

ANKARA PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN HAMBURGERLERDE *Escherichia* 0157:H7 KONTAMİNASYONU ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Dr. Murat BAŞ*, Prof. Dr. Türkan KUTLUAY MERDOL**

ÖZET

Bu çalışma Ankara' da fast-food hizmeti veren 4' ü dondurulmuş (I.grup), 4' ü kendi üretimi olan (II.grup) hamburger köftelerini kullanan toplam 8 işletmede sunulan hamburgerlerde E.coli O157:H7 varlığını tespit etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Her işletmeden 4 farklı periyod da 20 örnek olmak üzere toplam 160 örnek incelemeye alınmıştır. İncelemeye alınan toplam 160 örnekte zenginleştirme besiyeri olarak novobiocin eklenmiş mECbroth, selektif besiyeri olarak Fluorocult E.coli O157:H7Agar ve doğrulama için GLISA test kiti kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda dondurulmuş hazır hamburger köftesi kullanan işletmelerin hiçbirinde E.coli O157:H7 varlığına rastlanmazken, kendi üretimi olan hamburger köftelerini kullanan işletmelerin sadece birinde E.coli O157:H7 varlığı tesbit edilmemiştir. Bu grupta yer alan toplam 80 örneğin 17' sinde (E firmasına ait 12, F firmasına ait 3 ve G firmasına ait 2 örnekte) E.coli O157:H7 serotipinin varlığı pozitif bulunmuştur. İşletmelerin fiziksel alanlar, araçgereç, besin, personel ve servis gibi alanlarına ait hijyenik durumu "hijyen değerlendirme formu" yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda birinci grupta yer alan işletmeler toplamda % 80.0-89.0 arasında puan alırken, ikinci grupta yer alan işletmeler 45.0-80.0 arasında puan almışlardır. E.coli O157:H7 serotipinin pozitif bulunduğu işletmelerin hijyen değerlendirme formu sonuçları da son derece düşük saptanmıştır. Araştırmanın sonucu ışığında, fastfood işletmelerde hijyenik standart-

ların yükseltilmesi, özellikle yöneticilerden başlamak üzere personel eğitimine gereken önemin verilmesi, satın alma aşamasından servis aşamasına kadar geçen tüm aşamalarda hijyen standartlarının uygulanması ve kesim sırasındaki fekal kontaminasyon riskinin yüksek olması nedeniyle mezbahaların çok iyi kontrol edilmesi ve bu serotipin varlığı hakkında daha farklı ürünlerde de çalışma yapılması gerektiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli O157:H7, hamburger; fast-food*

ABSTRACT

Escherichia coli O157:H7 Contamination in Hamburgers Served at FastFood Restaurants in Ankara

The present study was designed to investigate the existance of E.coli O157:H7 in 4 fastfood restaurants that used frozen hamburger patties (group I) and 4 fastfood restaurants that used self produce hamburger patties (group II) in Ankara. A total of 160 samples were examined during 4 different periods taken from the fastfood restaurants (20 samples from each restaurants). The mECbroth with novobiocin as an enrichment agar; Fluorocult E.coli O157:H7 agar as a selective agar and GLISA test kits for confirmation were used in 160 samples. In the fastfoods restaurants that used frozen hamburger patties existence of E.coli O157:H7 have not been found. On the other hand only in one of the fastfood restaurants that used self produce hamburger patties E.coli O157:H7 has not been found. In 17 samples out

* Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Öğretim Görevlisi

** Hacettepe Üniversitesi Sağlık Teknolojisi Yüksekokulu Beslenme ve Diyetetik Bölümü Öğretim Üyesi

of 80 (12 at E restaurant, 3 at F restaurant and 2 at G restaurant samples) presence of *E.coli* O157:H7 serotype have been found positive. Hygienic status of the restaurants was determined by "hygienic evaluation checklist". According to this evaluation restaurants in group I scored 80.0-89.0 % and restaurants in group II scored 45.0-80.0 %. In the restaurant where existence of *E.coli* O157:H7 serotype were found positive, result of hygienic evaluation checklist has been found to be very low. As a conclusion it can be said that hygienic standarts of fastfood restaurants has to be improved and hygienic control and principal has to be applied from purchasing to service proseses. Slaughterhouses shoould be checked regularly because of the high risk of fecal contamination especially during cutting process. In addition importance should be given to the education of directors and personals education and finally it is also necessary to investigate the existance of this serotype in different products.

Key words: *Escherichia coli* O157:H7, hamburger patties, fast-foods

GİRİŞ

Escherichia coli ilk kez 1885 yılında Dr.Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarından izole edilmiş ve önemli insan patojeni olarak tanımlanmıştır. Bundan yıllar sonra geniş çapta çeşitli besinleri kapsayan besin kaynaklı hastalıklardaki ciddi hastalık ve hatta ölüme neden olan *Enterohemorojenik Escherichia coli* (EHEC) tanımlanmıştır. *Escherichia coli* sıklıkla doğumdan birkaç gün sonra bebeklerin sindirim sistemine yerleşmektedir. İnsanların ve sıcak kanlı hayvanların normal barsak florasının zararsız üyeleridir. Bununla birlikte, *Escherichia coli*'nin 5 farklı patojenik serotipi mevcuttur. Bunlar;

1. Enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC)
2. Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC)
3. Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC)

4. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC)
5. Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC)'dir (1,2).

