

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM  
DALI**

**KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ BİR KESİMHA NEDE  
*Escherichia coli* O157:H7 VARLIĞININ IMS-PZR  
TEKNİKLERİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
Sabri DATLI**

**Danışman  
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Haziran 2016  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM  
DALI**

**KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ BİR KESİMHA NEDE  
*Escherichia coli* O157:H7 VARLIĞININ IMS-PZR  
TEKNİKLERİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Hazırlayan  
Sabri DATLI**

**Danışman  
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
TYL-2014-5469 kodlu proje ile desteklenmiştir**

**Haziran 2016  
KAYSERİ**

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

**Sadri DATLI**



**YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

**“Kahramanmaraş İlindeki Bir Kesimhanede *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının IMS-PZR Teknikleri İle Araştırılması”** adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Tezi Hazırlayan****Sadri DATLI****Danışman****Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ****Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD Başkanı****Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN**

**Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ** danışmanlığında **Sabri DATLI** tarafından hazırlanan “**Kahramanmaraş İlindeki Bir Kesimhanede Escherichia coli O157:H7 Varlığının IMS-PCR Teknikleri İle Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

01/06/2016

**JURİ:**

Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ

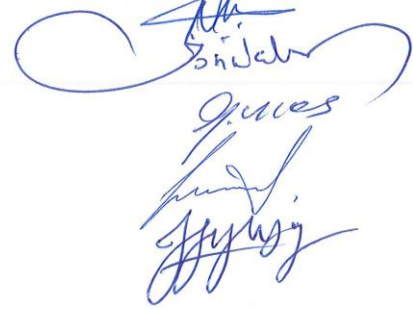
Üye: Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

Üye: Prof. Dr. Gürkan UÇAR

Üye: Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

Üye: Yrd. Doç. Dr. Harun HIZLISOY

İMZA



**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

**Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ**

**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ'a, Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN, Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM'a, Yard. Doç. Harun HIZLISOY'a çalışmam sırasında analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Serhat AL'a ve Candan CANDEMİR'e, tez projesini, TYL-2014-5469 proje koduyla maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yetkililerine, çalışmalarım sırasında ve ayrıca tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Sabri DATLI

Kayseri, Haziran 2016

## KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ BİR KESİMHA NEDE *Escherichia coli* O157:H7 VARLIĞININ IMS-PZR TEKNİKLERİ İLE ARAŞTIRILMASI

Sabri DATLI

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Mayıs, 2016

Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ

### KISA ÖZET

Bu çalışma; Kahramanmaraş ilindeki bir sığır kesimhanesinde, sığır karkas, kesimhaneden alınan swap örnekleri (konveyör, bıçak, önlük, kanca, testere ve eller) ve kesilen hayvanların barsak içeriklerinden alınan örneklerde *Escherichia coli* O157:H7'nin varlığı ve etkenin virulans genleri (*stx1* and *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA*) araştırmak için gerçekleştirildi. Çalışmada, kesimhaneden alınan toplam 200 adet örnekte *E. coli* O157:H7'nin varlığı, ön zenginleştirme, immunomanyetik seperasyon (IMS)'daki immunboncuklar sefimiksin tellüritli CHROM agara ekildi. Şüpheli koloniler O157 ve H7 antiserumları ile incelendi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile bakteri üzerindeki *rfbO<sub>157</sub>*, *fliC<sub>H7</sub>*, *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* içeren hedef gen bölgeleri ile teyit edildi. Çalışmada, bir (% 2) barsak içeriği örneğinden *E. coli* O157 izole edildi. *E. coli* O157:H7 2 (% 4) barsak içeriği örneği ve 2 (% 4) karkas örneğinde tespit edildi. İncelenen bütün izolatlar *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini içeriyordu. Sonuç olarak, sığırların *E. coli* O157:H7 içerdiği gözlemlendi. Karkasların da muhtemelen kesim esnasında dışkı ile kontamine olduğu düşünüldü. Çalışmada elde edilen izolatların tamamının *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini içermesinden dolayı insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Çapraz kontaminasyon, *E. coli* O157:H7, kesimhane, sığır, virulans genler

**INVESTIGATION OF *Escherichia coli* O157:H7 BY IMS-PZR TECHNIQUES IN  
SLAUGHTERED CATTLE IN KAHRAMANMARAŞ PROVINCE**

**Sabri DATLI**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences  
Department of Veterinary Food Hygiene and Technology  
Master Thesis, Jun, 2016  
Supervisor: Associate Prof. Dr. Nurhan ERTAS ONMAZ**

**ABSTRACT**

This study was conducted to investigate the presence of *Escherichia coli* O157:H7 and to detect its virulence genes, including; *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA*, on cattle carcasses, intestinal contents and swabs from environmental samples (conveyors, knives, aprons, saws, hooks, hands) in a beef slaughterhouse in Kahramanmaraş, Turkey. A total of 200 samples, collected from commercial abattoirs, were examined for the presence of *E. coli* O157:H7 by enrichment/immunomagnetic separation (IMS) with plating of recovered immunobeads onto CHROM agar with cefixime and tellurite. Presumable *E. coli* O157:H7 colonies were analysed with anti-O157 and H7 antisera and were confirmed by (Polymerase Chain Reaction) PZR targeting a range of genes including; *rfbO<sub>157</sub>*, *fliC<sub>H7</sub>*, *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* region of bacteria. In the study, *E. coli* O157 isolated from 1 (2 %) of intestinal content samples. *E. coli* O157:H7 was detected in 2 (4 %) and 2 (4 %) of intestinal content and carcass samples, respectively. All isolates contained *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes. In conclusion, the result of this study suggested that cattle are an important reservoir of *E. coli* O157. Carcasses might be contaminated with feces during the slaughter of cattle. This constitutes a potential risk to human health. It might lead to outbreaks of human infections due to containing *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes.

**Key words:** Cattle, cross-contamination, *E. coli* O157:H7, slaughterhouse, virulence genes.



## İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK .....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY: .....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
KISA ÖZET .....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR .....	ix
TABLO LİSTESİ.....	xi
RESİM LİSTESİ.....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	1
2.1. <i>E. coli</i> ' NİN GENEL ÖZELLİKLERİ .....	3
2.2. <i>E.coli</i> 'NİN ALT TIPLERİ .....	6
2.2.1. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC).....	7
2.2.2. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC).....	7
2.2.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC).....	7
2.2.4. Difuz-adhering <i>E. coli</i> (DAEC).....	8
2.2.5. Entero-agregatif <i>E.coli</i> (EAggEC / EAEC) .....	8
2.2.6. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC).....	8
2.3. <i>E. coli</i> O157:H7.....	9
2.4. <i>E. coli</i> O157:H7'NİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ .....	10
2.5. <i>E. coli</i> O157:H7'NİN PATOJENİTESİ VE VİRULENS FAKTÖRLERİ.....	11
2.7. <i>E. coli</i> O157:H7'NİN KAYNAĞI VE EPİDEMİYOLOJİSİ .....	13
2.8. <i>E. coli</i> O157:H7'NİN İNSANLARDA YAPTIĞI HASTALIKLAR .....	14
2.9. <i>E. coli</i> O157:H7'NİN TESHİS YÖNTEMLERİ.....	15
2.9.1. Kültürel-Biyokimyasal Yöntemler: .....	16
2.9.2. Serolojik Yöntemler .....	18

2.9.3. Moleküler Yöntemler: .....	19
2.10. <i>E. coli</i> O157:H7 SAĞALTIMI.....	20
2.11. <i>E. coli</i> O157:H7 ENFEKSİYONUNUN KONTROLÜ VE ÖNLEME YOLLARI .....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	22
3.1. GEREÇ.....	22
3.1.1. Numuneler .....	22
3.1.3. Besiyerlerinde Kullanılan Suplementler.....	24
3.1.4. Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar ve Tampon Sıvılar.....	24
3.1.5. Moleküler Analizlerde kullanılan Sarf Malzemeler .....	25
3.2. YÖNTEM.....	27
3.2.1. <i>E.coli</i> O157:H7 İzolasyonu .....	27
3.2.2. Moleküler Analiz.....	28
3.2.2.1 DNA ekstraksiyonu .....	28
3.2.2.2. <i>FliC</i> ve <i>rfbO157</i> Geninin PZR ile Belirlenmesi .....	29
3.2.2.3. Multipleks PZR ile Virulans Faktörlerin Belirlenmesi.....	29
4. BULGULAR.....	31
4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları .....	31
4.2. Lateks Aglutünasyon Test Sonuçları.....	33
4.2.1. O Antiserumu ile Lateks Aglutünasyon Testi .....	33
4.2.2. H Antiserumu ile Lateks Aglutünasyon Testi .....	33
4.3. Moleküler Analiz Sonuçları .....	33
4.4. Örneklerde <i>E. coli</i> O157:H7 ve Virulans Genlerin Suşlar Arasındaki Dağılımı.....	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	38
6. KAYNAKLAR .....	42
ÖZGEÇMİŞ	

**KISALTMALAR**

<b>H.C</b>	Hemorajik Kolit
<b>HUS</b>	Hemolitik Üremik Sendrom
<b>TTP</b>	Trombotik Trombositopenik Purpura
<b>MC</b>	Mac Conkey Agar
<b>EMB</b>	Eosine Metilen Blue
<b>KCN</b>	Potasyum Siyanid
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Hidrojen Sülfür
<b>EPEC</b>	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
<b>ETEC</b>	Enterotoksijenik <i>E.coli</i>
<b>EIHEC</b>	Enteroinvaziv <i>E.coli</i>
<b>DAEC</b>	Difuz-adhering <i>E.coli</i>
<b>EAggEC</b>	Entero-agregativ <i>E.coli</i>
<b>EHEC</b>	Enterohemorajik <i>E.coli</i>
<b>ST</b>	Heat Stabile Toxin
<b>LT</b>	Heat Labile Toxin
<b>SLT</b>	Shiga Like Toxin
<b>STX</b>	Shiga Toxin
<b>VT</b>	Vera toxin
<b>Gb3</b>	Globotriosylceramide
<b>mTBS</b>	Modifiye Tryptone Soy Broth
<b>mECB</b>	Modifiye <i>E.coli</i> Broth
<b>SMAC</b>	Sorbitollü Mac Conkey Agar
<b>MUG</b>	4-methly-umbelliferyl-D-glucuronide

<b>PRS</b>	Fenol Red Sorbitol
<b>RIA</b>	Radioimmunoassay
<b>FIA</b>	Floresan İmmunoassay
<b>EIA</b>	Enzim İmmunoassay
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>Mab</b>	Monoklonal Antikor
<b>PZR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RT-PZR</b>	Reverse Transcriptase PZR
<b>IMS</b>	İmmunomanyetik Seperasyon

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b> <i>E.coli</i> ' nin üreme koşulları.....	5
<b>Tablo 2.2.</b> <i>E. coli</i> alt gruplarının virulans faktörleri, klinik tablo ve ishal tipleri.....	9
<b>Tablo 2.3.</b> <i>E. coli</i> O157:H7 serotipinin biyokimyasal özellikleri.....	11
<b>Tablo 3.1.</b> Çalışma kapsamında alınan örnek çeşit ve sayıları.....	23
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan virulans genler ve dizilişleri.....	26
<b>Tablo 4.1.</b> Fenotipik numunelerden izole edilen <i>E. coli</i> O157:H7.....	32
<b>Tablo 4.2.</b> Elde edilen izolatların moleküler analiz sonucu.....	35
<b>Tablo 4.3.</b> Örneklerde <i>E. coli</i> O157:H7 dağılımı.....	35

## RESİM LİSTESİ

<b>Resim 2.1.</b> Bir <i>E. coli</i> bakteri kümesinin elektron mikroskop büyütülmüş görüntüsü.....	4
<b>Resim 2.2.</b> <i>E. coli</i> 'nin EMB agardaki koloni morfolojisi.....	4
<b>Resim 2.3.</b> <i>E. coli</i> 'nin anatomik yapısı.....	6
<b>Resim 4.1.</b> CHROM agarda <i>E.coli</i> O157:H7 kültürlerin görünümü (Leylak renkli koloniler: pozitif koloniler , Mavi renkli koloniler: Negatif koloniler ).....	32
<b>Resim 4.2.</b> O antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonuçları.....	33
<b>Resim 4.2.</b> PZR işlemi sonucunda <i>fliCh7</i> ve <i>rfbO157</i> genlerinin gösterilmesi.....	34
<b>Resim 4.3.</b> PZR işlemi sonucunda virulans genlerinin gösterilmesi.....	34

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Teknolojinin gelişmesine rağmen, insan sağlığı her gün yeni tehlikeler ile karşılaşmaktadır. Gıda orjinli hastalıklar bu risklerin en önemlisidir. Nüfusun hızla arttığı ülkemizde, sağlıklı ve dengeli beslenebilmek için et ve et ürünlerinin tüketilmesi önem kazanmıştır. Kasaplık hayvanlar zoonoz enfeksiyonları taşıması sebebiyle önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Bu sebeple Veteriner Halk Sağlığı organizasyonları zoonozları engelleyebilmek için yetiştiricilik, üretim ve tüketim aşamalarında Veteriner Hekimlerin kontrolünü esas almışlardır (1, 2). Gıda orjinli enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri *Escherichia coli* (*E.coli*) dir. *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *E. coli* sağlıklı insan ve hayvanların doğal barsak biotasında vardır. Fakat bu bakterinin insanlarda hastalıklara neden olan patojen türleri de bulunmaktadır. Bu türler içerisinde gıda orjinli olan en önemli serotip, *E. coli* O157:H7'dir. Bu serotip abdominal kramp ve ishal gibi hafif semptomlarla seyredebileceği gibi hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi ciddi hastalıklara ve bazen de ölümlere sebep olabilir (3). *E. coli* O157:H7 serotipinin başlıca bulaşma kaynağı sığırlar olmakla birlikte koyun, kedi, köpek gibi diğer sıcakkanlı hayvanlar da etkeni taşıyabilir. Bu serotip insanlara hasta hayvanla temas sonucu veya kontamine gıdanın tüketilmesi sonucu bulaşır (4). Etken sığır dışkısı ile diğer hayvanlara ve çevreye yayılır. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının çoğunluğu hayvan dışkısı ile kontamine gıda ve suların tüketilmesi ile oluşur (5).

Mezbahalarda karkas, kesim sırasında ve sonrasında hayvanın kendisi ve mezbaha ortamından dolayı çeşitli mikroorganizmalar ile kontamine olabilir (6). Karkas, derinin yüzülmesi sırasında veya iç organların çıkarılması sırasında doğrudan veya kesim aşamalarında, bıçak, kirli önlükler, personel aracılığı ile *E. coli* O157: H7 ile bulaşabilir (7). Bu şekilde kontamine olan etlerin yeterince pişirilmeden tüketilmesiyle enfeksiyonlar meydana gelebilir (2,4). Etkene maruz kalımdan sonra inkübasyon süresi 3-8 gün sürmekte ve genellikle krampla seyreden abdominal ağrı, mide bulantısı, kusma, mide-barsak yollarının yangısı, ishal, kanlı ishal ve hemorajik kolit gibi semptomlara sebep olmaktadır. HC yaklaşık 5-10 gün sonra ilerleyerek HUS'a dönüşebilmekte, şiddetli anemi ve böbrek yetmezliği ile birlikte seyredebilmektedir (8).

Bu bilgiler ışığında, mezbahalarda karkasların özellikle kesim aşamalarındaki hatalı uygulamalara bağlı özellikle mikrobiyal kontaminasyonu halk sağlığı açısından yaygın bir sorun olmaktadır. Bu nedenle, çalışmada; Kahramanmaraş ilindeki 1. sınıf bir mezbahadaki sığır kesim hattı boyunca, karkastan, kesimde çalışan personelden, kesimde kullanılan alet ve ekipmanların yüzeyinden ve barsak içeriğinden alınan numunelerde *E. coli* O157:H7'nin varlığını araştırmak amaçlandı. Çalışma sonucunda elde dılecek bilgi, kesimhanelerde belirlenecek *E. coli* O157:H7'nin Kahramanmaraş bölgesinde toplum sağlığı üzerinde önemli bir tehlike olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği hususunda bilgi vermesi bakımından ve numunelerin alındığı kritik kontrol noktalarında düzeltici önlemlerin alınmasına ışık tutması açısından önem taşımaktadır. Bununla birlikte benzer konuda yapılacak olan çalışmalar için bilimsel bir alt yapının oluşmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *E. coli*' NİN GENEL ÖZELLİKLERİ

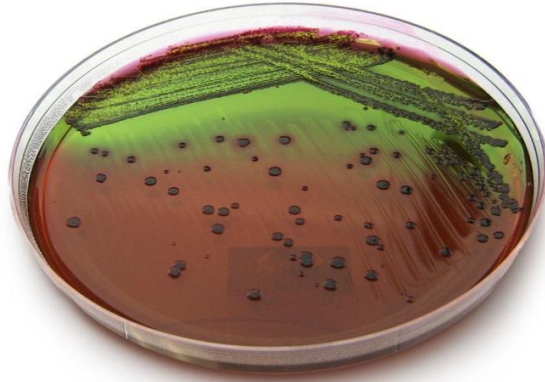
*Escherichia coli*, ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından ishalleri bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve "*Bacterium coli commune*" olarak adlandırılmıştır (9). Sonraları Castelli ve Calmer 1919 yılında, Escherich'e ithafen *E. coli* adını vermişlerdir (10). *E. coli*, insan ve hayvanlarda normal barsak florasında bulunmasına rağmen hastalıklardan primer veya sekonder etken olarak izole edilebilmektedir. Bakteri, sentezlediği kolisinler, enterotoksinler, sitotoksinler, hemolizinler ve aerobactin gibi virulans faktörlerden dolayı hayvanlarda değişik klinik belirtilerle seyreden hastalıklara neden olmaktadır (11-14).

