SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ (VET.) ANABİLİM DALI

ANTALYA'DA TÜKETİME SUNULAN KIYMA VE KIRMIZI ET PREPARATLARININ MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ

DOKTORA TEZİ

Umut ÖZTÜRK

Danışman

Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ

KONYA-2007

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TABLO LİSTESİ iii

1.GİRİŞ 1

2. LİTERATÜR BİLGİ 4

2.1. Mikrobiyal Kontaminasyon 4

2.2. Et Mikrobiyolojisi ve Halk Sağlığı Açısından Önemi 7

2.3.Toplam Mezofilik Aerob Bakteriler 11

2.4. Staphylocooccus aureus 12

2.5. Koliform Bakterisi 16

2.6.Esherichia coli 17

3.MATERYAL VE METOT 23

3.1. Materyal Temini 23

3.2.Metot 23

3.2.1. Toplam mezofilik aerob bakteri sayımı 23

3.2.2.Toplam Koliform bakterisi sayımı 24

3.2.3. *Escherichia coli* sayımı 24

3.2.4. Koagulaz pozitif *Staphylococcus* belirlenmesi 24

3.2.5.İstatistiksel Metot 24

4.BULGULAR 25

5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....34

6. ÖZET.....40

7.SUMMARY.....42

8. LİTERATÜR LİSTESİ.....44

9. ÖZGEÇMİŞ.....49

10. TEŞEKKÜR.....50

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Kesimhande Mikrobiyal Bulaşma Kaynakları ve Farklı İnkübasyon Sıcaklığında Mikroorganizma Sayıları 7

Tablo 2. Taze Karkas Etlerinin Hijyen Statüsü ve Dayanma Süresi 10

Tablo 3. *E. coli'nin* Gelişme Şartları 17

Tablo 4. Patojenik *E.coli*'nin Grupları ve Sahip Olduğu Virulens Faktörler 18

Tablo 5. Çiğ Kırmızı Et ve Kıyma İçin Mikrobiyolojik Kriterler 22

Tablo 6. Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları İçin Mikrobiyolojik Kriterler 22

Tablo 7. Et Parçalama Ünitesinden Temin Edilen Numunelerin TMAB ve Koliform Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log10 kob/g) 25

Tablo 8. Et Parçalama Ünitesinden Temin Edilen Numunelerin *E.coli* ve Koagulaz pozitif *Staphylococcus* Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log10 kob/g) 26

Tablo 9. Marketlerden Temin Edilen Numunelerin TMAB ve Koliform Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log10 kob/g) 27

Tablo 10. Marketlerden Temin Edilen Numunelerin *E.coli* ve Koagulaz pozitif *Staphylococcus* Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log10 kob/g) 28

Tablo 11. Et Parçalama Ünitesi ve Marketlerden Temin Edilen Numunelerin t Testi Sonuçları 30

Tablo 12. Kıyma Numunelerinin Mikroflorası 32

Tablo 13. Kıyma Numunelerinde Mevsimlere Bağlı Olarak Mikroflorada Gözlemlenen Değişimler 33

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.Parçalama Ünitelerinden Alınan Et Preparatlarının Mikroorganizma Yükleri 31

Şekil 2.Marketlerden Alınan Et Preparatlarının Mikroorganizma Yükleri.....31

1.GİRİŞ

Et, temel bir besin maddesi olup, insanlığın başlangıcından bu yana önemini korumaktadır. Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar ışığında pek çok alanda olduğu gibi et bilimi ve teknolojisi dalında da önemli gelişmeler sağlanmıştır. Artık günümüzde modern mezbahalarda kesimi yapılan ve endüstriyel proses aşamalarından geçen etlerin, tüketimdeki payı gün geçtikçe artmaktadır. Bunun yanı sıra , yeterli ve dengeli beslenmede zengin protein kaynağı olarak etin yeri ayrı bir önem arz etmektedir. Günümüzde kişi başına tüketilen et miktarı, ülkelerin gelişmişlik düzeylerinin tespitinde de bir kriter olarak kullanılmakta ve gelişmiş ülkeler et sektörünü lokomotif sektörler kapsamına alarak; ekonomik büyüme hedeflerini gerçekleştirmeye çalışmaktadırlar. Et endüstrisindeki bu gelişmelere paralel olarak ülkelerin çoğunda özellikle gelişmiş olanlarda; et üretimi büyük ölçüde artmış ve toplam et üretiminin hemen hemen yarıya yakını hatta yarıdan fazlası işlenmiş ürün olarak piyasaya sürülmektedir.

İnsan gıdası olarak işlem görmeden veya işlenerek tüketilen et, kimyasal yapısı ve içeriği bakımından hayvansal ürünler içerisinde oldukça komplike bir gıda maddesidir. Hayvansal gıdalar içerisinde gerek üretimin kolay, lezzetli, biyolojik değerliliğinin yüksek olması, gerekse de içerdiği B kompleks vitaminleri, çeşitli mineral maddeleri (örn., Fe,P, Ca), eksojen amino asitler, kollajen gibi besin öğelerini yeterli ve dengeli bir oranda içermesi nedeniyle et, insan beslenmesinde temel gıda maddesi olma özelliğini her zaman taşımaktadır. Bu özellikleri nedeniyle hayvansal kaynaklı besin maddelerinin değeri, her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır.

Sağlıklı kesim hayvanının iskelet kasları, steril olarak kabul edilmektedir.Kesim süresince karkas hayvanın derisi, dışkısı, gastrointestinal içerik, kirli kesim alet ve ekipmanları, toprak, hava, su, işçilerin elleri ve giysileri ile kontamine olabilmektedir (Lechowig 1971). Kesim işlemleri sürecinde başlayan arzu edilmeyen mikrobiyal bulaşmalar, karkasın parçalanma ve kıyma haline dönüştürülmesi işlemleri süresince de devam etmektedir.

Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlarında et ve et ürünleri, önemli bir yer tutmaktadır. Et ve et ürünlerinde gelişebilen mikroorganizmaların bir kısmı, doğrudan insan sağlığını etkilemeden farklı şekillerde bozulmalara neden olurken; diğer bir kısmı ise et ve ürünlerinde herhangi bir bozulma oluşturmaksızın insanlarda enfeksiyon ve intoksikasyona neden olmaktadırlar. Özellikle: *Staphylococcus aureus, Clostridium*

perfringens, Campylobacter jejuni, Escherichia coli O157:H7 ve *Salmonella* türleri yönünden et ve et ürünleri , potansiyel risk kaynağı olarak kabul edilmektedirler

Çiğ ette toplam mezofilik aerob bakterilerin, toplam koliform ve *Esherichia coli*'nin varlığı; etin potansiyel güvenirliliği ve kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Yüksek toplam mezofilik aerob canlı mikrorganizma sayısı, genellikle gıdanın kalite yoksunluğu ve azalmış raf ömrünün göstergesi olarak kabul edilmektedir. Fekal koliform ve *E. coli*, etin işleme süresince sanitasyon yoksunluğu ve fekal kontaminasyonun göstergesine bir işarettir. Aynı zamanda besinde yüksek koliform bakterisi ve *E. coli*'nin bulunması, fekal kaynaklı patojenlerin de besin maddesinde bulunabileceğini göstermektedir (Eisel ve ark. 1997).

Hijyenik koşullara uyulmadan hazırlanıp tüketime sunulan et ve et ürünleri, insan sağlığı ve ekonomik kayıplar açısından da önem arz etmektedir. Sağlık problemlerinin ortaya çıkmaması için: Et üretiminin işlem basamaklarında (örn., kesim, depolama, parçalama, taşıma, dağıtım, teşhir) gerekli hijyenik şartların sağlanması ve uygun koşullarda muhafaza edilmesi gerekmektedir (Başkaya ve ark.2004).

Türkiye hayvan sayısı bakımından dünya altıncısı, AB ülkeleri arasında ise üçüncü sıradadır. Ancak büyükbaş hayvan varlığının %40'ı, koyun varlığınında %97'si düşük verimli ırklardan oluşmaktadır. Hayvan başına verimlilik düzeyi gelişmiş ülkelerin oldukça gerisindedir

Türkiye'de hayvan varlığına bakıldığında 10.526.440 sığır, 104.965 manda ve 31.821.789 küçükbaş hayvan bulunmaktadır. Sığır varlığının 2.354.957 başı (% 22) kültür ırklarından; 4.537.998 başı (% 43,11) kültür melezinden ; 3.633.485 başı (% 34,52) ise yerli ırklardan oluşmaktadır. Türkiye'de işletme başına düşen büyükbaş hayvan varlığı, 5,2 baştır. Küçükbaş hayvan varlığının % 79,52'si koyun; % 20,48'i ise keçi oluşturmaktadır. Türkiye'de 25.304.325 baş koyun varlığının, 24.551.972 başı çeşitli yerli ırklardan oluşurken; 752.353'ü merinos'tur. 6.517.464 baş olan keçi varlığı ağırlıklı olarak kıl keçisidir. 6.284.498 baş kıl keçisine karşılık, 232.966 baş tiftik keçisi bulunmaktadır (Anonim 2005).

Türkiye'de toplam kırmızı et üretimi, 2005 yılında 409.423 ton olarak belirtilmektedir (Anonim 2005). Bununla beraber kontrolsüz kesimlerde dikkate alınırsa, aynı yıl toplam et üretiminin çok daha fazla olduğu düşünülmektedir.

Bu araştırma: Türkiye turizmi açısından önemli bir yeri olan Antalya'da faaliyet gösteren et parçalama üniteleri ve marketlerden temin edilen kıyma ve kırmızı et preparatlarında bazı mikrobiyolojik nitelikleri: Toplam mezofilik aerobik bakteri, koliform bakteri , *E. coli* ve koaugulaz pozitif *Staphylococcus* sayısını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. Mikrobiyal Kontaminasyon

Genel olarak sağlıklı bir hayvanın kas dokusu steril olarak kabul edilmektedir. Canlı hayvanda mikroorganizmalar, lenf nodüllerinde lokalize olmuşlardır. Bu nedenle de kontamine olmuş lenf nodülleri, kesimden sonra derin dokularda meydana gelen mikrobiyolojik bozulmalarda önemli rol oynamaktadırlar. Kesimden sonra hayvanlarda mikroorganizmalara karşı korunma mekanizması zayıflamakta ve nihayet durmaktadır. Bu durum mikroorganizmaların bütün dokulara yayılmasına neden olmaktadır. Buna paralel olarak kesim, derinin yüzülmesi, iç organların çıkartılması ve karkasların parçalanması sırasında hayvanın derisi, bağırsakları, kesim aletleri, hava, çalışanların elleri ve elbiseleri, taşıma arabaları, alet ve ekipmanlardan birçok mikroorganizma ete bulaşmaktadırlar. Bulaşan bu mikroorganizmalar, uygun şartlar altında çoğalarak ette bozulmaya neden olduğu gibi halk sağlığını da ciddi boyutlarda tehdit etmektedirler. Ete bulaşan mikroorganizmalar, üç grup altında toplanmaktadır. Bunlar: Patojen, indikatör ve saprofit bakterilerdir.

Ette indikatör olarak; genellikle aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları önem arz etmektedir. Karkaslarda ve kıyılmış etlerdeki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, genellikle kesim ve kesim sonrası işlemler esnasındaki sanitasyon uygulamalarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedirler. *Enterobacteriaceae*, toplam koliform, fekal koliform bakteri ile *E. coli* ise genellikle bağırsak orjinli kontaminasyon düzeyini göstermekle beraber bu mikroorganizmaların aynı zamanda hayvan derisinde de bulunmaları ve bazılarının ise (örn., *Enterobacteriaceae* türleri ve fekal olmayan koliform bakteriler) doğada serbest halde yaşayabilmeleri nedeniyle deri, kıl gibi yapılarla dış çevreden gelen kontaminasyonuda ifade etmektedir. Etin kıyma haline getirilmesi ise mikroorganizmaların tüm dokulara yayılmasını sağlamaktadır (Ünlütürk ve Turantaş 1999).

Sağlıklı hayvanlar, karaciğer, dalak ve böbreğinde bazı mikroorganizmaları barındırabilir. Bu mikrorganizmalar dolaşım sistemi ile karkasa geçebilmekte ise de; bu yolla çok az sayıda mikroorganizma kaslara geçebilmektedir. Kesim esnasında özellikle, derinin yüzülmesi ve iç organların çıkartılması aşamalarında karkasa çok sayıda mikroorganizma bulaşmaktadır. Ayrıca deri, kıl, yem, su, toz, hava ve dışkı, kesim aletleri, taşıma arabaları, personel, konveyör bant, kıyma makinesi, et dilimleyici gibi temizlenmesi

zor olan ekipmanlar mikrorganizmaların karkasa bulaşmasında önemli kaynaklardır (Ray 1997). İstanbul'daki kırmızı et işletmelerinde etle temas eden yüzeylerde yapılan araştırmalarda, toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayısı $\log_{10}$ 2.58; koliform sayısı $\log_{10}$ 2.08; *E. coli* sayısı $\log_{10}$ 1.24 kob/cm^2 olarak tespit edilmiştir (Çetin ve ark. 2006). Soğutulmuş etler, *Micrococcus, Enterococcus, Staphylococcus, Bacillus, Clostridium, Lactobacillus,* koliformlar ve diğer *Enterobactericeae* grubuna dahil enteropatojen mezofilleri içermektedir. Bununla birlikte etlerin düşük ısıda (1-5 ^{o}C) tutulması ile en büyük problemi psikrofil mikrorganizmalar meydana getirmektedirler. Çiğ etlerdeki predominant psikrofiller: *Proteus, Aeromonas, Acinetobacter, Pseudomonas, Serratia, Clostridium, Brochotrix thermosphacta, Lactobacillus* ve koliformlardır. Çiğ etlerde bulunabilen psikrofilik patojenler ise *Listeria monocytogenes ve Yersinia enterocolitica*'dır (Ray 1997).

Etin kalitesi, etteki yüksek nem içeriği, etin yapısında bulunan enzimler ve ete mikrobiyal kontaminasyon sonucu hızla bozulmaktadır. Ette meydana gelen bozulma, etin teknolojik kalitesine ve duyusal özelliklerine zarar veren değişiklikler olarak tanımlanmaktadır.

Etlerde kontaminasyon, kontaminasyona uğramış yüzeyler ve hava akımı ile taşınan tozlar yoluyla olmaktadır. Etlerde meydana gelen kontaminasyon yüzeysel iken etin ellenmesi, etin traşlanması ve parçalanması ile ve diğer devam eden işlemler süresince artmaktadır (Larausse ve Brown 1997).

Etin en önemli kontaminasyonu, iç organların çıkarılması sırasında meydana gelmektedir. Toplam kontaminasyonun %35-40'ı bağırsak içeriklerinden kaynaklanmaktadır. İncebağırsak içeriği 10^7 -10^8 /g; kalınbağırsak içeriği ise 10^{11}-10^{12}/g mikroorganizma ihtiva etmektedirler. Bu mikrorganizmaların önemli kısmını *Clostridium* türleri gibi anaeroblar ve *Escherichia coli, Salmonella, Klebsiella ,Enterobacter* gibi *Entrobacteriaceae* familyasına dahil bakteriler oluşturmaktadırlar. Bağırsakların dışında önemli kontaminasyon kaynakları, fekal kirlenmenin yoğun olduğu hayvan derisi, ayakları ve kuyruğudur. Kesim sırasında kanın akıtılmasıyla damarlarda oluşan negatif basınç etkisiyle bağırsaklardan ve kesim yarasından çok sayıda bakteri kana geçerek eti kontamine etmektedir.

