

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAYSERİ İLİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİĞ KÖFTELERDE
ENTEROHEMORAJİK *ESCHERİCHIA COLI* O157:H7 SUŞUNUN
VARLIĞI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

144513

Tezi Hazırlayan
Nurhan ERTAŞ

Tezi Yöneten
Yrd.Doç.Dr.Zafer GÖNÜLALAN

Veteriner Fakültesi
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Eylül 2004
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAYSERİ İLİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİĞ KÖFTELERDE
ENTEROHEMORAJİK *ESCHERİCHIA COLI* O157:H7 SUŞUNUN
VARLIĞI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Tezi Hazırlayan
Nurhan ERTAŞ

Tezi Yöneten
Yrd.Doç.Dr.Zafer GÖNÜLALAN

Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma Araştırma Fonu tarafından 02.11.31 nolu proje ile desteklenmiştir.

Eylül 2004
KAYSERİ

Bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

01/09/2004

JÜRİ :

İmza

Üye : Prof. Dr. Osman CEYHAN

Üye : Prof. Dr. Fuat AYDIN

Üye : Yard. Doç. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 22.09.04 tarih ve 315 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

24.09.2004

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞCIOĞLU



ÖZET

KAYSERİ İLİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİĞ KÖFTELERDE ENTEROHEMORAJİK ESCHERİCHIA COLİ O157:H7 SUŞUNUN VARLIĞI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Çalışmada, Kayseri ilinde tüketime sunulan çiğ köftelerde, halk sağlığı bakımından önemli bir risk faktörü olarak kabul edilen *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin varlığı araştırıldı. Bu amaçla 2003 yılının eylül ve kasım ayları içerisinde Kayseri ilindeki 5 farklı perakende satış noktasından, periyodik aralıklarla alınan çiğ köfte numunelerinin mikrobiyolojik olarak incelendi. Mikrobiyolojik analizler sonucunda toplam 100 adet çiğ köfte numunesinin 79'unda 1100 EMS/g'dan fazla, 7'sinde 1100 EMS/g, 6'sında 210 EMS/g, 8'inde ise 3 EMS/g'dan az düzeyde koliform mikroorganizma belirlendi. MUG'lu Lauryl Sulphate Triptose Broth'a (LSTB+MUG) yapılan ekimlerden sonra üreme ve gaz oluşumu gözlenen tüplerin 366 nm dalga boylu U.V. lambası ile yapılan kontrollerinde 100 adet çiğ köfte numunesinin 70'inde fekal *E. coli*'nin varlığı tespit edildi. Sorbitol Mac Conkey Agarda (SMAC) sorbitol negatif olan renksiz kolonilere uygulanan biyokimyasal testler ile lateks aglütinasyon testleri sonucunda, çiğ köfte numunelerinde *E. coli* O157:H7 serotipine rastlanılmadı.

Sorbitol negatif kolonilere gerçekleştirilen biyokimyasal testler sonucunda 100 adet çiğ köfte numunesinin 10'unda *Proteus mirabilis*, 5'inde *P. vulgaris*, 9'unda *Serratia rubidaea*, 6'sında *Hafnia alvei* 5'inde ise *Morganella morganii* varlığı tespit edildi.

Çalışmada, incelenen çiğ köfte numunelerinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 serotipine rastlanmamasına rağmen, numunelerde koliform bakteri ve fekal *E. coli* kontaminasyonlarının yüksek oranda bulunması ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait diğer mikroorganizmalara da rastlanması bakımından çiğ köftenin halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olabileceği belirlendi. Bu nedenle köfte yapımında kullanılacak etlerin seçilmesinden hazırlamasına kadar olan basamaklarda hijyenin önemli olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *E. coli* O157:H7, çiğ köfte, izolasyon, identifikasyon.

ABSTRACT

RESEARCH ON THE EXISTENCE OF ENTEROHEMORRHAGIC ESHERICHIA COLI O157:H7 IN RAW MEAT BALLS PUT ON SALE IN KAYSERI PROVINCE

In the study, we investigated the presence of *Escherichia coli* O157: H7 serotype in cig kofte (raw meat balls) sold in Kayseri. For this purpose, 100 samples of cig kofte which were periodically collected from 5 different retail outlets in Kayseri, were studied microbiologically and biochemically in september and october of 2003. In the study, it was detected as a result of the microbiological examination that coliform leves were over 1100 EMS/g in 79, 1100 EMS/g in 6, 210 EMS/g in 7 and little than 3 EMS/g in 8 out of 100 cig kofte samples. After the cultivation into Lauryl Sulphate Triptose + MUG Broth (LSTB+MUG), the presence of fecal *E. coli* was detected in 70 of 100 raw meat ball samples during the controls of the tubes by U.V. lamp with a wavelenght of 366 nm where reproduction and gas formation was observed. As a result of biochemical tests and latex agglutination tests applied to colonies which were sorbital negative in Sorbitol Mac Conkey Agar (SMCA) , *E. coli* O157:H7 serotype was not detected in cig kofte samples.

The presence of *Proteus miribalis* was detected in 10, *P vulgaris* in 5, *Serriata rubidaea* in 9, *Hafnia alvei* in 6 and *Morgenalla morganii* in 5 samples of cig kofte as a result the biochemical tests applied on sorbitol negative colonies.