Enterohemorajik *Escherichia coli*, ciddi semptomlar veren sitotoksinler üretir. Sitotoksinler (Stx) EHEC' in karakteristik tanımlayıcı ve ana hastalık yapıcı (virülans) faktörüdür. Bu etkili sitotoksin EHEC ile enfekte olmuş kişilerdeki birçok semptom ve ölüme kadar uzanan tabloya rehberlik eden faktördür. Sitotoksinler; Stx1 ve Stx2 olarak adlandırılan immünolojik olarak çapraz reaktif özelliği olmayan iki majör grubu kapsar. Tekli EHEC nesli yalnızca Stx1, Stx2 veya toksinlerin her ikisini ya da Stx2' nin çoklu formlarını içerebilmektedir. EHEC' deki Stx1 toksini *Shigella dysenteriae* toksinlerine benzer. Toksinler *Escherichia coli*'nin sitotoksin üreteni veya VTEC olarak bilinirler ve öldürücü vero hücrelerden oluşurlar. Bu toksinler intestinaldeki hücreleri yok ederek insan kolonunda hemorajik kolite (HK) neden olurlar. Bu kolit şiddetli karın ağrısı ve diyareyle karakterizedir. Diyare başlangıçta sulu ve sonrasında kanlı şekildedir. Hastalık genellikle kendiliğinden geçer ve yaklaşık 8 gün devam eder. HK vakalarının yaklaşık %15' inde, ki bunlar genellikle çocuklardır, hemolitik üremik sendrom (HUS) gelişir. Bu hemolitik anemiyle karakterizedir ve böbrek hasarıyla sonuçlanabilmektedir. Toksin beyine ulaşırsa koma ve genellikle ölüm meydana gelir. Tam tersine yaşlılarda trombotik trombositopenik purpura (TTP) gelişir ve yaklaşık % 50 oranında mortaliteyle sonuçlanır (3-11).

E.coli O157:H7 en iyi bilinen EHEC neslidir. Enfeksiyon dozu 10100 hücre arasındadır. Az pişmiş etler, pastörizasyon sonrasında kontamine olmuş süt ürünleri, elma suyu ve direkt hayvan teması enfeksiyonun yaygın kaynaklarıdır. Organizma birçok hayvan çeşidinde ve evcil hayvanlardan da izole edilmiştir. *E.coli* O157:H7 genellikle birçok nesilden farklı olarak 44-45 °C' de çoğalamaz ve sorbitolü fermente edemez *E.coli* O157:H7 Amerikada' ki hamburger kaynaklı besin zehirlenmelerinin büyük çoğunluğuyla birinci derecede ilişkilidir. En geniş zehirlenme 1996 yı-

ında Japonya' da meydana gelmiştir ve 9000' den fazla kişi zehirlenmiş ve 11 kişi hayatını kaybetmiştir. 1997' de İskoçya' da kasaptan alman kontamine etlerden meydana gelen zehirlenme olayında 280 kişi etkilenmiş ve 20 kişi hayatını kaybetmiştir (12-16).

E. coli O157:H7'nin sorbitol fermentasyonu, (glukronidaz aktivitesi ve enterohemolisin üretimi biyokimyasal özellikleri olarak fark yaratır. İnsan orijinli *Escherichia coli* izolatlarınının %90' ı 24 saat içinde sorbitole fermente olurken, *E. coli* O157:H7 sorbitole fermente olmamaktadır. Bununla birlikte *Escherichia coli*' nin %90' ı hızlı florijenik tayininin temeli olan, (glukronidaz enzimine sahiptir. Bu saptamada kullanılan 4metilumbeliferon glukronid indikatörü, fluorojenik bir ürün oluşturmak için (glukronidaz ile hidrolize olur. *E. coli* O157:H7 (glukronidaz üretmez. Bu nedenle organizma 4metilumbeliferon glukronid indikatörü ile saptanamaz (17).

Escherichia coli'nin doğal ve birincil kaynağı; insanların ve diğer sıcak kanlı hayvanların intestinal yoludur. İnsanlardaki *Escherichia coli* enfeksiyonları; kontamine besinler yoluyla kişiden kişiye temasla ve hayvanlardan direkt olarak taşınır. Yabani ve çiftlik hayvanları vasıtasıyla çevrenin (toprak veya su) yaygın fekal kontaminasyonu *E. coli* O157:H7'nin devamlı kaynağını sağlar ve bundan dolayı çeşitli çiğ besinlerde yaygın olarak bulunur. *Escherichia coli*' nin birçok sero grubu memelilerin bağırsaklarında zararsız ve doğal olarak bulunur. Fakat diğer türleri insan ve hayvanlar için patojendir. Kedi ve köpek gibi evcil hayvanlar insanlardaki patojenik tipleri içeren *Escherichia coli*' nin sero gruplarını (0550111 ve 0128 gibi) içerirler. Diğer evcil hayvanları içeren sığır, domuz, koyun, onların yavruları ve kümes hayvanlarındaki *Escherichia coli*' de normal floranın üyeleridir. Fakat insanlardaki zararsız nesillerden farklı floraya sahiptirler (1,18).

Çevredeki *E. coli* O157:H7 taşınım döngüsü genellikle kontamine sığır dışkıları tarafından oluşur. Sığırlar *E. coli* O157:H7' nin majör rezervi olarak kabul edilmektedir. Birçok zehirlenme va-

kasında sığır eti ve ürünleri önemli yer tutmaktadır. Sığırla ilişkili ürünler ve personelden kaynaklanan kontaminasyonlar riskin artmasına neden olmaktadır. Vakaların yaklaşık %10' unda kişisel kontaminasyon mevcuttur. Uzun süreli işlem gerektiren yiyeceklerle kişisel taşınım %22' ye kadar çıkabilmektedir. İkincil vakaların ortaya çıkması 12 hafta kadar sürebilmektedir. Çiğ süt, klorlanmamış su, elma suları, mayonez, yoğurt, salam, patates, yonca filizi ve marul gibi sebzeler de *E. coli* O157:H7 taşınımıyla ilişkilidir. Özellikle tavuk ve yumurtalarının *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarıyla ilişkisi bulunmamaktadır. Balık ve deniz ürünleri ile *E. coli* O157:H7 zehirlenmesine ilişkin rapor mevcut değildir (1,19-26).

