olarak dietil eter kullanıldı. Ekstraksiyon sonunda balonlardaki eter uçurularak örnekteki yağ oranı hesaplandı [109].

$$\%Yağ = \frac{(\text{Balon} + \text{Yağın ağırlığı}) - \text{Balonun darası}}{\text{Numune miktarı}} \times 100$$

3.2.7.2. Köftelerde Tuz Tayini

Köfte örnekleri homojen hale getirildi ve 5'er gram tartılarak sıcak su ile ezildi. Bu sulu kısım 500ml balon jöjeye alındı. Bu işlem tuzun tamamen suya geçmesi için birkaç kez tekrarlandı. Daha sonra balon jöje saf su ile çizgiye kadar dolduruldu. Filtre kağıdında süzüldü. Süzüntüden 25g alındı ve üzerine %5'lik K_2CrO_4 indikatörü damlatıldı ve 0,1N $AgNO_3$ çözeltisi ile kalıcı kırmızı kiremit rengi elde edene kadar titre edildi. Harcanan 0,1N $AgNO_3$ aşağıdaki formülde yerine koyularak %tuz hesaplandı [110].

$$\%T_{uz} = \frac{S \times N \times 0.0585 \times 100}{m}$$

S: Titrasyonda harcanan AgNO₃ hacmi (ml) – K r denemede harcanan AgNO₃ hacmi (ml)

N: AgNO₃ normalitesi

m:  rnek ağırlığı (g)

3.2.7.3. Köftelerde pH Tayini

Öncelikle pH metre tampon  zelteler ile (20±2 C’de pH 7 ve pH 4) kalibre edildi. Daha sonra homojenize edilen köfte örneklerinden 10’ar gram numune alındı ve üzerine 100ml saf su ilave edildi. Karışımın pH’sı pH metre (Docu- pH⁺ meter Sartorius, Almanya) ile  l ld  [111].

3.2.8. İstatistiksel Analizler

E. coli O157:H7 sayımı sonucunda elde edilen mikroorganizma sayıları log kob/g’a dönüştürülerek istatistiksel analizler yapıldı. Log kob/g’a dönüştürülen bakteri sayıları ‘‘köfte çeşidi x merkezi sıcaklık x tekerrür’’ modeline uygun olarak değişkenler arası interaksiyonlar ve sabit etkiler yönünden varyans analizine (iki yönlü ANOVA) tabi tutuldu. Ortalamaların istatistiksel önem seviyesi %5 olarak kabul edildi. General Linear Models (GLM) prosedürlere göre, en düşük kareler ortalamaları Fisher’s Least Significant Difference (LSD) testi kullanılarak ayrıştırıldı. İstatistiksel analizler için Statistical Analysis System (SAS) programı kullanıldı [112].

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Analiz Sonuçları

Kıymada yapılan yağ analizi ve köftelerde yapılan tuz ve pH analizleri Çizelge 4.1’de verildi.

Çizelge 4.1. Kimyasal Analiz Sonuçları

Kimyasal Analiz Sonuçları			
		Kasap Köfte	İnegöl Köfte
% Yağ	Ortalama		13,83
	Maksimum		18,66
	Minimum		10,15
% Tuz	Ortalama	0,85	0,9
	Maksimum	0,88	0,98
	Minimum	0,77	0,78
pH	Ortalama	5,81	7,78
	Maksimum	5,97	7,92
	Minimum	5,72	7,6

4.2. Saha Çalışması

Uşak'ta bulunan işletmelerde belirlenen ızgara yüzey sıcaklıkları, köfte pişme süresi ve köfte merkez sıcaklığı sonuçları Çizelge 4.2'de verildi. Elde edilen verilere göre sahada, kondüksiyonel tip, kömürlü, elektrikli ve doğalgazlı ızgaraların kullanıldığı tespit edildi. Köfteler pişirilirken ızgara yüzeyinin tüm alanı kullanılmakla beraber ızgara yüzey sıcaklıklarında dalgalanmaların oldukça fazla olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.2). Gözlemlenen bu ızgara sıcaklık dalgalanmasından dolayı pişme süresi ve köfte merkez sıcaklıkları da değişkenlik gösterdi. Pişme süreleri 03.14 dk – 05.58 dk, köfte merkez sıcaklıkları ise 46 - 81,1°C arasında olduğu görüldü. İşletmelerin hepsini göz önünde bulundurduğumuzda en düşük ızgara yüzey sıcaklığı 84,3°C iken en yüksek ızgara yüzey sıcaklığı 319°C olarak ölçüldü (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Uşak'ta Bulunan Köfte İşletmelerinde Belirlenen Izgara Yüzey Sıcaklığı, Pişirme Süresi ve Köfte Merkez Sıcaklığı (n=5)

İŞLETME	PİŞME SÜRESİ (dk)	KÖFTE MERKEZ SICAKLIĞI (°C)	IZGARA SICAKLIKLARI (°C)				
			1.BÖLGE ^x (°C)	2.BÖLGE ^y (°C)	3.BÖLGE ^z (°C)	4.BÖLGE ^t (°C)	5.BÖLGE ^q (°C)
A	03:14	75	84,3	135	113,2	136,4	146,1
B	03:56	46	211	244,6	319	177,1	159,5
C	04:20	74	236	275	226	165	285,5
D	05:35	81,1	256	154	255	215	161
E	05:58	64,0	115,9	133,3	129	123,7	120,6

x: Izgara sol üst bölge yüzey sıcaklığı

y: Izgara sağ üst bölge yüzey sıcaklığı

z: Izgara orta nokta yüzey sıcaklığı

t: Izgara sol alt bölge yüzey sıcaklığı

q: Izgara sağ alt bölge yüzey sıcaklığı

İşletmelerde bulunan köftelerin pişirmeye hazır halde soğukta muhafaza (buzdolabında, +4°C'de) edildiği görüldü. Genellikle bir gün önceden hazırlanmış olan ve şekilleri verilmiş olan köftelerin mikrobiyolojik analizlerinin sonuçları Çizelge 4.3'de özetlenmiştir. Buna göre çiğ haldeki köftelerde aerobik mezofil bakteri sayısı yüksek bulundu (ortalama 6,1 logkob/g). Pişirme işlemi ile 2-3 log kob/g düzeyinde bir azalma gerçekleştiği görüldü.

Pişirme öncesi koliform bakteri sayısı ortalama 5,1 logkob/g iken pişirme işleminden sonra koliform tespit edilmedi.

Çizelge 4.3. Uşak'ta Bulunan Köfte İşletmelerinden Alınan Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Belirlenen Mikroorganizma Sayıları (logkob/g) (n=5)

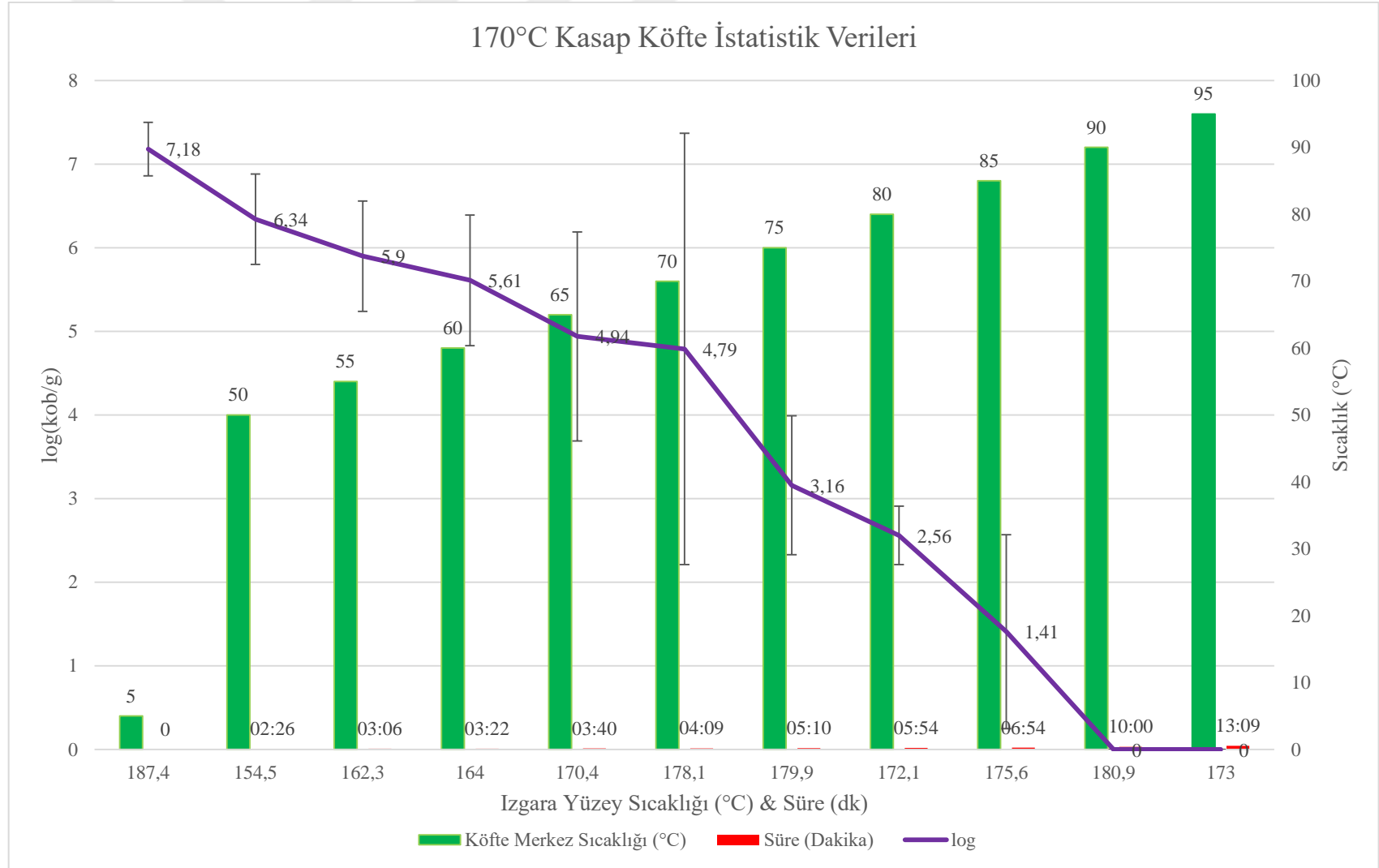
	Koliform Bakteri		Aerobik Mezofil Bakteri	
	Çiğ	Pişmiş	Çiğ	Pişmiş
Ortalama	5,1±0,98	<1,0	6,1±0,5	3,66±1,6
Maksimum	7	-	7	6
Minimum	4,18	-	5,5	1,6

4.3. Kasap Köfteye İnoküle Edilen *Escherichia coli* O157:H7'nin 170°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu

Başlangıç yükü olarak yaklaşık 7±1 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 inoküle edilen kasap köfte örneklerinin 170°C ızgara sıcaklığında pişirilmesiyle ısıl işlem uygulandı. Pişirme esnasında köfte merkez sıcaklıklarına bağlı olarak azalış gösteren *E. coli* O157:H7 sayımı yapıldı. *E. coli* O157:H7 sayısındaki bu azalış Çizelge 4.4'de ve grafiksel olarak Şekil 4.1'de verildi.