Karkaslarda kesimi takiben karkasın soğutma işlemine kadar personelin hijyenik şartlara uymadan ete elle muamelesi, soğutma kabinlerine kirli taşıyıcı aletlerle taşınması, taşımanın taşıyıcı ray sistemi kullanılmadan yapılması esnasında karkasların birbirine değmeleri, karkasların kesim ve yükleme işlemleri sırasında yeterince kanların akıtılmış olmaması ve bu kanların bulaşması; etin mikrobiyal kalitesini düşürmektedir. Soğutmaya alınan et ve et ürünlerinin başlangıçtaki mikrobiyal değerinin yüksek olması direkt olarak soğutmanın koruyucu etkisini azaltmaktadır. Bu nedenle soğutmaya alınacak karkas ve etler muhafaza öncesinde kontaminasyondan olabildiğince korunmalıdır. Etin personel ile irtibatta bulunduğu aşamalarda, et ve et ürünlerinin taşıyıcılara aktarımı esnasında, paketleme ve sergileme ortamlarında mikrobiyal kontaminasyonlar yoğun olabilmektedir. Personel kontaminasyonları sonrası, et zehirlenme ve enfeksiyonları oluşabilmekte ve bunlar halk sağlığını tehdit edebilmektedir (Göğüş 2001).

Kesim ve karkasların frigofrik araca yüklenmeleri sırasında karkas yüzeyine mikroorganizma bulaşması meydana gelmektedir. Karkaslar kesim sırasında patojenlerle bulaşmasa bile taşıma sırasında ve perakende satış noktalarında mikroorganizmalarla bulaşabilmektedir. Kesim ve karkasların taşınması aşamasında hijyene dikkat edilmezse, patojen mikroorganizmalar karkası kontamine edebilmektedirler (Anonymous 2001b).

Mezbaha parçalama alanlarında çalışanların elleri ve kolları, giysileri, ağız ve burundan çıkan sekresyon damlacıkları, kullanılan alet-ekipmanları karkası kontamine edebilmektedir. İnsan vücudunun bölgelerine göre değişmekle beraber el ve kollar 10^5 / cm^2 kadar mikroorganizma barındırmaktadır. El florasında: *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ve mayalar doğal olarak bulunmaktadırlar. Ağız ve burun mikroflorası ise, yüksek oranda *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* ve *Corynebacteri* içermektedirler.

Yıldırım (1994), işçi önlüklerinin cm^2'sinde 99 milyon bakteri; çizmelerin cm^2 'sinde ise 97 milyon bakteri bulunduğunu belirtmektedir. Ülkemizde kesim salonu ve et işleme alanında etle sürekli temasta bulunanların ellerinde yapılan bakteriyolojik muayenelerde 3 cm^2'lik yüzeye, 2×10^7 *Staphylococcus*, 1×10^2 sayıda koliform bakteri ile birlikte sporlu sporsuz anaerob basiller tespit edilmiştir .

Bir kesim salonunda işçilerin ayakkabıları ile her çıkışta cm^2'de 4 milyon bakteri taşındığı ve bu ayakkabılar 100 m ileride bakteriyolojik olarak temiz bir alana bırakıldığında o yere cm^2 'de 55.000 bakteri bıraktığı bildirilmektedir (Yıldırım 1994).

Kesimhanede mikrobiyal bulaşma kaynakları ve bulaşabilen mikroorganizma sayıları Tablo 1 de gösterilmektedir (Çon ve Gökalp 1998)

Tablo 1. Kesimhande Mikrobiyal Bulaşma Kaynakları ve Farklı İnkübasyon Sıcaklığında Mikroorganizma Sayıları

Bulaşma kaynakları	İnkübasyon sıcaklığı(^oC)	Bakteri sayısı
Deri (cm^2)	20	$3,3x\ 10^6$
	-1	$1,5\ x10^4$
Yüzeydeki kıllar (g kuru ağırlık)	20	$1,1\ x10^8$
	-1	$2,8\ x10^4$
Dışkı (g kuru ağırlık)	20	$9,0\ x10^7$
	-1	$2,0x10^5$
İşkembe (g kuru ağırlık)	20	$5,3\ x10^7$
	-1	$2,0\ x10^5$
Kesimhane tabanında akan su(kob /ml)	20	$1,6\ x10^5$
	-1	10^3

2.2. Et Mikrobiyolojisi ve Halk Sağlığı Açısından Önemi

Et ve et ürünleri, sağlıklı hayvanlardan uygun koşullarda işlenildikleri sürece mikrobiyal açıdan güvenilirdir. Kesim hayvanlarının yetiştirme ve kesim işlemlerinde gerekli tedbirler alınmazsa; mikroorganizmalar üründe kalite kayıplarına, dolayısıyla ekonomik kayba, patojen mikroorganizma sayısındaki artış sebebiyle de halk sağlığı sorunlarına yol açabilmektedir (Aran 1996).

Sağlık kurallarına uygun olarak kesilmiş ve çeyrek parçalara ayrılmış karkasların, aerobik mezofil bakteri yükü 10^3-10^5/cm^2 arasındadır. Koliform ve psikotrof mikroorganizmalar ise 10-10^2 /cm^2'yi geçmemektedir. Etin başlangıç mikrobiyal yükünün teknolojik ve hijyenik kurallara uygun olması gerekmektedir. Aksi halde ette bulunan bu mikrorganizmalar kısa sürede üreyerek etin bozulmasına neden olmaktadırlar. Karkasın dış yüzeyinde toplam bakteri sayısı 10^6/g 'dan yukarı olması: Etlerdeki hijyen eksikliğinin ve yüksek muhafaza sıcaklığında bekletildiğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu sayı 10^7-10^8/g seviyelerinde olduğunda etin bozulduğu kabul edilmektedir (Uğur ve ark.2001).

Ette meydana gelen bozulma, ya doku enzimleri ya da mikroorganizmaların faaliyetlerinden kaynaklanmaktadır. Mikrobiyal enzimlerin, mikrobiyal hücrelere bağlı substratlar üzerinde bulunan intraselüler ve ekstraselüler enzimler olmak üzere olmak üzere iki şekli bulunmaktadır. Bu enzimler iki yolla aktivitelerini göstermektedirler: Birinci yol substratları parçalayan katabolik enzimler; diğeri toksin, yapışkan madde olan rop gibi bileşikleri sentez eden anabolik enzimlerdir. Ette mevcut karbonhidratların aerobik oksidasyonundan önce pürivik asit, sonrasında CO_2 ve H_2O meydana gelmektedir. Karbonhidratların anaerobik fermentasyonunda laktik asit oluşmaktadır. Ayrıca heterofermantatif yolla alkol, aldehit, ketonlar , bütirik asit, propiyonik asit ve asetik asit meydana gelmektedir. Bu reaksiyonlar mikrobiyal hücre içerisinde gelişirken daha sonra bu ürünler et dokusuna dağılarak ette bozulma belirtilerini oluşturmaktadırlar (Larausse ve Brown 1997).

Ette buzdolabı sıcaklığında yüksek orandaki proteini , düşük orandaki karbonhidratı ayrıştırabilme yeteneğine sahip mikroorganizmalar aktif duruma geçmektedir. Buzdolabı sıcaklığındaki etlerde, *Pseudomonas* ve *Achromobacter* cinsi mikroorganizmaların oluşturduğu bozulmalara sık rastlanmaktadır.

Etler rigor mortis sonrası protein olmayan nitrojen bileşikler (yaklaşık 13mg/g) aminoasit, kreatin, peptid ve proteinler yönünden zengindir. Karbonhidrat (yaklaşık 1,3 mg/g glikojen,glukoz, glukoz-6-fosfat) düşük konsantrasyonda olup, pH 5,5 ve aw>0,97'dir. Dark Firm Dry (koyu, kuru, sert) etlerde ise hemen hemen karbonhidrat yok gibidir ve pH 6'nın üzerindedir.

Taze etlerde mikrobiyal gelişmenin gecikmesi için; taze etler buzdolabı sıcaklığında (≤5 ^oC) depolanmaktadır. Bu durumda çiğ etlerin bozulmasına psikotrofik

mikroorganizmalar neden olmaktadırlar. Düşük sıcaklıkta aerobik şartlarda depolama psikrofilik aerob ve anaerob mikrorganizmaların gelişimini desteklemektedir.

Perakende satılan etlerde, *Pseudomonas spp.* hızla gelişerek önce glikozu sonra aminoasitleri kullanmaktadırlar. Aminoasit metobolizması sonucu; kötü kokulu metil sülfit ester ve asitler oluşmaktadırlar. Düşük glikoz içerikli yüksek pH'lı etlerde *Morexella* ve *Acinetobacter*, öncelikli olarak aminoasitleri parçalayarak kötü kokulu bileşikler meydana getirmektedirler. Zorunlu aerobların ette koku meydana getirebilmesi için 10^8 adet/cm^2; yapışkan tabakanın oluşması için10^9 adet/cm^2 mikroorganizma olması gerekmektedir.

Aerobik şartlar altında gelişen aerobik bakteriler özellikle *Pseudomonas* türlerinin ette gelişimi; renk, lezzet tekstür ve koku ile ilgili değişikliklere yol açmaktadırlar. Etin içine doğru mikroaerofilik mikroorganizmalar gelişmekte, daha sonra anaerobik değişikliklere neden olan fakültatif anaerob bakteriler ortama hakim olmaktadırlar. Vakumla paketlenmiş etlerde ise laktik asit bakterileri ortama hakimdir. Gram negatif fakültatif anaerob mikroorganizmalar, glukoz tükendiği zaman aminoasitleri parçalar ve putrit kokuşma oluştururlar.

Psikotrofik fakültatif aerob ve anaeroblar, vakumla paketlenmiş etlerde gelişebilmektedirler. *Lactobacillus curvatus* ve *L. sake* glukozu laktik asite; aminoasitelerden löysin ve valini, izovalerik ve izobütirik asite dönüştürmektedirler. Ette mikroorganizma sayısı 10^8 adet/cm^2'yi aşarsa, oluşan ucucu yağ asitleri ete kötü koku ve lezzet vermektedir. Bununla birlikte bu mikroorganizmalar sisteini parçalayarak;H_2S üretmekte ve ette istenmeyen renk ve kötü koku oluşturmaktadırlar.

Heterofermentatif *Leuconostoc carnosum* ve *L. Gelidium*, CO_2 ve laktik asit üretmeleri sonucuda paketleme materyalide sıvı ve gaz birikimine neden olmaktadırlar. Aerobik ve anaerobik şartlarda gelişebilen *Shewanella putrafaciens,* aminoasiteleri özellikle sisteini parçalayarak; geniş oranda metilsülfit ve H_2S üretmektedir. H_2S, miyoglobini metmiyoglobine okside ederek; ette yeşil renkte kokuşmaya neden olmaktadır. Fakültatif anaerobik *Enterobacter, Serratia, Proteus ve Hafnia* türleri ette gelişirken aminoasitleri parçalayarak ette kokuşmaya neden olan amin, amonyak, metilsülfit ve merkaptanları üretmektedirler. Amonyak ve aminin üretimi sonucu etin pH'sı alkaliye değişmektedir. Psikotrofik *Clostridium laramie* ise ete olduça kötü koku, yapışkan sıvı birikimi, etin tekstür kaybı proteolizle ilişkili bozulmaya neden olmaktadır. Bazı

Clostridium ve *Enterococcus*'lar sığır karkaslarınında kemiğe yakın yerde *bone sore* veya *bone taint* denilen kemik kokuşmasına neden olmaktadır (Ray 1997).

Et kalitesi ve dayanma süresi, karkasın yüzeysel mikroorganizma sayısı ile ilişikilidir. Örneğin başlangıç mikroorganizma sayısı 10^3 adet/cm^2 olan karkaslarda, 10-11 günde bozulma oluşmaktadır. Bazı ülkelerde (örn, A.B.D.) taze karkas ve etlerin hijyen statüsü ve dayanma süreleri nisbi rutubette göz önünde bulundurularak karkasın üç farklı bölgesinden numune alınarak belirlenmektedir. Tablo 2'de A.B.D.'de taze karkas etlerinin hijyen statüsü ve dayanma süreleri gösterilmektedir (Çon ve Gökalp 1998).

Tablo 2. Taze Karkas Etlerinin Hijyen Statüsü ve Dayanma Süresi

Bakteri Sayısı (cm^2)	Kesim Hijyeni Değerlendirilmesi	Yaklaşık Dayanma Süresi (2 ^oC/gün)
<5 10^2	Çok iyi	18-20 gün
5 10^2-9,9 10^2	İyi	15-17 gün
10^3-9,9 10^3	Tatminkar	12-14 gün
10^4-10^5	Yeterli	9-11 gün
>10^5	Yetersiz	<9 gün

ABD hijyen statüsünde toplam mikroorganizma sayısı yanında maya küf <10^3 kob/cm^2 ; koliform grubu ile fekal streptokoklar <10^2 kob/cm^2 sınırlandırılmış olup;1 gram ette *Salmonella* ve patojen *Clostridium*'ların bulunmaması gerektiği ifade edilmektedir.

Parça etlerde bulunan mikroflora karkastakine benzerlik göstermektedir. Ancak parça büyüklüğü, el ile temas, parçalama ve satış şartları son yükü önemli ölçüde etkilemektedir. Bazı araştırmacılar (Çon ve Gökalp 1998) hazırlandıktan sonra 10-15 ^oC 'de saklanan kuşbaşı ve kıyma etlerde 4-5 günde kötü koku, 7. günde ise yüzeyde yapışkanımsı tabaka ve salyamsı bozulma meydana geldiğini ileri sürmektedirler.

Hijyen koşularına uyan mezbahalarda sığır etlerinden aerobik bakteri 10^3-10^5 adet/cm^2, psikotrof bakteri sayısı 10^2 adet/ cm^2 ve koliform sayısı 10-10^2 adet/ cm^2

arasında değişmektedir. Koyun etlerinde ise aerobik bakteri sayısı 10^3-10^6/cm^2, psikotrof bakteri sayısı 10^2-10^3/cm^2 arasında değişir. Koliform yükünün koyun etlerinde daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Hijyenik olarak elde edilen etlerde patojen sayısı düşük olup; mikroflora saprofit mikrorganizmalaradan oluşmaktadır (Karapınar 1995).

Mikrorganizmaların soğutulmuş etlerde bozulma belirtileri meydana getirebilmesi için; 1 x10^7 -3x 10^7 adet/g arasında bulunması gerektiği belirtilmektedir. Mikroorganizma sayısı 10^9 adet/cm^2 potansiyeline eriştiği durumlarda; et yüzeyinin kalın bir mukoz tabaka ile örtüldüğü, etlerde ileri derecede koku ve lezzet değişimi meydana gelidiği ve bu durumdaki etlerin tüketilemeyecek kadar bozulduğu ileri sürülmektedir (İnal 1995).

