

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BAYBURT İLİ MERKEZ İLÇEDE İÇME SULARINDA  
ENTEROHEMORAJİK *Escherichia coli* (O157:H7 )'NİN ARAŞTIRILMASI

Yasemin ÖZTELLİ

DANIŞMAN: Yrd. Doç.Dr. Müge TANER

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
ISPARTA, 2004

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	3
2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	3
2.1.1 <i>Escherichia coli</i> 'nin Genel Özellikleri.....	3
2.1.2. Morfolojik Özellikleri.....	3
2.1.3. Antijenik Yapısı.....	3
2.1.4. Biyokimyasal Özellikleri.....	4
2.1.5. Patojenik Özellikleri.....	4
2.2. O157:H7 Serotipi.....	6
2.2.1. Yaptığı Hastalıklar.....	7
2.2.2. Toksinleri.....	8
2.2.3. Biyokimyasal Özellikleri ve Antijenik Yapısı.....	9
2.2.4. Gelişimi ve Canlılığı.....	10
2.2.5. O157:H7 Araştırmalarında Kullanılan Yöntemler.....	11
2.2.5.1. Klasik Yöntemler.....	11
2.2.5.2. Gelişmiş Yöntemler.....	13
2.2.6. Sularda <i>E.coli</i> ve O157:H7 Araştırmalarında Kullanılan Yöntemler.....	16
2.2.7 Sularda O157:H7 Araştırmaları.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Su Numunelerinin Toplanması.....	22
3.2. EMS Metodu İle Koliform Bakteri Araştırılması.....	22
3.3. EMB Besiyerinde Koliform Grubu Bakterilerin Zenginleştirilmesi.....	23
3.4. İMVC Testiyle <i>E.coli</i> Doğrulaması.....	25
3.4.1. İndol Testi.....	25
3.4.2. Metil Kırmızısı Testi.....	25
3.4.3. Voges Proskauer Testi.....	26
3.4.4. Sitrat Testi.....	26
3.5. <i>E.coli</i> Bakterilerinin CT-SMAC agar'a ekimi.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. EMS Metodu İle Elde Edilen Sonuçlar.....	28
4.2. EMB Besiyerinde Elde Edilen Sonuçlar.....	29
4.3. Şüpheli <i>E.coli</i> Bakterilerinin İMVC Testi İle Doğrulaması.....	29
4.4. <i>E.coli</i> Olduğu Doğrulanmış Bakterilerin CT-SMAC Agar'da Değerlendirilmesi.....	30
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
6. KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	43

## ÖZET

*Escherichia coli* O157:H7 ilk defa 1982'de insan patojeni olarak tanımlanmıştır.İnsanlara kontamine olmuş gıda ve su yoluyla ya da doğrudan infekte olmuş insanlardan ve hayvanlardan geçebilir.*E.coli* bir veya iki Shiga toksin üretme yeteneğine sahiptir.İnsanlarda hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpuraya neden olur.

Bu çalışmada Bayburt il merkezindeki içme sularında *E.coli* O157:H7 varlığı araştırılmıştır.Toplam 200 adet içme suyu numunesi toplanmıştır.Koliform bakterilerin araştırılması için En Muhtemel Sayım (EMS) metodu kullanılmıştır.Eosine Methylene blue (EMB) besiyeri selektif zenginleştirici besiyeri olarak kullanılmıştır.*E.coli* bakterisinin tanımlanması için İMVC test sistemi uygulanmıştır. Pozitif olan örnekler O157:H7 serotipinin tanımlanması için Sorbitollü MacConkey (SMAC) besiyerine ekilmiştir.SMAC besiyeri cefixime ve tellurite ile modifiye edilerek (CT-SMAC) kullanılmıştır. Bu besiyerinde 37°C'de 46 saat inkübasyondan sonra *E.coli* O157:H7 serotipi için pozitif sonuç bulunamamıştır.

Enterohemorajik *E.coli* için incelemeye alınan 200 adet içme suyu numunesinde bu bakteriye rastlanamazken 6 adet su örneğinde koliform grubu bakteri bulunmuştur. İçme sularında bakteri bulunmaması gerektiğinden,Bayburt il merkezinde kullanılan suların daha sıkı kontrollerinin yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** İçme suyu, Enterohemorajik, *Escherichia coli*, *EHEC*, O157:H7

## ABSTRACT

*Escherichia coli* O157:H7 was first identified as a human pathogen in 1982. It can be transmitted to human through contaminated water or direct contact with infected people and animals. It has the ability to produce one or two shiga toxins. It can cause hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura in human.

In this study the occurrence of *E.coli* O157:H7 was investigated in central Bayburt. A total of 200 samples were collected. Eosin Methylene Blue (EMB) agar was used as selective enrichment medium. IMVC test system was used for the identification of *E.coli*. For identification of O157:H7, the sample that is positive for *E.coli* was inoculated onto Sorbitol MacConkey (SMAC) agar. SMAC medium was modified with cefixime and tellurite (CT-SMAC) to avoid contamination of the other bacteria. After incubation at 37°C for 48 hours, *E.coli* O157:H7 serotype was not detected.

Although Enterohaemorrhagic *E.coli* was not found, 6 positive results were detected for coliform bacteria in 200 drinking water samples. Because drinking water should not contain any bacteria, it was concluded that the inspection of drinking water in central Bayburt must be done regularly.

**Key words:** Drinking water, Enterohaemorrhagic, *Escherichia coli*, EHEC, O157:H7.

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmamın gerçekleştirilmesinde katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara,

Tez konumun seçimi, yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında yardımlarını esirgemeyerek çalışma süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlanmamı sağlayan Değerli hocam Yrd. Doç.Dr. Müge TANER'e,

Su numunelerini toplamamda ve laboratuvar malzemeleri temininde bana yardımcı olan Bayburt İli Sağlık Müdürlüğüne bağlı Halk Sağlığı Laboratuvarı personeline,

Atatürk Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümünde görev yapmakta olan Sayın hocam Prof.Dr. Selahattin ÇELEBİ'ye ve laboratuvar çalışmalarımı gerçekleştirmemde yardımcı olan diğer labortatuvar personeline,

Çalışmam boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme içtenlikle teşekkür ederim.

## **Çizelgeler Dizini**

**Sayfa no**

Çizelge 3.1. En muhtemel sayım tablosu.....	23
Çizelge 4.1 . Alınan Numunelerin Mahallere Göre Dağılımı Koliform Bakteri İçeren Numunelerin Sayı ve Yüzdeleri.....	24
Çizelge 4.2. EMS Yöntemiyle Laktoz Broth Besiyerine Yapılan Ekimlerin Sonuçları.....	28

## Şekiller Dizini

## Sayfa no

Şekil 2.1. SMAC Besiyerinde O157:H7 Kolonilerinin Görünümü.....	12
Şekil 2.2. Laktoz Broth Besiyerinde Üreyen Muhtemel Koliform Bakteriler.....	19
Şekil 2.3. Brillant Green Bile Broth Besiyerinde Üreyen Koliform Bakteriler.....	19
Şekil 4.1. EMB Besiyerinde Üreyen <i>E.coli</i> Bakterileri.....	30

## 1. GİRİŞ

Hayat için gerekli ve vazgeçilmez olan temiz su temini giderek günümüzde önem kazanmaktadır. Tatlı su kaynaklarının giderek tükenmesi mevcut su kaynaklarının hijyenik ve akılcı kullanımını gerektirmektedir. Günümüzde kaynağı suya bağlı birçok hastalık görülmektedir. Suların dışkı ve lağım sularıyla kirlenmesi halk sağlığını tehdit eder duruma getirmiştir. Dışkı ile kontamine olmuş sularda patojen mikropların sayısı suyun miktar olarak fazla olmasından dolayı sulandırılmış, yani az sayıda bulunmaktadır. Dolayısıyla patojenlerin içme ve kullanma sularından izolasyonu ve teşhisi zordur. Bu amaçla dışkı ile kirlenme olup olmadığının incelenmesi için indikatör olarak kabul edilen bakteriler; *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ve *Clostridium perfringens*'tir.

*Escherichia coli* bakterisi; enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC), enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC), enteroinvazif *Escherichia coli* (EIEC), enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC) ve enteroadheran *Escherichia coli* (EAEC) olmak üzere beş ana gruba ayrılır. Bu beş grubun dışında verotoksijenik *Escherichia coli* (VTEC), entero adherent-aggregatif *Escherichia coli* (EA-AggEC) ve diffusely-adhering *Escherichia coli* (DAEC) grupları da vardır.

Son zamanlarda en çok dikkati çeken *Escherichia coli* serotipi enterohemorajik *Escherichia coli* grubundan O157:H7 serotipidir.

İlk kez 1982 yılında Amerika ve Kanada'da *Escherichia coli*'nin oluşturduğu bir salgın sonucunda O157:H7 serotipi tanımlanmış, bunun hemen arkasından çeşitli ülkelerde de benzeri salgınlar izlenmiştir. Bugün için süt ineklerinin bağırsakları O157:H7 serotipinin muhtemel kaynağı olarak kabul edilmiştir. İnek dışkısı ile süte, ete, toprağa, suya ve dolayısıyla her yere bulaşan bu serotip Japonya'da 1996-1997 yıllarında görülen ve hala etkisini sürdüren salgında olduğu gibi bitkisel ürünlerle de insanlara taşınabilmektedir.

O157:H7 salgınları gıda kaynaklı olabildiği gibi, bu serotipin su kaynaklı da olabileceğini gösteren literatürlere rastlanmaktadır.



Literatürlere geçen su kaynaklı en büyük O157:H7 salgını 1990-1995 yılları arasında Kanada'da gerçekleşmiştir. Bu salgının sonucunda 7000'in üstünde vaka görülmüş ve 7 kişi hayatını kaybetmiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda aşırı yağışlar sonucunda yağmur suyuyla birlikte hayvan dışkısının içme suyu şebekesine karıştığı ve klorlamanın da yetersiz kalması sonucu bu salgının patlak verdiği tespit edilmiştir.

Amerika'da 1996 yılında görülen ve 5000'in üzerinde kişiyi etkileyen bir salgının kaynağı ise pastörize edilmemiş elma suyu olarak gösterilmiştir.

Ülkemizde ise henüz O157:H7 serotipinin neden olduğu bir salgın görülmemiştir. Fakat bu, O157:H7 serotipinin ülkemizde bulunmadığının ve hastalıklara yol açmadığının ya da açmayacağıının bir göstergesi değildir.

Sularda bulunan O157:H7 serotipi basit bir klorlama işlemiyle baskı altına alınabilmektedir. Bu sebepten ötürü ülkemizde su kaynaklı O157:H7 serotipi salgınlarına rastlanmaması, bu serotipin sularda bulunmaması anlamına gelmez.

Bu çalışmada tiyosülfat bileşiğinin kloru bağlama özelliğinden yararlanılarak, su numuneleri sodyum tiyosülfatla yıkanmış numune şişelerine alınmıştır.

Çalışmanın sonucunda her ne kadar O157:H7 serotipine rastlanılmasa da en azından Bayburt ili içme sularında koliform grubu bakterilerin ve *Escherichia coli* bakterisinin varlığı hakkında bilgi sahibi olunmuştur.

## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. *Escherichia coli*

#### 2.1.1 *Escherichia coli*'nin genel özellikleri

*Escherichia coli* (*E.coli*) ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve önce *Bacterium coli commune* olarak, daha sonra *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır. Enterobacteriaceae familyasının koliform grubunun *Escherichia* cinsine girmektedir (Noveir, 1998).