Besin kaynaklı *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının ortaya çıkışında elma şarabı, fermente sosler, mayonez ve su gibi pek çok besin etken olmasına rağmen potansiyel olarak en sıklıkla rastlanılan besinin sığır etinden yapılan köfteler olduğu belirtilmektedir. Bu besinden yapılan hazır yiyeceklerin dağıtımı esnasındaki depo koşulları *E. coli* O157:H7' nin yayılmasında etken rol oynayabilmektedir. Bu tür hazır gıdalar soğuk taşıma araçları ile restoranlara getirilmekte olup, gıda içerisindeki mevcut *E. coli* O157:H7 donmuş sığır eti köftelerinde hücre sayısında çok küçük bir azalmayla 9 aya kadar canlı kalabilmektedir. Sığır etinden yapılan köftelerin depolama sıcaklığının daha sonraki dönemde de *E. coli* O157:H7' nin ısı toleransını etkilediği belirtilmektedir. Dondurulmuş köftelerdeki mikroorganizmalar 15°C'de depolanan sığır eti kıymasındaki mikroorganizmalardan daha fazla ısı toleransına sahiptirler. Aynı şekilde, sığır eti kıymasındaki *E. coli* O157:H7' nin asit toleransı depolama koşullarından etkilenmekte, bununla birlikte 4 veya 20°C 'de depolamadan önce 4 saat 15°C'de inkübasyonu yaşayan mikroorganizmaları sentetik gastrik sıvıya karşı duyarlı kılmaktadır. Bu veriler, bu tür gıdaların dondurulmasından çok buzdolabı ısısında saklanmasıyla ilgili koşullara karşı patojenin duyarlılığını arttırdığını ortaya koymaktadır. Birkaç çalışma dışında, dondurma işlemi ve düşük sıcaklıkta depolamanın sığır etinden yapılan kıymalardaki *E. coli* O157:H7 kültürleri üze-

rine etkisine dair çok fazla veri bulunmamaktadır (27).

E.coli O157:H7' nin fastfood zincirindeki hamburgerlerle ilişkili ilk vakası 1982 yılında meydana gelmiştir. Enfeksiyonun ana kaynağı devam eden yıllarda sığır ürünlerinden meydana gelen vakalarla devam etmiştir *E.coli O157:H7* nedeniyle oluşan seyrek enfeksiyonların görülme sıklığı izolasyon yöntemindeki gelişmelerle birlikte artmaya başlamıştır. Birçok bölgede *E.coli O157:H7* dışıda rutin olarak bakılan *Shigella* türlerinden daha fazla izole edilmektedir ve bugün *Campylobacter* ve / veya *Salmonella spp.*' den sonra en çok izole edilen ikinci veya üçüncü patojendir (7,19,20,28,29).

Bu araştırma Ankara piyasasında tüketime sunulan hamburgerlerde *E.coli O157:H7* varlığını saptamak amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ ve ARAÇLAR

Örnekleme

Ankara piyasasında faaliyet gösteren fastfood işletmeleri araştırmanın genel örneklemini oluşturmuş, işletmeler rastgele seçilmiş ve örnek alınan işletmeler iki grup altında sınıflandırılmıştır.

I.Grup: Farklı firmaların ürettiği dondurulmuş hazır hamburger eti kullanan fastfood işletmeler

II.Grup: Kendi üretimi olan dondurulmamış, normal soğutucu şartlarında saklanmış hamburger eti kullanan işletmeler

Her grupta 4 işletme yer almış ve toplam 8 işletmede çalışma yürütülmüştür. Herbir işletmeden dört hafta boyunca, haftada bir gün 5' er ve toplamda 20 hamburger örneği alınmıştır.

Tüketim aşamasında alınan hamburgerler, mikrobiyolojik analize uygun steril kaplar içerisine alınıp, 0-4 °C' deki konteyner içerisinde Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler he-

men çalışmaya alınmış ve örneklerin incelenmesinde, %99,9 hassasiyet ve %99,4 spesifliğe sahip GLISA (MERCK) (Gold Labelled Immuno Sorbent Assay) testi kullanılmıştır (30).

Mikrobiyolojik Yöntem

Zenginleştirme

Zenginleştirme besiyeri olarak diğer mikroorganizma florasını inhibe etmek amacıyla novobiocin eklenmiş mEC-broth (MERCK) agarı kullanılmıştır. Agardan '8.4' g tartılarak erlene aktarılmış ve 225 mL distile su ilave edilerek besiyeri hazırlanmıştır. Herbir erlenin ağzına gazlı bez ve cam pamuğu tıkanmış, üzerleri otoklav kağıdı ve bantı ile sıkıca kapatılmıştır. Son işlem olarak besiyerleri otoklavda 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir.

Doğrulama

Fluorocult *E.coli O157:H7* Agar (MERCK) balon joje içerisine 55 g tartılıp 1 litre distile su ile homojenize edilmiştir. Balonun ağzına gazlı bez ve cam pamuğu tıkanmış, üzerleri otoklav kağıdı ve bantı ile sıkıca kapatılmıştır. Son işlem olarak otoklavda 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir. Steril edilen besiyeri herbir petriye yaklaşık 20 mL olacak şekilde aktarılmıştır. Kullanılan tüm malzemeler her çalışma öncesinde 121 °C' de 15 dakika süreyle sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Analizi yapılacak herbir hamburger 121 °C' de 15 dakika süreyle sterilize edilmiş çelik blender ile homojenize edilip, 25 g örnek alınarak 225 mL novobiocin eklenmiş mEC-broth (Merck) besiyeri ile homojenize edilerek 37 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir. Tanımlanan *E.coli O157:H7*' nin doğrulanması için zenginleştirme kültüründen fluorocult *E.coli O157:H7* Agar (MERCK) besiyerine sürme yapıp 37 °C' de 24 saat inkübasyon yapılmış ve inkübasyon sonucunda 15 adet renksiz şüpheli koloni alınıp 0.2 mL saf su içinde çözdürülerek kullanımdan 30 dakika önce oda sıcaklığına getirilmiş GLISA test kitinin örnek yükleme bölmesine aktarılarak 20 dakika beklenmiş ve *E.coli O157:H7*' nin varlığı tesbit edilmiştir (30).

Hijyen değerlendirme formu uygulanması

Değerlendirme, Ciğirim ve Beyhan (31) tarafından geliştirilen "Hijyen Değerlendirme Formu"nun fastfood işletmelere adaptasyonu ile yapılmış ve değerlendirme 100 üzerinden puanlandırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Tablo 1' de hamburger köftesi olarak hazırdondurulmuş köfte kullanan işletmelerin *E.coli* 0157:H7 açısından mikrobiyolojik sonuçları yer almaktadır. Bu grupta yer alan hiçbir işletmenin hamburgerlerinde *E.coli* 0157:H7 serotipine rastlanmamıştır.