Dışkı patojen mikroorganizmaların başlıca kaynağıdır. Gastrointestinal sistem ve deri çıkarımı sırasında kırmızı ve tavuk etine dışkı kökenli mikroorganizmalar bulaşmaktadır (Buzby ve Crutefield 1997). Dışkı kökenli *E. coli* O157:H7 suşunun dışkı ve deride bulunması ile karkas kontaminasyonu arasında çok önemli bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (Unnevehr ve Roberts 1997). Sığır dışkısının kuru ağırlığında 100 milyon bakteri tespit edildiği bildirilmektedir (Türker 1997). Hemorojik kolitise yol açan *E. coli* O157:H7 suşu ile bulaşık etler insanlarda böbrek yetmezliği ve ölüme kadar giden ağır klinik tabloya yol açmaktadır. İskoçya'da 1996'da görülen *E. coli* O157:H7 enfeksiyon vakasında 20 kişinin öldüğü bildirilmektedir (Buzby ve Crutchield 1997).

Amerikan Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC, Centers for Disease Control and Prevention) ve Amerikan Tarım Bakanlığı (USDA, United States Department of Agricultural) *Camphylobacter, E. coli* O157:H7*, Salmonella, Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus* ve *Toxoplosma gondii* ile bulaşık kırmızı ve beyaz etlerin insanlar tarafından tüketimiyle Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl 5 milyonun üzerinde hastalık ve 4500'ün üzerinde ölüm meydana geldiğini birlikte yaptıkları çalışmalarda ortaya koymuşlardır (Buzby ve Crutchield 1997).

2.3.Toplam Mezofilik Aerob Bakteriler

Toplam mezofilik aerob bakteriler; et ve et ürünlerinde kalite, işleme ve depolama koşulları, ürün güvenliği ve ürün raf ömrü hakkında bilgi almak için sıklıkla kullanılmaktadır. İnsan ve hayvan kaynaklı patojen mikroorganizmaların çoğunluğu mezofilik karakter göstermektedir. Toplam aereobik bakteri sayısı, depolama süresine ve sıcaklığına göre değişiklik gösterir. Toplam bakteri sayısı, özellikle mezofil aerobik

bakteriler; o gıdanın hijyenik ve mikrobiyolojik durumu hakkında bilgi vermektedir. Modern besin mikrobiyolojisinde, total bakteri sayısı yerine (Total viable count) total bakteri içindeki koloni oluşturan birim, (coloni forming ünits) sayısal değer olarak kullanılmaktadır. Fermente ürünler hariç diğer ürünlerde total bakteri sayısı hijyenik koşulların yetersizliğini göstermektedir (Yıldırım 1994).

McEvoy ve ark (2004), kirli deriye sahip kesim hayvanlarının temiz olanlara göre karkaslarının göğüs bölümünün genel canlı mikroorganizma sayısının yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Total bakteri sayımı ile gıda işletmesinde sanitasyonun yeterliliği, gıdanın işletmeye taşınması sırasında uygun sıcaklıkta tutulup tutulmadığı, bozulmanın başlangıcı, gıdanın muhtemel raf ömrü, soğutmanın yetersizliği, mikrobiyal kontaminasyon düzeyi hakkında tahmin yapılabileceği belirtilmektedir (Banwart 1989).

2.4. *Staphylocooccus aureus*

Çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan *Staphylococcus* türleri, insan ve hayvanların derisinde, üst solunum yolu, alt sindirim ve ürogenital sistem mukoz mebranları ile ilişkili mikroorganizmalardır. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonrasında *Staphylococcus*'ların sistematiğinde değişikliğe gidilmiştir. Daha önce *Micrococcoceae* familyasında yer alan *Staphylococcus cinsi Bacilli* sınıfında *Bacillacea* takımına alınmıştır. İnsanlarda gıda kaynaklı infeksiyonlara neden olduklarından halk sağlığı açısından önemleri bulunmaktadır. *Staphylococcus* türleri kok şeklinde, 0.5-1.5 μm çapında, tek tek, çiftler veya düzensiz kümeler tarzında görülürler. *Staphylococcus* cinsinde 30'u aşkın tür bulunmaktadır. Veteriner hekimliğince önemli olan türler: *S. aureus, S. intermedius, S. epidermidis, S. epidermidis, S. hyicus ve S. schleiferi subsp. coagulans* olarak tanımlanmaktadır. Grubun en önemli üyesi *S. aureus'*tur (Ünlütürk ve Turantaş 1999).

S. aureus, enterotoksin üreterek gıda zehirlenmelerine neden olur (Lechowich 1971*). S. aureus'un* neden olduğu gıda zehirlenmeleri dünya çapında en yaygın gastroenteritislerden birisidir. *Staphylococcus* cinsi içerisinde insanlarda gastroenteritise neden olan enterotoksin üretme potansiyeline sahip başka türler varsa da; hastalık hemen hemen tümüyle *S. aureus* tarafından oluşturulur. *S. aureus'un* kontamine ettiği gıdada bir mikro gramdan daha az toksin miktarı stafilokokkal intoksikasyon semptomlarının

görülmesine neden olur. Bu toksin düzeyine *Staphylococcus aureus* sayısı 10^4 kob/g-ml den fazla olduğunda ulaşılır (Ünlütürk ve Turantaş 1999).

Anaerob koşullarda yaşayabildikleri gibi aerobik koşullarda çok daha iyi yaşama kabiliyeti gösterirler. Zehirleme potansiyeline hem aerob hem de anaerob koşullarda sahiptirler. Bu nedenle de gıda hijyeni yönünden önemli bakterilerdir (Göğüş 2001).

S. aureus'un bazı özel direnç mekanizmaları sayesinde spor oluşturmadığı halde vücut dışında uzun süre varlığını koruyabilen tek insan patojenidir. Ağır metallere, klinik mikrobiyolojide kullanılan pek çok antibiyotiğe direnç kazanmıştır (Ünlütürk ve Turantaş 1999). *S. aureus*, insan derisinde sıklıkla bulunur. Ayrıca suda, toprakta, dışkı, gıda işlemede kullanılan alet ve ekipmanlarda ve gıda işçilerinin giysilerinde bulunur (Bremer ve ark. 2004). Sağlıklı bireylerin burun, boğaz gibi mukoz membranları ile saç ve derisi üzerinde bulunur. Çeşitli deri lezyonları ve yangılarında (akne, abse gibi), bazen tırnak etrafındaki yaralarda çok sayıda *S. aureus* bulunur. Sağlıklı insanların % 10-50'sinin nazal pasajlarında *S. aureus*'un bulunduğu bildirilmiştir. *S. aureus* solunum enfeksiyonlarına neden olabiceği gibi, gıdalarda oluşturdukları toksinlerle gıda zehirlenmelerinede neden olabilmektedirler (Anonymous 2001a; Bremer ve ark 2004). İnsanların % 30-50'sinin burun mukozasında; % 5-40'nın derisinde *S aureus'u* taşıdığı tespit edilmiştir. Stafilokokların en yaygın kaynağı ellerdir. Stafilokokların gelişimi için en iyi ortamın ter bezlerinin olduğu bildirilmiştir. *S. aureus*, ayrıca insan dışkısında da sıklıkla rastlanmaktadır. *S. aureus* hayvanlarda deri florası, burun ve boğaz mukozasında ve irinli deri enfeksiyonlarında bulunur. Deri ve meme enfeksiyonlarından sık olarak *S. aureus* izole edilmektedir (Lechowich 1971). *S. aureus'un* ete bulaşmasında çeşitli yollar vardır: Bunlardan en önemlisi hayvanın yüzülmesi sırasında kesim yapan eller ile bulaşması yanında kesim hayvanlarının derisi ve kıllarından kesim süresince karkasa ve iç organlara bulaşmasıdır (Anonymous 2001a; Türker 1997).

Zayıf rekabetçi olan *S. aureus,* ortamda bulunan diğer saprofit bakteriler tarafından gelişimi baskılanır. Eğer ortamdaki flora yıkımlanırsa, *S. aureus* gelişip toksin üreterek gıda zehirlenmelerine neden olur. Gıdadaki *S. aureus* düzeyi, 10^5 kob/g 'dan fazla olduğu zaman gıda zehirlenmeleri görülmektedir. Stafilokokkal zehirlenme için 1µg'dan az düzeyde toksin yeterli olabilmektedir.

Besinlerde diğer bakteriler belirli düzeylerdeki sıcaklık etkisi ile ve yoğun tuz konsantrasyonlarında inhibisyona uğrarken *S. aureus* gelişebilir. *S. aureus* özelikle pişmiş et ürünleri, balık ürünleri, süt- süt ürünleri, krema sosları, tavuk eti, gibi hayvansal proteinlerin bulunduğu ortamlarda gelişir (Anonymous 2001a).

Bu bakteri 6-48 ^{o}C'de gelişir. Optimum gelişim sıcaklığı 37 ^{o}C'dır. Optimum gelişme pH değeri 7-7,5; gelişim aralığı pH 4,2-9,3 arasındadır. *S. aureus*, O_2 varlığında çok iyi gelişir. Oksijensiz ortamda da gelişebilir ancak %80 CO_2 varlığında gelişimi yavaşlar. Bu bakteri kurutmaya dirençlidir. Düşük su aktivitesinde gelişebilir ve 0,85'e kadar düşük su aktivitesinde enterotoksin üretebilir. Düşük su aktivitesinde *S. aureus* 'un toksin üretimi inhibisyona uğramaktadır. *S. aureus,* %25'in üzerindeki tuz konsantrasyonlarında üreyebilir. En iyi ürediği tuz konsantrasyonu %7-10'dur. Optimum geliştiği su aktivitesi 0,99'dur.

Toksin üretim sıcaklığı 10-45 ^{o}C'dır. Optimum toksin üretim sıcaklığı 35-40 ^{o}C'dır. Toksinin ürediği optimum pH 5,3-7'dır. Toksin gelişim pH aralığı 4,8 -9'dur. En yüksek toksin üretimi oksijenli ortamdadır. Anaerobik şartlarda toksin üretimi daha az olur. Toksin gelişimi için su aktivitesi aralığı 0,86-0,99'dur. Optimum su aktivitesi ise ≥90'dır (Anonymous 2001a).

Enterotoksin üretimi atmosfer şartlarından: karbon, nitrojen ve tuz düzeylerinden etkilenmektedir. Toksin üretimi *S. aureus'un* geliştiği en düşük sıcaklık 6,7 ^{o}C de 5 günde; 16^{o}C 'de 7 günde meydana gelir. Besin zehirlenmelerinden sorumlu stafilokokkal enterotoksinler yüksek sıcaklıklara dirençlidir: *S. aureus* enterotoksini 100 ^{o}C'da 60 dakika direnç gösterirken, 121 ^{o}C 'da 30 dakikada tahrip olur (Lechowich 1971).

A.B.D. Halk Sağlığı ve Hastalıkları Merkezinin yaptığı istatistiksel araştırmalara göre *S. aureus* zehirlenmelerinin % 40,6'sı et (% 21,4 'ü ham, %11,4'ü çiğ et, %4,4'ü marinasyonlu ve işlenmiş et ürünleri), %21,8'i kanatlı etleri (%11,1 tavuk eti ve % 10,7'si hindi eti); %13,7'si kremalı ürünler; %13,7'si balık ve kabuklu su ürünleri; %5,9'u patates ve makarnalı salatalar; %3,7 si süt ve süt ürünleri; % 2,6' sı yumurta ve yumurtalı ürünler ve % 6,3 'ünü diğer besinler oluşturmaktadır (Lechowich 1971).

Yüksek konsantrasyonlarda tuz ve şeker içeren konsantrasyonlarda bir çok mikroorganizma inhibisyona uğrarken stafilokoklar üremeye devam etmektedirler.

Temizlik ve dezenfeksiyon kurallarına uymayan gıda işçilerinin ete çıplak elle dokunmaları ile ile koagulaz pozitif stafilokokalar et ve et ürünlerine bulaşabilmekte: Et ve et ürünlerinde renk koku ve aromada değişiklik meydana getirmeksizin enterotoksinleri oluşturmaktadır. Stafilokokkal enterotoksin, 25000 dalton molekül ağırlığında basit bir proteindir. Enterotoksinler etkisini önce sindirim sistemi üzerinde; sonra merkezi sinir sistemi üzerinde gösterir (Lechowich 1971). Klinik semptomları 2-12 saattir. Hastalığın belirtileri: Bulantıyı izleyen salivasyon artışı, öğürme, karın ağrısı ve ishal görülür. Bazı ciddi vakalarda kusmukla dışkıda kan ve mukus bulunabildiği gibi kas ağrısı, baş ağrısı, terleme ve yorgunluk sıklıkla görülür. Akut safhada iyileşme hızlıdır Toksini alan kişide 2-3 saat klinik belirtiler şiddetli devam eder. İyileşme genellikle 1-3 gün arasındadır. Ancak yaşlılar, çocuklar, kalp hastalarında,immun yetersizlikleri ve kronik hastalıkları olanlarda ölümle sonuçlanabilir. Ölümler, şiddetli öğürme ve kusma sonucu gelişen kardiyovasküler hasar sonucu oluşabilir (Lechowich 1971; Anonymous 2001a).

Desmarchelier ve ark.(1999), 3 değişik kesimhaneden aldıkları sığır karkaslarında *S. aureus* tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, A işletmesinde %62; B işletmesinde % 85 ve C işletmesinde %89 oranında *S. aureus* olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar iç organ çıkarımından sonra göğüs ve boşluk bölgelerinin sağrı bölgesine göre daha yüksek oranda *S. aureus* olduğunu belirlemişler ve C işletmesindeki işçilerinin ellerinin *S. aureus* yönünden daha yoğun olduğunu gözlemlemişlerdir.

Vanderlinde ve ark (1998), Avusturya mezbahanlerinde sığır karkasları, işçilerin elleri ve mezbahane ortamından aldıkları numunelerin çoğunda koagulaz pozitif *Staphylococcus* izole etmişlerdir.

Normanno ve ark (2005), taze etlerden alınan 1316 numunenin 537 adedinde koagulaz pozitif *Staphylococcus* tespit etmişlerdir. Kıyma ve hamburgerlerden alınan 29 numunenin ise %53,7'sinde koagulaz pozitif *Staphylococcus* ürediğini belirlemişlerdir.

Bilge ve Karaboz (2005),kıymalar üzerinde yaptıkları mikrobiyolojik çalışmalarda 22 adet kıymadan 8'inde *S. aureus*'a rastlamışlardır.*S. aureus*'un yaklaşık %80'nin enterotoksin üretme yeteneğine sahip olduğunu; ancak *S. aureus* sayısı yüksek olan etlerin enterotoksin üretme yeteneği olmadığını belirlemişlerdir.*S. aureus* sayısı 10^5 /g'ın üzerine çıktığında toksin oluşturma riski artmaktadır.

Sıcaklık kontrolü, *S. aureus* ve toksininin gelişimini minimize etmenin en iyi yoludur. Ayrıca dezenfeksiyon, sanitasyon kurallarına uymak elinde yara veya lezyon bulunan gıda işçilerini tecrit etmek gereklidir (Anonymous 2001a).

