

# HAMBURGER VE İNEGÖL KÖFTELERİNDEN *Escherichia coli* O157:H7 İZOLASYONU\*

Belgin SARİMEHMETOĞLU<sup>1</sup>

Özlem KÜPLÜLÜ<sup>2</sup>

Şerif KAYMAZ<sup>3</sup>

## Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 in Hamburgers and İnegöl Meatballs

**Summary:** In this study a total of 200 meat product samples , sold in Ankara, including 100 hamburger and 100 İnegöl meatball samples were collected and examined for the presence of *E. coli* O157:H7.

*E. coli* O157 was isolated from 2 ( 2 %) of hamburger and 5 (5 %) of İnegöl meatball samples while *E. coli* O157:H7 was not isolated from any of the samples. All of the isolates were tested for verocytotoxin and found verocytotoxigenic (VT<sup>+</sup>).

In conclusion, the presence of VT<sup>+</sup> *E. coli* O157 in hamburger and İnegöl meatball samples suggests that this microorganism could be a potential public health risk and important vehicle of its transmission to man.

**Key words :** *E. coli* O157:H7, hamburger, İnegöl meatball.

**Özet:** Bu çalışmada Ankara'da tüketime sunulan 100 hamburger ve 100 İnegöl köfte olmak üzere toplam 200 örnek, *E. coli* O157:H7 yönünden analize alınmıştır.

Örneklerden *E. coli* O157:H7 izole edilemezken hamburger örneklerinin 2'si (%2) İnegöl köfte örneklerinin ise 5'i (%5) *E. coli* O157 ile kontamine bulunmuştur. Yapılan verositotoksin testinde ise izolatların tümünün verositotoksijenik (VT<sup>+</sup>) olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak VT<sup>+</sup> *E. coli* O157'nin hamburger ve İnegöl köftelerinde bulunuşu, bu mikroorganizmanın halk sağlığı problemlerine neden olabileceğini ve insanlara taşınmasında et ürünlerinin önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler :** *E. coli* O157:H7, hamburger, İnegöl köfte.

## Giriş

Günümüzde, gıda kaynaklı bağırsak enfeksiyonlarında Salmonella, Shigella, Campylobacter gibi mikroorganizmaların yanısıra özellikle bebek ve çocuklarda etkili olan bazı *Escherichia coli* serotiplerinin de

önemli derecede rol oynadığı bildirilmektedir (14,25,27,29). Bu serotipler içerisinde *E.coli* O157:H7 olarak bilinen ve kolon mukoza hücrelerinin sitolizine (hemorajik kolitis) neden olan tür, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (5,30). Etken ilk kez 1982 yılında A.B.D.'nde hamburger tüketimi sonucu

\* Bu çalışma Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir ( Proje No.96.10.00.08).

<sup>1</sup> Doç.Dr. A.Ü.Vet. Fak., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup> Dr. A.Ü.Vet. Fak., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>3</sup> Prof.Dr.A.Ü.Vet., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.

oluşan ve hemorajik kolitis ile seyreden salgından sonra insan patojeni olarak önem kazanmıştır. A.B.D.'nin yanısıra, Kanada, İngiltere, İskoçya ve Japonya'da da bu etkenden kaynaklanan gıda enfeksiyonlarının varlığı bildirilmiştir (7,11,28,32,35).

Enterohemorajik *E. coli* grubu (EHEC) içerisinde yer alan *E. coli* 0157:H7 serotipi hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere üç farklı klinik tabloya neden olmaktadır. Enfeksiyonun yayılmasında, gıdalar önemli bir araç olmakla birlikte, kişiden kişiye bulaşmanın da sözkonusu olduğu bildirilmektedir. Bu durum, özellikle başta gıda işletmelerinde çalışan personel olmak üzere aile içi enfeksiyonlar açısından da ayrı bir önem taşımaktadır (4,17,30).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sağlıklı sığırların dışkılarından *E. coli* 0157:H7 izole edildiği, en önemli rezervuarın sığırlar olduğu ve özellikle sığır orijinli et ve ürünleri ile süt ve ürünlerinin yeterince pişirilmeden tüketilmeleri sonucu salgınların meydana geldiği bildirilmektedir (6,8,9,10).