E.coli 0157:H7 serotipi gibi özel serotiplerin geleneksel kültür yöntemleriyle saptanması son de-

rece zor olmasının yanında, araştırmacıyı yanıltıcı özellikler gösterebilmektedir. Manafi and Kreamsmaier (32) *E.coli* 0157:H7 serotipini aşılardıkları 40 besin örneğinde GLISA test kiti ve geleneksel kültür yöntemlerinin karşılaştırmasını yapmışlar ve geleneksel kültür yöntemlerinde *E.coli* 0157:H7 serotipinin doğrulanmasındaki zorluğun GLISA test kiti gibi immünolojik testlerin kullanımıyla aşılabileceğini rapor etmişlerdir.

Raccach ve arkadaşlarının (34) *E.coli* 0157:H7 serotipi sayısına dondurma işleminin etkisi üzerine yaptıkları araştırmada; 18 °C' de 24 saat depolamanın *E.coli* 0157:H7 serotipi sayısında %56, 168 saat depolamanın %96 oranında azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir. Bunun aksine Padhy ve Doyle (35) yaptıkları araştırma-

Tablo 1. Hazır-Dondurulmuş Hamburger Köftesi Kullanan İşletmelerin Ürünlerindeki *E.coli* 0157:H7 Varlığı

Firma	1. Periyod		2. Periyod		3. Periyod		4. Periyod		Toplam			
	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	%	S	%
A	5	-	5	-	5	-	5	-	20	100.0	-	-
B	5	-	5	-	5	-	5	-	20	100.0	-	-
C	5	-	5	-	5	-	5	-	20	100.0	-	-
D	5	-	5	-	5	-	5	-	20	100.0	-	-
Toplam	20	-	20	-	20	-	20	-	80	100.0	-	-

Tablo 2. Kendi Üretimi Olan Hamburger Köftelerini Kullanan İşletmelerin Ürünlerindeki *E.coli* 0157:H7 Varlığı

Firma	1. Periyod		2. Periyod		3. Periyod		4. Periyod		Toplam			
	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	%	S	%
E	2	3	3	2	1	4	2	3	8	40.0	12	60.0
F	5	-	4	1	4	1	4	1	17	85.0	3	15.0
G	4	1	5	-	5	-	4	1	18	90.0	2	10.0
H	5	-	5	-	5	-	5	-	20	100.0	-	-
Toplam	16	4	17	3	15	5	15	5	63	78.7	17	21.3

Tablo 3. İşletmelerin Hijyen Değerlendirme Formu Sonuçları

Firma	Depolama % puan	Üretim % puan	Bulaşık ve Çöp % puan	Tuvalet ve diğer alanlar % puan	Personel % puan	Besin % puan	Servis % puan	Toplam % puan
A	84.8	86.9	100.0	100.0	73.6	70.6	83.3	87.0
B	82.6	78.2	100.0	89.3	84.2	52.8	66.6	80.0
C	84.8	86.9	100.0	100.0	84.2	70.6	83.3	89.0
D	86.9	86.9	100.0	100.0	84.2	70.6	83.3	87.5
E	43.5	41.3	92.0	32.1	31.6	70.5	50.0	45.0
F	56.5	56.5	100.0	64.2	36.8	64.7	66.6	58.0
G	56.5	43.5	100.0	50.0	42.1	58.8	66.6	53.5
H	82.6	78.2	100.0	89.3	84.2	52.8	66.6	80.0

da 80 °C' de dondurulan kıyma içerisinde *E.coli* 0157:H7 popülasyonunun önemli bir değişikliğe uğramadığını rapor etmişlerdir.

Çalışma örneğimizde yer alan dondurulmuş hamburger köftelerinin hiçbirinde pozitif sonuç elde edilmezken, pozitif sonuçlar dondurma işlemine tabi tutulmayan hamburger köftelerinde elde edilmiştir. Bu sonuç Raccach ve arkadaşlarının (34) yaptığı çalışmaya paralel bir sonuçtur.

E.coli 0157:H7 serotipi ile ilişkili zehirlenme vakalarının büyük çoğunluğu az pişmiş sığır etleri ve daha az sıklıkla pastörize edilmemiş sütler ile ilişkilidir. *E.coli* 0157:H7 serotipinin karkasın yüzülmesi sırasında hayvanın post, deri ve bağırsak bölgesinden ete bulaşabileceği belirtilmektedir. Sığırlar patojenin yayılmasındaki etkileri nedeniyle birçok çalışmanın temel odak noktası olmuştur. Çünkü sığır dışkısı ile kontamine olmuş et ve et ürünleri birçok zehirlenmenin ana kaynağını teşkil etmektedir (1,36-40).

Türkiye' de *E.coli* 0157:H7 serotipinin besinlerdeki bulunma sıklığı üzerine yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Türkiye' de 80 sığır dışkısı üzerinde yapılan çalışmada 4 dışkı örneğinde *E.coli* 0157:H7 serotipinin varlığı saptanmıştır. Aynı çalışmada 60 sığır kıyması incelemeye alınmış ve *E.coli* 0157:H7 serotipine rastlanmamıştır (33).

Gönül (41) tarafından yapılan başka bir araştırmada 20 çiğ süt ve peynir örneğinde SMAC agar

besiyerinde *E.coli* 0157:H7 serotipi aranmış ve şüpheli izolatlar için O157 latex kit (Oxoid) kullanılmıştır. Sonuçlara göre sadece bir peynir örneğinde *E. coli* 0157 izole edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada 100 hamburger köftesi ve 100 İnegöl köftesi örneğinde *E.coli* 0157:H7 serotipi aranmış ve bu serotipin varlığına rastlanılmamıştır. Ancak 2 hamburger ve 5 İnegöl köftesinde *E.coli* 0157:H varlığını göstermişler ve bu 7 izolatın tümünün verotoksijenik olduğu rapor edilmiştir (42).

Aralık 1992 ve Şubat 1993 tarihleri arasında Washington' da *E.coli* 0157:H7 serotipi ile kontamine hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan salgında toplam 501 vaka rapor edilmiştir. Salgın sonucunda 3 kişi hayatını kaybetmiştir. Japonya' nın Urawa kentinde 1990 yılında meydana gelen salgında ise 268 kişide 2' si hemolitik üremik sendrom sonucu hayatını kaybetmiştir. Bu salgının *E.coli* 0157:H7 serotipi ile kontamine olmuş sudan kaynaklandığı rapor edilmiştir. Takip eden yıllarda ise Oku şehrinde bir ilkokulda oluşan salgında 138 kişi etkilenmiş ve 2 çocuk hemolitik üremik sendrom sonucu hayatını kaybetmiştir (24,43).