2.5. Koliform Bakterisi

Koliform bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyası içersinde yer alan fakültatif anaerob gram negatif spor oluşturmayan 35 ^{o}C'de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan çubuk şeklindeki bakterilerdir. Bu grupta yer alan ve gıda mikrobiyolojisi açısından önem taşıyan mikroorganizmalar, *Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae*'dir (Çakır 2000).

Koliform bakterilerden indikatör olarak ilk defa suların güvenilirliği açısından, daha sonraları ise diğer gıdalarda olası fekal kontaminasyon ve gıda sanayinde sanitasyon göstergesi olarak yararlanılmıştır. Koliform bakteriler, insan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsak sistemlerinde doğal olarak bulunduğundan başlangıçta fekal kontaminasyonun en önemli indikatörü olarak değerlendirilmişlerdir. Bunun sonucu olarak koliform varlığı aynı zamanda bağırsak patojenlerininde bulunabileceğinin de bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Fekal orjinli *E. coli'nin* birinci doğal habitatı, insan ve sıcak kanlı hayvanların sindirim sistemidir. Ancak koliformların bazıları: *Klebsiella pneomoniae, Enterobacter aerogenes* ve *Citrobacter freundii* hem bitkilerde hem de insan ve hayvanların bağırsak sistemlerinde bulunur (Temiz 1999).

Besinlerde koliform mikroorganizma bulunması; kötü sanitasyon koşullarının, yanlış pastörizasyon uygulamalarının veya pişirme ve pastörizasyon sonrası tekrar bulaşmaların olduğunun göstergesidir. Gıdalarda koliform bakterilerin varlığının ortaya konması fekal kontaminasyon ve enterik patojen varlığının kesin göstergesi değildir. Çünkü koliform bakteriler, insan ve hayvan bağırsak sistemi dışındaki bir çok ortamda da yaygın olarak bulunmakta ve gelişimine uygun ortamlarda kolaylıkla üreyebilmektedir. Doğada yaygın olarak bulunan koliform bakteriler, insan ve hayvan vücudu dışında üreyebilmesi ve bazı suşlarının fekal kaynaklı oluşu gibi nedenlerle bu gruptan daha çok sanitasyon indikatörü olarak yararlanılmaktadır (Temiz 1999).

Gıda ve içme suyu numunelerinde *E. coli* ve/ veya fekal koliforma rastlanması, bunlara doğrudan veya dolaylı olarak dışkı bulaştığını yine bağırsak kökenli patojen etkili

Salmonella ve *Shigella* gibi bakterilerinde bulunabileceğinin göstergesidir. Bu nedenle içme ve kullanma sularında *E. coli* ve fekal koliformlar bulunmamamlıdır (Çakır 2000).

2.6.Esherichia coli

İlk olarak Theodor Esherich tarafından tanımlanan *Escherichia coli, Enterobacteriaceae* familyasının üyesi olup günümüzde enterik bakterilerin en önemlilerinden biridir. İnsan ve hayvanların bağırsak kanalında yaygın olarak bulunan fakültatif anaerob bir bakteridir. Dışkıda 10^8 kob/g üzerinde tespit edilmiştir (Harris 2005). Bell (1997), taze sığır dışkısında *E. coli*'yi $\log_{10}$ 4.67 kob/g; taze dışkıyla kontamine olmuş deride ise 5.71 kob/cm^2 düzeyinde belirlemiştir.

E. coli, gram negatif, sporsuz, çubuk şeklinde, glikozdan asit ve gaz oluşturan katalaz pozitif ve fakültatif anaerob bir bakteridir. Laboratuar koşullarında tanınmasında en çok triptofandan indol oluşturma, sitratı yıkımlama ve pH 4,4 'ün altında asit oluşturma özelliklerinden yararlanılır. Mezofilik bir bakteri olup gelişme sıcaklığı 37 ^oC'dır. Mevcudiyetleri 4-5 ^oC ısı düzeyleri arasında sürdürülebilmektedir. *E. coli,* somatik O, flagellar H ve kapsüler K antijenini taşımakta olup bu antijenlerin bakterideki konumuna göre serotipleri birbirinden ayrılabilmektedir (Göğüş 2001). *E. coli* bakterisinin, genel gelişim şartları Tablo 3'de gösterilmektedir (Harris 2005).

Tablo 3. *E. coli'nin* Gelişme Şartları

Değer	Isı(oC)	pH	aw
Minumum	7-8	4,4	0,95
Optimum	35-40	6-7	0,995
Maksimum	44-46	9,0	-

Su ve gıdalarda *E. coli* bulaşması, o gıdaların dışkı ile temas ettiğini gösterir. *E.coli* bakterisi patojenitesine göre 6 grupta tanımlanmaktadır: Enterohemorajik (EHEC), Enteropatojenik (EPEC), Enterotoksikojenik (ETEC), Enteroinvasiv (EIEC) Enteroaggregatif (EaggEC) ve Diffuz adherent(DAEC) *E. coli*'dir (Haris 2005).

Besin kaynaklı *E. coli* farklı patojenik özellikleri, antijenleri ve epidemiyolojilerine göre dört grupta sınıflandırılarak incelenmektedir. Bu durum Tablo 4'de gösterilmektedir.

Tablo 4. Patojenik *E. coli*'nin Grupları ve Sahip Olduğu Virulens Faktörler

Grup	Virulens Faktörler	Klinik Gözlem
Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)	Bağırsak epitel hücre yüzeyine yapışma	Mukus içeren sulu diare
Enteroinvansiv *E. coli* (EIEC)	Bağırsak epitel hücrelerine yığılma	Mukuslu ,kanlı diare
Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)	Enterotoksin: LT Ia,LT IIb, LT IIa, LT IIb, ST I, ST Ib	Sulu diare
Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)	Shigella toksinine benzer toksin (SLT I, SLT II), kolonizasyon yeteneği	Ağrılı diare, HUS, TTP

Çoğunlukla enfeksiyonlara neden olan *E. coli* O157:H7 orta şiddette seyreder. Bununla birlikte bağırsak kolon bölümünün kanlı yangısı olarak bilinen hemorajik kolitise de yol açabilir. Bazı kanamayla seyreden vakalar çok ağır seyretmektedir. Hemorajik kolitisle seyreden vakalar enfeksiyonun başlangıcında acilen tedaviye alınır ise 6-8 günde iyileşme meydana gelmektedir. Yapılan araştırmalara göre; *E. coli* O157:H7 ile enfekte hastaların %50'si tedavi olmadan tamamiyle iyileşmiş, %15,4'ü tedavi edilerek iyileşmiş, tedavi edilenlerin %2,3'ü ölümle sonuçlanmış, yine tedavi edilenlerinde %0,3'ünde kronik böbrek yetmezliği gelişmiştir

Hemololitik üremik sendrom, kırmızı kan hücrelerinin yıkımına neden olarak, böbrek yetmezliği yanında felç gibi nörolojik semptomlara neden olarak insan yaşamını ciddi boyutta tehdit eder (Harris 2005)..

E. coli O157:H7 toksini bağırsak villilerinde tahribat yaparak, şiddetli karın ağrısı sulu ve muhtemelen kanlı diyareye neden olur. Çocuklar, genç, yaşlılar ve immun sistemi zayıf olanlar hastalığa çok duyarlıdır. Hemorajik kolitis şiddetli seyredebilir. Hemorajik kolitisli hastaların % 50'sinden fazlasının erken tedavi ile iyileştiği bildirilmiştir.

Çocuklarda, hemolitik üremik sendrom (HUS) gelişebilir. HUS semptomları:Akut abdominal ağrı, kanlı diyare, hemolitik anemi, düşük ateş ve idrar yolları enfeksiyonudur. Hemolitik üremik sendrom, çocuk ve yaşlılarda akut böbrek yetmezliğine yol açar. HUS vakalarının çoğunda trombositopenik purpura gelişebilir. Trobombositopenik purpura beyinde kan pıhtıları birikimi sonucu koma ve felç gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarına yol açar. *E. coli* O157:H7'den meydana gelen ölüm oranlarının % 3-5 arasında olduğu; yaşlılarda ise TTP belirlenen vakalarda ölüm oranın %50'yi bulduğu bildirilmektedir (Penner ve Phebus 1998).

Li ve ark. (2003), mezbahanelerde sığırlarda kesim süresince yaptıkları araştırmalarda *E. coli*'yi deride %88,79 oranında tespit etmişlerdir. İnceledikleri 103 sığır karkasının 53'ünde *E. coli* saptanmıştır.

Phıllıps ve ark.(2001a,b), sığır ve koyun karkaslarında yaptıkları mikrobiyolojik çalışmalarda sığır karkaslarında toplam canlı mikroorganizma sayısını log 2,42 /cm^2, kemiksiz ette 2,52 /cm^2; koyun karkaslarında 3,55 /cm^2; kemiksiz ette 3,30 /cm^2 bulmuşlardır. *E. coli* sığır karkaslarının %10,3'ünde, etlerin %5,1'inde koyun karkaslarının %29,2'sinde, etlerin ise %24,5'inde saptanmıştır. Koagulaz pozitif *Staphylococcus*'lar sığır karkaslarının %24,3'ünde, etlerin %27,5'inde, koyun karkaslarının %24,1'inde, etlerin ise %38,6'sında bulunmuştur. Göğüs bölgesinin karkasın diğer bölgelerine göre genel canlı mikrorganizma, koliform, *E. coli* ve *S. aureus* yönünden yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Gill ve ark. (1998), Kanada'da farklı et işletmelerinde yaptıkları çalışmalarda, tüm et işletmlerinde koliforma sık rastlandığı ve *E. coli*'ninde yüksek düzeyde olduğunu tespit etmişlerdir. Toplam canlı mikrorganizmalar yönünden ise işletmeler arasında farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Sofos ve ark (1998), A.B.D.'de et işletmlerinde sığır karkaslarından rastgele olarak aldıkları numunelerde: genel canlı mikroorganizma, toplam koliform ve *E. coli* sayısını yüksek seviyede tespit emişlerdir. Satış noktalanda ise subprimal bölge toplam canlı mikrorganizma yönünden parçalama ünitelerine göre yüksek bulunmuştur. Parçalama ünitesinden alınan numuneler, koliform ve *E. coli* sayısı bakımından satış noktalarından yüksek çıkmıştır.

Eisel ve ark (1997), yaptıkları çalışmada genel canlı mikrorganizma, koliform ve ve *E. coli* sayıları sığır karkasları ve paketlenmiş sığır etlerinde yüksek bulmuşlardır. Toplam canlı mikroorganizma, parçalama ünitesinde karkaslarda 3 kob/g; perakende parça etlerde ise 7 kob/g , sığır kıymalarında ise ortalama 4,6 kob/g bulunmuştur.

Litttle ve De Louvois (1998), et işletmelerinde et kesme tahtaları üzerinde yaptıkları çalışmlarda *E. coli*, koliform ve *S. aureus'u* yüksek düzeyde tespit etmişlerdir.

Arenas de Morena ve ark. (2004), sığır karkaslarından anal bölgeden aldıkları numuneler genel canlı mikrorganizma yönünden yüksek bulunmuş olduğunu bunu sırasıyla göğüs ve sağrı bölümünün izlediğini belirlemişlerdir. Fekal koliformlar yönünden bir değişiklik olmadığını, alınan numunelerden %27'sinde *E. coli* tespit etmişlerdir.

Miller ve ark. (1995), yağların traşlanması, sonrasında karkaslarda psoas major kasının, longissimus dorsi ve biceps femoris kaslarına göre mikrorganizma yönünden düşük düzeyde olduğunu tespit etmişler ve kesimden hemen sonra karkasların mikrobiyal florasının değiştiği saptamışlardır.

Başkaya ve ark. (2004), İstanbul'da satışa sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin standart değerlerin çok altında olduğunu saptamışlardır.

Donkersgo ve ark. (1997), yüksek kesim hattındaki karkasların göğüs bölgesindeki ve derideki bakteriyel yoğunluğunun yüksek düzeyde olduğunu ifade etmişlerdir.

Maceda ve ark. (2005), sığır kesimhanelerinde ve et parçalama ünitelerinde yaptıkları araştırmalarda aldıkları numunelerde *E. coli* ve *S. aureus*'u saptamışlardır.

Emswiller ve ark (1976), kıymalarda yaptıkları araştırmalarda depolama süresinin uzamasının genel canlı mikrorganizma sayısını artırdığını bunun yanında koliform ve *E. coli* sayısını azalttığını tespit etmişlerdir. *S. aureus* sayısında ise bir değişiklik oluşmadığınını ortaya koymuşlardır.

Skrokki (1997), kıymalar üzerinde yaptığı çalışmlarda kıymaların % 70'nin iyi kalitede olduğunu; %30'nun tolere edilebilir kalitede olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmada iyi kalite, tolare edilebilir kalite ve kötü kalite kavramlarının pH değerleri ile bağlantılı olabilceğini vurgulanmıştır. İyi kalite kıymada 10 milyon/gr aerobik bakteri,

1000 adet/gr koliform; tolare edilebilir kalite kıymada 10-100 milyon/gr aerobik bakteri, 1000-10.000 adet/gr koliform; kötü kalite kıymada 100 milyon/gr'dan fazla aerobik bakteri, 10.000'den fazla koliform bakterisi bulunabileceği bildirilmiştir.

Aydın ve Afyon'dan toplanan 70 kıyma örneğinde yapılan mikrobiyolojik araştırmalarda numunelerin %79'nun > 10^5 aerobik mezofilik bakteri, % 21.4'ünün koagulaz pozitif *Staphylococcus*, %64'ünün >1100MPN/g koliform, % 5,7 'sinin 10^3 kob/g 'dan yukarı *E. coli* tespit edilmiştir (Sırıken 2004)

Gönülalan ve Köse (2003), Kayseri ilinde marketlerden toplanan kıymalar üzerinde yaptıkları mikrobiyolojik çalışmalardaki TAMB, Toplam koliform, *E. coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* değerlerini sırasıyla $6.0x10^8$;$1.8x10^7$;1.0x105 ve $1.7x10^6$ kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri tebliği 17.03.2001-24345 sayı ile Resmi Gazetede yayınlanarak yürülüğe girmiştir. Bu tebliğe göre çiğ kırmızı et ve kıyma için mikrobiyolojik kriterler ve hazırlanmış kırmızı et karışımları için mikrobiyolojik kriterler tablo 5 ve 6 'da gösterilmektedir (Anonim 2001).