*E.coli*, *Escherichia* cinsinde tıbbi öneme sahip olan bir türdür. *E.coli* insan ve bütün sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında kommensal olarak bulunan, bazı suşları insanlarda ve hayvanlarda bağırsak enfeksiyonlarına yol açabilen, ayrıca bağırsak dışında da çok çeşitli enfeksiyonlar oluşturabilen bir bakteridir. Bunun dışında besinlerde, suda, doğada, dışkı kontaminasyonunun indikatörü olarak araştırılan *E.coli* genetik çalışmalarda en çok kullanılmış olan bakteridir ve bakteri genetiğinin pek çok önemli bulgusu *E.coli* ile yapılan çalışmalar sonucu elde edilmiştir (Topçu vd., 2002).

#### 2.1.2. Morfolojik Özellikleri

*E.coli* yaklaşık olarak 2-6 µm. boyunda ve 1.0-1.5 µm. eninde düz, uçları yuvarlak çomak şeklinde bir bakteridir. Bazı kültürlerde koka benzer ve kısa, bazı kültürlerde de normalden uzun Y harfi şeklinde dallanan filamentli şekillerde bulunabilir. Peritrik kirpikleriyle hareketlidir, fakat hareketleri yavaştır. Hareketsiz suşları da vardır. Bazı suşları kapsüllüdür. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar ve gram negatiflerdir (Bilgehan, 1990; Ustaçelebi, 1999).

#### 2.1.3. Antijenik Yapısı

*E.coli*'nin somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) antijenleri vardır. *E.coli* suşlarının serotiplendirilmesi, Kuaffmann tarafından geliştirilen şemaya göre yapılabilir. 164 O grubu, 57 H grubu ve 90 K grubu vardır. Serotiplendirmede öncelikle O ve H antiserumları kullanılır. Suşların kapsül antijenleri de olabilir, fakat kapsül antijeni nadir olarak değerlendirilir. Serotiplendirme sonucunda bakterinin sahip olduğu

antijenler yan yana yazılır (026:H1, 018:K1:H7, 078:H20 gibi). Bakteride bulunmayan antijenler kaydedilmez (Baron ve Finegold, 1990).

*E.coli* suşlarının antijenik yapılarının belirlenmesi özellikle, epidemiyolojik çalışmalarda yararlıdır. *E.coli*'nin oluşturduğu çeşitli hastalık tabloları ile özel antijen tipleri arasında ilişkiler vardır. Örneğin serotip O157:H7, verotoksin oluşturur, hemorajik diyareye ve hemolitik üremik sendroma yol açar (Ustaçelebi, 1999).

#### 2.1.4. Biyokimyasal Özellikleri

*E.coli* katı ve sıvı besiyerlerinde kolayca ürer. Fakültatif anaerop olup optimal üreme ısısı 7°C'dir. 15-45 °C aralığında da üreyebilirler. Özellikle 44°C' de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden (*Enterobacter* ve *Serratia*) ayırt edici bir özelliktir. Optimum pH: 7.2'de iyi ürerler. Sıvı besiyerinde homojen bulanıklık yaparlar.

Katı besiyerinde hafif kabarık, yuvarlak 1.2 mm çapında, parlak, S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenleri mukoid koloniler şeklindedir. Yine bazı türleri kanlı besiyerinde hemoliz yapabilirler.

Koli basilleri birçok şekeri asit ve gaz meydana getirerek parçalarlar. Laktoza olan etkileri, bu şekere etki etmeyen diğer bağırsak bakterinden ve özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'dan ayırt edici bir özelliktir. Bu nedenle *E.coli*'nin dışkıda birlikte bulunduğu laktoz olumsuz bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan besiyerleri kullanılır.

*E.coli* için İMVC testleri +,+,-,- 'dir. Üreyi parçalayamazlar ve KCN besiyerinde üreyemezler (Erensoy, 1990; Baron ve Finegold, 1990).

#### 2.1.5. Patojenik Özellikleri

*E.coli* memelilerin ve kuşların normal bağırsak florasında bulunup, burada diğer flora bakterileri ve organizmalar ile denge içinde kaldığı sürece hastalık yapmaz. Ancak belli koşullar altında *E.coli* insanlar ve hayvanlar için patojen olup, kanlı ve kansız diyare şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına neden olur. (Kayser vd., 2002).

Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve meninkslere ulaşan *E.coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar (Akça, 1994).

Bağırsakta hastalık oluşturan *E.coli* suşları etki mekanizmalarına göre çeşitli gruplara ayrılırlar.:

**a) Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC):** Bağırsakta enterotoksinler üreten ve bu toksinlerin etkisi ile hafiften ağrıya kadar değişebilen sürgünlere neden olan *E.coli* bakterileri bu grup içinde bulunurlar. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde bebek diyaresinin önemli nedenlerinden biridir. Sık olarak turist diyaresinden sorumlu bir etkidir. ETEC, ısıya dirençli ve ısıya duyarlı olmak üzere iki çeşit enterotoksine sahiptir.

**b) Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC):** Daha çok çocuklarda olmak üzere erişkinlerde de dizanteri benzeri sürgünlere ve yüksek ateşe neden olan *E.coli* bakterileri bu grupta bulunurlar. Enterotoksin oluşturmazlar. Oluşturdukları hastalık , ateş, şiddetli karın krampları, kırıklık ve sulu diyareyle karakterize edilir. Sulu diyareyi takiben kanlı ve mukuslu dışkı ile seyreden ağır dizanteri oluşur.

**c) Enteropatojenik *E.coli* (EPEC):** Özellikle süt çocuklarında diyare ve hafif ateş yapan *E.coli* suşları bu grup içerisinde yer alırlar. EPEC, ince bağırsak mukozasına yapışır. Daha küçük çocuklarda diyareye sebep olmaktadır. Bilinmeyen nedenlerle büyük çocuklarda ve yetişkinlerde hastalık oluşturmamaktadırlar.

**d) Enterohemorajik *E.coli* (EHEC):** Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trompositopenik purpura yapan *E.coli*'ler bu grupta bulunurlar.

Bu grup içinde en çok çalışılan serotip, O157:H7 serotipidir. Yaptığı shiga benzeri toksin, bir plazmid ile düzenlenmektedir.

**e) Enteroadheran *E.coli* (EAEC):**Bu suşlar özellikle Meksika ve Şili'deki çocuklarda ve bu bölgeye seyahat edenlerde diyare etkenidir. Sulu diyareye neden olurlar (Arslan,1993;Akça,1994).

## 2.2. O157:H7 Serotipi

İlk olarak 1975 yılında, daha sonra 1978-1982 yılları arasında diyarenin gözlemlendiği hastalardan izole edilen O157:H7 serotipinin tam anlamıyla bir insan patojeni olarak tanımlanması, 1982 yılında yetersiz ısıtılmış kontamine hamburgerlerin tüketilmesi sonucu ortaya çıkan bir salgın sonucunda gerçekleşmiştir (Tracey vd., 1999).

1993 yılında Amerika'da görülen ve yine hazır yemek restaurantlarında yetersiz pişirilmiş hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan, 732 kişinin etkilendiği, 4 kişinin de hayatını kaybettiği bir salgından sonra gıda zehirlenmelerinde O157:H7'nin önemi oldukça artmıştır (Semanchek ve Golden, 1998; Taormina ve Beuchat, 1999).

Dünyadaki en geniş çaplı O157:H7 salgını 1990-1995 yılları arasında Kanada'da görülmüştür. 7000'in üzerinde insanı etkileyen bu salgın sonucunda 7 kişi hayatını kaybetmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda bu salgının, O157:H7 serotipinin içme suyuna karışması sonucunda ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Micheal vd., 1998; Mackay, 2002 ).

1996 yılında Japonya'nın Sakai şehrinde meydana gelen bir salgında 5700'ün üzerinde vaka görülmüş ve bu salgına iyi yıkanmamış turp filizinin neden olduğu tespit edilmiştir. Salgının bu denli büyük çapta olmasının nedeni ise bu iyi yıkanmamış turp filizlerinin merkezi bir mutfak tarafından salata olarak hazırlanıp bazı okullarda öğrencilere öğle yemeğiyle birlikte servis edilmesi olarak saptanmıştır (Takeda, 1997).

Yine 1988 yılında ABD'de görülen bir salgında 1562 öğrencinin 32'sinde O157:H7 serotipinin neden olduğu görülmüş ve kaynak olarak öğrencilerin okul kantininden yedikleri sığır kıymasından yapılmış ve iyi pişirilmemiş köfteler gösterilmiştir (Belongia vd., 1991).

1990 yılında İngiltere'nin Tarves Kasabası'nda görülen 4 adet O157:H7 vakasının kaynağı dışkı ile kontamine olmuş su olarak tahmin edilmiştir (Dev vd., 1991).

ABD'de de suyun *E.coli* O157:H7 enfeksiyonlarından sorumlu olduğu düşünülmüştür. Salgından önce normal soğuk ve yağışlı bir hava nedeniyle şehir çevresindeki su kaynakları şehrin ana suyuna karışmıştır. Ayrıca şehrin dışındaki su

kaynağından da bu bakterinin izole edilmesi *E.coli* O157:H7'nin su kaynaklarıyla bulaştığını gündeme getirmiştir (Noveir, 1998).

Bugün için başta süt inekleri olmak üzere çeşitli hayvanların ve hayvansal gıdaların *E.coli* O157:H7 enfeksiyonlarının taşıyıcıları oldukları kabul edilmektedir. Ancak süt ineklerinin bu bakterinin ana kaynağı olup olmadığı sağım ve kesim gibi işlemler ya da nakliye sırasında kontamine olup olmadığı veya gıda üretiminde kullanılan diğer hayvanların O157:H7 serotipini taşıyıp taşımadıkları kesin olarak bilinmemektedir ( Whipp vd., 1994; Noveir, 1998; Peterson, 1998; Weir, 2000).

### **2.2.1. Neden olduğu hastalıklar**

*E.coli* O157:H7'nin neden olduğu hastalıklar hemolitik üremik sendrom, hemorajik kolit ve trombotik trombositopenik purpura olmak üzere 3 şekilde görülür (Şalcıoğlu, 1991).

#### **a. Hemolitik Üremik Sendromu (HUS)**

1985 yılında Karmali ve arkadaşları HUS ile shiga benzeri toksin üreten *E.coli* arasında bir bağlantı kurmuştur (Moake, 2002; Aksungur ve Yaman, 1995).

HUS genellikle hemorajik kolit oluştuktan 7 gün sonra oluşur ve tanı konduğunda dışkı kültürlerinde mikroorganizma bulunmayabilir. HUS genellikle bağırsak veya solunum sistemi hastalıklarından birkaç hafta sonra oluşan bir sendromdur. Salmonella, Shigella, Campylobacter ve çeşitli viral etkenlere bağlı diyarelerden sonra görülebilirse de bu sendromla en büyük ilişkisi olan etken *E.coli* O157:H7'dir (Haris, 1990). HUS, mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut renal yetmezlik ile karakterize edilir. Çoğu kez hastalara diyaliz ve kan nakli gerekir. Bu sendromda nöbet ve koma ile karakterize edilen merkezi sinir sistemi hastalıkları görülür ve sonunda ölüm meydana gelebilir (Doyle, 1991; Griffin ve Tauxe, 1991; Olsen vd., 1991).

#### **b. Hemorajik Kolit (HC)**

İlk belirtileri karın krampları ve kansız diyaredir. Hemorajik kolit, aniden ortaya çıkar kramplı karın ağrılarıyla başlar ve 24 saat içinde sulu diyare ile devam eder. Diyare sırasında görülen kan artar ve dışkı zamanla tümüyle kan olur. Hastalığın

ortaya çıkması genellikle 3-9 gün (ortalama 4 gün), hastalık süresi ise 2-9 gündür. (Riley, 1983). Krampli karın ağrılarının doğum sancısına benzer yoğunlukta olduğu ve apandisit ağrısından daha şiddetli olduğu bilinmektedir. Bu hastalık shigellosis olarak tanımlanan dizanteri ve invaziv *E.coli*'nin neden olduğu gastroenteritsten, ateş olmaması ve kanlı dışkı ile ayrılmaktadır (Noveir, 1998; Harris, 1999; Barbara vd., 1999).