Çizelge 4.4. 170°C’de Pişirilmiş Kasap Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri

Köfte Merkez Sıcaklıkları (°C)	Izgara Yüzey Sıcaklıkları (°C)	Süre(dk.)
9,9	187,4	0
50	154,5	02:26
55	162,3	03:06
60	164,0	03:22
65	170,4	03:40
70	178,1	04:09
75	179,9	05:10
80	172,1	05:54
85	175,6	06:54
90	180,9	10:00
95	173,0	13:09



Şekil 4.1.170°C’de Pişirilmiş Kasap Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği

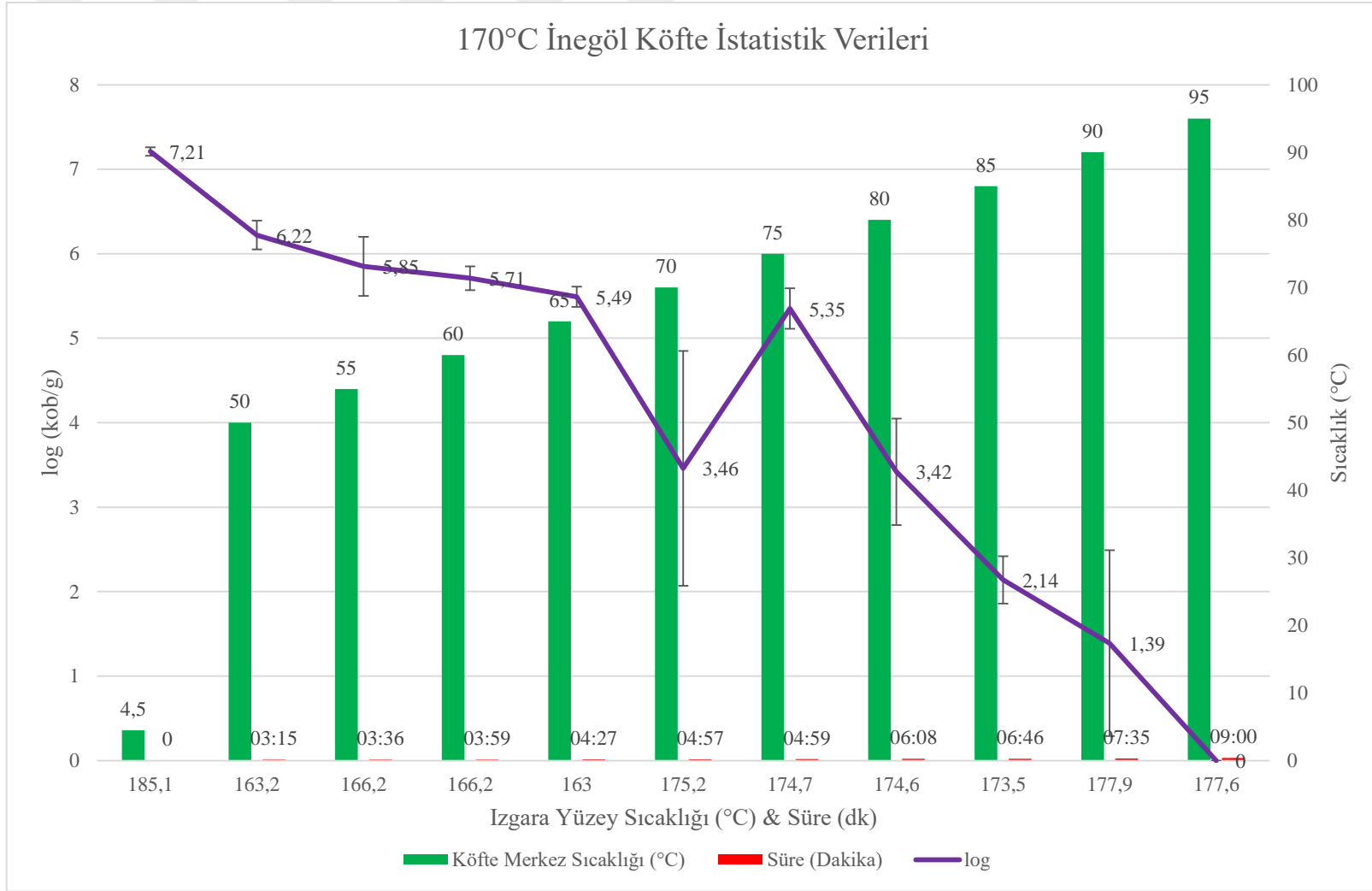
Çizelge 4.4'de verilen değerler ve Çizelge 4.6'da hesaplanan istatistik değerleri incelendiğinde, kasap köfteye 7,18 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 bulaştırıldı ve 170°C ızgara sıcaklığındaki termal inaktivasyonunun tespiti yapıldı. Başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 187,4°C olarak ölçüldü. 50°C'deki ızgara yüzey sıcaklığı ise 154,5°C olarak ölçüldü ve köfte merkez sıcaklığı 50°C'ye 02.26 dakikada ulaştı. Aradaki bu ızgara yüzey sıcaklığı farklılığı kasap köftenin soğuk olmasından kaynaklı olarak ani düşüş gösterdi. 50 ve 55°C'deki örneklerle bakıldığında mikroorganizma sayısında bir azalma gözlemlendi fakat bu azalmanın istatistiksel anlamda önemli olmadığı bulundu ($p>0,05$). Izgara yüzey sıcaklığının 164,0°C ölçüldüğü köfte örneğinde merkez sıcaklık 60°C'ye 03.22 dakika da ulaştı ve başlangıç *E. coli* O157:H7 mikroorganizma sayısı ile arasında 1,57 logkob/g'lık patojen mikroorganizma azalması gözlemlendi. Bu azalmanın istatistiksel anlamda önemli olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Köfte merkez sıcaklığı 65°C'ye 03.40 dakikada ulaştı ve ızgara yüzey sıcaklığı 170,4°C ölçüldü. 4,94 logkob/g olarak bulunan *E. coli* O157:H7 sayısı başlangıç mikroorganizma sayısından 2,24 logkob/g azalma gösterdi ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi ($p<0,05$). 70°C merkez sıcaklığa 04.09 dakikada ulaşan köfte örneğinin ızgara yüzeyi 178,1°C olarak ölçüldü. Mikroorganizma sayısındaki azalmanın ise önemli olmadığı tespit edildi ($p>0,05$). Köfte merkez sıcaklığı 75°C'ye 05.10 dakikada ulaştı, ızgara yüzeyi 179,9°C olarak ölçüldü. 3,16 logkob/g olarak bulunan *E. coli* O157:H7 sayısı başlangıç mikroorganizma sayısından 4,02 logkob/g azalma gösterdi ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Izgara yüzey sıcaklığı 175,6°C olarak ölçülen köfte örneği merkez sıcaklığı 85°C'ye 06.54 dakikada ulaştı ve *E. coli* O157:H7 sayısı 1,41 logkob/g olarak bulundu. Başlangıç mikroorganizma sayısı ile arasında 5,77 logkob/g'lık bu fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Merkez sıcaklığı 90°C'ye 10.00 dakika da ulaşan örnekte ise *E. coli* O157:H7 tespit edilmedi.

4.4. İnegöl Köfteye İnoküle Edilen *Escherichia coli* O157:H7'nin 170°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu

Başlangıçta yaklaşık 7 ± 1 logkob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş İnegöl köftelerin 170°C ızgara sıcaklığında pişirilmesiyle ısıl işlem uygulandı. Pişirme esnasında köfte merkez sıcaklıklarına bağlı olarak azalış gösteren *E. coli* O157:H7 sayımı yapıldı. *E. coli* O157:H7 sayısındaki bu azalış Çizelge 4.5'de ve grafiksel olarak Şekil 4.2.'de verildi.

Çizelge 4.5.170°C'de Pişirilmiş İnegöl Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri

Köfte Merkez Sıcaklığı (°C)	Izgara Yüzey Sıcaklığı (°C)	Süre(dk)
4,5	185,1	0
50	163,2	03:15
55	166,2	03:36
60	166,2	03:59
65	163,0	04:27
70	175,2	04:57
75	174,7	04:59
80	174,6	06:08
85	173,5	06:46
90	177,9	07:35
95	177,6	09:00



Şekil 4.2. 170°C’de Pişirilmiş İnegöl Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği

Çizelge 4.5’de verilen değerler ve Çizelge 4.6’da hesaplanan istatistik değerleri incelendiğinde, İnegöl köfteye 7,21 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 inoküle edildi ve 170°C ızgara sıcaklığındaki termal inaktivasyonunun tespiti yapıldı. Başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 185,1°C olarak ölçüldü. 50 ve 55°C’deki köfte örneklerine bakıldığında bir azalma gözlemlendi fakat bu azalma istatistiksel anlamda önemli değildi ($p>0,05$). Merkez sıcaklığı 60°C olan köfte örneğinde ızgara sıcaklığı 166,2°C’ye 03.59 dakikada ulaştı. 5,71 logkob/g olarak bulunan *E.coli* O157:H7 sayısı ile başlangıç mikroorganizma sayısı arasında 1,5 logkob/g’lık azalma gözlemlendi. Bu azalma istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). 70°C merkez sıcaklığa 04.57 dakikada ulaşan köfte örneğinin ızgara yüzeyi 175,2°C olarak ölçüldü. Başlangıçta sayılan patojen mikroorganizma ile arasında 3,75 logkob/g azalma gösteren köfte örneğindeki bu fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Merkez sıcaklığı 80°C’ye 06.08 dakika da ulaşan köfte örneği, 3,79 logkob/g azalma gösterdi ve bu azalış istatistiksel olarak önemli tespit edildi ($p<0,05$). 90°C merkez sıcaklığa 07.35 dakikada ulaşan İnegöl köfte örneğinin ızgara yüzey sıcaklığı 177,9°C ölçüldü. *E. coli* O157:H7 sayısı 1,39 logkob/g sayılan köftede patojen mikroorganizmanın tamamen inaktive olmadığı tespit edildi. Fakat başlangıç mikroorganizma ile arasında 5,82 logkob/g kadar azalma gözlemlendi. Başlangıç mikroorganizma sayısı ile arasındaki fark önemli kabul edildi ($p<0,05$).

Çizelge 4.6. *Escherichia coli* O157:H7 İnoküle Edilmiş İnegöl ve Kasap Köftelerinin 170°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmesi Sırasında Artan Merkez Sıcaklıklarına Göre Mikrobiyolojik Değişimleri (logkob/g)(n=6)

		170°C Izgara Yüzey Sıcaklığında Köfte Merkezi Sıcaklıkları (°C)										
		0	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95
İnegöl Köfte		7,21±0,05 ^{ax}	6,22±0,17 ^{abx}	5,85±0,35 ^{abx}	5,71±0,14 ^{bx}	5,49±0,12 ^{bx}	3,46±1,39 ^{cx}	5,35±0,24 ^{bx}	3,42±0,63 ^{cx}	2,14±0,28 ^{cdx}	1,39±1,10 ^{dx}	<1
Kasap Köfte		7,18±0,32 ^{ax}	6,34±0,54 ^{abx}	5,90±0,66 ^{abx}	5,61±0,78 ^{bx}	4,94±1,25 ^{bx}	4,79±2,58 ^{bcx}	3,16±0,83 ^{cy}	2,56±0,35 ^{cdx}	1,41±1,16 ^{dx}	<1	<1

a, b, c, d, e, f: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)

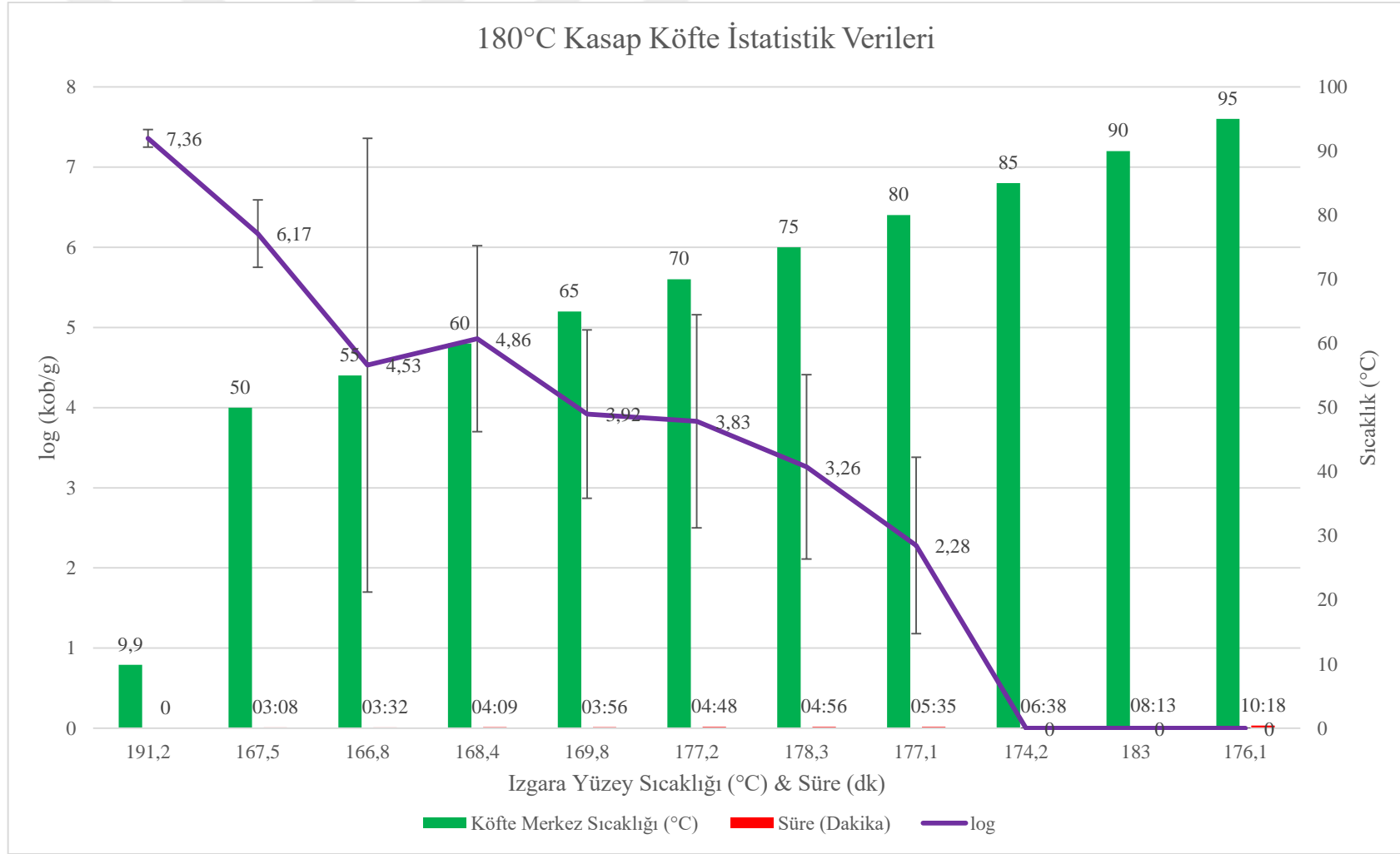
x, y: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)

4.5. Kasap Köfteye İnoküle Edilen *Escherichia coli* O157:H7'nin 180°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu

Başlangıçta yaklaşık 7 ± 1 logkob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş kasap köftelerin 180°C ızgara sıcaklığında pişirilmesiyle ısı işlem uygulandı. Pişirme esnasında köfte merkez sıcaklıklarına bağlı olarak patojen sayısındaki değişiklikler belirlendi. *E. coli* O157:H7 sayısındaki bu azalış Çizelge 4.7'de ve grafiksel olarak Şekil 4.3'de verildi.

