

**SIĞIR VE İSHALLİ İNSAN DIŞKILARI İLE BAZI GIDALARDA
ESCHERİCHİA COLİ O157:H7 VE *stx1* / *stx2* GEN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Bio. Savaş ASLAN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

DOKTORA LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hilmi YAMAN

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Tez No: 2015-003

2015 – Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIĞIR VE İSHALLİ İNSAN DİŞKILARI İLE BAZI GIDALARDA
***ESCHERİCHİA COLİ* O157:H7 VE *Stx1 / Stx2* GEN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Bio. Savaş ASLAN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hilmi YAMAN
Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
Tarafından 12.Sağ.Bil.02 Proje Numarası İle Desteklenmiştir.

Tez No: 2015-003

2015 – Afyonkarahisar

KABUL ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Programı
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 30/01/2015

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ
Sakarya Üniversitesi



Prof. Dr. Hilmi YAMAN
Adnan Menderes Üniversitesi

Doç. Dr. Veli GÖK
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Doç. Dr. Meltem DİLEK
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Doç. Dr. Elif KORCAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Recep KARA
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Gökhan AKARCA
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Savaş ASLAN'ın 'Sığır ve İshalli İnsan Dışkıları ile Bazı Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 ve *Stx1 / Stx2* Gen Varlığının Araştırılması' başlıklı tezi 18.02.2015 günü saat 14:00' da Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Eğitim sürecim içerisinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda desteklerini gördüğüm, hoşgörü ortamı içerisinde geniş tecrübeleriyle bizlere yön veren, çalışmamı gerçekleştirmemde önderlik edip titizlikle kontrol eden, kendine güvenen bireyler olarak yetişmemizde büyük rol oynayan başta danışman hocalarım Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ, Prof. Dr. Hilmi YAMAN ve anabilim dalı hocalarım Prof.Dr. Levent AKKAYA, Yrd. Doç. Dr. Recep KARA, Yrd. Doç. Dr. Zeki GÜRLER'e içten teşekkür ederim.

Yoğun çalışma temposuna rağmen desteklerini esirgemeyen Uzm. Bio. Davut ÇUFALI ve Lab. İbrahim GÜNDÜZ'e sabır, hoşgörü ve iyi niyetleri için tüm kalbimle teşekkür ederim.

Eğitimimin her aşamasında birlikte olduğum, öğrenciliğim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hiçbir konuda yardımlarını ve sevgilerini esirgemeyen arkadaşlarım Bio. Alparslan ARSLAN, Bio. Gül ÖZHELVACI, Lab. Barış ÇOT, Lab. Soner EĞRİ'ye ve laboratuvar çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Her zaman yanımda hissettiğim, hayatımın her döneminde maddi – manevi desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anneme, babama ve kardeşime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
GRAFİK DİZİNİ.....	ix
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Enterobacteriaceae</i>	6
1.2. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	9
1.3. Tarihçe.....	10
1.4. Etiyoloji	11
1.5. Epidemiyoloji	13
1.5.1. Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>	14
1.5.2. Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>	15
1.5.3. Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>	16
1.5.4. Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>	17
1.5.5. Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>	18
1.6. Virulans Faktörler	19
1.6.1. Verositotoksin	19
1.6.2. İntimin	20
1.6.3. Enterohemolizin	21
1.7. Yaptığı Hastalıklar	21

1.8. Tedavi	22
1.8.1. Sıvı Replasmanı	23
1.8.2. Kırmızı Kan Hücresi Transfüzyonu	23
1.8.3. Trombosit Transfüzyonu	24
1.8.4. Böbrek Diyalizi:	24
1.9. Gıdalarda Bulunuşu	24
2. MATERYAL METOD	26
2.1. Materyal	26
2.2. Örneklerin Alınması	26
2.2.1. Sığır Dışkı Numunesi	26
2.2.2. Sığır Süt Numunesi	26
2.2.3. Sucuk Numunesi	27
2.2.4. Salata Numunesi	27
2.2.5. İnsan Dışkı Numunesi	27
2.3. Kullanılan Besiyerleri:	28
2.3.1. Tryptic Soy Broth (Oxoid CM0129, England)	28
2.3.2. Sorbitollü MacConkey Agar (Oxoid CM0813, England)	28
2.3.3. Violet Red Bile Agar (MUG'lu) (Oxoid CM0978, England).....	29
2.3.4. Nutrient Agar (Himedia M001, India)	30
2.3.5. Tryptone Broth (SRL TM015, India)	31
2.3.6. MR–VP Medium (Glucose Phosphate Broth, Himedia M070, India)	31
2.3.7. Simmons Sitrat Agar (Oxoid CM0155, England).....	32
2.3.8. Üre Agar Base (Oxoid CM0053B, England).....	33
2.3.9. Kligler Iron Agar (Oxoid CM0033, England)	33
2.4. Metot	34
2.4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon	34
2.4.2. Real-Time PCR.....	44
3. BULGULAR	50
4. TARTIŞMA	62
5. SONUÇ	80
6. ÖZET	82
7. SUMMARY	84
8. KAYNAKLAR	86

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
AAF	: Agregatif Yapışma Fimbriyası
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devleti
AE lezyonu	: Attaching and Effacing (Enterosite Yapışma-Silinme Yapan Lezyon)
AIDS	: Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
API	: Analytical Profile Index
β	: Beta
Bfp	: Bundle Forming (Demet Oluşturan Pili)
BPW	: Buffered Peptone Water
C	: Sitozin
CFA	: Kolonizasyon Faktör Antijenleri
CT-SMAC	: Cefixime-Tellurite - Sorbitollü MacConkey Agar
DAEC	: Diffüz aderan <i>Escherichia coli</i>
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DT	: Definitive Type
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>eaeA</i>	: İntimin Geni
EAggEC	: Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EAST	: Enteroagregatif Sitotoksin
EAST	: Enteroagregatif Heat Stable Toksin (Isıya Dayanıklı Enteroagregatif Sitotoksin)
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EİEC	: Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EMB	: Eosine Methylene Blue (Eozin Metilen Mavisi) Besiyeri
EspA	: Yüzeyle İlişkili Filaman
ETEC	: Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
FAO	: Food and Agriculture Organization of United (Gıda ve Tarım Örgütü)
FSIS	: Gıda Güvenliği ve Muayene Servisi
G	: Guanin
<i>g</i>	: Relatif Santrifüj Kuvveti (Ayrıştırma kuvveti)
H	: Fimbriyal Antijen

HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları Sistemi)
HC	: Hemorajik Kolitıs
HUS	: Hemolitik Uremik Sendrom
İ	: İndol
K	: Kapsüler Antijen
LEE	: Locus of Enterocyte Effacement (Enterositte Hasar Yapan Silinme Lokusu)
LT	: Isıya duyarlı (Labil Toksin) <i>Escherichia coli</i> Enterotoksini
MR	: Metil Red (Metil Kırmızısı)
mTSB	: Modifiye Tryptic Soy Broth
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
nm	: Nanometre
O	: Somatik Antijen
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PET	: Plazmid ile Kodlanan Toksin
SMAC	: Sorbitollü MacConkey Agar
SSOP	: Hijyen Standart İşletim Prosedürü
ST	: Isıya Dirençli (Stabil Toksin) <i>E. coli</i> Enterotoksini
STEC/VTEC	: Shiga – Toksin/Vero – Toksin Üreten <i>Escherichia coli</i>
<i>Stx</i>	: Shiga – Toksin
Tir	: Translocated İntimin Receptor
TSB	: Tryptic Soy Broth
TTP	: Trombotik Trombositopenik Purpura
USDA	: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
VR	: Voges Proskauer
VRBA	: Violet Red Bile Agar
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

RESİMLER DİZİNİ

Resim.1. Modifiye Tryptic Soy Broth agarda gıda örneği.....	36
Resim.2. CT-SMAC besiyerinde <i>E. coli</i> O157 izolatı	37
Resim.3. VRBA (MUG'lu) besiyerinde UV ışığı (filtresiz) uygulanmış <i>E. coli</i> O157 izolatı.....	38
Resim.4. VRBA (MUG'lu) besiyerinde UV ışığı (filtreli) uygulanmış <i>E. coli</i> O157 izolatı.....	39
Resim.5. VRBA (MUG'lu) besiyerinde <i>E. coli</i> O157 izolatı.....	40
Resim.6. Sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarının İndol testi	40
Resim.7. Sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarının MR testi	41
Resim.8. Sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarının Sitrat testi	41
Resim.9. Sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarının Üre testi	42
Resim.10. Sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarının Kligler testi	42
Resim.11. <i>E. coli</i> O157 Lateks Aglütinasyon Testi	43
Resim.12. <i>E. coli</i> O157: H7 Lateks Aglütinasyon Testi	43

TABLolar DİZİNİ

Tablo.1. <i>Enterobacteriaceae</i> ailesinin sınıflandırması.....	8
Tablo.2. Çalışma bölgesi ve numune sayısı.....	50
Tablo.3. Hayvan dışkı ve çiğ süt numunelerinin bölgelere göre dağılımı.....	51
Tablo.4. Hayvan dışkı ve çiğ süt örneklerinde sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarında O157 antijeninin varlığı.....	51
Tablo.5. Hayvan dışkı ve çiğ süt örneklerinin bölgelere göre <i>E. coli</i> O157 dağılımı	54
Tablo.6. Hayvan dışkı ve çiğ süt örneklerinin bölgelere göre EHEC <i>stx</i> dağılımı.....	55
Tablo.7. Aylara göre numune dağılımı ve <i>E. coli</i> O157 varlığı	56
Tablo.8. Hayvan dışkısı ve çeşitli gıda numunelerinde EHEC ve O157 varlığı.....	58
Tablo.9. Farklı numune tiplerinde sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarında O157 antijeninin varlığı.....	58
Tablo.10. Farklı numune tiplerinde sorbitol negatif <i>E.coli</i> izolatlarında EHEC <i>stx</i> Varlığı.....	59
Tablo.11. Klinik semptomlar.....	60
Tablo.12. İnsan dışkı numunesinde sorbitol negatif <i>E. coli</i> izolatlarında EHEC <i>stx</i> varlığı.....	61
Tablo.13. İnsan dışkı numunesinin muayenesi.....	62
Tablo:14. Farklı numune tiplerinde <i>E. coli</i> O157EHEC <i>stx</i> varlığı.....	62

GRAFİK DİZİNİ

Grafik.1. <i>E. coli</i> O157 izolatının aylara göre dağılımı.....	57
--	----

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil.1. Bakteriyel DNA ekstraksiyon prosedürü.....	46
Şekil.2. Solüsyon halindeki DNA ekstraksiyon optik yoğunluğu.....	47
Şekil.3. Realtime PCR prosedürü.....	48
Şekil.4. Real Time PCR EHEC <i>stx1</i> ve <i>stx2</i> pozitif	48
Şekil.5. Real Time PCR EHEC <i>stx1</i> pozitif ve <i>stx2</i> negatif	49
Şekil.6. Real Time PCR EHEC <i>stx1</i> negatif ve <i>stx2</i> pozitif	49

1. GİRİŞ

İnsanoğlunun fiziksel bir ihtiyacı olan beslenme; büyüme, yaşamın sürdürülmesi ve sağlığın korunması amacıyla çeşitli gıdaların tüketilmesi olarak tanımlanabilir. İnsanların sağlıklarını koruyabilmeleri için sadece yeterli ve dengeli beslenmeleri yeterli olmamakta, alınan gıdaların insan sağlığını tehdit etmemesi ve güvenli olması da gerekmektedir (Özkaya ve Cömert, 2008). İnsanların dünyada yaşayabilmesi, fiziksel ve mental gelişimlerini gerçekleştirebilmesi için yeterli miktarda ve sağlık yönünden güvenli gıdayı alabilmeleri insan temel haklarının esasını oluşturmaktadır.

Gıdaların neden olduğu sağlık sorunları arasında en sık gıda intoksikasyonları akut sorunlar olarak karşımıza çıkmaktadır (Gül ve Onal, 2008). Gıda güvenliği, insan sağlığının korunması yönünden belirlenen öncelikli konuların başında gelmektedir. Gıdaların neden olduğu sağlık sorunları içinde ön sırayı, gıdalardaki mikrobiyolojik kontaminasyon almaktadır. İkinci sırada ise, gıdalardaki kontrol edilmeyen kimyasal kirlilikler (kontaminantlar) bulunmaktadır (Karakaya, 2012). Nüfusun hızla artması, plansız şehirleşme ve buna bağlı olarak, alt yapı yetersizlikleri, çevre kirliliği, toplumun değişen tüketim alışkanlıkları, toplu gıda ve yemek üretiminde artış, eğitim ve gelir düzeyinin düşüklüğü, yetersiz veya yeterince uygulanmayan mevzuatlar, gıdaların saklama süresinin artırılması, kontrol dışı gıda üretimi, denetim uygulamalarının yetersizliği veya gereğince yapılmaması, gıda üretiminde yeni teknolojilerin kullanımı gibi nedenlerle gıda güvenliğindeki tehlikeler artmaktadır (Erkmen, 2010). İngiltere’de her yıl toplam nüfusun %20’si, Amerika Birleşik Devleti’nde (ABD) %28’i gıda kaynaklı hastalıklarla karşılaşmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise çok daha fazla kişinin bu hastalıklarla karşılaştığı tahmin edilmektedir (Agel, 2007). Gıda güvenliği, halk sağlığının korunabilmesi amacıyla başta Avrupa Birliği (AB) ilkeleri olmak üzere birçok ülkenin gıda kontrol otoriteleri tarafından ‘çiftlikten çatala gıda güvenliği’ olarak ifade edilmektedir (Erkmen, 2010). 1993 yılında Gıda ve Tarım Örgütü (FAO, Food and Agriculture Organization of United Nations) / Dünya Sağlık Örgütü (WHO, World Health Organization) gıda kodeksi komitesi tarafından güvenli gıda

sağlamanın güvencesinin korunması için en etkili sistem olarak Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları Sistemi (HACCP, Hazard Analysis and Critical Control Points) tavsiye edilmiştir (Akın ve ark., 2014).

Bir gıdada özel koruma önlemleri uygulanmamışsa tüm gıda maddeleri veya gıdalar mikroorganizmalarla kontamine durumdadır. Çevre koşulları da izin verirse, mikroorganizmalar kolayca gelişerek gıdalarda veya gıda hammaddelerinde bazı değişikliklere yol açarak; ya tat, koku ve bileşenlerini değiştirip başka gıdalara dönüşmesine yardımcı olurlar ya da tümünden bozulmalarına neden olabilirler (Şahin ve Başoğlu, 2011). Gıdalarda bozulma, gıdanın yapısında bulunan protein, karbohidrat ve yağlarla, çeşitli organik asitler, alkoller, aldehitler, selüloz ve pektin gibi bileşiklerin yıkılması sonucu gıdada istenmeyen bir görünüş, tat ve kokunun ortaya çıkması olarak genel anlamda tanımlanabilir (Özkaya ve Cömert, 2008). Gıdalardaki mikroorganizmalar; patojen, bozulmaya neden olan, indikatör ve yararlı mikroorganizmalar olmak üzere başlıca dört grupta toplanabilirler (Erol, 2007). İnsanlarda gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonların en yaygın görülenleri bakteriyel kökenli olup çabuk ortaya çıkmakta ve hızlı ilerlemektedir. Virüsler, parazitler, funguslar ile hayvansal ve bitkisel kökenli toksik maddeler de gıda zehirlenmelerine neden olan diğer etkenler arasındadır (Özkaya ve Cömert, 2008). Günümüzde ise gıda endüstrisinde gıda kaynaklı enfeksiyonlarda 27 temel patojen bakteri mevcuttur. Patojenik *Escherichia coli* (*E. coli*), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium* türleri, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Bacillus cereus* (*B. cereus*) en fazla problem oluşturan patojen bakterileri oluşturur. Bu patojen bakteriler, gıda kaynaklı enfeksiyonların toplam tahmini sayısının sadece %19'undan sorumlu tutulmuştur. Bu durum ise henüz tanımlanmamış birçok gıda kaynaklı patojenin bulunduğunu akla getirmektedir (Saini, 2008; Kartal, 2006).

E. coli, Alman bakteriyolog ve pediyatrist olan Theodor Escherich tarafından ilk kez 1885 yılında izole edilmiştir (Levine, 1987). *E. coli* bakterisi gastrointestinal sistemde yer alan ve normal barsak florasının üyesi sayılan bir bakteridir. Bazı suşları toksin üreterek ciddi enfeksiyonlara sebep olurken toksini üreten *E. coli*

türleri Shiga-toksin üreten *E. coli* (STEC) veya Vero-toksin üreten *E. coli* olarak isimlendirilir (Kuşoğlu ve Yaman, 2011). *E. coli* O157:H7 ve diğer enterohemorajik *E. coli* (EHEC) suşları, *Salmonella typhimurium* [Definitive Type (DT)] DT 104, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayentanensis*, *Arcobacter butzleri* ve *Helicobacter pylori*'yi içeren yeni olarak ortaya çıkması ya da olma potansiyeline sahip önemi giderek artan gıda kaynaklı patojenlerdir (Meng ve Doyle, 1998).

Shiga-toksin üreten *E. coli*'nin temel rezervuarı sığırlardır ve bulunduğu sığırdaki vasküler lezyonlara ve klinik hastalığa neden olmazlar (Hoey ve ark., 2002; Gyles, 2007). Temel rezervuarı sığır olan *E. coli* O157/O157:H7 birçok ülkede görülmektedir (Akkaya ve ark., 2008a,b). Başlangıçta sığır karkaslarında patojen bakteriler bulunmazken çevredeki hayvanlarda veya çevrede mevcut olan patojen bakteriler karkas yüzeyini kontamine edebilmektedir. Yoğun kontaminasyon ve kötü hijyen şartları patojenik bakterilerin gıda maddelerinde gelişimini ve toksin oluşturma riskini artırmaktadır (Sofos ve ark., 1999).

Mikroorganizmaların, gıda maddelerine veya hayvanlara bulaşmasının ya da hayvanlarda enfeksiyonlar meydana getirmesinin önlenmesi oldukça önemlidir. Çiftliklerde sağlıklı olarak yetiştirilen bu hayvanların kesim için taşınırken, kesim sırasında veya sonrasında da bu bakterilerle bulaşmasının önlenmesi hayati derecede önemlidir. Çünkü bu aşamada hayvanlar ya da karkaslar, kesimhanede ortamında bulunan alet, ekipman veya personelden ileri gelen kirlenmelere maruz kalabilmektedir (Atabay, 2011). Böylece mikroorganizmalar, eti kesimle birlikte kontamine etmeye başlamaktadır. Kontaminasyon kesim, yüzme, parçalama ve paketlenme esnasında bıçak ve parçalama tahtası gibi malzemelerle olmakta (Atabay, 2011) ve bu kontaminasyonda hayvanın kürk, boynuz ve ayaklarının taşıdığı mikroorganizmalarla bağırsak içeriğindeki mikroorganizmalar rol oynamaktadır. Bunun yanında kesim esnasında kullanılan bıçaktaki mikroorganizmalar ile kesim yerlerini kontamine etmiş mikroorganizmalar, lenf sıvısı ve kan ile birlikte etin iç kısımlarına kadar ulaşmaktadır (Gökalp ve ark., 1997).

Et muayenesinde, hastalıklı hayvan etlerinin gıda zincirine girmesinin engellenmesinde oldukça etkili olmasına rağmen, bu yolla halk sağlığının karkas yüzeyinde bulunan patojen bakterilerden korunması oldukça düşük bir olasılıktır. Bu durum, ABD’nde “Patojenlerin Azaltılması ve HACCP” programı gıda güvenliği konusunda yeni uygulamaları gündeme getirmiş olup, bu program çerçevesinde kesimhane ve et işleme tesislerinde fiziksel, kimyasal ve bakteriyolojik tehlikelerin tanımlanarak, önlemlerin alınması sağlanmıştır (USDA/FSIS, 1996).

HACCP mikrobiyolojik yönden güvenli gıda sunmak için evrensel olarak kabul görmüş bir yönetim sistemidir (Brown, 2000). Sığır eti güvenliğini geliştirmek için, Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) Gıda Güvenliği ve Muayene Servisi (FSIS) 1990’lı yılların ortalarından itibaren yeni düzenleyici şartlar getirmiştir. Et ve et ürünleri üreticileri karkaslarda görülebilen tüm kontaminant maddeleri bıçakla tıraşlamak suretiyle uzaklaştırmak, yazılı hijyen standardı işletim prosedürlerine (SSOP) uymalı ve HACCP’i uygulamak zorundadır. Ayrıca HACCP etkinliğinin ve patojen indirgemelerini doğrulamak için *E. coli* ve *Salmonella*’nın mikrobiyolojik performans kriterlerini ve standartlarını karşılaması gerekmektedir (Belk, 2000). Bir başka deyişle, et muayenesinde görsel temizlik yerini mikrobiyolojik temizlik esaslarına bırakmıştır (Çalıcıoğlu ve ark., 2005). Hayvan karkaslarının fekal kontaminasyonu, kontaminasyonun engellenmesi ve sonrasında dekontaminasyon uygulanması ya da her iki uygulamanın dâhil edildiği HACCP sistemi ile azaltılabilir (USDA/FSIS, 1996).

İlk olarak 1980’li yıllarda bir patojen olarak tespit edildiğinden günümüze kadar dünya çapında EHEC enfeksiyon salgınları bildirilirken (Riley ve ark., 1983; Wells ve ark., 1983) ishal ile ilişkili hastalık etkeni olarak son 25 yıl içerisinde önemi dikkate değer bir şekilde artmıştır. Bunun nedeni olarak hangi türünün nasıl bir mekanizmayla ishale neden olduğuna dair elde edilen bilgilerin giderek artmasıdır (Aydın Tutak, 2010).

Bulaşıcı hastalıkların özellikle de ishallerin görülme sıklıkları ülkelerin gelişmişlik düzeyinin en önemli göstergelerinden biri olarak kabul edilir. Bu tip hastalıklarda toplumun sosyal, kültürel, ekonomik ve çevresel faktörleri ile birebir ilişkili hastalıkların başında gelmesi önemli rol oynar (Öngen, 2006). 2004 yılında EHEC O157:H7 nin yıllık tahmini insidansı İskoçya, ABD, Avustralya, Japonya ve Kore Cumhuriyeti’de her 100 000 nüfusta 0,08’den 4,1 oranında değişmektedir. CDC’nin raporuna göre EHEC O157:H7, yaklaşık her yıl ABD’de 73 000 kişinin hastalanmasına, 2 000 kişinin hastaneye yatırılmasına ve 50 – 60 kişinin ölümüne neden olmaktadır (CFSPH, 2009). Türkiye’de 2001–2004 yıllarında görülmeyen EHEC olguları 2005 yılında 21, 2006 yılında 46, 2008 yılında 434, 2009 yılında 393 ve 2010 yılında ise 183 olgu meydana geldiği WHO raporunda bildirilmiştir (WHO, 2012).

Gelişmiş ülkelerde EHEC gıda kaynaklı hastalıkların önemli nedenlerindedir. Bunlardan bazı EHEC serotipleri hastalık etkenidir. *E. coli* O157:H7 serotipi, Japonya, İngiltere ve Kuzey Amerika’da EHEC ile ilgili hastalıkların en sık nedenidir (Kaper ve ark., 2004). Özellikle Almanya’daki EHEC’in son salgını kamuoyunun bilicini tekrar ön plana çıkarmıştır (WHO, 2011).

Amerika’da 1984 yılında bir bakımevinde meydana gelen salgında 101 kişiden hospitalize edilen 4 hastanın ölümü ile sonuçlanmış; bu salgının hamburger tüketiminden kaynaklandığı ve *E. coli* O157:H7 izole edildiği bildirilmiştir (Ryan ve ark., 1986). Bunun dışında farklı birçok ülkede (Arjantin, Avustralya, Belçika, Danimarka, Almanya, İsviçre, İsrail, Güney Afrika ve İtalya), *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle ortaya çıkan çok sayıda gıda zehirlenmesi bildirilmiştir. ABD’ de her yıl 16 000 kişinin hastalanmasına, 900 kişinin ölümüne ve yaklaşık 200 – 600milyon dolar ekonomik zarara neden olmaktadır. İngiltere’ de sadece 1996 yılında 506 vakaya, İskoçya’ da 1990 – 1996 yılları arasında 700 kişinin hastalanmasına, Japonya’ da da 7 000 okul çağındaki çocuğun zehirlenmesine neden olmuştur (Alisarlı ve Akman, 2004).

1993 yılından itibaren *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gibi bakterilerin neden olduğu gıda kaynaklı hastalık salgınları tüketicilerin et güvenliği konusundaki duyarlılıklarını artırmıştır. Bu sebeple, kamu otoriteleri, araştırmacılar tarafından et endüstrisinin mikrobiyolojik kalitenin geliştirilmesi için gıda güvenliği yönetim sistemlerinin çalışmaları başlatılmıştır (Belk, 2000).

Dünya nüfusu giderek daha tüketici bir hal alması, gıda tüketim alışkanlıklarının da değişik olmasının yanında ülkemizde de “fast – food” ve hazır gıda tüketim alışkanlığı artmaktadır. Bu nedenle etkenin neden olduğu enfeksiyonlarla karşılaşma olasılığı da gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışma bazı gıda numunelerinde ve ishal şikâyeti ile hastanemize başvuran hastalarda gaita örneklerinden izole edilen EHEC, *E. coli* O157:H7 suşlarının dağılımı ve EHEC toksin genlerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. *Enterobacteriaceae*

Bu ailedeki Gram negatif çomakların çoğu insan ve hayvanların bağırsaklarında yaygın şekilde bulduklarından *Enterobacteriaceae* “bağırsak bakterileri ailesi” olarak tercüme edilir. Bağırsakta bulunan bakteriler yalnız bunlar değil hatta bunlar bağırsakta bulunan bakterilerin küçük bir kısmını oluştururlar. Bazı cinsleri normal bağırsak florasında (ör, *Salmonella* ve *Shigella*) bulunmazlar. Ancak bulaştıkları kişilerin bağırsaklarında bulunur ve patojen bağırsak bakterileri olarak anılırlar. *E. coli* normal bağırsak florası olmakla birlikte, bazı serotipleri normalde bağırsakta bulunmaz ve bu serotipler *Salmonella* ve *Shigella* gibi bulaşarak hastalık oluştururlar. Bunlara bağırsak bakterileri denmesi bağırsak dışında enfeksiyon oluşturmayacakları anlamına da gelmez. Vücudun hemen her bölgesinde enfeksiyon oluşturabilirler. Bu ailede laktozdan asit ve gaz oluşturan *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* ve *Klebsiella*’ya “koliform” bakteriler denilir. *E. coli*’nin sulara veya besinlerde bulunması, bunların kesinlikle insan veya hayvan dışkı ile kontamine olduğunu gösterir. Bu bakteriler bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarında etken olarak izole edilen tüm Gram negatif çomakların yaklaşık %80’ini, izole edilen tüm bakterilerin de yaklaşık yarısını oluşturmaktadır (Kaygusuz ve Töreci, 2011). Bu

durum *Enterobacteriaceae* ailesine ait mikroorganizmaların klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gelen klinik örneklerden en sık izole edilen Gram negatif bakteri olduğunu göstermektedir.

Enterobacteriaceae ailesi ya da kısaca Enterobakteriler geniş, karma gram negatif basiller içinde tıbben en önemli olanlarıdır. Bu ailenin bazı üyeleri insan gastrointestinal (GI) yoluna kolonize olurlar (ör. *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*). Bu kolonizasyon yatkınlığı nedeniyle belirli üyeler aynı zamanda “enterik bakteri” olarak adlandırılır. Ancak bu deyim *Pseudomonaceae* ve *Vibrionaceae* aileleri gibi, GI yolda sıklıkla bulunabilen, diğer gram negatif bakterileri de içermektedir (Erdem, 1999).

Enterobacteriaceae ailesi tıbbi olarak önem taşıyan Gram negatif çomakların en büyük, en heterojen topluluğudur. Kırktan fazla cins ve yüzlerce tür ve alttür tanımlanmıştır. Bu türler biyokimyasal özelliklerine, antijenik yapılarına, DNA–DNA hibridizasyonuna ve 16S rRNA dizilimlerine göre sınıflandırılmıştır (Zarakolu Köşker, 2010).

Enterobakter ailesinin Ewing tarafından yapılan sınıflandırmada yer alan türlerin çoğu klinik örneklerde nadiren bulunurlar (Tablo.1) (Erdem, 1999).

Enterobacteriaceae ailesindeki cinslerin ve türlerin çoğu aşağıdaki özellikleri paylaşır. Gram negatif basil şeklindedir; spor oluşturmazlar; peritrişyöz (tüm hücre yüzeyine yayılan) flajellalarıyla hareketli veya hareketsizdir; pepton ya da et ekstresinde diğer supplementler veya sodyum klorür eklenmeden ürerler; MacConkey agarda iyi ürerler; hem aerobik hem de anaerobik olarak ürerler; D–glikozve diğer şekerleri, sıklıkla gaz oluşturarak fermente (oksidasyon tercihan) ederler; katalaz pozitif ve oksidaz negatiftirler; nitratları nitritlere indirgerler; enterobakteriyel ortak antijen içerirler ve DNA içeriğinde guanin–sitozin (G+C) %39 – 59 oranındadır. Evrimsel yakınlığı ölçen teknikler kullanıldıkça, ailedeki cins ve türlerin diğer ailedeki türlere göre ailenin tip cinsinin tip türü olan *E. coli* ile çok daha yakın ilişkili olduğu bulunmuştur (Aktepe, 2009).

Tablo.1. *Enterobacteriaceae* ailesinin sınıflandırması.

Familiya	Cins	Tür
I. <i>Escherichieae</i>	I. <i>Escherichia</i> II. <i>Shigella</i>	<i>coli, blatae, vulneris, fergusonii, hermannii dysenteriae, flexneri, boydii, sonnei</i>
II. <i>Edwardsiellae</i>	I. <i>Edwardsiella</i>	<i>tarda, hoshina, ictaluri</i>
III. <i>Salmonelleae</i>	I. <i>Salmonella</i>	(serotipler), <i>typhi, choleraesuis, paratyphi A, enteritidis, gallinarum, pullorum</i>
IV. <i>Citrobactericeae</i>	I. <i>Citrobacter</i>	<i>freundii, diversus, amalonoticus</i>
V. <i>Klebsielleae</i>	I. <i>Klebsiella</i> II. <i>Enterobacter</i> III. <i>Hafnia</i> IV. <i>Serratia</i>	<i>pneumoniae, ozanena, oxytoca, rhinoscleromatis, planticola, terrigena, ornithinolytica aerogenes, cloacae, agglomerans, amnigenus, sakazakii, gergoviae, dissolvens, nimipressuvalis, asburiae, taylorae, hormaechei alvei marcescens, lique, liquefaciens, rubidaea, fonticola, odorifera, plymuthica, ficaria</i>
VI. <i>Proteeae</i>	I. <i>Proteus</i> II. <i>Morganella</i> III. <i>Providencia</i>	<i>mirabilis, vulgaris, pennei, myxofaciens morgani, alcalifaciens, stuartii, rettgeri, rustigianii</i>
VII. <i>Yersinieae</i>	I. <i>Yersinia</i>	<i>pseudotuberculosis, pestis, enterocolitica, frederiksenii, kristensenii, intermedia, ruckeri, aldovae</i>
VIII. <i>Erwinieae</i>	I. <i>Erwinia</i>	<i>amylovora, carotovora</i>
Herhangi bir aile içine yerleştirilmemiş olan cinsler	<i>Arsenophonus</i> <i>Budvicia</i> <i>Buttiauexella</i> <i>Cedecea</i> <i>Kluyvera</i> <i>Leclercia</i> <i>Leminorella</i> <i>Moellerella</i> <i>Obesumbacterium</i> <i>Pantoea</i> <i>Pragia</i> <i>Rahnella</i> <i>Tatumella</i> <i>Xenorhabdus</i> <i>Yokonella</i>	

1.2. *Escherichia coli* ve *Escherichia coli* O157:H7

E. coli, genellikle insanlar ve sıcakkanlı hayvanlar ile kuşların normal bağırsak florasında (ILSI, 2001), çevrede ve gıdalarda bulunan patojen olmayan bir üyesidir. *E. coli*, bakterilerin geniş ve farklı bir gurubudur. Fakat çoğu zararsız olsa da bazıları hastalık yapabilmektedir. Bazı türleri ishale, üriner enfeksiyonlara, solunum hastalıklarına ve pnömoni ve diğer hastalıklara neden olabilmektedir (CDC, 2014). *E. coli* insan yaşamının ilk saatlerinde yenidoğan sindirim sisteminde kolonize olur, daha sonra bakteri ve konakçı mutual bir yaşam sürerler. İmmün sistem bozukluklarında ya da sindirim sistemi savunma mekanizmalarının bozulduğu durumlarda nonpatojen *E. coli*'ler bile enfeksiyon etkeni olabilirler. Patojen *E. coli*'lerin etken olduğu enfeksiyonlar mukozal yüzeylerle sınırlı olabildikleri gibi tüm vücuda da yayılabilirler. Patojen suşların diğer kommensal mikroorganizmalardan farkları her patojenik tip için özel virulans faktörlerinin varlığından kaynaklanır ve bunlar bakteriofaj, plazmid veya kromozom üzerindeki patojenite adacıklarında kodlanır (Fındık, 2008).