### **c. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)**

Klinik ve patojenik özellikler HUS'a benzer ancak merkezi sinir sistemi bozukluğu genellikle temel özelliktir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşur ve genellikle ölüm görülür (Doyle, 1991).

#### **2.2.2. Toksinleri**

O157:H7 serotipinin en önemli virülens faktörlerinin başında bir veya daha fazla shigatoksin üretme yeteneği gelir. Bu toksinlerden birincisi shigatoksin 1 (stx1), *Shigella dysenteriae* type 1 tarafından oluşturulan stx1 ile *Shigella dysenteriae*'nin oluşturduğu stx1 sadece A polipeptitindeki tek aminoasit ile ayrılır. Bu özelliğinden dolayı O157:H7 serotipinin ürettiği bu toksin shiga-like toxin1 (SLT-1) veya Shiga toxin1 (stx1) olarak adlandırılır (Griffinve Tauxe, 1991).

İkinci toksin; Shiga toxin 2 (stx2) ise Shiga toxin (stx1) ile %56'lık bir homolog benzerliğe sahip olmasına rağmen Shiga like toxin 2 (stx2) olarak adlandırılmıştır. Bu toksinlerin çalışma mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır. Her iki toksinde de 5 adet B polipeptidi (alt birimi) ve 1 adet A polipeptidi (alt birimi) bulunmaktadır. B alt biriminin globotriaosylceramide adlı glikolipid reseptörüne bağlanıp içeri girdikten sonra A alt biriminin 60 S ribozomal alt birimini inaktive ettiği ve bu olayın da protein sentezini engellediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Mead ve Griffin, 1988).

Shiga toksin oluşumu tek başına patojenik olmak için yeterli değildir. *E.coli* O157:H7'nin taşıdığı 60 MDa'lık plazmidin de patojenitede önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Her iki toksin de HeLa ve Vero doku kültürü hücrelerinde toksik etki yaparlar. Bu nedenle stx1;VT1, stx2; VT2 olarak da adlandırılırlar.

Her ne kadar ELİSA, immunodifüzyon vb. yöntemler kullanılarak verotoksinlerin shiga toksinlere benzerliği gösterilmiş ise de izoelektrik noktası ve molekül ağırlığı gibi özelliklerinden yararlanılarak *E.coli* verotoksinleri, shiga toksinlerinden ayırt edilebilmektedir (Halkman vd., 2001).

### 2.2.3. Biyokimyasal Özellikleri ve Antijenik Yapısı

*E.coli* O157:H7 serotipi diğer *E.coli* suşlarından 44,5°C ve üzerinde gelişmemesi, sorbitolü fermente edememesi, β-glukuronidaz enzimine sahip olmaması, buna karşılık eae genine sahip olması, 60 mDa plazmid taşıması taşıması gibi özellikleriyle ayrılmaktadır. *E.coli* O157:H7, sorbitolü 48 saat içinde fermente edememektedir. Bununla beraber Birleşmiş Milletler Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre SLTEC O157 suşları arasında soribitol pozitif olanlara da rastlanmaktadır. *E.coli* O157:H<sup>-</sup> suşları sorbitol pozitifdir. Yine *E.coli* suşlarının % 97'si β-glukuronidaz enzimi içerirken *E.coli* O157:H7 serotipi β-glukuronidaz negatiftir. Yeni bir tip hemolisin olarak kabul edilen enterohemolisin, verotoksin pozitif *E.coli* O157:H7 ve *E.coli* O157:H7 serotipleri tarafından üretilirken, bu özellik diğer *E.coli* suşlarında yoktur (Bettelheim, 1995; Hayes, 1995).

*E.coli*'nin florojenik MUG belirteci uidA geni tarafından kodlanan β-glukuronidaz enziminin aktivitesine bağlıdır. *E.coli* O157:H7'de de bu genin varlığı gösterilmiş olmakla beraber, yapılan sekans analizleri bu serotipte uidA geninde birkaç kez mutasyon olduğunu göstermiştir. Bu nedenle *E.coli* O157:H7 serotipinde diğer *E.coli*'lerde tipik olan MUG reaksiyonu negatiftir (Halkman vd., 2001).

*E.coli* O157:H7'nin O157 antijenik determinantı bakterinin selüler lipopolisakkaritinin polisakkarit kısmında bulunur (Park vd., 1999).

*E.coli*'nin somatik O antijenleri ile *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* ve *Providencia* cinsi bakteriler arasında önemli çapraz reaksiyonlar bulunmaktadır.

*E.coli* O157 ile *Escherichia* cinsi içindeki diğer 4 sorbitol negatif türün antijenik ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada 24 *E. hermannii* izolatu serolojik olarak çapraz reaksiyon vermiştir (Ronner ve Cliver, 1990).

Bunlara ilaveten *C.freundii* suşlarının da *E.coli* O157 antiserumu ile aglütinasyon verdiği bildirilmektedir (Hitchins vd., 1998).



**E.coli O157:H7' nin BİYOKİMYASAL REAKSİYONLARI**

TEST	YÜZDE
Beta-Glukoronidaz	0
Sorbitol	0
Salisin	0
Eskulin	0
Arginin dehidrolaz	0
Adonitol	0
inositol	0
Sellobiyoz	0
Üreaz	0
Sitrat	0
KCN	0
Sukroz	87
Glukoz (asit)	100
Glukoz (gaz)	98
İndol	100
Arabinoz	100
Trehaloz	100
Mannitol	100
Laktoz	100
Maltoz	100
Ramnoz	100
Ksiloz	100
Lizin dekarboksilaz	100
Ornitin dekarboksilaz	100
Dulsitol	100

**2.2.4. E.coli O157:H7 ' nin Gelişimi ve Canlılığı**

*E.coli* O157:H7 serotipi 44-45 °C ' lerde zayıf gelişmektedir. Optimum gelişme pH'ı 7.0 olan *E.coli* O157:H7' nin pH 4.5-9.0 aralığında da geliştiği ortaya konulmuştur (Tsai and Ingham 1997).

*E.coli* O157:H7'nin gıdalarda ısı, soğutma, dondurma, asit ortam ve düşük pH' a maruz bırakılarak yıkımlanabildiği bilinmektedir (Raouf vd.,1993).

Doyle ve Padhye yaptıkları bir çalışmada -80 ve -20 °C' lerde dondurulmuş kıymalarda, 9 ay boyunca canlılığını sürdürebildiği tespit etmişlerdir (Temelli, 2002).

Yapılan araştırmalarda aktif klorun Ca(OCl)<sub>2</sub>, asitlendirilmiş NaClO<sub>2</sub>, ClO<sub>2</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, klorin (NaOCl), C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>OH,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, trisodyum fosfat gibi kimyasalların belli doz, ısı ve zamanlarda Alfalfa tohum ve filizlerinde bulunabilen patojenlerin sayısını azalttığı sonucuna varılmıştır (Taormina ve Beuchat, 1999).

Bakterinin asite adaptasyonu ve depolanma ısısındaki canlılığının araştırıldığı bir çalışmada, ketçap ve hardal örnekleri, *E.coli* O157:H7' nin 3 farklı suşu ile 10<sup>5</sup> cfu/g seviyesinde kontamine edilerek 5 ve 23 °C' lerde pH 5.0' de depolanmış; hardal örneklerinden farklı olarak ketçapta, asit adaptasyonunun, bakterinin suşlarına ve depolama ısalarına bağlı olarak canlılığı arttırdığı ve suşların 5 °C' de 23 °C' den daha uzun süre canlı kaldığı tespit edilmiştir (Tsai ve Ingham, 1997).

Yapılan geniş araştırmalar sonucu O157:H7 serotipinin 7-10 °C'lerden 50 °C'lere kadar geniş bir aralıkta geliştirebildiği, fakat optimal üreme ısısının 37 °C olduğu tespit edilmiştir (Temelli, 2002).

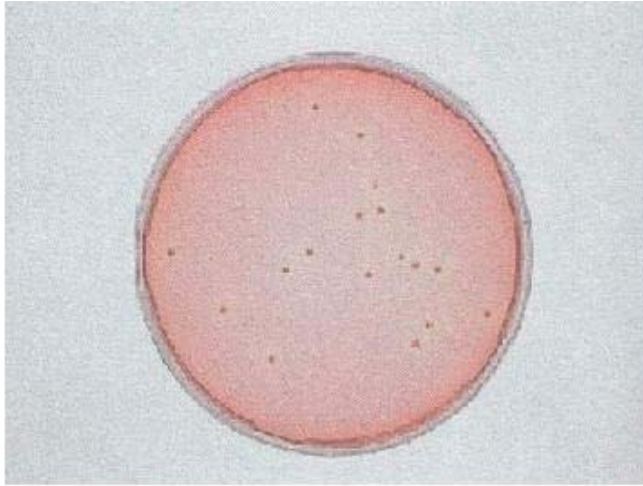
## **2.2.5. O157:H7 Araştırmalarında Kullanılan Yöntemler**

### **2.2.5.1. Klasik Yöntemler**

Günümüze dek O157:H7 araştırılması, identifikasyonu ve izolasyonu ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Klasik yöntemlerde alınan numuneler öncelikle zenginleştirici bir besiyerine ekilerek, olası bakterilerin çoğalmaları sağlanır. İnkübasyon süresinin sonucunda pozitif kolonilerden alınarak seçici ve ayırt edici besiyerlerine ekim yapılır. Yine inkübasyon süresinin sonunda şüpheli koloniler buradan alınarak biyokimyasal testlere veya lateks aglütinasyon testine tabi tutulurlar. Bu yolla O157 olup olmadıkları anlaşılır. Son olarak da H7 antijeni içerip içermedikleri kontrol edilerek çalışma tamamlanır (March ve Ratnam, 1989; Boer,1999).

O157:H7 araştırmalarında zenginleştirici besiyeri olarak en çok kullanılan besiyerleri; TSB agar, EMB agar, violet bile agar, kromojenik rainbow agar ve *E.coli* broth' dur. Yapılan çalışmalarda bu besiyerleri refakatçi floranın baskı altına alınabilmesi için çeşitli kimyasallarla modifiye edilmişlerdir. Bu kimyasallardan en çok kullanılanı, novobisindir (Yavuz vd., 2002).

Seçici ve ayırt edici besiyeri olarak ise en çok sorbitol MacConkey agar kullanılmaktadır. Bu besiyerinin MacConkey agarından farkı laktoz yerine sorbitol ihtiva etmesidir. *E.coli* O157:H7 serotipi, sorbitolü fermente etmemesi nedeniyle bu besiyerlerinde meydana getirdiği renksiz kolonilerle kolayca ayırt edilebilmektedir (March ve Ratnam, 1986;1988 ; Smith ve Scotland, 1993).



şekil 2.1. SMAC besiyerinde O157:H7 kolonilerinin görünümü

Ayrıca sorbitol MacConkey (SMAC) agar, içeriğinde bulunan safra tuzları ve kristal viyole ile gram (+) bakterilerin üremelerini de engeller.Günümüzde O157:H7 araştırmalarında SMAC agarın kullanıldığı çalışmalarda, bu besiyeri cefixime ve tellurite ile modifiye edilmektedir. Bu yolla refakatçi floranın baskı altına alınması sağlanmaktadır (zbaş ve Aytaç,1995; Fujisawa vd., 2000).