Çizelge 4.7. 180°C Pişirilmiş Kasap Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri

Köfte Merkez Sıcaklığı (°C)	Izgara Yüzey Sıcaklığı (°C)	Süre(dk)
9,9	191,2	0
50	167,5	03:08
55	166,8	03:32
60	168,4	04:09
65	169,8	03:56
70	177,2	04:48
75	178,3	04:56
80	177,1	05:35
85	174,2	06:38
90	183,0	08:13
95	176,1	10:18



Şekil 4.3. 180°C’de Pişirilmiş Kasap Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği

Çizelge 4.7’de verilen değerler ve Çizelge 4.9’da hesaplanan istatistik değerleri incelendiğinde, kasap köfteye 7,36 logkob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 bulaştırıldı ve 180°C ızgara sıcaklığındaki termal inaktivasyonunun tespiti yapıldı.

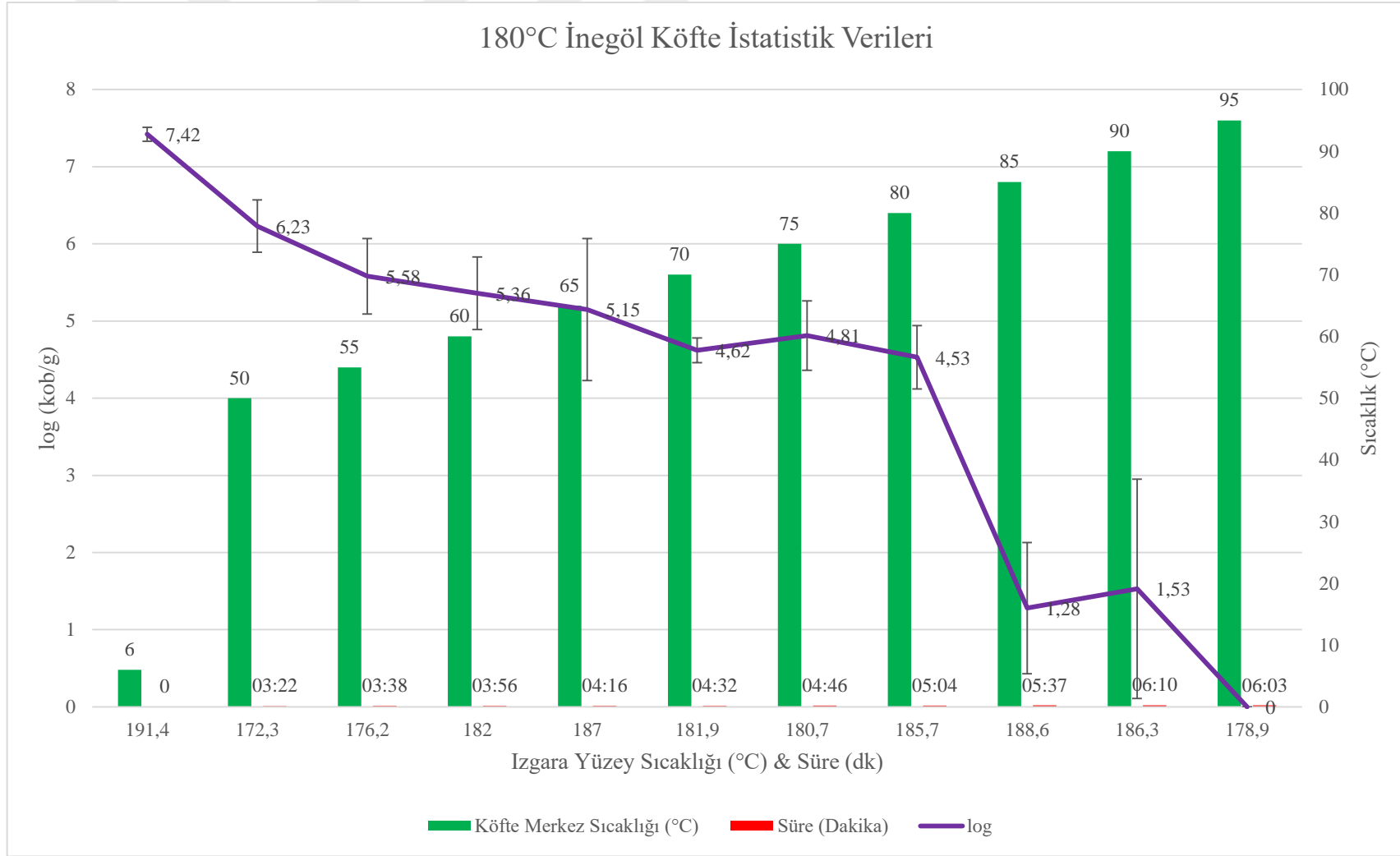
Başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 191,2°C ve başlangıç köfte merkez sıcaklığı 9,9°C olarak ölçüldü. 50 ve 55°C merkez sıcaklıklarındaki mikroorganizma sayılarında azalma gözlemlendi fakat istatistiksel olarak önemli kabul edilmedi ($p>0,05$). Merkez sıcaklığı 60°C’ye 04.09 dakikada ulaşan köfte örneğinin pişirildiği ızgaranın yüzeyi 168,4°C olarak ölçüldü. 4,86 logkob/g olarak sayılan *E. coli* O157:H7, başlangıçtaki mikroorganizmadan 2,5 logkob/g’lık fark gösterdi. Aradaki bu fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Köfte merkez sıcaklığı 75°C’ye 04.56 dakikada ulaştı, ızgara yüzeyi 178,3°C olarak ölçüldü. 3,26 logkob/g olarak bulunan *E. coli* O157:H7 sayısı başlangıç mikroorganizma sayısından 4,1 logkob/g azalma gösterdi ve bu azalma istatistiksel olarak önemli kabul edildi ($p<0,05$). İstatistiksel olarak önemli kabul edilen bir diğer merkez sıcaklık ise 85°C’dir. 85°C’de 06.38 dakikada 174,2 ızgara sıcaklığında *E. coli* O157:H7’nin tamamen inaktive olduğu tespit edildi.

4.6. İnegöl Köfteye İnoküle Edilen *Escherichia coli* O157:H7'nin 180°C Izgara Sıcaklığında Termal İnaktivasyonu

Başlangıçta yaklaşık 7 ± 1 logkob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş İnegöl köftelerin 180°C ızgara sıcaklığında pişirilmesiyle ısı işlem uygulandı. Pişirme esnasında köfte merkez sıcaklıklarına bağlı olarak azalış gösteren *E. coli* O157:H7 sayımı yapıldı. *E. coli* O157:H7 sayısındaki bu azalış Çizelge 4.8'de ve grafiksel olarak ise Şekil 4.4'de verildi.

Çizelge 4.8. 180°C Pişirilmiş İnegöl Köfte Merkez Sıcaklığı, Izgara Sıcaklığı ve Pişme Süresi Değerleri

Köfte Merkez Sıcaklığı(°C)	Izgara Yüzey Sıcaklığı (°C)	Süre (dk)
6,0	191,4	0
50	172,3	03:22
55	176,2	03:38
60	182,0	03:56
65	187,0	04:16
70	181,9	04:32
75	180,7	04:46
80	185,7	05:04
85	188,6	05:37
90	186,3	06:10
95	178,9	06:03



Şekil 4.4. 180°C’de Pişirilmiş İnegöl Köfte Örneklerinin İstatistiksel Veri Grafiği

Çizelge 4.8'de verilen değerler ve Çizelge 4.9'da hesaplanan istatistik değerleri incelendiğinde, İnegöl köfteye 7,42 logkob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 bulaştırıldı ve 180°C ızgara sıcaklığında termal inaktivasyonunun tespiti yapıldı. Başlangıç köfte merkez sıcaklığı 6,0°C ve başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 191,4 ölçüldü. 50 ve 55°C merkez sıcaklıklarında mikroorganizma sayısında azalma gözlemlendi fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli kabul edilmedi ($p>0,05$). Merkez sıcaklığı 60°C'ye 03.56 dakikada ulaşan köfte örneğinin ızgara yüzey sıcaklığı 182,0°C olarak ölçüldü. 5,36 logkob/g olarak sayılan *E. coli* O157:H7, başlangıç yükünden 2,06 logkob/g'lık fark gösterdi. Bu fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Merkez sıcaklıkları 65°C'den 80°C'ye kadar olan köfte örneklerinin mikroorganizma yükünde bir azalış gözlemlendi fakat bu değer istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$). 05.37 dakikada merkez sıcaklığı 85°C'ye ulaşan köfte örneğinin mikroorganizma yükü 1,28 logkob/g sayıldı ve başlangıç yüküyle arasındaki fark 6,14 logkob/g olarak bulundu. Aradaki bu fark istatistiksel anlamda önemli bulundu ($p<0,05$). 06.10 dakikada merkez sıcaklığı 90°C'ye ulaşan köfte örneğinde 5 logaritmanın üzerinde bir azalış gözlemlenmesine rağmen, *E. coli* O157:H7 tamamen inaktive olmamıştır.

Çizelge 4.9. *Escherichia coli* O157:H7 İnoküle Edilmiş İnegöl ve Kasap Köftelerinin 180°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmesi Sırasında Artan Merkez Sıcaklıklarına Göre Mikrobiyolojik Değişimleri (logkob/g)(n=6)

		180°C Izgara Yüzey Sıcaklığında Köfte Merkezi Sıcaklıkları (°C)										
		0	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95
İnegöl Köfte		7,42±0,09 ^{ax}	6,23±0,34 ^{abx}	5,58±0,49 ^{abx}	5,36±0,47 ^{bx}	5,15±0,92 ^{bx}	4,62±0,16 ^{bx}	4,81±0,45 ^{bx}	4,53±0,41 ^{bx}	1,28±0,85 ^{cx}	1,53±1,42 ^{cx}	<1
Kasap Köfte		7,36±0,11 ^{ax}	6,17±0,42 ^{abx}	4,53±2,83 ^{abx}	4,86±1,61 ^{bx}	3,92±1,05 ^{bcx}	3,83±1,33 ^{bcx}	3,26±1,15 ^{cx}	2,28±1,10 ^{cdx}	<1	<1	<1

a, b, c, d, e, f: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)

x, y: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)

Ülkemizde sıkça tüketilen kıymalı ürünlerden olan köfte, çeşidine göre değişen reçetelerde ve baharat karışımları eklenerek hazırlanan; ızgara, kızartma, fırınlama gibi pişirme işlemleri sonrasında tüketilen bir gıdadır. Pişirme işlemi etkin gerçekleştirildiğinde birçok gıda kaynaklı hastalığın önlenmesinde rol oynamaktadır. Bu işlemin etkinlik parametreleri mikroorganizma türüne hatta suşuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Laboratuvar çalışmalarında belirlenen, suşa bağlı D ve Z değerleri ısı inaktivasyon etkinliğini ifade ediyor olsa da pratikte bunun uygulanması pek mümkün olmamaktadır. Çünkü D ve Z değeri hesapları çoğunlukla benmaride ince bir film haline getirilmiş kıyma örnekleriyle ya da içerisinde selektif olmayan besiyeri bulunan deney tüplerine inaktive edilecek olan mikroorganizmanın inoküle edilmesiyle yapılmaktadır.