*E. coli*, *Enterobacteriaceae* ailesi içinde yer alan *Escherichia* genusuna bağlı, Gram negatif, aerob ya da fakültatif anaerob, çoğunlukla hareketli, sporsuz 1.1-1.5 x 2.0-6.0 µm boyutlarında, düzgün çomak tarzında (Resim 2.1) bir mikroorganizmadır (15-17).



**Resim 2.1.** Bir *E. coli* bakteri kümesinin elektron mikroskop görüntüsü (18).

*E. coli*, sıcakkanlı hayvanlarda doğumdan hemen sonra sindirim sisteminde kolonize olabilmekte ve sonra bu bölgenin kalıcı flora üyeleri olarak yaşamına devam etmektedir (19). Etken kontamine gıdalardan veya hijyen kurallarına uymayan insanlardan direkt olarak bulaşabilmektedir (20). Bu bakteri, nutrient agar ve kanlı agar gibi genel besiyerleri ve MacConkey (MC) agar, Eosine Methylen Blue (EMB) agar gibi selektif ve diferansiyel besiyerlerinde 37 °C'de 24 saat içerisinde gözle görülebilir büyüklükte, düzgün kenarlı, S tipli koloniler meydana getirir (Resim2.2). Eski kültürlerde ise R tipli kaba, düzensiz koloniler gözlenebilir. Kapsüllü suşlar ise M tipi mukoid koloniler meydana getirir (21).



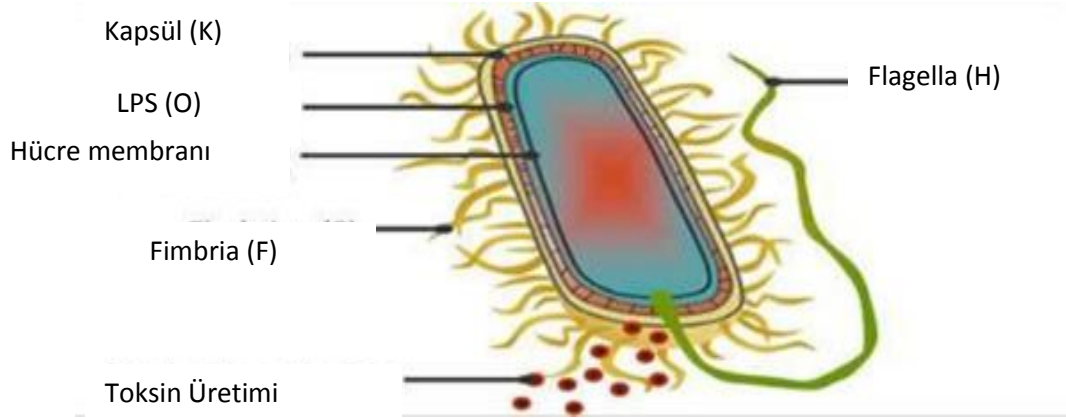
**Resim 2.2.** *E. coli*'nin EMB agardaki koloni morfolojisi

Optimal üreme ısıları 37 °C olmasına rağmen 20-40 °C'de ve optimal pH'sı 7-7.2 olmasına rağmen pH 5-8'de de üreyebilmektedir (tablo 2.1) (12). *E. coli*, glikoz, laktoz, maltoz, mannitol, ksiloz gibi şekerleri asit ve gaz oluşturarak fermente ederler. Sükroz, salisin, rafinoz gibi şekerlere etkisi değişkendir. Nişastadan gaz oluşturmazlar, indol, Metil Red testi pozitif, Vages-Proskauer testi ise negatiftir. Sitratlı besiyerinde ürerler ancak üreyi kullanamadıkları için üre besiyerlerinde üreyemezler. Potasyum siyanid (KCN) testi negatiftir ve genellikle H<sub>2</sub>S oluşturmazlar. Dezenfektanlara, malaşit yeşili, fuksin gibi bazı boya maddelerine, safra ve safra tuzlarına ve %7 NaCl' ye karşı duyarlı, fakat ısı ve soğuğa dirençlidirler (15, 16, 22-26).

**Tablo 2.1.** *E.coli*' nin üreme koşulları (12)

	Minimum-Maximum	Optimal
Sıcaklık (°C)	7-45	37
pH	5-8	7-7,2
a <sub>w</sub>	0.95-	0.99

Günümüzde *E. coli* suşları arasındaki serolojik ilişki Kauffmann'ın modifiye edilmiş sınıflandırma şemasına göre değerlendirilmektedir. Bu şemaya göre; *E. coli*, O (somatik), H (flagella) ve K (kapsül) yüzey antijenlerine bağlı olarak serotiplendirilmiştir (Resim 2.3). O ve H antijenleri özel olarak birleşerek izolatin serotipini oluşturur. Günümüzde her biri bir serogrubu temsil eden 170 farklı O antijeni tanımlanmıştır (14). *E. coli*'de O1-O171 arasında gösterilen 165 somatik O antijeni, K1-K90 arasında gösterilen 90 kapsül K antijeni ve H1 - H56 arasında gösterilen 56 flagella H antijeni saptanmıştır (27).



**Resim 2.3.** *E. coli*'nin anatomik yapısı (28)

**O Antijenleri:** Somatik antijen olup, ısıya ve alkole dayanıklı, formole dayanıksız, lipopolisakkarit yapısındaki yüzey antijenleridir (21).

**H Antijenleri:** Kirpik antijenleri olup hareketli suşlarda bulunur. Protein yapısındadır ve ısıya dayanıksız alkol ve proteolitik fermentlere dayanıksız, formole dayanıklıdır(23, 26).

**K Antijenleri:** Kapsül antijeni olup, polisakkarit yapısında ve ısıya dayanıklıdır. Kapsül taşıyan *E. coli* suşlarında “O” somatik antijenlerinin üzerinde bulunur. 100-200 derecede bir-iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabılır (16, 21, 22).

**Fimbria Antijenleri:** Önceleri “K” antijeninin L fraksiyonu olarak adlandırılan fimbrial antijenler (pilus), protein yapısında olup fimbriyada bulunur. Bu antijenler de “K”antijenleri gibi bir suşun “O” antijenine göre identifiye edilmesini önler. Özellikle mannaz rezistant fimbriaları bulunan bakterilerde görülür (16, 21-23, 26).

## 2.2. *E. coli*'nin ALT TIPLERİ

*E. coli* serotipleri virulans özellikleri, patojenite mekanizması, klinik sendromları, epidemiyolojik farklılıklar ve O:H serogruplarına göre;

1. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)
2. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)
3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)
4. Difuz-adhering *E. coli* (DAEC)

5. Entero-agregativ *E. coli* (EAaggEC)

6. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

olmak üzere 6 ana grup altında (Tablo 2.2) toplanmaktadır (29,30).

### **2.2.1. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)**

Enfeksiyon yeteneğinin toksinlerle bir ilgisi yoktur. İyi dezenfekte edilmiş ortamlarda yaygın değildir. Başlıca rezervuarı insanlardır. Kontaminasyon kaynakları gıda sektöründe çalışan insanlar ve kanalizasyon sularıdır. İnsanlar arasında taşıyıcılık yüksek olmasına karşın bağışıklık kazanıldığında hastalık ender görülür. Etken barsak mukozasına tutunarak kolenize olur, başka invazyon oluşturmadan mikrovilleri tahrip eder. Buna bağlı olarak sulu ve kanlı ishale gelişir. Yetişkinlere oranla bebeklerde daha çok görülen hastalıkta ateş yüksektir (31, 32).

### **2.2.2. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)**

Hijyen standartları düşük olan ülkelere gelen turistlerde görülür. Turist ishalinin en yaygın sebeplerindendir. Enfekte kişiler ve atık sular gıda kontaminasyon kaynağıdır. Etken vücuda alındıktan sonra barsak mukozasındaki hücrelere yerleşerek yapışır. Mikroorganizma bağırsağa tutunma ve kolonizasyon için özel bir fimbria içerir. Etken ısıya dirençli (ST) ve dirençsiz (LT) iki endotoksin üretir ( 32,33). Isıya dirençsiz toksin (LT) protein yapısındadır ve 60 °C 'de 30 dakika da inaktive olur. Biyolojik ve antijenik olarak *Vibrio cholerae* toksiniyle yakından ilişkilidir (14). Hastalık oluşabilmesi için çok sayıda etkenin vücuda alınması gerekir. İnkubasyon süresi 8-44 saat olup hastalık 24-30 saat sürmektedir ve pirinç suyu görünümünde sulu diyare ve dehidrasyon hastalığın tipik bulgularıdır (13, 34, 35).

### **2.2.3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)**

EIEC suşları genelde laktoz negatif veya geç pozitif ile hareketsiz olma gibi atipik özellikler taşırlar. Etken doku hücrelerinin içine girip çoğalırlar ve oluşturdukları enfeksiyon *Shigella* bakterisinin sebep olduğu dizanteriye benzer (36). İnkubasyon süresi 8-44 saattir. Kalın barsaklarda epitelyum hücrelerinde çoğalarak mukozanın yangısına ve ülserleşmesine sebep olur. Hastalık 24-30 saat sürer. Klinik olarak üşüme, titreme, ateş, abdominal kramplar, dizanteri görülür, dışkı kanlı ve mukusludur ve ateş yüksektir (29, 37). Çocuklarda hastalığın ilerlemesiyle HUS görülebilir (13). Diğer enterovirulent tiplerden farkı; invaziv özellik taşıması ve laboratuvar analizlerinde fekal

lökositlere rastlanmasıdır. Mukuslu ve kanlı bir dışkı görülür. Ateş yüksektir. Enfektif dozu düşüktür (29)

#### **2.2.4. Difuz-adeziv *E. coli* (DAEC)**

Bu gruptaki suşlar hücre çözücü *E. coli* olarak bilinirler. Patogenezi çok iyi bilinmemektedir. DAEC suşları; epitel hücreler üzerinde yapışma şekilleri,  $\alpha$ -hemolizin üretimi, sitotoksik nekroz faktör 1 ve diffuz adhesyon ile karakterizedir (38). Çocuklarda sürekli diyareye sebep olabilirler (29). Bu mikroorganizmada iki ayrı adezin geninin varlığı ve ayrıca son olarak intimin varlığı saptanmıştır (21, 29, 39).

#### **2.2.5. Entero-agregatif *E.coli* (EAggEC / EAEC)**

Özellikle çocuklarda görülen akut ve uzun süreli ishalin en önemli sebebidir. EAEC suşunun barsak epitel hücrelerine kümeler halinde yapışması karakteristiktir. EAEC barsak mukozasına plazmid tarafından kodlanan kümeler halinde fimbria ile yapışır. Bu yapışma mukus oluşumunu, inflamasyona bağlı olarak mukozal toksisiteyi ve sitokin salınımını artırır (38). Virulans faktörü olarak ısıya dirençli enterotoksin içerir (20, 21, 29).

#### **2.2.6. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)**

EHEC tüm dünyayı etkileyen ciddi enfeksiyonlara sebep olan global bir sorundur. Bunun en önemli sebebi hastalık oluşturma dozunun çok küçük olmasıdır (40). EHEC; HC, HUS ve TTP olmak üzere üç temel hastalığı oluşturmaya nedeniyle, *E. coli*'nin diğer tiplerinden daha tehlikelidir. Barsaklarda kan, çok seyrek abdominal ağrı, bazen kusma görülür. Bu durum shigellozise benzese de ateş ender görülür. Hastalık 2-9 gün sürer, ortalama 4 gündür. Enfekte hastalar genellikle komplikasyon oluşmadan iyileşir. Fakat çocuklarda bazen birkaç gün içinde HUS gibi sistemik komplikasyonlar oluşabilir. Yaşlılarda ise HUS'a ya da TTP'ye sebep olabilir. EHEC'le kontamine et ürünlerinin az pişirilmesi ve yine kontamine süt ürünlerinin pastörize edilmemesi ile insana bulaşır (33, 41). EHEC, enterohemolizin ve sitotoksin (verotoksin veya sigatoksin) üretirler. Bu sitotoksinler barsaktaki mikrovillüslarda tutunma ve bozulma lezyonlarına neden olur (42, 43).

**Tablo 2.2.** *E. coli* alt gruplarının virulans faktörleri, klinik tablo ve ishal tipleri (34)

<i>E. coli</i>	Virulans faktörleri	Klinik tablo	İshal tipi
ETEC	Enterotoksinler: LT1a, LT1b, LT2a, ST1a, ST2b, ST2, spesifik adhezyon fimbria	Sulu ishal(kolera benzeri), yolcu ishali	Pirinç suyu görünümünde
EIEC	Barsak epitelyum hücreleri üzerine nüfuz	Shigellosis benzeri ishal	Kanlı, mukuslu
EPEC	Barsak epitel hücrelerine lokalize bazı suşlarında SLT1 ve/veya SLT2	Bir yaşın altındaki çocuklarda akut yada kronik sulu ishal	Pirinç suyu görünümünde, mukuslu
DAEC	Yaygın aderez	Sulu ishal	Pirinç suyu görünümünde
EHEC	Shiga- benzeri toksinler: SLT1 ve/veya SLT2 (VT1 ve/veya VT2), kolonizasyon faktörleri	Hemorajik kolitis(HC), hemolitik üremik sendrom (HUS)	Ağrılı ishal, HUS(kanlı ishal veya yalnızca kan şeklinde)

### 2.3. *E. coli* O157:H7

*E. coli* O157:H7 zoonoz olmasından dolayı *E.coli* serotipleri içinde en önemlisidir. *E. coli* O157:H7'nin (Enterohemorajik *E.coli*, Verotoksijenik *E.coli*) ilk kez 1975'de Kaliforniya'lı kanlı diyareli bir kadın hastadan izole edildiği bildirilmiştir (44). 1982 yılında Amerika ve Kanada'da bir fast food restoranında tam pişmemiş hamburgerlerin yenmesinden dolayı meydana gelen iki ishal salgını sonucu ortaya çıkmıştır (45, 46, 47). Hastalığın ani çıkışı ve birçok analizle bu bakterinin diğer *E. coli* serotiplerinden farklı olduğunu göstermesi O157:H7 serotipinin laboratuvar kaçkını bakteri olduğunu düşündürmüştür (48). Griffin ve Tauxe'ye (1991) göre *E. coli* O157:H7 muhtemelen enteropatojenik bir atadan genetik çalışmalar sırasında oldukça yakın bir dönemde ortaya çıkmış ve bir kaza sonucu doğaya salınmıştır (49).

*E. coli* O157:H7; Gram negatif zoonoz, besin hijyeni ve güvenliğini tehdit eden, bioterörizm için veya ihmal sonucu biyolojik teröre neden olabilen bir bakteridir. Özellikle Mayıs-Ekim aylarında ve kış aylarında vakalarda artış olduğu gözlemlenmiştir (27, 29).

#### 2.4. *E. coli* O157:H7'NİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

*E. coli* O157:H7, kendine ait 157 adet somatik (O) antijenine ve 7 adet flageller (H) antijenine sahip olmasından dolayı bu ismi almıştır (50). *E. coli* O157:H7 serotipi; 44.5 °C ve üzerinde gelişmemesi,  $\beta$ -glukuronidaz enziminin olmayışı, sorbitolü fermente edememesi, *eaeA* geninin olması, 60mDa plazmid taşıması ve enterohemolizin üretimi ile diğer *E. coli*'lerden ayrılır. *E. coli* O157:H7 sorbitolü 48 saat içinde fermente edemezken, *E. coli*'lerin % 95'i sorbitolü 24 saat içinde eder (24, 47, 51). Bu serotipin patojenitesi sentezlediği toksinlerden kaynaklıdır. Bu toksin *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından sentezlenen toksine çok benzediğinden ilk başta shiga benzeri toksin (SLT) diye adlandırılmıştır. Günümüz terminolojisinde ise shiga toksin (stx) olarak bilinir. Bu toksinin iki tipi vardır, bunlar stx1 ve stx2'dir. Bu toksinler HeLa ve Vero doku kültürü hücrelerinde sitotoksik etki gösterdikleri için verotoksin 1 ve 2 olarak adlandırılmışlardır (52). *E. coli* O157:H7 serotipi, optimum 37 °C'de ürerken, 44-45 °C'de yavaş gelişir. Bu sebeple genel izolasyon prosedürlerinde *E. coli*'nin üremesi için uygun olan 44-45 °C'lik inkübasyonda O157:H7 bulunamaz (36). *E. coli* O157:H7 serotipi canlılığını dondurulmuş veya soğukta saklanan ürünlerde, düşük su aktivitesine sahip ürünlerde ve asidik besinlerde uzun süre korur. Bu ortamlara adapte olarak direnç kazanabilir (53). Ayrıca bu serotip dışkıda 50 gün, toprakta 130 gün canlı kalarak enfeksiyon yapma yeteneğini koruduğu bildirilmiştir (54).