Kimi araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda seçici ve ayırt edici besiyeri olarak SMAC agar yerine Fluorocult agarı tercih etmişlerdir. Fluorocult agar, gram (+) refakatçi floranın gelişmesini engelleyen sodyum deoxycholate isimli bir madde

içerir. Sorbitol pozitif bakteriler bu besiyerinde sarı renkli koloniler oluştururlar. Fluorocult agar da SMAC agar gibi sorbitol ihtiva eder ve bakterinin sorbitolü fermente edip edememesi mantığına göre çalışır. Noveir ve Halkman(2000) yaptıkları bir çalışmada SMAC agarın Fluorocult agara göre daha iyi sonuç verdiğini göstermişlerdir.

### **2.2.5.2. Gelişmiş Yöntemler**

Klasik yöntemlerle bir çok enfeksiyon teşhis edilebilmekte ise de bunlar bazen yetersiz kalabilmekte, özellikle refakatçi floranın maskeleyesi nedeniyle çoğu kez sahte sonuçlar alınabilmektedir. Bu nedenle giderek gelişen analiz teknikleri içinde başta DNA esaslı testler ve immunoenzimatik yöntemler olmak üzere çeşitli analiz yöntemleri üzerinde çalışılmakta bunlardan bir kısmı ticari olarak üretilip pazarlanmaktadır. Bu gelişmiş testlerin en önde gelenleri, PCR (polimeraz chain reaction), IMS (immunomanyetik seperation) ve *E.coli* testi gelmektedir. Ancak bu testler pahalı olduğu kadar gelişmiş laboratuvarlara ve iyi yetişmiş personellere gereksinim duymaktadırlar (Campbell vd., 2001; Frantamico vd.,1995; Wang ve Doyle, 1998).

#### **a) PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)**

PCR, bakteri, virüs, mantar, parazit ve protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asit zincirlerinin primer adı verilen spesifik komplementer oligonükleotitler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq) kullanılarak *in vitro* olarak çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan oldukça güvenilir moleküller biyolojik bir tekniktir. Bu hedef genetik materyaller çok az sayıda ve hatta birçok ilgisiz DNA'lar arasında olsalar bile çoğaltılabilir, homojen bir DNA materyali haline getirilebilip, kolayca identifiye edilebilirler.

PCR, 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 artırılması esasına dayanan PCR' ın en önemli yönü özel bir DNA dizisi seçip çoğaltarak istenmeyen dizilerin ortaya çıkmasını engellemesidir. Bu özellik sadece dizinin

tanınmasını kolaylaştırmakla kalmaz, ayrıca DNA' nın analiz edilmesini de sağlamaktadır.

PCR, mikrobiyolojide mikroorganizmalar içinde alt tiplerin saptanmasında kullanılır.

#### **PCR' nin avantajları:**

1- Tekniğin çok hızlı aynı zamanda da oldukça spesifik oluşu en önemli özelliklerindedir.

2- Kan serumu, doku, hücre gibi materyallerin yanı sıra oldukça eski zamanlara ait olan kurutulmuş örneklerden de (antropolojik çalışmalardan) nükleik asitler ekstrate edilebildiğinden ve hedef DNA' nın çok küçük konsantrasyonlarının bile bu iş için yeterli olabilmesi nedeniyle oldukça pratik bir yöntem olarak kabul edilmektedir.

3- Toksin oluşturan etkenlerin ve saptanması güç olan virüslerin teşhis edilebilmesini sağlamaktadır.

4- Dirençliğe neden olan yerin belirlenmesi ile antibakteriyel ilaçla dirençli olan bakterilerin saptanmasında kullanılır. Örneğin *Staphylococcus aureus*'un metisilin direnç geni PCR ile tespit edilmiştir.

5- Adli tıpta başta babalık tayini olmak üzere pek çok alanda populasyon genetiği ve epidemiyolojik çalışmalarda giderek yaygınlaşarak kullanılmaktadır.

#### **PCR' nin dezavantajları:**

1- PCR' nin en büyük avantajı aslında tekniğin en önemli dezavantajının da kaynağını oluşturur. Şöyle ki; ortamda bulunan tek bir kontaminant DNA, eğer reaksiyonda kullanılan primer ile ortak baz sırasına sahip ise aynı oranda çoğalarak reaksiyon sonrası elde edilecek sonuçları olumsuz yönde etkileyecektir.

2- PCR, deneyimli personel gerektirir. Tekniğin yeterince duyarlı ve özgün sonuçların doğru bir şekilde yorumlanmasına bağlıdır.

3- PCR pahalı bir yöntemdir. Bunun nedeni kullanılan alet ve malzemelerden kaynaklanır.

PCR' da eğer primer bölgeyi içeren DNA parçası zarar görmemişse canlı ve cansız bakteriler arasında bir ayırım yapılamamaktadır. Klasik konvansiyonel tekniklerle

cansız bakteriler tespit edilemezken PCR ile canlı ya da cansız nükleik asidin tespit edilmesiyle pozitif sonuç alınabilmektedir. Bu durum yöntemin hem avantajı hem de dezavantajıdır. Avantajı, hammaddenin hijyenik kalitesi hakkında çok önemli bilgiler vermesi, dezavantajı ise ısı işlemi uygulanmış olan gıda maddelerinde sanki bakteriyel kontaminasyon varmış gibi reaksiyon görülmesidir (Türkyılmaz ve Esendal, 2002; Kong vd., 2002).

### **b) Immunomanyetik Ayırım**

İmmunomanyetik ayırım (IMS) yöntemiyle çalışan sistemle üzerinde son yıllarda yoğun bir ilgi vardır. Bu yöntemde monoklonal antikorlarla kaplanmış manyetik tanecikler kullanılır. Bu antikorlar bakteriyi bağlayarak onların sayımını mümkün kılmaktadır (Okrend ve Rose, 1992; Clark, 1995)

Karch ve arkadaşları IMS yöntemiyle O157 spesifik antikorlarının paramanyetik parçacıklara tutturulması şeklindeki bir selektif zenginleştirmeye dışkıda  $10^7$  cfu/g koliform bakteri bulurken  $10^2$  cfu/g Düzeyinde O157:H7 belirleyebilmiştir. (Halkman vd., 2001).

Günümüzde bu yöntem O157:H7 araştırmalarında sıklıkla kullanılmakta ve başarılı sonuçlar alınmaktadır (Tomoyasu, 1998).

Yu ve Bruno (1996) yaptıkları bir çalışmada, immunomanyetik ayırım sistemini electroluminescence (ECL) sistemi ile kombine etmişler ve olumlu sonuç almışlardır.

### **c) EZ coli Testi**

Ticari bir kit olan EZ coli standart mikropipette bulunan *E.coli* O157 için spesifik olan hızlı immunanaliz yöntemi olup *E.coli* O157 ve laktozu fermente eden diğer koliform bakteriler için spesifik olan tek aşamalı zenginleştirme besiyeri ve *E.coli* O157 aranmasına yönelik olan EZ coli dedektör uç olmak üzere iki unsurdan oluşmaktadır. EZ coli dedektör uç, 6 aylık raf ömrüne sahip, mikropipet ucu formunda bir mikrofilament ELİZA testidir. EZ coli zenginleştirme brothu *E.coli* O157 için selektif bir besiyeridir. Refakatçi floranın baskılanması için akriflavin ve/veya novobiosin ilave edilmektedir. İlave edilen 25 gram örnekte 1 kob *E.coli* O157:H7 mevcut ise de 42 °C' de 24 saat inkübasyondan sonra bakteri sayısı  $10^6$

kob/ml' ye ulaşabilmektedir. EZ coli dedektör uç bir pozitif, bir negatif renk değişim alanı ve örnek test alanı olan 3 reaksiyon alanından oluşmaktadır. Test alanı *E.coli* O157:H7'ye spesifik olan primer antikor içermektedir. Test, direkt olarak EZ coli zenginleştirme brothundan yapılmak üzere EZ coli dedektör ucun test alanında eflatun rengin oluşması *E.coli* O157:H7' nin varlığını göstermektedir. Toplam test süresi 10 dakikadır (Noveir, 1998).

*E.coli* O157:H7' nin zenginleştirme ve katıbesiyeri kullanılmadan antikor-direk epifluoressent filtre tekniği (Ab-DEFT) ile doğrudan sayımı da mümkündür. Tortorella ve Steward yaptıkları bir çalışmada 15 dakika süre ile Tritonx-100 ve tripsin ile muamele edilen kıymayı önce 5mm por çaplı önflitreden sonra 0,2mm porçaplı siyah polikarbonat filtreden geçirmişlerdir. Son filitreyi doğrudan fluorescein ile işaretlenmiş anti-0157 poliklonal antikor ile boyayıp yıkamışlar ve epifloresan tamamlamışlardır (Tortoralo ve Stewart, 1994).

#### **2.2.6. Sularda, *E.coli* ve O157:H7 Araştırmalarında Kullanılan Yöntemler**

Sularda *E.coli* ve *E.coli* O157 araştırmalarında ilk önce sularda koliform bakteri olup olmadığına bakılır (Rice vd., 1996; Rothmaier, 1997).

Koliform grubu bakteriler olarak tanımlanan organizmalar; gram negatif, fakültatif anaerop, spor oluşturmayan 35-37 °C' de laktozdan gaz oluşturan çubuk bakterilerdir. Koliformlar insan ve hayvan dışkılarındaki bakterilerin çoğunluğunu teşkil eder. Tifo ve diğer su enfeksiyonu etkenleri sulara çoğunlukla dışkı ile karışacaklarına göre dışkı ile bulaşmış bir suda patojen bakteri veya virüslerle birlikte daima koliformlar da bulunacak demektir. Yapılan bazı hesaplara göre bir suya tifolu bir hastanın dışkısının bulaşması halinde bile bu su, tifo basillerinden daha fazla sayıda koliform bakteri ihtiva eder. Şu halde bir suda koliform bakteri bulunmaması o suyun temiz olduğuna, belli bir sayıdan daha fazla bulunması ise tehlike olduğuna delil sayılabilir. Bu halleri ile koliform grubu bakteriler bir tehlike ziline benzetilmişlerdir (Akman, 1961).

Koliform grubu bakteriler Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi'ne (Food and Drug Administration, FDA) göre muhtemel ve doğrulanmış olarak iki grupta incelenmektedir. Buna göre LST broth besiyerinde 35-37 °C' de 48 saat içinde gaz oluşturarak gelişen bakteriler muhtemel koliform grubu bakteriler olarak

tanımlanırken bunlardan brilliant green bile broth (BGBB) besiyerinde 35-37 °C' de 24-48 saat içinde gaz oluşturarak gelişenler doğrulanmış koliform grubu bakteriler olarak tanımlanırlar. (Hitchins vd., 1998). ISO ve TSE' de aynı tanımlamayı yapmaktadır.

1904 yılında Eijkman dışkı kökenli koliformların 45 °C' de glikoz broth' da gaz oluşturabildiklerini, diğerlerinin ise bu sıcaklıkta gelişemediklerini göstermiştir. Daha sonra fekal koliformlar 45 °C' de laktozdan gaz ve asit oluşturan bakteriler olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda fekal koliformların çok büyük bir bölümünün *E.coli* olduğu tespit edilmiştir. Sularda yapılan fekal koliform analizlerinde izolatlar %96,69 *E.coli*, %2,2 *Enterobacter cloace*, %0,66 *Klebsiella pneumoniae*, %0,33 *Citrobacter freundii* olarak identifiye edilmiştir.

Sularda *E.coli* araştırmalarında katıbesiyeri, membran filtrasyon ve en muhtemel sayı (EMS) metodu olmak üzere 3 çeşit yöntem kullanılmaktadır.

Katı besiyeri yönteminde en çok tercih edilen besiyerleri Violet red bile agar (VRB) ve Triptik soy broth (TSB) besiyerleridir.