Ahmed ve arkadaşları (1995) [113], ürün bileşiminden etkilenen et ve kümes hayvanlarından elde edilen, yağ seviyesi ve düşük yağ formülasyonlu kıyma (%7, %10, %20 yağlı), domuz sosisi (%7, %10, %30 yağlı), tavuk (%3, %11 yağlı) ve hindi (%3 ve %11 yağlı) etlerinin su banyosunda ısıtılmasıyla *E. coli* O157:H7'nin sağkalımını D ve Z değerleri ile belirlemişlerdir. Yağ içeriği en düşük olan ürünlerdeki D değerlerini geleneksel sığır eti ve domuz ürününden daha düşük bulmuşlardır. Yapılan bu çalışmada, yağ miktarının artması pozitif korelasyon ile D değerinde artmasıyla sonuçlanmıştır. Tüm ürünlerde D_{50} değeri yaklaşık 60-100 dk, D_{55} değeri yaklaşık 6-10 dk arasında değişmiştir ve D_{60} değerlerinin hepsini 1 dakikadan az olduğu hesaplanmıştır. Tüm ürünler için Z değerlerinin 4,35-4,78°C arasında değiştiğini bildirmişlerdir. D_{60} değeri sığır etinde 0,45-0,47 dk, domuz sosisinde 0,37- 0,55 dk, tavukta 0,38- 0,55 ve hindide 0,55- 0,58 dk arasında değişmekte ve Z değeri 4,4- 4,8°C olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, ürün bileşiminin *E. coli* O157:H7'nin inaktivasyonunu etkilediğini ve 60°C'de 2-3 dakikalık pişirme işleminin 5D'lik azalmayı sağlayacağını bildirmişlerdir.

Amalaradjou ve arkadaşları (2010) [114], trans- sinamaldehitin az pişmiş sığır eti köftelerinde *E. coli* O157:H7'nin inaktivasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma yapmışlardır. Beş farklı *E. coli* O157:H7 suşu karışımı ve trans-sinamaldehit (0, %0,15, %0,3) kıymaya inoküle ve ilave edilmiştir. Köftelerin merkez sıcaklıkları 60 ve 65°C olacak şekilde çift taraflı elektrikli ızgarada pişirilmiştir. Trans-sinamaldehit içeren köftelerin pişirilmesinin *E. coli* O157:H7 sayısını önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir. Trans- sinamaldehit ile muamele edilen ve *E. coli* O157:H7 içeren köftelerde

60 ve 65°C’de ki D değerleri sırasıyla 1.85 ve 0.08 dk, kontrol grubu D değerleri ise 2.70 ve 0.29 dk ile daha yüksek değere sahip bulunmuştur. Yapılan çalışma sonunda trans-sinamaldehit, *E. coli* O157:H7’nin ısı duyarlılığını arttırdığı ve az pişmiş köftelerde patojen inaktivasyonunu sağlamak için potansiyel bir antimikrobiyel olarak kullanılabilceği belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, 60 ve 65°C’de çift taraflı elektrikli ızgarada pişirilen köftelerde *E.coli* O157:H7 sayısının 5 logkob/g dan daha fazla azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Dong Ou (2014) [115], güvenlik ve kalite için hamburger köftelerinin (köfte boyutu: 8,85cm çap x 0,95cm kalınlık) tava kızartma modellemesini yaptığı çalışmasında, 140°C, 160°C, 180°C tava sıcaklıklarındaki dört pişirme tipinde (tek/çift taraflı tavada dondurulmuş/donmamış kızartma) *E. coli* O157:H7, *Listeria innocua*, *Salmonella* serotiplerini 12 logkob/g azaltmak için tahmini süreleri hesaplamıştır. Donmamış köftenin tek taraflı tavada kızartılması sonrasında 12 logkob/g *E. coli* O157:H7 azalması için geçen işlem süresi, 140°C tava sıcaklığında 392s, 160°C’de 310s, 180°C’de 279s’dir. Donmamış köftenin çift taraflı tavada kızartılması sonrasında 140°C’de 108s, 160°C’de 90s, 180°C’de 80s olarak bulunmuştur. Dondurulmuş köftenin tek taraflı tavada kızartılması sonrasında işlem süresi 140°C tava sıcaklığında 790s, 160°C’de 529s, 180°C’de 441s’dir. Dondurulmuş köftenin çift taraflı tavada kızartılması sonucu 140°C’de 290s, 160°C’de 250s, 180°C’de ise 220s işlem süreleri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda çift taraflı tavada kızartmanın tek taraflı tavada kızartma işlemine kıyasla daha çok üstün bir pişirme verimi gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan tüm işlemlerde *E. coli* O157:H7’yi 12 logkob/g azaltma işlem süresinin *Listeria innocua*, *Salmonella* serotiplerine kıyasla en kısa olduğu gözlemlenmiştir.

Kim ve arkadaşları (2013) [116], *E. coli* O157:H7’nin kültürde ve domuz kıymalarında propolis varlığında termal inaktivasyonunu belirlemek amacıyla çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada ısı kaynağı olarak su banyosu seçilmiştir ve ısı işlem için 57, 60 ve 63°C’ler tercih edilmiştir. Propolisin yokluğunda, *E. coli* O157:H7’nin tek başına imha edilmesi, $D_{57} 7.33 \pm 1.33$, $D_{60} 1.34 \pm 0.29$, $D_{63} 0.85 \pm 0.04$ dk ve Z değeri 6,4°C olarak sonuçlanmıştır, *E. coli* O157:H7’nin artan sıcaklıklardaki direncinin kademeli olarak kaybı popülasyonda maruz kalma süresine karşı lineer bir düşüş göstermiştir. *E. coli* O157:H7’nin ısı ile tahrip edilmesi, tüm sıcaklıklarda propolis (8,98 mg/mL) ile tedaviyi

önemli ölçüde geliştirmiştir. Propolis varlığında, *E. coli* O157:H7'nin imha edilmesiyle, $D_{57} 0.53 \pm 0.02$, $D_{60} 0.25 \pm 0.00$ ve $D_{63} 0.17 \pm 0.00$ dk ($Z= 10,3^{\circ}\text{C}$) olarak D değerleri popülasyondaki hızlı düşüşlerle elde edilmiştir. Domuz kıyması için *E. coli* O157:H7 değerleri sırasıyla $D_{57} 4,88 \pm 0,23$, $D_{60} 0,77 \pm 0,00$, $D_{63} 0,37 \pm 0,00$ (Z değeri $5,4^{\circ}\text{C}$)'dır. Hücreler daha yüksek konsantrasyonlarda propolis (35,92 mg/g) ile muamele edildiğinde, daha düşük D değerleri $D_{57} 2.88 \pm 0.02$, $D_{60} 0.46 \pm 0.03$, $D_{63} 0.26 \pm 0.02$ dk ve $5,5^{\circ}\text{C}$ Z değeri elde edilmiştir. Kültürde *E. coli* O157:H7'ye propolis eklenmesi ve domuz kıymasında, test edilen tüm sıcaklıklarda ısının ölümcül etkilerine karşı daha da hassas hale getirilmiştir ve bu da hem kültürlerde hem de domuz kıymasında artan yaralanmalara ve daha düşük D değerlerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, propolisin patojen ısı direncini azaltarak *E. coli* O157:H7'nin kültürde ve domuz kıymasında inaktivasyonunu arttırdığını göstermiştir. Bu veriler doğrultusunda ise gıda kaynaklı patojenleri kontrol edebilmek için gıdaların ısıl işlemi esnasında propolis ilavesinin uygulanabileceğini bildirilmiştir.

Et ürünlerinde patojenlerin termal inaktivasyonu ile ilgili birçok rapora ve yapılan çalışmalara rağmen, et kompozisyonlarındaki farklılıklar, pişirme ve içerik farklılıkları gibi sebeplerden dolayı kesin kabul edilebilecek D ve Z değerleri mevcut değildir. Yapılan D ve Z değerleri çalışmalarının birçoğunda ısının her tarafta sabit kabul edildiği su banyosu ile analizler yürütülmüştür. Fakat üzerinde çalışılan et ve et ürünü örneklerinin içerikleri (pH, yağ, tuz), şekilleri, ebatlarının sürekli değişkenlik göstermesi ve kullanılan mikroorganizma suşlarının farklı olması bile sabit bir D değeri hesaplanmasını mümkün kılmamaktadır.

Et için kullanılacak olan pişirme yöntemi, etin hem yeme hem de mikrobiyal kalitesini etkilemektedir. Değişik yöntemlerle pişirme işleminden olan ve kuru ısıl işlem olarak adlandırılan ızgara, tavada kızartma ve kavurma, köfte gibi bağ doku içeriği daha az olan ve tüketimi sıklıkla tercih edilen bu ürünü pişirmede kullanılmaktadır. Pişirme yöntemi, etin şekline ve boyutuna, çeşidine ve içermiş olduğu bağ dokuya uygun olarak seçilmelidir. Uygulanan bu ısıl işlem sırasında merkez sıcaklık 0°C 'den 85°C 'ye kadar çıkabilmektedir. Konveksiyon, kondüksiyon ve radyasyon geleneksel pişirme yöntemlerinde ısı transfer aracı olarak kullanılmaktadır [117]. Pişirme işlemi için kullanılan farklı yöntemler arasında ise; ısı transfer yöntemleri (hava, temas, buhar, su, mikrodalga), et içi sıcaklık profilleri ve

et yüzey sıcaklıkları değişiklik göstermektedir. Etin yüzey sıcaklığı ve iletkenlik katsayısı, etin ısınma oranını etkilemektedir. Et yüzey sıcaklığı, kullanılan ısı kaynağının sıcaklığına ne kadar bağlı ise bağıl nem ve hava akımına da o kadar bağlıdır. Hava akımı arttıkça ısı iletimi de artar ve böylece et yüzeyinden buharlaşma da artmış olur. Yüksek nem ise, buharlaşmayı düşürürken ısı kondüksiyonunu artırır. Etin içerisinde absorbe olmuş ısı, ısı kondüksiyonu sayesinde etin yüzeyinden merkezine doğru sıcaklık yükselmesine neden olmaktadır. Izgara sıcaklıkları sabit tutulamadığından dolayı homojen ısı iletimi sağlanamamakta dolayısıyla patojen bakteriler üzerinde koruyucu bir etki oluşturabilmektedir. Kuru pişirme metodundan olan ızgara yönteminde radyan ısı kullanılmaktadır. Izgarada tek yönden ısı yayılımı gerçekleştiği için pişirilen gıdanın sürekli çevrilmesi gerekmektedir [117]. Yaptığımız çalışmada geometrik şekilleri ve içerikleri farklı olan kasap ve İnegöl köftelerin elektrikli ızgarada pişirilmesiyle gerçekleşecek olan termal inaktivasyonu araştırılmıştır. Yukarıda verilen etin pişirme yöntemleriyle ilgili bilgiler doğrultusunda, yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz verileri incelediğimizde, 170°C’de pişirilen kasap köftenin başlangıç merkez sıcaklığı 9,9°C’den 50°C’ye 02.26 dakikada ulaşırken başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 187,4°C’den 154,5°C’ye düşmüştür. Izgara yüzey sıcaklığının düşmesinin sebebi ise köftenin yüzey alanının geniş ve başlangıçta soğuk olmasıdır. Kasap köfte merkez sıcaklığı 85°C’ye 06.54 dakikada ulaşmıştır ve ızgara yüzey sıcaklığı 175,6°C olarak ölçülmüştür(Çizelge 4.4). Merkez sıcaklık 85°C’ye geldiğinde 5,77 logkob/g *E. coli* O157:H7 azalması gözlenmiştir (Çizelge 4.6). 170°C’de pişirilen İnegöl köftenin başlangıç merkez sıcaklığı 4,5°C’den 50°C’ye 03.15 dakikada ulaşırken başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 185,1°C’den 163,2°C’ye düşmüştür. Izgara yüzey sıcaklığının düşmesinin sebebi köftenin başlangıçta soğuk olmasıdır. İnegöl köfte merkez sıcaklığı 85°C’ye 06.46 dakikada ulaştığında ızgara yüzey sıcaklığı 173,5°C olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5). Merkez sıcaklık 85°C’ye geldiğinde 5,07 logkob/g’lık *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu sağlanmıştır (Çizelge 4.6). 170°C’deki kasap ve İnegöl köfteler için başlangıçtan 50°C merkez sıcaklığa ulaşması kıyaslandığında, başlangıç merkez sıcaklığı 9,9°C olan kasap köftenin kalınlığı 1cm olduğu için ısı iletimi daha hızlı gerçekleşmiş ve 50°C’ye 02.26 dakikada ulaşmıştır ancak başlangıç merkez sıcaklığı hem daha düşük olan kalınlığı ise 1,5 cm olan İnegöl köftenin 50°C’ye ulaşmasının 03.15 dakika sürdüğü tespit edilmiştir. 180°C’de pişirilen kasap köfte başlangıç merkez sıcaklığı 9,9°C, başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 191,2°C ve köfte

merkez sıcaklığı 50°C'ye 03.08 dakikada ulaştığında ise köftenin soğuk olmasından dolayı ızgara yüzey sıcaklığının 167,5°C'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Kasap köfte merkez sıcaklığı 80°C'ye 05.35 dakikada ulaştığında ızgara yüzey sıcaklığı 177,1°C olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.7). Merkez sıcaklık 80°C'ye geldiğinde 5,08 logkob/g'lık *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu sağlanmıştır (Çizelge 4.9). 180°C'de pişirilen İnegöl köfte başlangıç merkez sıcaklığı 6,0°C, başlangıç ızgara yüzey sıcaklığı 191,4°C ve köfte merkez sıcaklığı 50°C'ye 03.22 dakikada ulaştığında ızgara yüzey sıcaklığının 172,3°C'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Köfte merkez sıcaklığı 85°C 'ye 05.37 dakikada ulaştığında ızgara yüzey sıcaklığı 188,6°C ölçülmüştür. Köfte merkez sıcaklığı 90°C 'ye 06.10 dakikada ulaştığında ızgara yüzey sıcaklığı 186,3°C ölçülmüştür (Çizelge 4.8). Merkez sıcaklık 85°C'ye geldiğinde 6,14 logkob/g'lık bir *E. coli* O157:H7 azalması görülürken 90°C'de 5,98 logkob/g'lık azalma kaydedilmiştir ve bu fark örnekler arası varyasyon ile açıklanabilmektedir (Çizelge 4.9). Kasap ve İnegöl köftelerin başlangıçta süre farklılıkları göstermelerinin en önemli sebebi kalınlıklarının farklı olmasından kaynaklı olduğu tespit edilmiştir.