Tablo 5. Çiğ Kırmızı Et ve Kıyma İçin Mikrobiyolojik Kriterler

	n	c	m	M
Aerobik mezofilik bakteri	5	2	$5{,}0x10^5$	$5{,}0x10^6$
Escherichia coli O157:H7	5	0	25 g'da bulunmamalı	
Staphylococcus aureus	5	2	$5{,}0x10^2$	$5{,}0x10^3$
Pseudomonas	5	2	$5{,}0 \times 10^4$	$5{,}0 \times 10^5$
Salmonella spp.	5	0	25 g'da bulunmamalı	

Tablo 6. Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları İçin Mikrobiyolojik Kriterler

	n	c	m	M
Aerobik mezofilik bakteri	5	2	$5{,}0x10^5$	$5{,}0x10^6$
Escherichia coli O157:H7	5	0	25 g'da bulunmamalı	
Staphylococcus aureus	5	2	$5{,}0x10^2$	$5{,}0x10^3$
Bacillus spp.	5	2	$1{,}0x10^4$	$1{,}0x10^5$
Clostridium perfringens	5	2	$2{,}0x10^1$	$1{,}0 \times 10^2$
Pseudomonas	5	2	$5{,}0 \times 10^4$	$5{,}0 \times 10^5$
Toplam küf ve maya	5	2	$1{,}0x10^3$	$1{,}0x10^4$
Salmonella spp.	5	0	25 g'da bulunmamalı	

n : Analize alınacak numune sayısı

c : m ile M arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla analize alınacak numune sayısı

m : (n – c) sayıdaki analize alınacak numunenin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

M : c sayıdaki analize alınacak numunenin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal Temini

Araştırmada kullanılan materyaller Antalya ilinde faaliyet gösteren marketlerden ve bir firmaya ait parçalama ünitesinden 12 ay süreyle temin edilmiştir. Araştırmada her bir et numunesinden 24 adet alınmıştır. Toplam 432 adet numune kullanılmıştır. Araştırmada ayrı ayrı olmak üzere parçalama ünitesinden ve marketlerden antrekot, kontrnuar, yumurta, kontrfile, tranç sokum, gerdan, nuar ve bonfile et preperatları alınmıştır. Ayrıca marketlerden 60 adet kıyma numunesi temin edilerek analize alınmıştır.

3.2.Metot

Market ve parçalama ünitesinden alınan numuneler toplam mezofilik aerobik bakteri, koliform bakteriler, *Escherichia coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* yönünden incelenmişlerdir.

Parçalama ünitesinden her ayın iki haftası sığır karkaslarından steril bıçak ile kesip alma yöntemine göre sterilize edilmiş bistüri ile antrekot, kontrnuar, yumurta, kontrfile, tranç sokum, gerdan, nuar ve bonfile kısımlardan ; Marketlerden ise belirtilen et perparatlarına ilave olarak kıyma numuneleri alınmıştır. Toplanan numuneler 1 saat içerisinde soğuk zincir korunarak mikrobiyoloji laboratuarına ulaştırılarak analize alınmışlardır.

Steril numune kaplarındaki et numunleri hassas terazide 10 gram tartılarak, 90 ml steril peptonlu su(Pepton Water-Merck 1.07228) ile karıştırılıp karıştırıcıda 2 dakika homojenize edildi. Elde edilen 1/10 dilusyondan 10^7'ye kadar sulandırma yapıldı. Seri dilusyonlarının hazırlanmasından sonra petri kutusuna her dilusyondan 1 ml kullanılarak dökme yöntemiyle iki paralelli ekimler yapıldı. Petri kutusunda üreyen koloniler sayılarak değerlendirmeye alındı (APHA 1976; Harrigan ve Mc Cance 1976).

3.2.1. Toplam mezofilik aerob bakteri sayımı

Plate Count Agar (PCA-Merck 1.05463), besiyerine dökme plak yöntemi kullanılarak, 35 ^{o} C'da 24 saat inkübasyondan sonra sayım yapıldı (Harrigan ve Mc Cance 1976).

3.2.2.Toplam Koliform bakterisi sayımı

Steril petri kutularına dilusyonlardan 1 ml ekim yapılarak üzerine 10-15 ml 45 ^{o}C'a soğutulmuş Violet Red Bile Agar'a (VRBA Merck 1.01406) çift kat dökülerek karıştırıldı. Petri kutuları 35 ^{o}C 'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra <0.5-2 mm çapındaki koyu kırmızı renkte zon oluşturan tipik koloniler koliform bakteri olarak değerlendirilerek sayıldı (Erkmen 2000).

3.2.3. *Escherichia coli* sayımı

Steril petri kutularına 1 ml dilusyonlardan konularak üzerine 15 ml Violet Red Bile +MUG'lu (Fluorocult VRBA Merck 1.04030) besiyeri dökülerek 18 saat 37 ^{o}C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra, koloniler ultra viyole (UV) lambası (Merck 1.13203) altında kontrol edildi. Bunlardan flöresans ışıma verenler *E. coli* olarak işaretlendi. Bu şekilde *E. coli* sayısı hesaplandı ve standart kurallara göre değerlendirildi. (Karama, 2001).

3.2.4. Koagulaz pozitif *Staphylococcus* belirlenmesi

Baird Parker Agar'a (BPA Merck 1.05406), 45 ^{o}C'da lt'ye 50 mg Egg Yolk Tellurite Emulsiyon (EYTE Merck 1.03785) ilave edilerek 35 ^{o}C 'de 24-48 saat inkübe edildi. Baird parker agar'da 48 saat sonra 1-1,5 mm dar çaplı siyah, parlak, konveks koloniler olduğu gibi 3 mm geniş çaplı etrafı belirgin açık bir zonla çevrilmiş yüzük şeklinde koloniler görüldü. Belirlenen uygun kolonilere koagulaz testi (Staphylase Test Oxoid DRO595A) uygulandı (Karama, 2001).

3.2.5.İstatistiksel Metot

Parçalama ünitesi ve marketlerden alınan et preparatı numunelerinden elde edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları Statistical Analyses System bilgisayar programında varyans analizi ile değerlendirildi.Gruplar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu karşılaştırma testi ile ortaya konuldu (Anonymous, 1987).

4.BULGULAR

Araştırmada Antalya ilinde faaliyet gösteren bir firmaya ait parçalama ünitesinden ve marketlerden 12 ay süreyle ayrı ayrı olmak üzere antrekot, kontrnuar, yumurta, kontrfile, tranç sokum, gerdan, nuar ve bonfile et preperatları alındı. Araştırmada her bir et numunesinden 24 adet olmak üzere toplam 432 adet numune kullanıldı. Ayrıca marketlerden 60 adet kıyma numunesi temin edildi. Bütün numuneler toplam aerobik mezofilik, koliform bakterisi, *E. coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus'*lar yönünden incelenerek istatistiksel olarak değerlendirildi.

Parçalama ünitesi ve marketlerden alınan numunelerin mikrobiyolojik analiz sonuçlarının minumum, maksimum, ortalama ve standart hata değerleri Tablo 7,8,9,10'da gösterilmektedir.

Tablo 7. Et Parçalama Ünitesinden Temin Edilen Numunelerin TMAB ve Koliform Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log_{10} kob/g)

Mikroorganizma	Et preparatı	n	min	max	X±Sx
TMAB					
	Antrekot	24	2.76	3.80	3.25 ± 0.06^{bcd}
	Kontrnuar	24	2.72	3.70	2.79 ± 0.06^{d}
	Yumurta	24	2.73	3.84	3.19 ± 0.05^{cd}
	Kontrfile	24	2.89	3.88	3.34 ± 0.05^{bc}
	Tranç	24	2.85	3.97	3.39 ± 0.06^{b}
	Sokum	24	2.91	4.79	3.58 ± 0.08^{a}
	Gerdan	24	2.92	4.74	3.65 ± 0.05^{a}
	Nuar	24	2.88	3.79	3.36 ± 0.05^{bc}
	Bonfile	24	2.89	3.51	3.22 ± 0.03^{bcd}
Koliform					
	Antrekot	24	2.48	3.48	2.79 ± 0.06^{bc}
	Kontrnuar	24	2.48	3.48	2.79 ± 0.06^{bc}
	Yumurta	24	2.48	3.26	2.72 ± 0.04^{c}
	Kontrfile	24	2.48	3.20	2.73 ± 0.04^{c}
	Tranç	24	2.48	3.51	2.84 ± 0.05^{bc}
	Sokum	24	2,49	3,53	$2,96\pm0,06^{b}$
	Gerdan	24	2,48	4,43	$3,15\pm0,09^{a}$
	Nuar	24	2.51	4.66	3.22 ± 0.10^{a}
	Bonfile	24	2.48	3.53	2.80 ± 0.06^{bc}

a,b,c,d; Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.001) <1: Üreme Görülmedi

Et parçalama ünitesinden temin edilen et preparatlarının, TMAB ve koliform bakterisi sayıları bakımından önemli farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.001$). Et numunelerinin TMAB sayısı, 2.79-3.65 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edilmiştir. En yüksek TMAB sayısı gerdan kısmında (3.65 $\log_{10}$ kob/g); en düşük değer ise kontrnuar da (2.79 $\log_{10}$ kob/g) belirlenmiştir.

Numunelerin koliform bakteri sayısı 2.72-3.22 $\log_{10}$ kob/g arasında değiştiği, en yüksek değerin nuar da (3.22 $\log_{10}$ kob/g); en düşük değerin ise yumurta da (2.72 $\log_{10}$ kob/g) olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 8. Et Parçalama Ünitesinden Temin Edilen Numunelerin *E.coli* ve Koagulaz pozitif *Staphylococcus* Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log_{10} kob/g)

Mikroorganizma	Et preparatı	n	min	max	X±Sx
E.coli					
	Antrekot	24	<1	<1	<1
	Kontrnuar	24	<1	<1	<1
	Yumurta	24	<1	<1	<1
	Kontrfile	24	1.76	2.76	2.47±0.06[b]
	Tranç	24	1.81	2.83	2.47±0.06[a]
	Sokum	24	1.85	2.83	2.67±0.08[a]
	Gerdan	24	<1	<1	<1
	Nuar	24	<1	<1	<1
	Bonfile	24	<1	<1	<1
Koagulaz pozitif *Staphylococcus*					
	Antrekot	24	2.48	3.08	2.52±0.09[b]
	Kontrnuar	24	2.48	3.08	2.52±0.09[b]
	Yumurta	24	<1	<1	<1
	Kontrfile	24	<1	<1	<1
	Tranç	24	<1	<1	<1
	Sokum	24	2.50	3.58	2.83±0.05[a]
	Gerdan	24	2.51	2.80	2.73±0.04[a]
	Nuar	24	2.48	2.86	2.78±0.05[a]
	Bonfile	24	<1	<1	<1

a,b,c,d; Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir ($P<0.001$). <1: Üreme Görülmedi

Et parçalama ünitesinden temin edilen et preparatlarının, *E. coli* ve koagulaz pozitif *S. aureus* sayıları bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Et numunelerinin *E. coli* sayısı, 2.47-2.67 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlenmiştir ($p<0.001$). Bu mikroorganizmanın bazı et preparatlarında (antrekot, kontrnuar, yumurta, gerdan, nuar, bonfile) tespit edilebilir düzeyin altında olduğu gözlemlenmiştir. Numunelerin koagulaz pozitif *S. aureus* sayısının, 2.52-2.83 $\log_{10}$ kob/g arasında değiştiği; yumurta, kontrfile, tranç ve bonfile de ise belirlenebilir düzeyin altında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8)

Tablo 9. Marketlerden Temin Edilen Numunelerin TMAB ve Koliform Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log_{10} kob/g)

Mikroorganizma	Et preparatı	n	min	max	X±Sx
TMAB					
	Antrekot	24	3.08	5.42	4.10 ± 0.10^{a}
	Kontrnuar	24	3.23	5.98	4.08 ± 0.14^{a}
	Yumurta	24	3.15	4.98	3.74 ± 0.08^{bc}
	Kontrfile	24	3.26	5.91	3.96 ± 0.12^{ab}
	Tranç	24	2.98	5.85	4.15 ± 0.12^{a}
	Sokum	24	3.20	5.58	4.18 ± 0.10^{a}
	Gerdan	24	3.00	5.76	4.15 ± 0.12^{a}
	Nuar	24	3.26	4.88	3.86 ± 0.09^{ab}
	Bonfile	24	2.75	4.30	3.49 ± 0.07^{c}
Koliform					
	Antrekot	24	2.80	4.51	3.53 ± 0.08^{ab}
	Kontrnuar	24	2.59	5.26	3.47 ± 0.13^{ab}
	Yumurta	24	2.64	4.56	3.31 ± 0.08^{bc}
	Kontrfile	24	2.54	4.51	3.37 ± 0.10^{abc}
	Tranç	24	2.58	5.54	3.68 ± 0.13^{a}
	Sokum	24	2.58	5.42	3.71 ± 0.13^{a}
	Gerdan	24	2.52	4.66	3.62 ± 0.12^{ab}
	Nuar	24	2.49	4.62	3.39 ± 0.12^{abc}
	Bonfile	24	2.48	3.53	2.80 ± 0.06^{bc}

a,b,c,d; Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0..001) <1: Üreme Görülmedi

Marketlerden temin edilen numunelerde TMAB, koliform, *E. coli* ve koagulaz pozitif *S. aureus* sayıları bakımdan istatistiki farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 9,10).

Marketlerden temin edilen et preperatlarının TMAB sayısı, 3.49-4.18 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlenmiştir. En yüksek değer sokumda (4.18 $\log_{10}$ kob/g); en düşük değer ise bonfile de (3.49 $\log_{10}$ kob/g) tespit edilmiştir (P<0.001) (Tablo 9).

Numunelerin koliform bakteri sayısının, 2.80-3.71 $\log_{10}$ kob/g arasında değiştiği, en düşük değerin bonfilede (2.80 $\log_{10}$ kob/g); en yüksek değerin ise sokum da (3.71 $\log_{10}$ kob/g) olduğu gözlemlenmiştir (P<0.001) (Tablo 9).

Tablo 10. Marketlerden Temin Edilen Numunelerin *E.coli* ve Koagulaz pozitif *Staphylococcus* Bakterilerin Minumum Maksimum ve Ortalama Değerleri (Log_{10} kob/g)

Mikroorganizma	Et preparatı	n	min	max	X±Sx
E. coli					
	Antrekot	24	1.78	3.83	2.40±0.21[a]
	Kontrnuar	24	1.79	3.92	2.60±0.14[a]
	Yumurta	24	<1	<1	<1
	Kontrfile	24	<1	<1	<1
	Tranç	24	1.90	3.75	1.76±0.27[b]
	Sokum	24	1.78	3.56	1.77±0.26[b]
	Gerdan	24	1.20	3.02	1.86±0.27[b]
	Nuar	24	<1	<1	<1
	Bonfile	24	<1	<1	<1
Koagulaz pozitif *Staphylococcus*					
	Antrekot	24	2.52	3.90	2.87±0.23[ab]
	Kontrnuar	24	2.48	3.92	2.60±0.24[ab]
	Yumurta	24	<1	<1	<1
	Kontrfile	24	<1	<1	<1
	Tranç	24	2.49	3.91	2.64±0.25[ab]
	Sokum	24	2.56	4.11	2.85±0.25[ab]
	Gerdan	24	2.52	3.94	3.17±0.14[a]
	Nuar	24	2.49	3.96	2.62±0.25[ab]
	Bonfile	24	<1	<1	<1

a,b,c,d; Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir(P<0.001) <1: Üreme Görülmedi

Marketlerden temin edilen et preparatlarından yumurta, nuar, kontrnuar ve bonfilede *E. coli*; yumurta, kontrfile ve bonfilede ise koagulaz pozitif *Staphylococcus* üremesi tespit edilebilir düzeyin altında bulunmuştur. Diğer et preparatların *E. coli* sayısının 1.76-2.60; koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısının ise 2.60-3.17 $\log_{10}$ kob/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 10).

Et Parçalama Ünitesi ve Marketlerden Temin Edilen Numunelerin t Testi Sonuçları Tablo 11 'de gösterilmektedir.