*E. coli* O157:H7 serotipinin, *E. coli*'ler için kullanılan biyokimyasal testlere benzeyen tepkimeler verdiği bildirilmiştir. Bu sebepten dolayı *E. coli* O157:H7 serotipi indol ve MR testi pozitif, VP, sitrat testleri ve üreaz aktivitesi negatif olarak değerlendirilir (17, 55, 56). Ayrıca sukroz, arabinoz, trehaloz, mannitol, laktoz, maltoz, ramnoz, ksiloz, rafinoz ve dulcitol fermentasyonları, glikozdan gaz ve asit oluşturma yeteneği ile lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz testleri pozitif; salisin, eskülin, arjinin dihidrolaz, adonitol, inositol, KCN ve sellobiyoz reaksiyonları ise negatif (tablo 2.3) olarak bildirilmektedir (57).



**Tablo 2.3.** *E.coli O157:H7* serotipinin biyokimyasal özellikleri (58)

<b>Biyokimyasal testler</b>	<b><i>E. coli O157:H7</i></b>
Glikoz fermentasyonu	Asit ve gaz
Laktoz fermentasyonu	Asit ve gaz
Mannitol fermentasyonu	Asit ve gaz
Sakkaroz fermentasyonu	Asit ve gaz
Sorbitol fermentasyonu	Negatif
İndol	Pozitif
Üre	Negatif
Hareket	Pozitif
Hidrojen sülfür	Negatif
Lizin dekarboksilaz	Pozitif
Metil Red	Pozitif
Voges Proskau	Negatif

### **2.5. *E. coli O157:H7*'NİN PATOJENİTESİ VE VİRULENS FAKTÖRLERİ**

*E. coli O157:H7* serotipinin virulansı çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar; shiga toksin, adezin, hemolizin, intimin, tip III sekresyon sistemi ve O157 lipopolisakkaritleri gibi faktörlerdir (47). Stx'in genetik yapısı araştırıldığında, toksinler Verotoksin-1 (VT-1) ve Verotoksin-2 (VT-2) olarak isimlendirilmiştir (29).

*E. coli O157:H7* serotipinin patojenitesi temelde sentezlediği toksinlerden kaynaklıdır (52). Verotoksinler, immunolojik ve yapısal olarak *S. dysenteriae*'nin oluşturduğu shiga toksinlere benzerlik gösterdikleri için Shiga-like toksinler (SLT-I=VT-1; SLT-II=VT-2) olarak da isimlendirilmektedir. SLT-1'in nükleotid dizilişi shiga toksine benzemektedir (38, 59, 60). Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), immundifüzyon vb. yöntemler kullanılarak bu verotoksinlerin shiga toksine benzerliği tespit edilmesine rağmen izoelektrik noktası ve molekül ağırlığı gibi özelliklerden yararlanılarak *E. coli* verotoksinleri shiga toksinlerinden ayırt edilebilmektedir (29, 61). Verotoksin 1'in moleküler ağırlığı 29.000-30.000 olan A ve moleküler ağırlığı 5.000-6.000 arasında olan B alt ünitelerinden oluşmuştur ve izoelektrik noktası 7.03'tür. Verotoksin sınıflandırılmış ve saflaştırılmış olmasına karşın, patogenezi tam olarak bulunamamıştır

(62). Buna rağmen, HC, HUS ve TTP sendromları esnasında oluşan ishalden sorumlu olduğu bulunmuştur. HC'nin Stx barsak boşluğuna salındığında ortaya çıktığı ve mukozal yüzeye apoptik hasar verdiği bulunmuştur. HUS/TTP ise Stx'in kan dolaşımına karışıp vasküler endotelial hücrelere, özellikle böbrek hücrelerine hasar verdiği bilinmektedir (63).

ETEC suşlarının patojenitesinde ST ve dirençsiz LT iki enterotoksin rol oynar. Bu enterotoksinler sebebiyle, bağırsağa bol sıvı elektrolit salgılanması sonucu ishal gelişir (64). Toksinlerin reseptörü glikolipid yapıda olan globotriosylceramide (Gb3)'dür. Gb3 böbrek epitelyum hücrelerinde bulunur. *E. coli* O157:H7 içerdiği spesifik demir transport sistemi ile beta-hemoglobini demir kaynağı olarak kullanabilmektedir (36, 65). SLT 2 toksini kan damarlarının çeperlerindeki endotel hücreleri etkiler. Kalın barsak damarlarına da zarar vermesinden dolayı kanlı ishale neden olur. Böbrek glomerulusunun epiteli, taşıdığı Gb3 reseptörlerinden dolayı özellikle toksine duyarlıdır ve onun zarar görmesi böbreğin filtreleme işlevini ortadan kaldırır, sonuç olarak HUS görülür (66). Shiga toksinler, HC ve HUS'un nedenidir, barsak ve böbrekte, merkezi sinir sistemi ve diğer organların damar endotel hücrelerine sitopatik etkili olduğu sanılmaktadır (67).

*E. coli* O157:H7 serotipi enterik bir bakterideki gen değişimiyle oluşmuştur. Kommensal *E. coli*'ler memeli barsaklarını tercih ederken, patojen olanlar barsak epitellerini aşarak dolaşım sistemine ve buradan da uygun yerlere lokalize olabilirler (68). *E. coli* O157:H7 suşları insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara sebep olma yeteneklerine göre, intestinal epitel hücrelerine bağlanabilme ve barsakta kolonize olabilme yetenekleri gibi virulans faktörlerine göre incelenirler. HC ve HUS enfeksiyonları patogenezinde rol oynarken, intimin intestinal kanala tutunmayı kolaylaştırır. Enterohemolizinin bakteri fimbriasının barsak epitel hücrelerine adezyonunu sağladığı düşünülmektedir (69). Stx, intimin (EHEC ve EPEC'te diğer virulans faktörlerine bağlanma proteini) ve enterohemolizinin primer virulans faktörler olduğu belirtilmektedir. Diğer hemoliziner, intestinal bağlanma faktörleri ve O157 lipopolisakkaritleri de STEC'in patogenezinde eş değerde önemlidir (63).

*E. coli* O157:H7 serotipinin enfeksiyöz dozu 1-100 CFU'dur ve bu değer ETEC ve EPEC suşlarından daha düşüktür (70). Bu kadar düşük dozlarda enfeksiyon yapabilmeleri, mide asitine karşı dirençli olmalarındandır. *E. coli* O157:H7 serotipi

düşük pH' lı ortamda asit toleransı geliştirir ve hafif asidik yiyeceklerde böyle hayatta kalır (68).

### **2.7. *E. coli* O157:H7'NİN KAYNAĞI VE EPİDEMİYOLOJİSİ**

*E. coli* O157:H7'nin en önemli kaynağı sığırlar olmak üzere, koyun, köpek, kedi ve kuşlar gibi sıcakkanlı hayvanlardır (53). Enfekte hayvanların dışkıları, et, süt, sebze, su vb. gıdaları kontamine ederek yayılırlar (71). Bulaşma enfekte hayvanla direk temasla olabileceği gibi insandan insana da geçebilir (71, 72). Primer rezervuar olan sığırlar ve diğer hayvanlardan izole edilen *E. coli* O157:H7 serotipinin oluşturduğu enfeksiyonlara dirençli oldukları ve bu hayvanlarda patojen olmadığı belirtilmektedir (73). Yine Dean-Nystrom ve ark. (74) bu serotipin 3 haftalıktan büyük buzağılarda patojen olmadığını bildirmiştir.

İlk defa Kuzey Amerika'da rastlanmıştır. Günümüzde 6 kıtada ve en az 16 ülkede artan vakalar gözlemlenmiştir. Genelde bahar aylarında ve kışın vaka sayısında artış olduğu saptanmıştır. 1982 ile 1992 yılları arasında ABD'de 17 salgın görülmüştür. İskoçya'da 1996-97'da bu bakteri yüzünden 21 kişi hayatını kaybetmiştir (27, 29).

Bu patojenin bulaşmasına neden olan gıdalar; kontamine sığır eti ve ürünleri ile işlenmemiş çiğ süt ve ürünleridir. Salgınların nedenlerinin genelde az pişirilmiş hamburgerlerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bunun yanında soğuk sandviçler, rosto, kurutulmuş kürlenmiş salam, kurutulmuş fermente sucuk, çiğ süttten yapılan peynirler, yoğurt, beyaz turp filizi, pastörize olmayan meyve suları (elma, portakal), çiğ taze meyve ve sebzeler marul, mayonez, elma sırası, pişmiş mısır, kanatlı hayvan, domuz, geyik, kuzu etleri de salgınların diğer kaynakları olarak gösterilmektedir (29, 72). Meyve ve sebzelerin kontaminasyonu, sığır ve diğer ruminantların ekili alanlara girmeleri, çiftçilerin gübrelerden uygunsuz bir şekilde yararlanmaları ve arazi sulamada atık suların kullanılması sonucunda şekillenmekte, bunlara uygulanan kesme ve dilimleme işlemleri sonucu salınan sular, bakterinin gelişmesine olanak sağlamaktadır (8, 75) Dünyada ki *E. coli* O157:H7' ye ait en büyük salgın, 1996' da Japonya' da beyaz turp filizlerinden kaynaklanan 9451 adet enfeksiyon vakasının gözlenmesiyle ortaya çıkmıştır (6). 1991' in sonlarında Güneydoğu Massachusetts' de, pastörize edilmemiş taze sıkılmış elma suyunun tüketilmesinden dolayı 18 kişinin etkilendiği salgında, 4 çocukta HUS gelişmiştir (1). Bu salgının sebebinin, elmaların yerden fekal kontaminasyona maruz kaldığı ve yıkanmadan tüketilmesi sonucu olduğu tespit

edilmiştir. 1980'de Kanada' da yine bu tip bir salgın gözlenmiştir (65). Mezbahalarda karkasın yüzülmesi ve iç organların uzaklaştırılması esnasında kontaminasyon oluşabilir. Etin işlenmesi sırasında yüzeiden iç kısımlara geçen etken, gerekli ısı işlemlerin yapılmaması halinde yaşamını devam ettirerek halk sağlığını tehdit etmektedir (76).

*E. coli* O157:H7, göçmen kuşların barsak florasında yaşayan, düşük pH'lara, soğutma ve dondurmaya karşı dirençli bir mikroorganizma olduğundan (75), uzun süreler toprak ve dış ortamlarda yaşamını sürdürerek geniş alanlara yayılabilir (8, 77). *E. coli* O157:H7'nin yayılması; coğrafyaya, mevsime, hayvanın türüne, yaşı ve cinsiyetine, beslenme şekline göre etkilenir. Yaz aylarında prevalansı yükselir. Sığırların kontaminasyon oranları diğerlerine göre daha yüksektir (78).

## **2.8. *E. coli* O157:H7'NİN İNSANLARDA OLUŞTURDUĞU HASTALIKLAR**

*E. coli* O157:H7, halk sağlığını etkileyen önemli bir patojendir. Hastalığın oluşabilmesi için en az 10 adet etkenin alınmasının yeterli olacağı (79) ve minimal enfektif dozunun (MID) 10-100 kob/g gibi çok düşük değerlerde olduğu bildirilmiştir (80, 81).

Hastalıkta septomlar şiddetli ishal ve abdominal ağrıyla başlar ve daha sonra kanlı ishale dönüşür. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları; etkenin alınmasından itibaren 2-4 gün içinde; abdominal kramp ve ağrı, mide bulantısı, kusma, gastroenteritis, kanlı ishal gibi semptomlara neden olurken bazen semptom göstermeden veya orta şiddetli ishallerle seyredebilir (82). Bunların yanı sıra, septisemi, menenjit ve idrar yolları enfeksiyonları görülebilir. *E. coli* O157:H7 serotipinin neden olduğu enfeksiyonları çocuk ve yaşlılarda daha şiddetli seyredir (83). Hemolitik anemi, trombositopeni ve akut nefropati hastalıkta görülen diğer önemli klinik bulgular arasında yer alır (47, 65). *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu ilerlediğinde, insanlarda HC, HUS ve TTP olarak adlandırılan ve ölümlle sonuçlanabilen hastalıklara neden olabilir (46, 84-86).

**Hemorajik Kolit (HC):** İlk belirtiler, *E.coli* O157:H7 ile kontamine gıdaların tüketiminden sonra 1-2 gün (en fazla 3-5 gün) içerisinde şekillenmeye başlar (80). Ani ortaya çıkan kramplı abdominal ağrılar ile başlar ve 24-48 saat içinde sulu ishalle devam eder. İshal sırasında görülen kan artar ve dışkı zamanla tamamen kan olur. Hastalık süresi 2-9 gün, ortalama 8 gündür. Şiddetli abdominal ağrının yanı sıra, sulu ishalin az ya da hiç bulunmaması kolonik mukoza ödemi ile karakterize bir hastalıktır

(9, 20, 68). Bu hastalık shigellosiste tanımlanan dizanteri ve invaziv *E. coli*'nin neden olduğu gastroenteritisten ateş olmaması ve kanlı dışkı ile ayrılmaktadır (23, 68, 87-90).

**Hemorajik Üremik Sendrom (HUS):** İlk defa 1955 yılında HUS en çok ölüme sebep olan hastalık olarak saptanmıştır (91). Özellikle genç bireylerde böbrek yetmezliği, mikroangiopatik hemolitik anemi ve trombositopeni olmak üzere üçlü sendrom şeklinde karakterize edilir. HC'de, HUS %0-15 arasında gelişebilirken, çocuklarda bu oran %10 civarındadır. Aynı zamanda HUS, kalıcı böbrek fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Yaşlı bireylerde ise HUS, bu semptomlara ek olarak ateş ve TTP ile beraber görülür. Bu durum bireylerde ölüm oranını iki katına çıkarır (23, 68). Genelde hastalara diyaliz ve kan nakli gereklidir, nöbet ve koma ile karakterize olan merkezi sinir sistemi hastalıkları oluşur ve ölüm gerçekleşebilir (37). Sarılık, genellikle yüksek tansiyon ve kalp yetmezliği de hastalarda görülebilen diğer semptomlardır. *S. dysenteriae* serotip-1'in sebep olduğu enfeksiyon HUS'a neden olurken, bazı mikroorganizmalar HUS gibi hastalıklar yapabilmektedir (88). HUS genellikle HC oluşumundan 7 gün sonra oluşur ve tanı konduğunda gaita kültürlerinde mikroorganizma olmayabilir. Bu sendrom, sindirim sistemi ya da solunum sistemi hastalıklarından birkaç hafta sonra görülen bir durumdur (90).

**Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP):** Esas olarak yetişkinlerde görülen bir hastalıktır (47, 92). TTP'nin klinik ve patolojik özellikleri HUS ile benzerlik göstermesine rağmen, bu hastalık merkezi sinir sisteminin bozulmasına neden olur. Bu hastalığın karakterize edildiği bulgular, mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve ateştir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşturur ve genellikle ölüm görülür (9, 37, 47, 68, 92). *E. coli* O157:H7 serotipinin enfeksiyonlarında TTP nadir olarak görüldüğü bilinmektedir (23).

## 2.9. *E. coli* O157:H7'NİN TEŞHİS YÖNTEMLERİ

*E. coli* O157:H7 serotipinin düşük dozları dahi insanlarda enfeksiyon yapabilme yeteneğine sahip olduğundan, gıdalarda bulunmaması gerekir. Bu sebeple bu serotipin miktarının belirlenmesinden ziyade varlık/yokluk analizi önemlidir (63). Bu amaçla; selektif zenginleştirme, selektif katı besi yerine sürme, biyokimyasal identifikasyon ve serolojik yöntemlerle doğrulama işlemleri yapılır. *E. coli* O157:H7 serotipin standart kültürel yöntemlerle belirlenmesinde sorbitolü kullanamaması ve 4-methyl-umbelliferyl-D-glucuronide (MUG) reaksiyonunun negatif olması gibi iki temel

reaksiyon baz alınarak, katı besiyerinde gelişmiş olan koloniler arasından *E. coli* O157:H7 serotipleri seçilebilir. Gıdada bulunan diğer bakterilerin *E. coli* O157:H7'yi maskeleyebilmesi ve dolayısı ile sahte negatif sonuçlar alınabilmesi nedeni ile bu durumu önlemek amacı ile daha duyarlı olan enzimatik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır (29, 93, 94).