Zorunlu anaerop bakterilerden 100 kat daha az bulunmasına rağmen rutin dışkı kültürlerinde en sık izole edilen bakteridir; barsak dışı vücut bölgelerinde önemli bir fırsatçı bakteri (Söyletir ve Willke Topçu, 2002) olmasına rağmen bağırsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu önlemeye çalışır (Erdem, 1999). Yapılan araştırmaların artmasıyla, ürogenital enfeksiyonlar, mastitis, enteritis, yara enfeksiyonları, septisemi ve meningitis gibi hastalıkların patojenik etkenleri arasında da olduğu rapor edilmiştir (Wasteson, 2001).

Escherichia coli sınıflandırılması

Alem	: <i>Bacteria</i>
Sube	: <i>Proteobacteria</i>
Sınıf	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Takım	: <i>Enterobacteriales</i>
Familya	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Cins	: <i>Escherichia</i>
Tür	: <i>Escherichia coli</i>
Binominal adı	: " <i>Escherichia coli</i> " (NCBI, 2015)

1.3. Tarihçe

E. coli ilk olarak 1885 yılında Theodor Escherich tarafından ishalleri bir çocuğun dışkılarından izole edilerek *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilmiş (Serpen, 2007) fakat 1919 yılında Castellani ve Chalmer tarafından araştırmacının adına istinaden *Escherichia* cins adı önerilene kadar *Bacterium coli* olarak adlandırılmıştır (Feng, 1995). 1930 yılında serolojik karakterlerine göre *Salmonella*'ları gruplandıran *Kauffman* tarafından yapılan serotiplendirilmesinde, bulundukları üç çeşit yüzey antijenine göre somatik [somatic (O) antijen], kapsüller [capsular (K) antijen] ve flagellar [flagellar, fimbrial (H) antijen] antijenik özelliklerine göre üç gruba ayrılmıştır (Serpen, 2007). Farklı sayıda olan bu antijenik yapılara göre *E. coli*'nin 700'den fazla serotipi tespit edilmiştir (Nataro ve Kaper, 1998). 1945 yılında bir bakım evinde çocuklarda meydana gelen ishal salgınına neden olan serogrup O11 suşu etken olarak gösterilmesi ile bağırsak patojeni *E. coli* (EPEC, Enteropatojenik *E. coli*) suşlarının tanımı yapılmaya başlanmıştır. 1969 yılında Ortadoğu'daki İngiliz askerlerinde meydana gelen ishal vakalarında ETEC suşları, yine aynı yıllarda Japonya ve Brezilya'da basilli dizanteriden ayırt edilemeyen EIEC suşları izole edilmiştir (Riordan ve ark., 2000). 1960'lardan itibaren bazı *E. coli* kökenlerinin bağırsakta da patojen olduklarına ilişkin bilgilerimiz birikmeye başlamış (Söyletir ve Willke Topçu, 2002), patojenik (Öngen, 2008a) ve enterovirulent (Serpen, 2007) özelliklerine göre en az beş diyarejenik *E. coli* kategoriye ayrılmıştır. Bunlar STEC

(ya da VTEC), EPEC, Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAaggEC) ve Diffüz aderan *E. coli* (DAEC) patotipleridir. Ancak bu patotiplerden diffüz aderan *E. coli* 'nin klinik önemi açık değildir (Levent, 2009).

E. coli O157:H7 serotipi ilk olarak ABD’de 1982 yılında 2 salgında 47 vaka ile tespit edilmiş, bunu takiben çeşitli ülkelerde de benzer salgınlar görülmüştür. Önceki hastalıklara benzemeyen, aniden ortaya çıkması ve çeşitli tetkikler ile bu bakterinin diğer *E. coli* serotiplerinden farklı olduğu gösterilmesi O157:H7 serotipinin “muhtemelen laboratuvar kaçkını bir bakteri” olduğunu düşündürmektedir (Halkman ve ark., 1998).

1.4. Etiyoloji

E. coli 1,0 – 1,5µm eninde, 2 – 6µm boyunda düz, uçları yuvarlak bakteriyolojik boyolarla iyi boyanan Gram negatif basildir. *E. coli* suşları çoğunlukla fimbria oluşturur. Çoğu peritriş kirpikleri ile hareketlidir (Özkuyumcu ve ark., 2009). Suşlardan bazıları da hareketsizdir (Serpen, 2007). Bu enterik mikroorganizma P–pilus ve Tip I flagellaları ile bağırsak epitelinde kolonize olmaktadır (Kuntz ve Kuntz, 1999).

Genel üretim besiyerlerinde üreyebilir. Optimal üreme ısısı 37°C’de olmasına rağmen 20°C – 44°C arasında üreyebilmektedir (Özkuyumcu ve ark., 2009).

Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Jelozda hafif kabarık, yuvarlak, düzgün 1 – 2 mm çapında parlak S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenlerin kolonileri hafif mukoid (M) koloniler şeklindedir. R kolonileri de oluşabilir (Bilgehan, 2000). Kanlı agarda bazı suşları β (Beta) – hemoliz oluşturmaktadır (Özkuyumcu ve ark., 2009).

E. coli, *Enterobacteriaceae* familyasında *Escherichia* genusuna bağlı gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve glukozu fermente eder (Zarakolu Köşker, 2010). Birçoğu laktozu fermente eder ve MacConkey gibi laktoz içeren bir besiyerinde koyu pembe ya da kırmızı renkte, S şeklinde koloniler oluşturur (Öngen, 2008b). Çoğu suş, Eosine Methylene Blue (EMB) besiyerinde metalik renkte refle veren yeşil – siyah koloniler (Özkuyumcu ve ark., 2009) oluşturarak bu familya da yer alan, laktoz negatif cinslerden (*Salmonella*, *Shigella* gibi) basit bir şekilde ayrılırlar (Baron ve ark., 1994).

Glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz, sorbitol, trehaloz ve gliserolu asit ve gaz yaparak parçalarlar. Sükroz, salisin dülsitol ve rafinoz üzerine etkileri değişken olup adonitol ve sellobiozu nadiren fermente ederler, nişastadan asla gaz oluşturmazlar (Bilgehan, 2000). İndol ve Metil Red (MR) testleri pozitifdir. Üre, H₂S ve Voges Proskauer (VR) testlerinde genellikle negatif olan *E. coli* sitrattan da yararlanamaz. Ayrıca, nitratları kullanarak nitritlere redükte edebilme özelliğine sahiptir (İzgür, 1999).

Bazı suşları kapsüllü, asidorezistans özellikte olan bir bakteri (Duffy ve ark., 1999) olup insan ve çoğu sıcakkanlı hayvanların doğal bağırsak florasında bulunmaktadır (Erol 2007).

EHEC içerisinde yer alan *E. coli* O157:H7'nin çoğu biyokimyasal özellikleri *E. coli*'ye özgüdür. Ancak, sorbitol ve β -D-glucuronidase aktivitesi farklılık gösterir. Ayrıca diğer bir patojenite faktörü olan enterohemolizin O157:H7 serotipi tarafından oluşturulur. İnsan kaynaklı izolatların yaklaşık %93'ü sorbitolü 24 saat içinde fermente etmelerine karşın, *E. coli* O157:H7 sorbitol negatif özellik gösterir (Erol, 2007). Günümüzde *E. coli*'nin gıdalardaki varlığının saptanması ve sayılması amacıyla en çok kullanılan kromojenik ve florojenik substratlar β -D-glucuronidase aktivitesini tespit etmeye yönelik olanlardır. Yapılan birçok araştırmada *E. coli* suşlarının % 96 ile % 97 oranında β -D-glucuronidase aktivitesine sahip oldukları rapor edilmiştir (Doğan ve ark., 2002). Bununla birlikte *E. coli*'nin *E. coli* O157:H7 gibi bazı patojenik serotipleri de β -D-glucuronidase aktivitesine sahip değildirler

(Frampton ve Restaino, 1993). Hidrolizasyon ile β -D-glucuronidase enzimi MUG'u (4-methylumbelliferoneglucuronid) parçalar. Meydana gelen reaksiyon son ürünlerinden olan 4-methylumbelliferly (4-MU) 366 nm dalga boyunda UV ışığa maruz bırakıldığında mavi floresans bir renk oluşturur (Feng ve Hartman, 1982). B-glikuronidaz enzimi *E. coli* O157:H7'de bulunmadığı için etken MUG içeren besi yerinde floresan vermez. Bazı araştırmacılar ise sorbitol pozitif (>24 saat) ve β -glikuronidaz oluşturan *E. coli* O157:H7 izolatları saptadıklarını bildirmişlerdir (Erol, 2007).

E. coli O, H, K antijenleri vardır. O ve K antijenleri bazı bağırsak patojeni *E. coli*'lerin belirlenmesi için önemlidir. Çeşitli K ve fibria antijenleri bakterinin bağırsakta kolonize olması veya idrar yollarında epitele yapışıp yerleşebilmesini sağlayarak enfeksiyonlarda önemli rol oynarlar (Kaygusuz ve Töreci, 2011). *E. coli* izolatları arasında somatik (O ve K) ve flajellar (H) antijenler önemli ölçüde farklılık ve birçok kombinasyon gösterir. Patojenik türler arasında birkaç filogenetik grupların ve bu antijenlerin biçimleri vardır. *E. coli* için 150'den fazla özgün O antijeni vardır (Whitfield ve Valvano, 1993). *E. coli* O antijenlerine göre gruplara H ve K antijenlerine göre serovarlara ayrılır. O antijenleri somatik ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapıda antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. *E. coli*'lerde 170'den fazla O serogrubu belirlenmiştir. Hareketli suşlardaki H kirpik antijenleri protein yapıda ve termolabildir, alkole dayanıksızdır. 60'a yakın H antijeni belirlenmiştir. K kapsül antijeni polisakkarit yapıda olup ısıya dayanıklıdır. Yaklaşık 80 çeşidi saptanmıştır (Fındık, 2008).

1.5. Epidemiyoloji

E. coli normal barsak florasını oluşturmasına rağmen barsakta sayısının fazla miktarda artmasıyla enfeksiyon meydana gelebilmektedir. Hijyen koşullarının iyi olmaması, stres faktörleri, iklim değişiklikleri, beslenme bozuklukları hazırlayıcı nedenleri oluşturur. Kontamine yem, su gibi maddeler bulaşmada önemli rol oynar (CFSPH, 2009). İshale neden olan tüm *E. coli* türleri fekal-oral yoldan bulaşırlar,

fakat birbirlerinden farklı epidemiyolojik özellikler gösterirler (Söyletir ve Willke Topçu, 2002). *E. coli* bağırsaklarda hafif diyareden kolera benzeri ağır sıvı kayıpları ile seyreden diyareye, ya da HUS gibi hayatı tehdit eden kanlı diyareye kadar ağırlığı değişen farklı klinik tablolara neden olur. Gastrointestinal hastalıklara altı farklı *E. coli* grubu neden olmaktadır (Özkuyumcu ve ark., 2009).

1.5.1. Enteropatojenik *Escherichia coli*

E. coli suşlarında ishal olguları ile ilgisi ilk belirlenen EPEC suşlarıdır. Bu suşlar lekeler halinde bağırsak mukoza hücrelerine yapışırlar. Hücre yüzeyinde bakterinin yapışmadığı bölgede mikrovililer uzar, yapıştığı bölgede ise tahrip olurlar (Kaygusuz ve Töreci, 2011). Histopatolojik olarak en önemli özelliği “tutunma ve bozma” (attaching and effacing effect) etkisidir. Bu etkinin oluşması; bakterinin enterosite lokal aderensi, bakterinin enterosit sinyal sistemini uyarması ve enterosite bakterisi arasında sıkı bir bağlanmanın gerçekleşmesi basamakları ile olur (Willke ve ark., 2008). Birinci basamak; bakteri hücresi ile konakçı hücrenin ilk ilişkisini sağlayan ve uygun koşullarda demet oluşturan pili yapısıdır (“bundle forming”) pili (bfp). Bfp demetler halinde bulunan 50 – 500nm eninde 14 – 20 mikron boyunda pililerdir. İntimin adezini ve kısa yüzeyle ilişkili filamanları (EspA filamanları) barındırırlar. Bunların oluşumu plazmid ve kromozomal genlerin kontrolündedir. İkinci basamak; bakterini konakçı hücrelerine tutunması ile bir sinyal oluşur. EPEC hücreleri Bfp ve EspA filamanları ile epitelium hücrelerine tutunurlar ve “translocated intimin” (Tir) ve tanımlanmamış pek çok etkili moleküllü konakçı hücrelerine enjekte ederler. Bu efektör moleküller sinyalizasyon yolunu aktive eder ve hücrede aktinin depolimerizasyonuna, mikrovillusların kaybına yol açarken tirozin kinaz aktivasyonu ile hücrede Ca⁺⁺ düzeyleri artar. Üçüncü basamak; EspA filamanları bakteri hücre yüzeyinden kaybolmuştur. Histolojik olarak 2. ve 3. basamaklarda mikrovilluslarda kayıp ve deformasyon vardır. Dördüncü basamak; bakteri tutunma yüzeyinde toplanan hücre elemanları karakterisitik EPEC sütununu oluşturur. Aktarılan efektör moleküller hücrenin fonksiyonunu bozar elektrolit kaybı ve hücre ölümüne neden olur. Bfp, EPEC suşlarının virulansındaki rolü tam anlaşılmış değildir ancak Hep2

hücrelerine aderanstan sorumludurlar. EPEC suşları aderanstan sorumlu bir plazmid taşırlar: EAF (EPEC aderans faktör) Bfp bir alt ünitesini (BfpA) kodlayan gende bu plazmid üzerindedir. EPEC suşlarının konakçı hücrelerine yakın bağlanması 94 kDA ağırlığında intimin adı verilen bir dış membran proteini tarafından yönetilir. İntimin genine eaeA adı verilmiştir. İntimin içermeyen mutantların virulansı düşüktür (Findık, 2008). Tüm dünyada fakir ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle altı aylıktan küçük çocuklarda ishallere neden olmaktadır (Nataro ve Kaper, 1998). İnsanda asemptomatik kolonizasyon, kısa süreli sulu ishal veya kusma ile beraber daha şiddetli ishale de neden olabilir. Bu nedenle klinik olarak diğer ishal etkenlerinden ayırt edilemez. Dışkıda kan ve mukus pek görülmez, ateş genellikle az veya yoktur. Ancak diğer bakteriyel ishallerin aksine bulantı, oral rehidrasyon terapisinde problem yaratacak kadar belirgin olabilir. Ciddi elektrolit ve sıvı kaybı nedeniyle konvülsiyon ve koma gelişebilir (Öngen, 2008b).

1.5.2. Enteroinvaziv *Escherichia coli*

Şigelloz benzeri dizanteriye sebep olan bu türlerin epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler henüz sınırlıdır. İshalli çocuklar üzerinde yapılan bir araştırmada şigelloz %23 oranında saptanırken EIEC ile ilgili ishal %4 oranında olduğu bildirilmiştir (Joklik ve ark., 1992). Doğu Avrupa, Güneydoğu Asya ve Amerika'da ishale neden olan bu bakteri gıda kaynaklı salgınlara da neden olmaktadır (Carpenter, 1989). Gelişmekte olan ülkelerde nadir görülür. Patojenik suşları az sayıda O serotipi ile kısıtlıdır: O124, O143 ve O164 (Zarakolu Köşker, 2010). EIEC, *Shigella* ile aynı virülans genlerine sahip olduğundan basilli dizanteriye benzer (Nataro ve Kaper, 1998). *Shigella*'larla ortak antijenlere ve biyokimyasal özelliklere sahip olmasına rağmen şiga-toksin oluşturmazlar (Kaygusuz ve Töreci, 2011). *Shigella* gibi EIEC suşları genellikle lizin dekarboksilaz negatif, hareketsiz ve laktoz negatiftirler (Brenner ve ark., 1973). Bakteri kolon epitelyum hücrelerine tutunarak endozom içinde hücre içine girer, fagositik vakuolü patlatarak sitoplâzmaya geçer ve çoğalır. Daha sonra hücrenin aktin filamanlarını tekrar düzenleyerek komşu hücreye geçer. Meydana getirdiği epitelyum hücre hasarı ve enflamasyon nedeniyle, kolonda ülserlerin

oluşmasına neden olur (Özkuyumcu ve ark., 2009). EIEC'nin (ve *Shigella*'nın) patojenitesi hem kromozom hem de plazmidte kodlanan genlerle ilişkilidir. İnvazyonda rolü olan dış membran proteinlerini kodlayan genler ve bu proteinlerin hücre membranına girişini sağlayan genler 140 MDa'luk büyük bir plazmidte kodlanır. Bakterinin endositik vakuolden kurtulması ve komşu hücrelere yayılması için gerekli genler de bu plazmidte bulunur (Öngen, 2008b). Bulaşma için yüksek sayılara ulaşması gereklidir çünkü erişkinde deneysel dizanteri oluşturmak için en az 10^6 bakteri gerekirken (Feng ve Weagant, 2011) *Shigella* suşları için 10^4 'den az bakteri yeterli olmaktadır (Kaplan ve Keusch, 2004). Bulaş kontamine su ve yiyeceklerin alınması ile olur. İnsandan insana geçiş azdır (Özkuyumcu, 2009). Diğer patojenlerle oluşarlardan ayırt edilmeyen sulu ishallere neden olur. Mukuslu ve kanlı ishal, ateş, karın ağrısı ve tenezm görülür (Fındık, 2008).

1.5.3. Enterotoksijenik *Escherichia coli*

Isıya duyarlı *E. coli* enterotoksini (Labil Toksin, LT) ve / veya ısıya dirençli *E. coli* enterotoksini (Stabil Toksin, ST) üreten ETEC, gelişmekte olan ülkelerde özellikle küçük çocuklar arasında ishalin önemli bir sebebidir (Levent, 2009) ve aynı zamanda endemik bölgeleri ziyaret eden kişilerde önemli bir ishal etkenidir (seyahat edenlerin ishali ya da turist ishali). ETEC endüstriyel ülkelerde daha nadir görülür ve böyle ülkelerden gelen yabancılar endemik bölge halkından daha duyarlıdırlar. ETEC enfeksiyonları anne sütünden kesilen bebeklerde sık görülür. Yaş ilerledikçe hastalığın görülme oranı azalır; bu doğal bağışıklık olasılıkla ETEC'in LT ve kolonizasyon faktör antijenlerine karşın gelişen antikorlarla ilgilidir (Öngen, 2008b). Bu mikroorganizmanın sıkça görüldüğü Hindistan, Bangladeş gibi ülkelerde yetişkin bireylerde kolera benzeri klinik tabloya neden olur; ancak bu ülkelerde yaşayan toplumun önemli bir kısmı kısmen de olsa bu bakteriye karşı bağışıklık geliştirmiştir. Turist ishali olarak bilinen ETEC'e bağlı ishaller genellikle turist ishallerinin %11 – 72'sine neden olmaktadır (Joklik ve ark., 1992). İnkübasyon periyodu 8 – 44 saat olup, hastalığın seyri 24 – 30 saattir. Semptomları, kolerada olduğu gibi sulu diyare, dehidrasyon, abdominal kramp, muhtemelen şok ve bazen kusmadır. Diyare kanlı

değildir ve lökosit içermez. Hastalıkta minimal enfeksiyon dozu $10^8 - 10^{10}$ kob gibi oldukça yüksek düzeydedir (Erol, 2007). İki tip enterotoksinleri vardır. Bunlar büyük molekülü ve antijenik olan, ısıya duyarlı labil toksin ve küçük molekülü olup antijenik olmayan, ısıya dayanıklı stabil toksindir. Bağırsak mukoza hücrelerinde adenilat siklaz aktivitesini sitimüle ederek anyon sekresyonunun artmasına, sodyum absorpsiyonunun azalmasına ve sonuç olarak bağırsağa fazla sıvı salgılanarak ishal oluşmasına yol açar. ST ise guanilat siklazı aktive ederek klorür ve sodyum absorpsiyonunu azaltır. Önemli bir diğer faktör ise bakterilerin ince bağırsakta kolonize olmalarını ve çoğalmalarını sağlayan kolonizasyon faktör antijenleri (CFA)'dir. İnsandan izole edilen ETEC suşları, hemen daima, CFA/I ve CFA/II içerirler; bunlar fimbriya antijenleridir (Kaygusuz ve Töreci, 2011). Yani hastalığın patojenitesi diğer *E. coli* tiplerinden farklıdır. Bu etkenler ince bağırsak epitelyum hücreleri yüzeyinde kolonize olurlar, toksinleri bırakırlar ve bunun sonucu hücre içi sıvısının dışarı çıkmasına neden olurlar. Etkenin insanlara bulaşmasında kontamine gıda ve suyun en önemli araç olduğunu ortaya koymuştur (Erol, 2007).

1.5.4. Enteroagregatif *Escherichia coli*

Enteroagregative *E. coli* daha çok gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda persistan ishal etkeni bir bakteridir (Öngen, 2008b). EAEC, AIDS (Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu) ilişkili kronik ishal ve yolcu ishalinin etiyolojik ajanıdır. EAEC'nin tipik hastalığı hafif ateş, kusma olmadan (veya nadir) sulu, mukuslu, sekretuar ishaldir. Hastaların 1/3'ünde gros kanlı ishal vardır. Sulu ishal haftalarca devam edebilir. EAEC bebeklerde büyüme geriliği ve gelişmekte olan ülkelere malnütrisyona neden olabilir. EAEC barsak mukozasında karakteristik bir müköz film oluşturur ve villuslarda kılma, hemorajik nekroz ve inflamatuvar cevap oluşturur (Arslan, 2008). Bu bakteri "stacked – brick" (tuğla yığını) yapısında otoaglutinasyon yapması ile tanınır. Bu EPEC'in mikrokoloni oluşturmasına yardımcı olan Bfp benzeri adhezinler "agregatif yapışma fimbriyası I (AAFI) aracılığıyla olur. Başka agregatif yapışma fimbriaları (AAF/II, AAF/III) da tanımlanmıştır. EAEC bağırsak yüzeyine yapıştıktan sonra mukus sekresyonu

artırılır, bu kalın bir biyofilm tabakası oluşturur. Bu tabaka bakteriyi antibiyotiklerden ve fagositik hücrelerden korur. Ek olarak 2 grup toksin EAEC ile ilişkilidir: “enteroagregatif heat stable toksin (EAST)” ve “plazmid ile kodlanan toksin (PET)”. EAST sıvı sekresyonunu artırır ve ETEC’in sıcağa dirençli toksini ile antijenik olarak benzerdir. PET de sıvı sekresyonunu artırır (Zarakolu Köşker, 2010).

1.5.5. Enterohemorajik *Escherichia coli*

EHEC gelişmiş ülkelerde hastalık yaptığı sık görülen suşlardır. En sık sıcak aylarda görülür ve en fazla insidans 5 yaş altı çocuklardadır. Çoğu enfeksiyon az pişmiş biftek ya da diğer et ürünleri, su, pastörize olmayan süt veya meyve suları, ıspanak gibi pişmemiş sebzeler ve meyveler yoluyla bulaşır. Kişiden kişiye bulaş mümkündür (Zarakolu Köşker, 2010). EHEC sero varyete O157:H7’nin 100’ün altında canlı hücrenin bulunduğu durumda bile hastalığa neden olabilmektedir. Çoğu diğer *E. coli* suşlarının tersine EHEC suşları çevre koşullarına aşırı dayanıklıdır. Bu grubun patojen etkisinden; çok sayıda fajca kodlanan doku zararlı sitotoksin, bağırsak hücresine tutunmayı sağlayan kromozomca kodlanmış adherans faktörü ve plazmidce kodlanmış EHEC hemolizini sorumludur (Şahin ve Başoğlu, 2011). Yani patojenitesinde hem shiga–toksinleri (1 ve 2) hem de tutunma ve bozma mekanizmaları rol oynar. Shiga–toksini salgılayan *E. coli*’nin, yapışma ve bozma mekanizmasını sağlayan LEE (Locus of Enterocyte Effacement; enterositte hasar yapan silinme lokusu) genleri de varsa bu suşlara EHEC (ör, O157:H7) denir. Dolayısıyla EHEC olmayan sadece shiga–toksin salgılayan STEC suşları da vardır. Shiga–toksini A–B toksinleri grubundadır, yani bir A alt birimi ve pentamer yapısında B alt birimi vardır. Duyarlı hücre reseptörüne bağlanarak endositozle hücre içine alınır, A alt birimi aktive olarak hücre ribozomunda protein sentezini durdurarak hücre ölümüne yol açar. Sindirim kanalı epitel hücrelerinden geçerek bağırsak, böbrek ve diğer organların kılcal endotellerini tahrip eder ve bunun sonucunda intravasküler koagülasyon ve sonunda da trombositopeni,

mikroanjiyopatik hemolitik anemi ve böbrek yetmezliğine yani HUS'a yol açar (Willke ve ark., 2008).

1.6. Virulans Faktörler

Bakteriyel enteropatojenler insanlarda hastalık oluştururken etkilerini virulans faktörler ile oluştururlar. Ayrıca, farklı virulans faktörleri ile farklı mekanizmalar üzerinden etki gösterirler. Enterositlerde hasar yapar veya sinyal iletimi, sitokin üretimi ve hücre iskeleti yapısında değişiklikler gibi fonksiyonlarında değişikliğe yol açarlar. Bunun yanı sıra bakteriler, lümen içerisinde besin maddeleri ile birlikte atılmamak için mukozaya tutunmak zorundadır. Bakteriyel enteropatojenler değişik yüzey yapı elemanları (adezyon faktörleri; pili veya fimbria) ile enterosite tutunurlar ve burada kolonize olurlar. Ayrıca bazıları virulans faktörleri ile invazyon oluşturabilmektedir. Bakterilerde virulansta bir diğer önemli faktör ise toksin üretebilmeleridir (Tümgör, 2010).

Bugüne kadar *E. coli*'nin, *stx* üretimi, yapışma faktörü intimin şekillenmesi [AE lezyonu (attaching–effacing; yapışma–bozma)], EHEC hemolizin üretimi, serin proteaz üretimi, EAST üretimi ve özel bir katalaz sistemi mevcudiyetini içeren en az altı virulans faktörü belirlenmiştir. Bu virulans faktörleri arasından Shiga toksin, intimin ve hemolizin üretimi en önemli virulans faktörleri olarak görülmektedir (ILSI, 2001).

1.6.1. Verositotoksin

E. coli O157:H7, *Shigella dysenteriae* tip 1'in ürettiği "shiga toksin" ile homolog yapıda "shiga benzeri toksin 1 (*stx* 1)" ve "shiga benzeri toksin 2 (*stx* 2)" olarak adlandırılan iki farklı toksin, HeLa ve Vero doku kültürü hücreleri üzerinde toksik etki göstermektedir (Coia, 1998). Bu etkiden dolayı verotoksin 1 ve 2 (VT–1 ve VT–2) olarak da isimlendirilen iki ayrı antijenik formu (Scotland ve ark., 1985) verositotoksin nötralizasyon ile tespit edilmiş; VT–1, *Shigella dysenteria* serotype

1'in shiga toksinine benzer en yakın formunu oluşturmaktadır (O'Brien ve ark., 1982; Chart, 2000). Buna ek olarak, VT-1'in 3, VT-2'nin ise 7 farklı formu belirlenmiştir. Bunlar sırasıyla VT-1a, VT-1c, VT-1d ve VT-2a – VT-2g oluşturmaktadır (Scheutz ve ark., 2012). Verositotoksinler, insan, sığır ve domuz VTEC ve EHEC tarafından üretilir (Bolton, 2011). Ayrıca, *Stx-2*, *Stx-2c*, *Stx-2d*, *Stx-2e*, *Stx-2f* olmak üzere farklı alt türleri ya da allelleri vardır (Friedrich ve ark., 2002). HUS'a daha çok VT-2, VT-2c ve VT-2d üreten serotipler neden olmaktadır (Öktem ve Kuybulu, 2011). Verositotoksinler çoğu faj'da bulunan gen tarafından kodlanmaktadır (Tothve ark., 2003). VT tarafından, endotelial hücrelerde protein sentezini inhibe edilir ve kan damarları zarar görür. Sonuçta, trombotik mikroanjyopatiye neden olur, hemolize, trombositopeniye ve insanlarda böbrek yetmezliğine yol açar (Karmali ve ark., 2010).

1.6.2. İntimin

Toksine ek olarak virulansla ilişkili diğer bir faktör, STEC tarafından oluşturulan bir protein olan intimidin. Barsak mukozasında AE lezyonuna sebep olur ve barsak epitel hücrelerine STEC' in spesifik bağlanmasından sorumludur (Jerse ve ark., 1990). Tir (translocated intimin receptor) LEE lokusunda yer alan *eae* kromozomal geni (78 kDa) tarafından kodlanır (Kaper ve ark., 1998; Elliott ve ark.,1999). Bazı diyare (spesifik hemorajik colitis) ve HUS, *eae* geni taşıyan STEC tipleriyle yakından ilişkilidir (Kaper ve ark., 1998; Paton ve Paton, 1998). İntimin'e özgü PCR ile yapılan çalışmada *eae* geninin 14 farklı alt tipi belirlenmiştir. Bunlar, sırasıyla $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2/\theta$, δ/K , ϵ , ζ , η , ι , λ , μ , ν oluşmaktadır (Blanco ve ark., 2004a). Ayrıca, hemorajik kolit ve HUS'a sebep olan VT-2'nin alt serotipleri, intimin ve hemolizini daha fazla ürettiği belirlenmiştir (Öktem ve Kuybulu, 2011).

1.6.3. Enterohemolizin

ehxA (*hlyA*) geni tarafından kodlanan, STEC'in virulans faktörlerinden birisi enterohemolizin'dir. Ayrıca enterohemorajik *E. coli* hemolizin olarak da adlandırılır (Schmidt ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda *E. coli* hemolizin' in en sık iki ana tipi tespit edilmiştir. Birinci form, bakterilerin gelişimi sırasında sentezlenir ve hücreden aktif olarak dışa verilen α -hemolizin'dir. Diğer hemolizin ise, hücre ile ilişkisini sürdüren, bakteriyel ölüm ve hücre yıkımı sonucunda serbest kalan β -hemolizin'dir (Chart, 2000).

1.7. Yaptığı Hastalıklar

E. coli O157:H7 ve diğer EHEC serotipleri hafif kansız ishal, şiddetli kanlı ishal (hemorajik kolit) ve HUS (hemolitik üremik sendrom) gibi farklı klinik tablolara neden olmaktadır (Rangel ve ark., 2005). Bu mikroorganizma, kontamine olmuş ve az pişmiş et tüketimiyle ilişkili hemorajik kolitli iki salgında insan patojeni olarak ilk kez 1982 yılında *E. coli* O157:H7 tanımlanmıştır (Riley ve ark., 1983). *E. coli* O157:H7, O111:NM (hareketsiz) ve STEC'in farklı serotipleri, Hemorajik kolit (HC) ve HUS'a neden olan çok sayıda gıda kaynaklı salgınlara neden olmuştur (Buchanan ve Doyle., 1997).

Hemorajik kolit, “radyolojik ve endoskopik olarak kolon mukozasında ödem, erozyon ve hemorajinin tabloya eşlik ettiği abdominal kramplar ve kanlı ishalin bulunması” şeklinde tanımlanmaktadır (Yeniiz ve ark., 2009). HC aniden meydana gelen kramplı karın ağrıları ile başlar ve 24 – 48 saat içinde sulu diyare ile devam eder. Diyare devam ettiği sürece görülen kan miktarı artar ve dışkı zaman geçtikçe tümüyle kan olur. Nadiren kusma görülür. Hastalığın ortaya çıkması genellikle 3 – 9 gün (ortalama 4 gün), hastalık süresi ise 2 – 9 gün süreyle devam etmektedir. Bu hastalık shigelloziste tanımlanan dizanteri ve invaziv *E. coli*'nin neden olduğu gastroenteritiden ateş olmaması ve kanlı dışkı ile farklılık göstermektedir (Halkman ve ark., 2001). Eğer hastalık 6 – 10 gün içerisinde iyileşme görülmezse enfeksiyon ekstra-intestinal komplikasyonlardan “HUS”a neden olur (Erol, 2007).