Amerika' da her yıl *E.coli* 0157:H7 enfeksiyonlarının neden olduğu yaklaşık 20.000 diyare vakası olduğu belirtilmektedir. Ülkemizde ise bu konuda 1991 yılında yapılmış bir çalışmada 708 diyareli ve 100 sağlıklı bireyin dışkılarında *E.coli* 0157:H7 serotipine rastlanılmamıştır (44).

Kuzey Amerika' da taze etlerden *E.coli* 0157:H7 serotipi izolasyonu amacıyla sığır kıyması, domuz, kuzu ve tavuk etlerinden oluşan 896 örnek incelenmiştir. Sığır kıyması örneklerinin %3.7' sinde, kuzu eti örneklerinin %2.0' sinde *E.coli* 0157:H7 izole edilmiştir. Tavuk ve domuz etlerindeki izolasyon oranı ise %1.5 olarak rapor edilmiştir (45).

Araştırmaya katılan işletmelere ait "Hijyen Değerlendirme Formu" sonuçları Tablo 3' de verilmiştir. Depolama alanlarından fastfood işletmelerin aldığı puanlar 43.5-86.9 arasında değişmektedir. Birinci grupta yer alan D işletmesi depolama alanlarından en yüksek puanı alırken, ikinci grupta yer alan E firmasına ait depolama puanı (43.5) son derece düşük olarak saptanmıştır. Depolama alanlarında karşılaşılan en büyük eksikliklerin başında kuru depolarda çalışır durumda termometrelerin olmayışı, pişmiş ve pişmemiş yiyeceklerin aynı depolarda saklanması, depoların yeterli derecede izolasyona sahip olmaması, rafların ve zeminin yeterli derecede temiz olmayışı gelmektedir.

Depolara konulan yiyeceklerin uygun şekilde yerleştirilmesi, her zaman depoya ilk giren malın ilk olarak depodan çıkması yiyeceklerin hijyenik kalitesini etkileyen bazı etmenlerdir. Bununla birlikte depolarda etkin şekilde haşere ve kemirgen kontrolünün yapılması gerekmektedir. Sıcaklık ve nem kontrolü ile mikrobiyolojik risk yaratan tehlikelerin yiyeceklerde çoğalma ortamları engellenmiş olur (46).

Tablo 3' de fastfood işletmelerin hijyen değerlendirme formundan aldıkları sonuçlar yer almaktadır. Depolama alanlarının değerlendirilmesinde işletmelerin aldıkları puanlar 43.5-86.9 arasında yer almaktadır. Üretim alanlarının değerlendirilmesinde en düşük puanı E firması (41.3), en yüksek puanı A, C ve D firmaları almıştır (86.9). Toplam puanlarda en düşük puanı E firması (45.0) ve en yüksek puanı C firması (89.0) almıştır. İkinci grup içerisinde yer alan H firması kendi grubu içerisinde en yüksek toplam puana sahip firma olarak ön plana çıkmaktadır (80.0).

Ayrıca pozitif sonuçların personel, araçgereç ve fizik alanlardaki yetersizlik sonucu oluşan kroskontaminasyon nedeniyle de oluşabileceği göz önüne alınmalıdır. Pozitif sonuçların yer aldığı ikinci gruptaki işletmelerin hijyen değerlendirme formundan aldıkları puanlar da son derece kötü durumdadır (45.058.0). Özellikle personel ve üretim alanlarının hijyenik kalitesi bu grupta son derece düşüktür.

İşletmelerin üretim alanlarına ait puanları birinci grupta yer alan işletmelerde 78.2-86.9, ikinci gruptaki işletmelerde 41.3-78.2 arasında değişmektedir. Üretim alanlarında kroskontaminasyonu önlemenin en etkili yolu hazırlama aşamasında tüm yiyecek gruplarının ayrı tezgahlarda hazırlanmasıdır. Özellikle ikinci grupta yer alan işletmelerin çoğunluğunda çiğ et ve sebzelerin aynı hazırlama alanlarında yer alması kontaminasyon riski yaratması açısından risk taşımaktadır. Pişirme işlemi, yiyeceklerde bulunan biyolojik risklerin yok edilmesi açısından kritik bir noktadır. Hiçbir işletmede yiyeceklerin pişirme sırasında iç sıcaklığı ölçülmemektedir. Yiyeceklerde bulunan biyolojik risklerin yok edilmesi için özellikle et grubuna ait yiyeceklerde iç sıcaklığın 68-74 °C ve üzerine ulaşması gerekmektedir. Et ve sebze doğrama amacıyla kullanılan tahta kütüklerin yekpare ahşap malzemedan olması gerekmektedir. Kütüklerde bulunan çatlaklar, özellikle bakterilerin bu alana yerleşerek çoğalması için uygun bir ortam yaratır. Bu nedenle özellikle et kütüklerinin günlük olarak sabunlu ılık suyla yıkanması ve kuruduktan sonra tuzlanması gerekmektedir (47).

Bulaşık ve çöp alanlarının değerlendirildiği bölümden birinci grupta yer alan işletmelerin tümü tam puan alırken, ikinci grupta yer alan işletmeler 92.0-100.0 arasında puanlar almışlardır. Bu alanlarda yapılan incelemelerde, hijyenik standartların yeterli düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Çöpler besinlerin kontamine olması açısından büyük risk yaratır. Özellikle haşereler ve kemirgenler için yiyecek kaynağı olan çöpler, aynı zamanda bu canlılar vasıtasıyla birçok enfeksiyon tehlikesinin yayılmasına neden olurlar. Bu ne-

denle çöplerin uygun olarak toplanması ve yiyecek hazırlama alanlarından uzak yerlerde bulunması gerekir. Çöplerin sızıntı yapmayan, çöp poşeti konulmuş varillerde ve sıcaklığı 4 0C' nin altında olan çöp odalarında muhafaza edilmesi gerekmektedir. Çöp varilleri kendileri için ayrılmış alanlarda deterjanlı sıcak su ile yıkanmalı ve dezenfekte edilmelidir (48).