Membran filtrasyon tekniğinde alınan numuneler önce bir membran filtreden geçirilerek mikroorganizmalar filtre üzerinde tutulmaktadır. Daha sonra bu filtreler uygun bir besiyeri üzerine arada hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirilmekte ve oluşan koloni sayısından materyaldeki mikroorganizma sayısı hesaplanmaktadır. Filtre üzerinde bulunan, birbirini dik kesen hidrofobik hatlar, oluşan kolonilerin dağılmalarını önlemekte ve böylece sayım yapılmasını kolaylaştırmaktadır. Membran filtrasyon tekniğinin bazı üstünlükleri bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri örnekte az sayıda mikroorganizmanın bulunması durumunda bile belirleme imkanı vermesi ve inkübasyondan sonra filtrelerin kurutularak saklanabilmesidir.

EMS yöntemi, çoklu tüp fermantasyon metodu olarak da adlandırılmaktadır. EMS yönteminde tüplere farklı dilüsyonlarda ekim yapılır. Bunun sebebi bakterilerin her dilüsyonda suyun her yanında eşit olarak bulunmasıdır.

Her ne kadar katı besiyerinde yapılan sayımlar matematiksel bazda daha doğru sonuç verse de EMS yönteminin pek çok yasal kuruluş tarafından analiz yöntemi olarak verilmesindeki nedeni, EMS yönteminin pek çok avantajının olmasıdır. Bazı



mikroorganizmaların katı besiyerinde üretilme olanağı yok ise ya da çok zayıf ise sıvı besiyeri ve dolayısıyla EMS kullanılır. Hasar görmüş (stres altındaki) mikroorganizmalar sıvı besiyerinde daha rahat gelişirler. Teknolojik işlem görmüş gıdalardaki EMS tekniği ile alınan sayım sonuçlarının katı besiyerine oranla daha yüksek olmasının temel nedeni budur. Bir diğer değiş ile, katı besiyerlerine sadece aktif hücreler sayılırken sıvı besiyerlerinde aktif hücreler ile zarar görmüş hücreler sayılır. Hasar görmüş hücrelerin bir seri enzimatik faaliyetlerine devam ettiği, uygun ortamlarda kendilerini onararak aktif hücre haline geldikleri dikkate alınırsa bir anlamda EMS yöntemi katı besiyerine göre daha iyi sonuç verir.

Ayrıca sıvı besiyerleri, katı besiyerlerine göre daha uzun süre kullanılmadan saklanabilir. Sayım yapılacak materyalde 1ml' de 1' den daha az, 1 gramda 10' dan daha az sayıda mikroorganizma varsa katı besiyeri kullanımı söz konusu olamaz. Burada ya EMS yöntemi ya da membran filtrasyon yöntemi kullanılır. Materyal membran filtreden geçirilemiyorsa kullanılacak tek pratik yöntem EMS' dir. EMS tekniği, bu üstünlükleri nedeniyle yasal kontrol yöntemleri arasında yer almıştır. EMS yönteminin uygulanışı konusunda çok çeşitli görüşler vardır.

Bu yöntemde en çok durulan konu kaç tüpe ekim yapılacağıdır. Kuşkusuz ekim yapılan tüplerin sayısı arttıkça daha doğru bir sayım sonucu alınacaktır.

EMS yönteminde her dilüsyondan 3;5 ve 10 tüpe ekim yapılan sistemler ve bunlara uygun EMS çizelgeleri geliştirilmiştir. TSE ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü her dilüsyondan 3' er tüpe ekim yapılmasını uygun görmüşlerdir (Çoşkun, 1993).

EMS yöntemi, tahmin deneyi, doğrulama deneyi ve tamamlama deneyi olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. Tahmin deneyinin amacı ilk ekimde fazla miktarda suyu deneye sokmak suretiyle bunlardan bir kısmına daha ileri bir incelemeye lüzum kalmaksızın temiz cevabının verilebilmesi ve numunede az sayıda bulunabilecek koliformların rahatça çoğalmalarının sağlanmasıdır. Tahmin deneyinde en çok kullanılan besiyerleri laruyul sülfat triptoz (LST) broth ve laktoz broth besiyerleridir. Ekim yapıldıktan sonra tüpler 37 °C' de 24-48 saat bekletilirler. İnkübasyon süresinin sonucunda tüplerde gaz veya oluşturan bakteriler pozitif olarak değerlendirilirler ve muhtemel koliform bakteriler olarak kabul edilirler (Arısoy vd.,1999).



Şekil 2.2. Laktoz broth besiyerinde üreyen muhtemel koliform bakteriler

Pozitif sonuç gösteren numuneler doğrulama deneyine tabi tutulurlar. Doğrulama deneyinde en çok kullanılan besiyeri brilliant green bile broth (BGBB)'dur. Bu besiyerine ekilen numuneler de 37 °C' de 24-48 saat bekletilirler ve pozitif sonuç veren bakteriler Koliform grubu bakteriler olarak doğrulanmış olurlar (Tabak, 2002).



Şekil 2.3. Brilliant green bile broth besiyerinde üreyen koliform bakteriler

EMS yönteminin tamamlama bölümünde ise BGGB' ta gaz oluşturan tüplerden EMB agara ekim yapılır. 35 °C-37 °C' de 24-48 saat bekletildikten sonra yeşil refle veren bakteriler muhtemel *E.coli* bakterileri olarak değerlendirilirler ve İMVC testine tabi tutulurlar (Prescott vd., 1990).

İMVC testine göre +,+,-,- özellik gösteren bakteriler *E.coli* bakterisi olarak değerlendirilirler. *E.coli* olduğu doğrulanmış bakteri seçici ve ayırt edici besiyerinde çoğaltılarak daha sonra tiplendirmeleri yapılır (Baran ve Gülmez; 2001).

### 2.2.7 Sularda O157:H7 Araştırmaları

Bopp ve diğerleri (2003) yaptıkları bir araştırmada 100, 250 ve 500 ml su örneklerini membran filtrasyon tekniğiyle süzdükten sonra novobiosin ile modifiye edilmiş EC broth'a ekim yapmışlardır. Pozitif çıkan sonuçları buradan SMAC ve CT-SMAC agara ekmişlerdir. Yine pozitif çıkan kolonilere IMS metoduyla muamele edip, ardından son olarak PCR metoduyla pozitif kolonilerin tiplendirilmesini yapmışlardır.

Hsu ve Tsen (2001) sularda yaptıkları bir O157:H7 araştırmasında PCR metodunu kullanmışlar ve bu yöntemi su araştırmalarında duyarlı ve güvenilir bulmuşlardır.

Afrika' da sularda O157:H7 konulu bir araştırmada Müller ve diğerleri (2001) topladıkları 204 adet su numunesini filtreden geçirdikten sonra kromojenik rainbow agar O157' ye ekmişlerdir. İnkübasyon süresi sonucunda oluşan koyu mavi, gri ve siyah koloniler şüpheli koloniler olarak değerlendirilmişlerdir. Bu koloniler buradan alınarak SMAC agar' a ekilmişlerdir. Son olarak da O157 antiserumuyla muamele edilmişlerdir. Yapılan bu araştırmada O157:H7 serotipine rastlanamamıştır.

Ülkemizde sularda O157:H7 araştırmalarına rastlanmasa da bir çok koliform bakteri ve *E.coli* bakterisi aranması çalışmalarına rastlanmaktadır.

Hasde ve diğerleri (2002) kuyu sularının bakteriyolojik incelenmesini içeren çalışmalarında membran filtrasyon tekniğini kullanmışlardır. Aldıkları su numunelerini 45 nm naylon filtreden geçirdikten sonra 10 ml' lik steril tüplere aktararak üzerine 1ml distile su eklemişlerdir. Tüpler 30' ar saniye vortex cihazıyla çalkalandıktan sonra mikropipet aracılığıyla tüplerde bulunan suları 1,5 ml' lik steril mikrosantrifuj tüplerine aktarmışlardır. Daha sonra dondurma çözündürme metoduyla bakterilerin DNA' larını izole etmişler ve PCR yöntemiyle

muamele etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda aldıkları 28 su numunesinden 14 tanesinde koliform bakterilere rastlamışlar ve bu koliform bakterilerin tamamının *E.coli* oldukları tespit edilmiştir.

Acar ve diğerleri (2002) ise akvaryum suyunda canlı koliform bakterilerin incelenmesi konulu araştırmalarında, çoklu tüp metodunu kullanmışlardır. Zenginleştirici besi yeri olarak da violet red bile agarı tercih etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda inceledikleri 5 akvaryumdan 4' ünün koliform bakteri açısından kirliliğinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Su Numunelerinin Toplanması

Numune alınacak muslukların ağız kısımları temiz bir bezle kurulandı. Musluklar sonuna kadar açıldı ve su 1-2 dakika boşa akıtıldı. Musluklar kapatıldıktan sonra ağız kısımları bir dakika süre ile alevden geçirildi ve musluklara değdirilmeden boyun hizalarında 1-2 cm hava boşluğu kalana kadar dolduruldu. Dolumu takiben yedekte bulundurulan ve daha önce sterilize edilerek kullanıma hazır hale getirilen tıplar ambalajlarından çıkartıldı. Şişelerin ağzı sıkıca kapatıldı ve incelenmek üzere laboratuvara götürüldü.

#### 3.2. EMS Metodu İle Koliform Bakteri Araştırılması

Alınan 200 adet su numunesi pipetler yardımı ile 10 ; 1 ve 0,1 ml'lik dilüsyonlar şeklinde içerisinde laktoz broth bulunan besiyerlerine ekildi. Her bir dilüsyondan 3'er adet ekim yapıldı. 0,1 ve 1 ml'lik dilüsyonlarda tek kuvvetli, 10 ml'lik dilüsyonlarda ise çift kuvvetli laktoz broth kullanıldı. Ekim yapılan tüpler 37 °C 'de 48 saat etüvde bekletildi. İnkübasyon süresinin sonucunda gaz oluşumu görülen tüpler pozitif (+), görülmeyen tüpler ise negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi. EMS tablosundan yararlanılarak bakteri sayısı tesbit edildi (Çizelge 3.1.). Pozitif tüplerden örnekler alınarak brilliant green bile broth'a ekim yapıldı. Ekim yapılan tüpler yine 37 °C'de 48 saat etüvde bekletildikten sonra gaz oluşumu görülen tüpler pozitif (+) , görülmeyen tüpler ise negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi (Tabak, 2002).

Laktoz Broth (Merck):

Pepton.....5.0 g

Beef extract.....3.0 g

Laktoz .....5.0 g

Dehidre besiyeri tek kuvvette 13.0 g/L, çift kuvvette 26.0 g/L olarak distile su içinde eritildi. İçinde durham tüpü bulunan tüplere 10'ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C de 15 dakika sterize edildi.

Brillant Green Bile Broth (Merck):

Pepton.....10.0 gr  
 Laktoz: .....10.0 gr  
 Ovgall : .....20.0 gr  
 Brilliant green : .....0,0133 gr

Dehidre besiyeri 40,0 g/L olacak şekilde distile su içinde eritildi. İçinde durham tüpü bulunan tüplere 10'ar ml dağıtılıp otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildi. (Arısoy vd., 1999)

### 3.3. EMB besiyerinde koliform grubu bakterilerin zenginleştirilmesi

BGGB besiyerinde pozitif özellik gösteren kolonilerden örnekler alınarak EMB besiyerine ekildi. Ekim yapılan besiyerleri de 37 °C'de 48 saat etüvde bekletildi. İnkübasyon süresinin sonucunda bu besiyerinde metalik yeşil renk özelliği gösteren koloniler şüpheli *E.coli* bakterileri olarak değerlendirildi.

Eosin Methylene Blue (EMB) Besiyeri (Merck):

Pepton : ..... 10.0 g  
 Dipotasyum hidrojen fosfat : ..... 2.0 g  
 Laktoz : .....5.0 g  
 Sükröz : .....5.0g  
 Yellowish : .....0,075 g  
 Metilen mavisi : .....0,4 g  
 Agar agar : .....13,5 g

1 litre distile suya 36 gram EMB agar eklendi. otoklavda 121 °C'de 15 dakika bekletildi ve petri kaplarına döküldü (Prescott, 1990).