### 2.9.1. Kültürel-Biyokimyasal Yöntemler

*E. coli* O157:H7'nin gıdalarda veya dışkı örneklerinde laboratuvar tanısı için uygun şekilde alınmış örneklerden mikrororganizmanın kültür ve izolasyonları yapılarak gerçekleştirilir. Dışkı materyalinde bu serotipin varlığının gösterilmesi sırasıyla; selektif bir sıvı besi yerinde ön zenginleştirme yapıp homojenize edildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilip, selektif-diferansiyel katı besi yerine ekilir (94). Daha sonra şüpheli kolonilerin biyokimyasal testleri ve O157 antiserumu ile lam ya da tüp aglütinasyon testi yapılarak veya lateks aglütinasyon testi ile *E. coli* O157 olarak belirlenmesi ve son olarak da izolat da H7 antijeninin varlığının belirlenmesi şeklindedir (29, 68, 95). *E. coli* O157:H7'nin kültürel yöntemlerle belirlenmesinde, ön zenginleştirme besi yeri olarak genelde modifiye tryptone soy broth (mTSB) ve modifiye *E.coli* broth (mECB) kullanılmaktadır (29, 96).

Selektif-diferansiyel katı besiyeri olarak en yaygın kullanılan agar Sorbitollü MacConkey (SMAC)'dir. Standart MacConkey (MC) agardan farkı; laktoz yerine sorbitol bulunmasıdır. *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitol negatif olduğundan bu besiyerinde renksiz koloniler oluşturur (19). Sorbitolü kullanan bakterilerin oluşturduğu asitlik, bir pH indikatörü yardımıyla kolonilerin kırmızı renkte görülmesine sebep olur. Bundan dolayı *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitol pozitif bakterilerden ayırt edilebilir. Her sorbitol negatif *E. coli* suşu O157:H7 serotipi olarak değerlendirilmemelidir. MUG testi ile izolatın *E.coli* tip 1 olduğu kontrol edilmelidir.(97).

Standart MC agar ve SMAC agarlar, sırası ile laktoz ve sorbitol reaksiyonlarına dayalı yeterli düzeyde ayırt edici özellik göstermekle beraber her iki besiyeri de oldukça zayıf bir selektiviteye sahiptir ve *E. coli* O157:H7 yanında pek çok bakterinin de gelişmesine sebep olurlar. Bu yüzden SMAC agara çeşitli selektif katkıları katılarak besiyerine daha fazla selektivite kazandırılır. Bu amaçla genelde sefiksim tellurit ve potasyum tellurit kullanılır. Sefalosporin grubu bir antibiyotik olan sefiksim, özellikle, sorbitol negatif olan *Proteus* spp.'nin inhibisyonu için önemlidir (98). Potasyum tellurite ise *E. coli*

O157:H7 dışında kalan ve baskılanamayan *E. coli*'leri önemli derecede etkilemektedir. Bu serotipin varlığının belirlenmesi, refakatçı biotanın baskılanması ile ilgilidir (29). Bunların dışında antiserum, 5-brom-4-klor-3-indoksil- $\beta$ -D-glukuronik asit sikloheksil amonyum tuzu; BCIG, sefiksim ve tellürit, ramnoz ve sefiksim ve MUG denenmiştir (29, 48, 94). SMAC dışında, fenol red sorbitol (PRS) + MUG agar, L-EMB agar, HC agar, EHEC agar, BCM O157 agar, CHROMagar O157, modifiye edilmiş EMB (mEMB) agar, Fluorocult *E. coli* O157 agar, standart enterik agar ve purple agar base + %1 sorbitol besiyeri kombinasyonu besiyerleri de çeşitli denemelerde kullanılmıştır (29). *E. coli* O157 dışındaki sorbitol fermentasyonu negatif birçok bakteri tarafından fermente edilen ramnozun ayırt edici özelliğinden dolayı sefiksim-ramnoz katkılı sorbitol MacConkey (CR-SMAC) agar geliştirilmiştir. Dışkı örneklerinden izolasyon için en duyarlı selektif besiyeri olarak CT-SMAC agar önerilmektedir (94, 98, 99).

*E. coli* O157:H7 izolasyonunda kullanılan florojenik özellikteki Fluorocult *E. coli* O157:H7 agar, bakterinin  $\beta$ -glukuronidaz özelliğinin tespitinde kullanılır. Besiyerinin içindeki florojenik substrat olan MUG, ultraviyole ışık altında floresan parıldama verir.  $\beta$ -glukuronidaz özelliği bulunmayan *E. coli* O157:H7 serotipi parıldama göstermez (100). Noveir ve Halkman (48) yaptıkları bir çalışmada SMAC agarın, Fluorocult *E. coli* O157:H7 agara göre daha iyi sonuç verdiği ve Fluorocult *E. coli* O157:H7 agarda hatalı pozitif sonuçlar alınabileceğini bildirmiştir. Yine  $\beta$ -glukuronidaz özelliğinden yararlanarak SMAC agara kromojenik bir substrat olan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (BCIG) eklenerek SMAC-BCIG adında kromojenik agar geliştirilmiştir (96). Diğer *E. coli*'ler bu BCIG ile reaksiyona girerek, mavi mor renkli koloniler oluştururken *E. coli* O157:H7 serotipi renksiz, şeffaf görünümlü koloniler oluştururlar (96, 100).

Bu aşamadan sonra, selektif besi yerlerinden izole edilen şüpheli kolonilerin biyokimyasal testler ile tanımlanması gerekir (68, 101).

**İmmunomanyetik Separasyon (IMS) Tekniği:** İmmunomanyetik Separasyon tekniği gıda maddelerinde ve diğer örneklerde mikroorganizmaların aranması için kullanılan hızlı, yüksek duyarlılığa sahip ve uygulanması kolay bir yöntemdir. Bu yöntemin prensibi spesifik immünokimyasal ajanlar (monoklonal, poliklonal ve rekombinant antikolar) ile kaplanmış manyetize boncuklar kullanılarak istenen mikroorganizmaların

belirlenmesi temeline dayanır. Bu boncuklar karışık bir süspansiyon içinden dahi spesifik olarak aranan mikroorganizmayı yakalayabilir (102).

Bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından güvenilir ve duyarlı bulunmuş ve doğrulama için doğrudan izolasyon sağlaması sebebi ile diğer gelişmiş analiz yöntemlerine göre daha avantajlı olarak tanımlanmıştır (101, 103, 104). IMS yöntemi *E. coli* O157'ye spesifik antikörlerle kaplanmış manyetik boncuklardan oluşan selektif bir zenginleştirme yöntemi olarak kabul edilir (105).

### 2.9.2. Serolojik Yöntemler

Klasik yöntemler çoğu enfeksiyonu teşhis edebilsen bile bazen yetersiz kalabilir ve özellikle refakatçi floranın etkeni maskeleymesi sebebiyle çoğu kez sahte negatif sonuçlar alınabilmektedir. Bu sebeple, gelişen analiz teknikleri içinde başta DNA esaslı testler ve immunoenzimatik yöntemler olmak üzere çeşitli analiz yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır. Bu yöntemler; immunoassay, radioimmunoassay (RIA), floresan immunoassay (FIA), enzim immunoassay (EIA), immun peroksidaz testleri vs. olup bakterinin belirlenmesinde güvenli ve erken sonuç vermektelerdir. Fakat bu testler pahalı olduğu gibi, donanımlı bir laboratuvar ve yetişmiş personele ihtiyaç duymaktadır (29).

Lateks aglütinasyon doğrulama testi *E. coli* O157:H7 serotipinin hızlı identifikasyonu için kullanılan ve yüksek duyarlılığa sahip bir testtir. Test kiti iki adet latex solüsyonu içermektedir. Bunlardan test solüsyonu *E. coli* O157:H7 antijenine özel tavşan antikörleri ile kaplanmış lateks partiküllerinden oluşur, diğeri ise kontrol solüsyonudur ve pre-immun halde tavşan globinleri içerir. İzolasyon aşamasında elde edilen sorbitol negatif koloniler lateks testi yapılarak bir dakika içinde belirlenebilir (29, 48). O157 olarak belirlenen izolatın H7 olup olmadığının saptanması için H7 antiserumu kullanılır. Bu amaçla; H7 antiserumu çeşitli besiyerlerine katılarak immobilizasyon testi uygulanır (106-108).

*E. coli* O157:H7 tespitinde kullanılan serolojik ve biyokimyasal yöntemler O, H antijeni veya Stx belirlenmesi temeline dayanmaktadır ve bu sebeple spesifik monoklonal ve poliklonal antiserumlar geliştirilmiştir (63, 64).

**Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA):** Örneklerde *E. coli* O157:H7'nin varlığını göstermek için kullanılan hızlı ve güvenilir bir testtir. ELISA yöntemi O157 ve



H7 antijenlerinin teşhisi için monoklonal antikorların (MAb) kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Özellikle fekal örneklerde ELISA ve gıda numunelerinde “sandwich” ELISA yönteminin güvenilir ve hızlı sonuçlar verdiği bildirilmektedir (29, 78). Yüksek düzeydeki spesifikliğı, duyarlılığı ve hızlı olmasının yanında, rutin mikrobiyolojik kontroller için kolay ve uygun bir yöntemdir. Dışkı örneklerinde *E. coli* O157:H7’ nin belirlenebilmesi için geliştirilmiş ve bir saatten daha az sürede sonuç veren hızlı bir ELISA yönteminde diğer enterik patojenler ile çapraz reaksiyon alınmamıştır. Et ve tavuk ürünlerinden *E. coli* O157:H7 izolasyonu için ticari olarak bulunan ve *E. coli* O157 antijeni için "reactive disc blot" ELISA sisteminin kullanıldığı bir tarama yöntemi de tasarlanmıştır (29, 78, 109). ELISA’da, kullanılan monoklonal ya da poliklonal antikorlar ile hatalı pozitiflik oranının düşürüldüğü belirtilmiştir(110).

*E. coli* O157’ nin hızlı ve kolay olarak tespit edildiğı diğer enzim immunoassay sistemi ise polymacron’ dur. Bu sistemin esası, test örneğinin sodyum cholate ile 100 °C’ de 10 dakika ısıtılması ile ekstrakte edilen *E. coli* O157 antijeninin immuno enzimatik yöntemle belirlenmesidir (29, 111).

### 2.9.3. Moleküler Yöntemler

Klasik tanı yöntemleri halen birçok patojen mikroorganizmanın saptanmasında kullanılmasına rağmen bazen yetersiz kalabilmektedir (112). Moleküler tanı yöntemleri; tanı yanında cins veya tür düzeyinde tanımlanması, epidemiyolojik tiplendirme, virulans faktörlerinin belirlenmesi, direnç genlerinin araştırılması, mutasyon incelemeleri, sınıflandırma ve filogenetik analizlerde kullanılır (112, 113).

Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) yöntemi, farklı sıcaklıkların uygulandığı üç basamağın (denaturasyon, bağlanma, sentez) birbirini takip eden döngüler şeklinde tekrarlanması temeline dayanır. Böylece toplam 40-50 döngü yapılması sonucunda, genom üzerinde seçilmiş olan hedef bölge milyarlarca kopya halinde çoğaltılmış olur. Çoğaltılan etken etidyum bromid ile boyanan jel analizi ile saptanır (114).

PZR tekniğı *E. coli* O157:H7 belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. PZR, DNA’nın ortamda polimeraz enzimi ve DNA sentezi için uygun maddeler bulunması halinde karşıt sıralarını sentezleyebilme yeteneğinden faydalanılarak oluşturulan bir reaksiyondur. DNA ve RNA dizilerinin sayısal olarak arttırılması temeline dayanan PZR’in en önemli özelliğı seçilmiş bir DNA dizisini çoğaltarak istenmeyen dizilerin ortaya çıkmasını engellemesidir (115). Bu özellik dizinin tanınmasını kolaylaştırır ve

DNA'nın analiz edilmesini de sağlar. PZR ile virulans faktör genleri teşhis edilebilmekte ve böylece, O veya H antijeni, Stx genleri, 60 Mda plazmid gibi virülans faktörleri tespit edilerek *E. coli* O157:H7 serotipi belirlenmektedir. PZR tekniğinin de *E. coli* O157:H7 serotipinin diğer *E. coli* serotiplerinden ve diğer Gram negatif bakterilerden ayrılmasında duyarlı ve hızlı bir yöntem olduğu bildirilmiştir (64). Bugün kullanılmakta olan çok çeşitli modifiye PZR teknikleri olmakla beraber bunlardan en çok kullanılanlar RT-PZR (Reverse Transcriptase PZR), Multipleks PZR ve Real-time PZR'dır (26, 139).

### **2.10. *E. coli* O157:H7 TEDAVİSİ**

*E. coli* O157:H7 kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik kullanımının hastalığın seyrini kötüleştirebileceği ve HUS/TTP riskini artabileceği bildirildiğinden hastalıkta antibiyotik ve antikoagulan kullanımı tartışılmaktadır. Bunun yerine *E. coli* O157:H7 ile enfekte olmuş insanlarda nonspesifik destekleyici tedavi uygulanması tavsiye edilir (23, 116-119). *E. coli* O157:H7 serotipi antibiyotiklere her geçen gün direnç kazanmaktadır. *E. coli* O157:H7 serotipinin sefalotin ve kolistin'e karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle konuyla ilgili olarak İskoçya'da mide asitliğini düşürücü ilaç ve rastgele antibiyotik kullanan hastalarda HUS/TTP'ye yakalanma riskinin artırdığı bildirilmiştir (23, 29, 103, 117, 119-122). Japonya'da 1996'da görülen ve genelinen okul dönemi çocuklar olmak üzere 6000 kişinin etkilendiği salgında, hastalığın yedinci gününde alınan antidiyaretik ilaçların hastalık tablosunu ağırlaştırdığı bildirilmiştir (68). Bu enfeksiyonun komplikasyonu olan HUS hastanede bakım gerektiren, hayati tehlike taşıyan bir durumdur ve sıklıkla kan nakli ve böbrek diyalizi gereklidir (23, 29, 103, 117, 119-122).

### **2.11. *E. coli* O157:H7 ENFEKSİYONUNUN KONTROLÜ VE ÖNLEME YOLLARI**

Hastalığın sağaltımında ilaç kullanımının enfeksiyonun seyrini kötüleştirebileceği için, hastalıktan korunma yöntemleri büyük önem kazanmaktadır (23, 116-119). Hijyenik kesim uygulamaları ile karkasın dışkı ile kontaminasyon riskinin azaltılması, çiftliklerde, gıda işletmelerinde ve çalışan personelin, güvenli gıda sağlama teknikleri, çiğ ve pişmemiş gıdalardan kaynaklanabilen direkt ve indirekt çapraz kontaminasyonlar ve personel hijyeni konularında eğitilmesi, *E. coli* O157:H7 suşunun insanlara bulaşmasını en aza indirmede önem taşımaktadır (87, 122, 123). Etken yüksek ısıya

duyarlı olduğundan, besinlerin etkenin denatüre olması için önerilen ısıda pişirilmesi ile *E. coli* O157:H7'nin inaktivasyonu sağlanabilir. Kesimhanelerde derinin yüzülmesi ve iç organların çıkarılması sırasında sığır eti kontamine olabilmektedir (123, 124). Etin parçalanması ve kıyılması sırasında etin yüzeyinden iç kısımlarına geçen bakteri yeterli ısı işlem uygulanmadığı takdirde canlılığını sürdürmekte ve halk sağlığı açısından risk faktörü haline geldiği bildirilmektedir. Bu sebeple et ve et ürünlerinde etkenin inaktive olması için, uygulanan ısı işlemin ürünün her yerinde 70 °C ve üzerinde olması gerekmektedir. *E. coli* O157:H7 ışınlamaya da duyarlı olduğundan, dondurulmuş, çiğ et ve et ürünlerine iyonize ışınlarının uygulanması ile besin kaynaklı enfeksiyonların düzeyleri azaltılabilir. Işınlama besin maddelerinde bir hijyen güvencesi sağlanmaktadır. Fakat etkenin aside direnç kazanması ışınlamaya da direnç kazanmasını sağlamaktadır (125-128).

Hızla yayılan ve ölümcül düzeylere ulaşabilen bu salgın kaynağından korunmak amacıyla tüketilen ürünlerin güvenilir ürünler olmasına dikkat edilmelidir. Bütün bu bilgiler doğrultusunda başta kesimhaneler olmak üzere tüm gıda üretimi ve islenmesi ile ilgili yerlerin, fekal kontaminasyon ve bir gıdadan diğerine çapraz kontaminasyon riskinin azaltılması amacıyla üreticilerin ve satıcıların sanitasyon kurallarına uymaları ve gıda denetimlerinin sıklaştırılması alınabilecek başlıca önlemlerdendir. Bu noktada gıda işletmecilerine büyük bir görev ve aynı zamanda vicdani bir sorumluluk da düşmektedir (43, 129).