Hemolitik üremik sendrom, ciddi klinik tablolara neden olabilen nadir görülen bir hastalıktır. Klasik olarak mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliği ile karakterize üçlü sendromu içerir (Rangel ve ark., 2005; Banerjee, 2009). HC zaman zaman HUS'a kadar ilerler ve çocuklarda akut böbrek yetmezliğinin, yetişkinlerde morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenini oluşturur (CFSPH, 2009). HUS'un fatalite hızı, son yıllarda vaka tedavisindeki gelişmelere bağlı olarak azalmıştır (Levent, 2009). Dünya çapında, pediatrik HUS'un en yaygın sebebi, diyareye neden olan enterohemorajik *E. coli*'dir (Taylor, 2008). *E. coli*'nin birkaç serotipi HUS'a sebep olduğu bilinir, en yaygın olan serotipi O157:H7'dir (Scheiring ve ark., 2008). Ancak, HC'li hastaların %16'sında HUS meydana gelir (Karch, 2001, CFSPH, 2009). Nadiren de olsa HUS, idrar yolu enfeksiyonu ile meydana gelebilmektedir (Taylor, 2008). Gelişmekte olan ülkelerde, HUS *Shigella dysenteria* tip 1 enfeksiyonuyla ilişkilidir; ancak, Hindistan'da görülme sıklığı *Shigella dysenteria*'nın insidansındaki azalma ile birlikte düşmüştür (Ajjampur ve ark., 2008). Bu enfeksiyon her yaş grubu (özellikle <5 yaş ve 65>yaş) insanı cinsiyet farklılığı gözetmeksizin etkiyebildiği bildirilmiştir (Kuntz ve Kuntz, 1999). Çocuklarda akut böbrek yetmezliği önlenebilen, en sık rastlanılan nedenidir, %75'e kadar diyaliz gerektirebilir (Elliott ve Robins–Browne, 2005). Böbrek fonksiyonlarının kalıcı bir şekilde kaybına neden olabilir. Yaşlılarda ise, ateş ve Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) olmak üzere iki ilave klinik semptom ile birlikte görülür. Böylece yaşlılarda ölüm oranı ortalama %50 'ye çıkmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

1.8. Tedavi

Tüm HUS gruplarında klinik gidiş ve prognoz farklı olsa da benzer temel destek tedaviler uygulanır. Sıvı, elektrolit, asit–baz dengesinin yakın izlem ve tedavisi, hipertansiyonun kontrolü, beslenme desteğinin sağlanması ve erken dönemde diyalize başlanması son 10 yılda hastalığın mortalitesinin %40'lardan %10'un altına düşürmüştür. Kompleman ilişkili atipik HUS olgularında total plazma değişim tedavisi ön planda önerilmektedir. Tipik HUS olgularında ise plazma değişimi veya infüzyonunun faydası yoktur (Öktem ve Kuybulu, 2011). Antibiyotiklerin HUS

riskini artılabileceği nedeni ile tedavide antibiyotik kullanımı önerilmemektedir (Bodur ve Akıncı, 2012). Çünkü antibiyotikler verotoksini (ya da Shiga benzeri toksin) kodlayan bakteriyofajı uyararak toksin oluşumunu ve dolayısıyla HUS gelişme riskini artırırlar (Öngen, 2008b). Bununla birlikte, halen Almanya'da devam eden salgında Alman Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, toksin üretimini artırmayan bazı antibiyotiklerin kullanılabilmesini bildirmektedir. Bu nedenle, doktora bilgisi dışında rastgele antibiyotik kullanımından kaçınılmalıdır. Aynı şekilde, anti-dişaretik ilaçların kullanılmasının da zararlı etkisi olabilmektedir. Çoğunlukla iyileştikten sonra (yaklaşık 1 hafta) bakteri dışkıdan kaybolmaktadır. Ancak, özellikle çocuklarda, birkaç hafta ya da birkaç ay dışkıda canlı kalabilir ve taşıyıcılık olabilir (Bodur ve Akıncı, 2012).

Genel olarak *E. coli* ishallerinin çoğu kısa süreli ve kendiliğinden iyileşen tarzda seyrettiği için özgül antibiyotik tedavisi gerekmez. Tedavide temel ilke sıvı ve elektrolit kaybının yerine konmasıdır. Sıvı replasmanı ne kadar erken yapılırsa prognoz o kadar iyi olur. HC ve HUS'un eşlik ettiği EHEC enfeksiyonlarında ise hemodiyaliz veya hemaferoz gibi destekleyici uygulamalar gerekebilir (Öngen, 2008b).

1.8.1. Sıvı Replasmanı

Kaybedilen sıvı ve elektrolitlerin yerine konulması gerekmektedir. Çünkü böbrekler sıvı ve atıkları normalde olduğu kadar etkin biçimde atamamaktadır (Karaca, 2013).

1.8.2. Kırmızı Kan Hücresi Transfüzyonu

Eğer kırmızı kan hücresi seviyesi düşükse, üşüme, yorgunluk ya da nefes darlığı meydana gelmektedir. Kalp atışları hızlı, cild rengi sarı, idrar koyu renkli olabilmektedir. Bu durumda damardan (intravenöz, IV) verilen kırmızı kan hücresi nakli bulgu ve belirtileri yatıştırmaya yardımcı olabilir (Karaca, 2013).

1.8.3. Trombosit Transfüzyonu

Eğer kolayca kanama ya da berelenmeler oluşuyorsa, trombosit transfüzyonu, kanın pıhtılaşmasının normale dönmesine yardımcı olabilir. Kırmızı kan hücresi transfüzyonu gibi, trombosit transfüzyonu da damar yolu (IV) ile verilir (Karaca, 2013).

1.8.4. Böbrek Diyalizi:

Bazen vücuttan atıkların süzülmesi ve fazla sıvıların atılması için diyaliz gerekir. Diyaliz çoğunlukla böbrekler yeniden düzgün biçimde çalışmaya başlayana kadar uygulanan geçici bir tedavidir. Eğer böbrek hasarı ciddi ise, kalıcı böbrek yetmezliği de olasıdır, bu durum uzun süreli diyaliz ya da böbrek nakli gerektirir (Karaca, 2013).

Hastalığın şiddetine rağmen, uygun tedaviyi almak hemolitik üremik sendrom olan çoğu kişide, özellikle de küçük çocuklarda tam iyileşme sağlamaktadır (Karaca, 2013).

1.9. Gıdalarda Bulunuşu

Gıda kaynaklı enfeksiyöz hastalıklar, tüm dünyada büyük öneme sahiptirler (Haas ve ark., 1998). *E. coli* O157:H7 suşu son yıllarda adından sıklıkla bahsedilen gıda kaynaklı bir patojen olarak ortaya çıkmaktadır. *E. coli* O157:H7'nin insanlara bulaşmasında kontamine et yanında süt ve süt ürünlerinde (Ray ve Liu, 2001) de oldukça önemli bir yere sahip iken iyi yıkanmamış veya kontamine su ile yıkanmış sebzelerin çiğ tüketimi, kontamine içme suyu içilmesi salgın hastalıklara neden olabilmektedir (Banerjee, 2009; Kuşoğlu ve Yaman, 2011). Sporadik vakalarda, dünyadaki STEC ile ilişkili gıda kaynaklı salgınlar, az pişmiş dana eti (Vogt ve Dippold, 2005), salam (MacDonald ve ark., 2004), çiğ süt (Denny ve ark., 2008),

taze peynirler (Pradel ve ark., 2008), çiğ sebzeler (Hyde, 2011), meyveler (Berger ve ark., 2010) ve hatta pişmemiş kurabiye hamuru (CDC, 2009) ile ilişkilendirilmektedir. Bunların yanında ayrıca enfeksiyon kaynağı olarak insan fekal–oral yolla bulaşma da gösterilmektedir (Ray ve Liu, 2001).

2. MATERYAL METOD

2.1. Materyal

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran ishallerli bireylerin dışkıları ile Afyonkarahisar İli'nde yetiştirilen sığırların dışkı ve süt örnekleri, kasap ve marketlerinden toplanan sucuk numuneleri ve lokantalardan toplanılan salata numuneleri çalışma materyalini oluşturmuştur.

2.2. Örneklerin Alınması

2.2.1. Sığır Dışkı Numunesi

Bu çalışmada Afyonkarahisar ilinin 4 farklı bölgesinden (Şuhut, Sinanpaşa, Tatarlı / Haydarlı, Bolvadin) toplam 237 sığır dışkısı numunesi toplanmış ve bu örneklerin alındığı hayvanların 162'sinden eş zamanlı çiğ süt numunesi de alınmıştır. Çalışmaya herhangi bir tedavi uygulanan ya da hastalığı olan hayvanlar dâhil edilmemiştir. Hayvanların rastgele seçilmiş ve yaşları 2 – 4 arasında değişmektedir. Örnekler Şubat–Ağustos ayları arasında alınmıştır. Her bir dışkı numunesitaze dışkı şeklinde etilen oksit ile steril edilen plastik numune kaplarına aseptik şartlarda alınarak (yaklaşık 100 – 125g) soğuk zincir altında (ICE BOX, 32 I) laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

2.2.2. Sığır Süt Numunesi

Bu çalışmada Afyonkarahisar ilinin 3 farklı bölgesinden (Şuhut, Sinanpaşa, Tatarlı / Haydarlı) toplam 162süt örneği toplanmış ve süt örnekleri dışkı örneği alınan hayvanlardan bir kısmına ait olup eş zamanlı olarak alınmıştır. Çalışmaya herhangi bir tedavi uygulanan ya da hastalığı olan hayvanlar dâhil edilmemiştir. Hayvanlar

rastgele seçilmiş ve yaşları 2 – 4 arasında değişmektedir. Örnekler Şubat–Ağustos ayları arasında alınmıştır. Her bir süt numunesi, etilen oksit ile steril edilen plastik numune kaplarına aseptik şartlarda alınarak (yaklaşık 200 – 300ml) soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

2.2.3. Sucuk Numunesi

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinin 4 farklı bölgesinden (Şuhut, Sinanpaşa, Bolvadin, Sandıklı) toplam 106 tüketime hazır sucuk numunesi alınmıştır. Numuneler bölgedeki market ve kasaplardan temin edilmiştir. Tüketime sunulduğu ticari şekliyle etilen oksitle steril edilen poşetlere aseptik şartlarda alınarak (yaklaşık 200 – 300g) soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

2.2.4. Salata Numunesi

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinin 4 farklı bölgesinden (Şuhut, Sinanpaşa, Bolvadin, Sandıklı) toplam 103 tüketime hazır salata numunesi toplanmıştır. Numuneler bölgede bulunan lokanta, pazaryeri esnafından, “fast – food” satış yapan büfelerden ve “caterring” firmalardan alınmıştır. Tüketime sunulduğu hazır şekliyle (marul, domates, havuç, roka, maydanoz, soğan, mor lahanayı içerir.) etilen oksitle steril edilen poşetlere aseptik şartlarda alınarak (yaklaşık 100 – 200g) soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

2.2.5. İnsan Dışkı Numunesi

Bu çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi’ne başvuran 110 ishalleri hasta dışkı numunesi, Carry–Blair taşıma besiyerine alınarak vakit geçirilmeden getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır. Çalışmaya alınan hastalar onbeş günden kısa süreli, günde 3 veya daha fazla, sulu, yumuşak kıvamlı dışkılaması olan hastalar akut ishalleri

olarak kabul edildi ve numuneler çalışmaya alındı. Kronik ishali olan gastrointestinal patolojili hastalar, malign hastalığı veya malabsorbsiyonu bulunanlar dâhil edilmemiştir.

2.3. Kullanılan Besiyerleri

2.3.1. Tryptic Soy Broth (Oxoid CM0129, England)

Selektif zenginleştirme besiyeri olarak kullanılan besiyerlerinden birisidir. Besiyerinde bulunan safra tuzları ve novobiocin gram pozitif bakterilerin gelişimlerini engellerken EHEC ve *E. coli* O157:H7 izolatını belirlenmesini sağlamaktadır.

Formül	g / litre
Kazein Pankreas özet	17.0
Soya fasulyesi enzimatik sindirimi (Papain içerir)	3.0
Sodyum klorür	5.0
Dipotasyum hidrojen fosfat	2.5
Glikoz	2.5

Novobiocin (Oxoid SR181E, England)

Flakon İçeriği	Her Bir Flakon	Litre Başına
Novobiocin	10.0mg	20.0mg

2.3.2. Sorbitollü MacConkey Agar (Oxoid CM0813, England)

Selektif bir besiyeri olarak içinde bulundurduğu kristal viyole ve safra tuzları ile gram pozitif bakterilerin gelişimlerini inhibe ederek ve içinde sorbitol

bulundurmasıyla sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* O157:H7 izolatını belirlememizi sağlamaktadır. Ayrıca Cefixime–Tellurite ilavesi ile gram pozitif bakteriyel florayı baskılayarak *E. coli* O157:H7'nin üremesine de katkı sağlar.

Formül	g / litre
Pepton	20.0
Sorbitol	10,0
Safra tuzları	1.5
Sodyum klorür	5.0
Nötr kırmızı	0.03
Kristal viyole	0.001
Agar	15,0
pH 7.1 ± 0.2	25 ° C

Cefixime–Tellurite Supplement (Oxoid SR0172, England)

Flakon İçeriği	Her Bir Flakon	Litre Başına
Potasyum Tellürit	1.25 mg	2.5 mg
Sefiksim	0.025 mg	0.05 mg

2.3.3. Violet Red Bile Agar (MUG'lu) (Oxoid CM0978, England)

Besiyeri içeriğinde bulunan safra tuzları ve kristal viyole mikrobiyel florayı baskılaması ve *E. coli* izolatları arasından uzun dalga boylu UV ışık kaynağında floresan vermeyen *E. coli* izolatlarını tespitini sağlamaktadır.

Formül	g / litre
Maya ekstraktı	3.0
Pepton	7.0
Sodyum klorür	5.0
Safra tuzu	1.5
Laktoz	10.0
Nötral kırmızısı	0.03
Kristal violet	0.002
Agar	12.0
4-methylumbelliferyl b-D-glucuronide (MUG)	0.1
pH 7.4 ± 0.2 25 ° C	

2.3.4. Nutrient Agar (Himedia M001, India)

Farklı amaçlar için kullanılabilen ve içeriğinde herhangi indikatör madde içermeyen genel bir besiyeri olarak izolatların çoğaltılmasında kullanılmaktadır.

Formül	g / litre
Hayvan doku peptik özeti	5.0
Sodyum klorür	5.0
Et ekstraktı	1.5
Maya ekstraktı	1.5
Agar	15.0
pH 7.4±0.2 25°C	

2.3.5. Tryptone Broth (SRL TM015, India)

Biyokimyasal analiz yöntemlerine giren indol testi, mikroorganizmaların triptofan adı verilen aminoasiti parçalayarak “indol” oluşturabilme yeteğini belirlemek amacı ile kullanılmaktadır. Kovacs ayırıcı kullanılarak değerlendirilir. Deney tüpü içerisindeki peptonlu sıvıya 1 – 2 damla kovacs ayırıcı damlatılarak tüp yüzeyinde kırmızı halkanın varlığı ile değerlendirilir. Kırmızı halkanın varlığı ise pozitif olarak değerlendirilir.

Formül	g / litre
Kazein Pankreas Özeti	10.0
Sodyum Klorür	5.0
pH 7.5±0.2	

Kovac’s İndole Ayırıcı (Himedia R008, India)

Formül	g / litre
p-Dimethylaminobenzaldehyde	5.0
Hidroklorik Asit, Konsantre	25ml
Amil Alkol	75ml

2.3.6. MR–VP Medium (Glucose Phosphate Broth, Himedia M070, India)

Biyokimyasal analiz yöntemlerine giren Metil Red (Kırmızısı) Testi, mikroorganizmaların glikozu fermente etmesiyle organik asitlerin oluşması ve dolayısıyla ortam pH’ ını belirlemek amacı ile kullanılır. Metil kırmızısı damlatılarak oluşacak sarı–kırmızı renge göre değerlendirilir. Ayrıca, Voges–Proskauer testi, mikroorganizmaların glikozu fermente ederken “acetoin” adı verilen nötral bir ürünü meydana getirebilme yeteğini belirlemek amacı ile kullanılmaktadır.

Formül	g / litre
Pepton buffer	7.0
Dekstroz	5.0
Dipotasyum fosfat	5.0
pH 6.9±0.2 25°C	

Metil Red Ayracı (Or–Bak OR–AYR02A, Ankara)

Formül	
Metil red	0.1g
Etil alkol %96	300ml
Distile su	200ml

2.3.7. Simmons Sitrat Agar (Oxoid CM0155, England)

Biyokimyasal analiz yöntemlerine giren Sitrat Testi, mikroorganizmaların, besiyerinde bulunan sitratı karbon kaynağı ve amonyum tuzlarını da nitrojen kaynağı olarak kullanabilme yeteğini belirlemektedir.

Formül	g / litre
Magnezyum sülfat	0.2
Amonyum dihidrojen fosfat	0.2
Sodyum amonyum fosfat	0.8
Sodyum sitrat (tribasic)	2.0
Sodyum klorür	5.0
Bromtimol mavisi	0.08
Agar	15.0
pH 7.0 ± 0.2 25°C	

2.3.8. Üre Agar Base (Oxoid CM0053B, England)

Biyokimyasal analiz yöntemlerine giren Üreaz Testi, mikroorganizmaların üreyi hidrolize eden üreaz enziminin varlığını belirlemek amacı ile yapılır.

Formül	g / litre
Pepton	1.0
Glikoz	1.0
Sodyum klorür	5.0
Disodyum fosfat	1.2
Potasyum dihidrojen fosfat	0.8
Fenol kırmızısı	0.012
Agar	15.0
pH 6.8 ± 0.2	

Üre (Oxoid SR0020K, England)

Flakon İçeriği	Her Bir Flakon	Litre Başına
Üre %40 Solüsyon	5ml	5ml

2.3.9. Kligler Iron Agar (Oxoid CM0033, England)

Biyokimyasal analiz yöntemlerine giren Kligler Iron Agar Testi, mikroorganizmaların, laktoz ve glikozu fermente etme, H₂S ve gaz oluşturabilme yeteneğini belirlemektedir.

Formül	g / litre
Et ekstraktı (Lab–Lemcotozu)	3.0
Maya ekstraktı	3.0
Pepton	20.0
Sodyum klorür	5.0
Laktoz	10.0
Glikoz	1.0
Ferrik Sitrat	0.3
Sodyum tiyosülfat	0.3
Fenol kırmızısı	0.05
Agar	12.0
pH 7.4±0.2 25°C	

2.4. Metot

2.4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

Temel besi yerleri olarak çoğunlukla sorbitollü MacConkey agar, Tryptic Soy Broth (TSB), *E. coli* broth, enterohemorajik *E. coli* broth, buffered peptone water (BPW) ve brain heart infusion broth kullanılmaktadır (Hussein ve Bollinger, 2008). Zenginleştirme besiyeri modifiye tryptic soy broth (mTSB), gram–negatif mikroorganizmaların gelişmesini azaltmak için novobiocin veya acriflavin antibiyotik supplantlerini içermektedir (Vernozy–Rozand, 1997). Araştırmamız için alınan örneklerin bakteri zenginleştirilmesinde (mTSB) besiyeri kullanılmıştır. TSB besiyeri 30 g/l konsantrasyonda 1:1 distile suda eritilerek otoklavda 121°C’ de 15 dakika süre ile 1,5 atm’de sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi sonrasında Novobiocin içeren supplant TSB besiyerine ilave edilerek steril poşetlere (Bag) (225ml) ve steril tüplere (9ml) dökülmüştür.

Potasyum Tellürit ve Sefiksim içeren Sorbitollü MacConkey agar *E. coli* O157:H7'nin klinik örneklerden izole edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem bakterinin zenginleştirilmesini içeren ve gıda kaynaklı salgınların sonucunda geliştirilen yeni bir yöntemdir (FDA, 2012). Sorbitollü MacConkey besiyeri 51,5 g/l konsantrasyonda 1:1 distile suda eritilerek otoklavda 121 °C' de 15 dakika süre ile 1,5 atm'de sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi sonrasında Potasyum Tellürit ve Sefiksim içeren suplament Sorbitollü MacConkey besiyerine ilave edilerek steril petrilere (10 – 15ml) dökülmüştür.

MUG ilave edilerek birçok sıvı (Laurly sulfate broth, m-Endo broth, EC broth, Brilla–broth, DEV–lactose peptone broth, LMX broth) ve katı (Violet red bile agar, *E. coli* direct agar, MacConkey agar, m-FC agar) besiyeri identifikasyon işlemlerinde kullanılmaktadır (Manafi, 2000). Herhangi bir sterilizasyon işlemi uygulanmayan Benmari içinde MUG ilave edilmiş Violet Red Bile Agar (VRBA) 38.6 g/l konsantrasyonda 1:1 distile suda eritilerek steril petrilere (10 – 15ml) dökülmüştür.

Hayvan dışkı numunesinde bakteriyel zenginleştirme amacıyla, analizi yapılacak her bir dışkı örneği, içerisinde 9 ml 20 mg/lt Novobiocin (Oxoid SR 0181E, England) katkılı Tryptone Soy Broth (mTSB) (Oxoid, CM 0129, England) bulunan steril tüpe Carry–Blair besiyerindeki dışkı örneği (yaklaşık 1 g) ilave edilerek vorteks ile 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojenizat 37°C'de 18 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Gıda numunelerinde bakteriyel zenginleştirme amacıyla, analizi yapılacak her bir gıda örneği steril stomacher torbalara 25'er g tartılarak üzerine 225 ml mTSB ilave edilip stomacherde 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir (Resim.1). Hazırlanan homojenizat 37°C'de 18 – 24saat inkübasyona bırakılmıştır.



Resim.1. Modifiye Tryptic Soy Broth agarda gıda örneği.

Hasta dışkı numunesinde bakteriyel zenginleştirme amacıyla, analizi yapılacak her bir dışkı örneği, içerisinde 9 ml mTSB bulunan steril tüpe Carry–Blair besiyerindeki dışkı örneği (yaklaşık 1 g) ilave edilerek vorteks ile 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojenizat 37°C’de 18 – 24saat inkübasyona bırakılmıştır.

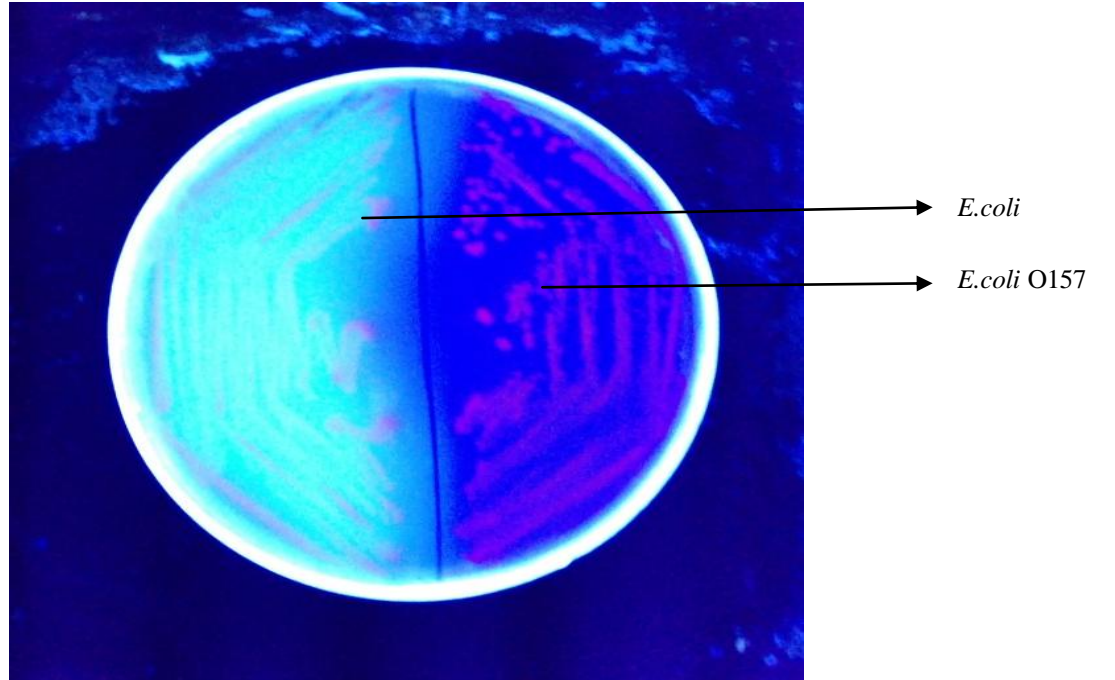
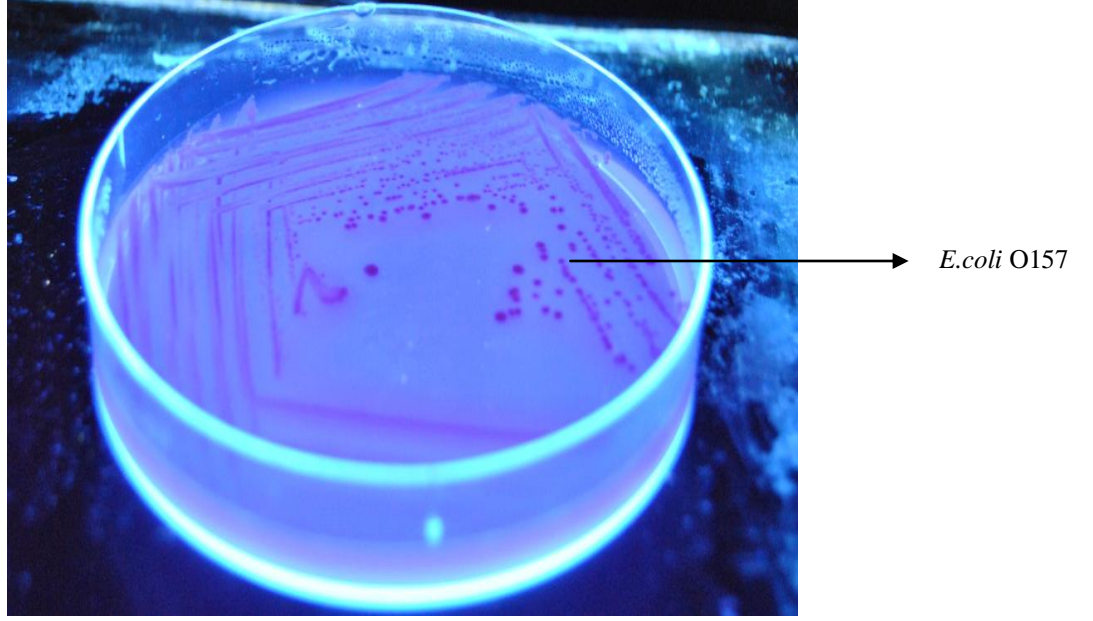
Bakteriyel zenginleştirmede insan, hayvan ve gıda numunelerindeki uygulamalar kısmen farklı olup çalışmanın devamındaki izolasyon basamakları aynıdır. Bakteriyel zenginleştirme amacı ile inkübasyona bırakılan homojenizatlar inkübasyon sonrası homojenizattan bir öze dolusu olmak üzere Cefixime–Tellurite Selective Supplement (Oxoid, SR 0172E, England) içeren Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM 0813, England)’a çizme yöntemi ile ekilerek 37°C’de 18 – 24saat inkübe edilmiştir (Resim.2). İnkübasyondan sonra sorbitol aktivitesi negatif (renksiz koloni) olan kolonilerden 4–5 koloni seçilerek indol testi (Tryptone Broth SRL M015, India; Kovac’s Indole Reagent Himedia R008, India) yapılmıştır (Şekil.6). İndol testi pozitif kolonilerin β –glukoronidaze aktivitesini belirlemek için 4–methylumbelli–pherylglucuronide ilave edilmiş Violet Red Bile Agar (Oxoid, CM 0978)’a öze ile

ekimleri yapıldı ve 37°C’de 18 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Resim.3,4,5). İnkübasyon sonrası üreyen UV testi (Herolab UVT–20 M, Germany) (366 nm) negatif olan kolonilerden (renksiz koloni) 1 – 2 koloni alınarak beyaz zemin üzerinde 40 µl steril fizyolojik su içerisinde süspanse edilmiştir. Süspanسیونun üzerine 40 µl O157 lateks aglütinasyon test kiti (*Wellcolex Escherichia coli* O157:H7, Remel, UK) anti serumu ile karıştırılarak muamele edilmiş ve 60 saniye içerisinde oluşan aglütinasyon pozitif olarak değerlendirilmiştir (FDA, 2011). İndol, Metil–Red, Kligler testleri pozitif, citrat, üre (Resim.6,7,8,9,10) sorbitol ve β–glukoronidaze testleri negatif ve O157 lateks aglütinasyon test kiti ile aglütinasyon meydana getiren koloniler *E. coli* O157 olarak değerlendirilmiştir (Resim.11,12) (March ve Ratnam, 1989; Zadik ve ark., 1993; Welch, 2006).

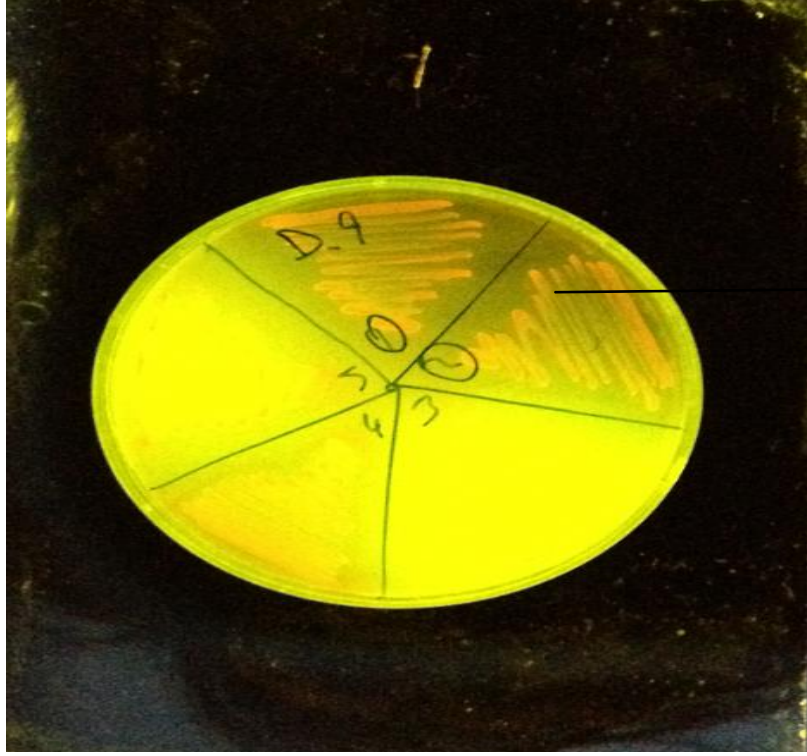
İnkübasyon sonrası gelişen sorbitol ve β–glukoronidaze pozitif kolonilerden 5 adet seçilerek saf kültür kontrolü ve biyokimyasal testler (indol, laktoz, voges–proskauer, sitrat) için Nutrient Agar (Himedia M001, India)’a çizilmiş ve 37°C’de 18 – 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kolonilerin morfolojisi ve gram boyama özellikleri kontrol edilerek İndol, Metil–Red, Laktoz fermentasyonu pozitif (Kligler Testi), Sitrat ve Üre testi, Voges–Proskauer reaksiyonu negatif olan koloniler *E. coli* olarak değerlendirilmiştir (Welch, 2006).



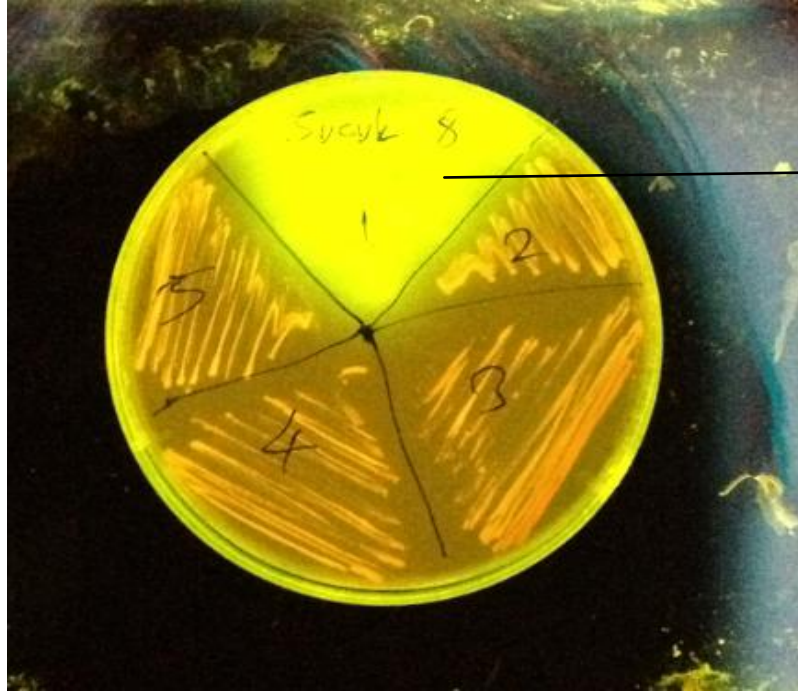
Resim.2. CT–SMAC besiyerinde *E. coli* O157 izolatu



Resim.3. VRBA (MUG'lu) besiyerinde UV ışığı (filtresiz) uygulanmış *E. coli* O157 izolatu.