Personele ait tuvalet, duş ve soyunma alanlarının incelendiği bölümde alınan puanlar 32.1-100.0 arasında değişmektedir. Birinci grupta yer alan işletmelerde bu alanlara gereken özenin gösterildiği belirlenirken, ikinci grupta yer alan işletmelerde bu alanlarda iyileştirmelerin yapılması gerektiği gözlenmiştir. Personele ait yeterli sayıda tuvalet ve duş alanlarının bulunması ve personelin soyunma dolaplarının düzenine gereken önemi vermesi gereklidir.

Çalışan personelin hijyenik durumunun değerlendirildiği bölümden birinci grupta yer alan işletmeler 73.6-84.2, ikinci grupta yer alan işletmeler 31.6-84.2 arasında puan almışlardır. Yiyecek hazırlamada görev alan personelin insan sağlığı yönünden önemli sorumlulukları vardır. Personelin hijyenine göstereceği önem hem bir zorunluluk hem de ahlaki bir gerekliliktir. Personelin yiyecek servisi alanlarında el, vücut ve kıyafet temizliklerine özen göstermeleri, birçok patojen mikroorganizmanın yiyeceklere geçişini engelleyecektir (49).

Yapılan incelemelerde; personelin yiyecek üretim alanlarında sigara kullandıkları, elleriyle çiğ ve pişmiş yiyeceklere dokundukları, kıyafetlerinin yeterli hijyenik standartlarda olmadığı ve birçok işletmede personelin yedek iş giysisine sahip olmadığı belirlenmiştir.

Öksürük ve nezle durumları, yiyecekte çok uzakta olsa bile personelden enfeksiyon geçişine neden olabilir. Eller öksürükten, hapşırıktan ve mendil ile burun temizliği yapıldıktan sonra mutlaka yıkanmalıdır. Kirli mendil bir daha asla kullanılmamalıdır. Hijyenik açıdan tek kullanımlık kağıt mendiller tercih edilmelidir. Tüm yiyecek servisi personeli; temiz, yıkanabilir (85 °C' ye

dayanıklı), açık renkli, dayanıklı kumaştan yapılmış ve dış cepleri olmayan üniformalar giymelidir. Üniformaların, işe başlarken giyilmesi gerekir ve yiyecek servisi alanlarının dışında kullanılması sakıncalıdır. Temiz iş giysisi yiyeceklerin ve yüzeylerin kontamine olmaması için bir zorunluluktur. Bu nedenle üniformalar mümkünse günlük olmalı ve sık sık yıkanmalıdır. Yanıklar ve iltihaplanmış kesikleri olan personel, yiyecek alanlarının dışında tutulmalıdır. Enfekte olmamış yarabereleler, göze çarpan renklerde olan, su geçirmez yara bantlarıyla komple bir şekilde kapatılmalıdır. El parmaklarındaki kesikler ekstra olarak su geçirmez, silikon bandajlarla kapatılabilir. Su geçirmez yara bandajları; kesikberelerdeki bakterilerin yiyeceklere geçmesini önlediği gibi, özellikle çiğ et, balık ve benzeri ürünlerin kesikbereleri enfekte etmesini de önlemek için gereklidir (46-48).

E.coli 0157:H7 ' ye ait enfeksiyonların yayılmasında personel hijyeni büyük önem taşır. Özellikle sığırla ilişkili ürünler ve personelden kaynaklanan kontaminasyonlar riskin artmasına neden olmaktadır. Vakaların yaklaşık %10' unda kişisel kontaminasyon mevcuttur (19-24).

Besin hijyenine ait kriterlerin incelendiği bölümden alınan puanlar 52.8-70.6 arasında değişmektedir. Servis alanlarına ait puanlar ise birinci grup işletmelerde 66.6-83.3 ve ikinci grup işletmelerde 50.0-66.6 arasında değişmektedir. Bu bölümde karşılaşılan olumsuzlukların başında; pişmiş yiyeceklerin uygun koşullarda bekletilmemesi gelmektedir. Pişirme işlemi yiyeceklerde bulunan biyolojik tehlikelerin yok edilmesi açısından büyük önem taşır. Pişirme işlemi bittiğinde, servis aşamasına kadar geçen sürede sıcak servis edilecek yiyeceklerin 63 °C' nin üzerinde, soğuk servis edilecek yiyeceklerin 4 °C' nin altında bekletilmeleri gerekmektedir. Besin kaynaklı hastalıkların %38' i oda sıcaklığında saklanan yiyeceklerden meydana geldiği rapor edilmektedir. Pişmiş hiçbir yiyeceğin çiğ yiyeceklerle aynı ortamlarda bulunmaması ve el temasına maruz kalması gerekmektedir. Yapılan araştırmalar yiyecek servislerinde çalışan personelin en çok yaptığı

kötü alışkanlıkların; pişmiş yiyeceklere parmaklar ile dokunmak, burunla oynamak, kafa veya sıvilleri kaşımak, yıkanmamış kirli kaşıklarla yiyecekleri tatmak, burun veya ağız ellendikten sonra ellerin yıkanmaması, el yıkamak için yiyecek hazırlama evyelerinin kullanılması, el yıkama evyelerinde mutfak araçgereçlerinin yıkanması, tabak ve bardakların iç kısımlarına elle dokunma, yiyecek servisi alanlarında sakız çiğnemek ve birşeyler yemek olduğuna işaret etmektedir. Yüksek standartlarda hijyenin sağlanması; işverenin tatminkar düzeyde eğitim almış ve doğru görevlere yerleştirdiği personel ile işe başlamasıyla gerçekleşir. Başarının ilk basamağı görev tanımlamaları ve spesifikasyonlarının iyi bir şekilde belirlenmiş olmasıdır. Bu tanımlamalarda sorumluluk, bilgi ve beceri düzeyleri son derece açık bir dille tanımlanmalıdır (49-51).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Ankara' da hizmet veren fast-food işletmelerinden seçilen, toplam 8 fast-food işletmesinden elde edilen 160 hamburger örneğinde yapılan çalışmamızda 17 hamburger örneğinde (%10.6) *E.coli* 0157:H7 serotipinin varlığı belirlenmiştir. Hamburger köftesini kendi üreten ve hazır dondurulmuş hamburger köftesi kullanan işletmeler olarak ikiye ayrılan işletmelerde; dondurulmuş sanayi tipi hamburger kullanan işletmelerde serotipin varlığına rastlanmazken, kendi hamburgerlerini üreten fast food işletmelerinde 17 hamburger örneğinde *E.coli* 0157:H7 serotipi pozitif bulunmuştur. *E.coli* 0157:H7 serotipi günümüzde dünyanın birçok ülkesinde üzerinde en fazla çalışma yürütülen serotipler arasında yer almaktadır.