Ayrıca tüketicilerin satın aldıkları gıda ürünlerinin hijyeni konusunda bilinçlendirilmeleri gerekmektedir. Gıda ürünlerini sanitasyon bakımından güven duyulan işletmelerden temin etmeleri de bir diğer koruyucu önlem olarak sayılabilir (43, 129, 130)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇ

##### 3.1.1. Numuneler

Çalışmada, Ocak-Mayıs 2014 tarihleri arasında Kahramanmaraş ilindeki 1. sınıf kombina olarak faaliyette bulunan işletmeye ikişer haftalık aralıklarla 4 kez gidilerek sığır kesim hattından alınan 200 adet örnek materyal olarak kullanıldı. Kesimhanede, çalışan personel, kullanılan alet ve ekipman ve barsak içeriğinden alınan sıvı örnekleri içerisinde 20 mg/L novobiosin içeren tryptone soya broth içeren tüplere konularak soğuk zincir altında en kısa süre içerisinde laboratuvara getirildi ve analiz edildi. Karkastan ise seçilen her bir yarım sığır karkasının but, kavram ve döş bölgesinden 10x10 cm (100cm<sup>2</sup>) ebadında, toplam 300 cm<sup>2</sup>'lik yüzeysel karkas kısımlarından steril poliüretan süngerler kullanılarak örnekleme yapılmıştır. 25 mL tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilen süngerler steril plastik template (10X10'luk) kullanılarak, 10 adet horizontal ve 10 adet vertikal sürtme hareketi ile eşit basınç uygulamaya dikkat ederek yüzeye uygulanarak alınan steril stomacher poşetlerine konularak, ve poşetler soğuk zincirde laboratuvara getirilerek 1 saat içerisinde analize alındı. Alınan örnek çeşitleri ve sayıları tablo 3.1.'de belirtildi.

**Tablo 3.1.** Çalışma kapsamında alınan örnek çeşitleri ve sayıları

Örnek	Sayı
Karkas	50
İç organ	50
Barsak içeriği	50
Personel	25
Kesimde kullanılan aletlerin yüzeyinden alınan svab	25
Toplam	200

**3.1.2.Besiyerleri****CHROM Agar O157 (CHROM) ( CHROMagar, Fransa )**

Bileşimi	g/L
Agar	15,0
Peton ve yeast ekstrakt	13,0
CHROMogenic mix	1,2

**Hazırlanışı:** CHROMagar besiyerinden 5,84 g tartıldı. Bir l distile su içerisinde eritilerek 121 °C' de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

**Novobiosinli modifiye Tyriptose Soy Broth (mTSB Broth Oxoid, İngiltere) :**

Bilesimi	g/L
Peptone from Casein	17,0
Soya Peptonu	3,0
NaCl	5,0
Bile Salts No.3	1,5
D(+) Glucose	2,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,0
Novobiosin	0,02

**Hazırlanışı:** mTSB besiyerinden 33g/l tartılarak distile su içerisinde eritildi. Hazırlanan besiyeri 225 ml olacak şekilde vida Kapaklı Şişelere aktarılarak 121 °C'ye ayarlanmış otoklavda 15 dk. sterilize edildi.

### 3.1.3. Besiyerlerinde Kullanılan Suplimentler Cefixime Tellurite Selective Supplement (Fluka, Hindistan)

**Bileşimi** **500mL/mg**

Potassium tellurite 1,25

Cefixime 0,025

**Hazırlanışı:** İki ml distile su içerisinde eritilmiş bir vial Cefixime Tellurite Selective Supplement 500 ml SMAC besiyerine ilave edildi.

### 3.1.4. Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar ve Tampon Sıvılar Yıkama Solüsyonu (PBS Tween)

**Bilesimi** **g/L**

NaCl 0.15M

Sodium-Phosphate buffer 0.01M

Tween-20 %0.05

pH 7.4

Bu karışım IMS'de örneklerin yıkanmasında kullanıldı.

**Dynabeads® anti-*E. coli* O157 (Invitrogen, Dynal Biotech, Oslo, Norveç):** *E.coli* O157 aranmasında, Dynebeads anti *E.coli* O157 kitleri ticari firmanın belirttiği kullanım prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

***E. coli* O157 Antisera (SSI, Danimarka):** *E. coli* O157 antisera, ticari firmanın belirttiği kullanım prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

***E. coli* H7 Antisera (SSI, Danimarka):** *E. coli* H7 antisera, ticari firmanın belirttiği kullanım prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

**Referans suş:** İzolasyon ve identifikasyon çalışmalarının her aşamasında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarına ait kültür koleksiyonunda mevcut olan National Collection of Type Cultures (NCTC 12900) kontrol suşu kullanıldı.

### 3.1.5. Moleküler Analizlerde Kullanılan Sarf Malzemeler

#### 10X PZR (Vivantis)

Tris-HCl 100Mm

KCl 500mM

pH 8.3

Taq DNA polimeraz ile beraber gelen ve enzimin çalışması için gerekli stabil pH şartlarını sağlamak amacı ile reaksiyonda son konsantrasyonu 1X olacak şekilde kullanıldı.

**dNTP Miks (Vivantis, ABD):** Eşit konsantrasyondaki dATP, dGTP, dCTP ve dTTP içeren 10mM olan dNTP mix (Vivantis) solüsyonu amplifikasyonu sırasında denatüre edilen zincirlerin tamamlanması için PZR reaksiyonunda kullanıldı.

**Taq Polimeraz (Vivantis, ABD):** Isıya dayanıklı DNA enzimi (Vivantis, 500U) moleküler aşamada PZR reaksiyonunda çift zincirli DNA'nın 5'-3' yönünde nükleotidlerine ayrılması ve tek iplikçikli hale gelmesini sağlamak amacı ile kullanıldı.

**MgCl<sub>2</sub> (Vivantis, ABD) :** Konsantrasyonu 50 mM olan MgCl<sub>2</sub> (Vivantis) PZR reaksiyonunda Taq DNA polimeraz ile beraber gelen ve enzimin çalışması için gerekli kofaktör olarak kullanıldı.

**Primerler (Vivantis, ABD) :** Çalışma kapsamında izole edilen ve serolojik testler ile identifiye edilen *E.coli* O157:H7'nin moleküler olarak doğruluğunun saptanmasında ve

sahip oldukları virulans genlerin moleküler olarak tespitinde kullanılan primer dizileri Tablo 3.2.'de belirtilmiştir.

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan virulans genleri ve primer dizilimleri

Çalışmada Kullanılan Primerlerin Dizilimi	Gen Bölgesi	Virulans Genin Adı	Amplikon Büyüklüğü (bp)
PF8 CGTGATGATGTTGAGTTG	<i>rfbO157</i>	O157	420
PR8 AGATTGGTTGGCATTACTG			
FLICH7-F GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	<i>fliC</i>	H7	625
FLICH7-R CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC			
SLT1-F TGTAACGGAAAGGTGGAGTATACA	<i>Stx1</i>	Verocytotoxin 1	210
SLT1-R GCTATTCTGAGTCAACGAAAATAAC			
SLTII-F GTTTTCTTCGGTATCCTATTCC	<i>Stx2</i>	Verocytotoxin 2	484
SLTII-R GATGCATCTCTGGTCATTGTATTAC			
AE22 ATTACCATCCACACAGACGGT	<i>eaeA</i>	Intimin	397
AE20-2 ACAGCGTGGTTGGATCAACCT			
MFS1-F ACGATGTGGTTTATTCTGGA	<i>ehlyA</i>	Enterohemolysin	166
MFS1-R CTTACGTCACCATACATAT			

**DNA Ladder (Vivantis, ABD):** Konsantrasyonu 0,5µg/µl olan 100bp DNA ladder (Vivantis) elektroforez sonucunda oluşan bantların büyüklüklerini belirlemek için kullanıldı.

**6xLoading Dye (Vivantis, ABD):** 6XLoading Dye'nın (Vivantis) bileşiminde Bromophenol blue ve xylene cyanol FF boyaı bulunmaktadır. Elektroforez boyunca DNA göçünün izlenmesi amacı ile DNA ladderlerin ve örneklerin agaroz jele yüklenmesinde kullanıldı.



### 10xTBE Electrophoresis Buffer

Tris	89 mM
Borik asit	89 mM
EDTA	2 Mm

**Hazırlanışı:** 50 mL 10 X TBE Buffer (Vivantis) 950 mL distile su ile 1000'e tamamlanarak 0.5 X TBE buffer hazırlandı. 0.5XTBE buffer agaroz jel hazırlanmasında ve elektroforez aşamasında kullanıldı.

**Agarose:** Agaroz'dan (Sigma, ABD, 100gr ) 2 g tartılarak 100 mL 0.5XTBE ile homojenize edildi. Mikrodalga fırında bir dk. 400W'ta bekletilerek eritildi. 50°C civarına kadar soğutulan agarozu 3 µl ethidium bromid ilave edildi ve jel haline getirilerek elektroforez aşamasında kullanıldı.

**Ethidium Bromide:** Jelde DNA bantlarının görülebilmesi amacıyla kullanılan ethidium bromid'ten 10 mg tartılarak 10 ml distile su ile sulandırılarak stok solüsyon hazırlandı ve agaroz jelde hazırlanmasında kullanıldı.

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. *E. coli* O157:H7 İzolasyonu

#### Ön Zenginleştirme

Çalışmada, karkas yüzeyinden 25mL tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilen süngerlerde alınan numuneler içerisinde 225 mL, 20 mg/L novobiocin içeren Tryptone Soy Broth'la ilave edilerek steril stomacher poşeti içinde 2 dakika süreyle homojenize edildi. Aynı şekilde 20 mg/L novobiyosin içeren 10 mL Tryptone Soy Broth içine alınan sıvap örnekleri 37°C'de 16-18 saat inkübe edildi (93, 131).

#### İmmunomanyetik Separasyon Yöntemi

Tryptose Soy Broth'ta ön zenginleştirme işlemine tabi tutulan numuneler, Dynabeads anti-*E. coli* O157 kullanılarak immunomanyetik separasyona tabii tutuldu. Bu amaçla, ön zenginleştirme işlemi yapılmış kültürden 1 mL alınarak steril ependorf içerisine

aktarıldı. Daha sonra anti-*E. coli* O157 Dynabeads'ler pelet homojenize olana kadar vortekslendi. Homojenize boncuklardan 20 µL alınarak ependorfa ilave edildi ve bir kaç saniye vortekslendi. Daha sonra ependorfların ağzı sıkı bir şekilde kapatılarak IMS üzerine yerleştirildi. Cihaz 10 dakika düşük bir devirde mıknatıs takılı olmadan çalıştırıldı. Daha sonra cihazın mıknatıs ünitesi takılarak 5 dk'da daha çalıştırıldı ve daha sonra 3 dk bekledi. Bu işlem esnasında, ependorfun duvarında kahverengi renkte boncuklar toplanmış olarak gözlemlendi. Daha sonra ependorfun çeperine yapışmış olan boncuğu atmadan ependorf içindeki sıvı dikkatli bir şekilde döküldükten sonra ependorfun içerisine 1 mL yıkama solüsyonundan ilave edildi ve mıknatıs paneli takılı IMS'de 5 dk döndürüldü. IMS durdurulduktan sonra ependorflar cihazda tekrar 3 dk bekletildi ve ependorftaki sıvı kısım dikkatlice döküldü. IMS işleminden sonra ependorf içerisindeki boncuk 100 µL yıkama solüsyonu ile sulandırıldı. Bu sıvıdan 50 µL alınarak CT supplement içeren CHROM agara ekildi ve 37 °C de 18-24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda agarda üreyen pembe renkli koloniler *E.coli* O157:H7 olarak değerlendirildi ve bu kolonilere için lateks aglütinasyon testleri uygulandı (131).

### **Serolojik İdentifikasyon**

Çalışmada, CHROM agarda üreyen pembe renkli koloniler pozitif kontrol eşliğinde *E. coli* O157 lateks ve *E. coli* H7 antiserumları kullanılarak yapılan aglütinasyon testleri yapıldı. Bu amaçla şüpheli koloni, kontrol serumu ile test serumu karıştırıldı. Kontrol serumunda herhangi bir değişiklik olmaması beklenirken test serumu ile karıştırılan kolonide agglütinasyon (kumlanma görüntüsü) beklendi (93). Agglütinasyon oluşturan koloniler pozitif olarak değerlendirilerek moleküler düzeyde virulans faktörlerinin belirlenmesi amacıyla gliserinli buyyon (%15) içerisinde -20 °C'de saklandı.

### **3.2.2. Moleküler Analiz**

#### **3.2.2.1 DNA ekstraksiyonu**

Bakteri DNA'sını elde etmek için GF-1 (Vivantis, ABD) bakteri ekstraksiyon kiti kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi kit protokolünün öngördüğü şekilde gerçekleştirildi. Kısaca, şüpheli bakterilere ait bir gecelik sıvı kültüründen 1-3 mL alındı ve 6000xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Tüpün üstünde biriken supernatant atılarak altta kalan pelletin üzerine 100 µl R1 buffer solüsyonundan ilave edilerek homojenize edildi. Elde edilen süspansiyon üzerine 10 µL lizozim (50 mg/mL) eklenerek 37°C'de 20 dakika inkübe

edildi. Daha sonra süspansiyon 10000 x g'de 3 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvı atılarak altta kalan pellete 180 µl R2 solusyonu ve 20 µl proteinaz K (20 mg/mL) ilave edilerek homojenizasyona tabi tutuldu. Süspansiyon 60°C'lik su banyosunda 20 dakika inkübasyon sonrasında üzerine 20 µL RNase (20 mg/ml) konuldu. Süspansiyon 37°C'de 5 dk bekletilerek üzerine 440 µL BG buffer ilave edildi. Süspansiyon bir dakika oda ısısında dinlendirildikten sonra 200 µL absolut etanol ilave edilerek toplama tüpünün kolon kısmına aktarıldı. 10000xg'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra kolonun filtresinin altına geçen sıvı atılarak kolon yeni bir eppendorfa yerleştirildi ve üzerine 750 µL yıkama bufferından konularak ve yeniden 10000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpün altında toplanan sıvı atılarak kalan etanolün tamamen uzaklaşması için boş olan eppendorf tekrar santrifüj edildi. Yeni eppendorflara spin kolon yerleştirerek 50-100 µL elution buffer ilave edildi. İki dakika oda ısısında beklendikten sonra 10000xg'de 1 dk santrifüj edildi. Eppendorfta kalan sıvı hedef DNA olarak kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı

### 3.2.2.2. *FliC* ve *rfbO157* Geninin PZR ile Belirlenmesi

*FliC* geninin belirlenmesi için, PZR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 50µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PZR buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 400 µM dNTPs, 0,5 µM her bir *fliC* primerinden ve 1,5 U Taq polymerase'dan oluştu (132). DNA amplifikasyonu, PZR cihazında (Techne TC-512) 94 °C'de 2 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 35 siklus olacak şekilde 94 °C'de 20 s, 54 °C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk bekletildi. En son aşama olarak da 72°C'de 10 dk son uzatma işlemi gerçekleştirildi. *rfbO157* geninin belirlenmesi için uygulanan amplifikasyon işleminde ise; ön denatürasyon işlemi 94 °C'de 5 dk uygulandıktan sonra 94 °C'de 1 dk, 53 °C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk 30 siklus olacak şekilde bekletildi ve 72°C'de 5 dk son uzatma işlemi gerçekleştirildi (132).

### 3.2.2.3. Multipleks PZR ile Virulans Faktörlerin Belirlenmesi

Çalışmada izole edilen *E. coli* O157:H7 serotipinde bulunabilecek virulans faktörlere ait gen bölgeleri (*stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hlyA*) spesifik primerler (Tablo 3.2) kullanılarak analiz edildi (132). Bu amaçla, PZR reaksiyon karışımı, final volümü 50µl olacak şekilde 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PZR buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 400 µM dNTPs, intimine ait primerlerden 0,25 µM, diğer primerlerin her birinden 0,5 µM ve 1,5 U Taq polymeraz olacak şekilde hazırlandı. PZR, 94 °C'de 2 dk ön denatürasyondan sonra 36

siklus olarak 94 °C de 20 s, 54 °C de 1 dk ve 72 °C’de 1dk olarak gerçekleştirildi ve son uzatma 72 °C’de 10 dakika olarak tamamlandı (133).

Çalışmada gerçekleştirilen PZR işlemleri sonucunda elde edilen amplikonlar % 1,5’luk agaroz jelde elektroforeze (EC250-90; Thermo, Pittsburgh, PA, ABD) tabi tutuldu ve sonuçlar bilgisayarlı jel dokümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat, Marne La Vallee, Fransa) analiz edildi (132, 133).



## 4. BULGULAR

Çalışmada, Ocak-Mayıs 2014 tarihleri arasında Kahraman Maraş ilindeki 1. sınıf kombina olarak faaliyette bulunan işletmenin sığır kesim hattına *E. coli* O157:H7 yönünden incelenen toplam 200 adet (karkas, kesimde çalışan personel, kesimde kullanılan alet ve ekipmanlar ve barsak içeriği) örneğin mikrobiyolojik analizi sonucunda elde edilen şüpheli kolonilere, Gram boyama, hareket testi ve lateks aglütinasyon testi uygulandı.