Alfaia ve arkadaşları (2010) [118], yaptıkları çalışmada sığır etine uygulanan kızartma, haşlama ve mangalda pişirme işlemlerinin ette meydana gelecek kalite kriterlerini araştırmışlardır. Ette pişirme kaybının az olduğunu buldukları mangalda pişirme işlemi sırasında kabuk oluşumu gözlemlenmiştir. Oluşan bu kabuk sayesinde su kaybının az olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek oranda su kaybının yaşandığı pişirme işlemi yağ içeriğinin oransal şekilde artmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada pişirme süresindeki değişiklikler, pişirme yöntemine, ekipmanlarına ve boyutuna, köftenin şekline, yağ oranlarına, köfte formülasyonlarına, pH değerlerine ve hatta analizde kullanılan *E. coli* O157:H7 suşlarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından, pişirme esnasında merkez sıcaklığın 71,1°C olmasına ve 5D'lik patojen inaktivasyonuna dikkat edilmesi gerekmektedir [119]. Literatürde geleneksel ürünlerimiz olan kasap ve İnegöl köfteler hakkında köfte pişirme sıcaklığı, köfte merkez sıcaklığı, pişirme süresi üzerine veriler belirlenmemiştir. Fakat ülkemiz için bahsettiğimiz bu eksikliği, ulusal ve uluslararası düzeyde incelediğimizde, benzer çalışmalar yapıldığı (120, 121, 122) tespit edilmiştir. Ancak ızgara sıcaklıkları su banyosundaki gibi sabit olmadığından dolayı D ve Z değerleri

hesabı yapmak mümkün olmadığı için sıcaklık-zaman ilişkisinin ortaya konulduğu uygulamaların gıda güvenliği anlamında daha etkin olacağı düşünülmektedir.

İlhak ve arkadaşları (2013) [120], Elazığ'da rastgele seçilen 23 lokantadan elde edilen veriler doğrultusunda kıymalı pidelerde sıcaklık-zaman ilişkisi üzerine çalışmışlar ve fırın sıcaklığı minimum 180°C ve minimum 330 saniye (5,5 dakika) ısıtım uygulamasının 5 logkob/g patojen inaktivasyonu sağladığı belirtmişler ve güvenli aralıkları ortaya koymuşlardır.

Shen ve arkadaşları (2011) [121], dana kıymasında yaptıkları çalışmada başlangıç miktarı 6,4 logkob/g seviyesinde olan *E. coli* O157:H7'yi kıymaya inoküle ettikten sonra 205°C fırın sıcaklığında merkez sıcaklık 65°C'ye ulaştığında 3,3 logkob/g'lık *E. coli* O157:H7 inaktivasyonunu tespit etmişlerdir.

Li ve arkadaşları (2017) [122], yaptıkları bu çalışmada sığır kıyma ve dana kıymada *E. coli* O157:H7'nin kalite varyasyonu ve termal inaktivasyonunu karşılaştırmışlardır. Mikrobiyal popülasyon ve renk, pişirme kayıpları, pH, su aktivitesi, yağ ve nem içeriği gibi özellikler test edildi. Sığır kıyma ve dana kıymaları 177°C'ye ayarlanmış çift taraflı elektrikli ızgarada merkez sıcaklıkları 55, 62,5, 71,1, 76°C'lerde 0,5 ve 3,5 dakika bekleterek ısıtım uygulanmıştır. 177°C'de 360s pişirilen kıyma örneklerinde 5,67 ve 6,42 logkob/g azalma gözlenmiştir. Patojen popülasyonunun hem sığır hem de dana kıyma örnekleri için, pişirme işleminin erken aşamasında (120-180s'den az) önemli ölçüde azalmadığı, ancak ısıtım süresi 180s'yi aştığında azalmanın hızlandığını fark etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları, *E. coli* O157:H7'nin 177°C'de çift taraflı ızgarada pişirilen kıyma örneklerinde D değerlerinin, sırasıyla, doğrusal, Mafart-Weibull ve Buchanan iki fazlı doğrusal modellerinde hesaplanan 63,27s, 189,5s, 29,41s olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar dana kıyma örneklerinde bulunan *E. coli* O157:H7 hücrelerinin, sığır kıyma örneklerine kıyasla ısıya daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Çift taraflı ızgarada 55°C ve 62,5°C'de 0,5 dakika pişirme işlemi uygulanan sığır kıymasında 1,95-4,79 logkob/g ve dana kıymasında 1,97 ile >6,0 logkob/g azalma sağlanmıştır. Sığır kıyma örneklerinde 55 ve 62,5°C'de 3,5 dakika yapılan pişirme işlemi sonunda 0,98 ile 1,14 logkob/g azalma sağlandığı bildirilmiştir.

Brar ve arkadaşları (2018) [123], altı farklı yağ içeriğine sahip kıymaları (%5, 10, 15, 20, 25, 30), belirli sıcaklıklarda (55, 60, 65, 68, 71,1°C) su banyosunda ısıtma işlemi tabii tutarak D değerleri hesaplamış aynı zamanda shiga toksin üreten *E. coli*'nin termal inaktivasyonunu araştırmışlardır. D₅₅ 17,96 dk, D₆₀ 1,58 dk, D₆₅ 0,46 dk olarak bulunmuştur. 55°C'deki kıymadaki yağ içeriği ile D değerleri arasında negatif bir ilişki gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 60°C'den yüksek sıcaklıklarda kıyma yağının non-O157 STEC'lerin ısı direnci üzerine hiçbir etkisi bulunmamıştır. Sıcaklık 55°C'den 68°C'ye yükseldiğinde D değerlerinde azalma görülmüştür. Yağ içeriği %5 ile 30 olan kıymada D₅₅ değeri 11,69 ile 15,93 arasında değişmiştir. Yağ içeriği %5'den 10'a yükseldiğinde D değerinde bir azalma gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, yağ içeriği %10'dan %25'e yükseltildiğinde hiçbir fark gözlemlenmemiştir. 55°C'deki yağ muhtevasının artmasıyla ısı direncinde de bir azalma gözlemlenmiştir, bu da yağın patojenler için koruyucu bir tabaka görevi gördüğünü göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklıklarda yağ içeriğinin önemli bir etkisi gözlemlenmemiştir. Veriler, 71,1°C'nin sığır kıymasında non-O157 STEC'ler için ölümcül bir sıcaklık olduğunu onaylamıştır.

Porto-Fett ve arkadaşları (2016) [124], kızartma ve konveksiyonel fırın pişiriciliğinin köftelerde shiga toksin üreten *Escherichia coli* hücrelerinin termal inaktivasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Kıyma haline getirilmiş et içerisine mikroorganizmalar inoküle edildi ve yumurta ve ekmekek kırıntısı da eklenerek 40g olacak şekilde kıymalara top görüntüsü verilmiş ve ardından köfteler elektrikli konveksiyonel fırında ve 3,8 litre kanola yağı ile dolu fritözde kızartılmışlardır. Hem fırının hem de fritözdeki yağın sıcaklığı pişirmeden önce 176,7°C'ye ısıtılmıştır. Dondurucudan çıkartılan dondurulmuş köfteler, fırında 0, 15.0, 16.25, 17.5 ve 20.0 dakika, fritözde 0, 5.0, 6.0, 7.5 ve 9.0 dakika pişirilmiştir. Benzer şekilde buzdolabından çıkarılan taze köfteler, fırında 0, 7.5, 9.0, 10.5 ve 12.5 dakika, fritözde 0, 2.5, 3.5, 4.5 ve 5.5 dakika pişirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, 176,7°C'de fritözde önceden ısıtılmış kanola yağında yapılan 5.0, 6.0, 7.5, ve 9.0 dakikalık, donmuş dana eti ve et karışımı (sığır+dana+domuz) köftelerinin pişirilmesiyle 0.7, 1.1, 3.3 ve 5.9 log ve 0.7, 1.4, 1.9 ve 5.9 log'luk azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Taze dana eti ve et karışımı köftelerinin 2.5, 3.5, 4.5 ve 5.5 dakika fritözde kızartılması sonucunda ise, 1.1, 1.9, 4.3, 6.1 log ve 1.0, 2.5, 4.5, 6.1 log'luk azalmaları sırasıyla gözlemlenmiştir. Donmuş dana eti ve et karışımı köftelerinin 15.0, 16.25, 17.5, 20.0 dakika boyunca 176,7°C'lik konveksiyonel fırında pişirilmesi sonucunda ise, 1.0, 2.4, 4.5,

6.0log ve 1.0, 2.3, 4.6, 6.1log'lık azalma gözlenmiştir. Taze dana eti ve et karışımı köftelerinin 7.5, 9.0, 10.5, 12.5 dakika fırında pişirilmesi sonucunda, 0.7, 1.4, 3.8, 6.1 log ve 0.7, 2.0, 5.1, 6.1 log'lık azalma gözlenmiştir. Benzer merkez sıcaklıklarına ulaşmak için dondurulmuş köfteler, taze köftelerin süresinden iki kat daha uzun bir pişirme süresine ihtiyaç duymuştur. Fritözde 5.0, 6.0, 7.5, 9.0 dakika boyunca pişirilen donmuş köftelerde elde edilen merkez sıcaklıkları 6.0 ± 6.1 , 16.2 ± 8.6 , 48.9 ± 14.1 , 68.4 ± 7.5 , fırında 15.0, 16.25, 17.5, 20.0 dakika boyunca pişirilen donmuş köftelerdeki merkez sıcaklıklar 41.9 ± 9.9 , 54.5 ± 8.4 , 68.4 ± 9.0 , $80.0\pm 8.0^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür. Fritözde 2.5, 3.5, 4.5 ve 5.5 dakika boyunca pişirilen taze köftelerde merkez sıcaklıklar, 21.7 ± 6.1 , 35 ± 7.9 , 52.0 ± 9.2 , $69.6\pm 10.18^{\circ}\text{C}$, fırında 7.5, 9.0, 10.5, 12.5 dakika pişirilen taze köftelerde merkez sıcaklık, 39.0 ± 4.1 , 51.9 ± 5.2 , 63.4 ± 5.0 , $72.1\pm 5.9^{\circ}\text{C}$ 'dir. Elde edilen bu veriler sonucunda, yağ içeriği, tuz ve ekmek kırıntıları gibi bileşenlerin, köfteler ve diğer et ürünlerinde bulunması, bakteri hücrelerini ısıya karşı koruyabilir ve pişirme sırasında etin içine ısı girme oranını etkileyebildiği tespit edilmiştir. Ürün bileşimine (yağ içeriği, pH seviyesi, etli olmayan bileşenlerin dahil edilmesi) ve pişirmeden önce etin durumuna (donmuş, soğutulmuş) ek olarak, pişirme usulü (fırınlama, fritözde kızartma, tavada kızartma) öğütülmüş et ürünlerinde STEC'in termal olarak etkisiz hale gelme derecesini etkileyebilir. Fritözde, taze ve dondurulmuş köftelerde 5log'lık STEC azalması elde etmek için sırasıyla 5.5, 9.0 dakika pişirme gerekiyordu, fırında taze ve dondurulmuş köftelerde 5log'lık azalma için 12.5, 20.0 dakika pişirilmesi gerektiği bildirilmiştir.