E.coli 0157:H7 serotipi asidik koşullara ve düşük su aktivitesine sahip yiyeceklerde uzun süre canlılığını koruyabilen dirençli bir serotiptir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında çoğalabilmesinin yanında, düşük sıcaklık derecelerine karşı da toleranslıdır. *E.coli* 0157:H7 serotipinin yiyeceklerin dondurulmasına karşı duyarlılığı konusunda yapılan çalışmalar arasında çelişkiler söz konusu olmasına rağmen; özellikle et ve et ürün-

lerinin depolanmasında dondurma işleminin gerçekleştirilmesi serotipin varlığının azalmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.

Et ve et ürünlerinde iç sıcaklıkların 68-74 °C ci varlarına çıkması birçok patojen mikroorganizmanın yok edilmesi açısından önem taşımaktadır. Bugün HACCP sistemi dünyanın birçok ülkesinde mezbahalarda dahi uygulanmakta iken, ülkemizde bu sistemi yiyecek-içecek işletmelerine uygulamadaki zorlukların yasal boşlukların giderilmesiyle aşılabileceği bir gerçektir.

Özellikle çiğ sığır eti ve ürünlerdeki *E.coli* 0157:H7 varlığının küçük dozları bile halk sağlığı açısından büyük risk yaratmaktadır. Hayvanın kesiminden yemeğin servisine kadar geçen aşamaların herhangi bir noktasında kontaminasyon olabilir. Ancak kesim sırasındaki fekal kontaminasyon riskinin yüksek olması nedeniyle mezbahaların çok iyi kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu patojenin önlenmesi ve kontrolünde hızlı ve hassas bir metod olan HACCP sistemi gibi etkili bir yönetim stratejisi enfeksiyonların önlenmesindeki en etkili yol olarak belirtilmektedir. Bu çerçevede alınacak önlemler şöyle sıralanabilir:

- * Yiyecek-içecek işletmelerinin denetlenmesinde standart kriterler geliştirilmelidir.
- * Yiyecek-içecek üretimi yapılan yerlerin periyodik olarak etkin kontrolleri yapılmalıdır.
- * Yiyeceklerin iç sıcaklıklarının ölçülmesindeki önemin vurgulanması ve termometre kullanımının yaygınlaştırılması çalışmalarının yapılması gerekmektedir.
- * Yiyecek-içecek işletmelerinde hijyen konusunda eğitim almamış kişilerin çalıştırılmaması için yasal önlemler alınması gerekmektedir.
- * Yiyecek-içecek servislerinde kontrollü şebeke suyu kullanılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Anonymous: Approach to the control of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), International Life Sciences Institute, ILSI Press, Belgium, 2001.
2. Nataro JP, Kaper JB. Diarrhaegenic *Escherichia coli*, *Clinical Microbiology Reviews* 1998;11:142-201.
3. Lansbury LE, Ludlam H. *E.coli* 0157:H7 :lessons from the past 15 years, *J Infection* 1997;34:189-193.
4. Rowe PC, Orrbine E, Lior H, et al. Risk of hemolytic uremic syndrome after sporadic *E.coli* 0157:H7 infection:Result of a Canadian collaborative study, *J of Pediatrics* 1998;132:777-782.
5. Tarr PI, Neill MA, Clausen CR, et al: *E.coli* 0157:H7 and the hemolytic uremic syndrome:importance of early cultures in establishing the etiology, *J of Infect Dis* 1990;162:553-556.
6. Ilnyckyj A, Greenberg H, Bernstein CN. *E.coli* 0157:H7 infection mimicking Crohn's Disease, *Gastroenterology* 1997;112:995-999.
7. Swerdlow DL, Griffin PM. Duration of faecal shedding of *E.coli* 0157:H7 among children in daycare centres, *Lancet* 1997;349:745-746.
8. Kaplan BS, Trompeter RS, Moake JL. Hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura, Marcel Dekker, Inc., New York, 1992.
9. Griffin PM. *E.coli* 0157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*, In:Blaser MJ, Smith PD, Ravdin HB, Greenberg HB, Guerrant RL. (ed), *Infections of the gastrointestinal tract*, Raven Press, New York, 1995.
10. Tarr PL. *E.coli* 0157:H7 clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection, *Clin Infect.Dis* 1995;20:110-114
11. Pickering LK, Obrig TG, Stapleton FB. Hemolytic uremic syndrome and enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Pediatr.Infect.Dis.J* 1994;13:459-476.
12. Gooding CM, Choudary PV. Detection of *E.coli* 0157:H7 in ground beef in eight hours, *J Microbiol Meth* 1998;34:89-98.
13. Izumiya H, Terajima J, Wada A, et al. Molecular typing of enterohemorrhagic *E.coli* 0157:H7 isolates in Japan by using pulsedfield gel electrophoresis, *J.Clin.Microbiol* 1997;35:1675-1680.
14. Swinbanks D. Outbreaks of *Escherichia coli* infection in Japan renews concern, *Nature* 1996;382:290.
15. Coia JE, Sharp JCM, Campbell DM. Environmental risk factors for *E.coli* 0157:H7 infection in Scotland:result of a descriptive epidemiology study, *J Infection* 1998;36:317321.
16. Bolton FJ, Crozier L, Williamson JK. Isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 from raw meat products, *Lett Appl Microbiol* 1996;23:317-321.
17. Jay MJ. *Modern Food Microbiology*, 5 th Ed. Food Science Texts Series, International Thomson Publishing, New York, 1996;527-543.
18. Park S, Worobo RW, Durst RA. *E.coli* 0157:H7 as an emerging foodborne pathogen:a literature review, *Crit Rev Food Sci* 1999;39:481-502.
19. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG. Emerging foodborne pathogens:*E.coli* 0157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world, *Epidemiol. Rev* 1996;18:29-51.
20. Wacksmuth IK, Sparling PH, Barrett TJ, Potter ME. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the United States, *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 1997;18:233-239.
21. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *E.coli* 0157:H7 , other enterohemorrhagic *E.coli* and the associated hemolytic uremic syndrome, *Epidemiol.Rev* 1991;13:60-98.
22. Besser RE, Lett SM, Weber JT, et al. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *E.coli* 0157:H7 in freshpressed apple cider, *JAMA* 1993;269:2217-2220.
23. Rowe PC, Orrbine E, Orborn M, et al. Epidemic *E.coli* 0157:H7 gastroenteritis and hemolytic uremic syndrome in a Canadian Inuit community:intestinal illness in family members as a risk factor, *J.Pediatr* 1994;124:21-26.
24. Bell BP, Goldoft M, Griffin MA, et al. A multistate outbreak of *E.coli* 0157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers:the Washington experience, *JAMA* 1994;272:1349-1353.
25. McCarthy M. *E.coli* 0157:H7 outbreak in USA traced to apple juice, *Lancet* 1996;348:1299.-1364
26. Centers for Disease Control. *E.coli* 0157:H7 outbreak linked to commercially distributed drycuredsalami-Washington and California, 1994, *Morbid.Mortal.Wekly Rep* 1995;44:157-160.
27. Doyle MP, Schoeni JL. Survival and growth characteristic of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis, *Appl.Environ.Microbiol* 1984;48:855-856.
28. Quadri SMH, Kayali S. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* a dangerous foodborne pathogen, *Postgraduate Medicine* 1998;103:179-186.
29. Lansbury LE, Ludlam H. *E.coli* 0157:H7 :lessons from the past 15 years, *Journal of Infection* 1997;34:189-193.
30. Çakır İ. *E.coli* 0157:H7 , Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd.Şti., Ankara, 2000.
31. Çiğirim N, Beyhan Y. Toplu Beslenme Sistemlerinde Hijyen, Kök Yayıncılık, Ankara, 1994.
32. Manafı M, Krcmsmaicr B. Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting *E.coli* 0157:H7 in food, *Int J Food Microbiol* 2001;71:257-262.
33. Novcır MR, Doğan HB, Halkman KA. A note *E.coli* 0157:H7 serotype in Turkish meat products, *Meat Science* 2000;56:331-335.
34. Raccach M, Bamiro T, Combs G. et al. Frozen storage of *E.coli* 0157:H7 in vegetable broth, *Food Control*, (basımda).
35. Padhy NV, Doyle PM. *E.coli* 0157:H7 Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in Food, *J Food Protect* 1992;55(7):555-565.
36. Cimolai N, Basalyga S, Mah DG, et al. A continuing assessment of risk factors for the development of *E.coli* 0157:H7 associated hemolytic uremic syndrome, *Clin.Nephrol* 1994;42:85-89.
37. Scok KH, Frank FJ: Attachment of *E.coli* 0157:H7 to lettuce leaf surface and bacterial viability in response