Günümüzde fast food tipi lokantalarda yaygın olarak tüketilen hamburger ve İnegöl köfte gibi et ürünlerinde özellikle tüketimin yoğun olduğu saatlerde pişirme işleminin de yeterince yapılamadığı durumlar sözkonusu olduğunda bu ürünlerin *E. coli* 0157:H7 kaynaklı enfeksiyonlarda önemli olabileceği konusu dikkati çekmektedir (22). Bu nedenle, olası kontaminasyonlarda ciddi halk sağlığı problemlerine neden olabilecek *E. coli* 0157:H7'nin hamburger ve İnegöl köfte gibi işlem görmüş ve dış kaynaklı kontaminasyon riski oldukça fazla olan et ürünlerinde varlığının araştırılması, bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

#### Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Ankara'nın farklı semtlerinden temin edilen 100'er adet hamburger ve İnegöl köfte örnekleri materyal olarak kullanılmıştır.

**E.coli O157:H7 İzolasyonu:** Aseptik şartlarda alınan ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilen hamburger ve İnegöl köfte örneklerinin herbirinden 25'er gr alınarak üzerlerine 225'er ml, 20 mg/lt novobiocin (Sigma-N-1628) ve 1.5 g/lt Bile Salts No:3 ( DIFCO 0130-01-2) içeren modifiye EC broth (mEC+n) ilave edilmiş ve 2 dakika süreyle stomacher'de homojenizasyon işlemi sonrası 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon sonrası, homojenatların %0.1'lik steril peptonlu suda 10<sup>-6</sup>'ya kadar hazırlanan desimal sulandırılmalarından, 2.5 mg/lt potassium-tellurite (Difco 0384-13) ve 0.05 mg/lt cefixime içeren Cefixim - Tellürit - Sorbitol MacConkey Agar'a (CT-SMAC) (OXOID CM 813) (3) 0.1'er ml yayma plak yöntemi ile çift paralelli ekimler yapıldıktan sonra, aerob ortamda 37°C'de 24 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonucu renksiz sorbitol negatif kolonilerden rastgele 5 koloni seçilerek, β - glukuronidaz aktivitesini belirlemek amacıyla Fluorocult *E.coli* agara (Merck 4036) geçilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası üreyen kolonilerin karanlık bir odada UV lambası altında (Merck, 4W / 366 nm) floresans verme özellikleri incelenmiş ve floresans vermeyenler β-glukuronidaz negatif olarak kabul edilmiştir.

β-glukuronidaz aktivitesi negatif olan kolonilerden *E. coli* 0157 antiserum (Difco 2970-47-7) ile aglutinasyon testi yapılmış, aglutinasyon pozitif izolatların API 20E (bioMérieux Vitek, Hazel Wood, MO) testi ile *E. coli* olduğu doğrulanmıştır. *E. coli* 0157 pozitif izolatlar verositotoksin oluşumu ve H7 flagellar antijen varlığı yönünden incelenmiştir.(3)

H7 flagellar antijen varlığı için immobilizasyon testi yapılmıştır. Bu amaçla 1/64, 1/12800 oranında *E. coli* H7 antiserumu (DIFCO 2159-47) içeren test besiyerlerine ve kontrol besiyerlerine *E. coli* 0157 pozitif izolatların her birinden iğne uçlu öze ile 0.3 cm derinliğinde inokulasyondan sonra besiyerleri 37°C'de 72 saat süreyle inokulasyon yerinden tüpün dip kısmına kadar olan üreme yönünden incelenmiştir. Kontrol

tüpünde dibe kadar, 1/12800'lük tüpte tüpün yarısına kadar, 1/64'lük tüpte sadece inokulasyon yerinde olan üreme H7 pozitif olarak kabul edilmiştir. Her üç tüpte dibe kadar olan üremeler H7 negatif olarak değerlendirilmiştir (16).

**Verositotoksin Testi:** Pozitif izolatların herbiri Tryptic Soy Broth'a (Difco-0370-01-1) inokule edildikten sonra 18-24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 7000 rpm'de 30 dakika santrifüj işlemi yapılmış ve elde edilen süpernatant 0.45 µm'lik filtreden geçirilerek 4°C'de muhafaza edilmiştir. Kullanılmadan önce Phosphate Buffer Solüsyonu (PBS) (20) ile 1:5 oranında sulandırılmıştır. Her bir gözünde 0.5 ml vero hücreleri bulunan 24 gözlü steril plastik plate'lerin her bir izolat için ayrılan bölümlerine pozitif izolatlardan 0.05 ml. ilave edilmiştir. Plate'ler film ile kapatılarak %5

CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C'de 4 gün süreyle sitotoksik etki (hücre dökülmesi) yönünden incelenmiştir. 1.gün en az %25, 4.gün en az %75 sitotoksik etki gösteren suşlar Verositotoksin pozitif olarak kabul edilmiştir (21).