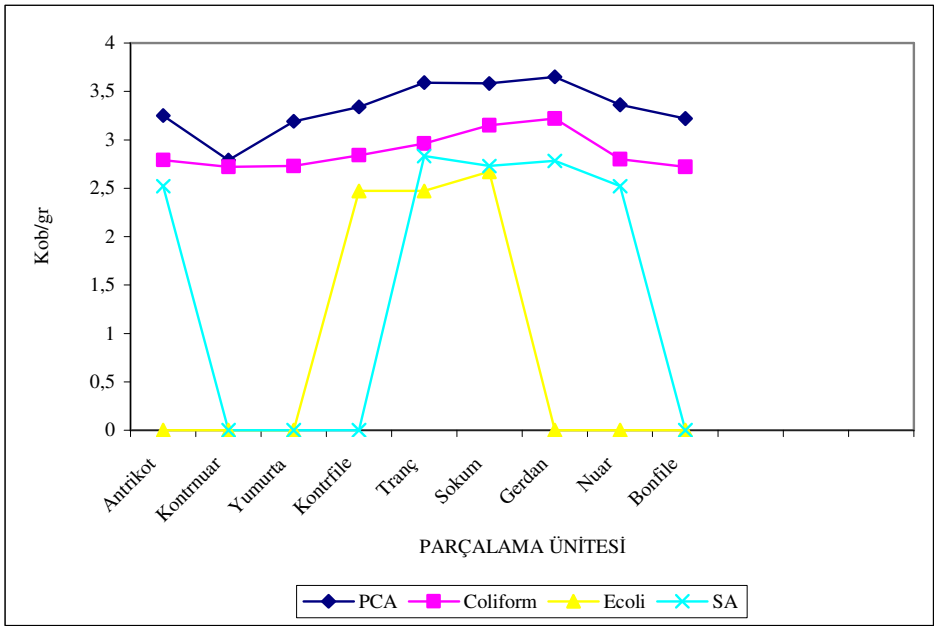
Tablo 11. Et Parçalama Ünitesi ve Marketlerden Temin Edilen Numunelerin t Testi Sonuçları (Log_{10} kob/g)

	Toplam Mezofilik Aerob mo			Koliform bakterisi			E.coli			Koagulaz+ Stafpyhlococcus		
Et Preparatı	Parçalama	Market	T	Parçalama	Market	T	Parçalama	Market	T	Parçalama	Market	t
Antrekot	3.25±0.06	4.10±0.10	7.289***	2.79±0.06	3.53±0.08	7.40***	<1	2.40±0.21	41***	2.52±0,09	2.87±0,23	1.417
Konturnuar	2.79±0.06	4.08±0.14	8.169***	2.79±0.04	3.47±0.13	5.514***	<1	2.60±0.14	18.57***	2.52±0.09	2.60±0.24	10.83***
Yumurta	3.19±0,05	3.74±0.08	5.830***	2.72±0.04	3.31±0.08	6.485***	<1	<1	-	<1	<1	-
Kontrfile	3.34±0,05	3.96±0.12	4.769***	2.73±0.05	3.37±0.10	4.740***	2,47±0,06	<1	43.63***	<1	<1	-
Tranç	3.39±0.06	4.15±0,12	5.665***	2.84±0.06	3.68±0.13	5.029***	2,47±00,6	1.76±0.27	2.567**	<1	2.64±0.25	0.745
Sokum	3.58±0,08	4.18±0.10	4.685***	2.96±0.09	3.71±0.13	3.352**	2,67±0,08	1.77±0.26	3.308**	2.83±0.04	2.85±0.25	0.474
Gerdan	3.65±0,05	4.15±0.12	3.846***	3.15±0.10	3.62±0.12	2.561*	<1	1.86±0.27	6.889***	2.73±0.05	3.17±0.14	2.623**
Nuar	3.36±0.05	3.86±0.09	4.856***	3.22±0.06	3.39±0.12	1.088	<1	<1	-	2.78±0.05	2.62±0.25	0.392
Bonfile	3.22±0.03	3.49±0.07	3.545***	2.80±0.03	2.80±0.07	4.464***	<1	<1	-	<1	<1	-

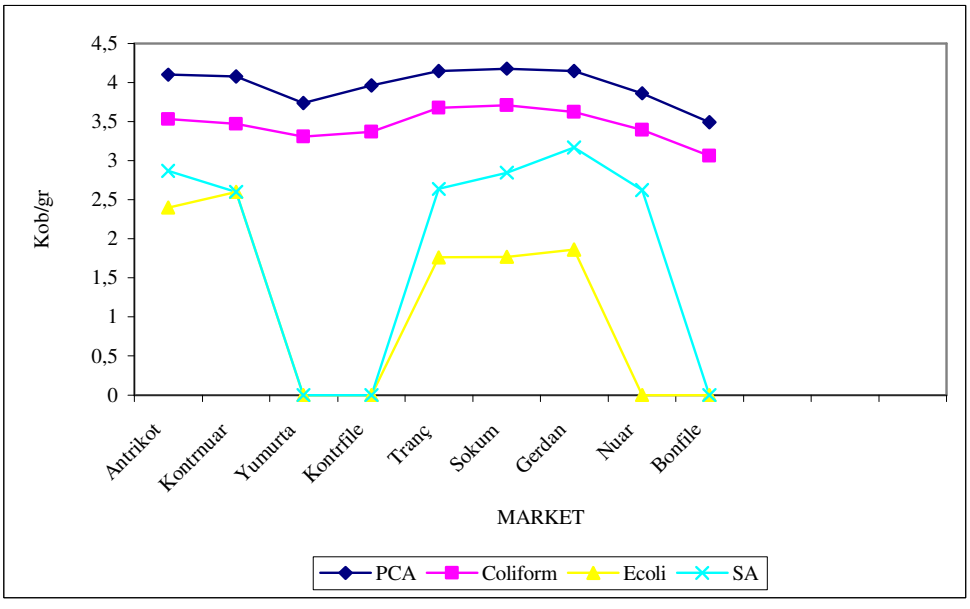
*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001 <1: Üreme Görülmedi

Et parçalama ünitesi ve marketlerden temin edilen et preparatları, incelenen mikroorganizmalar açısından istatistiki olarak karşılaştırıldığında önemli düzeyde farklılıkların olduğu belirlenmiştir ($p<0.05;0.01;0.001$) (Tablo 11).

Şekil 1.Parçalama Ünitelerinden Alınan EtPreparatlarının Mikroorganizma Yükleri



Şekil 2.Marketlerden Alınan Et preparatlarının Mikroorganizma Yükleri



Araştırmada kullanılan kıyma numunelerinin incelenen mikroorganizmalar açısından genel değerlendirilmesi tablo 12'de; mevsimler açısından karşılaştırılması ise tablo 13'te gösterilmektedir.

Tablo 12. Kıyma Numunelerinin Mikroflorası (Log $_{10}$ kob/g)

Mikroorganizma	n	min	max	X±Sx
TMAB	60	3.23	7.59	5.22±0.13
Koliform	60	2.58	6.88	4.51±0.11
E.coli	60	2.30	4.86	2.61±0.17
Koa+*Staphylococcus*	60	2.80	4.79	3.42±0.13

İncelenen kıyma numunelerinin TMAB sayısı 5.22 $\log_{10}$; koliform bakteri sayısı 4.51 $\log_{10}$; *E. coli* sayısı 2.61 $\log_{10}$; koagulaz pozitif *S. aureus* 3.42 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 12).

Tablo 13. Kıyma Numunelerinde Mevsimlere Bağlı Olarak Mikroflorada Gözlemlenen Değişimler (Log_{10} kob/g)

Mikroorganizma	Mevsim	n	min	max	X±Sx
TMAB					
	İlkbahar	15	3.93	6.41	5.24 ± 0.19^{b}
	Yaz	15	4.54	7.59	6.31 ± 0.23^{a}
	Sonbahar	15	4.08	6.66	4.91 ± 0.20^{b}
	Kış	15	3.23	4.79	4.31 ± 0.21^{c}
Koliform					
	İlkbahar	15	2.58	5.45	4.21 ± 0.17^{b}
	Yaz	15	4.38	6.88	5.44 ± 0.19^{a}
	Sonbahar	15	3.75	5.91	4.42 ± 0.15^{b}
	Kış	15	2.86	4.79	3.96 ± 0.11^{b}
E. coli					
	İlkbahar	15	1.70	3.45	2.66 ± 0.28^{ab}
	Yaz	15	2.11	4.86	3.54 ± 0.29^{a}
	Sonbahar	15	1.62	3.88	2.35 ± 0.32^{b}
	Kış	15	1.54	3.20	1.90 ± 0.36^{b}
Koagulaz+ *Staphylococcus*					
	İlkbahar	15	3,15	4.26	3.73 ± 0.09^{ab}
	Yaz	15	3.26	4.79	4.09 ± 0.11^{a}
	Sonbahar	15	2.62	3.89	3.37 ± 0.09^{b}
	Kış	15	2.36	3.20	$2.48\pm0,40^{c}$

a,b,c,d; Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.001)

Kıyma numunelerinde incelenen mikrorganizmalar açısından mevsimsel olarak istatistiki açıdan önemli düzeyde farklılıklar belirlenmiş ($p<0.001$) ve incelenen mikroorganizmaların en yüksek değerine yaz mevsiminde ulaştığı gözlemlenmiştir (Tablo 13)

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada Antalya ilinde faaliyet gösteren bir firmaya ait parçalama ünitesinden ve marketlerden 12 ay süreyle ayrı ayrı olmak üzere antrekot, kontrnuar, yumurta, kontrfile, tranç sokum, gerdan, nuar ve bonfile et preperatları alındı. Araştırmada her bir et numunesinden 24 adet olmak üzere toplam 432 adet numune kullanıldı. Ayrıca marketlerden 60 adet kıyma numunesi temin edildi. Bütün numuneler toplam aerobik mezofilik, koliform bakterisi, *E. coli* ve koagulaz pozitif stafilokoklar yönünden incelenerek istatistiksel olarak değerlendirildi.

Et parçalama ünitesinden temin edilen et preperatlarının TMAB sayısı, 2.79-3.65 log10 kob/g; marketlerden temin edilen et preparatlarının ise 3.49-4.18 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlenmiştir (Tablo 7,9). Gözlemlenen bu değerler Türk Gıda Kodeksi'nde (Anonim, 2001) çiğ kırmızı etler için belirlenen değerlerden daha düşük bulunmuştur. Çalıcıoğlu ve ark. (2005), Elazığ'da sığır karkaslarının yüzey kontaminasyonu üzerine yaptıkları bir arşatırmada; TMAB sayısını toplanan 48 numunede 3,70-4,90 $\log_{10}$ kob/cm^2, bütün örneklerin % 45,4'ünde $\geq$ 4,0 $\log_{10}$ kob/cm^2 bulmuşlardır. Sığır karkasları üzerinde yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda TMAB sayısını, Robert ve ark. (1984), log 2.29-3.85 kob/cm^2; Ingram ve Roberts (1976), log 4.48 kob/cm^2 ; Cook ve ark. (1997), log 2.68-7 kob/cm^2 olarak saptamışlardır. Deri temizliği açısından farklı kategorilerdeki sığır karkaslarında yapılan bir araştırmada araştırmacılar, TMAB sayısını $\log_{10}$ 3.04-3.40 kob/cm^2 olarak tespit etmişlerdir (McEvoy ve ark. 2000). Bulduğumuz değerler, bazı araştırmacıların (Little ve De Louvois, 1998). TMAB sayılarını dikkate alarak yapmış oldukları sınıflandırmada 1. sınıf etler kapsamında yer almaktadır. Bu durum özellikle Türkiye turizmi açısından önemli yeri olan Antalya bölgesinde belirlenmiş olması son derece sevindiricidir.

Et parçalama ünitesi ve marketlerden temin edilen kırmızı et preparatları kendi içlerinde karşılaştırıldığında, et preperatlarının sahip oldukları TMAB sayıları arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 7,9). Et parçalama ünitesinden elde edilen et preparatlarından en düşük değere konturnuarın; marketlerde ise bonfilenin sahip olduğu belirlenmiştir. Kırmızı et preparatlarında beliren bu farklılıklar muhtemelen et preparatın karkas bölgesindeki yeri, uygulanan maniplasyonlar, ortamın havası, taşıma, soğutma ve işçilerin et preparatlarında uyguladığı işlemlerden kaynaklanmaktadır. Nitekim bazı araştırmacılar (Çon ve Gökalp 1998), parça etlerde bulunan floranın

karkastakine benzediğini, ancak parça büyüklüğü, el ile temas, parçalama ve satış şartlarının son mikroflora yükünü önemli ölçüde etkilediğini belirtmektedirler.

Et parçalama ünitesinden temin edilen et preparatlarıyla, marketlerden temin edilen et preparatları TMAB sayısı yönünden istatistiki olarak karşılaştırıldığında bütün et preparatlarındaki TMAB sayısı bakımından önemli düzeyde farklılık belirlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 11). Marketlerden elde edilen et preparatlarında TMAB sayısının daha yüksek çıkması, tüketime sunulacak bu etlerde daha hijyenik ve uygun ortamlarda çalışılması gerektiğine işaret etmektedir. Benzer durum koliform bakteri, *E. coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* için de belirlenmiştir ($p<0.05;0.01;0.001$) (Tablo 11). Ayrıca bazı et preparatlarında (Örn., yumurta, kontrfile, nuar, bonfile) *E. coli* ve koagulaz pozitif stafilokokların tespit edilebilir düzeyin altında bulunması halk sağlığının korunması açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Et parçalama ünitesinden temin edilen kırmızı et numunelerinin koliform bakteri sayısı 2.72-3.22 $\log_{10}$ kob/g, marketlerden temin edilen et preperatlarının ise 2.80-3.71 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edilmiştir. Gill ve ark (2000), sığır karkaslarında 3.33 log kob/cm^2 koliform bakterisi; Emswiller ve ark. (1976), ise 1.70 $\log_{10}$ kob/g koliform bakterisi tespit etmişlerdir. Litttle ve De Louvois (1998), tüketime hazır etlerde koliform bakterisini 10^2-10^4 kob/g arasında belirlemişlerdir. Gill ve ark.(1998), Kanada'da farklı et işletmelerinde yaptıkları çalışmalarda, tüm et işletmlerinde koliform bakterisine çok sık rastlandığını bildirmişlerdir.

Sofos ve ark. (1998), A.B.D.'de et işletmelerinde sığır karkaslarından rastgele olarak aldıkları numunelerde toplam koliform sayısını yüksek seviyede tespit emişlerdir. Eisel ve ark. (1997), koliform bakteri saysını paketlenmiş sığır etlerinde yüksek bulmuşlardır. Koliform bakterilerin doğada yaygın olarak bulunması, insan ve hayvan vücudu dışında gelişebilmesi ve bazı suşlarının fekal kaynaklı olmayışı gibi nedenlerle daha çok sanitasyonun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Yani taşıma, depolama ve işleme sırasında yetersiz hijyenik koşulları yansıtması bakımından önem taşmaktadır Bu bakımdan değerlendirildiğinde koliform bakterilerinin, gıda maddelerinde az sayıda bulunması veya hiç bulunmaması işletme hijyeni ve besin maddesinin güvenirliliği açısından pozitif olarak değerlendirilebilir.