### 4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Çalışmada, CT-SMAC agarda renksiz koloniler ve CHROM agarda üreyen pembe renkli koloniler *E. coli* O157:H7 şüpheli olarak değerlendirildi (Resim 4.1). Koloni morfolojisi, rengi, şüpheli kolonilere yapılan Gram boyama ve hareket testi sonucunda incelenen numunelerin 21'i (%10.5) *E. coli* O157:H7 pozitif olarak tespit edildi. Bu çalışmada fenotipik testler ile izole edilen 21 adet *E.coli* O157:H7 izolatlarınının 6'sı (% 12) karkas, 12'si (% 24) barsak içeriği, 3'ü (% 30) bıçaktan elde edildi (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Fenotipik numunelerden izole edilen *E. coli* O157:H7

Numune	Numune sayısı	Fenotipik test sonucunda <i>E. coli</i> H7:O157 pozitif (%)
Karkas	50	6 (% 12)
Bıçak	10	3 (% 30)
Konveyer	5	-
Çengel	10	-
İç organ	50	-
Barsak içeriği	50	12(% 24)
Personel	25	-
Toplam	200	21 (% 10.5)

**Resim 4.1.** CHROM agarda *E. coli* O157:H7 kültürlerinin görünümü (Leylak renkli koloniler: pozitif koloniler , Mavi renkli koloniler: Negatif koloniler)

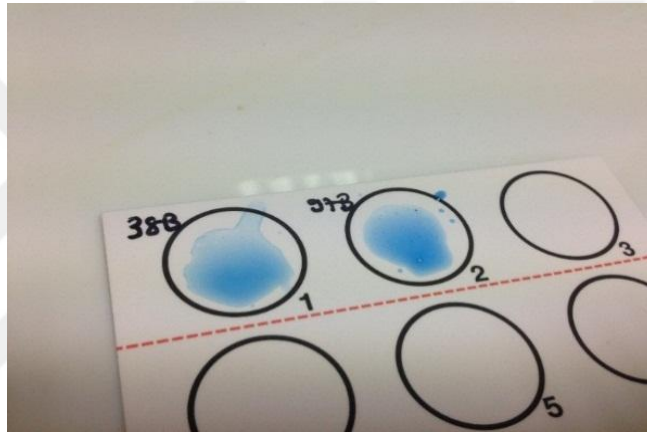
## 4.2. Lateks Aglütinasyon Test Sonuçları

### 4.2.1. O Antiserumu ile Lateks Aglütinasyon Testi

CHROM agarda üreyen 21 adet şüpheli koloniye O antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucunda bu örneklerin 5'inde granüler çöküntünün olduğu ve O157 antijeni yönünden pozitif olduğu saptandı (Resim 4. 2).

### 4.2.2. H Antiserumu ile Lateks Aglütinasyon Testi

CHROM agarda üreyen şüpheli kolonilere H antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucunda bu örneklerden 4'ünde antijen belirlendi (Resim 4. 2).

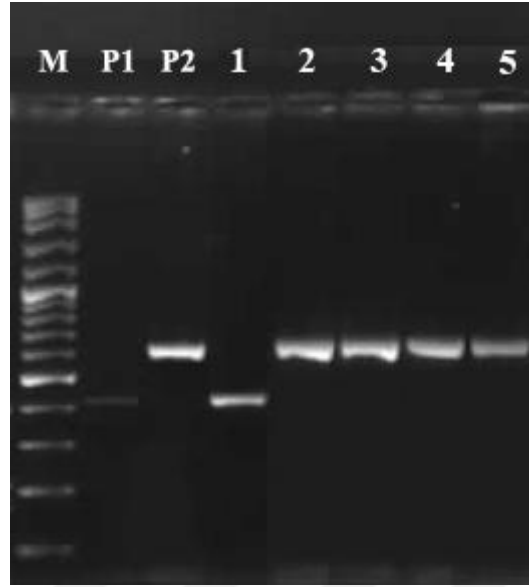


**Resim 4.2.** O antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonuçları

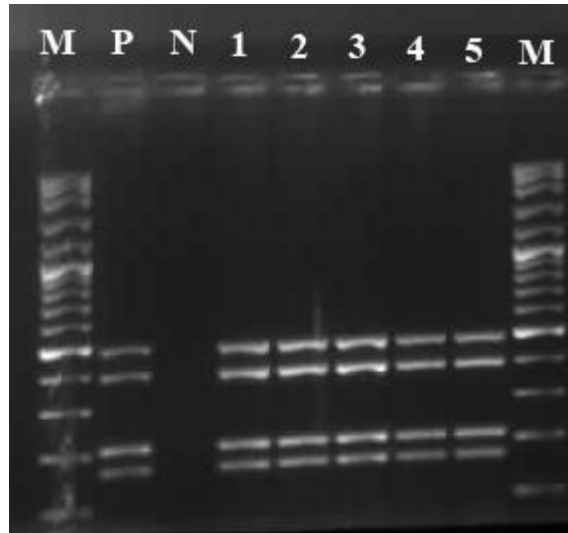
## 4.3. Moleküler Analiz Sonuçları

Çalışmada fenotipik ve serotipik testler ile pozitif olarak kabul edilen numunelerde H7 ve O157 identifikasyonu için yapılan PZR işlemi sonucunda; H7 için 625 bp ve LPS O157 için 420 bp büyüklüğünde bant oluşumu beklendi. İncelenen 21 izolataın 4'ünde (%19) hem *fliC* geni hem de *rfbO<sub>157</sub>* geni tespit edilirken 1 tanesinde (% 4.7) sadece *rfbO<sub>157</sub>* geni (Resim 4.3).

PZR ile H7 ve O157 geni içeren 5 izolata virulans faktörleri için yapılan mPZR işlemi sonunda yapılan agaroz jel elektroforezinde; *eaeA* için 840 bp, *stx1* için 348 bp, *stx2* için 584 bp, *ehlyA* için 534 bp büyüklüğünde bant oluşumu beklendi. mPZR işlemi sonucunda incelenen 5 izolataın tamamında da *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genleri belirlendi (Resim 4.4).



**Resim 4.3.** PZR işlemi sonucunda *fliCh7* ve *rfbO157* genlerinin gösterilmesi; M: Marker (100bp), P1: Pozitif kontrol (O157: 420 bp), P2: Pozitif kontrol (H7: 625 bp), 1 Nolu band: *E. coli* O157 (barsak içerik numunesi) 2-3 Nolu band: *E. coli* O157:H7 (Karkas numunesi) 3- Nolu bandlar: *E. coli* O157:H7 (barsak içerik numunesi).



**Resim 4.4.** PZR işlemi sonucunda virulans genlerinin gösterilmesi; M: Marker (100bp), P: Pozitif kontrol (*ehlyA*; 166 bp, *stx1*:210 bp, *eaeA*;397 bp *stx2*: 484), 1-5 Nolu bandlar: pozitif örnekler (*stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA*)



**Tablo 4.2.** Çalışmada elde edilen izolatların moleküler analiz sonucu

Numune	PZR		Virulans Faktörler			
	O157	H7	İntimin	Stx1	Stx2	enterohem
Karkas 1	+	+	+	+	+	+
Karkas 2	+	+	+	+	+	+
Barsak İçeriği 1	+	-	+	+	+	+
Barsak İçeriği 2	+	+	+	+	+	+
Barsak İçeriği 3	+	+	+	+	+	+

#### 4.4. Örneklerde *E. coli* O157:H7 ve Virulans Genlerin Suşlar Arasındaki Dağılımı

Çalışmada incelenen 200 adet numunenin 21'inde fenotipik testler ile *E. coli* O157:H7 olarak tespit edildi. PZR işlemi ile izolatların sadece 1'i (% 4.7) *E. coli* O157 olarak belirlenirken, 4 tanesinin (% 19) *E. coli* O157 hem de H7 yönünden pozitif bulundu. *E. coli* O157:H7 olarak tanımlanan 4 izolatın 2'sinin barsak içeriğine 2'sinin ise karkasa ve *E. coli* O157 olarak tanımlanan bir izolatın da dışkıya ait olduğu tespit edildi. İncelenen örneklerden izole edilen *E. coli* O157:H7 serotipinin dağılımı Tablo 4.3'de belirtilmiştir.

**Tablo 4.3.** Örneklerde *E. coli* O157:H7 Dağılımı

Numune	Numune sayısı	İzolasyon Oranı	
		<i>E. coli</i> O157 (%)	<i>E. coli</i> O157:H7 (%)
Karkas	50	-	2 (% 4)
Barsak İçeriği	50	1(% 2)	2 (% 4)
Ekipman	25	-	-
Personel	25	-	-
İç organ	50	-	-
Toplam	20	1(% 0.5)	4 (% 2)

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*E. coli* O157:H7 serotipinin, birincil rezervuarı olarak kabul edilen sığır ve süt ineklerinin dışkıları ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısı ile tüm çevreye bulaştığı bildirilmektedir (63, 72, 134). *E. coli* O157:H7, uygun olmayan çevre koşulları ve sıcaklıklarda sürekli çoğalabilir, ortam koşullarına kendilerini adapte edebilir ve çok sayıda ve farklı serotip oluşturabilir (134, 135). *E. coli* O157:H7 serotipi, neden olduğu zehirlenme vakalarına bağlı ölümlerin artması nedeniyle halk sağlığı açısından önemlidir (8,135).

Bu çalışmada, birinci sınıf bir kesimhanede karkas ve karkasa ait barsak içeriği, kesim esnasında kullanılan ekipman ve kesim hattında çalışan personelden gıda kaynaklı bir patojen olan *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmak amaçlandı. Bu kapsamda, kesimhanede kesim süresince alınan 200 adet numunenin 4'ünden (% 2) *E. coli* O157:H7 ve bir tanesinden (% 0.5) *E. coli* O157 izole edildi. *E. coli* O157:H7 izolatlarının 2'si (% 4) barsak içeriğine ve diğer 2'si (% 4) karkasa, *E. coli* O157 izolatı ise (% 2) ise barsak içeriğine aitti (Tablo 4.2).

Patojenik *E. coli* O157:H7 serotipleri insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan toksinler (Shiga- like toksin; *stx1* ve *stx2* gibi) üretirler ve ayrıca hastalığın şiddetini artıran virulans faktörlerini içerirler. Bu faktörler *eaeA* ve *ehlyA* genleri tarafından kodlanan intimin ve enterohemolizindir (136).

Bu çalışmada, elde edilen bütün izolatların shiga-like toksin genleri (*stx1* ve *stx2*), *eaeA* ve *ehlyA* genlerinin hepsini birlikte içerdiği belirlendi. Bu genlerin izolatlarda kombine bir şekilde bulunması, genellikle hayli güçlü bir virulent genetik karışımı olarak kabul edilir (137). Ayrıca incelenen izolatlarda *stx2* geninin bulunması HUS açısından

önemlidir. Çünkü *stx2* toksinini üreten suşların *stx1*'lere göre HUS oluşumunda daha etkin rol aldığı bildirilmiştir (136, 138, 139).

Dünyanın birçok yerinde ve Türkiye'de bulunan kesimhanelerde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7'nin karkas, rektal sıvı örneklerinde varlığı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Meksika, İrlanda, Belçika, Fransa, Almanya, Amerika ve Türkiye'de % 0.39 ile % 17 arasında değişen oranlar da *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotiplerinin izolasyon oranları bildirilmiştir. Sığır karkas ve rektal içerikten elde edilen bu izolatların da virulans ile ilgili genlerinden (*stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *hlyA*) en az birini içerdiği gösterilmiştir (46, 78, 94, 140-143).

Masana ve ark.(144), Arjantin'de bir kesimhanede sığırlardan alınan 1622 örneğin 54'ünde *E. coli* O157 izole edildiğini, izolatların % 4.1'inin fekal içerikli, % 2.6'sının karkas kaynaklı olduğunu bildirilmişlerdir.

Nastasijevic ve ark. (145), Sırbistan'da yaptıkları bir çalışmada, sığır karkaslarının % 2,8'inde ve sığır dışkı örneklerinin % 2.6'sında *E. coli* O157 tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, Rhoades ve ark. (146) mezbahada inceledikleri dışkı ve karkas örneklerinde *E. coli* O157'ye rastlanma oranını sırasıyla % 6.2 ve % 0.3 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların (145,146) bulguları bu çalışmadakiler ile benzerlik göstermektedir.

Yine bu çalışmaya uyumlu olarak, Hindistanda bir mezbaha da incelenen 98 sığır dışkı örneğinin 2'sinde (% 2.04) *E. coli* O157 izole edilmiştir. Çalışmada, bütün izolatların *stx2* genini içerdiği bildirilmiştir (147).

Bangladeş'te bir mezbahada ise, araftından gerçekleştirilen bir çalışmada, kesimden sonra toplanan rektal içeriğin % 7.2'sinde *E. coli* O157 izole etmişlerdir. Araştırmacılar, *E. coli* O157 izolatların % 93'den fazlasının *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini içerdiğini rapor etmişlerdir (148). Araştırmacıların izolasyon oranları bu çalışma elde edilen izolasyon oranlarından nispeten daha yüksektir. Fakat izolatların içerdikleri virulans faktörler açısından benzerdir.

İrlanda'da geleneksel bir mezbahada sığır rektal içerik, rumen içeriği ve yıkanmış karkasta *E. coli* O157:H7 varlığını araştırdıkları bir çalışmada, McEvoy ve ark. (149) dışkı numunlerinin % 2.4'sinde ve karkas numunelerinin % 3.2'ünde *E. coli* O157:H7 belirlemişlerdir. Carney ve ark. (140) tarafından İrlanda'da bir sığır kesimhanesinde yapılan bir çalışmada, 132 sığır karkas örneğinin 4'ünde (% 3) *E. coli* O157 izole

edilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri karkas izolatlarının hepsinin *eaeA*, *ehlyA* ve *fliC<sub>h7</sub>* genini içerdiğini fakat *stx1* and *stx2* genini belirleyemediklerini bildirmişlerdir (140).

Guyon ve ark. (141) tarafından Fransa'da bir mezbahada yapılan bir çalışmada, 255 sığır karkasının sadece bir tanesinde (% 0.4) *E. coli* O157:H7 izole edilmiş ve bu izolatın *eaeA* ve *ehlyA* geni içerdiği fakat *stx1* ve *stx2* içermediği bildirilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre Guyon ve ark. (141)'nin izolasyon oranları oldukça düşüktür ve virulans genleri açısından da çalışmamızdan farklı olarak izolatların *eaeA* ve *ehlyA* geni içerdiğini, ancak yalnızca bir izolatın *stx1* ve *stx2* genini içermediği rapor etmişlerdir.

Chapman ve ark. (78), İngiltere'deki bir mezbahada toplam 1500 sığır karkas örneğinin 21'inden (% 1.4) ve 4800 sığır rektal içeriğinin 620'ünden (% 12.9) *E. coli* O157 izole etmişlerdir. Çalışmada dışkı izolatlarının 174'ünün (% 28.1), karkas izolatlarının 8'inin (% 38.1) *stx1*, *stx2* ve *eaeA* genini içerdiği gösterilmiştir. Chapman ve ark. (78)'nin dışkı izolasyon oranları bu çalışmada elde edilen oranlardan yüksektir.

Bu çalışma ile uyumlu olarak, Meksika'da kesim yerlerinde bir yıl süresince incelenen 258 sığır karkasının ikisinde (% 0.8) STEC tespit edilmiş, bunlardan birinin O157:H7 serotipini taşıdığı ve bu serotiplerin *stx2* ve *eaeA* genlerini içerdiği rapor edilmiştir (46).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda, Yılmaz ve ark. (150), sığırlarda *E. coli* O157:H7'ye rastlanma sıklığını araştırdıkları bir çalışmada, İstanbul'dan alınan 330 rektal sıvap örneğinin 88'inde (% 26.7) SMAC agarda sorbitol-negatif koloni gözlemlendiğini, bunlardan 13'ünden (% 3.93) de *E. coli* O157:H7 izolasyonu gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma sonuçları araştırmacılar (150) ile uyumludur.

Gün ve ark.(151), İstanbul'daki beş mezbahada bir yıl süresince yaptıkları çalışmada, 330 karkasın 12'sinde (% 3.6) *E. coli* O157 izole etmişlerdir. Bu izolatların 8'inin (% 2.4) H7 antijeni içerdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar, inceledikleri çevresel örneklerin 6'sının (2 bıçak, 2 personel eli, bir önlük ve bir adet zemine ait örnek) *E. coli* O157:H7 ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Gün ve ark. (151) bu çalışma sonuçları ile uyumlu izolasyon oranlarını bildirmelerine rağmen, bu çalışmadan farklı olarak çevresel örneklerde de etkeni izole etmişlerdir.

Çabalar ve ark. (152) Van ilinde inceledikleri 312 sığır dışkı örneğinin 4'ünün (% 1.28) *E. coli* O157:H7 içerdiğini belirtmişlerdir. Elazığ ilindeki mezbahada gerçekleştirilen bir çalışmada, Kalender ve ark.(5) 540 rektal sıvap örneklerinin 34'ünü (% 6.29) *E. coli* O157 yönünden pozitif bulmuşlardır. Bu izolatların 22'sini (% 64.7) *E. coli* O157:H7 olarak tiplendirmişlerdir.

İnat ve Sırıken (153) Samsun'da bulunan iki mezbahadan aldıkları 100'er adet sığır karkas ve rektal içerikten oluşan 200 örneğin 52'sinde (% 26) *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izole etmişlerdir. Bu izolatların 49'unun *E. coli* O157 ve üçünün *E. coli* O157:H7 olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *E. coli* O157'i 24 karkas ve 25 rektal içerikten, *E. coli* O157:H7'yi ise iki karkas ve bir rektal içerikten elde ettiklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, 17 karkas ve 18 rektal içerikten elde edilen 35 *E. coli* O157 izolatında ve yalnızca bir karkas örneğinden elde edilen *E. coli* O157:H7 izolatında *stx1*, *stx2* genini birlikte içerdiğini tespit etmişlerdir (153).