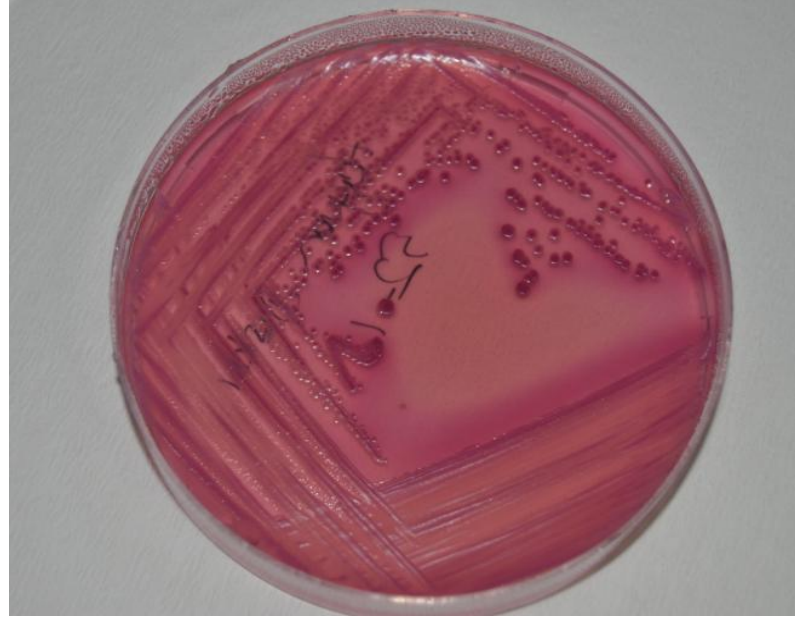


E.coli O157

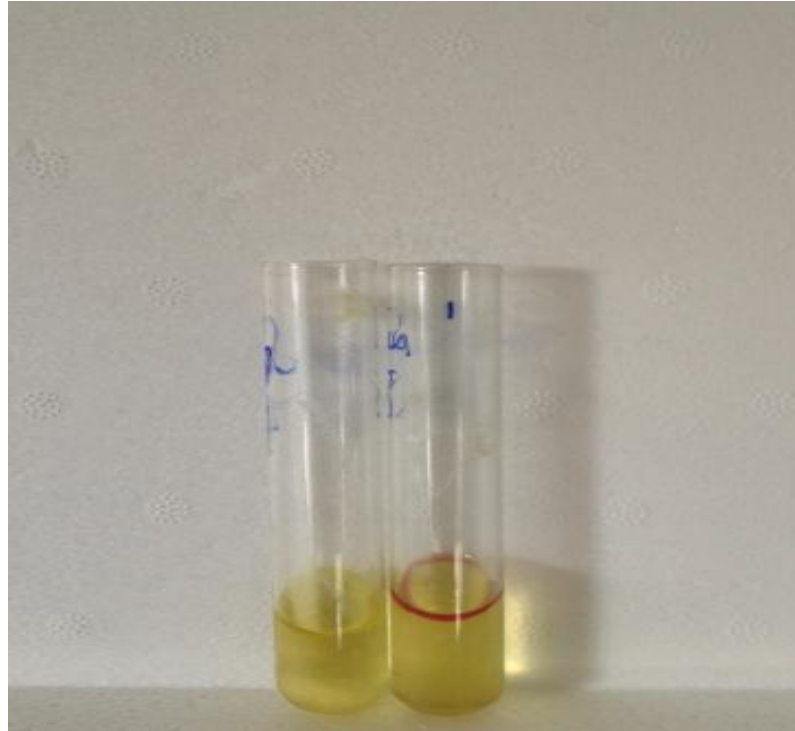


E.coli

Resim.4. VRBA (MUG'lu) besiyerinde UV ışığı (filtreli) uygulanmış *E. coli* O157 izolatı.



Resim.5. VRBA (MUG'lu) besiyerinde *E. coli* O157 izolatı.



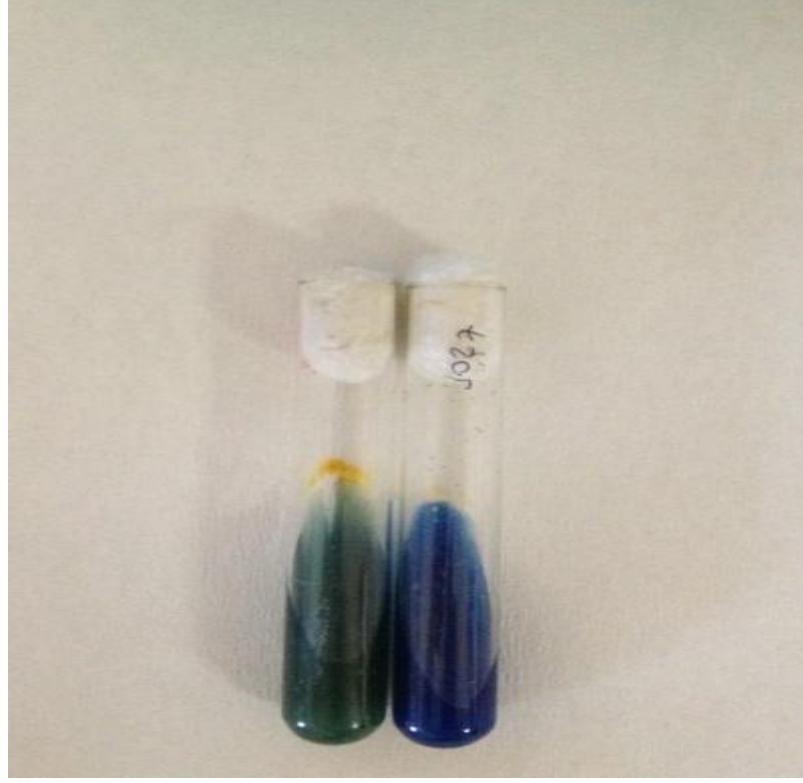
Resim.6. Sorbitol negatif *E. coli* izolatlarının İndol testi (- / +).



Resim.7. Sorbitol negatif *E. coli* izolatlarının MR testi (- / +).



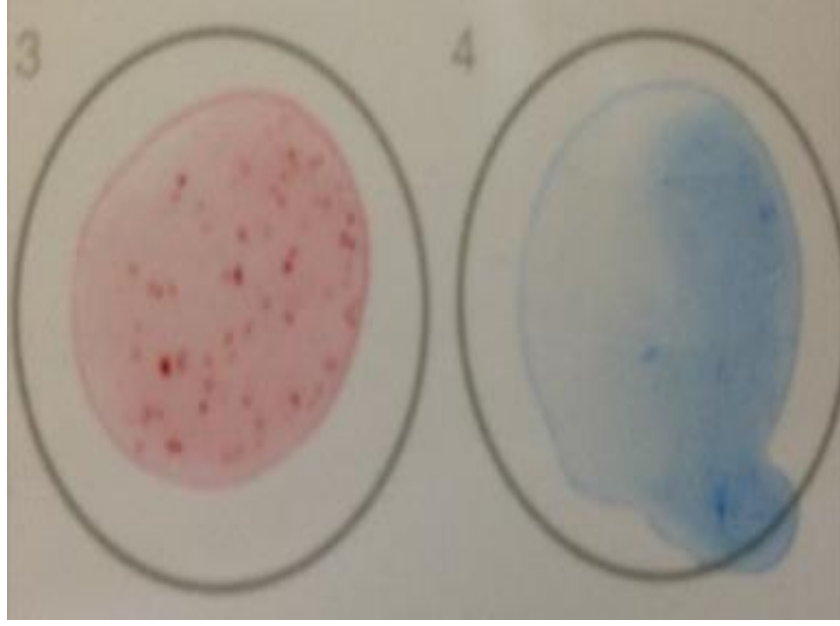
Resim.8. Sorbitol negatif *E. coli* izolatlarının Kligler testi (- / +).



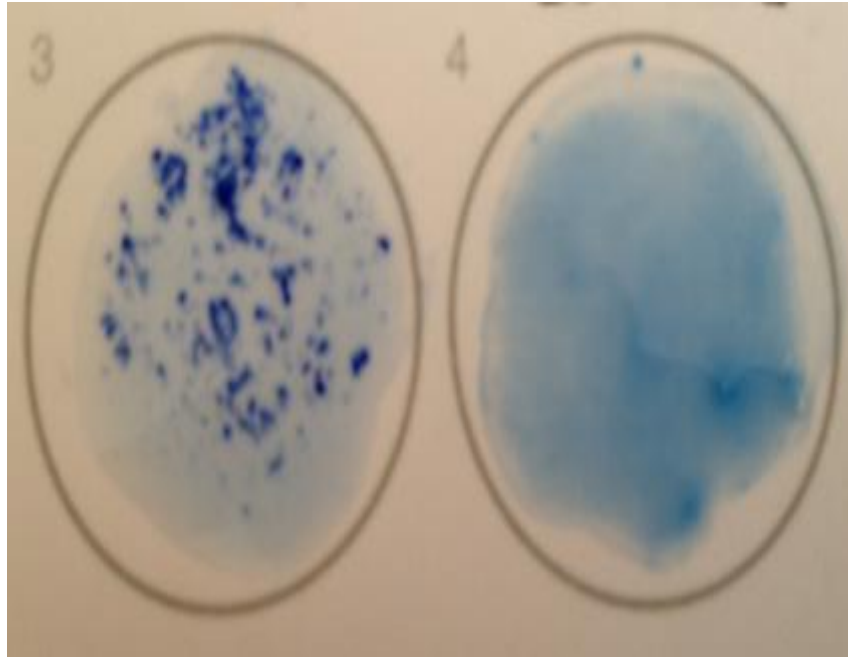
Resim.9. Sorbitol negatif *E. coli* izolatlarının Sitrat testi (- / +).



Resim.10. Sorbitol negatif *E. coli* izolatlarının Üre testi (- / +).



Resim. 11. *Escherichia coli* O157 Lateks Aglütinasyon Testi (+/ -).



Resim. 12. *Escherichia coli* O157:H7 Lateks Aglütinasyon Testi (+/ -).

2.4.2. Real–Time PCR

2.4.2.1. DNA Ekstraksiyonu (GF–1Bacterial DNA Extraction, Ver.1.2, Vivantis, Malezya)

Santrifügasyon: Nutrient agarda saf patojen suştan 1 – 3 koloni alınarak ependorf tüp içinde bulunan 3 – 5ml su (Nucleases Free, Vivantis) içinde homojenize (vorteks) edilmiştir. Homojenize edilen kültür 2 dk oda ısısında 6 000 x g’de santrifüj edilerek supernatant kısmı dikkatli bir şekilde boşaltılmıştır.

Pelletin Re–Süspansiyonu: Tüpün dibinde kalan peletin üzerine Buffer R1 ilave edilmiştir. Hücreler tamamen pipetle re–süspanse edilerek homojen bir yapı elde edilmiştir.

Lizozim Uygulaması: Hücre süspansiyonunun üzerine 10µl lizozim ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra 37°C’de 20dk inkübasyona bırakılmıştır.

Santrifügasyon: Hücre süspansiyonu 10 000 x g’de 3dk santrifüj edilerek supernatant kısmı dikkatli bir şekilde boşaltılmıştır.

Protein Denatürasyonu: Dipte kalan peletin üzerine 180µl Buffer R2 ilave edildikten sonra re–süspanse edilmiştir. Süspansiyonun üzerine 20µl Proteinaz K ilave edilerek tamamen karıştırılmıştır. Proteinaz K ilave edilen hücre süspansiyonu 65 °C’de 20dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında her 5dk’da bir süspansiyon karıştırılmıştır.

RNA’nın Uzaklaştırılması: Hücre süspansiyonuna 20µl RNase ilave edilerek. Süspansiyon karıştırılmıştır ve 37 °C’de 5dk inkübe edilmiştir.

Homojenizasyon: 2 volüm (~440µl) Buffer BG ilave edilmiştir. Tüp alt üst edilerek tamamen homojen yapı kazanıncaya kadar karıştırılmış ve 65°C’de 10dk inkübe edilmiştir.

Ethanol İlavesi: Saf etanolden 200µl ilave edilerek tamamen karıştırılmıştır.

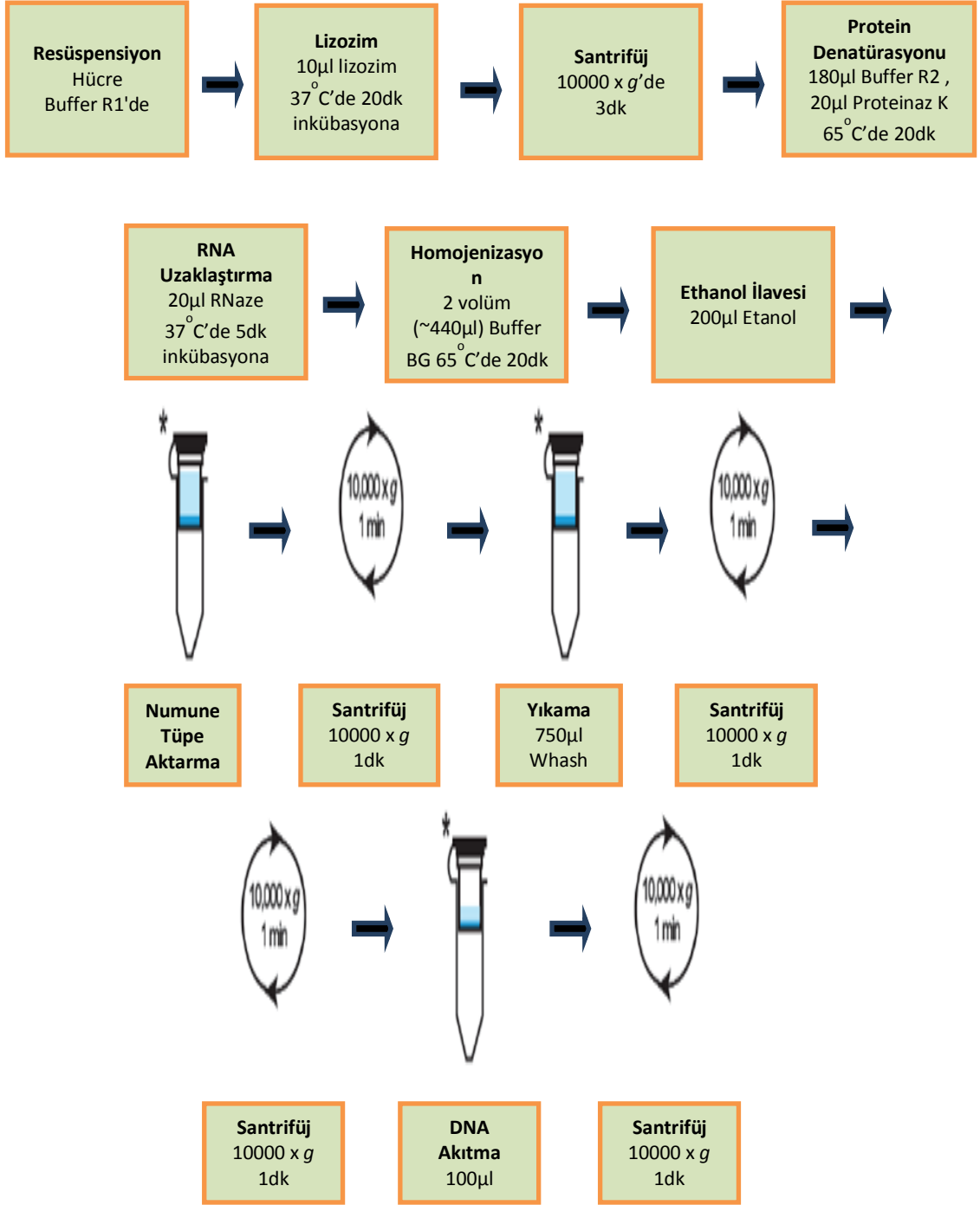
Tüpe Aktarma (Loading to column): Örnek iç içe geçmiş özel temiz bir toplama tüpüne aktarılmıştır. Temiz bir toplam tüpü içinde kurulan ikinci bir tüpe örnek aktarılarak 10 000 x g'de 1dk santrifüj edilmiş ve alt kısma süzülen sıvı atılmıştır.

Yıkama (Column washing): 750µl Wash Buffer tüpe ilave edilmiş ve 10 000 x g'de 1dk santrifüj edilerek yıkanmıştır. Alt kısma geçen sıvı atılmıştır.

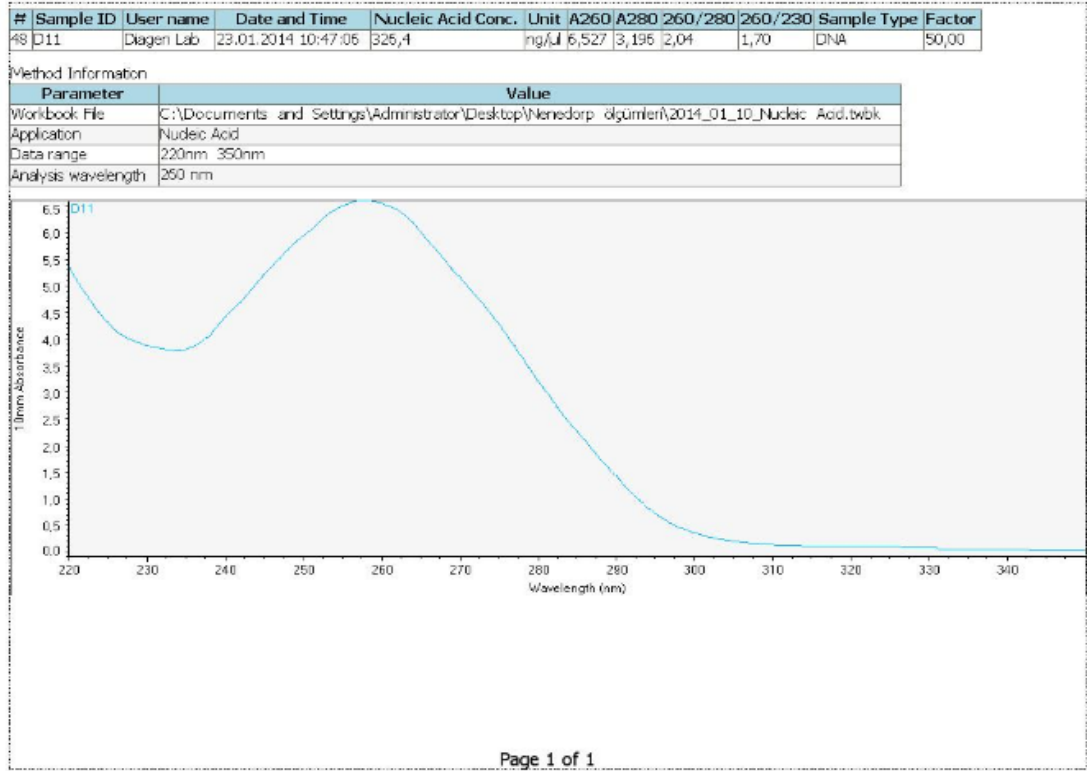
Kurutma (Column drying): Tüp boş halde 10 000 x g'de 1dk santrifüj edilerek arta kalan etanol kurutulmuştur.

DNA akıtma (DNA elution): İçteki özel tüp (DNA'yı bulunduran tüp) yeni mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiş, üzerine 100µl Elution Buffer ilave edilerek 2dk bekletilmiştir. 10 000 x g'de 1dk santrifüj edilerek solüsyon halindeki DNA ekstraksiyonu elde edilmiştir (Şekil.1). Solüsyon halindeki DNA ekstraksiyonunun optik yoğunluğu ölçülmüştür (Şekil. 2).

Şekil.1. Bakteriye DNA Ekstraksiyon Prosedürü



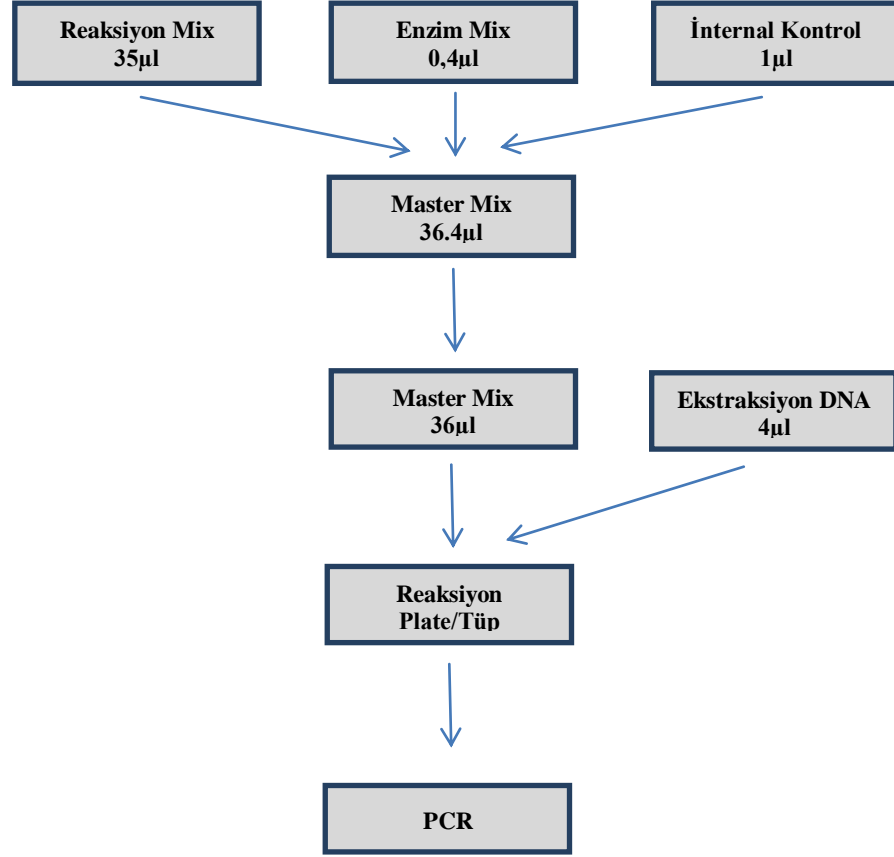
Şekil.2. Solüsyon halindeki DNA Ekstraksiyonu optik yoğunluğu



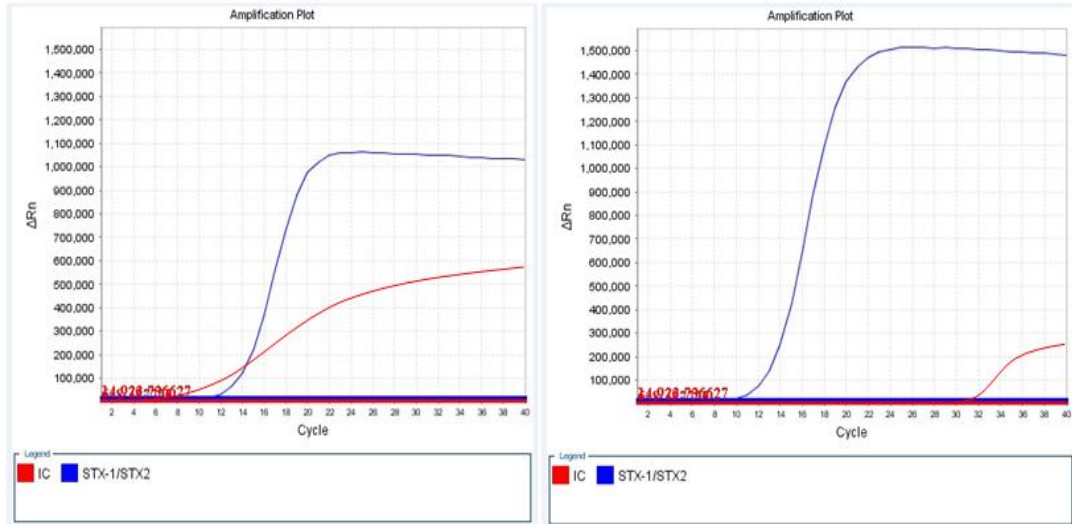
2.4.2.2. PCR Prosedürü (Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) Real Time PCR Kit, Rev.No. ZJ0008, Liferiver, Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Shanghai, China)

Çalışmada ticari olarak hazır olarak bulunan Reaksiyon Mix A (*stx1*) (35 µl), Enzim Mix (0,4 µl) ve internal kontrol (1 µl) her bir reaksiyon için belirtilen miktarlarda alınarak Master Mix (36,4 µl) elde edilmiştir. Herbir numune için Master Mix'ten 36 µl ve bakteri DNA ekstraktından 4 µl alınarak reaksiyon tüpünde karıştırılmış ve kısa bir süre santrifüj edilmiştir. Hazırlanan Mix ve pozitif kontrol PCR (ABI 7500 Fast, England) cihazında çalışılarak değerlendirilmiştir. Reaksiyon Mix A' ya uygulanan test çalışma prosedürü Reaksiyon Mix B'ye (*stx2*) de uygulanarak çalışılmıştır (Şekil.3). Çalışma sonunda EHEC şüpheli suşlara ait olan *stx1* ve *stx2* genleri belirlenmiştir (Şekil.4,5,6).

Şekil.3. Real–Time PCR Prosedürü

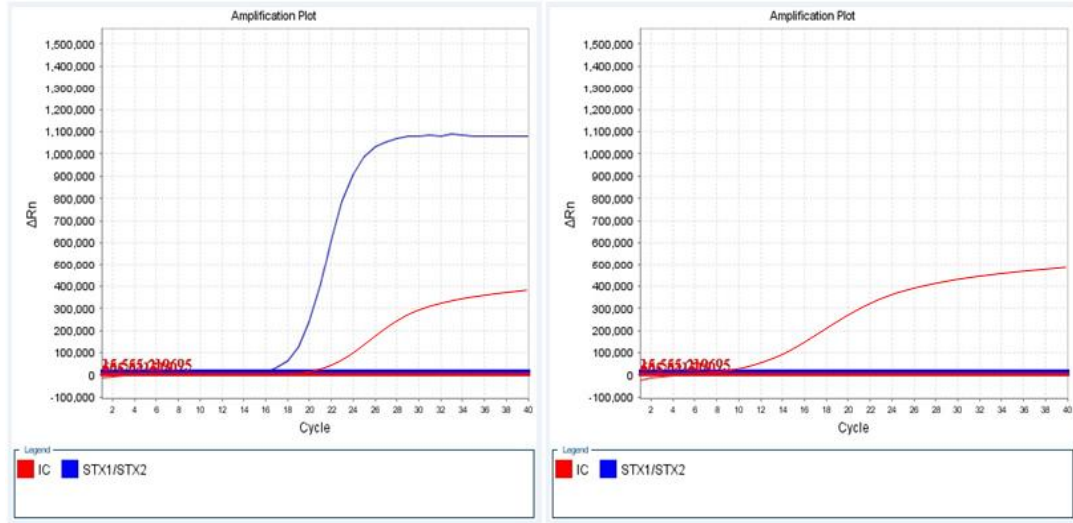


Şekil.4. Real–Time PCR EHEC *stx1* ve *stx2* pozitif



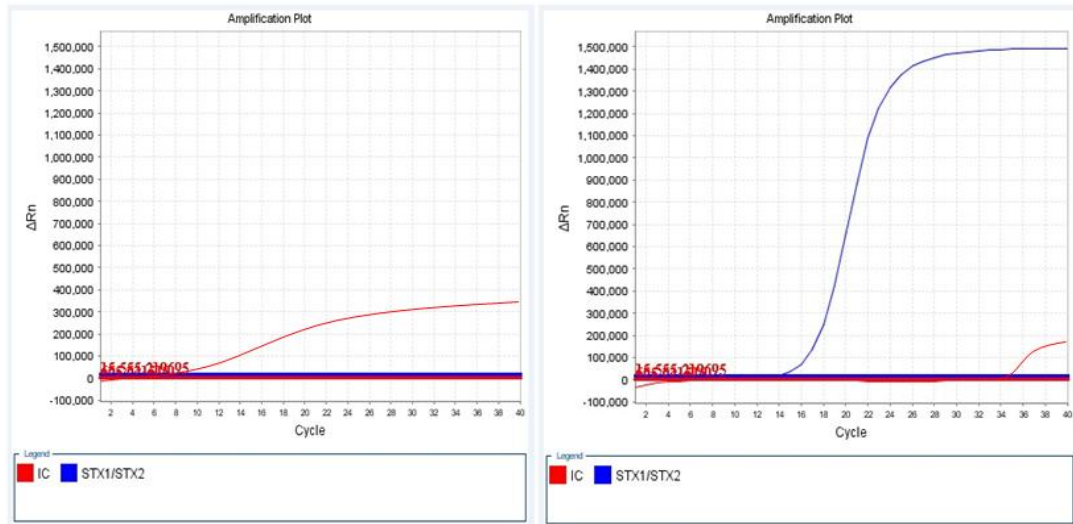
Sample Name	Target Name	Reporter	C _T	Shiga Toxin	Sample Name	Target Name	Reporter	C _T	Shiga Toxin
MIXB-ST.	IC	VIC	4,313701153		MIXB-ST.	IC	VIC	31,86045265	
MIXB-ST.	STX1	FAM	10,90959644	+	MIXB-ST.	STX2	FAM	9,625151634	+

Şekil.5. Real–Time PCR EHEC *stx1* pozitif ve *stx2* negatif



Sample Name	Target Name	Reporter	Ct	Shiga Toxin	Sample Name	Target Name	Reporter	Ct	Shiga Toxin
MIXA-I18	IC	VIC	19,13759613		MIXB-I18	IC	VIC	7,257689476	
MIXA-I18	STX1	FAM	16,20286179	+	MIXB-I18	STX2	FAM	Undetermined	Negative

Şekil.6. Real–Time PCR EHEC *stx1* negatif ve *stx2* pozitif



Sample Name	Target Name	Reporter	Ct	Shiga Toxin	Sample Name	Target Name	Reporter	Ct	Shiga Toxin
MIXA-SU8	IC	VIC	4,352851868		MIXB-SU8	IC	VIC	34,61711502	
MIXA-SU 8	STX1	FAM	Undetermined	Negative	MIXB-SU8	STX2	FAM	13,86779785	+

3. BULGULAR

Afyonkarahisar İli çevresinde bulunan 4 farklı bölgeden (Şuhut, Sinanpaşa, Tatarlı / Haydarlı, Bolvadin) 237 hayvan dışkı numunesi, 3 farklı bölgeden (Şuhut, Sinanpaşa, Tatarlı / Haydarlı) 162 süt numunesi, 4 farklı bölgeden (Şuhut, Merkez, Sandıklı, Bolvadin) 106 sucuk numunesi, 4 farklı bölgeden (Şuhut, Merkez, Sandıklı, Bolvadin) 103 hazır salata numunesi ve ishallerden ise 110 dışkı numunesi toplam 718 numune çalışmaya alınmıştır (Tablo.2).

Tablo.2. Çalışma Bölgesi ve Numune Sayısı

Numune tipi	Numune Sayısı	Bölge Sayısı	Bölgeler			
			I.	II.	III.	IV.
Hayvan Dışkısı	237	4	Şuhut	Sinanpaşa	Tatarlı/Haydarlı	Bolvadin
Çiğ Süt	162	3	Şuhut	Sinanpaşa	Tatarlı/Haydarlı	-
Sucuk	106	4	Şuhut	Sandıklı	Merkez/Afyon	Bolvadin
Salata	103	4	Şuhut	Sandıklı	Merkez/Afyon	Bolvadin
İnsan Dışkısı	110	1	-	-	Merkez/Afyon	-

Çalışmamızda eş zamanlı yürütülen hayvan dışkı örneği ve bu hayvanlara ait bazı çiğ süt örnekleri 3 farklı bölgeden alınarak toplam 162 örnek çalışılmıştır (Tablo.3).

Tablo.3. Hayvan dışkı ve çiğ süt numunelerinin bölgelere göre dağılımı.

Numune Tipi	I.Bölge	II. Bölge	III. Bölge	Toplam
Hayvan Dışkısı	80	57	25	162
Çiğ Süt	80	57	25	162
TOPLAM	160	114	50	324

Çalışmamızda elde edilen sorbitol negatif *E. coli* suşlarında O157 antijeni hayvan dışkısında %25 (11/44) ve çiğ sütte %12,5 (4/32) oranında belirlenmiştir (Tablo.4).

Tablo.4. Hayvan dışkı ve çiğ süt örneklerinde sorbitol negatif *Escherichia coli* izolatlarında O157 antijeninin varlığı

Numune		<i>Escherichia coli</i> O157			
		Sorbitol Negatif <i>E. coli</i>		Lateks Test Aglütinasyon Test Yöntemi	
Numune Tipi	Numune Sayısı	Sayı	%	Sayı	%
Hayvan Dışkısı	162	44	27,16	11	25
Hayvan Sütü	162	32	19,75	4	12,5
TOPLAM	324	76	23,45	15	21

Üç farklı bölgeden alınan 324 örnek konvansiyonel yöntem ile analiz edilmiştir. Sorbitol negatif *E. coli* izolatı, analiz edilen örneklerde I. Bölgede hayvan dışkısının %14,2'sinde (23/162), çiğ süttün %10'unda (17/162), II. Bölgede hayvan dışkısının %9,8'inin (16/162), çiğ süttün %8'inde (13/162) ve III. Bölgede hayvan dışkısının %3'ünde (5/162), çiğ süttün %1'inde (2/162) oranında tespit edilmiştir. İzole edilen sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* izolatlarında lateks aglütinasyon yöntemi ile I. Bölgede hayvan dışkısında %3 (5/162), çiğ sütte %1,5 (2/162),

II.Bölgede hayvan dışkısında %2,4 (4/162), çiğ sütte %1,5 (2/162) ve III. Bölgede hayvan dışkısında %2,4 (5/162), çiğ sütte %0 (0/162) oranında *E. coli* O157 tespit edilmiş fakat numunelerin tamamında H7 antijenine rastlanılmamıştır. Çalışılan testler sonucunda çalışmaya alınan 162 hayvan dışkı numunesinin 44'ünde (%27,1) ve çiğ süt numunesinin 32'sinde (%19,7) sorbitol negatif *E. coli* tespit edilirken (Konvansiyonel Yöntem) hayvan dışkı numunesinin 11'inde (%6,8) ve çiğ süt örneğinin 4'ünde (%2,4) *E. coli* O157 suşu saptanmıştır (Tablo.5). *E. coli* O157 suşunun dışkıdan çiğ süte kontaminasyonu %2,46 olarak belirlenmiştir.

Sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* ve *E. coli* O157 suşlarında EHEC *stx* varlığı Real Time PCR ile çalışılmıştır. Hayvan dışkı örneğinde sorbitol negatif *E. coli* izolatında I. Bölgede %11,11, II. Bölgede %7,4 ve III. Bölgede %1,85 oranında *stx* toksin gen varlığı belirlenirken *E. coli* O157 izolatında I. Bölgede %3, II. Bölgede %2,46 ve III. Bölgede %0,61 oranında *stx* toksin gen varlığı tespit edilmiştir. Çiğ süt örneğinde I. Bölgede %5,5, II. Bölgede %3,7 ve III. Bölgede %1,23 oranında *stx* toksin gen varlığı belirlenirken *E. coli* O157 izolatında I. Bölgede %1,23, II. Bölgede %1,23 oranında *stx* toksin gen varlığı tespit edilmiştir fakat III. Bölgede *stx* geni görülmemiştir (Tablo.6).

Tablo.5. Hayvan dışkı ve çiğ süt örneklerinin bölgelere göre *E. coli* O157 dağılımı

Numune		<i>Escherichia coli</i> O157																
		Sorbitol Negatif <i>E. coli</i>									Lateks Test Aglütinasyon Test Yöntemi							
Numune Tipi		Numune Sayısı		Bölge									Bölge					
				I.		II.		III.		I.		II.		III.				
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Hayvan Dışkısı	162	44	27,16	23	14,2	16	9,8	5	3	11	6,79	5	3	4	2,46	2	2,46	
Hayvan Sütü	162	32	19,75	17	10	13	8	2	1	4	2,46	2	1,5	2	1,5	0	0	
TOPLAM	324	76	23,45	40	12,3	29	8,9	7	2,1	15	12,85	7	2,16	6	1,85	2	0,61	

Tablo.6. Hayvan dışkı ve çiğ süt örneklerinin bölgelere göre EHEC *stx* dağılımı

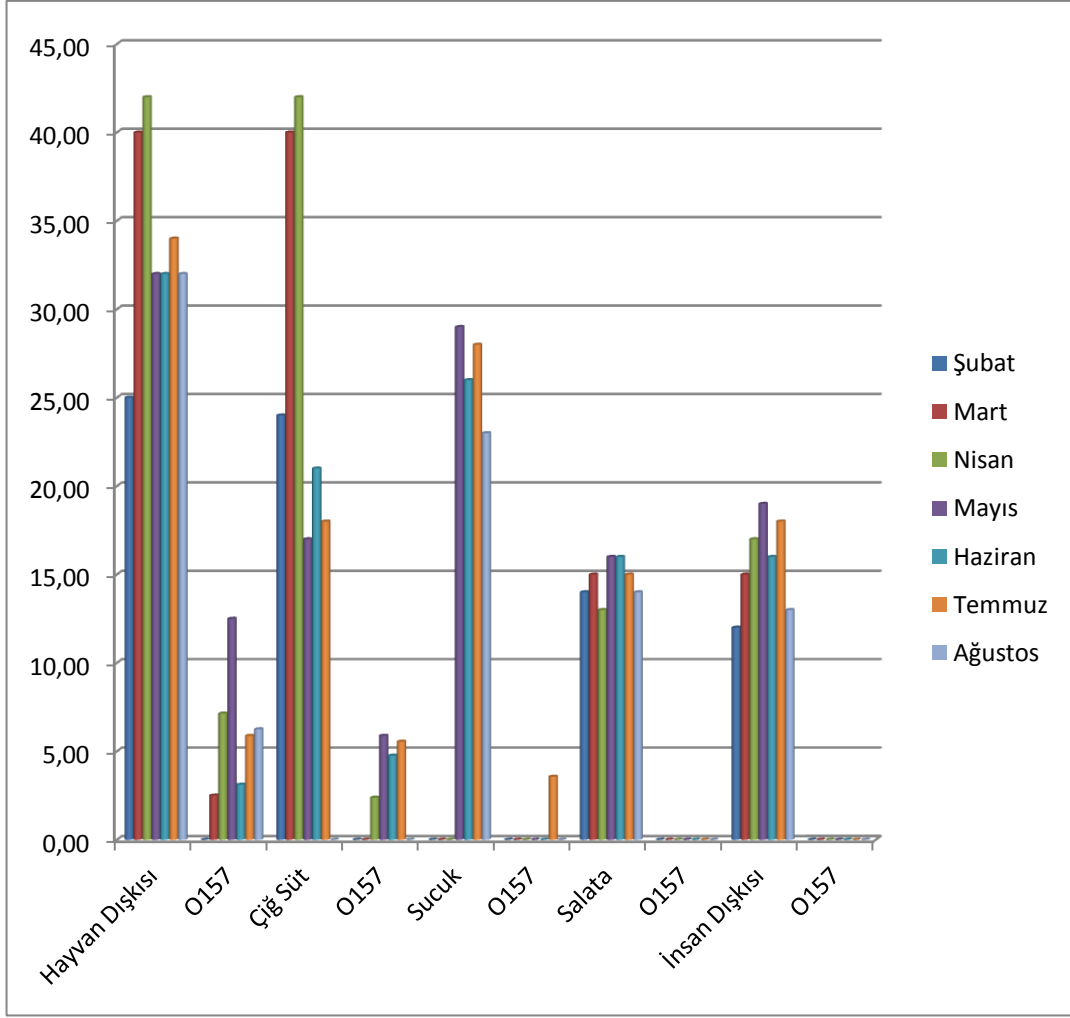
Numune		EHEC <i>stx</i>															
		Sorbitol Negatif <i>E. coli</i>									<i>E. coli</i> O157						
				Bölge						Bölge							
				I.		II.		III.		I.	I.	I.					
Numune Tipi	Numune Sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Hayvan Dışkısı	162	44	27,16	18	11,11	12	7,40	3	1,85	11	6,79	5	3	4	2,46	1	0,61
Hayvan Sütü	162	32	19,75	9	5,55	6	3,70	2	1,23	4	2,46	2	1,23	2	1,23	0	0
TOPLAM	324	76	23,45	27	8,33	18	5,55	5	1,54	15	12,85	7	2,16	6	1,85	1	0.3

E. coli O157 yönünden çalışılan numunelerde en yüksek oranda hayvan dışkı numunesinde tespit edilirken, bunun yanı sıra çiğ sütte ve sucukta da *E. coli* O157 suşu tespit edilmiştir (Tablo.7).

Tablo.7. Aylara göre numune dağılımı ve *Escherichia coli* O157 varlığı (%)

Numune Tipi / Ay	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	TOPLAM
Hayvan	0	2,50	7,14	12,5	3,12	5,88	6,25	5,48
Dışkısı	(0/25)	(1/40)	(3/42)	(4/32)	(1/32)	(2/34)	(2/32)	(13/237)
Çiğ Süt	0	0	2,38	5,88	4,76	5,55	0	2,46
	(0/24)	(0/40)	(1/42)	(1/17)	(1/21)	(1/18)		(4/162)
Sucuk	-	-	-	29	26	3,57	23	0,94
						(1/28)		(1/106)
Salata	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0/14)	(0/15)	(0/13)	(0/16)	(0/16)	(0/15)	(0/14)	(0/103)
İnsan	0	0	0	0	0	0	0	0
Dışkısı	(0/12)	(0/15)	(0/17)	(0/19)	(0/16)	(0/18)	(0/13)	(0/110)

Yaklaşık yedi ay süren laboratuvar çalışmasında tespit edilen suşlar ilkbahar döneminde daha yoğun tespit edilmiştir (Grafik.1, Tablo.7). Hayvan dışkılarında suşların pozitifliği Mayıs ayındaki pozitiflik Şubat ve Mart aylarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).



Grafik.1. *Escherichia coli* O157 izolatının aylara göre dağılımı

Bu çalışmada incelenen 237 hayvan dışkı numunesinin 63'ünde (%26,58), 162 adet çiğ süt numunesinin 32'inde (%19,75), 106 sucuk numunesinin 13'ünde (%12,26), 103 salata numunesinin 17'sinde (%16,50) sorbitol negatif *E. coli* O157 şüpheli izolatlar tespit edilmiştir (Tablo.8).

Tablo.8. Hayvan dışkısı ve çeşitli gıda numunelerinde EHEC ve O157 varlığı (%)

Numune Tipi	Numune Sayısı	<i>Escherichia coli</i> O157		EHEC <i>stx</i>			
		Sorbitol Negatif <i>E. coli</i>	Lateks Aglütinasyon Yöntemi	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>stx1/2</i>	<i>stx</i>
Hayvan Dışkısı	237	26,5(63/237)	5,4(13/237)	1,2 (3/237)	2,9 (7/237)	16,4(39/237)	20,6(49/237)
Hayvan Sütü	162	19,7(32/162)	2,4(4/162)	1,2(2/162)	1,8(3/162)	7,4(12/162)	10,4 (17/162)
Sucuk	106	12,2(13/106)	0,9(1/106)	0	0,9 (1/106)	0,9(1/106)	1,8(2/106)
Salata	103	16,5(17/103)	0	1,9 (2/103)	0,9 (1/103)	0	2,9 (3/103)
TOPLAM	608	20,5 (125/608)	2,9 (18/608)	1,1 (7/608)	1,9(12/608)	8,7(53/608)	11,8 (72/608)

Elde edilen sorbitol negatif *E. coli* izolatlarına uygulanan latex aglütinasyon testi sonucunda hayvan dışkı numunelerinin 13'ünde (%20,63), süt numunelerinin 4'ünde (%12,5) ve sucuk numunelerinin 1'inde (%7,69) *E. coli* O157 tespit edilirken numunelerin tamamında H7 antijenik yapısına rastlanılmamıştır (Tablo.9). Ayrıca gıdalarda H7 antijenik yapısına sahip olmayan pek çok O157 serotipinin de bulunabileceği akılda tutulmalıdır.

Tablo.9. Farklı numune tiplerinde sorbitol negatif *Escherichia coli* izolatlarında O157 antijeninin varlığı

Numune Tipi	Numune Sayısı	<i>Escherichia coli</i> O157			
		Sorbitol Negatif <i>E. coli</i>		Lateks Test Aglütinasyon Test Yöntemi	
		Sayı	%	Sayı	%
Hayvan Dışkısı	237	63	26,58	13	20,63
Hayvan Sütü	162	32	19,75	4	12,5
Sucuk	106	13	12,26	1	7,69
Salata	103	17	16,5	0	0
TOPLAM	608	125	20,55	18	14,40

Yapılan testler sonucunda 237 hayvan dışkı numunesinin 63'ünde (%26,58), 162 adet çiğ süt numunesinin 32'sinde (%19,75), 106 sucuk numunesinin 13'ünde (%12,26), 103 salata numunesinin 17'sinde (%16,5) toplam 125 (%20,5) sorbitol negatif *E. coli* izolatlarında Realtime PCR yöntemi ile EHEC *stx* gen varlığı çalışılmıştır.

Hayvan dışkı numunesinde %4,7 (3/63) oranında *stx1* geni, %11,1 (7/63) oranında *stx2* ve %62 (39/63) oranında her iki *stx1/stx2* geni; çiğ süt numunesinde %6,2 (2/32) oranında *stx1* geni, %9,3 (3/32) oranında *stx2* ve %37,5 (12/32) oranında her iki *stx1/stx2* geni; pazarda satılan sucuk numunesinde %7,7 (1/13) oranında *stx2* geni, %7,7 (1/13) oranında her iki *stx1/stx2* geni, lokanta ve gıda işletmelerinden alınan salata numunesinde %11,7 (2/17) oranında *stx1* geni ve %5,8 (1/17) oranında *stx2* gen varlığı belirlenmiştir (Tablo.10).

Tablo.10. Farklı numune tiplerinde sorbitol negatif *Escherichia coli* izolatlarında EHEC *stx* varlığı

Numune	Sorbitol			EHEC							
	Negatif <i>E. coli</i>			<i>stx1</i>		<i>stx2</i>		<i>stx1/stx2</i>		<i>stx</i>	
Numune Tipi	n	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Hayvan Dışkısı	237	63	26,5	3	4,7	7	11,1	39	62	49	77,7
Hayvan Sütü	162	32	19,7	2	6,2	3	9,3	12	37,5	17	53,1
Sucuk	106	13	12,2	0	0	1	7,7	1	7,7	2	15,3
Salata	103	17	16,5	2	11,7	1	5,8	0	0	3	17,6
İnsan Dışkısı	110	15	15,0	1	6,6	0	0	0	0	1	6,6
TOPLAM	718	140	19,7	8	5,7	16	11,4	52	37,1	72	51,4

Tespit edilen sorbitol negatif *E. coli* izolatlarında hayvan dışkı numunesinde %77,7 (49/63) oranında, çiğ süt numunesinde %53,1 (17/32) oranında, sucuk numunesinde %15,3 (2/13) oranında ve salata numunesinde %17,6 (3/17) oranında *stx* tespit edilirken (Tablo.10) genel hayvan dışkı numunesinde %20,6 (49/237), çiğ süt numunesinde %16,6 (27/162), sucuk numunesinde %1,8 (2/106) ve salata numunesinde %2,9 (3/103) oranında *stx* toksin geni belirlenmiştir (Tablo.8).

Genellikle gıda kaynaklı salgınlarında tespit edilen *E. coli* O157/O157:H7 suşu, diyare, karın ağrısı, kusma gibi gastrointestinal yakınmaları bulunan rutin hasta grubu incelemeye alınmıştır. Bu hastaların %57,3'ü (63/110) erkek, %42,7'ü (44/110) kadın hasta olmak üzere toplam 110 hasta dâhil edilmiştir. Hastaların yaşları 1 – 75 yaş arasında oluşmaktadır. Hastalarda belirlenen klinik tablo 5 yaş altı hastaların 32'sinde karın ağrısı, 22'sinde kanlı diyare, 15'inde mide bulantısı, 30'unda kusma, 34'ünde ateş ve 36'sında gastrointestinal ve kolit, 6 – 15 yaş arasındaki hastaların 43'ünde karın ağrısı, 12'sinde kanlı diyare, 16'sında mide bulantısı, 10'unda kusma, 6'sında baş ağrısı, 18'inde ateş ve 6'sında gastrointestinal ve kolit belirlenirken 15 ve üstü hastaların 6'sinde karın ağrısı, 4'ünde kanlı diyare, 2'sinde mide bulantısı, 1'inde kusma, 3'ünde baş ağrısı, 2'sinde ateş ve 1'inde gastrointestinal ve kolit belirlenmiştir (Tablo.11).

Tablo.11. Klinik semptomlar

Semptomlar	Yaş Aralığı (Yıl)		
	<5	6-15	>15
Karın Ağrısı	32	43	6
Kanlı Diyare	22	12	4
Mide Bulantısı	15	16	2
Kusma	30	10	1
Baş Ağrısı	--	6	3
Ateş	34	18	2
Gastrointestinal ve kolit	36	6	1

Ayrıca incelenen dışkı numunelerinin, %6,4'ünde *Blastosis hominis*, %1,8'inde *Entamoeba dispar*, %4,5'inde *Entamoeba coli*, %0,9'unda *Entamoeba hartmani*, %2,7'sinde *Entamoeba histolytica*, %5,5'inde *G. intestinalis*, %2,7'sinde *Iodamoeba butschei*, %75,5'inde protozoal elemanlar ve helmint yumurtaları tespit edilemezken %18,2'inde rotavirus antijeni, %0,9'unda adenovirus antijeni pozitifliği ve %19,1'inde gizli kan pozitifliği görülmüştür (Tablo.13).

CT–SMAC agarda sorbitolü fermente etmeyen 15 (%13,63) *E. coli* sorbitol fermente etmeyen *E. coli* izole edilmiştir. Sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* izolatları, *E. coli* O157/O157:H7 latex aglütinasyon testi ve EHEC Realtime PCR testi çalışılmıştır. EHEC Realtime PCR ile sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* O157 şüpheli izolatlarda %6,6 (1/15) oranında *stx1* geni tespit edilirken *stx* varlığı %6,6 (1/15) oranında belirlenmiştir (Tablo.12). Dışkı örneklerinin %0,90 (1/110)'unda *stx* varlığı tespit edilirken lateks aglütinasyon testi ile çalışıldığında *E. coli* O157/O157:H7 antijenik yapısına rastlanılmamıştır (Tablo.13).

Tablo.12. İnsan dışkı numunesinde sorbitol negatif *Escherichia coli* izolatlarında EHEC *stx* varlığı

Numune	Sorbitol Negatif			EHEC							
	<i>E. coli</i>			<i>stx1</i>		<i>stx2</i>		<i>stx1/stx2</i>		<i>stx</i>	
Numune Tipi	N	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
İnsan Dışkısı	110	15	13.6	1	6,6	0	0	0	0	1	6,6

Tablo.13. İnsan dışkı numunesinin muayenesi (%)

Numune Tipi	Numune Sayısı	Sorbitol Negatif <i>E. coli</i>	Lateks Aglütinasyon Yöntemi	EHEC stx			Parazit	Gizli Kan	Rota-virüs	Adeno-virüs
				stx1	stx2	stx1/2				
İnsan Dışkısı	110	13,6 (15/110)	0	0,9 (1/110)	0	0	24,5 (27/110)	19,1 (21/110)	18,2 (20/110)	0,9 (1/110)

Çalışmamızda farklı numune tiplerinde belirlenen 18 *E. coli* O157 izolatında *stx* gen varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada ishaller hastaların dışkı numunesinde ve salata numunesinde *E. coli* O157:H7 varlığı tespit edilememiştir. Hayvan dışkı numunesinde %15,4 oranında *stx1*, %23,0 oranında *stx2* ve %46,1 oranında *stx1/stx2* geni varlığı belirlenirken çiğ süt numunesinde %25 oranında *stx1*, %50 oranında *stx2* ve %25 oranında *stx1/stx2*; sucuk numunesinde ise %100 oranda *stx1/stx2* geni tespit edilmiştir. *Stx* varlığı, hemen hemen tüm *E. coli* O157 izolatlarında belirlenirken sadece hayvan dışkı numunesinden elde edilen 2 izolatta negatif olarak tespit edilmiştir (Tablo.14). Ayrıca hayvan dışkı numunesinde %4,6 oranında, çiğ süt numunesinde %2,4 oranında ve sucuk numunesinde %0,9 oranında *E. coli* O157 izolatına ait *stx* varlığına rastlanılmıştır.

Tablo:14. Farklı numune tiplerinde *E. coli* O157 EHEC *stx* varlığı

Numune	n	<i>Escherichia coli</i> O157							
		Lateks Aglütinasyon Test Yöntemi		<i>stx1</i>		<i>stx2</i>		<i>stx1/stx2</i>	
Numune Tipi	n	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Hayvan Dışkısı	237	13	20,6	2	15,4	3	23	6	46,1
Hayvan Sütü	162	4	12,5	1	25	2	50	1	25
Sucuk	106	1	7,6	0	0	0	0	1	100
Salata	103	0	0	0	0	0	0	0	0
İnsan Dışkısı	110	0	0,0	0	0	0	0	0	0
TOPLAM	718	18	12,8	3	16,6	5	38,4	8	44,4

4. TARTIŞMA

Ölümcül gıda kaynaklı salgınlara neden olabilen STEC, dünyanın farklı bölgelerinde özellikle gelişmiş ülkelerde meydana gelen gıda kaynaklı salgınlara gündemde kalarak halen dikkat çekmektedir. Gıda kaynaklı salgınlara neden olan STEC'in temel taşıyıcısı ve kontaminasyon kaynağı sığırlar ve fekal bulaşmadır. Bu sebepten STEC ile ilgili dünyada ve ülkemizin farklı bölgelerinde değişik birçok çalışma yapılmaktadır.

Sığır dışkı numunelerinde yapılan farklı ülkelerdeki benzer çalışmalarda Heuvelink ve arkadaşları (1998) Hollanda'da 1995–1996 yılları arasında sığır dışkı numunelerini *E. coli* O157 varlığı yönünden incelemiş ve toplam 540 yetişkin sığır dışkı numunesinde %10,6 (57/540), buzağı dışkı numunesinde ise %0,5 (2/397) oranında *E. coli* O157 serotipini tespit etmiştir. Belirlenen serotipin 2 izolatında VT genini negatif belirlerken tamamında her iki VT (VT1 ve VT2) geni pozitif olarak saptadıklarını rapor etmiştir. Amerika'da 878 buzağıda yapılan bir çalışmada %6,9 (61/878) oranında *E. coli* O157:H7 varlığını göstermiştir (Laegreid ve ark., 1999). Čížek ve arkadaşları (1999) Çek Cumhuriyeti'nde yapmış oldukları benzer bir çalışmada, 29 farklı yetiştirme çiftliğinden alınan 163 dana ve 202 boğa dışkı numunesinde sırasıyla %5,5 (9/163) ve %31,2 (63/202) oranında *E. coli* O157 suşunu izole ederken toplam 365 dışkı numunesinde %19,7 (72/365) oranında izole etmiştir. Tüm izolatlarda *stx2* ve *eaeA* geni ve 10 izolatta *stx1* genini göstermiştir. Ortabatı Amerika'da dört farklı işletmede toplam 327 hayvan dışkı numunesinde %27,8 (91/327) oranında *E. coli* O157 saptamış ve tüm serolojik O157:H7/NM izolatlarında *ehxA*, *eaeA*, *rfbO157*, *stx1/stx2* ya da her ikisinden birisinin pozitif olduğunu tespit etmiştir. Toplam 342 test edilen izolatta *stx1* varlığı %1,4, *stx2* varlığı %41,2 ve *stx1/stx2* varlığı %57,4 oranında belirlenmiştir (Elder ve ark., 2000). Finlandiya'da sağlıklı sığır dışkılarında %1,31 (19/1448) oranında IMS yöntemi ile *E. coli* O157, 1'inde H7 flagella antijeni, izolatların tamamında *eae* geni, 16'sında *stx2* genini, birinde *stx1* ve *stx2* genini birlikte taşıdığını ve 17 izolatta *stx* genini göstermiştir (Lahti ve ark., 2001). İtalya'da yapılan farklı bir çalışmada iki farklı gruptan alınan dışkı numuneleri araştırılarak I. çalışmada 341 dişi buzağının

%3,8'inde (13/341), II. çalışmada 1293 sığırın %10,7'sinde (138/1293) *E. coli* O157 varlığını belirlenmiştir (Conedera ve ark., 2001). Danimarka süt çiftliklerinde yapılan çalışmada Nielsen ve arkadaşları (2002) 10 bölgeden toplanan 2419 dışkı örneğinde %3,6 oranında, İngiltere'de ise 589 dışkı numunesinde %7,5 (44/589) oranında *E. coli* O157 izole ettiklerini, belirlenen izolatların tamamında *vt2* genini, 39'unda (%89) *eaeA* genini ve 5'inde (%11) *vt1* genini taşıdığını bildirmişlerdir (Omisakin ve ark., 2003). Farklı bir ülkede yaklaşık oniki ay devam eden İrlanda'da yapılan araştırmada 250 sığır dışkı numunesinde %2,4 oranında *E. coli* O157/O157:H7 belirlenmiş ve tümünde *eaeAO157* ve *ehlyA* geni, elde edilen izolatların %95'i (19/20) verotoksin genlerinin birini ya da her ikisini birlikte, %44,5 oranında *vt1/vt2* geni, %44,5 oranında *vt2* genini, %5,5 oranında *vt1* genini taşıdığını rapor etmiştir (McEvoy ve ark., 2003). Çek Cumhuriyeti'nde bazı çiğ gıda numunelerinde yapılan benzer bir çalışmada 46 inek dışkı numunesinde *E. coli* O157/O157:H7 varlığına rastlamamışlardır (Lukášová ve ark., 2004). Benzer bir çalışmada Jo ve arkadaşları (2004) Güney Kore'de 1854 sığır dışkı numunesiyle yaptıkları araştırmada %4,36 (81/1854) oranında *E. coli* O157, %3,82 oranında (71/1854) H7 antijeninin varlığını gösterirken *E. coli* O157 izolatının tümünde *rfbE*, *hlyA*, *eaeA* genlerini, 18 izolatta *stx1* ve *stx2* genini, 8 izolatta *stx1* genini ve 49 izolatta *stx2* genini belirlemiştir. Dunn ve arkadaşları (2004) Amerika'da 408 süttten kesilmiş sığır buzağılarından alınan dışkı numunesinde %2,5 (10/408) oranında *E. coli* O157:H7 (*E. coli* O157) varlığını göstermişlerdir. İzolatları daha ileri sınıflandırma ile STEC O157:H7 olarak sınıflandırmış; *stx1* veya *stx2* ya da her ikisi birlikte PCR ile olumlu reaksiyon verdiğini saptamışlardır. Yapılan farklı bir çalışmada İsviçre'de bulunan 60 organik ve 60 entegre çiftlikten toplanan 481 ve 485 süt ineği dışkı numunesinde *stx1* ve/veya *stx2* varlığını inceleyerek entegre çiftlikte %53,6 (260/485), organik çiftlikte ise %52,8 (254/481) oranında STEC izolatlarını belirlemiş ve entegre çiftlikte %3,3 (16/485), organik çiftlikte %5,2 (25/481) ve her iki çiftlikte %4,6 (41/966) oranında *E. coli* O157:H7 varlığını rapor etmişlerdir (Kuhnert ve ark. (2005). Kuzey İrlanda'da besi sığırlarında toplam 220 dışkı numunesinde %0,9 oranında (2/220) *E. coli* O157:H7 varlığını tespit etmişlerdir (Madden ve ark., 2006). Alam ve Zurek (2006) Kansas'ta besi sığırları üzerinde yapmış oldukları çalışmada toplam 891 dışkı örneğinde %9,2 (82/891) oranında *E. coli* O157:H7 izole ederken test edilen tüm

izolatlarda *stx2* ve *eaeA* genini, 14 izolatın (%12,8) ise *stx1* genini taşıdığını bildirmiştir. İskoçya'da 952 çiftlikten toplanan 14 856 sığır dışkı numunesi IMS yöntemi ile yaklaşık 30 ay kadar süren çalışmada %7,9 oranında *E. coli* O157 suşunun bulunduğunu rapor etmişlerdir (Gunn ve ark., 2007). Sami ve arkadaşları (2007) Güney İran'da 26 çiftlikten toplanan 975 inek dışkı numunesini *E. coli* O157:H7 yönünden araştırarak prevelansını %0,51, sürü prevelansını %3,86 oranında belirlemişlerdir. Bangladeş'te 174 manda, 139 inek ve 110 keçi dışkı örneğinde siga–toksin üreten *E. coli*'nin prevelansını belirlemeye yönelik yapılan çalışmada sırasıyla %37,9, %20,1 ve %10 oranlarında STEC izole etmişlerdir. İnek dışkı numunelerinden izole edilen STEC'de, her iki *stx1* ve *stx2* varlığını %45,3 belirlenirken yalnız *stx1* geninin varlığını %12,9 oranında, yalnız *stx2* geninin varlığını %14,4 oranında tespit etmişlerdir. Ayrıca izole edilen STEC içinden ise %7,2 oranında *E. coli* O157 izole edildiğini bildirmişlerdir (Islam ve ark., 2008). Sığır dışkıları ile Sırbistan'da yapılan çalışmada 115 örnekte %2,6 (3/115) oranında *E. coli* O157 varlığını tespit etmişlerdir (Nastasijavic ve ark., 2009). Ateba ve Mbewe (2011) Güney Afrika'da yaptıkları çeşitli numunelerden oluşan benzer bir çalışmada 40 sığır dışkı numunesinin 22'sinde (%55) *E. coli* O157:H7 izolatını tespit ederken 10'unda *stx1* geni, 5'inde *stx2* geni, 6'sında *eae* geni ve 11'inde *hlyA* genini saptamıştır. Ekvator'da yapılan bir çalışmada Trueba ve arkadaşları (2013) 600 sığır dışkı numunesinin 32'sinde (%5,3) *E. coli* O157:H7 ve bunların tamamında *stx* genini tespit etmiştir. Osaili ve arkadaşları (2013) 180 sığır dışkı numunesi ile Amman'da yaptıkları çalışmada kültür yöntemi ile 22 (%12,2) numunede *E. coli* O157:H7, PCR ile doğrulama çalışmasında 18 numunede (%10) O157, 17 (%9,4) numunede ise H7 antijenini tespit ederken *stx1* genini 8 (%47) izolatta, *stx2* genini 2 izolatta (%11,8), *stx1/stx2* genini birlikte 5 izolatta (%29,4) göstermiştir. Kuzey Wales'ta 2010 – 2011 yılları arasında 150 sığır dışkı numunesi ile yaptıkları çalışmada *E. coli* O157 serotipini tespit edememişlerdir (Alhelfi ve ark., 2013). Yunanistan'da Pinaka ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan farklı bir çalışmada 140 sığır dışkı numunesi API, ELISA ve PCR yöntemi ile araştırılmış ve 2 izolatta O157 olmayan STEC tespit edilirken *E. coli* O157:H7 varlığına rastlanılmamıştır.

Ülkemizde yapılan farklı bölgelerdeki benzer çalışmalarda Yılmaz ve arkadaşları (2002) 2001 – 2002 yılları arasında İstanbul’da tamamen sağlıklı 330 sığırdan rektal svap ile alınan numunelerde %4,2 (14/330) oranında *E. coli* O157, %3,93’ünde (13/330) oranında H7 antijeninin aktif olduğunu tespit etmişlerdir. Kars yöresinde Eylül 2001–Temmuz 2002 tarihleri arasında toplanan neonatal ishali ve sağlıklı buzağı dışkı örneğinde %3,1 (9/147) oranında *E. coli* O157 varlığını belirlemişlerdir (Güneş ve ark., 2004). Antakya’da Aslantaş ve arkadaşlarının (2006) yapmış olduğu benzer bir çalışmada 565 hayvan dışkı numunesinde %13,6 (77/565) oranında *E. coli* O157, tespit edilen suşlarda ise *rbf*_{O157} %13,6 (77/565), *EhlyA* %13,0 (74/565), *eaeA* %12,7 (72/565), *vtx1* %0 (3/565), *vtx2* %10,9 (62/565) oranında tespit edilmiştir. Kayseri’de 500 dışkı numunesinde Aydın ve arkadaşları (2010) yapmış oldukları çalışmada %4,6 (6/128) oranında *E. coli* O157:NM izole ederken herhangi bir H7 antijenine rastlamamıştır. Ayrıca dışkıdan izole edilen O157:NM suşlarında mPCR ile yaptıkları çalışmada 1 örnekte (%16,6) *EhlyA* genine rastlarken 1 (%16,6) örnekte yalnızca *stx2* genini tespit etmişlerdir. Ege Bölgesi’nde farklı yaş ve cinsiyetteki sağlıklı 150 sığır dışkı numunesinde yapılan benzer bir araştırmada %2 (3/150) oranında *E. coli* O157, %1,3 (2/150) oranında *E. coli* O157:H7 varlığını göstermişlerdir (Çiçek ve Savaşan, 2010). Afyonkarahisar’da Akkaya ve arkadaşları (2006) Mayıs ve Haziran 2004 tarihleri arasında mezbahada kesilen sığırlar üzerinde yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 varlığını %1,33 (4/300) oranında tespit ederken tüm suşların *vt1* ve *vt2* sentezleyebildiğini göstermişlerdir. Afyonkarahisar’da inek ve buzağı dışkı numunelerinde yapılan benzer incelemede, ineklerde %2,3 (5/220), buzağılarda %3,8 (9/237) ve genel ortalamada %3,1 (14/457) oranında *E. coli* O157:H7 izole edilmiş ve elde edilen 14 DNA örneğinin 6’sında (%42,8) *stx1* ve *stx2* varlığını göstermişlerdir (Kuyucuoğlu ve ark., 2011). Kalender (2013), Elazığ’da sığırlardan alınan 540 rektal svap örneklerinin PCR testinde 82 sorbitol negatif *E. coli* izolatın 34’ü *E. coli* O157 yönünden pozitif saptamış, *E. coli* O157 izolatlarının 22’sinde (%64,7) H7 antijenini ve rektal sıvap örneklerinin 18’inde (%3,3) STEC O157 tespit ederken 14 STEC izolatın birinde *stx2* ve 4’ünde her iki *stx1/stx2* varlığı göstermiştir.