Pozitif Tüpler			100 ml'deki En Muhtemel Sayıları
10 ml	1 ml	0,1 ml	
0	0	0	<3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	0	4
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	1	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	1	0	64
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

Çizelge 3.1. En Muhtemel Sayım Tablosu  
(APHA, 1971)

### 3.4. İMVC Testiyle *E.coli* Doğrulaması

Koliform olduğu doğrulanan bakteriler İMVC testine tabi tutuldular. İMVC testi; indol, metil kırmızısı, voges proskauer ve sitrat testleri olmak üzere 4 aşamadan oluşmaktadır (Baran ve Gülmez, 1999).

#### 3.4.1. İndol testi

Bu test mikroorganizmaların bir aminosit olan triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılır. İçerisinde triptofan bulunan sıvı besiyerinden (Merck) 5'er ml tüplere dağıldı. Mikroorganizmalar sıvı besiyerine ekildikten sonra etüvde 37 °C'de 48 saat bekletildi. Bu sürenin sonucunda kültürlerin üzerine 0,5 ml kovaks ayıracı (Merck) damlatıldı. 10 dakika bekletildikten sonra tüplerin üzerinde kırmızı bir halkanın oluşması pozitif (+) sonuç olarak değerlendirildi.

Kovaks ayıracı (Merck) :

n- Butanol, hidroklorik asit, 4- dimetilaminobenzen aldehit

#### 3.4.2. Metil Kırmızısı Testi

Bu test glikozun fermantatif metobolize olması sonucu oluşan organik asitlerin ortamını pH'ını düşürdüğünü ortaya koyar. pH 6.2'de sarı; 4.2 ve altında ise kırmızı renk oluşturur.

MR-VP sıvı besiyeri (Merck) 5'er ml tüplere dağıtıldı. Kültürlerden besiyerlerine ekim yapıldı. Bu tüpler 37 °C'de 48 saat etüvde bekletildi. İnkübasyon süresinin sonucunda üzerlerine 5 damla metil kırmızısı solüsyonu damlatıldı ve iyice karıştırıldı. 10 dakika sonra ortamın renginin kırmızıya dönüşmesi pozitif (+) sonuç olarak değerlendirildi.

Metil kırmızısı solüsyonu :

Metil kırmızısı : ..... 0,1 g

% 96'lık etil alkol : .....300 ml

Distile su : .....200 ml



### 3.4.3. Voges Proskauer Testi

Bu test mikroorganizmaların glikozu fermente ederek asetilmetilkarbinol (acetoin) meydana getirip getirmediğini kontrol eder. Voges proskauer testi ile metil kırmızısı testi ortamlarının aynı olması nedeniyle birlikte uygulanabilir. MR-VP sıvı besiyerinden (Merck) 5'er ml tüplere dağıtıldı. Kùltürler MR-VP sıvı besiyerine ekildikten sonra 37 °C'de 96 saat bekletildi. İnkübasyon süresinin sonucunda üzerlerine 5 ml % 40'luk KOH çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra üzerlerine 0,6 ml naftol çözeltisi damlatılarak tekrar karıştırıldı ve 15 dakika bekletildi. Tüplerin üst kısmında pembeden parlak kırmızıya kadar meydana gelen pozitif (+) sonuç, tüplerin pembe rengini muhafaza etmesi negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi.

### 3.4.4. Sitrat Testi

Bu test mikroorganizmaların karbon kaynağı olarak sitratı, azot kaynağı olarak da amonyum tuzlarını kullanılabildiğini yeteneğini saptamada kullanılır.

Simmon's sitrat agar besiyeri (Merck) 5'er ml tüplere dağıtıldı. Ekim yapılan tüpler 37 °C'de 48 saat etüvde bekletildi. İnkübasyon süresi sonucunda ortamın renginin yeşil renkten mavi renge dönüşümü pozitif (+), ortamın yeşil rengini muhafaza etmesi ise negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi (Halkman, 1999).

### 3.5. *E.coli* bakterilerinin CT-SMAC agar'a ekimi

*E.coli* olduğu saptanan bakterilerden seçici ve ayırt edici bir besiyeri olan CT-SMAC agara ekim yapıldı. Ekim, indol tüplerinden alınan örneklerle yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri etüvde 37 °C'de 48 saat bekletildi.

*E.coli* O157:H7 serotipi sorbitol negatif olduğu için bu besiyerinde renksiz koloniler oluştururken buna karşılık, sorbitolu kullanılan bakterilerin oluşturdukları asidik ortam pH indikatörü yardımıyla kolonilerin kırmızı görünmesine neden olmakta, böylece *E.coli* O157:H7 serotipi sorbitol pozitif bakterilerden ayırt edilebilmektedir.

Bu besiyeri bir taraftan O157:H7 serotipinin gelişimini sağlamaktayken, bir yandan da hedef bakteri yanında akraba pek çok bakterinin de gelişmesine izin vermektedir. Bu nedenle SMAC agar besiyeri bu çalışmada cefixime ve tellurit ile desteklenmiştir.

SMAC besiyeri (Merck)

Pepton : .....	20.0 g
Sodyum klorür : .....	5.0 g
Sofra tuzu : .....	1.5 g
Sorbitol : .....	10.0 g
Kristal viyoleto : .....	0.001 g
Nötral red:.....	0.03 g
Agar agar : .....	15.0 g

Dehidre besiyerinden 25.8 gram alınarak 500 ml distile suyun içerisinde çözüldü. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika bekletildi. Cefixime-tellurite supplementlerinden biri alınarak 1 ml distile suda çözüldü ve halen sıvı halde bulunan ve sıcaklığı 50 °C'nin altına düşürülen SMAC agarın üzerine eklendi.

#### 4.BULGULAR

##### 4.1. EMS metodu ile elde edilen sonuçlar

Çeşitli mahallelerden ve sokak çeşmelerinden alınan 200 adet su numunesi laktoz broth besiyerine ekildiğinde inkübasyon süresinin sonucunda 6 numunenin dilüsyonlarında gaz oluşumu görülmüş ve aşağıdaki çizelgede görülen sonuçlar elde edilmiştir.

No	Su Numunelerinin Toplandığı Bölgeler	Alınan Numune Sayısı	Koliform Bakteri Tespit Edilen Numune Sayısı	%
1	Kaleardı Mah.	15		
2	Şeyh Hayrani Mah.	15	1	6,6
3	Şingah Mah.	15		
4	Zahit Mah.	15		
5	Mehmet Çelebi Mah.	15		
6	Tuzcuzade Mah.	15		
7	Veysel Mah.	15		
8	Veli Şaban Mah.	15		
9	Esentepe Mah.	15	3	20
10	Kadızzade Mah.	15		
11	Uzungazi Mah.	15		
12	Camiikebir Mah.	15		
13	Kırçeşme	5	1	20
14	Bent Çeşmesi	5		
15	Kasaplar Çeşmesi	5	1	20
16	Zahidi Geyran Çeşmesi	5		
Toplam		200	6	3

Çizelge 4.1. Alınan Su Numunelerinin Mahallelere Göre Dağılımı  
Koliform Bakteri İçeren Numunelerin Sayı ve Yüzdeleri

Pozitif Numuneler	Pozitif Tüpler			100 ml'deki En Muhtemel Sayıları
	10 ml	1 ml	0,1 ml	
Şeyh Hayrani Mh. 1.Pozitif Numune	1	0	0	4
Esentepe Mh. 1. Pozitif Numune	2	1	1	20
Esentepe Mh. 2. Pozitif Numune	1	1	1	11
Esentepe Mh. 3. Pozitif Numune	1	1	0	7
Kırçeşme 1. Pozitif Numune	3	2	1	150
Kasaplar Çeşmesi 1. Pozitif Numune	2	2	1	28

Çizelge 4.2. EMS yöntemiyle laktöz broth besiyerine yapılan ekimlerin sonuçları

Altı numunenin pozitif sonuç gösteren 21 farklı dilüsyonundan numunelerden brilliant green bile broth'a ekim yapıldığında inkübasyon süresinin sonucunda 21 tüpte de gaz oluşumu görüldü. Böylece koliform bakteri doğrulanması gerçekleştirilmiş oldu.

#### 4.2. EMB Besiyerinde Elde Edilen Sonuçlar

BGBB'tan koliform bakterileri olduğu doğrulanan 6 numunenin 0,1 ; 1 ve 10 ml'lik dilüsyonlarından 21 örnek alınarak EMB besiyerine ekim yapıldı. İnkübasyon süresinin sonucunda ekim yapılan 21 EMB besiyerinde de metalik yeşil renk özelliği gösteren kolonilere rastlandı (Şekil 4.1.). Bu koloniler şüpheli *E.coli* bakterileri olarak değerlendirildi.

#### 4.3. Şüpheli *E.coli* Bakterilerinin İMVC Testi Sonuçları

Koliform grubu bakteri olduğu doğrulanan örnekler alınarak İMVC testine tabi tutuldular. İnkübasyon süresinin sonucunda İMVC testine tabi tutulan 21 örneğin de +,+,-,- özellik gösterdikleri görüldü.



Şekil 4.1. EMB besiyerinde üreyen *E.coli* bakterileri

#### **4.4. *E.coli* Olduğu Doğrulanın Bakterilerin CT-SMAC Agar'da Değerlendirilmesi**

*E.coli* olduğu doğrulanın bakterilerden örnekler alınarak CT-SMAC agar besiyerine ekim yapıldığında ve 37 °C'de 48 saat etüvde bekletildiğinde inkübasyon süresinin sonucunda besiyerlerinin hiçbirinde saydam kolonilere rastlanamadı.

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Suyun bazı bulaşıcı hastalıkların taşınmasında ve sağlam insanlara bulaşmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Suyla tifo, dizanteri ve hepatit A gibi hastalıkların etkenleri taşınabilmektedir. Suyun fiziksel ve kimyasal yönden temiz olması her zaman sağlıklı olduğunu göstermemektedir. O nedenle içme ve kullanma suyu olarak kullanılacak suyun bakteriyolojik yönden de temiz olması gerekmektedir (Akbaş, 1998).

Suyun kanalizasyon veya bir diğer deyişle insan ve hayvan dışkılarıyla kirlenmesi insan sağlığı açısından büyük bir tehlike oluşturur. Bu tür bir kirlilik suyun dezenfeksiyonunun daha başlangıçta yetersiz kalmasından kaynaklanabileceği gibi dağıtım şebekesinde meydana gelen kontaminasyon sonucu da oluşabilir. Arısoy ve arkadaşları (1999), Ankara ili Keçiören ilçesi şebeke sularında yaptıkları koliform bakteri analizlerinde pompalardan alınan su örneklerinin %33.3'ünde, depolardan alınan örneklerin %16.7'sinde koliform bakteri saptamışlardır.

Gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de belediye hizmetlerinin ulaştığı yerleşim merkezlerinde halkın içme ve kullanma suyu gereksinimleri yerel yönetimlerce karşılanmaktadır ve yasal düzenlemelerle insan sağlığını tehdit eden hiçbir unsur içermemesi koşulu güvence altına alınmıştır. Bu pratik olarak gündelik hayatımızda en sık kullandığımız musluk suyunun tüm bina su sistemlerinde sağlık açısından güvenli ve içilebilir nitelikte olması gerektiği anlamına gelir.

İçme suları için Türk standartlarına göre; su örneklerinin 100 ml'sinde koliform bakteri bulunmasına izin verilmezken, Dünya Sağlık Örgütü içme suyu standartlarına göre ise su örneklerinin 100 ml'sinde en fazla 10 tane koliform bakteriye izin verilmektedir (Güler ve Benli, 1998).