Yılmaz ve ark. (143) İstanbul'daki lokal 5 mezbahadan izole ettikleri 26 *E. coli* O157:H7 ve 6 *E. coli* O157 izolatlarının 5'inin (18.5%) *stx1*, *stx2* ve *eaeA* geni içerdiğini göstermişlerdir .

Aslantaş ve ark. (131), Hatay'daki kesimhanelerde kesim sonrası sığırlardan aldıkları 565 rektal sıvap örneğinin 77'sinde (% 13.6) *E. coli* O157 tespit etmişlerdir. Bu izolatların 66'sı O157:H7 serotipi olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, elde ettikleri izolatların 72'sinin (% 93.5) *eaeA* için, 62'sinin (% 80.5) *stx* için ve 3'ünün (% 3.9) hem *stx1* hem de *stx2* için pozitif olduğunu rapor etmişlerdir.

Öngör ve ark. (154) sağlıklı hayvanların dışkılarından izole ettikleri 4 *E. coli* O157 izolatının 2'sinin *eaeA*, *stx1* ve *stx2* genini birlikte içerdiğini ve diğer 2 izolatın bir tanesinin *eaeA* geni, diğerinin ise *eaeA* ve *stx2* genini içerdiğini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmadaki izolasyon oranı, Türkiye'de yapılan diğer bazı araştırmacıların çalışmalarından (5, 131, 143, 150, 153) daha düşük olduğu görülmektedir. Bu çalışma ile ülkemizde ve dünya ülkelerindeki *E.coli* O157:H7 izolasyon oranlarının belirlenmesine yönelik diğer çalışmalarla kıyaslandığında farklı oranlar bulunmuştur. Bunun nedeninin, örnekleme metodundaki farklılıklar, izolasyon yöntemlerindeki farklılık, coğrafik ve mevsimsel farklılıklar vede hayvanların kesimi esnasındaki hijyenik koşullar olduğu düşünülmektedir. Ruminantlar da *E. coli* O157:H7 serotipinin prevalansının sezonsal olarak değişiklik gösterdiği ve Yaz aylarında (Mart-Eylül) arttığı

bildirilmiştir (46, 78, 136, 149, 155-157). *E. coli* O157:H7 serotipinin prevalansını örnekleme metodu ve izolasyon tekniğinin etkilediği bildirilmiştir (148, 158). Çalışmada sıvı örneği direkt dışkıdan değil barsak mukozasının etkenin primer olarak yerleştiği bölge olan mukazaya temas edecerek alınmıştır (157, 159-161). *E. coli* O157:H7 serotipinin gıda, klinik ve çevre örneklerinde aranmasında kullanılan klasik yöntemlerde yoğun olarak bulunan normal flora varlığına bağlı olarak sıklıkla yanlış negatif sonuçlar alınabilmektedir. Özellikle sığır dışkılarında *E. coli* O157:H7 tespiti, bakteri sayısının çok düşük olmasından dolayı oldukça güçtür (29, 94, 162). Hedef bakterinin sıvı ve katı besiyerlerinde gelişebilen diğer flora içindeki oranının en düşük % 1 olması gerektiği belirtilmektedir (29, 94). Bu nedenle örneklere çeşitli zenginleştirme ve gelişmiş izolasyon metotları uygulanmalıdır (162). Bu metotlar içerisinde en duyarlı olanlardan birisi de IMS tekniğidir (162-164). Bu çalışmada zenginleştirme ve IMS tekniği uygulanmıştır.

Bu çalışmada, kesimhanede incelenen numunelerden sadece karkas ve dışkıdan *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; karkasın en muhtemel kontaminasyon sebebi kesim esnasında deriden ya da barsakların çıkarılması sırasında barsak içeriği ile temasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (151, 165, 166). Karkasın kontaminasyonu hususunda kesim esnasında personelin yetersiz hijyen bilgisine, temizlik ve dezenfeksiyona dikkat etmemesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. *E. coli* O157:H7'nin mezbahalarda kesim esnasında karkasa transferi ile ilgili süreçleri anlamak ve azaltmak için ek çaba gerekmektedir (149). Kesimhanelerde etkili bir şekilde HACCP prensiplerinin uygulanması da *E. coli* O157:H7 kontaminasyonunun azaltılmasında etkili olacaktır (46, 149). Cassin ve ark. (1998), *E. coli* O157:H7 kontaminasyonunu azaltmak için bazı önlemlerin alınabileceğini bildirmişlerdir. Bunlardan birinin postmortem muayene ile karkasa dışkı bulaşmasının engellenebileceği ve son ürünün tüketimden etkili pişirme sıcaklığının uygulanması kontaminasyon oranının tahmini olarak kontaminasyon seviyesinde %16 düşme olabileceğini bildirmişlerdir (167).

Sonuç olarak, bu çalışmada Kahramanmaraş ilinde birinci sınıf bir kesimhanede % 2 *E. coli* O157:H7 ve % 0.5 *E. coli* O157 oranında kontaminasyon belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre sığır materyalleri kesimhanede *E. coli* O157:H7 serotipi için önemli bir rezervuardır. Dolayısıyla kesim esnasında derinin yüzülmesi, iç organların çıkarılması,

karkasın yıkanması sırasında çapraz kontaminasyon ile kesilen diğer hayvanların karkasları ve organları ve kullanılan ekipman etken ile kontamine olabilir. Bu izolatların hepsinde *aeA* ve *ehlyA* virulans faktör genleri ile *stx1* ve *stx2* toksin genlerini birlikte içermeleri göz önüne alındığında bu ilde kesilen ve sağlıklı görünen sığırların insanlarda HUS, HC, TPP gibi şiddetli enfeksiyon ve bazen de ölümlere neden olan oldukça patojenik *E. coli* O157:H7 serotipi taşıdığını göstermektedir. Çalışmada muhtemelen dışkı ile kontaminasyona bağlı olarak karkasta da bu etkenin belirlenmesi, karkasların hijyenik kalitesinin sağlanması için; mezbahalarda Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) programları çerçevesinde çalışan personelin eğitimi, kesim esnasında özofagus ve anusun bağlanması, iç organların ve barsakların tek parça halinde çıkarılması ve bu organların çıkarılırken bıçak ile yaralanmamasına dikkate edilmesi, karkas dekontaminasyonun sağlanması, karkas gövdeleri için mikrobiyolojik kriterlerin geliştirilmesi ve denetlenmesi için yasal uygulamalar getirilmelidir. Ayrıca, mezbahadan elde edilen son ürünün tüketimden önce yeterli ısı işleme tabi tutulması ve soğukta muhafaza edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Tosun D, Demirbaş N. Türkiye’de kırmızı et ve et ürünleri sanayinde gıda güvenliği sorunları ve öneriler. Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg 2012; 26(1): 93-101.
2. Serpen A. Gıda güvenliğimizi ve sağlığımızı tehdit eden gıda kaynaklı gizli zoonotik tehlike *E. coli* O157:H7. İnfovet 2007;41: 1-6.
3. Sezgin E. Aydın’da tüketime sunulan kıyma ve hamburger köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın 2013:1-17.
4. Tosun H. , Gönül Aktuğ Ş. *E.coli* O157:H7’nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalardaki önemi. Orlab On-line Mikrobiyolojisi Derg 2003; 10(1): 10-17.
5. Kalender H. , Elazığ’da mezbahalarda kesilen sığırlardan ve piyasada satılan kıymalardan shiga toksin üreten *Escherichia coli* O157’nin izolasyonu, virulans genleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19(3): 461-467.
6. Arslan A. Et muayenesi ve et ürünleri teknolojisi. Medipress, Ankara. 2013; pp. 37-39.
7. Çalıcıoğlu M, Dikici A, Öksüztepe G, İlhak Oİ. Elazığ’da sığır karkaslarının yüzey kontaminasyonunun belirlenmesi. FÜ Sağlık Bil Derg 2005; 19(1): 69-73.
8. Alisarlı, M, Akman HN. Perakende satılan kıymaların *Escherichia coli* O157 yönünden incelenmesi, Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak. Derg 2004; 15(1-2): 65-69.



9. Padhye NV, Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. J Food Protect 1992; 55: 555-565.
10. Töreci K, "Escherichia türleri" Topçu AW, Söyletir G, Doganay M. İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; pp. 1564-1574.
11. Emery DA, Nagoraja KV, Shaw DP, Newman JA, Eells DG. Virulence factors of *Escherichia coli* associated with coliseptisemic chickens and Turkey. Avian Dis 1992; 36: 504-511.
12. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology. Lippincott Williams&Wilkins Philadelphia 2000; 179-180.
13. Whipp SC, Rasmussen MA, Cray WC. Animals as a source of *Escherichia coli* pathogenic for human beings. J Am Vet Med Assoc 1994; 204: 1168-1175.
14. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 142-201.
15. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Iowa: Blackwell Publishing Professional 2002;pp. 106-113.
16. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Akay Özgür M, Diker SK, Kahraman M, Ilgaz A. Özel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınevi Ankara 1997.
17. Bisping W, Amtsberg G. Colour Atlas for The Diagnosis of Bacterial Pathogens in Animals. Berlin and Hamburg: Paul Parey Scientific Publishers 1988; pp. 160-168.
18. [https://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli\\_O157:H7](https://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli_O157:H7)(erişim tarihi: 06.03.2016).
19. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Tanı Safak Matbacılık ,4 .Basım. Ankara 2004.
20. Tunail N. Mikrobiyolojik enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. in: Akçelik M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB, Gürgün V, Halkman K, Kulesaan H, Özkaya DF. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbacılık Ltd Sti Ankara, 1999; pp. 59-90.

21. İzgür M. Koli infeksiyonları. In: Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Ed: M. izgür, M. Akan, Medisan Yayınevi, Ankara, 2002; 55-59.
22. Leclerc H, Schwartzbord L. Dei-Cas E. Microbial agents associated with waterborne diseases. *Crt. Rev. Microbiol.* 2002; 28: 371-409.
23. Doyle MP, Zhao T, Meng J, Zhao S. *Escherichia coli* O157:H7. In "Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. Edt. Doyle MP, Beuchat L.R, Montville TJ. ASM Pres, Washington DC 1997; pp. 171-191.
24. Kuntz TB, Kuntz ST. Enterohemorrhagic *E. coli* infection. *Prim Care Update OB/GYNS* 1999; 6: 192-196.
25. Nagy B, Fekete PZ. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet. Res.* 1999; 30: 259-284.
26. <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/942122051.pdf> (erişim tarihi: 10.04.2016).
27. Akçamlı E. Konya ilinde pazarlarda açıkta satılan küflü peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Vet. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya 2008.
28. <http://www.slideshare.net/Sonnytrix/e-coli-34184566> (erişim adresi: 11.04.2016)
29. Halkman A.K, Noveir MR, Doğan HB. *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd. Ankara 2001; p. 53 .
30. Ünlütürk A, Turantaş F. Gıda Mikrobiyolojisi (3. Baskı). Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova/İzmir 2003: p.606.
31. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji (9. Baskı), Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir 1996; pp.5-15.
32. Hudson JA, Nicol C, Capill J, Bennett J. Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from foods Using EHEC Agar. *Lett Appl Micr* 2000; 30(2): 109-113.

33. Abdullah N, Davies R. Growth and toxin production of Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) in the presence of sodium chloride. *J Appl Micr* 1999; 87(1): 15.
34. Karapınar M, Gönül SA. Gıda kaynaklı hastalıklar ”Gıda mikrobiyolojisi, Edt. Ünlütürk A, Turantaş F. 1.Baskı. Mengi Tan Basımevi 1998; pp. 109-164.
35. Milon A, Oswald E, Rycke JD. Rabbit EPEC: a model for the study of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Vet. Res* 1999; 30: 203- 219.
36. Erol İ. Gıda hijyeni ve mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara 2007; p. 392.
37. Doyle P. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int J Food Micr* 1991; 12: 289-302.
38. Eklund M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from humans in Finland. Publications of the National Public Health Institute, 2005; 97
39. Fantelli K, Stephan R. Prevalence and characteristics of shigatoxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. *Int J Food Microbiol* 2001; 70: 63-69.
40. Bell C. Approach to the control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *Int J Food Microbiol* 2002; 78: 197-216.
41. Arslan D. İshal oluşturan *Escherichia coli* enfeksiyonları; epidemiyoloji, klinik, tedavi. *ANKEM Derg* 2008; 22(2): 192-196.
42. Krishnan C, Fitzgerald VA, Dakin SJ, Behme RJ. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J Clin Microbiol* 1987; 5(6): 1043-1047
43. Scott L, McGee P, Minihan D, et al. The characterization of *E.coli* O157:H7 isolates from cattle faeces and feedlot environment using PFGE. *Vet Microbiol* 2006; 31;114(3-4):331-336.
44. Özbaş ZY, Aytaç SA. *Escherichia coli* O157:H7: epidemiyolojisi, gıdalarla ilişkisi, patojenitesi ve izolasyon yöntemleri. *Türk Hij ve Den Biyol Derg* 1995; 52: 47-53.

45. Öz F, Kaya M, Aksu M. Sucuk üretiminde farklı nitrit dozlarının ve starter kültür kullanımının *Escherichia coli* O157:H7'nin gelişimi üzerine etkisi. Turk J Vet Anim Sci 2002; 26: 651-657.
46. Varela-Hernández JJ, Cabrera-Diaz E, Cardona-López MA et al. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. Int J Food Microbiol 2007; 113: 237-241.
47. Park S, Worobo R, Durst R. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A literature review. Crit Rev Food Sci Nutr 2010; 39(6): 481-502.
48. Noveir MR, Doğan HB, Halkman AK. Çeşitli hayvansal gıdalarda Enterobacteriaceae üyelerinin varlığı. Gıda Derg 2002; 25(6): 423-428.
49. Coşansu S. ve Ayhan K. Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 ve fermente et ürünlerindeki önemi. Gıda Derg 2000; 25 (1): 33-38.
50. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet 1983; 619-620.
51. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, et al. Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2004; 27: 201-207.
52. Kim, JY, Kim SH, Kwon NH, et al. Isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 using different detection methods and molecular determination by multiplex and RAPD, J Vet Sci 2005; 6(1): 7-19.
53. Tosun H, Gönül Aktuğ Ş. *E.coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalardaki önemi. Orlab On-line Mikrobiyolojisi Derg 2003; 10(1): 10-17.
54. Parma AE, Sanz ME, Blanco JE, et al. Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and foods in Argentina. Eur J Epidemiol 2000; 16: 757-762.

55. Padhye NV, Doyle MP. Rapid Procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57(9): 2693- 2698
56. Ratnam S, March SB, Ahmed R, Bezanson GS, Kasatiya S. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 2006-2012.
57. Karch H, Bielaszewska M. Sorbitol-fermenting shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H- strains: epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2043-2049
58. Ware JM, Abbott SL, Janda JM. A new diagnostic problem: isolation of *Escherichia coli* O157:H7 strains with aberrant biochemical properties. *Diag Microbiol Infect Dis* 2000; 38: 185-187.
59. Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S, Gleier K. Characterization of shiga toxinproducing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J Clin Microbiol* 2004; (3): 1099-1108.
60. Jamshidi A, Bassami MR, Rasooli M. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polymerase chain reaction in Mashhad, Northeastern Iran. *Iran J Vet Res* 2008; 9(1): 22.
61. Estrada-García T, Cerna JF, Paheco-Gil L, et al. Drug-resistant diarrheogenic *Escherichia coli*, Mexico. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 8-9.
62. Weeratna RD, Doyle MP. Detection and production of verotoxin 1 of *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57(10): 2951
63. Dunn JR. The Epidemiology of shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Louisiana dairy cattle. *Beef Cattle and White-Tailed Deer* 2003.
64. Çiçek E. Ege bölgesindeki sığırların süt ve dışkı örneklerinden *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu ve verotoksinlerinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın 2008.

65. Palermo MS, Exeni RA, Fernández GC. Hemolytic üremic syndrome: pathogenesis and update of interventions. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009; 7(6): 697-707.
66. Zhu F, Rogelj S, Kieft TL. Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 immunomagnetic separation and real-time PZR. *Int J Food Microbiol* 2005; 99: 47-57.
67. Osek J. Development of a multiplex PZR approach for the identification of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains and their major virulence factor genes. *J Appl Microbiol* 2003; 95: 1217- 1225
68. Park S, Worobo R, Durst R. *Escherichia coli* O157:H7 As an emerging foodborne pathogen: a literature review. *Crt Rev Food Sci Nutr* 1999; 39(6): 481-502.
69. Normanno G, Paris A, Dambrosio NC, et al. Typing of *Escherichia coli* O157 strains isolated from fresh saABDge. *Food Microbiol* 2004; 21: 79-82.
70. Griffin PM, Bell PB, Cieslak PR, et al. Large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections in the Western United States: the big picture, Edt. Karmali MA, Goglio AG. Recent advances in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infections. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands. 1994; pp. 7-12
71. Hajian S, Rahimi E, Mommtaz H. A-3year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, camel, sheep, goat, chicken and beef minced meat. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology* 2011; 9: 5-6.
72. Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* 2005; 36: 289-311.
73. Maml J. Shiga/ verocytotoxins and shiga/ verotoxigenic *Escherichia coli* in animals. *Vet Res* 1999; 30: 235-257.
74. Dean-Nystrom EA, Bosworth BT, O'Brien AD, Moon HW. Bovine Infection with *Escherichia coli* O157:H7. In: *Escherichia coli* O157 in Farm Animals. Edt: Stewart CS, Flint HJ. Wallingford, UK: CABI Publishing 1999; pp. 51-58.