Gıda kaynaklı salgınlara neden olan ve bu sebeple gündemde kalmayı sürdüren temel rezervuarı sığır dışkısı olan *E. coli* O157/O157:H7 patojeni ile ilgili farklı ülkelerin ve ülkemizin farklı bölgelerinde benzer çalışmalar yapılmaktadır. Hayvan dışkısında *E. coli* O157 ile ilgili yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlar Heuvelink ve arkadaşlarının (1998), Čížek ve arkadaşlarının (1999), Elder ve arkadaşlarının (2000), Conedera ve arkadaşlarının (2001), Omisakin ve arkadaşlarının (2003) ve Gunn ve arkadaşlarının (2007), Islam ve arkadaşlarının (2008) ve Ateba ve Mbewe (2011) yaptıkları araştırmaya göre düşük oranda belirlenirken Lahti ve arkadaşlarının (2001), Nielsen ve arkadaşlarının (2002), Lukášová ve arkadaşlarının (2004), Jo ve arkadaşlarının (2004), Dunn ve arkadaşlarının (2004) ve Nastasijavic ve arkadaşlarının (2009), Alhelfi ve arkadaşlarının (2013), Pinaka ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları araştırmaya göre yüksek oranda saptanmıştır. Ancak Laegreid ve arkadaşları (1999), McEvoy ve arkadaşları (2003), Kuhnert ve arkadaşları (2003), Jo ve arkadaşları (2004), Madden ve arkadaşları (2006), Alam ve Zurek (2006), Sami ve arkadaşları (2007), Ateba ve Mbewe (2011), Trueba ve arkadaşları (2013) ve Osaili ve arkadaşları (2013) H7 antijenik yapısını tespit ederken çalışmamızda tespit edilmemiştir. Ülkemizde ise yapılan benzer çalışmalara göre *E. coli* O157 Yılmaz ve arkadaşlarının (2002), Güneş ve arkadaşlarının (2004), Aydın ve arkadaşlarının (2010) ve Çiçek ve Savaşan (2010) araştırma sonuçlarından yüksek; Aslantaş ve arkadaşlarının (2006) ve Kalender'in (2013) yapmış oldukları araştırmaya göre düşük oranda tespit edilmiştir. Yılmaz ve arkadaşları (2002), Akkaya ve arkadaşları (2006), Çiçek ve Savaşan (2010), Kuyucuoğlu ve arkadaşları (2011) ve Kalender'in (2013) yaptıkları çalışmada H7 antijenini saptarken Aydın ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları çalışma ile uyumlu olup H7 antijeni tespit edilmemiştir.

Elde edilen izolatlarda *stx* varlığı Heuvelink ve arkadaşlarının (1998), Čížek ve arkadaşlarının (1999), Elder ve arkadaşlarının (2000), Omisakin ve arkadaşlarının (2003), McEvoy ve arkadaşlarının (2003), Kuhnert ve arkadaşlarının (2005), Alam ve Zurek'in (2006), Islam ve arkadaşlarının (2008), Ateba ve Mbewe (2011), Osaili ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmadan düşük oranda, Lahti ve arkadaşlarının (2001), Dunn ve arkadaşlarının (2004), Pinaka ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmadan yüksek, Jo ve arkadaşlarının (2004), Trueba ve arkadaşlarının (2013)

yaptıkları çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ülkemizde ise Aslantaş ve arkadaşlarının (2006) yaptıkları çalışmadan düşük oranda, Aydın ve arkadaşlarının (2010), Çiçek ve Savaşan'ın (2010), Akkaya ve arkadaşlarının (2006), Kuyucuoğlu ve arkadaşlarının (2011) ve Kalender'in (2013) yaptıkları çalışmadan yüksek oranda tespit edilmiştir.

E. coli izolatının asıl kaynağı fekal kontaminasyondur. Temel hayvansal gıda ürünlerinden birisi olan süt fekal kontaminasyona oldukça açık bir gıda ürünüdür. STEC, halk sağlığı açısından önemi gün geçtikçe artarken farklı ülkelerde ve ülkemizde çalışmalar devam etmektedir. Yunanistan'da pastörize edilmemiş 100 sığır süt numunesinde Dontorou ve arkadaşları (2003) *E. coli* O157:H7 serotipini tespit edememişlerdir. Çek Cumhuriyeti'nde bazı çiğ gıda numunelerinde yapılan benzer bir çalışmada 225 çiğ süt numunesinde *E. coli* O157/O157:H7 varlığını 4/2 (%1,77) numunede belirlemiş ve 4 numunede virulans faktörlerinden *stx1*, *stx2*, *eae* ve *ehxA* genine rastlamışlardır (Lukášová ve ark., 2004). Kuzeybatı Meksika'da yemek fabrikalarında/parakende satılan bazı gıdalardan ve sulardan alınan toplam 5162 numune incelenmiş, PCR yöntemi ile süt ürünlerinde %21,3 (143/669) oranında *E. coli*, %2,84 (19/669) oranında diyarejenik *E. coli* oluştururken bu grubun içinde %15,78 (3/19) oranında STEC izole edilmiştir (Canizalez-Roman ve ark., 2013). Hindistanda yapılan bir çalışmada 53 süt örneğinde %16,98 (9/53) oranında STEC belirlenirken %9,43 (5/53) oranında *stx1* geni, %5,66 (3/53) oranında *stx2* geni, %1,88 (1/53) oranında *stx1* ve *stx2* geni, %3,77 (2/53) oranında EHEC-*hlyA* geni, %7,54 (4/53) oranında ise EPEC (*eaeA*) geni tespit edilmiştir (Rashid ve ark., 2013). Hindistan'da yapılan benzer bir çalışmada 50 çiğ süt ve 200 süt ürünü incelenerek çiğ sütte %32 oranında *E. coli*, %8 (2 izolat) oranında *stx1*, %16 (4 izolat) oranında *stx2* varlığı saptanırken çiğ sütte *stx* varlığını %12 (6/50) olarak rapor etmişlerdir (Virpari ve ark., 2013a). İtalya'da 14 farklı süt çiftliğinde alınan süt numunelerinde Realtime PCR yöntemi kullanılarak %3,5 oranında, IMS yöntemi kullanılarak %1,2 oranında *E. coli* O157 belirlemişlerdir. Elde edilen 85 numunenin 8'inde (%9,4) *stx1*, 3'ünde (%3,5) *stx2* ve 21'inde (%24,7) *eae* genini göstermişlerdir (Petruzzelli ve ark., 2013). Mısır'da Ahmed ve Shimamoto'nun (2014) çiğ süt ürünlerinde yaptığı çalışmada, 240 sığır sütü, 240 manda sütü ve 320 adet diğer süt

ürünlerinden oluşan toplam 800 adet süt ürününü inceleyerek sığır sütünde %0,25 (2/800) oranında *stx1*, %0,25 (2/800) oranında *stx1/stx2* toplam %0,5 (4/800) oranında *stx* varlığını belirlerken manda sütünün %0,6 (5/800) oranında *stx1*, %0,25 (2/800) oranında *stx2*, %1,1 (9/800) oranında her iki *stx1/stx2* toplam %2 (16/800) oranında *E. coli* O157:H7 ait genleri saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Ülkemizde yapılan araştırmalarda Noveir ve arkadaşları (2000a) yaptıkları çalışmada 103 çiğ süt numunesini inceleyerek *E. coli* O157 ve H7 antijen varlığını belirleyememişlerdir. Öksüz ve arkadaşları (2004) Tekirdağ'da 10 farklı köyden topladığı 100 çiğ süt numunesi ve 50 çiğ süttten yapılmış salamura peynir numunesinde yaptıkları araştırmada çiğ sütte %1 ve peynirde %4 oranında *E. coli* O157 izolatını saptamışlardır. Mercanoğlu ve Aytaç (2006) Ankara'daki marketlerden rastgele seçilen süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri (salam, sosis ve fermente sosis), kanatlı ve kanatlı ürünleri, sebze (maydanoz, marul, mantar ve soya fasulyesi) ve mezelerden oluşan 5 farklı grup ve 111 gıda ürününde *E. coli* O157:H7 (EHEC) varlığını tespit edememiştir. Benzer bir araştırmada Akkaya ve arkadaşları (2007) Afyonkarahisar'da 100 çiğ süt ve 100 peynir numunesinde IMS yöntemi ile çiğ süt numunesinde %3 (3/100) oranında, peynir numunesinde ise %1 (1/100) oranında *E. coli* O157:H7 varlığını tespit etmişlerdir. Kayseri'de 500 süt numunesinde Aydın ve arkadaşları (2010) yapmış oldukları çalışmada %2 (1/107) oranında *E. coli* O157:NM izole ederken herhangi bir H7 antijenini tespit edememişlerdir. Ege Bölgesi'nde farklı yaş ve cinsiyetteki sağlıklı 150 sığır süt numunesinde yapılan benzer bir araştırmada %2 (3/150) oranında *E. coli* O157, %1,3 (2/150) oranında *E. coli* O157:H7 izolasyonu sağlamış ve %0,6 oranında (1/150) *vt1* ürettiğini göstermişlerdir (Çiçek ve Savaşan, 2010). Kayseri ilinde kuşbaşı et, kıyma, tavuk burger, et burger, çiğ süt ve çiğ süttten yapılmış peynirin bulunduğu çeşitli numunelerden oluşan toplam 500 hayvansal orjinli gıda numunesi çalışılarak kuşbaşı ette %2 oranında, kıymada %1 oranında ve çiğ süttten yapılmış peynir numunesinde %2 oranında *E. coli* O157:H7 varlığını saptarken çiğ süt numunesinde belirleyememişlerdir (Ertaş ve ark., 2013).

Çiğ sütte *E. coli* O157/H7 varlığının belirlenmesine yönelik farklı birçok çalışma devam ederken çalışmamız Petruzzelli ve arkadaşlarının (2013), Virpari ve arkadaşlarının (2013a) yaptıkları çalışmalara göre düşük oranda, Lukášová ve arkadaşlarının (2004) ve Dontorou ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları çalışmalara göre yüksek oranda belirlenirken Rashid ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmalarla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca Lukášová ve arkadaşları (2004), Ahmed ve Shimamoto (2014) yaptıkları çalışmada H7 antijenini saptarlarken Dontorou ve arkadaşlarının (2003) araştırması çalışmamızla uyumlu olup H7 antijenini tespit edememişlerdir. Ülkemizde ise Noveir ve arkadaşlarının (2000a), Öksüz ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları çalışmaya göre yüksek oranda, Aydın ve arkadaşlarının (2010), Çiçek ve Savaşan'ın (2010) yaptıkları çalışmaya göre benzer sonuçlar görülmüştür. Bunun yanı sıra Akkaya ve arkadaşları (2007), Çiçek ve Savaşan (2010) yaptıkları araştırmada H7 antijenini tespit ederken, Mercanoğlu ve Aytaç (2006), Aydın ve arkadaşlarının (2010), Ertaş ve arkadaşlarının (2013), Noveir ve arkadaşlarının (2000a) incelemelerinde çalışmamızla uyumlu olup H7 antijenini tespit edememişlerdir. Elde ettiğimiz izolatlarda *stx* varlığı Rashid ve arkadaşlarının (2013), Virpari ve arkadaşlarının (2013a), Petruzzelli ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmaya göre düşük, Lukášová ve arkadaşlarının (2004), Ahmed ve Shimamoto'nun (2014) yaptıkları çalışmaya göre yüksek oranda tespit edilmiştir. Ülkemizde ise çalışmamız Aydın ve arkadaşlarının (2010), Çiçek ve Savaşan'ın (2010) yapmış olduğu çalışmaya göre yüksek oranda belirlenmiştir.

Bu çalışma ile ülkemizde ve dünyadaki sığırlardaki ve sütlerdeki *E. coli* O157/O157:H7 ve EHEC toksin varlığını belirlemeye yönelik yapılan araştırmalar karşılaştırıldığında farklı oranların bulunması, araştırmalarda kullanılan identifikasyon yöntemlerindeki farklılık, hayvanların bulunduğu ortam ve beslenmesi, süt sağım esnasındaki hijyenik koşullarının farklılığı, işletmelerdeki personel bilinci, hijyen kurallarının yeterince uygulanıp uygulanmaması ya da dikkat edilmemesi düşünülebilir. Ayrıca hayvanların farklı yaşlarda olması bu farklılığa neden olabilir. Çalışmamızda, sığırdaki ve sütte *E. coli* O157 belirlenmiş fakat H7 antijeni tespit edilememesine rağmen toksin genlerinin yüksek orandaki varlığı halk sağlığı yönünden potansiyel bir risk teşkil etmektedir.

Yunanistan'da et ürünleri ile yapılan bir çalışmada 75 taze sosis numunesinde Dontorou ve arkadaşları (2003) *E. coli* O157/O157:H7 varlığını araştırmış ve numunelerin 1'inde (%1,3) *E. coli* O157:H7 serotipini tespit ederken bu serotipin *vt1* ve *vt2* genlerini birlikte taşıdığını göstermiştir. Çek Cumhuriyeti'nde çeşitli çiğ gıda numunelerinde yapılan benzer bir çalışmada 15 sosis numunesi materyal olarak kullanılmış ve *E. coli* O157/O157:H7 varlığına rastlamamışlardır (Lukášová ve ark., 2004). Canada'da 1999 yılında meydana gelen bir salgında 143 vakanın 140'ına ulaşılarak sorgulanmış ve vakaların %83'ünün (116/140) salam tükettiğini tespit ederek salgını *E. coli* O157:H7 ile ilişkilendirmişlerdir (MacDonald ve ark., 2004). Magwira ve arkadaşları (2005) tarafından Botswana'da *E. coli* O157 seroprevalansını belirlemeye yönelik çalışmada 133 adet taze sosis numunesinin 3'ünde (%2,26) *E. coli* O157 tespit ettiklerini bildirmiştir. Arjantin'de 2001–2002 yılları arasında yöresel bir et ürünü olan 100 morcilla (sosis) örneğinde yapılan incelemede numunelerin 3'ünde (%3) STEC'yi izole edilmiş ve bunun 2'sinde (%2) *stx2+stx2vh-a*, *eae*, EHEC-*hlyA* genlerini belirleyerek *E. coli* O157:H7'yi, 1'inde (%1) *stx1*, *eae*, EHEC-*hlyA* genlerini belirleyerek *E. coli* O26:H11'in serotipini belirlemiştir (Oteiza ve ark., 2006). Güney İsveç'te 2002 yılında meydana gelen gıda kaynaklı EHEC salgında enfekte kişilerin tükettikleri sosis numuneleri ile vakaların dışkı numuneleri PFGE yöntemi ile incelendiğinde sosis numunesinden elde edilen *E. coli* O157:H7 suşu ile enfekte olan kişinin dışkı numunesinden elde edilen türün aynı olduğunu, mikrobiyolojik ve epidemiyolojik olarak 39 vakanın 30'nun sosis tükettiği ve salgınla sosis tüketiminin arasında bir ilişkinin varlığını rapor etmişlerdir (Sartz ve ark., 2008). Sırbistan'da yapılan benzer bir çalışmada 48 sosis numunesinde %70,8 (34/48) oranında *E. coli* belirlenirken %2,1 (1/48) oranında *E. coli* O157 varlığı tespit edilmiştir (Nastasijavic ve ark., 2009). Güney Afrika'da Abong'O ve Momba'nın (2009) yaptığı çalışmada et ve et ürünlerinden oluşan toplam 180 numuneyi *E. coli* O157:H7 yönünden inceleyerek 2'si sosis (polony), 1'i kıyım, 1'i soğuk et ve 1'i pastırma (biltong) numunesi olmak üzere toplam 5 (%2,8) gıda numunesinde tespit etmiş ve izolatlarda *rbfE*_{O157}, *fliC*_{H7} ve *eaeA* genini saptamıştır. İtalya'nın Piedmont Bölgesi'nde yapılan bir çalışmada 51 fermente sosis numunesinin 37'sinde (%72,5) STEC pozitif saptarken 37'sinde (%72,5) *stx1*, 3'ünde (%5,9) *stx2* ve 6'sında (%11,8) *eae* geni taşıdığını rapor etmişlerdir (Rantsiou

ve ark., 2012). Benzer bir çalışma Güney Afrika'da sosisler (boerewor) üzerinde yapılarak VTEC %4,76 (1/21) oranında belirlemişlerdir (Charimba ve ark., 2012).

Noveir ve arkadaşları (2000a) yaptıkları çalışmada 101 sucuk numunesini inceleyerek %1 oranında *E. coli* O157 izole ederken numunelerin tamamında H7 antijeninin varlığını rastlamamışlardır. Afyon bölgesinde perakende satış noktalarından ve marketlerden toplanılan 100 adet sucuk örneğinin %7'sinde *Salmonella* spp., %7'sinde *Listeria* spp., %1'inde *L. ivanovii* ve %1'inde *L. innocua* belirlenirken *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığı belirlenememiştir (Sırıken ve ark., 2006). Mercanoğlu ve Aytaç (2006) Ankara'daki marketlerden rastgele seçilen salam, sosis ve fermente sosis gibi et ürünleri üzerinde yaptıkları araştırmada *E. coli* O157:H7 (EHEC) varlığını tespit edememiştir. Kahraman ve Aydın (2009) tarafından Marmara Bölgesi'nde altı farklı ilden alınan 691 çiğ et ve et ürünü (138 sosis) numunesi *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden araştırılmış ve *E. coli* O157:H7 serotipi tespit edememiştir. Konya ilinde yapılan benzer bir çalışmada perakende satış noktalarından sucuk, sosis, hamburger köfte, İnegöl köfte, pastırma, kıyma ve kanatlı ürünlerinden oluşan çeşitli 174 numune incelenerek kıymaların 3'ünde (%11,1) *E. coli* O157, 2'sinde (%7,03) *E. coli* O157:H7 ve soğutulmuş hamburger köftelerinin birinde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 (%4,25) oranında üremesi tespit edilirken diğer et ürünlerinde rastlanmamıştır (Balpetek ve Gürbüz, 2010). Temelli ve arkadaşları'nın (2012) Ankara'da yaptıkları çalışmada toplam 106 kırmızı et ve et ürünlerinde (kıyma, kıyılmış, köfte, salam ve sosis) VIDAS ECPT ve Light Cycler PCR ile kırmızı et numunesinde %5,55 oranında *E. coli* O157 bulurken salam ve sosis numunesinde rastlamamıştır. İstanbul'da benzer bir çalışmada 205 kıyma, 50 çiğ et ve 85 sosis numunesinden oluşan 340 gıda numunesinde *E. coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* varlığını tespit edememiştir (Bingöl ve ark., 2013).

Et ürünlerinde *E. coli* O157/O157:H7 ilgili çalışmamız MacDonal ve arkadaşlarının (2004), Magwira ve arkadaşlarının (2005), Nastasijavic ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmadan düşük oranda görülmüştür. Ayrıca Sartz ve arkadaşları (2008), Abong'O ve Momba (2009), Dontorou ve arkadaşları (2003) H7 antijenini tespit ederken, Lukášová ve arkadaşlarının (2004) yapmış olduğu

çalışma ile uyumlu olup H7 antijeni belirlenmemiştir. Ülkemizde ise çalışmamız Temelli ve arkadaşlarının (2012), Bingöl ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmadan yüksek oranda, Noveir ve arkadaşlarının (2000a) araştırmalarıyla uyumlu olup *E. coli* O157 izolatı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra Noveir ve arkadaşları (2000a), Sırıken ve arkadaşları (2006), Mercanoğlu ve Aytaç (2006), Kahraman ve Aydın (2009), Balpetek ve Gürbüz'ün (2010) incelemeleri ile uyumlu olup H7 antijenine rastlanmamıştır. Ayrıca izolatlarda *stx* taşıyıcılığı ile ilgili çalışmamız Oteiza ve arkadaşlarının (2006), Rantsiou ve arkadaşlarının (2012), Charimba ve arkadaşlarının (2012) yaptıkları çalışmadan düşük oranda, Lukášová ve arkadaşlarının (2004), Dontorou ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları çalışmadan yüksek oranda belirlenmiştir.

Bu çalışma ile ülkemizde ve dünyadaki et ürünlerindeki (sucuk) *E. coli* O157/O157:H7 ve EHEC toksin varlığını ortaya koymak için yapılan inceleme kıyaslandığında farklı oranların bulunması, hayvanların kesim ortamının hijyen koşullarındaki farklılığı, personelin hijyen kurallarına uyumdaki farklılığı, et ürününün hazırlanmasındaki ve satışındaki saklama ve hijyen koşullarının farklılığı gösterilebilir. Çalışmamızda düşük bir oranda izole edilen *E. coli* O157 izolatının yanında *stx* genini taşıyan EHEC izolatlarının varlığı çiğ olarak tüketilebilen sucuğun üretimde hijyen kurallarına dikkat edilmemesi halinde halk sağlığını etkileyebilir.

Norveç marketlerinden toplanan marul, önceden kesilmiş salata, maydanoz/dereotu, mantar ve çilekten oluşan toplam 890 taze sebze numunesi Johannessen ve arkadaşları (2002) tarafından araştırılmış ve herhangi bir *E. coli* O157 izolatına rastlamadıklarını rapor etmiştir. Yunanistan'da jambon veya hindi içeren, marul ve mayonezli karışık sebze salatalı 61 sandviç numunesinde Dontorou ve arkadaşları (2003) *E. coli* O157:H7 serotipine rastlamamıştır. Çek Cumhuriyeti'ndeki benzer bir çalışmada 51 salata numunesinde *E. coli* O157/O157:H7 varlığı görülmemiştir (Lukášová ve ark., 2004). Mora ve arkadaşları (2007) Peru'da 102 kıyma, 102 sığır eti, 102 peynir ve 101 taze sebze örneğini *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden incelemiş kıymanın 23'ünde, sığır etinin 15'inde, peynirin 8'inde ve taze sebzenin 4'ünde *E. coli* O157 varlığı tespit edilirken PCR ile

35'inde *E. coli* O157:H7, *rfbE*, *fliCh7*, *eae-γ1* ve *ehxA* geni, 33'ünde *stx* geni tespit edilmiş; bunların 5'inde (%14) *stx1*, *stx2* genini ve 28'inde (%80) *stx2* geni saptanmıştır. Güney Afrika'da yaklaşık bir yıl süren çalışmada su, sebze ve doğrulanmış ve doğrulanmamış HIV/AIDS hasta gruplarından alınan 180'er adet numunede *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmış; içme suyu numunelerinin 46'sında (%25,56), sebze numunelerinin 39'unda (%21,67) *E. coli* O157 varlığını tespit ederken moleküler yöntemle yapılan çalışmada içme suyu numunesinde %8,7 (4/46), sebze numunesinde %10,26 (4/39) oranında *E. coli* O157:H7 varlığı rapor edilmiştir (Abong'O ve Momba, 2008). İspanya'da satışa sunulan 4 farklı süpermarketten alınan 21 adet hazır meyve, 28 adet taze sebze, 15 lahana, 236 hazır salata numunesinden oluşan toplam 300 sebze numunesinde %14,8 oranında *E. coli* izole edilirken sebze numunesinin tamamında *E. coli* O157:H7 izolatu görülmemiştir (Abadias ve ark., 2008). Grant ve arkadaşları (2008) Utah ve New Mexico'da 2006'da meydana gelen gıda salgınında 23 hastanın ıspanak tükettiği ve salgınına neden olan *E. coli* O157:H7 serotipinin 1 markaya ait 3 poşette bulunan ıspanaktan izole edildiğini rapor etmişlerdir. Singapur'da taze sebze ve meyveler üzerinde yapılan benzer bir çalışmada 4 farklı bölgeden alınan toplam 125 numune araştırılmış ve numunelerin tamamında *E. coli* O157:H7 serotipine rastlamamışlardır (Seow ve ark., 2012). Yunanistan'da Pinaka ve arkadaşları (2013) tarafından 11 farklı 60 sebze numunesinde API, ELISA ve PCR yöntemi ile *E. coli* O157:H7 varlığı araştırılarak PCR yöntemiyle sebze numunesinin %5'inde (3/60) *rfbE*_{O157} ve *fliC*_{h7} geni, Latex Aglütinasyon test yöntemi ile O157 antijeni pozitif olarak saptanmıştır. Ayrıca belirlenen izolatlarda toksin genlerinin olmadığını rapor etmişlerdir. Malezya'da organik gıda numunelerinden oluşan toplam 230 adet numuneyi Chang ve arkadaşları (2013) PCR yöntemi ile *E. coli* O157:H7 varlığını incelemiş ve organik gıdaların %5,2'sinde, manavdan alınan organik gıdaların %8,8'inde *E. coli* O157:H7 varlığını belirlemiştir. *E. coli* O157:H7 izolatını organik gıdalarda %8,8 tespit ederken süpermarketlerdeki numunelerde %1,0 olarak göstermiştir. İngiltere'de meydana gelen bir gıda kaynaklı salgında 19 vakada *E. coli* O₁₅₇ PT_{2stx2} enfeksiyonu belirlenmiş ve bu vakaların 13'ü ile görüşüldüğünde 10 vakanın bir marketten aldıkları su teresi tükettiği görülmüştür (Launders ve ark., 2013).

Ülkemizde yapılan sebze/salatalardaki çalışmalarda ise Mercanoğlu ve Aytaç (2006) Ankara'daki marketlerden rastgele seçilen sebze (maydanoz, marul, mantar ve soya fasulyesi) numunelerinde *E. coli* O157:H7 (EHEC) varlığını tespit edememiştir. İstanbul'da birkaç bölgedeki pazardan alınan 180 sebze numunesinde *E. coli* 109 (%60,5) numunede, STEC 13 numunede (%7,2) (6 maydanoz, 3 havuç, 3 marul, 1 salatalık numunesi), O157 serotipi maydanozda 1 (%0,5), marulda 1 (%0,5) ve havuçta 1 (%0,5) numunede tespit edilirken 1 (%0,9) numunede *stx1*, *stx2* ve *eae* geni, 2 (%1,8) numunede *stx2* ve *eae* geni, 10 (%9,2) numunede *stx2* genini belirlemiştir (Özpinar ve ark., 2013).

Sebze ve salatalarda yaptığımız *E. coli* O157 ile ilgili araştırmamız Mora ve arkadaşları (2007), Abomg'O ve Momba (2008), Pinaka ve arkadaşları (2013), Launders ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmadan düşük oranda belirlenirken Johannessen ve arkadaşları (2002), Dontorou ve arkadaşları (2003) ve Lukášová ve arkadaşlarının (2004) araştırmalarına göre benzer olup *E. coli* O157 görülmemiştir. Bunun yanında Grant ve arkadaşları (2008), Abomg'O ve Momba (2008), Mora ve arkadaşları (2007), Chang ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmada H7 antijenini tespit ederken çalışmamızda rastlanılmamıştır. Elde edilen izolatlardan araştırılan *stx* toksin gen varlığı Pinaka ve arkadaşlarının (2013) yaptığı çalışmadan düşük, Mora ve arkadaşlarının (2007) yaptıkları çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ülkemizde ise salata ve sebzelerde bu konu ile ilgili yeterli sayıda inceleme yapılmadığı görülmüştür. Özpinar ve arkadaşlarının (2013) yapmış olduğu araştırmada *E. coli* O157 izole ederken çalışmamızda rastlanmamıştır. Mercanoğlu ve arkadaşlarının (2006) yapmış olduğu çalışma ile uyumlu olup *E. coli* O157:H7 tespit edilememiştir. Çalışmamızda izole edilen izolatlarda *stx* varlığı Özpinar ve arkadaşlarının (2013) yapmış olduğu incelemeden düşük oranda tespit edilmiştir.

Günümüze kadar sebze ile ilgili yapılan çalışmalar ile çalışmamız kıyaslandığında patojenin varlığındaki orantısal farklılık, sebzelerin yetiştirilirken kullanılan gübrenin farklılığı ve kullanım şekli, coğrafik dağılımı, işletmenin hijyen koşulları ve personelin hijyen koşullarına uymundaki değişikliklerden kaynaklanabilir. Bunun daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla numune ile araştırmaların devam

etmesi gerekmektedir. Ülkemizde bu konu ile ilgili yeterli sayıda çalışmaya rastlanılmamıştır. Yaptığımız bu araştırmada her ne kadar *E. coli* O157/O157:H7 patojeni belirlenmesede EHEC toksin genlerinin varlığı halk sağlığı açısından enfeksiyon kaynağını oluşturabilir.

Seattle'da Cornick ve arkadaşları (2002) tarafından 68 enfekte çocuk (<10 yaş) hastanın dâhil edildiği incelemede komplikasyonsuz grupta 52, HUS öncesi grupta 10 ve HUS grubunda 6 hastada *E. coli* O157:H7 belirlerken *stx1* geni yalnızca HUS grubunun 1'inde (%17), *stx2* geni komplikasyonsuz grubun 17'sinde (%33), HUS öncesi grubun 3'ünde (%30), HUS grubunun 3'ünde (%50) ve *stx1/stx2* geni komplikasyonsuz grubun 35'inde (%67), HUS öncesi grubun 7'sinde (%70), HUS grubunun 2'sinde (%33) varlığını ortaya koymuştur. Canada'da 1999 yılında meydana gelen bir salgında 143 vakanın 140'ına ulaşılarak sorgulanmış ve %96'sı (135/140) primer, %2'si (3/140) sekonder hasta grubu oluştururken %1,4'ü (2/140) sınıflandırılmamış ve vakaların %83'ünün (116/140) salam tükettiğini tespit ederek salgını *E. coli* O157:H7 ile ilişkilendirmişlerdir (MacDonald ve ark., 2004). Almanya'da 11 federal bölgede klinik ve çevresel örneklerde EHEC O157:H7 varlığına yönelik yaptıkları çalışmada 38 vaka belirlemiş ve bu vakaların %11'i (4/38) hastalığın akut faz döneminde öldüğünü rapor etmişlerdir (Alpers ve ark., 2009). Blanco ve arkadaşları (2004b), İspanya'da ishaller ve gastrointestinal yakınmaları olan 5054 vakanın %2,5'inde (126/5054) STEC pozitif bulunurken bu durum 1992'de %0 iken 1999'da %4,4'e çıktığını; ayrıca hastaların %0,5'inde (24/5054) STEC O157:H7 izole edilirken %1,7'sinde (87/5054) O157 olmayan STEC belirlemişlerdir. Elde edilen izolatlarda %34 (43/126) oranında *stx1* geni, %36 (45/126) oranında *stx2* geni ve %30 oranında (38/126) *stx1/stx2* geni saptamışlardır. Tunus'ta, 2001–2004 yılları arasında 214 akut ishallerden izole edilen 327 *E. coli* izolatın %0,5'inde (1/214) *E. coli* O157:H7 serotipi, %5,1'inde (11/214) farklı O:H serotipi belirlerken %5,1'inde (11/214) *stx* geninin varlığını rapor etmişlerdir (Al-Gallas ve ark., 2006). Grant ve arkadaşları (2008) Utah ve New Mexico'da 2006'da meydana gelen ıspanakla ilişkili gıda salgınında 23 hastanın ıspanak tükettiği ve gıda salgınına neden olan *E. coli* O157:H7 serotipini 1 markaya ait 3 poşette bulunan ıspanaktan izole etmişlerdir. Güney İsveç'te 2002 yılında meydana gelen

gıda kaynaklı EHEC salgınında enfekte kişilerin tükettikleri sosis numuneleri ile vakaların dışkı numuneleri PFGE yöntemi ile incelendiğinde sosis numunesinden elde edilen *E. coli* O157:H7 suşu ile enfekte olan kişinin dışkı numunesinden elde edilen türün aynı olduğu, mikrobiyolojik ve epidemiyolojik olarak 39 vakanın 30'nun sosis tükettiği ve salgınla sosis tüketiminin arasında bir ilişkinin varlığını rapor etmiştir (Sartz ve ark., 2008). Güney Afrika'da yaklaşık bir yıl süren çalışmada doğrulanmış ve doğrulanmamış HIV/AIDS hasta grubundan alınan 180'er adet numunede *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmışlar ve *E. coli* O157 varlığı doğrulanmış ve doğrulanmamış HIV/AIDS hastalarında %56,5 (74/360) ve %43,5 (57/360) oranında tespit ettiklerini bildirmiştir. Moleküler yöntemle yapılan çalışmada doğrulanmış ve doğrulanmamış HIV/AIDS hastalarında %12,16 (9/74) ve %8,77 (5/57) oranında *E. coli* O157:H7 varlığını rapor etmiştir (Abong'O ve Momba, 2008). Avusturya'da 2007 yılında 438 gıda kaynaklı salgında 1715 bireyin etkilendiği ve bunların 286'sının hastaneye yatırıldığı ve birinin ölümüne neden olduğu gıda kaynaklı salgınların %1,3'üne (6/438) EHEC'in (EHEC O145:H-, O157:H-, O157:H7, O182:H49, O91:H7, ONT:H4) neden olduğu bildirilmiştir (Much ve ark., 2009). Ateba ve Mbewe (2011), Güney Afrika'da yaptıkları araştırmada insan, domuz, sığır, sığır eti ve su numunelerinden oluşan 220 numunede *rbf*_{O157} ve *fli*_{C_{H7}} genlerini 130 izolatta doğrulamıştır. *E. coli* O157:H7 izolatlarının 1'i (%0,77) insan dışkısında belirlenirken *stx2*, *eae* ve *hlyA* genini de tespit etmişlerdir. Boston Çocuk Hastanesi'ne 2004–2009 tarihleri arasında başvuran (Hastalık Kontrol Merkezi) 5110 çocuk hastanın %0,9'unda (50/5110) STEC enfeksiyonu belirlenirken %98,7'sinde (5044/5110) EHEC negatif, %0,6'sında (33/5110) *E. coli* O157:H7 serotipi pozitif, %0,3'ünde (17/5110) *E. coli* O157:H7 negatif olduğu ve her iki O157 ve O157 olmayan STEC'de *stx1* ve *stx2* genini göstermişlerdir (Hermos ve ark., 2011). Nijerya'da 3 farklı bölgede 2006–2011 yılları arasında farklı yaş gruplarında ishal ve/veya gastrointestinal yakınması bulunan ayrıca sağlıklı görünen toplam 1000 kişide %32,9 (316/960) oranında *E. coli* tespit edilirken %2,7 (27/1000) oranında *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığını göstermişlerdir (Isibor ve ark., 2013). Cook Contry'de çocuk bakım merkezinde meydana gelen bir salgında 166 çocuk ve 44 personelin oluşturduğu toplam 210 dışkı numunesinin 31'inde *E. coli* O157:H7 izole edilirken bunların 30'unun çocuk ve 1'inin yetişkin olduğu belirtilmiştir (Gallagher

ve ark., 2013). İngiltere’de meydana gelen benzer bir gıda kaynaklı salgında 19 vakada *E. coli* O₁₅₇ PT₂stx₂ enfeksiyonu belirlenmiş ve bu vakaların 13’ü ile görüşüldüğünde onunun bir marketten aldıkları su teresi tükettiği bildirilmiştir (Launders ve ark., 2013). Virpari ve arkadaşlarının (2013b) Hindistan’da yaptıkları farklı bir çalışmada çiğ süt tüketimi hikâyesine sahip 100 ishal yakınması olan hastanın dışkı numunesinde %59 oranında (59/100) *E. coli*, %6 stx₁, %9 stx₂ ve %15 oranında stx varlığını belirlerken *rfb*O₁₅₇ virulans genini tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Yunanistan’da Pinaka ve arkadaşları (2013) tarafından 667 insan dışkı numunesi API, ELISA ve PCR yöntemi ile *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmış; ELISA yöntemi ile stx₁ ve stx₂ varlığı %0,4 (3/667) oranında düşük titre pozitiflik tespit edilirken PCR yöntemi ile stx₁, stx₂, *rfb*E_{O157}, *fli*C_{h7} ve *eae* geni negatif tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda da görüldüğü gibi EHEC ve *E. coli* O157/O157:H7 gıda kaynaklı salgınlara, hatta ölümlere neden olmaktadır.