Bakteriyolojik analiz koliform grubu bakterilerin varlığının gösterilmesine dayanmaktadır. Koliform bakteriler arasında bulunan *E.coli* bakteriyolojik analizlerde indikatör olarak kullanılmaktadır. *E.coli* patojen bir mikroorganizma olmamakla birlikte varlığının gösterilmesi fekal ya da oral yolla bulaşan hastalık etkenlerini de bulundurabileceğini gösterdiğinden sağlık açısından önemlidir.

Son zamanlarda en çok dikkati çeken *E.coli* serotipi; O157:H7 serotipidir.

*E.coli* O157:H7 sıkça karşılaşılan bir bakteri değildir. İzolasyonu mevsimlere ve coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Özellikle Kanada, İngiltere ve ABD'nin Kuzey kısımlarında *E.coli* O157:H7 izolasyonunda artış gözlenmiştir. ABD'nin güneye yakın kısımlarında ise *E.coli* O157:H7 izolasyonu nadir olmaktadır. Özellikle bahar aylarında *E.coli* O157:H7 izolasyonu oranında artış gözlenmiştir (Arslan,1993).

Her ne kadar ABD, İngiltere, Kanada ve Japonya gibi dünyanın önde gelen ülkelerinde O157:H7 serotipinin neden olduğu salgınlara rastlansa da ülkemizde henüz bu serotipinin neden olduğu bu salgına rastlanamamıştır. (Bopp v.d., 2003; Dev, 1991; Doyle, 1991). Ama bu, O157:H7 serotipinin ülkemizde bulunmadığı ya da bulunmayacağı anlamına gelmez.

Sularda *E.coli* O157:H7 araştırmalarıyla ilgili günümüze kadar birçok araştırma yapılmıştır.

Müller ve diğerleri (2001), Afrika'da, topladıkları 204 adet su numunesinde O157:H7 serotipini araştırmışlardır. Çalışmalarında geleneksel yöntemler kullanmışlardır. Araştırma sonucunda O157:H7 serotipine rastlayamamışlardır.

Bopp ve diğerleri (2003) PCR ve IMS yöntemleriyle sularda yaptıkları bir *E.coli* O157:H7 araştırmasında, bu serotipi izole etmişlerdir.

Bu çalışmada ise geleneksel yöntemler kullanılmıştır.

O157:H7 serotipi, basit bir klorlama işlemiyle etkisiz hale getirilebilen bir serotiptir. Bu nedenle klorlanmış sularda bulunsa bile etkisini göstermemektedir. Bu sebepten dolayı bu çalışmada su numuneleri tiyosülfatın kloru bağlayan ve bakteri üzerindeki etkisini azaltan özelliğine dayanarak tiyosülfatlı şişelere alınmışlardır (Koneko, 1998; Zhao vd.,2001; Jensen, 2003).

EMS metoduyla koliform grubu bakteri doğrulaması gerçekleştirildiğinde ve elde sonuçlar İl Halk Sağlığı Laboratuvarlarında elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında aynı tarihlerde aynı bölgelerden alınan numunelerde koliform grubu bakterilerin görüldüğü saptanmıştır.

*E.coli* araştırmalarında brillant green bile broth besiyerine ekim yapıldıktan sonra pozitif çıkan tüplerden numuneler alınarak EMB besiyerine ekilmeden önce EC broth'a ekilerek 44,5 °C'de 24 saat bekletilmektedir.

Fakat yapılan alışmalar O157:H7 serotipinin 44.5°C'de zayıf ürediğini gösterdiği için O157:H7 araştırmalarında bu işlem uygulanmamaktadır (Temelli, 2002).

Refakatçi florayı baskı altına alabilmek amacıyla SMAC agar cefixime ve tellurite ile modifiye edilmiştir. Fakat bazı çalışmalar cefixime ve tellurite kullanımının bir taraftan refakatçi florayı baskı altına alırken, bir taraftan da O157:H7 serotipinin gelişimini engellediğini göstermiştir.

Fakat günümüzde O157:H7 araştırmalarında CT-SMAC agar, SMAC agara tercih edilmektedir (Fujisawa v.d., 2000; Zadik v.d., 1993).

O157:H7 enfeksiyonlarını önlemek için gıdaların işlenmesi hazırlanmasına kadar olan prosesin her basamağında kontrol önlemlerinin alınması gerekir. Gıdalarda bulunan O157:H7 'yi elimine etmek için uygulanan en iyi metodun ısıtma (pişirme veya pastörizasyon) olduğu bildirilmektedir. Pastörize edilmemiş süt ürünleri ve meyve sularından kaçınılmalıdır.

Klorlanmamış suların içilmemesi, klor veya diğer etkili dezenfektanların uygulandığı suların tüketilmesi gerekmektedir. Tahıl, meyve veya sebzelerin sulanmasında kullanılan atık suların belli işlemlerden geçirilmesi önerilmektedir. şüpheli suların tüketilmeden önce mutlak kaynatılması sağlanmalı , bunun yanında işlem görmemiş havuz veya göl sularında yüzmenin patojen geçişi için bir risk olduğu gözönünde bulundurulmalıdır (Temelli, 2002; şenel ve Başoğlu, 2002)..

Toplum sağlığı açısından suyun hijyenik koşulları taşımalarının ne kadar önemli olduğu birçok kaynakta özenle belirtilmiştir. Bu nedenle suların düzenli mikrobiyolojik incelemelerle birlikte hijyenik şartlara uygun suyun sağlanması esas olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmanın sonucunda her ne kadar O157:H7 serotipine rastlanmasa da en azından Bayburt il merkezindeki içme sularında koliform bakteri ve *E.coli* varlığı hakkında bilgi sahibi olunmuştur.



İçme sularında koliform bakteri araştırmaları Bayburt ili Sağlık M¼d¼rl¼ę¼ne bağlı Halk Sağlığı Laboratuvarında da yapılmaktadır. Fakat bu laboratuvarlarda koliform oldukları doğrulanın bakterilerin *E.coli* olup olmadıklarını belirleyen testler yapılmamaktadır. Bu nedenle ilk defa bu çalışmayla Bayburt ilindeki içme sularında *E.coli* doğrulaması yapılmıştır.

## 6.KAYNAKLAR

- Abdul-Raouf, U.M., Beuchat, R.R., Ammar, M.S., (1993). Survival and Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Roasted Beef as Affected by PH, Acidulants and Temperature. Appl. Envr. Micr. 59 (8), 2364-2368.
- Akbaş,E., (1998). Hastane İnfeksiyon Kaynağı Olarak Su.Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1,23-35.
- Acar,B., Katırcioğlu, H., Erkoç, F., (2002). Akvaryum Suyunda Toplam Canlı Koliform Bakterilerinin İncelenmesi. G.Ü.Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi. 22 (1), 41-46.
- Akça, M.Ö., (1994). Gastroenteritli Olgularda Etken Olarak *E.coli* O157:H7 Araştırılması. G.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 38 s, Ankara.
- Akman, M., (1961). Su. Süt ve Türevlerinin Rutin Bakteriyolojik Muayeneleri. Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü , Ege Matbaası, Yayın No: 23, 120 s, Ankara.
- Aksungur,P., Yaman,A., (1995). Ç.Ü. Balcalı Hastanesinde Gaita Örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 İzolasyonu Çukurova Üniverstesi Tıp Fakültesi Dergisi. 20 (1), 17-21.
- American Public Health Association, (1971). Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater, 13th ed. New York: Su, C. , Brandt, L.J. , (1995). *Escherichia coli* O157:H7 Infection in humans . Ann inter Med. 123 (g), 698-714.
- Arısoy,M., Ateş,S., Piyal,B., Dalgıç,N.,Yıldız,A.,(1999). Keçiören İlçesi Şebeke Suyunun Koliform Bakteri Yönünden Analizi. Türk Hij. Den. Biol. Derg.56(3),115-120.
- Arslan,S., (1993). Gastroenteritli Hastalarda Enterohemorajik *Escherichia coli* Araştırması. G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Y.Lisans Tezi, 39 s , Ankara.
- Baran,F., Gülmez,F., (2001). The Occurence of *Escherichia coli* O157:H7 İin the Ground Beef and Chicken Drumsticks. Internal Journal of Food Safety. 2,13-15.
- Barbara, G. , Delano, M.D., (1996). *E.coli* O157:H7 Associated Diarrhea and the Hemolytic Uremic Syndrome. E-NEPH Archive : Dialysis Transplantation. 25(4), 205.

- Baron, E.J. , Finegold, S.M. , (1990). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, Mosby Company, 367-375.
- Belongia, E.A. , MacDonald, K.L. , Parham, G.L. , White, K.E. , (1991). An Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Colitis Associated With Consumption of precooked Meat Patties. J. Infect. Disea. 164,338-343.
- Bettelheim, K.A. , (1995). Identification of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* by Means of Their Production of Enterohaemolysin J. Appl. Microbiol. 79(2), 178-180.
- Bilgehan,H., (2002). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. İzmir, Şafak . Matbaacılık, 235s. Ankara.
- Boer, E.D. , Heuvelink, A.E. , (2000). Methods for the Detection and Isolation of Shiga Toksin- Producing *Escherichia coli*. Symp. Ser. Appl. Micr. 29, 133-143.
- Boer, E.D., (1999). Methods for Shiga Toksin-Producing *Escherichia coli*. Suppl to J.Appl. Micr. 87 (1), 19.
- Bopp, D. , Sauders, B.D. , Waring, A.L., Ackelsberg, J. , Dumas, N. , Howland, E.B., Dziewulski, D., Wallace, B.J.Kelly, M. , Halse, T. , musser,K.A. , Smith, P.f., Morse, D.L. , Limberger, R.J. , (2003). Detection, Isolation and Molecular Subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* With a Large Waterborne Outbreak. Journal of Clinical, Microbiology. 41 (1), 174-180.
- Campbell, G.R., Prosser, J. , Glover, A. , Killham, K. , (2001). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Soil and Water Using Multiplex PCR.Journal of Applied Microbiology. 91 (6), 1004.
- Clark, C.G. , Johnson, S. , Johnson, R.P. , (1995). Further Characterisation of a monoclonal Antibody Reactive with *Escherichia coli* O157:H7. J. Med. Microbiol. 43 (4) , 262-269.
- Coşkun, Ş. , (1993). Deniz Sularının Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri. Bölge Hıfzısıhha Enstitüsü, Yayın No: 13, 24 s, İzmir.
- Dev. , V.J. , Main, M. , Gould, I. , (1991). Waterborne Outbreak of *Escherichia coli* O157. Lancet. 337 (June 8), 1412 .
- Doyle, M.P. , (1991). *Escherichia coli* and its Significance in Foods Int.J.Food Micr. 12, 289-302.