Luchansky ve arkadaşları (2014) [125], mekanik olarak yumuşatılmış dana etlerinde *Escherichia coli* O157:H7 ve non-O157 shiga toksin üreten *Escherichia coli* hücrelerinin termal inaktivasyonu üzerine çalışma yapmışlardır. Yapılan bu çalışmada, pirzola etlerin dışı yumurta ile kaplanmış ve iki yüzeyi panelenmiştir. Pişirme yapmadan önce 15ml ve 30ml kanola yağı ile yağlanan elektrikli seramik tava $191,5^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtıldı. Daha sonra her bir pirzola 0.0, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.25 dakika olacak şekilde pişirilmiştir. Ekmeksiz dana pirzola için elde edilen sonuçlar, *E. coli* O157:H7 ve STEC'in 5log'lık azalmasını elde etmek için, önceden ısıtılmış bir tavada ($191,5^{\circ}\text{C}$) 15ml yağda her tarafın en az 1.5 dakika boyunca pişirilmesi gerekli olacağını bildirmişlerdir. Ekmek kırıntılarıyla ilgili olarak, 15ml yağda ekmecli veya ekmeksiz etler pişirildiğinde, ekmeğin *E. coli* O157:H7'nin termal inaktivasyonu üzerinde önemli bir etkisi gözlemlendi, bununla birlikte, et 30ml yağda pişirildiğinde ekmeğin hiçbir etkisi gözlenmemiştir. Köfteleri yağ, un, yumurta

karışımı hamuru ve ekmekle kaplamak, ısı transfer hızını değiştirebilir veya daha fazla hücrenin pişirme sırasında hayatta kalmasına izin verebilecek bir termal yalıtkan olarak işlev görebileceği bildirilmiştir. Gıda matrislerinde şekerler (yani karbonhidratlar) ve tuzlar gibi çözeltilerin dahil edilmesinin, yiyeceklerin su aktivitesini azalttığı ve dolayısıyla gıda kaynaklı patojenlerin termal direncini arttırdığını bildirmişlerdir. USDA-FSIS 0.32cm kalınlığında dana etlerinin 62,8°C merkez sıcaklıkta 3-4 dakika kadar, öğütülmüş dana etlerinin ise 71,1°C merkez sıcaklıkta 3 dakika kadar pişirilmesi gerektiğini önermektedir. Bu çalışmadaki veriler, 71,1°C'lik önerilen iç sıcaklığa ulaşmak ve dana etleri üzerinde bulunabilen shiga toksin üreten *E. coli*'de 5log'lık düşüş sağlamak için 1,5 dakikalık pişirme boyunca, ticari, düz yüzeyli yaklaşık 191,5°C'ye ayarlanmış elektrikli tava üzerindeki etkinliğini doğrulamışlardır.

Manios ve Skandamis (2014) [126] yılında yaptıkları çalışmada *Salmonella* ve *E.coli* O157:H7'nin yaşamı ve termal inaktivasyonu üzerine donmuş, çözünmüş sığır köftelerinde fırın ve ızgarada pişirme yöntemlerinin etkinliğini incelemiştir. 75 gün boyunca donmuş muhafaza edilen köftede hayatta kalmış olan *E. coli* O157:H7'nin 71°C fırında pişirilmesine rağmen 3.1log'lık patojenin inaktive olmadığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak her iki patojenin elimine edilmesi için gerekli etkin pişirme yönteminin fırın ve ızgarada 71°C'nin üzerinde olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada da yine saha çalışmaları kullanılmamıştır.

Lahou ve arkadaşlarının (2015) [127] yılında gerçekleştirdiği çalışmada çeşitli et ve et ürünlerinin tavada kızartılmasında *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *L. monocytogenes*'in termal inaktivasyonlarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, tüketiciler tarafından etin görsel olarak tamamen pişirildiği değerlendirilse bile tavada kızartma işleminden sonra hayatta kalan patojenlerin hâlâ mevcut olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bulaşma sonucunda kontamine olan gıdalarda risk teşkil eden *E. coli* O157:H7 halk sağlığı açısından oldukça önemlidir. Yapılan çalışmada, bu bilgiler doğrultusunda literatür taraması yapıldı ve saha araştırması ile veri toplandı. Elde edilen verilere göre kasap ve İnegöl köfte örneklerine *E. coli* O157:H7 inoküle edilip elektrikli ızgarada pişirilmesi yöntemiyle ısı işlem uygulanarak termal inaktivasyon araştırması yapıldı.

Kasap ve İnegöl köftelere yaklaşık 7 ± 1 logkob/g seviyesinde *E.coli* O157:H7 inokülasyonu yapıldı. İlk aşama olarak saha verileri doğrultusunda 140°C ızgara sıcaklığında 330saniye (5,5dk) pişirme işlemi yapıldı. Ortalama 64,3°C merkez sıcaklığa ulaşan köfte örneklerinde yapılan pişirme sonucunda sadece 3 logaritmalık azalma gözlemlendi ve mikrobiyolojik açıdan gerekli termal inaktivasyon sağlanamadı. 150°C'de 360s (6dk) pişirme işlemi sonucunda sadece 3 logaritmalık azalma gözlemlendi ve mikrobiyolojik açıdan gerekli termal inaktivasyon sağlanamadı. Daha sonra 160°C 330s (5,5dk) uygulanan ısı işlem sonrasında köfte merkez sıcaklığı 61,6°C olarak ölçüldü ve 3 logaritmalık *E.coli* O157:H7 inaktivasyonu sağlandı. Fakat kullanılan bu ızgara sıcaklığında da yeterli termal inaktivasyon sağlanamadığı için 170°C ve 180°C ızgara sıcaklığı kullanılmak üzere köfteler analize alındı. Yapılan çalışmada ızgara sıcaklıklarında dalgalanma gösterdiğinden dolayı gerekli inaktivasyon sağlanamamıştır ve merkez sıcaklıkları baz alınarak 170 ve 180°C ızgara sıcaklıklarında devam edilmiştir.

Kasap köfteye 7,18 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 bulaştırıldı ve 170°C ızgara sıcaklığındaki termal inaktivasyonunun tespiti yapıldı. Köfte merkez sıcaklığı 85°C'ye 06.54 dakikada ulaştı ve *E. coli* O157:H7 sayısı 1,41 logkob/g olarak bulundu. Başlangıç mikroorganizma sayısı ile arasında $5,77 \log_{10} \text{kob/g}$ lık fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Çizelge 4.4, Çizelge 4.6).

İnegöl köfteye 7,21 logkob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 bulaştırıldı ve 170°C ızgara sıcaklığındaki termal inaktivasyonunun tespiti yapıldı. Köfte merkez sıcaklığı 85°C'ye 06.46 dakikada ulaştı ve patojen sayısı 2,14 logkob/g olarak bulundu. Başlangıç mikroorganizma sayısı ile arasında $5,07 \log_{10} \text{kob/g}$ fark bulundu (Çizelge 4.5, Çizelge 4.6).

180°C ızgara sıcaklığında kasap köfteye 7,36 logkob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 bulaştırıldı. Köfte merkez sıcaklığı 80°C'ye 05:35 dakikada ulaştı ve patojen sayısı 2,28 logkob/g olarak bulundu. Başlangıç mikroorganizma sayısı ile arasında 5,08 logkob/g fark bulundu (Çizelge 4.7, Çizelge 4.9).

180°C'de pişirilmiş İnegöl köfteye 7,42 logkob/g seviyesinde patojen eklendi. 05.37 dakikada 85°C'ye ulaşmıştır. *E. coli* O157:H7 1,28 logkob/g olarak bulundu ve başlangıç patojen sayısı ile arasında 6,14 logkob/g fark bulundu (Çizelge 4.8, Çizelge 4.9).

Yaptığımız çalışma sonrasında 170°C ızgara yüzey sıcaklığında pişirilen kasap ve İnegöl köftelerdeki *E. coli* O157:H7'nin 5 logaritmalık termal inaktivasyonu 85°C olan köfte merkez sıcaklığında sağlanmıştır. 180°C ızgara yüzey sıcaklığında pişirilen kasap köftedeki *E. coli* O157:H7'nin 5 logaritmalık termal inaktivasyonu köfte merkez sıcaklığı 80°C'de sağlanmıştır. 180°C ızgara yüzey sıcaklığında pişirilen İnegöl köftedeki 5 logaritmalık termal inaktivasyon köfte merkez sıcaklığı 85°C'de sağlanmıştır. USDA-FSIS'in dana kıymalarında 71,1°C merkez sıcaklıkta 3 dakika kadar pişirilmesi gerektiğini önermektedir. Merkez sıcaklık 71,1°C sıcaklıkta 5 log₁₀kob/g'lık mikroorganizma inaktivasyonu sağlanması gerekmektedir. Fakat yaptığımız çalışmada kullandığımız elektrikli ızgara, kondüksiyonel olarak tek taraflı ısıtma prensibiyle çalıştığından dolayı 5 logaritmalık inaktivasyon için önerilen 71,1°C merkez sıcaklığında *E. coli* O157:H7'nin istenilen seviyede inaktif hale gelmediği tespit edilmiştir. Değişen ve gelişen dünyanın bir gerekliliği olarak yaşam tarzları da değişmiştir. Çalışan birey sayısının artması pratik yemek alışkanlıklarını da beraberinde getirmiştir. Günümüzde fastfood gıdalar en çok ve sık tüketilen gıdalar haline gelmiştir. Ülkemizde de fastfood gıdalara yakın olan köfte tüketiminin oldukça fazla olduğu görülmektedir. Genellikle ızgarada pişirilen köftelerin halk sağlığı açısından gıda güvenliğinin sağlanması büyük önem taşımaktadır. Gıda güvenliği açısından büyük bir risk teşkil eden gıda kaynaklı patojenlerin en önemlilerinden biri olan *E. coli* O157:H7'nin gıdalara bulaşmasına karşı üretimlerin HACCP'e ve GMP'ye uygun şekilde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Çalışmamız da bu konuda literatüre katkı sağlamıştır. Izgarada termal inaktivasyon konusunda daha fazla çalışma yapılması literatürün zenginleşmesini sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Tosun, D., Demirbaş, N., 2012, ‘‘Türkiye’de kırmızı et ve et ürünleri sanayiinde gıda güvenliği sorunları ve öneriler’’, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1), 93-101.
- [2] Direkel, Ş., Yıldız, Ç., Aydın, F.E., Emekdaş, G., 2010, ‘‘Mersin ili Yenişehir ilçesinde satışa sunulan çiğ kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin değerlendirilmesi’’, *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2), 8-14.
- [3] Dalgıç, A.C., 2013, ‘‘Gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemleri’’, Gıda Mikrobiyolojisi, 4.Baskı, Editör: Osman Erkmen, 505-538.
- [4] Buchanan, R.L., ve Edelson S.G., 1999, ‘‘Effect of pH-dependent, stationary phase acid resistance on the thermal tolerance of *Escherichia coli* O157:H7’’, *Food Microbiology*, 16: 447-458.
- [5] Lund, D., 2003, ‘‘Predicting the impact of food processing on food constituents’’, *Journal of Food Engineering*, 56(2003): 113-117.
- [6] Chhabra, A.T., Carter, W.H., Linton, R.H., Cousin, M.A., 2002, ‘‘A predictive model that evaluates the effect of growth conditions on the thermal resistance of *Listeria monocytogenes*’’, *International Journal of Food Microbiology*, 78(2002): 235-243.
- [7] Kalaç, U., 2016, ‘‘*Escherichia coli*’nin termal ölüm süresi (TÖS), D- ve z-değerlerinin ortama eklenen asetik asit ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak değişiminin belirlenmesi’’, Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, 1-2.
- [8] Çoksöyler, N., Avşaroğlu, M.D., 2013, ‘‘Isıl işlemlerle gıdaların korunması’’, Gıda Mikrobiyolojisi, 4.Baskı, Editör: Osman Erkmen, 207-222.
- [9] Cebiroğlu, H., Nazlı, B., 1999, ‘‘Dondurulmuş hamburger köfte ve diğer köfte çeşitlerinde enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı üzerine araştırmalar’’, *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(1): 107-121.
- [10] İnternet : Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention- CDC), 2019, ‘‘*Escherichia coli* and food safety’’ <https://www.cdc.gov/Features/ecoliinfection/>

- [11] İnternet : CDC(Centers for Disease Control and Prevention), 2014, ‘‘Questions and answers’’<https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>
- [12] Zorba, N.N., 2013, ‘‘Gıda kaynaklı invaziv enfeksiyonlar’’, Gıda Mikrobiyolojisi, 4.Baskı, Editör: Osman Erkmen, 125-152.
- [13] Karmali, M.A., Petric, M., Steele, B.T., Lim, C., 1983, ‘‘Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin producing *Escherichia coli* in stools’’, *The Lancet*, 619-620.
- [14] Tosun H., Gönül Aktuğ Ş., 2003, ‘‘*E.coli* O157:H7’nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalarda önemi’’, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(10), 10-17.
- [15] Erol, İ., 2007, ‘‘Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi’’, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilimdalı*, Ankara, 78-92.
- [16] Buchanan, R.L., Doyle, M.P., 1997, ‘‘Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Enterohemorrhagic *E.coli*’’, *Food İşTechnology*, 51(10): 69-76.
- [17] Halkman, A.K., 2013, ‘‘Gıda Mikrobiyolojisi II Ders Notları’’, *Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*, Ankara, 24-32. http://food.eng.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/256/2015/10/Halkman_g%C4%B1da_mik-2_gdm310.pdf
- [18] Dontorou, A., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Apostolou, I., Economou, V., Kansouzidou, A., Levidiotou, S., 2004, ‘‘Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece’’, *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 27(2004): 201-207.
- [19] Park, S., Worobo, R., Durst, R., 2010, ‘‘*Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A Literature Review’’, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(6): 481-502.
- [20] Silveira, N.F.A., Silva, N., Conteras, C., Miyagusku, L., Baccin, M. L. F., Koono, E., Beraquet, N. J., 1999, ‘‘Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers produced in Brazil’’, *Journal of Food Protection*, 62(11): 1333-1335.
- [21] Temelli, S., 2002, ‘‘ Gıda zehirlenmesine neden olan *E.coli* O157:H7 ve önemi’’, *Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 21(2002): 133-138.