### Bulgular

İncelenen hamburger örneklerinin %2'sinin, İnegöl köfte örneklerinin ise %5'inin *E. coli* 0157 ile kontamine olduğu, buna karşılık yapılan immobilizasyon testi sonucu ise izolatların tamamının hareketsiz olduğu tespit edilmiştir (*E. coli* 0157:H-). *E. coli* 0157 pozitif izolatların vero hücrelerinde sitotoksik etkisini incelemek amacıyla yapılan doku kültürü testinde ise izolatların tamamının vero hücrelerinde dökülme yaptığı yani verositotoksijenik olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Hamburger ve İnegöl köftelerinden izole edilen *E. coli* 0157:H- düzeyi.

Table 1. Isolated *E. coli* 0157:H- levels from hamburgers and İnegöl meatballs.

Örnek	Örnek sayısı	0157 (+)	H7 pozitif örnek sayısı	Verositotoksin oluşumu pozitif örnek sayısı
Hamburger	100	2 (% 2)	0	2 (% 2)
İnegöl köfte	100	5 (% 5)	0	5 (% 5)
Toplam	200	7 (% 3.5)	0	7 (% 3.5)

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada analize alınan hamburger ve İnegöl köfte örneklerinden *E. coli* 0157:H7 izole edilememiştir. Bununla birlikte, hamburger örneklerinin %2'sinin, İnegöl köfte örneklerinin ise %5'inin verositotoksijenik *E. coli* 0157 ile kontamine olduğu tespit edilerek, sözkonusu ürünlerin halk sağlığı açısından risk oluşturabilecekleri saptanmıştır.

Türkiye'de sığır orijinli et ve et ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarda da (2,19), *E. coli* 0157:H7 izole edilemediği bildirilmektedir. Bu çerçevede Halkman ve ark. (18) analize aldıkları hamburger

örneklerinin %2'sinden *E. coli* 0157 izole edildiğini, bunun yanı sıra analize aldıkları 225 çiğ kıyma örneğinden %0.4, 101 sucuk örneğinden %1 oranında *E. coli* 0157 saptandığını fakat *E. coli* 0157:H7 tespit edilemediğini, 103 çiğ süt örneğinden ise sözkonusu mikroorganizmanın izole edilemediğini bildirmekte-dirler. Türkiye'de yapılan bir diğer çalışmada da (2), 60 hazır sığır kıymasından *E. coli* 0157:H7 izole edilememiştir.

Değişik ülkelerde bu konuda yapılan çalışmalar (7,11,26), genellikle hemorajik kolitis (HC) ile karakteristik bir salgından sorumlu gıdanın analizi sonucu

*E. coli* 0157:H7 izolasyonuna dayanmaktadır. İskoçya'da 280 kişinin etkilendiği ve 5 kişinin öldüğü bir salgında, sorumlu gıdanın pişirildikten sonra satışa sunulan et ürünleri olduğu belirlenmiş ve yapılan analizde sözkonusu gıdada *E. coli* 0157 tespit edilmiştir (11). Çalışmamızda da örneklerden verositotoksijenik *E. coli* 0157 tespit edilmiş olması, tehlikenin boyutunu ortaya koymaktadır.

Yine Amerika'da 1984 yılında bir bakımevinde meydana gelen salgında 101 kişiden 34'ünde diyare görülmüş, bunlardan 14'ü şiddetli karın ağrısı ve kanlı diyare şikayetiyle hastanede tedavi altına alınmıştır. Hospitalize edilen 4 hastanın ölümü ile sonuçlanan bu salgının da hamburger tüketiminden kaynaklandığı ve *E. coli* 0157:H7 izole edildiği bildirilmiştir (26).