- Erensoy, S. , (1990). İzmir ve Çevresindeki Sürgün Olgularında Enteropatojen *Escherichia coli* ve Enterohemorajik *E.coli* Kökenlerinin Araştırılması. E.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 63s, İzmir .
- Fratamico, P. M. , Bagi , L.K. , (2001). Comparison of an Immunochromatographic Metod and the Taq Man *E.coli* O157:H7 Assay for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Alfalfa Sprout Spent Irrigation Water and in Sprouts After Blanching. Journal of Industrial microbiology Biotechnology. 27 (2), 129-134.
- Fratamico, P.M., Sackitey, S.K. , Wiedmann, M., Deng, M.Y. , (1995). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by Multiplex PCR. J. Clin. Microbiol. 33 (8), 2188-2191.
- Fujisava, T. , Sata, S. , Aikawa, . , Takahassi , T. , Yamai, S. Shimada, D., (2000) Modification of Sorbitol MacConkey Medium Containing Cefixime and Tellurite for Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Radish Sprouts. Applied and Environmental Microbiology. 66 (7), 3117-3118.
- Güler,Ç., Benli, D., (1997). Çevre Sağlığı.Güneş Kitabevi, sf:257-268, Ankara
- Güler,Ç.,Çobanoğlu,Z.,(1994). T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü ve Temel Sağlık Genel Müdürlüğü Yayını,Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. No:12,Ankara.
- Griffin, P.M. , Tauxe, R.V. , (1991). Shiga-like Toxin-Producing *E.coli* Infections, The Epidemiology of Infections Caused by *E.coli* O157:H7, Other Enterohemorrhagic *E.coli* and Associated Hemolytic Uremic Syndrome. Epidemiologic Reviews. 13, 61-91.
- Halkman,a.k.,(1999). Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu 97111201 Nolu proje, Ankara.
- Halkman, , A.K. , Noveir, M.R. , Doğan, H.B. , (2001). *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. A.Ü.Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd., 53s, Ankara.
- Harris,A.A.,(1990). Haemorrhagic Colitis and *Escherichia coli* O157:H7 Identifying a Messenger While Pursuing the Message. Mayo. Clin. Proc. 65, 884.
- Hasde, M. , Oğur, R. , Tekbaş, ÖF., (2002). Ankara il Merkezinde Bulunan Askeri Birliklerdeki Kuyu Sularının Polimeraz Zincir Reaksiyon Sistemi ile Mikrobiyolojik analizlerinin yapılması. Gülhane Tıp Dergisi. 44 (4), 373-377.

- Hayes, P.S. , Blom , K. , Feng, P. , Lewis, J. , Strockbine, N.A. , Swaminathan, B. , (1995). Isolation and Characterization of a beta-D-glucuronidase- Producing Strain of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 in the United States. *J.Clin.microbiol.* 33 (12), 3347-3348.
- Hitchins,A.D.,Feng,P.,Watkins,W.D.,Rippey,S.R.,Chondler,L.A.,(1998). *Escherichia coli* And the Coliform Bacteria. US Food and Drug Admistration. 6th Ed. Part 4.
- Hsu, S.C. , Tsen, H.Y. , (2001). PCR Primers designed from Malic Acid Dehydrogenase Gene and Their Use for Detection of *Escherichia coli* in Water and Milk Samples. *International Journal of Food Microbiology.*64,1-11
- Jensen, P.K. , Fnsink, J.H. , Jayasingne, G. , Hock, w.,Cairneceros, S., Daalsgaard, A., (2003). Effect of Chlorination of Drinking Water on Water Quality and Childhood Diarrhae in a Village in Pakistan. *J. Heallh Popul. Nutr.* 21 (1), 26-31.
- Kaneko, M. , (1998). Chlorination of Pathogenic *E.coli* O157. *Wat, Sci.Tech.* 38(12), 141-144.
- Kayser, F.H. , Bienz, K.A. , Eckert , J. , Zinkernagel; R.M. , (2002). Tibbi Mikrobiyoloji. Nobel Tıp kitabevleri Ltd. şti.
- Kong, R.Y.C., Lee ,S.K.Y. , Law, T.W.F. , Law, S.H.W., Wu, R.S.S. , (2002). Rapid Detection of Six Types of Bacterial Pathogens in Marine Waters by Multiplex PCR. *Water Research.* 36,2802-2812 .
- Kramer, M.H. , Herwaldt, B.L. , Craun, G.F. , Calderon R.L. , Juranek, D.D., (1996). Surveillance for Waterborne- Disease Outbreaks-United States , 1993-1994. *MMWR CDC Surveiv Summ.* 45 (1) 1-33 .
- Mackay, B. ,(2002). Walker ton, 2 Years Later : “Memory Fades Very Quickly. *Canadian Medical Associaton Journal,* 166 (10) .
- March, S. , Ratnam, S. , (1989). Latex Agglutination Test for Detection of *Escherichia coli* Serotype O157. *J. Clin. Microbiol.* 27 (7) , 1675-1677.
- March, S.B. , Ratnam.,S., (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23 (5), 869-872.
- Mead, P.S. , Griffin, P.M. , (1998). *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet.* 352, 1207-1212.

- Michel , P. , Wilson, J.B. , Martin, S.W. , Clarke; R.C. , Mc Ewen, S.A. , Gyles, C.L. , (1999). Temporal and Geographical Distributions of Reported Cases of *Escherichia coli* O157:H7 Infection in Ontario Epidemiol. Infect. 122, 193-200.
- Moake, J. L. , (2002). Thrombotic microangiopathies. The New England Journal of Medicine. 347, 589-600.
- Müller, E.E. , Ehlers, M.M. , Grabow, W.O.K. , (2001). The Occurrence of E.coli O157:H7 in South African Water Sources Intended for Direct and Indirect Human Consumption. Wat.Res. 35 (13), 3085-3088.
- Noveir , M. R. , Halkman , A.K. , (2000). Selektif Broth ve Agar Besiyerleri Üzerine Bir Çalışma. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi. 24, 459-464.
- Noveir, M.R. , (1998). Gıda Kaynaklı *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Bir Araştırma. A.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 71 s, Ankara.
- Okrend, A.J.G. , Rose, B.E. , (1992). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 Using O157 Spesific Antibody Coated Magnetic Beads. Journal of Food Protection. 55, 214-217.
- Olsen, S.J. , Miller , G. , Breuer, T. , Kennedy, M. , Higgins, C. ,(1999). *E. coli* O157:H7.Infections and Hemolytic Uremic Syndrome: Implications for Rural Water. Systems. Emerg. Infect. Dis. 8 (4) , 370-375.
- Özbaş, Y., Aytaç, A.(1995). *Escherichia coli* O157:H7. Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 52 (1), 47-53.
- Park,S., Worobo,R.,Drust,R.,(1991). *Escherichia coli* O157:H7 As an Emerging Foodborne Pathogen: A Literature Review. Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition.39(6),481-502.
- Pell, A.N., (1996). Manure and Microbes: Public and Animal Health Problem?. J.Dairy sci. 80, 2673-2681.
- Prescott,L.M.,Harley,J.P.,Klein,D.A.,(1990). Microbiology Wm. C.Brown Publishers.USA.
- Peterson , K.E , James, W.O. , (1998). Agents, Vehicles and Causal Inference in Bacterial Foodborne Disease Outbreaks:82 Reports (1986-1995 ). JAVMA. 212 (11), 1874-1880.

- Ratnam, S. , March, S.B. , Ahmed , R., Bezanson, G.S. , Kasatiya, S. , (1988).  
Characterization of *Escherichia coli* Serotype O157:H7. J.Clin. Microbiol.  
26 (10), 2006-2012 .
- Rice, E.W. , Johnson, C.H. , Reasoner, D.J. , (1996). Detection of *Escherichia coli*  
Microbiol. 233), O157:H7 in Water from Coliform Enrichment Cultures.  
Lett. Appl. Microbiol. 23 (3), 179-182.
- Riley, L.W. , Remis, R.S. , Heigerson, s.D. , McGee, H.B. Wells, J.G. , Davis, B.R. ,  
Hebert, R.J. , Olcott, H.M. , Johnson, L.m. , Hargrett, N.T. , Blake, P.A. ,  
Cohen, M.L. , (1983). Hemorrhagic Colitis Associated With a Rare  
*Escherichia coli* Serotype. New England Journal of Medicine. 308, 681-685.
- Ronner, A.B. , Cliver, D.O. , (1990). Isolation and Characterization of a Coliphage  
Specific for *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Food Protection. 53 (11),  
944-947.
- Rothmaier, R. , Weidenmann, A. , Balzenhart , K. , (1997). Transport of *Escherichia*  
*coli* Through Soil to Groundwater Traced by Randomly Amplified  
Polymorphic DNA. Wat. Sci. Tech. 35 (11-12), 351-357.
- Semanckek, J.J. , Golden, D.A. , (1998). Influence of Growth Temperature on  
Inactivation and Injury of *E.coli* O157:H7 by Heat, Acid and Freezing.  
Journal of food Protection. 61 (4) 395-401.
- Smith, H.R., Scotland, s.m. , 1993. Isolation and Identification Methods for  
*Escherichia coli* O157:H7 and Other Vero cytotoxin producing strains. J.  
Clin. Pathol. 46, 10-17.
- Şalcıoğlu, M. , (1991). Diyareli ve Normal kişilerde Kültür Yöntemiyle O157 Sero  
grubundan Enterohemorajik *E.coli* aranması. İ.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık  
Tezi, 63 s, İstanbul.
- Şenel, y. , Başoğlu, F. , (2002). Gıda İşletmelerinde Kullanılan Bazı  
Dezenfektanların Mikroorganizmalar üzerinde Etkileri.  
Ulud.Üniv.Zir.Fak.Derg. 16, 105-115.
- Tabak.,F., (2002). Rize Sahillerinde Fekal Kirlenme Boyutları ve Özellikleri  
Karadeniz Teknik Üniversitesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği, 58  
sf.Rize.
- Takeda, Y., (1997). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. World Health Static  
Quarterly. 50, 70-80.

- Taormina, P.J. , Beuchat, L.R. , (1999). Behavior of Enterohemorrhagic *E.coli* O157:H7 on Alfalfa Sprouts during the Sprouting Process as Influenced by Treatments With Various Chemicals. Journal of Food Protection. 62 (8), 850-856.
- Temelli, S. , (2002). Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *E.coli* O157:H7 ve Önemi. Uludağ Üniv. J.Fac.Vet.Med. 21, 133-138.
- Tomoyasu, T. , (1998). İmprovment of the Immunomagnetic Seperation Method Selective for *Escherichia coli* O157:H7 Strains Appl. Environ. Microbiol. 64(1), 376-382 .
- Topçu, A. W. , Söyletir , G. , Doğanay , M. , (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel.
- Tracey,B.,Kuntz,M.D.,Seen,T.,Kuntz,M.S.,(1998). Enterohemorrhagic *E.coli* İnfection. Fourth Prize Paper.6(6),192-195
- Tortorello, M.L. , Steward, D.S. , (1994). Antibody- Direct Epifluorescent Filter Technique for Rapid, Direct. Enumeration of *Escherichia coli* O157:H7 in Beef. Appl. Envr. Micr. 60(10), 3553-3559.
- Tsai, Y., Ingham, S.C. , (1997). Survival of *E.coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. In Acidic Condiments. Journal of Food Protection. 60 (7), 751-755 .
- Türkyılmaz, S. , Esendal, M. , (2002). Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Mikrobiyolojide Kullanım Alanları. Kafkas Üniv.Vet.Fak.Derg. 8(1), 71-76.
- Ustaçelebi, Ş. , (1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş.
- Wang, G. , Doyle, M.P. , (1998). Survival of Enterohaemorajik *Escherichia coli* O157:H7 in Water. J.Food Prot. 61 (6), 662-667.
- Weir, E. , (2000). *Escherichia coli* O157:H7. Canadian Medical Association Journal.163 (2).
- Whipp, S.C. , Rasmussen, M.A. , Cray , W.C. , (1994). Animals as a Source of *Escherichia coli* Pathogenic for human beings. JAVMA.204 (8), 1168-1175.
- Yavuz, M. T. , Berktaş, M. , Güdücüoğlu, H., (2002). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Retail Ground Beef, Raw Ground Beef Patties and Raw meat Balls Sold in Van. Eastern Journal of medicine. 5(2), 73-75.



- Yu, H. , Bruno , J.G. ,(1996). Immunomagnetic-electrochemiluminescent Detection of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella typhimurium* in Foods and Environmental Water Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (2), 587-592
- Zadik, P.M, Chapman ,P.A. , Siddons, C.A., (1993). Use of Tellurite for the Selection of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *Journal of Medical Microbiology.* 39(2), 155-158.
- Zhao, T. , Doyle, M.P. , Zhao, P. , (2001). Chlorine Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Water. *Journal of Food Protection.* 64(10), 1607-1609.