Et parçalama ünitesi ve marketlerden temin edilen et preparatlarının *E. coli* sayısı kendi içlerinde önemli farklılıklar göstermiştir ($p<0.001$). Et parçalama ünitesinden temin edilen et numunelerinin *E. coli* sayısı, 2.47-2.67 $\log_{10}$ kob/g; marketlerden temin edilen numunelerin ise 1.76-2.60 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlenmiştir. Bu mikroorganizmanın, et parçalama ünitesinden temin edilen antrekot, kontrnuar, yumurta, gerdan, nuar, bonfilede marketlerden temin edilen numunelerden ise yumurta, kontrfile, nuar ve bonfilede tespit edilebilir düzeyin altında olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 8,10).

Little ve De Louvois (1998), karkaslarda 10^2-10^5 kob /g *E. coli'nin* varlığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *E. coli'nin* 10^4 kob /g'ı aşmaması gerektiğini belirtmişlerdir. Türk Gıda Kodeksinde ise (Anonim 2001), çiğ kırmızı ette *Escherichia coli* O157:H7'nin 25 g da bulunmaması gerektiği belirtilmektedir. Emswiller ve ark. (1976), sığır karkaslarındada 1.24 $\log_{10}$ kob/g *E. coli* tespit etmişlerdir. Gill ve Mc Ginnis (1999), sığır karkaslarında 3.46 kob/cm^2 oranında *E. coli'*nin varlığını belirlemişlerdir. Gill ve Jones (1999), ise sığır karkaslarında *E. coli* varlığına rastlamadıklarını; ancak filetoda 2.14 kob/100 cm^2 de *E. coli'*nin bulunduğunu belirtmişlerdir. Bell (1997) , derilerinde fekal bulaşma olan sığırlardan elde edilen karkaslarda *E. coli* oranın $\log_{10}$ 2 kob/cm^2'yi geçtiğini, temiz derili sığırlardan elde edilen karkaslarda ise bu oranın $\log_{10}$ <2 kob/cm^2 olduğunu saptamıştır. *E. coli'*nin gıdada bulunması, fekal orijinli olması nedeniyle, genel olarak gıdaya direkt veya indirekt yolla bir dışkı bulaşanının olduğuna işaret etmektedir. Buna bağlı olarakta, *E. coli* varlığı gıdalarda enterik patojen bakterilerin bulunabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bununla birlite elde edilen veriler ülkemiz şartları düşünüldüğünde ve bazı et preparatlarında *E. coli* sayısının tespit edilebilir düzeyin altında olduğu dikkate alınırsa olumlu olarak değerlendirilebilir.

Et parçalama ünitesi ve marketlerden temin edilen kırmızı et preparatlarınıda belirlenen koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayılarında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 8,10). Et parçalama ünitesi ve marketlerden temin edilen et preperatları bu mikroorganizma açısından karşılaştırıldığında ise sadece gerdan ve kontrnuar arasında önemli farklılık belirlenmiş ($p<0.01;0.05;0.001$), yumurta, kontrfile tranç ve bonfilede ise üreme görülmemiştir (Tablo 11).

Et parçalama ünitesinden temin edilen numunelerin koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısı 2.52-2.83; marketlerden temin edilen numunelerin ise 2.60-3.17 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlenmiştir.

Phıllıps ve ark. (2001a,b), koagulaz pozitif stafilokokları sığır karkaslarının %24,3'ünde, etlerin %27,5'inde, koyun karkaslarının %24,1'inde, etlerin ise %38,6'sında bulmuşlardır.

Desmarchler ve ark.(1999), 3 değişik kesimhaneden aldıkları sığır karkaslarında koagulaz pozitif stafilokoklara rastlamışlardır. A işletmesinde %62, B işletmesinde % 85 ve C işletmesinde %89 oranında tespit etmişlerdir. İç organ çıkarımından sonra göğüs ve boşluk bölgelerinin sağrı bölgesine göre koagulaz pozitif stafilokoklar yönünden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kesimhanelerden birinde işçilerinin ellerinin koagulaz pozitif stafilokoklar yönünden yüksek oranlarda bulunduğunu saptamışlardır.

Litttle ve De Louvois (1998), et işletmelerinde et kesme tahtaları üzerinde yaptıkları çalışmalarda *E. coli*, koliform ve *S. aureus* yüksek düzeyde tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *S. aureus'un* 10^4 kob /g 'ı geçmemesi gerektiğini belirtmişlerdir. Vanderline ve ark. (1998), sığır karkaslarında koagulaz pozitif *S. aureus*'un tespit etmişlerdir. Emswiller ve ark. (1976), çiğ etlerde ve tüketilmeye hazır çiğ et ürünlerinde ortalama olarak 0.74 $\log_{10}$ kob/g oranında *S. aureus* varlığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar depolama süresince *S. aureus* sayısında gözlemlenen değişimlerin önemli olmadığını belirtmişlerdir.

Türk Gıda Kodeksinde ise (Anonim 2001) çiğ kırmızı ette *Staphylococcus aureus* en fazla $5{,}0x10^3$ kob/g olması gerektiği belirtilmektedir.

Elde edilen veriler Türk Gıda Kodeksi'ne (Anonim 2001) uygunluk gösterirken, bazı araştırmacıların (Litttle ve De Louvois 1998), belirttiği gibi 10^4 kob/g' da aşmadığı gözlemlenmektedir. Hatta bazı et preperatlarında koagulaz pozitif *Staphylococcus'ların* tespit edilebilir seviyede olmaması hijyenik şartlarda üretimin göstergesidir.

Marketlerden elde edilen kıyma numunelerinin TMAB, koliform bakterisi, *E. coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayıları sırasıyla 5.22, 4.51, 2.61 ve 3.42 $\log_{10}$ kob /g olarak tespit edilmiştir.

Sancak ve ark. (1993), Van ilinde satışa sunulan kıymaların toplam aerobik canlı mikroorganizma sayısını $2.3x10^5$-$1.4x10^{10}$ kob/g, *Staphylococcus* sayısını 0-$9.2x10^6$ /g olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar koliform ve *E. coli* sayısını ise sırasıyla $4.0x10^6$ ve $4.1x10^5$ kob/g olarak tespit etmişlerdir. Gönülalan ve Köse (2003), Kayseri'de satışa

sunulan kıymalarda total aerob bakteri sayısını $7.4x10^5$-$5.3x10^9$, koliform sayısını $8.6x10^1$-$4.5x10^8$, *E.coli* sayısını $1.0x10^1$-$5.2x10^5$, koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısını $1.0x10^1$-$6.7x10^6$ kob /g olarak belirlemişlerdir. Başkaya ve ark. (2004), ise toplam aerobik mezofil bakteri sayısını $3.1x10^4$-$6.3x10^7$; koliform sayısını $3.3x10^3$-$6.2x10^4$; *E. coli* sayısını $1.0x10^4$-$1.4x10^4$ e koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısını $8.0x10^2$-$8.2x10^3$ oranında tespit etmişlerdir.

Türkiye'de kıyma haline getirilmiş etlere ilişkin mikrobiyel kriterler belirlenmiştir (Anonim 2001; Sağlam 2000). Buna göre et satış yerlerinden alınan beş adet kıyma örneğinin en çok iki tanesinde toplam aerob mezofilik bakteri sayısının $5x10^8$ kob/g 'ı, kalan üç tanesinin ise $5x10^5$ kob/g'ı geçmemesi gerekmektedir (Tablo 5,6). Bu çalışmada belirlenen değerlerin diğer araştırmacıların (Sancak ve ark.1993, Gönülalan ve Köse 2003; Başkaya ve ark 2004) belirttiği değerlerden düşük ve Türk Gıda Kodeksin'de belirtilen değerlere uygun olduğu belirlenmiştir.

Türk Gıda Kodeksi'ne (Anonim 2001) göre, *E. coli* sayısında sınır, kıymalardan alınan beş örnekten ikisi için $1x10^2$ kob/g; üç tanesi için ise $5x10^5$ kob/g olarak belirlenmiştir. *E. coli* sayımında elde ettiğimiz bulgular diğer araştırmacıların tespit ettiği değerlerden düşük, Türk Gıda Kodeksin'de belirtilen değerlere yakın olduğu gözlemlenmiştir.

Araştırmada tespit edilen koagulaz pozitif stafilokok sayısı bir çok araştırmacıların belirlemiş oldukları değerlerden daha düşük bulunurken Türk Gıda Kodeksinde belirtilen sınır değerlere yakın bulunmuştur.

Antalya ilinde satışa sunulan kıymaların diğer illerde satışa sunulan kıymalardan daha üstün mikrobiyal floraya sahip olması, bu bölgede faaliyet gösteren et parçalama tesislerinin ve marketlerinin hijyenik şartlar altında üretim yapma gayretiyle açıklanabilir.

Kıyma numunelerinin mevsimsel florası karşılaştırıldığında gruplar arası önemli farklılıkların oluştuğu gözlemlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 12). Genel olarak yaz mevsiminde kıyma numunelerinde incelenen bütün mikroorganizma sayılarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu bağlamda havaların sıcak olduğu yaz mevsimlerinde parçalama, taşıma, paketleme vb. işlemler esnasında daha dikkatli davranılması iyi üretim uygulamaları, iyi hijyen uygulamaları ve kontrollü üretim esaslarına daha titizlik gösterilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak Antalya'da tüketime sunulan kırmızı et preparatları ve kıymaların mikrobiyal florasının diğer illere göre daha yüksek kalitede olduğu, ancak Türk Gıda Kodeksi ve Gıda Mevzuatında belirtilen sınır değerlere yakın olduğu gözlemlenmiştir. Bu bakımdan bütün dünyada uygulama alanı bulan HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) sisteminin etkinliğinin gıda işyerlerinde daha etkin ve uygulanabilir kılınması gerektiği kanaatine varıldı.

6. ÖZET

Bu araştırmada, Antalya ilinde faaliyet gösteren bir firmaya ait parçalama ünitesinden ve marketlerden 12 ay süreyle ayrı ayrı olmak üzere antrekot, kontrnuar, yumurta, kontrfile, tranç sokum, gerdan, nuar ve bonfile et preperatları alındı. Her bir et numunesinden, 24 adet olmak üzere toplam 432 adet numune kullanıldı. Ayrıca marketlerden 60 adet kıyma numunesi temin edildi. Bütün numuneler, toplam mezofilik aerob, koliform bakterisi, *E. coli* ve koagulaz pozitif stafilokoklar yönünden incelenerek istatistiksel olarak değerlendirildi.

Et parçalama ünitesinden temin edilen et preparatlarının, TMAB ve koliform bakterisi sayıları bakımından önemli farklılıklar gözlemlendi ($p<0.001$). Et numunelerinin TMAB sayısı 2.79-3.65 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edildi. En yüksek TMAB sayısı, gerdan kısmında (3.65 $\log_{10}$ kob/g), en düşük değer ise kontrnuarda (2.79 $\log_{10}$ kob/g) belirlendi.

Numunelerin koliform bakteri sayısı 2.72-3.22 $\log_{10}$ kob/g arasında değiştiği, en yüksek değerin nuar da (3.22 $\log_{10}$ kob/g), en düşük değerin ise yumurtada (2.72 $\log_{10}$ kob/g) olduğu gözlemlendi.

Et parçalama ünitesinden temin edilen et preparatlarının *E. coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayıları bakımından önemli farklılıklar tespit edildi ($p<0.001$). Et numunelerinin *E. coli* sayısı, 2.47-2.67 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlendi. Bu mikroorganizmanın bazı et preparatlarında (antrekot, kontrnuar, yumurta, gerdan, nuar, bonfile) belirlenebilir seviyenin altında olduğu gözlemlendi. Numunelerin koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısının, 2.52-2.83 $\log_{10}$ kob/g arasında değiştiği, yumurta, kontrfile, tranç ve bonfile de ise) belirlenebilir seviyenin altında olduğu tespit edildi.

Marketlerden temin edilen numunelerde TMAB, koliform, *E. coli* ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayıları bakımdan istatistiki farklılıklar tespit edildi ($p<0.001$). Marketlerden temin edilen et preparatlarının TMAB sayısı 3.49-4.18 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlendi.

Numunelerin koliform bakteri sayısının 2.80-3.71 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlendi. En düşük değer bonfile de (2.80 $\log_{10}$ kob/g), en yüksek değerin ise sokum da (3.71 $\log_{10}$ kob/g) gözlemlendi.

Marketlerden temin edilen et preparatlarından yumurta, nuar, kontrnuar ve bonfilede *E. coli*; yumurta, kontrfile ve bonfilede ise koagulaz pozitif *Staphylococcus* üremesi tespit edilebilir düzeyin altında bulundu. Diğer et preparatların *E. coli* sayısının

1.76-2.60; koagulaz pozitif *Staphylococcus* sayısının ise 2.60-3.17 $\log_{10}$ kob/g arasında değişim gösterdiği belirledi.

İncelenen kıyma numunelerinin TMAB sayısı 5.22; koliform bakteri sayısı 4.51; *E. coli* sayısı 2.61 ve koagulaz pozitif *Staphylococcus* 3.42 $\log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi.

Kıyma numunelerinde incelenen mikrorganizmalar açısından mevsimsel olarak istatistiki açıdan önemli düzeyde farklılıklar belirlendi ($p<0.001$) ve incelenen mikroorganizmaların en yüksek değerine yaz mevsiminde ulaştığı gözlemlendi.

Sonuç olarak Antalya'da tüketime sunulan kırmızı et preparatları ve kıymaların mikrobiyal florasının diğer bazı illere (Örn, Kayseri, Van) göre daha yüksek kalitede olduğu, ancak Türk Gıda Kodeksi ve Gıda Mevzuatında belirtilen sınır değerlere yakın olduğu gözlemlendi. Bu bakımdan bütün dünyada uygulama alanı bulan HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) sisteminin etkinliğinin gıda işyerlerinde daha etkin ve uygulanabilir kılınması gerektiği kanaatine varıldı.

7.SUMMARY

Microbiological Quality of Minced meat and Red Meat Preparations consumed in Antalya

In this study, ribeye, silverside, knuckle, striploin, topside, rump, neck eyeround, and tenderloin preparations were taken separately during twelve months both from markets and meat processing unit of company which is active in Antalya. Twenty four samples were taken from each of the meat pieces giving a total of 432 samples used in this research. In addition 60 minced beef samples were taken from different markets. All samples are examined and evaluated statistically from the point of view of the total aerobic mesofilic bacteria, coliform bacteria , *E. coli* and coagulase positive *Staphylococcus.*

Significant differences were observed in the total mesofilic aerobic mesofilic bacteria and coliform bacteria number of meat preparations which were taken from the meat processing unit ($p<0.001$). The total mesofilic bacteria count of meat samples was determined as 2.79-3.65 $\log_{10}$ cfu/g. The highest value was found in the neck (3.65 $\log_{10}$ cfu/g) and the lowest value was in the silverside (2.79 $\log_{10}$cfu/g).

It was observed that the coliform bacteria counts of samples were in the range from 2.72 $\log_{10}$ cfu/g to 3.22 $\log_{10}$ cfu/g and the highest value belonged to the eyeround and the lowest value was in the knuckle.