Amerika'da 1992-1993 yıllarında meydana gelen kanlı diyare ve HUS ile karakteristik 4 salgında etkilenen toplam 583 kişinin, 171'inin hastanede tedavi gördüğü, 41'inde HUS meydana geldiği ve 4 kişinin de öldüğü bildirilmektedir. Sözkonusu salgınlarda sorumlu gıdanın hamburger olduğu tespit edilmiş, yapılan analizde *E. coli* 0157:H7 izole edilmiştir (7).

Bu olaylarda hamburgerlerin pişirilmesi sırasında merkezi sıcaklığın *E. coli* 0157: H7'yi inaktive edebilecek seviyeye ulaşmamış olabileceği öne sürülmüş ve daha sonra, FDA tarafından merkezi sıcaklığın minimum (155 F°) 68.3°C olması gerektiği bildirilmiştir (6,12,22).

Amerika'da, çeşitli hayvan türlerine ait etlerde *E. coli* 0157:H7 insidensinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, Doyle ve Schoeni (13), 164 sığır eti örneğinden %3.4, 264 domuz eti örneğinden %1.5, 263 tavuk eti örneğinden

%1.5 ve 205 kuzu eti örneğinden %2 oranında *E. coli* 0157:H7 izole edildiğini bildirmişlerdir. A.B.D.'de 1992-1993 yılları arasında sığır karkaslarının yüzeyinden alınan 2081 örneğin 4'ünden (%0.2) *E. coli* 0157:H7 izole edilmiştir (31). Karkas yüzeyinde ihmal edilebilir düzeyde olan bu oran, etin ürünlerine işlenmesi aşamalarında artarak tehlike oluşturabilecektir. İngiltere'de 134 kıyma, 52 sosis ve 124 hamburgerden oluşan toplam 310 örneğin 5'inden verositotoksin oluşturmayan *E. coli* 0157 izole edilmiştir (35). Fransa'da yapılan bir çalışmada da çiğ süttten yapılan peynir, tavuk, sosis ve sığır kıymasından oluşan toplam 250 örnekte yapılan incelemede 4 tavuk, 1 sosis ve 1 kıyma örneğinden verositotoksin oluşturmayan *E. coli* 0157 izole edildiği bildirilmektedir (33). Brezilya'da yapılan bir tarama çalışmasında 35 sığır kıyması, 35 sığır hamburgeri, 35 kebab ve köfteden oluşan toplam 105 örnekte *E. coli* 0157:H7 izole edilemediği bildirilmektedir (8).

Ülkemizde *E. coli* 0157:H7 ile ilgili sınırlı sayıda araştırma (2,19) ve klinik vaka (1,15,18,20,24) taramaları mevcut olup sığır dışkılarında yapılan bir çalışmanın (2) dışında *E. coli* 0157:H7 izolasyonu yapılamamıştır. Diğer ülkelerde ise özellikle klinik vakalardan ve bazı gıda maddelerinden *E. coli* 0157:H7 izole edildiği bildirilmektedir (7,11,31,35). Bu durum, Türkiye şartlarında konu ile ilgili olarak vaka taramalarının daha fazla yapılması gerektiğini, aynı zamanda riskli gıdaların belirlenmesi amacıyla daha fazla gıda örneğinin incelenmesi zorunluluğu olduğunu göstermektedir. *E. coli* 0157:H7'nin en önemli rezervuarının sığırlar olduğu bilinmektedir. Ayrıca sağlıklı görünen sığırların dışkılarından *E. coli* 0157:H7 izole edilmesinin epidemiyolojik yönden önemi vardır. (17,34). Bu durumda, dışkılarından *E. coli* 0157:H7 taşıyan sığırlardan dolayı gerek

kesimhanelerde gerekse de sağım esnasında hijyen kurallarına uyulmama sonucu karkaslar ve süt *E. coli* 0157:H7 ile kontamine olabilecektir.

Başlangıçta yüzeysel olan bu kontaminasyon etin ve sütün ürünlerine işleme aşamalarında artacaktır. Ülkemizde de sığır eti ve sütünün çok yaygın olarak tüketildiği gözönüne alındığında halk sağlığını tehdit eden tehlikenin boyutları ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle başta hayvansal orijinli gıdalar olmak üzere diğer gıdaların da üretimleri sırasında hijyen kurallarına uyulması, işletmelerde kritik kontrol noktalarının düzenli olarak kontrol edilmesi, kişiden kişiye bulaşmanın da sözkonusu olmasından dolayı gıda işleklerinde ve üretim alanlarında çalışanların düzenli olarak portör kontrollerinin yapılması, ayaküstü yemek yenilen yerlerde hamburger, İnegöl köfte gibi işlem görmüş özellikle sığır orijinli et ürünlerinin uygun sıcaklık-zaman periyodunda pişirilmesi, sütlerin yeterli pastörizasyon işleminden sonra tüketilmesi ya da ürünlerine işlenmesi, enfeksiyonun kontrol altına alınmasında önem taşıyan başlıca faktörler olarak görülmelidir.