- to chlorine treatment as demonstrated by using confocal scanning laser microscopy. J Food Protect 1991;62 (1):39.
38. Calicioğlu M, Buege DR, Ingham SC, Luchansky JB: Recovery of *Escherichia coli* biotype I and *Enterococcus* spp. During refrigerated storage of beef carcasses inoculated with a fecal slurry. J Food Protect 1999;62 (8): 944-947.
 39. Okrend A, Rose B.:Revision of 3 Laboratory Communication 38; Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat; FSIS publication, 1991.
 40. Feng PC, Hartman PA.Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*, Applied and Environmental Microbiology, 1982; 43(6):1320-1329.
 41. Gönül SA, Karapınar M. *Escherichia coli* patojenitesi ve gıdalardaki önemi, Tr.J.of.Biology 1994;18:47-60.
 42. Halkman AK, Novcır MR, Doğan HB. Çeşitli hayvansal gıda ürünlerinde *E.coli* 0157:H7 aranması, Proje no:VHAG1192, TÜBİTAK, 75 sayfa, 1999.
 43. Izumiya H, Terajima J, Wada A, et al. Molecular typing of enterohemorrhagic *E.coli* 0157:H7 isolates in Japan by using pulsedfield gel electrophoresis, J.Clin.Microbiol 1997;35(7):1675-1680.
 44. Bülte M, Heckötter S, Schwenk P: Enterohamorrhagische E.col, (EHEC)Aktuelle Lebensmittelinfektionserreger auch in der Bundesrepublik Deutschland 2.Nachweis von VTECStämmen in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, Fleischwietsch 1996;76(1):88-91.
 45. Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of *E.coli* 0157:H7 from retail fresh meats and poultry, Appl.Environ.Microbiol 1987;53(10):2394-2396.
 46. Richard J, Parr E, Riseborough P. Hospital Food Hygiene: The Application of HACCP to Conventional Hospital Catering. J Hospital Infect 1993;24:273-282.
 47. Sandys GH, Wilkinson PJ. Microbiological Evaluation of A Hospital Delivered Meals Service Using Precooked Chilled Foods. J Hosp Infect 1988;11:209-219.
 48. Restaino L, Wind CE. Antimicrobial Effectiveness of Hand Washing for Food Establishments. Dairy Food and Environmental Sanitation 1990;10(3):136-141.
 49. Todd ECD. Economic Loss From Foodborne Disease Outbreaks Because of Mishandling in Foodservice Establishment J Food Protect 1985;48(2):169-180.
 50. Mackintosh CA, Hoffman PN. An Extended Model of Transfer of Microorganisms Via the Hands Differences Between Organism and the Effect of Alcohol Disinfection. J Hygiene Camb 1984;192, 345-355.
 51. Baş M, Kutluay TM. Üç, Dört ve Beş Yıldızlı Otellerin Sanitasyon Durumunun HACCP Yöntemi İle Değerlendirilmesi, Beslenme ve Diyet Dergisi 1999;28(2), 31-40.