Ülkemizde ise Arslantürk ve arkadaşları (1997) Ankara’da yaşları 0–15 arasında değişen diyare şikayetinde bulunan 566 hasta dışkı numunesinin %10’unda sorbitolü fermente etmeyen fekal flora bakterileri izole ederken %0,2’sinde (1/566) *E. coli* O157:H7 izolatını belirlemişlerdir. Benzer bir çalışmada Ankara’da akut gastroenteritli olgularda araştırılan *E. coli* O157:H7, 200 hasta ve 40 kontrol grubunda %1 (2/200) oranında saptadıklarını rapor etmiştir (Taş ve Ardıç, 2004). Gaziantep ilinde beş yaş altı 91 akut ishalleri bireyin dışkı örneğinde *E. coli* O157:H7 (Ekşi ve ark., 2007); Malatya’da ishalleri 104 hasta örneğinde verotoksin üreten *E. coli* ve 940 örnekte *E. coli* O157:H7’yi yaptıkları incelemede belirleyememiştir (İşeri, 2009). Gülhane Askeri Tıp Akademisi’nde (GATA) Haydarpaşa Eğitim Hastanesi’ne ishal yakınması ile başvuran 429 akut ishalleri hasta dışkı numunesinin 129’unda (%30.1) sorbitol negatif koloni saptarken %1,2’sinde (5/429) *E. coli* O157 varlığını ve *E. coli* O157 izolatının tamamında H7 antijenini pozitif saptadıklarını rapor etmiştir (Yeniiz ve ark., 2009). Manisa’da Aralık 2005–Ocak 2006 tarihleri arasında 50 çocuk ve 250 yetişkin toplam 300 hastanın dışkı örneğinde 18 hastada (%6) sorbitol negatif *E. coli* izole edilirken 1 hastada (%0,33) *E. coli* O157:H7 antiserumu ile aglütinasyon gözlediklerini bildirmişlerdir (Gunduz ve ark., 2011). Erdoğan ve arkadaşlarının (2011) Eylül 2005–2008 tarihleri arasında Alanya’da yaptıkları benzer

bir çalışmada gastroenterit şikayetiyle başvuran 1815 olguya (%50,5'i erkek, %49,3'ü ≤ 5 yaş, %10,2'si turist) ait dışkı örneklerinde %0,8 (14/1815) oranında sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* suşu, %0,1 (2/1815) oranında *E. coli* O157:H7 tanımlanmış ve hücre kültürlerinin birinde *vt2*, diğerinin ise hem *vt1* hem de *vt2* ürettiğini rapor etmiştir. Doğu Anadolu'da Kalin ve arkadaşları (2012) insanlardan alınan dışkı numunelerinin %2,7'sinde (10/367) *E. coli* O157 belirlerken H7 antijeninin varlığını ve *stx1-2* / enterohemolizin genini tespit edememiştir. Bir izolatta ise intimin geninin varlığını gösterirken elde edilen izolatlar arasında herhangi bir genetik ilişkiyi bulamamıştır.

Faklı ülkelerdeki araştırmalarda Cornick ve arkadaşları (2002), Alpers ve arkadaşları (2009), Launders ve arkadaşları (2013), Blanco ve arkadaşları (2004b), MacDonald ve arkadaşları (2004), Al-Gallas ve arkadaşları (2006), Grant ve arkadaşları (2008), Sartz ve arkadaşları (2008), Abong'O ve Momba (2008), Much ve arkadaşları (2009), Ateba ve Mbewe (2011), Hermors ve arkadaşları (2011), Isibor ve arkadaşları (2013), Gallagher ve arkadaşları (2013), Launders ve arkadaşları (2013) ve Pinaka ve arkadaşları (2013) *E. coli* O157/O157:H7 suşunu izole ederken Virpari ve arkadaşlarının (2013b) yaptığı araştırma ile uyumlu olup *E. coli* O157/O157:H7 izolatına rastlanmamıştır. İzole edilen suşlarda shigatoksin (*stx*) varlığı Cornick ve arkadaşları (2002), Launders ve arkadaşları (2013) ve Blanco ve arkadaşlarının (2004b), Virpari ve arkadaşlarının (2013b) çalışmasından düşük, Ateba ve Mbewe (2011), Hermors ve arkadaşlarının (2011) ve Pinaka ve arkadaşlarının (2013) yapmış olduğu çalışmadan yüksek oranda tespit edilmiştir. Ülkemizdeki incelemere göre çalışmamızda elde edilen sorbitol negatif *E. coli* suşları Arslantürk ve arkadaşları (1997), Erdoğan ve arkadaşları (2011) ve Gunduz ve arkadaşlarının (2011) tespitlerine göre yüksek, Yeniiz ve arkadaşlarının (2009) tespitlerine göre düşük oranda belirlenmiştir. Ayrıca tespit edilen suşlarda *E. coli* O157/O157:H7 varlığı Arslantürk ve arkadaşlarının (1997), Taş ve Ardıç (2004), Yenizi ve arkadaşlarının (2009), Erdoğan ve arkadaşlarının (2011), Gündüz ve arkadaşlarının (2011), Kalin ve arkadaşlarının (2012) çalışmasından düşük oranda, Ekşi ve arkadaşlarının (2007) ve İşeri ve arkadaşlarının (2009) çalışmasıyla benzer olup tespit edilememiştir.

Günümüze kadar ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda *E. coli* O157/O157:H7 serotipinin izole edilememesi ya da çok az oranda izole edilmesinin nedeni, yeteri kadar hasta sayısı ve semptomatik hastaların olmaması gösterilebilir. Bunun yanı sıra çok az miktarda olsa bile toksin varlığının tespit edilmesi araştırmada yeterli hasta sayısına ulaşıldığında *E. coli* O157/O157:H7 izolatının tespit edilebileceğinin ipuçlarını vermektedir. Bu sebeple sağlıklı veriler alabilmemiz için daha çok olgu sayısını kapsayan özellikle HUS, TTP ve kanlı ishalleri semptomatik hasta grubuna ve uzun süreli çalışmalara ihtiyacımız vardır.

5. SONUÇ

İnsanlar, direkt temas yoluyla patojeni taşıyan hayvanların dışkılarıyla, kontamine su ve toprakla, az pişmiş ya da çiğ et ve et ürünleri ya da diğer hayvansal ürünler ile kontamine sebze ve meyvelerin tüketimi ile enfekte olabilmektedir. *E. coli* O157/O157:H7 minimal enfeksiyon dozu düşük ve ciddi enfeksiyon oluşturabilme yeteneğine sahip patojen bir mikroorganizmadır. Diğer serogrupları içeren (O26, O91, O103, O104, O111, O113, O117, O118, O121, O128 ve O145) EHEC’li enfeksiyonlar, giderek hemorajik kolit ve HUS’un nedenlerini oluşturmaktadır. Çalışmamızda farklı oranlarda *E. coli* O157 varlığı saptanırken H7 antijeni tespit edilememiştir. Bunun yanı sıra EHEC toksin genlerinin ve *E. coli* O157 izolatının farklı oranlarda varlığı potansiyel bir enfeksiyon kaynağını oluşturmaktadır. Bu sebeple hayvanlardan veya çevresinden gıda ve gıda ürünlerine geçişin önlenmesinde iyi hijyen, yemeğin hazırlanmasında ya da özellikle yemek yemeden önce sıklıkla ellerin yıkanmasına özen gösterilmelidir. Halk sağlığı açısından “çiftlikten çatala kadar” güvenli gıda temini için hijyen yönünden temiz bir işletmenin sağlanmasının yanında işletme ve devlet yönetimi arasında multidisipliner bir anlayışı oluşturarak disiplinler arasında koordinasyonun sağlanması gerekmektedir.

Yaptığımız araştırmada, ülkemizde ve dünyadaki farklı ülkelerde bulunan sığırlarda ve bazı gıdalardaki *E. coli*O157 ve EHEC *stx* oranlarının belirlenmesine yönelik araştırmalar karşılaştırıldığında farklı oranların görülmesi, hayvanların beslenmesi, coğrafik dağılımı, süt sağım sırasında uygulanan yöntem ve kullanılan alet-ekipmanın hijyenik koşullarının farklılığı, kullanılan bakteriyel izolasyon yöntemlerindeki farklılık ve işletmelerde çalışan personelin hijyen kurallarına yeterince dikkat etmemesi gösterilebilir.

Öneriler:

1. Gıda ürünlerinde *E. coli* O157'nin belirlenmesi mikrobiyolojik kalitenin düşük seviyede olduğunu ve halk sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir. Bu sebeple gıda ürünlerin mikrobiyolojik kalitesinin artırılması gerekmektedir.
2. Mikroorganizma ile kontamine olması muhtemel çiğ, az pişmiş et ve et ürünleri ile çiğ süt ya da pastörize edilmemiş süt tüketilmemelidir.
3. Mikroorganizma ile kontamine olmuş su ile sulanmış ya da kontamine dışkı ile gübrelenmiş sebze ve meyveler temiz su ile bol bol yıkanarak tüketilmelidir.
4. Kontaminasyona açık olan gıda üretim yerlerinde çalışan personel hijyen kurallarına uymalıdır.
5. Yemek yapılırken mutlaka hijyen kuralları çerçevesinde hareket edilmelidir.
6. Hayvanların beslenmesinde kontamine yem ve su kullanılmamalıdır.

6. ÖZET

Gıda kaynaklı enfeksiyöz hastalıklar, insanlar ve toplum sağlığı için ciddi bir tehdittir. Bu etkenlerden birisi olan *E. coli*'nin toksin üreten suşları (Shiga–toksin-STECC veya Verotoksin–VTECC) ciddi enfeksiyonlara hatta ölümlere sebep olabilmektedir. STECC'nin temel rezervuarı sığırlardır ve sığırlarda klinik hastalığa neden olmazken insanlarda ciddi formda gıda kaynaklı enfeksiyonlar yapar. İnsanlar, direkt temas yoluyla taşıyıcı hayvanların dışkılarıyla, kontamine su ve toprakla, az pişmiş kıyma ya da diğer hayvansal ürünler ile kontamine sebze ve meyvelerin tüketimi ile enfekte olabilmektedir. *E. coli* O157 minimal enfeksiyon dozu düşük ve ciddi enfeksiyon oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Çalışmada, Afyonkarahisar ili ve ilçelerinde bulunan yaşları 2–4 arasında değişen hayvanların dışkı ve aynı hayvanların sütlerinde, sucuk, salata gibi gıdalarda ve ishal yakınmalı hastaların dışkılarında *E. coli* O157:H7, EHECC ve toksin genlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla Afyon'un farklı bölgelerinden (Şuhut, Sinanpaşa, Tatarlı / Haydarlı, Bolvadin) toplanan 237 hayvan dışkısı ve bu hayvanlardan bir kısmına ait 162 süt örneği, 106 sucuk ve 103 salata numunesinin yanı sıra Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi polikliniklerine ishal yakınması ile başvuran 110 hastanın dışkı numunesi olmak üzere toplam 718 örnek kültür amacıyla bakteri zenginleştirilmesi için, modifiye Tryptic Soy Broth (mTSB) besiyerinde yapılmıştır. İnsan örneklerinde parazitler ve diğer sık karşılaşılan bakteriler konvansiyonel tanı yöntemleri ile ekarte edildikten sonra sırasıyla önce Cefixime–Tellurite Sorbitollü MacConkey Agar (CT–SMACC) besiyerine, sonra burada üreyen sorbitolu fermente etmeyen üçer koloni seçilerek 4–methylumbelliferyl b–D–glucuronide'li (MUG) Violet Red Bile Agara (VRBA) pasaj yapılmış, plaklar 37°C de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen kolonilere identifikasyon amacıyla UV cihazının ışık kaynağının üzerine plaklar konularak UV testi (Herolab UVT – 20 M, Germany) (366 nm) yapılmış ve floresan ışığa vermeyen koloniler seçilerek Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Kligler Agar, Citrat, Üre gibi biyokimyasal ayrıştırma testlerine tabi tutulmuştur.

Testler sonucunda incelenen 237 hayvan dışkı numunesinin 63'ünde (%26,58), 162 adet çiğ süt numunesinin 32'inde (%19,75), 106 sucuk numunesinin 13'ünde (%12,26), 103 salata numunesinin 17'nde (%16,5) ve 110 hasta dışkısının 15'inde (%13,63) sorbitolü fermente etmeyen *E. coli* izolat varlığı belirlenmiş, bu izolatlara uygulanan lateks aglütinasyon testi (Wellcolex, Remel UK) sonucunda, hayvan dışkısında %5,48 (13/237), çiğ sütte %2,46 (4/162), sucukta %0,94 (1/106) O157 antijeni belirlenirken numunelerin hiçbirinde H7 antijeni saptanmamıştır. Ayrıca Realtime PCR ile EHEC (ABI 7500 Fast, England) (Liferiver, China) testi ile hayvan dışkısında %20,6 (49/237), çiğ sütte % 16,6 (27/162), sucukta % 1,8 (2/106), salatada %3,8 (4/103) ve hasta dışkı örneğinde %1,81 (2/110) oranında *stx* toksin geni belirlenmiştir.

EHEC'li Enfeksiyonların ciddi morbidite ve mortalite ile seyretmesi, hemolitik üremik sendrom ve hemorajik kolit gibi komplikasyonlara yol açması ve epidemiyolojik önemi nedeniyle, en azından kanlı dışkılama şikayeti ile başvuran hastalarda *E. coli* O157:H7'nin araştırmasının gerekliliği bir kere daha ortaya konulmuştur. Temas ile hayvanlardan ve çevresinden kontaminasyonun önlenmesinde iyi hijyen, yemek hazırlanması ya da yemek yemeden önce sıklıkla ellerin yıkanması gerekmektedir. Çiftlikten çatala kadar güvenli gıda temini için hijyenik bir işletmenin sağlanmasının yanında işletme ve devlet yönetimi arasında multidisipliner bir anlayışı oluşturarak disiplinler arasında koordinasyonun sağlanması gerekmektedir.

7. SUMMARY

Infectious diseases originating from foods constitute a serious threat for human and public health. The toxin-producing strains of *E. coli*, which one of these causative organisms, (Shiga-toxin-STE_C or Verotoxin-VTE_C) can cause serious infections, and even death. The basic reservoir of STE_C is the cattle, and although it does not cause clinical disease in the cattle, it causes serious food-origin infections in humans. Humans can be infected through direct contact with the stools of carrier animals, contaminated water and soil, with consumption of half-done minced meat other animal-origin products or contaminated vegetables or fruits. Minimal infectious dose of *E. coli* O157 is low, and it has the capability of causing serious infections. In this study, it was aimed at detecting *E. coli* O157:H7, EHEC and toxin genes in stools of animals aged between 2 and 4 found in Afyonkarahisar Province and districts and in milk, products including fermented sausage and salad, and in the stools of patients with diarrhea.

With this purpose, 718 specimens consisting of stools of 237 animals collected from different areas in Afyon (Şuhut, Sinanpaşa, Tatarlı / Haydarlıand Bolvadin) and 162 milk specimens from some of these animals, 106 fermented sausage specimens and 103 salad specimens as well as stool specimens of 110 patients who applied to outpatient clinics of Afyon Kocatepe University Hospital with diarrhea were cultured in modified Tryptic Soy Broth (mTSB) medium for bacterial enrichment. After eliminating the parasites and commonly seen bacteria in the human specimens with conventional diagnostic methods, they were first passed to MacConkey Agar (CT-SMAC) medium containing Cefixime-Tellurite Sorbitol; after this three colonies that grew in this medium from each that did not ferment sorbitol were selected and passed to Violet Red Bile Agar (VRBA) medium containing 4-methylumbelliferyl b-D-glucuronide (MUG) and were plaques left to incubate for 18 hours at 37°C. Colonies that grew during the incubation were subjected to UV (Herolab UVT – 20 M, Germany) test (366 nm) by with identification purposes by placing plaques on the light source of the UV device, and those colonies that did not produce fluorescencetradiation were selected and subjected

to biochemical separation tests including Indole, Methyl Red, Voges Proskauer, Kligler Agar, Citrate and Urea.

As a result of the tests, existence of *E. coli* that does not ferment sorbitol was found in 63 specimens out of 237 animal stool specimens tested (26,58%), in 32 raw milk specimens out of 162 specimens tested (19,75%), in 13 fermented sausage specimens out of 106 specimens tested (12,26%), in 17 specimens out of 103 specimens tested (16,50%) and in 15 patient stool specimens out of 110 specimens tested (13,63%); and with the latex agglutination tests carried out on these isolates (Wellcolex, Remel UK) O157 antigen was detected 5,48% in animal stool (13/237), 2,46% in raw milk (4/162), and 0,94% in fermented sausage (1/106), H7 antigen was found in none. Furthermore, *stx* toxin gene has been detected EHEC (ABI 7500 Fast, England) (Liferiver, China) test using Real-time PCR in animal stool by 20,6% (49/237), in raw milk by 16,6% (27/162), in fermented sausage by 1,8% (2/106), in salads by 3,8% (4/103) and in patients' stool specimens by 1,81% (2/110).

The serious morbidity and mortality of EHEC infections with complications including hemolytic uremic syndrome and hemorrhagic colitis, and its epidemiologic significance, show the requirement of investigating *E. coli* O157:H7 at least in patients presenting with bloody stool. Good hygiene and hand washing before eating and preparing food is required to prevent contamination from contact with animals and their surroundings. Ensuring the safe supply of food requires hygienic operation from the farms to table ware as well as interdisciplinary coordination through the creation of a multidisciplinary understanding between the operations and the state management.

8. KAYNAKLAR

- ABADIAS, M., USALL, J., ANGUERA, M., SOLSONA, C., VIÑAS, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*. **123**: 121 – 129.
- ABONG'O, B.O., MOMBA, M.N.B. (2008). Prevalence and potential link between *E. coli* O157:H7 isolated from drinking water, meat and vegetables and stools of diarrhoeic confirmed and non-confirmed HIV/AIDS patients in the Amathole District-South Africa. *Journal of Applied Microbiology*. **105**(2): 424 – 431.
- ABONG'O, B.O., MOMBA, M.N.B. (2009). Prevalence and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from meat and meat products sold in Amathole District, Eastern Cape Province of South Africa. *Food Microbiology*. **26**: 173 – 176.
- AGEL, E. (2007). Erişim adresi: <http://www.sdplatform.com/Dergi/66/Gidalarin-halk-sagligi-ve-ekonomik-acisindan-onemi.aspx> Erişim tarihi: 18 Eylül 2014.
- AHMED, A.M., SHIMAMOTO, T. (2014). Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*. **168** – **169**: 57 – 62.
- AJJAMPUR, S.S., RAJENDRAN, P., RAMANI, S., BANERJEE, I., MONICA, B., SANKARAN, P. ve ark. (2008). Closing the diarrhoea gap in Indian children by the application of molecular techniques. *J. Med. Microbiol.* **57**: 1364-1368.
- AKIN, N., KARAKAYA, M., KEFİ, S. (2014). Erişim adresi: http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/6072923bfc3cf47_ek.pdf?tipi=14 Erişim tarihi: 10 Eylül 2014.
- AKKAYA, L, ALISARLI, M., CETINKAYA, Z., TELLİ, R., GÖK, V. (2008b) The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7/O157, *Listeria monocytogenes* and

- Salmonella* spp. on bovine carcasses in Turkey, *Journal of Muscle Foods*. **19**(4): 420 – 429.
- AKKAYA, L, ALİŞARLI, M, ÇETİNKAYA, Z, KARA, R, TELLI, R. (2008a) Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7/O157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef slaughterhouse environments, equipment and workers, *Journal of Muscle Foods*. **19**(3): 261 – 274.
- AKKAYA, L., ALİŞARLI, M., KARA, R., TELLI, R. (2007). Afyonkarahisar’da tüketime sunulan çiğ süt ve peynirlerde *E. coli* O157:H7 varlığının belirlenmesi. *YYÜ Vet. Fak. Derg.* **18**(1): 1 – 5.
- AKKAYA, L., KENAR, B., ÇETİNKAYA, Z., ALİŞARLI, M. (2006). Sığır diskılarında verocytotoksijenik *Escherichia coli* O157:H7'nin prevalansı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*. 24 – 26 Mayıs 2006. Bolu. 769.
- AKTEPE, C. (2009). *Enterobacteriaceae: Giriş ve Tanımlama*. Çev. Edit. BAŞUSTAOĞLU, A.C. Klinik Mikrobiyoloji. 9. Baskı. Cilt. 1. *Atlas Yayıncılık*. Ankara. 649 – 670.
- ALAM, M.J., ZUREK, L. (2006). Seasonal prevalence of *Escherichia coli* O157 in beef cattle faeces. *Journal of Food Protection*. **69**(12): 3018 – 3020.
- AL-GALLAS, N., BAHRI, O., AISSA, R.B. (2006). prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a diarrheagenic Tunisian population, and the reported of isolating STEC O157:H7 in Tunis. *Current Microbiology*. **53**: 483 – 490.
- ALHELFI, N.A., ADAM, H., JONES, D.L., WILLIAMS, A.P. (2013). Absence of *E. coli* O157:H7 in sheep and cattle faeces in North Wales. *Veterinary Record*. **173**:143.
- ALİŞARLI, M., AKMAN, H.N. (2004). Perakende satılan kıymaların *Escherichia coli* O157 yönünden incelenmesi. *YYÜ Vet. Fak. Derg.* **15**(1-2):65-69.
- ALPERS, K., WERBER, D., FRANK, C., KOCH, J., FRIEDRICH, A.W., KARCH, H., an der HEIDEN, M., PRAGER, R., FRUTH, A., BIELASZEWSKA, M., MORLOCK, G., HEISSENHUBER, A., DIEDLER, A., GERBER, A., AMMON, A. (2009). Sorbitol-fermenting enterohaemorrhagic

- Escherichia coli* O157:H⁺ causes another outbreak of haemolytic uraemic syndrome in children. *Epidemiology and Infection*. **137**(3): 389 – 395.
- ARSLAN, D. (2008). İshal oluşturan *Escherichia coli* infeksiyonları: epidemiyoloji, klinik, tedavi. *Ankem Dergisi*. **22**(2): 192 – 196.
- ARSLANTÜRK, A., ZARAKOLU, P., GÜVENER, E. (1997). Çocuk yaş grubu akut enterokolit olgularında etken olarak *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin araştırılması. *Klimik Derg.* **10**(3): 122 – 124.
- ASLANTAŞ, Ö., ERDOĞAN, S., CANTEKİN, Z., GULAÇTI, I., EVRENDİLEK, G.A. (2006). Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from Turkish cattle. *International Journal of Food Microbiology*. **106**: 338 – 342.
- ATABAY, H.İ. (2011). çiftlikten çatala gıda hijyeni. **31**: 14 – 15. Erişim adresi: <http://www.ekolojimagazin.com/?s=magazin&id=610> Erişim tarihi: 14 Şubat 2012.
- ATEBA, C.N., MBEWE, M. (2011). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 virulence genes in isolates from beef, pork, water, human and animal species in the northwest province, South Africa: public health implications. *Research in Microbiology*. **162**: 240 – 248.
- AYDIN TUTAK, G. (2010). Gastroenterit etkeni olabilen patojen *Escherichia coli*'lerin araştırılması. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. *Uzmanlık Tezi*. Edirne.
- AYDIN, F., İÇA, T., YONTAR, A. (2010). Kayseri yöresinde süt sığırlarında *Escherichia coli* O157:H7' nin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi*. **19**(3): 159 – 166.
- BALPETEK, D., GÜRBÜZ, Ü. (2010). Bazı et ürünlerinde *E. coli* O157:H7 varlığının araştırılması. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*. **26**(1): 25 – 31.
- BANERJEE, S. (2009). Hemolytic uremic syndrome. *Indian Pediatrics*. **46**: 1075 – 1084.

- BARON, E.J., PETERSON, L.R., FINEGOLD, S.M. (1994). *Enterobacteriaceae*. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th ed. St Louis: Mosby. 362 – 365.
- BELK, K.E. (2000). Beef decontamination technologies. Erişim adresi: <http://www.beefresearch.org/CMDocs/BeefResearch/ACFFC.pdf> Erişim tarihi: 06 şubat 2012.
- BERGER, C.N., SODHA, S.V., SHAW, R.K., GRIFFIN, P.M., PINK, D., HAND, P., FRANKEL, G. (2010). Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environ. Microbiol.* **12**(9): 2385 – 2397.
- BINGOL, E.B., DUMEN, E., KAHRAMAN, T., AKHAN, M., ISSA, G., ERGUN, O. (2013). Prevalence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in meat and meat products consumed in Istanbul. *Medycyna Weterynaryjna*. **69**(8): 488 – 491.
- BİLGEHAN, H. (2000). *Escherichia*. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Klinik Mikrobiyoloji. Fakülteler Kitabevi. *Barış Yayınları*. 10. Baskı. İzmir. 3-17.
- BLANCO, J.E., BLANCO, M., ALONSO, M.P., MORA, A., DAHBI, G., COIRA, M.A., BLANCO, J. (2004b). Serotypes, virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from human patients: prevalence in Lugo, Spain, from 1992 through 1999. *Journal Of Clinical Microbiology*. **42**(1): 311 – 319.
- BLANCO, M., BLANCO, J.E., MORA, A., DAHBI, G., ALONSO, M.P., GONZÁLEZ, E.A., BERNÁRDEZ, M.I. BLANCO, J. (2004a). Serotypes, virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-ζ). *J. Clin. Microbiol.* **42**(2): 645 – 651.
- BODUR, H., AKINCI E, G. (2012). Avrupa ülkelerinde görülen enterohemorajik *E. coli* (EHEC) salgını. https://www.google.com.tr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCoQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.edirne.halksagligi.gov.tr%2Fhsm%2FDOSYALAR%2FBULASICI_HASTALIKLA

R_CEVRE_VE_CALISAN_SAGLIGI%2FBULASICI_HASTALIKLAR%2F BILGI_NOTLARI_VE_DIGER_DOKUMANLAR%2FEHEC%2520Hakk%25C4%25B1nda%2520Bilgi%2520Notu.doc&ei=OJTQUY_9LIWSswaulYHgCw&usg=AFQjCNGq2U4KBPCGD-wcItaNidiyDHQuPA. Erişim tarihi: 03.08.2012.

- BOLTON, D.J. (2011). Verocytotoxigenic (shiga toxin-producing) *Escherichia coli*: virulence factors and pathogenicity in the farm to fork paradigm. *Foodborne Pathog. Dis.* **8**: 357 – 365.
- BRENNER, D.J., FANNING, G.R., MIKLOS, G.V., STEIGERWALT, A.G. (1973). Polynucleotide sequence relatedness among *Shigella* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **23**(1): 1 – 7.
- BROWN, M. (2000). HACCP in the meat industry. Woodhead Publishing in Food Science and Technology. Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- BUCHANAN, R.L., DOYLE, M.P. (1997). Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technology.* **51**(10): 69 – 76.
- CANİZALEZ-ROMAN, A., GONZALEZ-NUÑEZ E., VIDAL J.E., FLORES-VILLASEÑOR H., LEÓN-SICAIROS N. (2013). Prevalence and antibiotic resistance profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from food items in northwestern Mexico. *International Journal of Food Microbiology.* **164**: 36 – 45.
- CARPENTER, C.C.J. (1989). Diarrheal disease caused by *Escherichia coli*. In: Hoeprich P.D., Jordan M.C. eds. Infection Diseases. 4th ed. Philadelphia: J.B. Lippincot Company. 698.
- CDC (Center for Disease Control and Prevention). (2009). Multistate *Outbreak* of *E. coli* O157:H7 infections linked to eating raw refrigerated, prepackaged cookie dough, National Center for Zoonotic, Vector-Borne, and Enteric Diseases (ZVED).

- CDC (Center for Disease Control and Prevention). (2014). Erişim adresi: <http://www.cdc.gov/ecoli/> Erişim tarihi: 18 Aralık 2014.
- CFSPH (the Center for Food Security & Public Health). (2009). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections. verocytotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC), shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC), *Escherichia coli* O157:H7. May 2009. 1-10. Erişim adresi: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/e_coli.pdf. Erişim tarihi: 14 Eylül 2014.
- CHANG, W.S., AFSAH-HEJRI, L., RUKAYADI, Y., KHATIB, A., LYE, Y.L., LOO Y.Y., MOHD SHAHRIL, N., PUSPANADAN, S., KUAN, C.H., GOH, S.G., JOHN, Y.H.T., NAKAGUCHI, Y., NISHIBUCHI, M., SON, R. (2013). Quantification of *Escherichia coli* O157:H7 in organic vegetables and chickens. *International Food Research Journal*. **20**(2): 1023 – 1029.
- CHARIMBA, G., HUGO, C., HUGO, A. (2012). The incidence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in minced beef and boerewors. *Food Research International*. **47**: 353 – 358.
- CHART, H. (2000). VTEC enteropathogenicity. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*. **88**: 12 – 23.
- ČÍŽEK, A., ALEXA, P., LITERA, K, I., HAMRŮK, J., NOVA, K, P., SMOLA, J., (1999). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle and Norwegian rats from a large-scale farm. *Letters in Applied Microbiology*. **28**: 435 – 439.
- COIA, J.E. (1998). Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157: H7 infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. **20**: 1 – 9.
- CONEDERA, G., CHAPMAN, P.A., MARANGON, S., TISATO, E., DALVIT, P., ZUIN, A. (2001). A field survey of *Escherichia coli* O157 ecology on a cattle farm in Italy International. *Journal of Food Microbiology*. **66**: 85 – 93.
- CORNICK, N.A., JELACIC, S., CIOL, M.A., TARR, P.I. (2002). *Escherichia coli* O157:H7 infections: discordance between filterable fecal shiga toxin and disease outcome. *The Journal of Infectious Diseases*. **186**: 57 – 63.