### TEŞEKKÜR

*E. coli* 0157 izolatlarının verositoloksisite testlerinin yapılmasındaki yardımlarından dolayı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalında görevli bulunan Doç. Dr. Aykut ÖZKUL'a teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

1. Akça, Ö., Aktaş, F., Ulutan, F. (1996) Enterokolitli hastalarda etken olarak *E. coli* 0157:H7 serotipinin araştırılması. Mikrobiyoloji Bült, (30) 2:119-133.
2. Akkuş, F. (1996) Hazır sığır kıymalarında verotoksin oluşturan *Escherichia coli* 0157:H7 izolasyonu. Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
3. Bennett, A.R., MacPhee, S., Betts, R.P. (1995) Evaluation of methods for the isolation and detection *E. coli* 0157 in minced beef. Letters in Appl Microbiol 20: 375-379, 1995.
4. Besser, R.E., Lett, S.M., Weber, J.T., Doyle, M.P., Barrett, T.J., Wells, J.G., Griffin, P.M. (1993) An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* 0157:H7 in fresh-pressed apple cider. JAMA, 269:2217-2220.
5. Buchanan, R.L., Doyle, M.P. (1997) Foodborne disease significance of *Escherichia coli* 0157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. Food Technol, 51 (10), 69-76.
6. Carol, A. P., Roscoe, N (1996) Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in ground beef during normal cooking procedures. Nutrition and Food Sci, 2:23-26.
7. Centers for Disease Control. (1993) Update: Multistate outbreak of *Escherichia coli* 0157:H7 infections from hamburgers western United States, 1992-1993. Morbid Mortal Weekly Rep 42:258-263.
8. Cerqueria, A.M., Tibona, A., Guth, B.E.C. (1997) High occurrence of Shiga-like toxin producing strains among diarrheagenic *E. coli* isolated from raw beef products in Rio de Janeiro City, Brazil. J Food Prot 60 (2): 177-180.
9. Chapman, P. A., Wright, D.J., Norman, P. (1989) Verotoxin-producing *Escherichia coli* infections in sheffield:cattle as a possible source. Epidemiol Infect, 102:439-445.
10. Chapman, P.A., Siddons, C.A., Wright, D.J., Norman, P., Fox, S., Crick, E. (1993) Cattle as a possible