Significant differences were determined between the *E. coli* and coagulase positive *Staphylococcus* counts of meat preparations taken from meat processing unit ($p<0.001$). *E. coli* number of meat preparations was determined between 2.47-2.67 $\log_{10}$ cfu/ g. It was observed that these microorganisms did under detectable limits in some meat preparations (ribeye, silverside, knuckle, neck, eyeround and tenderloin). It was found that sample's coagulase positive *Staphylococcus* count ranged from 2.52 $\log_{10}$ cfu/g to 2.83 $\log_{10}$ cfu/g and also observed that this microorganism was under detectable limits in the knuckle, striploin, topside and tenderloin.

Statistical differences were determined in the number of the total aerobic mesofilic microorganisms, coliform bacteria, *E. coli* and coagulase positive *Staphylococcus* numbers of samples which were taken from markets ($P<0.001$). The total aerobic mesofilic bacteria number of meat preparations taken from markets determined to be between 3.49-4.18 $\log_{10}$ cfu/g.

Coliform bacteria numbers of the samples were determined to be between 2.80-3.71 log 10 cfu/g. The lowest value was detected in the tenderloin as 2.80 $\log_{10}$ cfu/g and the highest value in the rump as 3.71 $\log_{10}$ cfu/g

E. coli, growth was under detectable limits in the knuckle, eyeround, silverside and tenderloin taken from the markets and coagulase positive *Staphylococcus* growth was under detectable limits in samples of knuckle, eyeround, silverside and tenderloin. *E. coli* number of other meat samples determined as 1.76 -2.60 $\log_{10}$ cfu/g and coagulase positive *Staphylococcus* number determined between 2.60-3.17 $\log_{10}$ cfu/g.

The total aerobic mesofilic bacteria counts of the minced beef samples were determined as 5.22; coliform bacteria number as 4.51; *E. coli* number as 2.61 and cougulase positive *Staphylococcus* number as 3.42 $\log_{10}$ cfu/g.

In minced beef samples, differencies were determined seasonally in terms of the investigated microorganism ($P<0.001$) and it was observed that investigated microorganism reached highest value in summer.

As a result, microbial flora of red meat samples and minced beef which are present to the consumer in Antalya have a higher quality when compared with some other cities (e.g. Kayseri, Van). However the microbial value observed was near to the limit value which is detected in Food Codex and Food Regulation. In this respect the HACCP system which has an application field in all over the world have a necessity to be more effective and applicable in food plants.

8. LİTERATÜR LİSTESİ

Anonim (2005) Tarım İstatistikleri Özetleri, TUİK, ANKARA

Anonim (2001) Et Ürünleri Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Ankara

Anonymous(2001a) *Staphylococcus aureus,*The Ministry of Health by ESR Ltd, http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/staphylococcus-aureus.pdf

Anonymous (1987). SAS User's Guide. Release 6.03 Edition. Cary, North Caroline, SAS Institute Inc

Anonymous(2001b) *Esherichia coli* O157:H7,The Ministry of Health by ESR Ltd, http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/escherichia-coli-o157.pdf

American Public Health Association (A.P.H.A) (1976) American Public Health Association Compendium of Methods for The Microbiological Examination Of Foods, Ed. Mervin 1 Speck. American Public Health Association Inc., Washington.

Aran N. (1996) Et Endüstrisinde Mikrobiyolojik Riskler ve HACCP Uygulamaları,1. İstanbul Et ve Et Ürünleri Sempozyumu.

Arenas de Moreno L., Huerta-Leidenz N., Ortiz Y., Valena Matos M. and Smith G.C. (2004) Microbial Contamination on Beef Carcasses İn a Small Abottoir in Venezuela, Colarado State University, http://www.ansci.colostate.edu/documents/04 ResearchReports/microbialcontaimonbeef.pdf –

Banwart G.J. (1989) Basic Food Microbiology, Second edition, Van Nostrand Reinhold, Newyork.

Başkaya R., Karaca T., Çakmak Ö., Yıldız A. ve Yörük M. (2004) İstanbul'da Satışa Sunulan Hazır Kıymaların ve Köftelerin Histolojik, Mikrobiyolojik ve Serolojik Kalitesi,YYÜ Vet. Fak. Derg., 15(1-2):41-46.

Bell R. G. (1997) Distribution and Sources of Microbial Contamination on Beef Carcasses, Journal of Applied Microbiology, 82:292-300

Bilge F. Ve Karaboz İ. (2005) İzmir'de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan Bazı Gıdaların *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinleri Bakımından İncelenmesi, Orlab Online Mikrobiyoloji Dergisi, 3(6):1-6.

Bremer P.J., Fletcher G.J. and Osborne C. (2004) S*taphylococcus aureus*, New Zealand İnstute For Crop&Food Research Limited A Crown Research İnstitue, http:// www.crop.cri.nz/home/research/marine/pathogens/staphylococcus.pdf -

Buzby J.C. and Crutchield S.R. (1997) USDA Modernizes Meat and Poultry Inspection, Food Review, 20 (1): 14-17.

Cook R.L., Hathaway S.C., Harrison J.C.L. and Armitage N.H. (1997) Microbial Baseline Survey of New Zeland Bovine Carcasses: A prelimanary Report. Presented at 43rd İnternational Congress of Meat Science Technology, 23-1 August, Australia.

Çalıcıoğlu M., Öksüztepe G.A., İlhak O.İ. ve Dikici A. (2005) Elazığ'da Sığır Karkaslarının Yüzey Kontaminasyonunun Belirlenmesi, F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi, 19(1): 69-73

Çakır İ. (2000) Koliform Bakteriler ve *E. coli*, Gıda Mikrobiyolojsi ve Uygulamaları, Ankara Üniv. Ziraat Fak., Gıda Mühendisliği Bölümü, Mikrobiyoloji Birimi, Ankara, 2. baskı, 335-344.

Çetin Ö., Kahraman T. and Büyükünal S.K. (2006) Microbiological Evalution of Food Contact Surfaces at Red Meat Processing Plants İn İstanbul, Turkey, Ital. J. Anim. Sci., 5: 227-283

Çon A.H. ve Gökalp H.Y. (1998) "Gıda Mikrobiyolojisi", Pamukkale Üniv. Mühendislik Fak. Yayın No:007, Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, Denizli.

Desmarchelier P.M., Higgs G.M., Mills L., Sullivan A.M. and Vanderlinde P.B. (1999) Incidence of Coagulase Positive *Staphylococcus* on Beef Carcasses in Three Australia Abattoırs, İnternational Journal of Food Microbiology, 47:222-229.

Donkersgo J.V., Jericho K.W.F., Gropan H. and Thorlakson B. (1997) Preslaughter Hide Status Cattle and The Microbiology of Carcasses, Journal of Food Protection, 60(12):1502-1508.

Erkmen O. (2000) "Basic Metods for The Microbiological Analysis of Foods", University of Gaziantep Press, Gaziantep

Eisel W.G., Linton R.H. and Muriana P.M. (1997) A Survey of Microbial Levels for Incoming Raw Beef, Environmental Sources and Ground Beef in Meat Processing Plant, Food Microbiolgy, 14:273-282.

Emswiller B.S., Pierson C.J. and Kotula A.W. (1976) Bacteriological Quality and Shelf Life of Ground Beef, Applied and Enviromental Microbiology, 31(6):826-830.

Gill C.O. and Jones T. (1999) The Microbiological Effects of Breaking Operations on Hanging Beef Carcass Side, Food Research International , 32:453-459.

Gill C.O. and McGinnis J.C. (1999) Improvement of The Hygienic Performance of The Hindquarters Skinning Operations at A Beef Packing Plant, International Journal Food Microbiology, 51: 123-132.

Gill C.O., Deslandes B., Rahn K., Houde A. and Bryant J. (1998) Evalution of The Hygienic Performances of The Processes for Beef Carcass Dressing at 10 Packacing Plants, Journal of Applied Microbiology, 84:1050-1058.

Gill C.O., Jones T., Bryant J. and Brereton D.A. (2000) The Microbiological Conditions of the Carcasses of Six Species After Dressing at a Small Abattoir, Food Microbiology, 17: 233-239.

Göğüş U. (2001) Et ve Kalite, Tıp Teknik Yayınevi, Ankara.

Gönülalan Z., Köse A. (2003) Kayseri İlinde Satışa Sunulan Sığır Kıymalarının Mikrobiyolojik Kalitesi, F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi,17(1): 49-53.

Harrigan W.F. and Mc Cance M.E. (1976) Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, Revised ed Academic Pres Inc. London.

Harris L.J. (2005) *Escherichia Coli*, Class Notes PHR150, Department of Food Science on Technology University of California Davis, http://vetmed.ucdavis.edu/PHR/phr180/2005/15005Ecd/H.PDF

Ingram M. and Roberts T.A (1976) The Microbiology of Red Meat Carcass and The Slaughterhouse, Journal of Royal Society of Health, 96:270-276

İnal T. (1995) Kesim ve Et Muayenesi, Saray Medikal Yayıncılık San. ve Tic.Ltd Şti, İzmir.

Karama M. (2001) The Microbial Quality of Ostrich Carcasses Produced at an Export – Approved South African Abattoir, Thes, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Pretoria

Karapınar M (1995) Gıdaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü, 2. Baskı, Ege Üniv. Basımevi, Bornova, İzmir.

Larausse J. and Brown B.E. (1997) Food Canning Technology, Wıley- V.C.H.

Lechowich R.V. (1971) Microbiology of Meat in "The Science of Meat and Meat Products Ed. by J.F. Price and B.S. Schweigert, W.H. Freeman and Company, San Francisco.

Li Q.J. ,Sherwood J.S. and Logue C.M. (2003) The Prevalence of Listeria, Salmonella, Esherichia coli, *E coli* 0157:H7 on Bison Carcasses During Processing, Food Microbiology, 21: 791-799

Little C.L. and De Louvois J. (1998) The Microbiological Examination of Butchery Products and Butchers' Premises in the United Kingdom**,** Journal of Applied Microbiology, 85(1):177-86.

Maceda N.T.S. and Van Der Sand S.T. (2005) Characterization of Microorganisms Present in Slaughterhouse and Beef Processing/ Chilling Environment, Acta Scientiae Veterinariae, 33 (2):139-146.

McEvoy J.M., Doherty A.M., Finnerty M., Sheridan J.J., McGuire L., Blair I.S., McDowell D.A. and Harrington, D. (2000) The relationship Between Hide Cleanliness and Bacterial Numbers on Beef Carcasses at A Commercial Abattoir, Letters in Applied Microbiology, 30: 390-395.

McEvoy J., M Sheridan J.J., Blair I.S. and McDowell D.A. (2004) Microbial Contamination on Beef in Relation to Hygiene Assessment Based on Criteria Used in EU Decision *2001/471/EC,* International Journal of Food Microbiology*,* 92 (2): 217-225.

Miller M.F., Bawcom D.B., Wu C.K., Meade M.K. and Ramsey C.B. (1995) Microbiology of Hot Fat Trimmed Beef, Journal of Animal Science,73:1368-1371.

Normanno G., Firinu A., Virgilio S., Mula G., Dambrosio A., Poggiu A., Decastelli L., Mioni R., Scuota S., Bolzoni G., Di Giannatale E., Salinetti, La Salandra G., Bartoli M., Zuccon F., Pirino T., Sias S., Parisi A., Quaglia N.C. and Celano G.V. (2005) Coagulase Positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in Food Products Marketed in İtaly, İnternational Journal of Food Microbiology, 98:73-79.

Penner K.P. and Phebus R. (1998) *Esherichia coli* O157:H7 and Foodborne Illness, Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service.

Phillips D., Sumner J., Alexander J.F. and Dutton K.Y.M. (2001a) Microbiological Quality of Australian Beef, Journal of Food Protection, 64 (5):692-696.

Phillips D., Sumner J., Alexander J.F. and Dutton K.Y.M. (2001b) Microbiological Quality of Australian Sheep Meat, Journal of Food Protection, 64 (5): 697-700.

Ray B. (1997) Fundamental Food Microbiology, CRC Press, Boca Raton.

Sağlam Ö.F. (2000). Türk Gıda Mevzuatı. 2. baskı, Semih Ofset, 591-595.

Sancak Y.C., Boynukara B. and Ağaoğlu S. (1993) Van'da Tüketime Sunulan Kıymaların Mikrobiyolojik Kalitesi. Y.Y.Ü.. Vet. Fak. Derg., 4(1-2):73-86.

Sofos J.N, Kain M.L., Belk K.E. and Smith G.C. (1998) Microbiological Contamination Baselines of Beef Carcasses, Wholesale Cuts and Retail Cuts,Departmant of Animal Sciences, Colorado State University.

Sırıken B. (2004) The Microbiological Quality of Ground Beef in Aydın and Afyon Provinces, Turkey, Revuede Medicine Veteriaire, 155:(12),632-636.

Skrokki A. (1997) Hygenic Quality of Commercial Minced as İndicated by Aerobic Microorganisms and Coliform Bacteria, Z. Lebensn. Unters Forsch., 204:391-394.

Temiz A. (1999) Gıdalarda İndikatör Mikroorganizmalar,Gıda Mikrobiyolojisi, Ed. Ünlütürk A ve Turantaş F, 2. Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir,85-106.

Türker S. (1997) Hayvansal Gıdalarda Kalite Kontrolü, Tamer Matbaacılık, Ankara, 60-73.

Uğur M., Nazlı B. ve Bostan K. (2001) Gıda Hijyeni, Teknik Yayınevi,186-210

Unnevehr L. and Roberts T. (1997) Improving Food Safety in Meat and Poultry: Will New Regulatıons Benefit Consumers, Advancing the Consumer Interest, 9 (2): 13-17.

Ünlütürk A. ve Turantaş F. (1999) Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı İzmir.

Vanderlinde P.B., Fegan N., Mills L. and Desmarchelier, P.M. (1998) Use of Pulse Field Gel Electrophoresis for The Epidemiological Characterisation of Coagulase Positive *Staphylococcus* İsolated from Meat Workers and Beef Carcasses, İnternational Journal of Food Microbiology, 48:81-85.

Yıldırım Y. (1994) Et Endüstrisi, Kozan Ofset, Bursa.

9. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Burdur'un Bucak ilçesinde doğdum. 1994- 1999 yılları arasında Selçuk üniversitesi Veteriner fakültesinde Veteriner Hekimliği Eğitimimi tamamladım. 2000 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD'de doktoraya başladım. 2002 yılında Antalya Koç Allianz Sigortada satış temsilcisi olarak görev yaptım. 2003 yılında Antalya Afra Marketler Zincirinde Veteriner hekimliği, 2004 yılında Güney Gıda Ticaret Ltd Şti ve sonrasında Besulab Gıda Laboratuarlarında görevimi devam ettirdim. Şu an aile şirketinde Sosyal Güvenlik işleriyle ilgili görev yapmaktayım..

10. TEŞEKKÜR

Doktora çalışmlarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Prof.Dr. Ümit Gürbüz'e, İstatistiksel çalışmalarımda yardımcı olan Prof. Dr. Mehmet Ziya Fırat'a, laboratuar çalışmalarım için Altınet Şirketinin laboratuarını kullanmama izin veren yetkililere ve yardımını gördüğüm tüm kişi ve kuruluşlara teşekkürü bir borç bilirim.