- [22] Hajian, S., Rahimi, E., Mommtaz, H., 2011, ‘‘A 3-year of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, camel, sheep, goat, chicken and beef minced meat’’, *International Conference on Food Engineering and Biotechnology*, Singapore, 162-166.
- [23] Beuchat, L.R., 1999, ‘‘Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces applied to lettuce and the effectiveness of chlorinated water as a disinfectant’’, *Journal of Food Protection*, 62(8): 845-849.
- [24] Chapman, P.A., Cerdan Malo, A.T., Ellin, M., Ashton, R., Harkin, M.A., 2001, ‘‘*Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK’’, *International Journal of Food Microbiology*, 64(2001): 139-150.
- [25] Maule, A., 2000, ‘‘Survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in soil, water and on surfaces’’, *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 88: 71-78.
- [26] Alişarlı, M., Akman, H.N., 2004, ‘‘Perakende satılan kıymaların *Escherichia coli* O157 yönünden incelenmesi’’, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2): 65-69.
- [27] Rice E.W., Johnson, C.H., Wild, D.K., Reasoner, D.J., 1992, ‘‘Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in drinking water associated with a waterborne disease outbreak of hemorrhagic colitis’’, *Letters in Applied Microbiology*, 15: 38-40
- [28] Semenov, A.V., Franz, E., Bruggen, A.H.C., 2010, ‘‘COLIWAVE a simultion model for survival of *E.coli* O157:H7 in dairy manure and manure-amended soil’’, *Ecological Modelling*, 221(2010): 599-609.
- [29] Teo, Y., Raynor, T.J., Ellajosyula, K.R., Knabel, S.j., 1996, ‘‘Synergistic effect of high temperature and high pH on the destruction of *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7’’, *Journal of Food Protection*, 59(10): 1023-1030.
- [30] Caprioli, A., Morabito, S., Brugere, H., Oswald, E., 2005, ‘‘Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission’’, *Veterinary Research*, 36(2005): 289-311.
- [31] Reiss, G., Kunz, P., Koin, D., Keeffe, E.B., 2006, ‘‘*Escherichia coli* O157:H7 infection in nursing homes: Review of literature and report of recent outbreak’’, *Journal American Geriatrics Society*, 54(4), 680-684.
- [32] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2014a, ‘‘*E. coli*; questions & answers’’. <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>.

- [33] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2010, ‘‘Multistate outbreak of *E. coli* O157:H7 infections associated with Beef from National Steak and Poultry (Final update)’’. <https://www.cdc.gov/ecoli/2010/national-steak-poultry-1-6-10.html>.
- [34] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2009, ‘‘Multistate outbreak of *E. coli* O157:H7 infections associated with Beef from Fairbanks Farms (Final update)’’. <https://www.cdc.gov/ecoli/2009/beef-fairbanks-farms-11-24-2009.html>
- [35] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2014b, ‘‘Multistate outbreak of Shiga toxin- producing *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to Ground Beef (Final update)’’. <https://www.cdc.gov/ecoli/2014/o157h7-05-14/index.html>.
- [36] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2016, ‘‘Multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to beef products produced by Adams Farm (Final update)’’.<https://www.cdc.gov/ecoli/2016/o157h7-09-16/index.html>.
- [37] Luna, S., Krishnasamy, V., Saw, L., Smith, L., Wagner, J., Weigand, J., Tewell, M., Kellis, M., Penev, R., McCullough, L., Eason, J., McCaffrey, K., Burnett, C., Oakeson, K., Dimond, M., Nakashima, A., Barlow, D., Scherzer, A., Sarino, M., Schroeder, M., Hassan, R., Basler, C., Wise, M., Gieraltowski, L., 2018, ‘‘Outbreak of *E. coli* O157:H7 infections associated with exposure to animal manure in a Rural Community- Arizona and Utah, June- July 2017’’, *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, 67(23): 659-662.
- [38] CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2018, ‘‘Multistate outbreak of Shiga toxin- producing *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to Leafy Greens (Final update)’’. <https://www.cdc.gov/ecoli/2017/o157h7-12-17/index.html>.
- [39] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 2019, ‘‘Outbreak of *E. coli* infections linked to Romaine Lettuce (Final update)’’. <https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-11-18/index.html>.
- [40] Özarıslan, F., Duman, P., Çetin-Çoban, S., Barlas, G., Temel, F., 2018, ‘‘Aksaray, Nevşehir ve Niğde illerindeki ilçe okullarında Stafilokokal enteretoksin ve *Bacillus cereus* ilişkili gıda kaynaklı salgın, 2015’’, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 75(4): 399-408.

- [41] Şenses-Ergül, Ş., Sarı, H., Ertaş, S., Berberoğlu, U., Cesaretli, Y., Irmak, H., 2015, "Tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi", *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(3): 199-208.
- [42] Yıldırım, T., Sırıken, B., Yavuz, C., 2016, "Sığır kıyma ve köftelerinde *Salmonella spp.* varlığı", *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 87(1): 11-23.
- [43] Palermo, M.S., Exeni, R.A., Fernandez, B.C., 2009, "Hemolytic uremic syndrome: pathogenesis and update of interventions", *Expert Review of Anti Infective Therapy*, 7(6): 697-707.
- [44] Beutin, L., Krause, G., Zimmermann, S., Kaulfuss, S., Gleier, K., 2004, "Characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period", *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3): 1099-1108.
- [45] Eklund, M., 2005, "Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) findings from humans in Finland", Publications of the National Public Health Institute, 97-98.
- [46] Jamshidi, A., Bassami, M.R., Rasooli, M., "Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polimerase chain reaction in Mashhad, northeastern Iran", *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 9(1): 72-76.
- [47] Estrada-Garcia, T., Cerna, J.F., Paheco-Gil, L., Velazquez, R.F., Ochoa, T.J., Torres, J., DuPont, H.L., 2005, "Drug-resistant diarrheogenic *Escherichia coli*, Mexico", *Emerging Infectious Disease*, 11(8): 1306-1308.
- [48] Sezgin, E., 2013, "Aydın'da tüketime sunulan kıyma ve hamburger köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Aydın, 1,9-18.
- [49] Normanno, G., Parisi, A., Dambrosio, A., Quaglia N.C., Montagna, D., Chiocco, D., Celano, G.V., 2004, "Typing of *Escherichia coli* O157 strains isolated from fresh sausage", *Food Microbiology*, 21(2004): 79-82.
- [50] Akçamlı, E., 2008, "Konya ilinde pazarlarda açıkta satılan küflü peynirlerde enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığının araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 11-12.
- [51] Bauer, M.E., Welch, R.A., 1996, "Characterization of an RTX toxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7", *Infection and Immunity*, 64(1): 167-175.

- [52] Reitsma, C.J., Henning, D.R., 1996, ‘‘Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of cheddar cheese’’, *Journal of Food Protection*, 59(5): 460-464.
- [53] Chang, J.M., Fang, T.J., 2007, ‘‘Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7’’, *Food Microbiology*, 24(2007), 745-751.
- [54] Cagney, C., Crowley, H., Duffy, G., Sheridan, J.J., O’Brien, S., Carney, E., Anderson, W., McDowell, D.A., Blair, I.S., Bishop, R.H., 2004, ‘‘Prevalence and number of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland’’, *Food Microbiology*, 21(2004): 203-212.
- [55] Yuk, H.G., Marshall, D.L., 2003, ‘‘Heat adaptation alters *Escherichia coli* O157:H7 membrane lipid composition and verotoxin production’’, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9): 5115-5119.
- [56] Varela-Hernandez, J.J., Cabrera-Diaz, E., Cardona-Lopez, M.A., Ibarra-Velazquez, L.M., Rangel-Villalobos, H., Castillo, A., Torres-Vitela, M.R., Ramirez-Alvarez, A., 2007, ‘‘Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico’’, *International Journal of Food Microbiology*, 113(2007), 237-241.
- [57] adırcı, ., Sırıken, B., Inat, G., Kevenk, T.O., 2010, ‘‘The prevalence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in ground beef and raw meatball by immunomagnetic separation and the detection of virulence genes using multiplex PCR’’, *Meat Science*, 84(2010): 553-556.
- [58] İnternet: Halkman, A.K., Noveir, M.R., Doğan, H.B., 2001, ‘‘*Escherichia coli* O157:H7 serotipi’’, Sim Matbaacılık, Ankara. <http://eskisite.mikrobiyoloji.org/O157.htm>
- [59] Balpetek, D., 2009, ‘‘Bazı et ürünlerinde *E. coli* O157:H7 varlığının araştırılması’’, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 10-17.
- [60] Proesmans, W., 1996, ‘‘Typical and atypical hemolytic uremic syndrome’’, *Kidney and Blood Pressure Research*, 19: 205-208.
- [61] Boer, E., 1998, ‘‘Update on media for isolation of Enterobacteriaceae from foods’’, *International Journal of Food Microbiology*, 45(1998): 43-53.
- [62] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 1994a, ‘‘*E.coli* O157:H7 Procedure for Isolation and Identification from Stool Specimens, 487-490. <https://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/p0000445/p0000445.asp>

- [63] İnternet: CDC (Centers For Disease Control and Prevention), 1994b, ‘‘*Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Linked to Home-Cooked Hamburger, California, July 1993’’, 43(12), 213-216. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00026029.htm>
- [64] Noveir, M.R., Doğan, H.B., Halkman, A.K., 2000, ‘‘A note on *Escherichia coli* O157:H7 serotype in Turkish meat products’’, *Meat Science*, 56(2000): 331-335.
- [65] McCarthy, J., Holbrook, R., Stephens, P.J., 1998, ‘‘An Improved direct plate method for the enumeration of stressed *Escherichia coli* O157:H7 from food’’, *Journal of Food Protection*, 61(9): 1093-1097.
- [66] Chapman, P.A., Ashton, R., 2003, ‘‘An evaluation of rapid methods for detecting *Escherichia coli* O157 on beef carcasses’’, *International Journal of Food Microbiology*, 87(2003): 279-285.
- [67] Chapman, P.A., Ellin, M., Ashton, R., Shafique, W., 2001, ‘‘Comparison of culture, PCR and immunoassays for detecting *Escherichia coli* O157 following enrichment culture and immunomagnetic separation performed on naturally contaminated raw meat products’’, *International Journal of Food Microbiology*, 68(2001): 11-20.
- [68] Johnsen, G., Wasteson, Y., Heir, E., Berget, O.I., Herikstad, H., 2001, ‘‘*Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999’’, *International Journal of Food Microbiology*, 65(2001): 193-200.
- [69] Fratamico, P.M., Bagi, L.K., Pepe, T., 2000, ‘‘A Multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection and identification of *Escherichia coli* O157:H7 in foods and bovine feces’’, *Journal of Food Protection*, 63(8): 1032-1037.
- [70] Kuhnert, P., Dubosson, C.R., Roesch, M., Homfeld, E., Doher, M.G., Blum, J.W., 2005, ‘‘Prevalence and risk-factor analysis of Shiga toxigenic *Escherichia coli* in faecal samples of organically and conventionally farmed dairy cattle’’, *Veterinary Microbiology*, 109(2005): 37-45.
- [71] Ertaş, N., Yıldırım, Y., Karadal, F., Al, S., 2013, ‘‘Hayvansal gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7’nin önemi’’, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10(1): 45-52.
- [72] Bell, C., 2002, ‘‘Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)’’, *International Journal of Food Microbiology*, 78(2002): 197-216.