- source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* 0157 infections in man. *Epidemiol Infect* **111**:439-447.
11. **Christie, B.** (1996) *E.coli* 0157 kills five people in Scotland. *Brit Med J*, **313**: 1424.
  12. **Clavera, M.R., Beuchat, L.R., Doyle, M.P.** (1998) Thermal inactivation of *E.coli* 0157:H7 isolated from ground beef and bovine feces and suitability of media for enumeration. *J Food Prot*, **61** (3): 285-289.
  13. **Doyle, M. P., Scheni, J.L.** (1987) Isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 from fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol*, **53**:2394-2396.
  14. **Doyle, M. P.** (1991) *Escherichia coli* 0157:H7 and its significance in foods. *Int J Food Microbiol*, **12**:289-302.
  15. **Erensoy, S., Tokbaşı, A.** (1992) İzmir'deki sürgün olgularında *Escherichia coli* 0157:H7 araştırılması. *Infeksiyon Derg* 285-286.
  16. **Farmer, J. J., Davis, B.R.** (1985) H7 antiserum sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* 0157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol*, **22**:620-625.
  17. **Griffin, P. M., Tauxe, R.V.** (1991) The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* 0157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli* and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev*, **13**:60-98.
  18. **Halepliler, S., Babür, C.** (1993) Gastroenteritli çocuk ve erişkin yaş gruplarında *Escherichia coli* 0157:H7 serotipinin (EHEC) araştırılması. *Türk Hij Derg*, **50**:5-9.
  19. **Halkman, A.K., Noveir, M.R., Doğan, H.B.** (1998) Çeşitli hayvansal gıda ürünlerinde *E.coli* 0157:H7 aranması. TÜBİTAK. Proje No: VHAGF - 1192.
  20. **Haşçelik, G., Akan, Ö.A., Diker, S., Baykal, M.** (1991) Campylobacter and enterohaemorrhagic *E.coli* (EHEC) associated gastroenteritis in Turkish children. *J Diarrhoeal Dis Res*, **9** (4): 315-317.
  21. **Hitchins, A. D., Hartman, P.A., Todd, E.C.D.** (1992) Coliforms- *Escherichia coli* and Its Toxins. pp: 325-369. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 3<sup>rd</sup> Ed. Vanderzant, C. and F. Splittstoesser. American Public Health Association, Washington.
  22. **Mermelstein, N.H.** (1993) Controlling *E. coli* 0157:H7 in meat. *Food Technol*, **47**:90-91
  23. **Okrend, A. J. G., Rose, B.E., Bennett, B.** (1990) A screening method for the isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 from ground beef. *J Food Prot*, **53**:249-252.
  24. **Öztürk, S., Yetener, V., Balaban, N., Aksaray, S.** (1996) Enterit olgularında *E. Coli* 0157:H7 serotipinin insidensi. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 7-10 Mayıs 1996, Antalya.
  25. **Riley, L. W., Remis, R.S., Helgerson, S.D.** (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Eng J Med*, **308**:681-685.
  26. **Ryon, C.A., Tauxe, R.V., Hisek, G.W., Wells, J.G., Stoesa, P.A., McFadden, H.W., Smith, P.W., Wright, G.F., Blake, P.A.** (1986) *E.coli* 0157 diarrhea in nursing home: Clinical, epidemiological and pathological findings. *J Inf Dis*, **154**(4):631-638.
  27. **Scotland, S. M., Rowe, B., Smith, H.R., Willshaw, G.A., Gross, R.J.** (1998) Verocytotoxin-producing strains of

- Escherichia coli* from children with haemolytic-uremic syndrome and their detection by specific DNA probes. *J Medical Microbiol*, **25**:237-243.
28. **Sharp, J. C. M., Dev, V.J.** (1992) Epidemiology of *E. coli* 0157 infection in Scotland. pp: 130-133. 3<sup>rd</sup> World Congress, Foodborne Infections and Intoxications. 16-19 June, 1992, Berlin.
29. **Simone, E., Goosen, M., Notermans, S.H.W., Borgdorff, M.W.** (1997) Investigation of Foodborne diseases by Food Inspection Services in the Netherlands, 1991 to 1994. *J Food Prot* **60** (4): 442-446.
30. **Stavric, S., Speirs, J. I.** (1989) *E.coli* associated with hemorrhagic colitis. *Con. Inst. Food Sci Technol J*, **22** (3): 2/5-208.
31. **United States Department of Agriculture** (1994) Nationwide beef microbiological baseline data collection program: Steers and heifers (October 1992 - September 1993). Microbiology Division. Science and Technology, food Safety and Inspection service, Washington, D.C. In: Clavera, M.R., Beuchat, L.R. and Doyle, M.P. (1998). Thermal Inactivation of *E.coli* 0157:H7 Isolated from Ground beef and bovine feces and suitability of media for enumeration. *J Food Prot.* **61** (3): 285-289.
32. **Watanabe, H., Wada, A., Inagaki, Y., Itoh, K., Tamura, K.** (1996) Outbreaks of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7 infection by two different genotype strains in Japan. *Lancet*, **348**:831-832.
33. **Vernazy-Rozand, C., Mazuy, C., Ray-Gueriot, S., Boutrand-Loei, S., Meyrand, A., Richard, Y.** (1997) Detection of *Escherichia coli* 0157 in French food samples using on IMS method and the VIDAS *E.coli* 0157. *Letters in Appl Microbiol*, **25**: 442-446.
34. **WHO.** (1992) Report of WHO Consultation on "Shiga-like toxin" producing *Escherichia coli*, with special emphasis on zoonotic aspects. World Health Organisation. 10-12 December, Giessen, Germany.
35. **Willshaw, G. A., Thirlwell, J., Jones, A.P., Parry, S., Salmon, R.L., Hickey, M.** (1994) Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* 0157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic uremic syndrome in Britain. *Letters Appl Microbiol*, **19**:304-307.