- ÇALICIOĞLU, M., ÖKSÜZTEPE, G.A., İLHAK, O.İ., DİKİCİ, A. (2005). Elazığ'da Sığır karkaslarının yüzey kontaminasyonunun belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bil. Dergisi*. **19**(1): 69 – 73.
- ÇİÇEK, E., SAVAŞAN, S. (2010). Ege Bölgesi'ndeki sığırların süt ve dışkı örneklerinden *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu ve verotoksinlerinin belirlenmesi. *Etlik Vet. Mikrobiyol Derg.* **21**: 51 – 56.
- DENNY, J., BHAT, M., ECKMANN, K.. (2008). Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with raw milk consumption in the Pacific Northwest. *Foodborne Pathog. Dis.* **5**(3):321-328.
- DOĞAN, H.B, ÇAKIR, İ, BAŞPINAR, E, HALKMAN, A.K. (2002). Comparison of LST + MUG broth technique and conventional method for the enumeration of *Escherichia coli* in foods. *Lett. Appl. Microbiology.* **34**(4): 274 – 278.
- DONTOROU, C., PAPADOPOULOU, C., FILIOUSSIS, G., ECONOMOU, V., APOSTOLOU, I., ZAKKAS, G., SALAMOURA, A., KANSOUZIDOU, A., LEVİDİOTOU, S. (2003). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. *International Journal of Food Microbiology.* **82**: 273 – 279.
- DUFFY, G., WHITING, R., SHERIDAN, J. (1999). The Effect of competitive microflora, pH and temperature on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Micr.* **16**: 299 – 307.
- DUNN, J.R., KEEN, J.E., del VECCHIO, R., WITTUM, T.E., THOMPSON, R.A. (2004). *Escherichia coli* O157:H7 in a cohort of weaned, preconditioned range beef calves. *Journal of Food Protection.* **67**(11): 2391 – 2396.
- EKŞİ, F., KARSLIGİL, T., BAYRAM, A. (2007). Çocukluk yaş grubu ishallerinde *Escherichia coli* O157:H7'nin araştırılması. *Van Tıp Dergisi.* **14**(1): 15–18.
- ELDER, R.O., KEEN, J.E., SIRAGUSA, G.R., BARKOCY-GALLAGHER, G.A., KOOHMARAIE, M., LAEGREID, W.W. (2000). Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *PNAS* (www.pnas.org). **97**(7): 2999 – 3003.

- ELLIOTT, E.J.,ROBINS-BROWNE, R.M. (2005). Hemolytic uremic syndrome. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc Health Care.* **35**: 310 – 330.
- ELLIOTT, S.J., HUTCHESON, S.W., DUBOIS, M.S., MELLIES, J.L., WAINWRIGHT, L.A., BATCHELOR, M., FRANKEL, G., KNUTTON, S., KAPER, J.B. (1999). Identification of Cst, a chaperone for the type III secretion of Tir in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **33**(6): 1176 – 1189 .
- ERDEM, B. (1999). *Enterobacteriaceae* .Edit. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. *Güneş Kitabevi*. Sıhhiye. Ankara. 472 – 489.
- ERDOĞAN, H., LEVENT, B., ERDOĞAN, A., GÜLEŞEN, R., ARSLAN, H. (2011). Gastroenteritli olgularda verotoksijenik *Escherichia coli* O157:H7 insidansının araştırılması. *Mikrobiyol. Bul.* **45**(3): 519 – 525.
- ERKMEN, O. (2010). Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* **53**: 220 – 235.
- EROL, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. *Pozitif Matbaacılık Ltd. Sti.* Çamlıca Mah. 12. Sk. No: 10/16. Yenimahalle, Ankara. 15 – 172.
- ERTAS, N., GONULALAN, Z., YILDIRIM, Y., KARADAL, F., ABAY, S., AL, S. (2013). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 using immunomagnetic separation and mPCR in Turkish foods of animal origin. *Letters in Applied Microbiology.* **57**: 373 – 379.
- FDA. (2011). BAM - Diarrheagenic *Escherichia coli* bacteriological analytical manual chapter 4a. Erişim adresi: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm#fn11> Erişim tarihi: 18 Kasım 2014.
- FDA. (2012). BBB *Escherichia coli* O157:H7 (EHEC). Erişim adresi: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm071284.htm> Erişim tarihi: 19 Ekim 2013.
- FENG, P. (1995). *Escherichia coli* serotype O157:H7 novel vehicles of infection and emergence of phenotypic variants. *Emerging Infect Dis.* **1**(2): 47 – 52.

- FENG, P., WEAGANT, S.D. (2011). Diarrheagenic *Escherichia coli*. BAM (Bacteriological Analytical Manual). Chapter 4A. 1 – 20.
- FENG, P.C.S., HARTMAN, P.A. (1982). Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**(6): 1320 – 1329.
- FINDIK, D. (2008). *Escherichia* türleri. Edit. WILLKE TOPCU, A. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. Baskı. Cilt 2. *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul. 2136 – 2147.
- FRAMPTON, E.W, RESTAINO, L. (1993). Methods for *E. coli* identification in food, water and clinical samples based on β -glucuronidase detection. *J. Appl. Bacteriol.* **74**(3): 223 – 233.
- FRIEDRICH, A.W., BIELASZEWSKA, M., ZHANG, W.L., PULZ, M., KUCZIUS, T., AMMON, A., KARCH, H. (2002). *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J. Infect. Dis.* **185**: 74 – 84.
- GALLAGHER, L., SOYEMI, K., CONOVER, C., AUSTIN, C., SAATHOFF-HUBER, L., NELSON, S., CHUDOBA, M., VERNON, M. (2013). Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in a child care center in Cook County, Illinois, with prolonged shedding and household transmission. *American Journal of Infection Control.* **41**(10): 936 – 938.
- GÖKALP, H.Y., KAYA, M., ZORBA, Ö. (1997). Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi yayın No: 786, Ziraat Fakültesi Yayın No: 320, Ders Kitapları Serisi No: 70. Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- GRANT, J., WENDELBOE, A.M., WENDEL, A., JEPSON, B., TORRES, P., SMELSER, C., ROLFS, R.T. (2008). Spinach-associated *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak, Utah and New Mexico, 2006. *Emerging Infectious Diseases.* **14**(10): 1633 – 1636.
- GUNDUZ, T., CUMEN, S., ARI, A., DEMIREL, M.M., ETİZ, S., TAY, Z. (2011). Microbiological investigation of stool in patients with acute diarrhea. *African Journal of Microbiology Research.* **5**(4): 456 – 458.

- GUNN, G.J., MCKENDRICK, I.J., TERNENET, H.E., THOMSON-CARTER, F., FOSTER, G., SYNGE, B.A. (2007). An investigation into factors associated with the prevalence of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 shedding in Scottish beef cattle. *The Veterinary Journal*. **174**: 554–564.
- GÜL, F., ONAL, A.E. (2008). Halk sağlığı açısından gıda analizlerinin önemi. *Nobel Med.* **4**(3): 07 – 14.
- GÜNEŞ, V., ÜNVER, A., ÇİTİL, M., ERDOĞAN, H.M. (2004). Kars yöresi neonatal buzağı ishallerinde *Escherichia coli* serotip O157 ve *Clostridium perfringens* tip a a-toksini. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* **10**(1): 41 – 45.
- GYLES, C.L. (2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. *Journal of Animal Science*. **85**(1): 45–62.
- HAAS, C.N., BETZ, L.D., THAYYAR-MADABUSÍ, A., ROSE, J.B., GERBA, C.P. (1998). A quantitative risk assessment model for *Listeria monocytogenes* and *E. coli* O157:H7. Erisim adresi: <http://www.pages.drexel.edu/~haascn/L&EC.pdf>, Erisim tarihi: 01 Şubat 2012.
- HALKMAN, A.K., NOVEİR, M.R. DOĞAN, H.B. (2001). *Escherichia coli* O157:H7 serotipi. *Sim Matbaacılık Ltd. Şti.*, Ankara.1 – 36.
- HALKMAN, A.K., NOVEİR, M.R., DOĞAN, H.B. (1998). Çeşitli hayvansal gıda ürünlerinde *E. coli* O157:H7 aranması. TÜBİTAK-VHAG-1192 nolu proje. Ankara. Basılmamış. 76. In: Noveir, M.R., Doğan, H.B., Halkman, A.K. (2000). Çeşitli hayvansal gıdalarda *Enterobacteriaceae* üyelerinin varlığı. *Gıda*. **25**(6): 423 – 428.
- HERMOS, C.R., JANINEH, M., HAN, L.L., MCADAM, A.J. (2011). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in children: Diagnosis and clinical manifestations of O157:H7 and non-O157:H7 infection. *Journal of Clinical Microbiology*. **49**(3): 955 – 959.
- HEUVELINK, A.E., VAN DEN BIGGELAAR, F.L.A.M., DE BOER, E., HERBES, R.G., MELCHERS, W.J.G., HUIJ IN'T VELD, J.H.J., MONNENS, L.A.H. (1998). Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia*

- coli* O157 strains from dutch cattle and sheep. *Journal of Clinical Microbiology*. **36**(4): 878 – 882.
- HOEY, D.E., CURRIE, C., ELSE, R.W., NUTIKKA, A., LINGWOOD, C.A., GALLY, D.L., SMITH, D.G. (2002). Expression of receptors for verotoxin 1 from *Escherichia coli* O157 on bovine intestinal epithelium. *J. Med. Microbiol.* **51**: 143 – 149.
- HUSSEIN, H.S., BOLLINGER, L.M. (2008). Influence of selective media on successful detection of shiga toxin–producing *Escherichia coli* in food, fecal, and environmental samples. *Foodborne Pathogens and Disease*, **5** (3): 227 – 244.
- HYDE, R. (2011). Germany reels in the wake of *E. coli* outbreak. *Lancet*. **377**: 1991.
- ILSI. (2001). Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Erişim adresi: http://www.ilsa.org/Europe/Publications/R2001_App_Con.pdf. Erişim Tar. 14 Mayıs 2013.
- ISIBOR, J.O., EKUNDAYO, A.O., OHENHEN, R.E., ORHUE, P.O. (2013). *Escherichia coli* O157:H7- prevalence and risk factors of infection in Edo State, Nigeria. *American Journal of Research Communication*. **1**(3): 35 – 49.
- ISLAM, M.A., MONDOL, A.S., DE BOER, E., BEUMER, R.R., ZWIETERING, M.H., TALUKDER, K.A., HEUVELINK, A.E. (2008). Prevalence and genetic characterization of shiga toxin- producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Applied And Environmental Microbiology*. **74**(17): 5414 – 5421.
- İŞERİ, L. (2009). Verotoxin-producing *Escherichia coli* in faecal specimens of patients with diarrhea in Malatya-Turkey. *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.* **29**(4): 987 – 990.
- İZGÜR, M. (1999). *Enterobacteriaceae* familyası. Fakültatif anaerobik gram negatif çomaklar. Özel Mikrobiyoloji. Eds: Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M., Diker, K.S. *Medisan Yayınevi*. Dışkapı. Ankara. 45 – 59.

- JERSE, A.E., YU, J., TALL, B.D., KAPER, J.B. (1990). A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**: 7839 – 7843.
- JO M.Y., KIM J.H., LIM J.H., KANG M.Y., KOH H.B., PARK Y.H., YOON D.Y., CHAE J.S., EO S.K., LEE J.H. (2004). Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157 from major food animals in Korea. *International Journal of Food Microbiology.* **95**: 41–49.
- JOHANNESSEN, G.S., LONCAREVIC, S., KRUSE, H. (2002). Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *International Journal of Food Microbiology.* **77**: 199 – 204.
- JOKLIK, W.K., WILLETT, H.P., EMOS, D.B., WILFERT, C.M. (1992). Zinsser microbiology 20th ed. Norwalk, Connecticut: *Appleton & Lange.* 544.
- KAHRAMAN, T., AYDIN, A. (2009). Prevalence of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in meat and meat products in Turkey. *Archiv fur Lebensmittelhygiene.* **60**(1): 6 – 11.
- KALENDER, H. (2013). Isolation, virulence genes and antimicrobial susceptibilities of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughtered cattle in abattoirs and ground beef sold in Elazığ. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* **19** (3): 461 – 467.
- KALIN, R., ONGOR, H., CETINKAYA, B. (2012). Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 from broiler and human samples. *Foodborne Pathogens and Disease.* **9**(4): 313 – 318.
- KAPER, J.B., ELLIOTT, S., SPERANDIO, V., PERNA, N.T., MAYHEW, G.F., BLATTNER, F.R.. (1998). Attaching and effacing intestinal histopathology and the locus of enterocyte effacement. In: J. B. Kaper and A. D. O'Brien (ed.), *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 163 – 182.
- KAPER, J.B., NATARO, J.P., MOBLEY, H.L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**: 123 – 140.

- KAPLAN, S.L., KEUSCH, G.T. (2004). Diarrhea and dysentery causing *Escherichia coli*, Eds. FEİĞİN, R.D., CHERRY, J.D., DEMLER, G.J., KAPLAN, S.L. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5. baskı. *WB Saunders Co.*, Philadelphia. 1431 – 1449.
- KARACA, M. (2013). Erişim adresi: <http://www.hemensaglik.com/makale/hemolitik-uremik-sendrom-hus/tedavisi> Erişim tarihi: 14 Kasım 2013.
- KARAKAYA, A.E. (2012). Türk Toksikoloji Derneği. Gıda katkı maddeleri ve gıda kontaminantları. Erişim adresi: <http://www.turktox.org.tr/gida/index.php?p=gidaguvenligi> Erişim tarihi: 12 Temmuz 2012.
- KARCH, H. (2001). The role of virulence factors in enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) associated hemolytic-uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost.* **27**: 207 – 213.
- KARMALI, M.A., GANNON, V., SARGEANT, J.M. (2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet. Microbiol.* **140**: 360 – 370.
- KARTAL, E.D. (2006). Gıda kaynaklı enfeksiyonlar. I. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu Kitabı. *Medisan*. Ankara. Erişim adresi: <http://www.ekmud.org/dosya/zoo06/zoonoz06.pdf>. Erişim Tarihi: 09 Mart 2013.
- KAYGUSUZ, A., TÖRECİ, K.. (2011). Enterik gram negatif çomaklar (*Enterobacteriaceae*). Eds. Kiraz N. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı. II.Cilt. *İstanbul Üniversitesi Yayınları* (4891), *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları* (283). İstanbul. 887 – 910.
- KUHNERT, P., DUBOSSON, C.R., ROESCH, M., HOMFIELD, E., DOHERR, M.G., BLUM, J.W. (2005). Prevalence and risk-factor analysis of shiga toxigenic *Escherichia coli* in faecal samples of organically and conventionally farmed dairy cattle. *Veterinary Microbiology.* **109**: 37 – 45.
- KUNTZ, T.B., KUNTZ, S.T. (1999). Enterohemorrhagic *E. coli* infection. Prim Care Update *OB/GYNS.* **6**(6): 192 – 6.
- KUŞOĞLU, H., YAMAN, G. (2011). Enterohemorajik *E. coli* ve Almanya salgını (EHEC virüsü). Erişim adresi: <http://www.acibademhemsirelik.com/e->

dergi/yeni_tasarim/files/EHEC%20 hulya1%20_ 2_son.pdf. Erişim tarihi: 27 Aralık 2011.

KUYUCUOĞLU, Y., ŐEKER, E., UĞUZ, C., SAREYYÜPOĞLU, B., KONAK, S. (2011). Virulence genes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from calves and cattle. *Ankara Üniversitesi Vet. Derg.* **58**: 255 – 260.

LAEGREID, W.W., ELDER, R.O., KEEN, J.E. (1999). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in range beef calves at weaning. *Epidemiology and Infection.* **123**: 291 – 298.

LAHTI, E., KESKIMÄKI, M., RANTALA, L., HYVONEN, P., SIITONEN, A., HONKANEN-BUZALSKI, T. (2001). Occurrence of *Escherichia coli* O157 in Finnish cattle. *Veterinary Microbiology.* **79**: 239 – 251.

LAUNDERS, N., BYRNE, L., ADAMS, N., GLEN, K., JENKINS, C., TUBINDELIC, D., LOCKING, M., WILLIAMS, C., MORGAN, D. (2013). Outbreak of shiga toxin-producing *E. coli* O157 associated with consumption of watercress, United Kingdom, August to September 2013. *Eurosurveillance.* **18**(44): 1 – 5.

LEVENT, B. (2009). *Escherichia, Shigella ve Salmonella*. Eds. BAŞUSTAOĞLU, A. C. Klinik Mikrobiyoloji. 9. Baskı. Cilt. 1. *Atlas Yayıncılık*, Sıhhiye, Ankara. 670 – 687.

LEVINE, M.M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea: Enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, eneterohemorrhagic and enteroadherent. *J. Inf. Dis.* **155**(3): 377 – 389.

LUKÁŐOVÁ, J., ABRAHAM, B., CUPÁKOVÁ, Ő. (2004). Occurrence of *Escherichia coli* O157 in raw material and food in Czech Republic. *J. Vet. Med.* **51**: 77 – 81.

MacDONALD, D.M., FYFE, M., PACCAGNELLA, A., TRINIDAD, A., LOUIE, K., PATRICK, D. (2004). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to salami, British Columbia, Canada, 1999. *Epidemiol. Infect.* **132**: 283 – 289.

- MADDEN, R.H., MURRAY, K.A., GILMOUR, A. (2006). Carriage of four bacterial pathogens by beef cattle in Northern Ireland at time of slaughter. *Letters in Applied Microbiology*. **44**: 115 – 119.
- MAGWIRA, C.A., GASHE, B.A., COLLISON, E.K. (2005). Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* O157:H7 in beef products from retail outlets in Gaborone, Botswana. *Journal of Food Protection*. **68**(2): 403 – 406.
- MANAFI, M. (2000). New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *Int J Food Microbiol*. **60**: 205 – 218.
- MARCH, S.R., RATNAM, S. (1989). Latex agglutination test for detection of *E. coli* serotype O157. *J. Clin. Microbiol*. **27**: 1675-1677.
- McEVOY, J.M., DOHERTY, A.M., SHERIDAN, J.J., THOMSON-CARTER, F.M., GARVEY, P., MCGUIRE, L., BLAIR, I.S., McDOWELL, D.A. (2003). The Prevalence and Spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a Commercial beef abattoir. *Journal of Applied Microbiology*. **95**: 256 – 266.
- MENG, J., DOYLE, M.P. (1998). Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. *Bull. Inst. Pasteur*. **96**: 151 – 164.
- MERCANOĞLU, B., AYTAÇ, S.A. (2006). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in various foods in Turkey: a study on the use of the IMS technique. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. **57**: 76 – 79.
- MORA, A., LEÓN, S.L., BLANCO, M., BLANCO, J.E., LÓPEZ, C., DAHBI, G., ECHEITA, A., GONZÁLEZ, E.A., BLANCO, J. (2007). Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). *International Journal of Food Microbiology*. **114**:204–210.
- MUCH, P., PICHLER, J., KASPER, S.S., ALLERBERGER, F. (2009). Foodborne outbreaks, Austria. *Wiener Klinische Wochenschrift*. **121**(3 – 4): 77 – 85.
- NASTASIJEVIC, I., MITROVIC, R., BUNCIC, S. (2009). The occurrence of *Escherichia coli* O157 in/on faeces, carcasses and fresh meats from cattle. *Meat Science*. **82**: 101 – 105.

- NATARO, J.P., KAPER, J.B. (1998). *Diarrheagenic Escherichia coli*. *Clinical Microbiology. Reviews*. **11**(1): 142 – 201.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). (2015). *Escherichia coli*. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=562&lvl=3&p=epigenomics&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> Erişim tarihi: 01 Ocak 2015.
- NIELSEN, E.M., TEGTMEIER, C., ANDERSEN, H.J., GRØNBÆK, C., ANDERSEN, J.S. (2002). Influence of age, sex and herd characteristics on the occurrence of ver-ocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in Danish dairy farms. *Veterinary Microbiology*. **88**: 245 – 257.
- NOVEIR, M.R., DOĞAN, H.B., HALKMAN, A.K. (2000a). A note on *Escherichia coli* serotype in Turkish meat products. *Meat Science*. **56**(4): 331 – 335.
- O'BRIEN, A.D., LaVECK, G.D., THOMPSON, M.R., FORMAL, S.B. (1982). Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* **146**(6): 763 – 769.
- OMISAKIN, F., MacRAE, M., OGDEN, I.D., STRACHAN, N.J.C. (2003). Concentration and prevalence of *Escherichia coli* O157 in cattle feces at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**(5): 2444 – 2447.
- OSAILI, T.M., ALABOUDI, A.R., RAHAHLAH, M. (2013). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157:H7 on beef cattle slaughtered in Amman abattoir. *Meat Science*. **93**: 463 – 468.
- OTEIZA, J.M., CHINEN, I, MILIWEBSKY, E., RIVAS, M. (2006). Isolation and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from precooked sausages (morcillas). *Food Microbiology*. **23**: 283 – 288.
- ÖKSÜZ, Ö., ARICI, M., KURULTAY, S., GÜMÜŞ, T. (2004). Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control*. **15**: 453 – 456.
- ÖKTEM, F., KUYBULU, A.E. (2011). Hemolitik üremik sendrom. *Dicle Tıp Dergisi*. **38**(4): 519 – 525.

- ÖNGEN, B. (2006). Türkiye’de ishal etkenleri. *Ankem Derg.* **20**(2): 122 – 134.
- ÖNGEN, B. (2008a). *Escherichia coli* ishallerinde laboratuvar tanısı. *Ankem Derg.* **22**(2): 197 – 210. In: Nataro J.P., Kaper J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Clin Microbiol Rev.* **11**(1): 142 – 201.
- ÖNGEN, B. (2008b). *Escherichia* İnfeksiyonları. Edit. GÜRLER, B. Tıbbi Mikrobiyoloji. Cilt. 3. *Nobel Tıp Kitapevleri*, İstanbul. 197 – 220.
- ÖZKAYA, F.D., CÖMERT, M. (2008). Gıda zehirlenmelerinde etken faktörler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.* **65**(3): 149 – 158.
- ÖZKUYUMCU, C., US, D., SANCAK, B., ALP, A., SATIBAŞ, Z., ÇAKAR, A. (2009). Enterobacteriaceae genel özellikleri. Hacettepe Mikrobiyoloji Serisi – 1 Klinik Bakteriyoloji El Kitabı. *Güneş Tıp Kitabevler*, Ostim, Ankara. 103 – 111.
- ÖZPINAR, H., TURAN, B., TEKİNER, İ.H., TEZMEN, G., GÖKÇE, İ., AKINEDEN, Ö. (2013). Evaluation of pathogenic *Escherichia coli* occurrence in vegetable samples from district bazaars in Istanbul using real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology.* **57**: 362 – 367.
- PATON, J.C., PATON, A.W. (1998). Pathogenesis and diagnosis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *American Society for Microbiology.* **11**(3): 450–479.
- PETRUZZELLI, A., AMAGLIANI, G., MICCI, E., FOGLINI, M., RENZO, E.D., BRANDI, G., TONUCCI, F. (2013). Prevalence assessment of *Coxiella burnetii* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in bovine raw milk through molecular identification. *Food Control.* **32**: 532 – 536.
- PINAKA, O., POURNARAS, S., MOUCHTOURI, V., PLAKOKEFALOS, E., KATSIAFLAKA, A., KOLOKYTHOPOULOU, F., BARBOUTSI, E., BITSOLAS, N., HADJICHRISTODOULOU, C. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Central Greece: prevalence and virulence genes of O157:H7 and non-O157 in animal feces, vegetables, and humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **32**(11): 1401 – 1408.

- PRADEL, N., BERTIN, Y., MARTIN, C., LIVRELLI, V. (2008). Molecular analysis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic-uremic syndrome patients and dairy samples in France. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**(7): 2118 – 2128.
- RANGEL, J.M., SPARLING, P.H., CROWE, C., GRIFFIN, P.M., SWERDLOW, D.L. (2005). Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States. 1982-2002. *Emerg. Infect. Dis.* **11**: 603 – 609.
- RANTSIOU, K., ALESSANDRIA, V., COCOLIN, L.. (2012). Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food products of animal origin as determined by molecular methods. *International Journal of Food Microbiology.* **154** : 37 – 43.
- RASHID, M., KOTWAL, S.K., MALIK, M.A., SINGH, M. (2013). Prevalence, genetic profile of virulence determinants and multidrug resistance of *Escherichia coli* isolates from foods of animal origin. *Vet. World.* **6**(3): 139 – 142.
- RAY, P.E., LIU, X.H. (2001). Pathogenesis of shiga toxin induced hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* **16**: 823 – 839.
- RILEY, L.W., REMIS, R.S., HELGERSON, S.D., MCGEE, H.B., WELLS, J.G., DAVIS, B.R., HEBERT, R.J., OLCOTT, E.S., JOHNSON, L.M., HARGRETT, N.T., BLAKE, P.A., COHEN, M.L. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine.* **308**(12): 681 – 685.
- RIORDAN, D.C., DUFFY, G., SHERIDAN, J.J., WHITING, R.C., BLAIR, I.S., McDOWELL, D.A. (2000). Effect of acid adaptation, product pH and heating on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in pepperoni. *Appl Envr Micr.* **66**(4): 1726 – 1729.
- RYAN, C.A., TAUXE, R.V., HOSEK, G.W., WELLS, J.G., STOESA. P.A., McFADDEN, H.W., SMITH, P.W., WRIGHT, G.F., BLAKE, P.A. (1986). *E. coli* O157 diarrhea in nursing home: Clinical, epidemiological and pathological findings. *J. Inf. Dis.* **154**(4): 631 – 638.

- SAINI, J.K. (2008). Validating the efficacy of commercial foaming cleaner and sanitizer for controlling *Listeria innocua* (Surrogate for *Listeria monocytogenes*) in drains and potential translocation from the drain to the food contact surfaces. *Master's Thesis*, Punjab Agricultural University. Ludhiana. India.
- SAMI, M., FIROUZI, R., SHEKARFOROUSH, S.S. (2007). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farms in Shiraz, Iran by immunomagnetic separation and multiplex PCR. *Iranian Journal of Veterinary Research*. **8**(4): 319 – 324.
- SARTZ, L., de JONG, B., HJERTQVIST, M., PLYM-FORSHELL, L., ALSTERLUND, R., LÖFDAHL, S., OSTERMAN, B., STÅHL, A., ERIKSSON, E., HANSSON, H.-B., KARPMAN, D. (2008). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in southern Sweden associated with consumption of fermented sausage; aspects of sausage production that increase the risk of contamination. *Epidemiology and Infection*. **136**(3):370 – 380.
- SCHEIRING, J., ANDREOLI, S.P., ZIMMERHACKL, L.B. (2008). Treatment and outcome of shiga-toxin-associated hemolytic uremic syndrome (HUS). *Pediatr. Nephrol.* **23**: 1749 – 1760.
- SCHEUTZ, F., TEEL, L.D., BEUTIN, L., PIÉRARD, D., BUVENS, G., KARCH, H., MELLMANN, A., CAPRIOLI, A., TOZZOLI, R., MORABITO, S., STROCKBINE, N.A., MELTON-CELSA, A.R., SANCHEZ, M., PERSSON, S., O'BRIEN, A.D. (2012). Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing stx nomenclature. *J. Clin. Microbiol.* **50**(9): 2951 – 2963.
- SCHMIDT, H., BEUTIN, L., KARCH, H. (1995). Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect. Immun.* **63**(3): 1055 – 1061.
- SCOTLAND, S.M., SMITH, H.R., ROWE, B. (1985). Two distinct toxins active on Vero cells from *Escherichia coli* O157. *Lancet* ii. 885 – 886.

- SEOW, J., ÁGOSTON, R., PHUA, L., YUK, H-G. (2012). Microbiological quality of fresh vegetables and fruits sold in Singapore. *Food Control*. **25**: 39 – 44.
- SERPEN, A. (2007). Gıda Güvenliğimizi ve Sağlığımızı Tehdit Eden Gıda Kaynaklı Gizli Zoonotik Tehlike *E. coli* O157:H7. *İnfovet*. (Aylık Hayvan Sağlığı Sektörü Dergisi). **41**: 1 – 6.
- SIRIKEN, B., PAMUK, Ş., ÖZAKIN, C., GEDİKOĞLU, S., EYİĞÖR, M. (2006). A note on the incidences of *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* and *Escherichia coli* O157:H7 serotypes in Turkish sausage (Soudjouck). *Meat Science*. **72**: 177 – 181.
- SOFOS, J.N., BELK, K.E., SMITH, G.C. (1999). Processes to reduce contamination with pathogenic microorganisms in meat. Erisim adresi: http://www.prepacvpm.org/wordpress/resources/_Exam_Topics_2012/4_FoodSafety/05_Processing/Slaughter/Processes_to_reduce_contamination_with_pathogenic_microorganisms_meat.pdf. Erişim tarihi: 16 Eylül 2014.
- SÖYLETİR, G., TOPÇU, A.W. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Bakteriyel İshaller. *Nobel Tıp Kitabevleri*. Ankara. 750 – 765.
- ŞAHİN, İ., BAŞOĞLU, F. (2011). *Enterobacteriaceae*. Gıda Mikrobiyolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü *Dora* Basım – Yayın Dağıtım Ltd. Şti. Osmangazi, Bursa. 9 – 38.
- TAŞ, E., ARDIÇ, N. (2004). Akut Gastroenteritli Olgularda Termofilik *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7 ve Rotavirus sıklığı. *Klinik Dergisi*. **17**(3): 186 – 190.
- TAYLOR, C.M. (2008). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* type1-induced hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. **23**: 1425 – 1431.
- TEMELLİ, S., EYİĞÖR, A., ANAR, Ş. (2012). Prevalence of *Escherichia coli* O157 in red meat and meat products determined by VIDAS ECPT and LightCycler PCR. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*. **36**(3): 305 – 310.
- TOTH, I., SCHMIDT, H., DOW, M., MALIK, A., OSWALD, E., NAGY, B. (2003). Transduction of porcine enteropathogenic *Escherichia coli* with a derivative of

- a Shiga toxin 2-encoding bacteriophage in a porcine ligated ileal loop system. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**(12): 7242 – 7247.
- TRUEBA, G., GARCE´S, V., BARRAGAN, V.V., COLMAN, R.E., SEYMOUR, M., VOGLER, A.J., KEİM P. (2013). *Escherichia coli* O157:H7 in Ecuador: animal reservoirs, yet no human disease. *Vector-Borne And Zoonotic Diseases.* **13**(5): 295 – 298.
- TÜMGÖR, A. (2010). Çocuk yaş grubunda görülen gastroenteritlerde viral ve bakteriyel etkenlerin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. *Uzmanlık Tezi.* Adana.
- USDA / FSIS. (U. S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service). (1996). Pathogen Reduction: Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems: Final Rule, Federal Register. **61**: 38806–38989. Erişim adresi: <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-1996-07-25/pdf/96-17837.pdf>. Erişim tarihi: 16 Eylül 2014.
- VERNOZY–ROZAND, C. (1997). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and other Verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC) in food. *Journal of Applied Microbiology.* **82**: 537 – 551.
- VIRPARI, P.K., NAYAK, J.B., BRAHMBHATT, M.N., THAKER, H.C. (2013a). Study on isolation, molecular detection of virulence gene and antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* isolated from milk and milk products. *Vet World.* **6**(8): 541 – 545.
- VIRPARI, P.K., NAYAK, J.B., THAKER, H.C., BRAHMBHATT, M.N. (2013b). Isolation of pathogenic *Escherichia coli* from stool samples of diarrhoeal patients with history of raw milk consumption. *Vet World.* **6**(9): 659 – 663.
- VOGT, R.L., DIPPOLD, L. (2005). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with consumption of ground beef, June-July 2002. *Public Health Rep.* **120**: 174 – 178.
- WASTESON, Y. (2001). Zoonotic *Escherichia coli*. *Acta Veterinaria Scandinavica.* **95**: 79 – 84.

- WELCH, R.A. (2006). The genus *Escherichia*. *Prokaryotes*. **6**: 60 – 71.
- WELLS, J.G, DAVIS, B.R, WACHSMUTH, I.K, RILEY, L.W, REMIS, R.S, SOKOLOW, R., MORRIS, G.K. (1983). Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *J. Clin. Microbiol.* **18**(3): 512 – 20.
- WHITFIELD, C., VALVANO, M.A. (1993). Synthesis and expression of cell surface polysaccharides in gram-negative bacteria. *Advances in Microbial Physiology*. **35**: 135 – 246.
- WHO (World Health Organization). (2011). Erişim adresi: <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/emergencies/international-health-regulations/outbreaks-of-e.-coli-o104h4-infection>. Erişim tarihi. 05 şubat 2012.
- WHO (World Health Organization). (2012). Centralized Information System for Infectious Diseases (CISID). Erişim adresi: <http://data.euro.who.int/cisid/?TabID=285372>. Erişim tarihi:17.05.2012.
- WILLKE, A., ARSLAN, D., ÖNGEN, B. (2008). İshal Yapan *Escherichia coli* İnfeksiyonları. *Ankem Dergisi*. **22**(2): 188 – 191.
- YENİİZ, E., ÖNCÜL, O., ÇAVUşLU, ř. (2009). İshalli hastaların dışkılarında *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması. *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.* **29**(6): 139 8 – 1405.
- YILMAZ, A., GÜN, H., YILMAZ, H. (2002). Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish Cattle. *Journal of Food Protection*. **65**(10): 1637 – 1640.
- ZADİK, P.M., CHAPMAN, P.A., SIDDONS, C.A. (1993). Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J. Med. Microbiol.* **39**: 155–158.
- ZARAKOLU KÖşKER, P. (2010). *Enterobacteriaceae*. Çev. Edit. BAşUSTAOğLU, A. C. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı. *Atlas Yayıncılık*. Ankara. 301 – 307.