- [73] Wang, G., Doyle, M.P., 1998, "Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water", *Journal of Food Protection*, 61(6): 662-667.
- [74] Massa, S., Altieri, C., Quaranta, V., De Pace, R., 1997, "Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in yoghurt during preparation and storage at 4°C", *Letters in Applied Microbiology*, 24, 347-350.
- [75] Internet: CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 1994, "E. coli O157:H7 Procedure for isolation and identification from stool specimens, foodborne and diarrheal diseases branch, division of bacterial and mycotic diseases", *National Center for Infectious Diseases MS C-09 1600, Atlanta, 703, 487-490.*
<https://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/p0000445/p0000445.asp>
- [76] Harris, L.J., Farber, J.N., Beuchat, L.R., Parish, M.E., Suslow, T.V., Garrett, E.H., Busta, F.F., 2003, "Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, Growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 78-141.
- [77] McCabe-Sellers, B.J., Beattie, S.E., 2004, "Food safety: Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention", *Journal of the American Dietetic Association*, 104: 1708-1717.
- [78] Mojtaba, Y., Doug, K., 2007, "Are egg yolk antibodies an alternative to antibiotics?", *World Poultry*, 23(5): 23-25.
- [79] Clavero, M.R.S., Monk, J.D., Beuchat, L.R., Doyle, M.P., Brackett, R.E., 1994, "Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation", *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6): 2069-2075.
- [80] Harewood, P., Rippey, S., Montesalvo, M., 1994, "Effect of gamma irradiation on shelf life and bacterial and viral loads in hard-shelled clams (*Mercenaria mercenaria*)", *Applied and Environmental Microbiology*, 60(7): 2666-2670.
- [81] Olivera, B., Tatjana, L., 1997, "Occurrence of *E. coli* O157 and other verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in ground beef", World Congress on Food Hygiene Proceeding.
- [82] Wright, J.R., Sumner, S.S., Hackney, C.R., Pierson, M.D., Zoeklein, B.W., 2000, "Efficacy of ultraviolet light for reeducing *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider", *Journal of Food Protection*, 63(5): 563-567.

- [83] Öztürk, U., Gürbüz, Ü., Çalım, H.D., 2006, ‘‘Et ve et ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler ve halk sağlığı açısından önemi’’, *Türkiye 9.Gıda Kongresi*, Bolu, 617-620.
- [84] Akıllı, A., 1982-1983, ‘‘Ankara’da süper marketlerde satılan hazır kıymaların mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri ile tek tırnaklı hayvan etleri yönünden incelenmesi üzerine araştırmalar’’, *Etlik Veterinerlik Enstitüsü Dergisi*, 5(4-5): 125-158.
- [85] Delazari, I., Iaria, S.T., Riemann, H.P., Cliver D.O., Mori, T., 1998, ‘‘Decontaminating beef for *Escherichia coli* O157:H7’’, *Journal of Food Protection*, 61(5): 547-550.
- [86] Armitage, N.H., 1997, ‘‘Use of predictive microbiology in meat hygiene regulatory activity’’, *International Journal of Food Microbiology*, 36(1997): 103-109.
- [87] Yıldız, A., Karaca, T., Çakmak, Ö., Yörük, M., Başkaya, R., 2004, ‘‘İstanbul’da tüketime sunulan köftelerin histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi’’, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2): 53-57.
- [88] Kök, F., Keskin, D., Büyükyörük, S., 2007, ‘‘Çine köftelerinin mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi’’, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4(1): 29-33.
- [89] Zweifel, C., Zychowska, M.A., Stephan, R., 2004, ‘‘Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland’’, *International Journal of Food Microbiology*, 92(2004): 45-53.
- [90] Gökmen, M., Alışarlı, M., 2003, ‘‘Van İlinde tüketime sunulan kıymaların bazı patojen bakteriler yönünden incelenmesi’’, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1): 27-34.
- [91] Uzun, İ., 2019, ‘‘Köfte üretiminde farklı oranlarda fesleğen kullanımının heterosiklik aromatik amin oluşumu üzerine etkisi’’, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 1-2.
- [92] İnternet: T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019, ‘‘Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği’’ Tebliğ No: 2018/52. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/01/20190129-4.htm>
- [93] Keçeci, S., 2018, ‘‘Sığır eti köftelerinin bazı fizikokimyasal, tekstürel ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine farklı düzeylerde dondurarak kurutulmuş çeşitli sebze turşusu tozlarının etkilerinin belirlenmesi’’, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 5-7.

- [94] Kaymaz, Ş., 1987, ‘‘Ankara’da tüketime sunulan hamburgerlerde halk sağlığı yönünden önemli bazı bakterilerin saptanması’’, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 34(3): 577-593.
- [95] Ertaş, A.H., Kolsarıcı, N., Soyer, A., 1991, ‘‘Hamburgerlerin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine donmuş depolama sıcaklığı ve depolama süresinin etkisi üzerinde araştırma’’, *The Journal of Food*, 16(3): 217-223.
- [96] Sarımeahmetoğlu, B., Küplülü, Ö., Kaymaz, Ş., 1998, ‘‘Hamburger ve İnegöl Köftelerinden *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu’’, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45: 221-227.
- [97] İnternet: Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2011, ‘‘Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229m3-6.htm>
- [98] Wu, V.C.H., 2008, ‘‘A review of microbial injury and recovery methods in food’’, *Food Microbiology*, 25(2008): 735-744.
- [99] Çatar, C., 2012, ‘‘Çeşitli gıda örneklerine inoküle edilen *Salmonella enteritidis*’ın termal inaktivasyonu’’, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 12-19.
- [100] Fernandez, P.S., Peck, M.W., 1997, ‘‘Predictive model describing the effect of prolonged heating at 70 to 80°C and incubation at refrigeration temperatures on growth and toxigenesis by nonproteolytic *Clostridium botulinum*’’, *Journal of Food Protection*, 60(9): 1064-1071.
- [101] Carlson, T.R., Marks, B.P., Booren, A.M., Ryser, E.T., Orta-Ramirez, A., 2005, ‘‘Effect of water activity on thermal inactivation of *Salmonella* in ground turkey’’, *Food Microbiology and Safety*, 70(7): M363-M366.
- [102] Juneja, V.K., Eblen, B.S., Ransom, G.M., 2001, ‘‘Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in chicken broth, beef, pork, turkey and chicken determination of D- and z-values’’, *Food Microbiology and Safety*, 66(1): 146-152.
- [103] Fain, A.R., Line, J.E., Moran, A.B., Martin, L.M., Lechowich, R.V., Carosella, J.M., Brown, W.L., 1991, ‘‘Lethality of heat to *Listeria monocytogenes* Scott A: D-Value and z-Value Determinations in ground beef and turkey’’, *Journal of Food Protection*, 54(10): 756-761.

- [104] Juneja, V.K., Eblen, B.S., 1999, "Predictive thermal inactivation model for *Listeria monocytogenes* with temperature, pH, NaCl and sodium pyrophosphate as controlling factors", *Journal of Food Protection*, 62(9): 986-993.
- [105] Blacburn, C.W., Curtis, L.M., Humpheson, L., Billon, C., McClure, P.J., 1997, "Development of thermal inactivation models for *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 with temperature, pH and NaCl as controlling factors", *International Journal of Food Microbiology*, 38(1997): 31-44.
- [106] McQuestin, O.J., Shadbolt, C.T., Ross, T., 2009, "Quantification of the relative effects of temperature, pH and water activity on inactivation of *Escherichia coli* in fermented meat by meta-analysis", *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22): 6963-6972.
- [107] Dikici, A., 2008, "Şavak tulum peynirinin üretimi ve olgunlaştırılması sırasında *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella*'nın yaşam ve asit adaptasyon kabiliyetinin incelenmesi", Doktora Tezi, Elazığ, 42-46.
- [108] Çalıcıoğlu, M., Ateş, G., İlhak, İ., Bozkurt, P., Şeker, P., Dikici, A., 2006, "Kıymalı pide üretim koşullarının *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157:H7 patojenlerinin inaktivasyonu üzerine etkisi", Tübitak, 2006-198.
- [109] AOAC, 1990, *Official Methods of Analysis* (15th ed), Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- [110] Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö., 1993, "Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama klavuzu", Atatürk Üniversitesi Yayın No:751, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 318. Ders Kitapları Serisi No: 69. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi. 287s. Erzurum.
- [111] TSE 3136, 1978, "Et ve et mamüllerinde pH Tayini", Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- [112] Statistical Analyses System Inst. Inc. Cary. 8. Version, 1999.
- [113] Ahmed, N.M., Conner, D.E., Huffman, D.L., 1995, "Heat-Resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition", *Journal of Food Science*, 60(3): 606-610.
- [114] Amalaradjou, M.A.R., Baskaran, S.A., Ramanathan, R., Johny, A.K., Charles, A.S., Valipe, S.R., Mattson, T., Schreiber, D., Juneja, V.K., Mancini, R., Venkitanarayanan, K., 2010, "Enhancing the thermal destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef patties by trans-cinnamaldehyde", *Food Microbiology*, 27(2010): 841-844.

- [115] Ou, D., 2014, ‘‘Modelling of hamburger pan-frying for safety and quality’’, Yüksek Lisans Tezi, *Guelph Üniversitesi*, Kanada, 106-108.
- [116] Kim, Y., Kim, S., Chung, H., 2013, ‘‘Synergistic effect of propolis and heat treatment leading to increased injury to *Escherichia coli* O157:H7 in ground pork’’, *Journal Of Food Safety*, 34(2014): 1-8.
- [117] Aşçıoğlu, Ç., 2013, ‘‘Farklı pişirme yöntemlerinin sığır bonfilelerinin (*Longissimus dorsi*) besinsel ve kalite özellikleri üzerine etkisi’’, Yüksek Lisans Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Afyon, 5-8, 35-37.
- [118] Alfaia, C.M.M., Alves, S.P., Lopes, A.F., Fernandes, M.J.E., Costa, A.S.H., Fontes, C.M.G.A., Castro, M.L.F., Bessa, R.J.B., Prates, J.A.M., 2010, ‘‘Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat’’, *Meat Science*, 84: 769-777.
- [119] İnternet: United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, 2019, ‘‘Safe minimum internal temperature chart’’.
- [120] İlhak, O.İ., Dikici, A., Can, Ö.P., Şeker, P., Öksüztepe, G., Çalıcıoğlu, M., 2013, ‘‘Effect of cooking procedures of kiymalı pide, a traditional Turkish fast-food, on destruction of *Escherichia coli* O157:H7’’, *Meat Science*, 94(2013): 159-163.
- [121] Shen, C., Geornaras, I., Belk, K.E., Smith, G.C., Sofos, J.N., 2011, ‘‘Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in moisture-enhanced nonintact beef by pan-broiling or roasting with various cooking appliances set at different temperatures’’, *Journal of Food Science*, 76(1): 64-71.
- [122] Li, K., McKeith, A.G., Shen, C., McKeith, R., 2017, ‘‘A comparison study of quality attributes of ground beef and veal patties and thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 after double pan-broiling under dynamic conditions’’, *Foods*, 7(1): 1-13.
- [123] Brar, J.S., Waddell, J.N., Bailey, M., Corkran, S., Velasquez, C., Juneja, V.K., Singh, M., 2018, ‘‘Thermal inactivation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef with varying fat content’’, *Journal of Food Protection*, 81(6): 986-992.
- [124] Porto-Fett, A.C.S., Oliver, M., Daniel, M., Shoyer, B.A., Stahler, L.J., Shane, L.E., Kassama, L.S., Jackson-Davis, A., Luchansky, J.B., 2016, ‘‘Effect of deep-frying or conventional oven cooking on thermal inactivation of shiga toxin-producing cells of *Escherichia coli* in meatballs’’, *Journal of Food Protection*, 79(5): 723-731.

- [125] Luchansky, J.B., Port-Fett, A.C.S., Shoyer, B.A., Thippareddi, H., Amaya, J.R., Lemler, M., 2014, "Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli* cells in mechanically tenderized veal", *Journal of Food Protection*, 77(7): 1201-1206.
- [126] Manios, S.G., Skandamis, P.N., 2015, "Effect of frozen storage, different thawing methods and cooking processes on the survival of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 in commercially shaped beef patties", *Meat Science*, 101(2015): 25-32.
- [127] Lahou, E., Wang, X., De Boeck, E, Verguldt, Geeraerd, A., Devlieghere, Uyttendaele, M., 2014, "Effectiveness of inactivation of foodborne pathogens during simulated home pan fryinh of steak, hamburger or meat strips", *International Journal of Food Microbiology*, 206: 118-129.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : TOSUNCUK, Özge
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 08.11.1993 Uşak
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 538 923 04 50
e-mail : ozgetosuncukk@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Uşak Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Bölümü	2019
Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Bölümü	2016
Lise	Uşak Anadolu Lisesi	2011

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
09.2017-01.2018	Uşak Şeker Fabrikası	Vardiya Mühendisi
09.2016-02.2017	Uşak Şeker Fabrikası	Vardiya Mühendisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayımlar

-

Hobiler

Araştırma yapmak, tarihi ve doğa gezileri yapmak, yeni yerler keşfetmek, müzik dinlemek, kitap okumak.