75. Boyse J, Thomson-Carter F, Carter P, Booth IR. Acid tolerance in VTEC. SCIEH Weekly Report 1997; 97(13): 19-20.
76. Temelli S. Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157:H7 ve önemi. Uludağ Univ J Fac Vet Med 2002; 21: 133-138.
77. Sezgin E. Aydın'da tüketime sunulan kıyma ve hamburger köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi anabilim dalı 2013: 10
78. Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Asthon R, Harkin MA. *E.coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamp products in South Yorkshire. UK. Int J Food Microbiol 2001; 64: 139-150.
79. Cagney C, Crowley H, Duffy G, et al. Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. Food Microbiol 2004; 21: 203-212.
80. Reitsma CJ ve Henning DR. Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of Cheddar Cheese. J Food Protect 1996; 59(5): 460-464.
81. Chang JM, Fang TJ. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. Food Microbiol 2007; 24: 745-751.
82. Pedritis H, Kidder G, Ogram A. *E. coli* O157:H7, A potential health concern. University of Florida 2002; 1-4.
83. Erkoç F, Türkmenoğlu F. Familia Enterobacteriaceae genel özellikleri, Gazi Üniversitesi ANKARA 2007.
84. Mualle A. Survival of verotoxigenic strain *E.coli* O157 in laboratory-scale microcosms. In: Coliforms and *E.coli* Problem or solution. The Royal Society of Chemistry 2000: pp. 61-65
85. Yuk HG, Marshall DL. Heat adaptation alters *Escherichia coli* O157:H7 membrane lipid composition and verotoxin production. Appl Environ Microbiol 2003; 5: 115-119.

86. Çadırcı Ö, Sırıken B, İnat G, Kevenk TO. The prevalence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in ground beef and raw meatball by immunomagnetic separation and the detection of virulence genes using multiplex PZR. *Meat Sci* 2010; 84: 553-556.
87. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E.coli* and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* 1991; 13: 60-98.
88. Smith HR, Scotland SM. Verocytotoxin producing strains of *E. coli*. *J Med Microbiol* 1988; 26: 77-85.
89. Ünsal C. Erzurum Bölgesinde Satışa Sunulan Etlerde *E. coli* O157:H7' nin Varlığının Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum 2007.
90. Öztelli Y. Bayburt İli Merkez İlçede İçme Sularında Enterohemorajik *Escherichia coli* (O157:H7)'nin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta 2004
91. Aslantürk, A. 0-15 Yas Grubu Akut Gastroenterit Olgularında *E.coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması, R.S Hıfzısıhha Merkezi Araştırma Müdürlüğü Uzmanlık Tezi, Ankara 1996.
92. Proesmans W. Typical and atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Blood Press Res* 1996; 19: 205-208
93. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, et al. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. *Int J Food Microbiol* 2003; 82: 273-279.
94. Tutenel AV, Pierard D, Vandekerchove D, Hoof JV, De Zutter L. Sensitivity of methods for the isolation of *Escherichia coli* O157 from naturally infected bovine faeces. *Vet Microbiol* 2003; 94: 341- 346.
95. Smith HR, Scotland SM. Isolation and identification methods for *Escherichia coli* O157 and other vero cytotoxin producing strains. *J Clin Pathol* 1993; 46: 10-17.



96. Okrend AJG, Rose B, Lattuada CP. Use of 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-b-D-glucuronide in MacConkey sorbitol agar to aid in the isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef. *J Food Protect* 1990; 53: 941-943.
97. March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 869-872.
98. Chapman PA, Siddons CA, Zadik PM, Jewes L. An improved selectivemedium for the isolation of *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol* 1991; 35: 107-110.
99. Zadik PM, Chapman PA, Siddons CA. Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol* 1993; 39: 155-158.
100. Manafi M, Kremsmaier B. Comperative evaluation of different CHROMogenic/fluorogenic media for detecting *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Int J Food Microbiol* 2001; 71: 257-262.
101. March SB, Ratnam S. Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1675-1677
102. Sandving K, Deurs B. Entry of ricin and Shiga toxin into cells: molecular mechanisms and medical perspectives. *EMBO J* 2000; 19(22): 5943-50.
103. Bettelheim KA, Whipp M, Djordjevic SP, Ramachandra V. First isolation outside Europe of sorbitol-fermenting verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) belonging to O group O157. *J Med Microbiol* 2002; 51: 713-714
104. Nagy B, Fekete PZ. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res* 1999; 30: 259-284.
105. Tomayasu T. Improvement of the immunomagnetic separation method selective for *Escherichia coli* O157 strains. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 376-382.
106. Farmer JJ, Davis BR. H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 620-625
107. Akkus F. Hazır sığır kıymalarında verotoksin oluşturan *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1996.

108. Tison DL. Culture Confirmation of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 by Direct Immunofluorescence. *J Clin Microbiol* 1990; 28(3): 612-613.
109. Caro I, García-Armesto MR. Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a Spanish raw ewe's milk cheese. *Int J Food Microbiol* 2007; 116: 410-413.
110. Buchanan LR, Doyle MP. Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technol* 1997; 51(10):420-428.
111. Blais BW, Booth RA, Phillippe L, Pandian S. Polymacron enzyme immunoassay system for detection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated into foods. *J Food Protect* 1995; 60(2): 98-101
112. Chemaly RF, Prdocop GW, Sarıbas Z, Arıkan S. Patojen mantarların moleküler yöntemlerle saptanması ve tanımlanması. Edt. Persing DH, Tenover FC, Versolovic J, Tang YW, Unger ER, Relman DA, Ustaçelebi S. Moleküler Mikrobiyoloji tanı Prensipleri ve Uygulamalar Ankara, Palme Yayıncılık 2006; pp. 551-559.
113. Abacıoğlu H. Moleküler yöntemlerde yeni gelişmeler ve yeni teknolojiler. KLİMİK Adana 2001; 191-2
114. Erensoy E. Mikrobiyoloji ve klinik mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya 2001: 39 Mantarların saptanmasında moleküler biyolojik yöntemlerin kullanılması XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi kongre kitabı, Antalya 1996; pp. 121-122.
115. Walsh SE, Maillard JY, Russell AD, et al. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and-negative bacteria. *J Appl Microbiol* 2003; 94: 240-247.
116. Anonim. Outbreaks associated with fresh and fresh-cut produce. Incidence, growth of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Food and Drug Adm Center for Food Safety and Appl Nut Chapter IV 2001; 11-12.
117. Doyle MP, Cliver DO. *Escherichia coli*, Foodborne Diseases. California: Academic Pres 1990; pp.209-15.

118. Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Food Microbiol* 2005; 295: 405- 18.
119. McCabe-Sellers B, Beattie SE. Food Safety: Emerging Trends in Foodborne Illness Surveillance and Prevention. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1708-17.
120. Wang G, Doyle MP. Survival of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water. *J Food Protect* 1998; 61: 662–667.
121. Dundos S, Todd WA. Clinical View of VTEC. *J Appl Microbiol* 1999; 87(1): 5.
122. Doyle MP. Foodborne Bacterial Pathogens. Edt. Doyle MP, Padhye VV. *Escherichia coli* Marcel Dekker. Inc Food Research Institute University of Wisconsin-Madison 1989;pp. 236-270
123. Peacock E, Jacob VW, Fallone SM. *E. coli* O157:H7: Etiology clinical features complications and treatment. *Nephrol Nurs J* 2001; 28: 5,547-554.
124. Nelson AM, Horsburg CR. Pathology Emerging of Infection 2. Edt. Slutkors L, Guarner J, Griffin P. *Escherichia coli* O157:H7. ASM Pres, Washington DC. 1998; pp.259-270.
125. Clavero MRS, Monk JD, Beuchat LR, Doyle MP, Brackett RE. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. *App Env Microbiol* 1994; 60(6): 2069-2075.
126. Cleary TG. The role of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Infect Dis* 2004; 15: 260-265.
127. Farkas J. Irradiation as a method for decontamination food. *Int J Food Microbiol* 1998; 44(3): 189-204
128. Harewood P, Rippey S, Montesalvo M. Effect of gamma irradiation on shelf life and bacterial and viral loads in hard-shelled clams (*Mercenaria mercenaria*). *Appl Envr Microbiol* 1994; 60(7): 2666-2670.
129. Doyle MP, Schoeni JL. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol* 1984; 48: 855- 856

130. Ayverdi E. Çanakkale’de (Türkiye) tüketilen bazı kremalı pastalarda *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin araştırılması Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi 2012.
131. Aslantaş Ö, Erdoğan S, Cantekin Z, Gülaçtı İ, Evrendilek GA. Isolation of characterization verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from Turkish cattle. *Int J Food Microbiol* 2006; 106: 338-342.
132. Sarimehmetoglu B, Aksoy MH, Ayaz ND, et al. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef using immunomagnetic separation and multiplex PZR. *Food Control* 2009; 20(4): 357-61.
133. Fratamico PM, Bagi LK, Pepe TA. Multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection and identification of *Escherichia coli* O157:H7 in foods and bovine feces. *J Food Protect* 2000; 63: 1032-1037.
134. Zhao T, Doyle MP, Shere J, Garber L. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in a survey of dairy herds. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 1290.
135. Duffy G, Lynch OA, Cagney C. Tracking emerging zoonotic pathogens from farm to fork. *Meat Sci* 2008; 78: 34-42.
136. Hussein HS, Bollinger LM. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *J Food Protect* 2005; 68: 2224-2241.
137. Possé B, De Zutter L, Heyndrickx M, Herman L. Metabolic and genetic profiling of clinical O157 and non-O157 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli*. *Res Microbiol* 2007; 158, 591-599.
138. Murinda SE, Nguyen LT, Landers TL, et al. Comparison of *Escherichia coli* isolates from humans, food, and farm and companion animals for presence of shiga toxin-producing *E. coli* virulence markers. *Foodborne Pathog Dis* 2004; 1:181-184
139. Etcheverria AI, Padola NL, Sanz ME, et al. Occurrence of shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci* 2010; 86:418-421

140. Carney E, O'Brien SB, Sheridan JJ, et al. Prevalence and level of *Escherichia coli* O157 on beef trimmings, carcasses and boned head meat at a beef slaughter plant. *Food Microbiol* 2006; 23: 52-59.
141. Guyon R, Dorey F, Malas JP, et al. Superficial contamination of bovine carcasses by *Escherichia coli* O157:H7 in a slaughterhouse in Normandy (France). *Meat Sci* 2001; 58:329-331.
142. Osek J, Gallien P. Molecular analysis of *Escherichia coli* O157 strains isolated from cattle and pigs by the use of PZR and pulsed-field gel electrophoresis methods. *Vet Med (Praha)* 2002; 47:149-158.
143. Yilmaz A, Gun H, Ugur M, Turan N, Yilmaz H. Detection frequency of VT1, VT2 and *eaeA* genes in *Escherichia coli* O157 and O157:H7 strains isolated from cattle, cattle carcasses and abattoir environment in Istanbul. *Int J Food Microbiol* 2006; 106:213-217.
144. Masana MO, Leotta GA, Del Castillo LL, et al. Prevalence, characterization, and genotypic analysis of *Escherichia coli* O157:H7/NM from selected beef exporting abattoirs of Argentina. *J Food Prot* 2010; 73: 649-656.
145. Nastasijevic I, Mitrovic R, Buncic, S. Occurrence of *Escherichia coli* O157 on hides of slaughtered cattle. *Lett Appl Microbiol* 2008; 46, 126-131.
146. Rhoades JR, Duffy G, Koutsoumanis K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food Microbiol* 2009; 26: 357-376.
147. Manna SK. Detection of *Escherichia coli* O157 in foods of animal origin by culture and multiplex polymerase chain reaction. *J Food Sci Technol* 2006; 43(1): 77-79.
148. Islam MA, Mondol AS, de Boer E, et al. Prevalence and genetic characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Appl Environ Microbiol*. 2008; 74: 5414–5421.

149. McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, et al. The prevalence and spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a commercial beef abattoir. *J Appl Microbiol* 2003; 95(2): 256-66.
150. Yilmaz A, Gun H, Yilmaz H. Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish cattle. *J Food Prot* 2002; 65(10): 1637-1640.
151. Gun H, Yilmaz A, Turker S, Tanlasi A, Yilmaz H. Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157:H7 in Istanbul. *Int J Food Microbiol* 2003; 84: 339-344.
152. Çabalar M, Boynukara B, Gülhan T, Ekin IH. Van yöresinde sağlıklı görülen süt sığırcılığı işletmelerinde Rotavirus, *E. coli* K99 and O157:H7'nin varlığı üzerine araştırmalar. *Turk J Vet Anim Sci* 2001; 25: 191-196.
153. Inat G, Siriken B. Detection of *Escherichia coli* O157 and *Escherichia coli* O157:H7 by the immunomagnetic separation technique and *stx1* and *stx2* genes by multiplex PZR in slaughtered cattle in Samsun Province, Turkey. *J Vet Sci* 2010; 11(4): 321-326.
154. Ongor H, Kalin R, Cetinkaya B. Investigation of *Escherichia coli* O157 and some virulence genes in samples of meat and faeces from clinically healthy cattle in Turkey. *Vet Rec* 2007; 161: 392-394,
155. Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, et al. Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *J Food Prot* 2003; 66, 1978-1986.
156. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne diseases active surveillance network, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46: 258-261.
157. Hussein HS, Sakuma T. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *J Dairy Sci* 2005; 88: 450-465.
158. Ojo OE, Ajuwape ATP, Otesile EB, et al. Potentially zoonotic shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in the faeces and meat of food-producing animals in Ibadan, Nigeria. *Int J Food Microbiol* 2010; 142: 214-221.

159. Greenquist MA, Drouillard JS, Sargeant JM, et al. Comparison of rectoanal mucosal swab cultures and fecal cultures for determining prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71:6431-6433.
160. Rice DH, Sheng HQ, Wynia SA, Hovde CJ. Rectoanal mucosal swab culture is more sensitive than fecal culture and distinguishes *Escherichia coli* O157:H7-colonized cattle and those transiently shedding the same organism. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4924-4929.
161. Sheng H, Lim JY, Knecht HJ, Li J, Hovde CJ. Role of *Escherichia coli* O157:H7 virulence factors in colonization at the bovine terminal rectal mucosa. *Infect Immun* 2006; 74:4685-4693.
162. Tutenel AV, Pierard D, Van Hoof J, Cornelis M, De Zutter L. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. *Int J Food Microbiol* 2003; 84: 63-69.
163. Weagant SD, Bryant JL, Jinneman KG. An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods. *J Food Prot* 1995; 58: 7-12.
164. Okrend AJG, Rose BE, Lattuada CP. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 using O157 specific antibody coated magnetic beads. *J Food Prot* 1992; 55: 214-217.
165. Arthur TM, Bosilevac JM, Brichta-Harhay DM, et al. Transportation and lairage environment effects on prevalence, numbers, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 on hides and carcasses of beef cattle at processing. *J Food Prot* 2007; 70: 280-286.
166. Elder RO, Keen JE, SiragABD GR, et al. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc Natl Acad Sci ABD* 2000; 97: 2999-3003.
167. Cassin MH, Lammerding AM, Todd EC, Ross W, McColl RS. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. *Int J Food Microbiol* 1998; 5: 41(1): 21-44.

## ÖZGEÇMİŞ

- 1. Adı Soyadı** : Sabri DATLI  
**2. Doğum Tarihi** : 29.07.1974  
**3. Doğum Yeri** : Afşin /Kahramanmaraş  
**4. Unvanı** : Veteriner Hekim  
**5. Medeni Durumu** : Evli  
**6. İş Tecrübesi** : Afşin Belediyesi Mezbaha Sorumlu Veteriner Hekimi (1998-2003), Serbest Veteriner Hekim ( 2003-2006), Afşin İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünde Resmi Yetkilendirilmiş Veteriner Hekim (2006-)  
**7. Yabancı Dil** : İngilizce

### 1. Öğrenim Durumu:

Derece	Üniversite	Fakülte	Yıl
Lisans	Fırat	Veteriner	1993-1998
Y. Lisans	Erciyes	Sağlık Bilim. Enst.Veteriner Gıda Hij. Ve Tek.	2012-

**Adres** : Afşin İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Afşin-Kahramanmaraş  
**Tel** : 05434750971  
**E-mail** : sabridatli@hotmail.com