Although *E.coli* O157:H7 serotype was not detected in any of the samples of cig kofte studied, the presence of high rates of coliform bacteria and fecal *E.coli* contaminations and the detection of other microorganisms from *Enterobactericeae* family in the samples indicated that cig kofte present an important risk factor for public health. Consequently, it was concluded that they should be prepared meticulously in terms of the hygiene of raw material, additives, personel and marketing conditions.

Key words: *E. coli* O157:H7, cig kofte, isolation, identification.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
KISALTMALAR.....	VI
TABLO LİSTESİ.....	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. ETİYOLOJİ.....	4
2.2. EPİDEMİYOLOJİ.....	11
2.3. YAPTIĞI HASTALIKLAR.....	14
2.4. TEŞHİS VE KORUNMA.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
6. KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BGBB	: Brilliant green bile broth
ECB	: <i>Esherichia coli</i> broth
DAEC	: Diffuz adeziv <i>E. coli</i>
EaggEC	: Enteroaggregatif <i>E. coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EİEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. Coli</i>
HC	: Hemorajik kolitis
HUS	: Hemolitik üremik sendrom
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ S	: Hidrojen sülfür
LDB	: Lysine decarboxylase broth
LSTB	: Lauryl sulphate tryptose broth
MR	: Metil Red
MUG	: 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide
NaCl	: Sodyum klorür
NB	: Nutrient broth
SLT	: Shigella benzeri toksin
SLTEC	: Shigella benzeri toksin üreten <i>E. coli</i>
SMAC	: Sorbitol Mac Conkey agar
TPS	: Tamponlanmış peptonlu su
TTP	: Trombotik trombositopenik purpura
VP	: Voges Proskauer

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1.1. <i>Escherichia coli</i> 'nin bazı serotiplerinin biyokimyasal özellikleri.....	6
Tablo 2.1.2. <i>E.coli</i> O157:H7 serotipinin biyokimyasal özellikleri.....	10
Tablo 2.4.1. <i>E. coli</i> O157:H7 serotipininin farklı ülkelerdeki çeşitli gıdalardan izolasyonu.....	20
Tablo 4.1. En muhtemel sayı (E.M.S.)cetveli.....	27
Tablo 4.2. Çiğ köfte numunelerinde tespit edilen koliform bakteri sayıları.....	28
Tablo 4.3. Çiğ köfte numunelerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	30
Tablo 4.4. Renksiz kolonilerin biyokimyasal test sonuçları.....	33
Tablo 4.5. Çiğ köftede numunelerinden izole edilen <i>Enterobacteriaceae</i> familyasına ait mikroorganizmalar.....	34
Tablo 4.6. <i>Enterobacteriaceae</i> familyasına ait mikroorganizmaların haftalara göre varlığının önemi.....	34

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Genel olarak bir ülkenin et endüstrisi o ülkenin sosyo-ekonomik gelişmişliğinin bir göstergesidir. Endüstrinin gelişmesi ile birlikte ülkelerin ekonomisi de gelişmekte ve bunun paralelinde et ve et ürünlerinin tüketimi artmaktadır. İnsan beslenmesinde hayvansal ürünler oldukça önemli role sahiptir. Hayvansal gıdaların başında da et ve et ürünleri gelmektedir. Yeterli miktarda hayvansal protein tüketen insanlar fizyolojik olarak daha iyi gelişirler, özellikle bebeklerin anne karnında ve doğumdan sonra zihinsel gelişimleri için annenin yeteri kadar hayvansal protein alması zorunludur. Yeteri kadar et ve et ürünü tüketen insanların daha yaratıcı olduğu bilinen bir gerçektir. Ülkemizde et ve et ürünleri genelde kasap dükkanlarında, marketlerde ve hipermarketlerde daha çok parça et ve kıyma olarak satışa sunulmaktadır. Bunun yanında sucuk, salam, pastırma gibi et ürünleri de çok fazla tüketilmektedir. Günlük kullanımda kıyma oldukça yüksek miktarda tercih edilmektedir.

Özellikle Güney Doğu Anadolu bölgesi başta olmak üzere ülkemizin birçok yerinde çiğ köfte sıklıkla ve sevilerek tüketilen geleneksel bir et ürünüdür. Yapımı ve içeriği bölgesel olarak değişiklik göstermekle beraber genelde yağsız sığır kıyması, bulgur ve tat vermek amacı ile belirli oranlarda tuz, soğan, maydanoz, kırmızı biber, karabiber, gibi baharatların domates veya biber salçasının karıştırılarak yoğrulması ile hazırlanarak yapımının hemen sonrasında tüketime sunulmaktadır.

Çiğ köftenin hammaddesi olan kıyma işlenmemiş et ürünlerine göre bozulmaya daha açıktır. Kıymanın bakteriyolojik kalitesi kıyma yapılacak etin bakteriyolojik kalitesine,

üretim sırasında alınacak hijyenik önlemlere bağlıdır. Etin yüzeyinde normal olarak bulunan mikroorganizmalar kıymanın hazırlanmasında özellikle çekme ve karıştırma işlemleri sırasında ürünün her tarafına dağılarak ve uygun koşullarda gelişerek ürünün bozulmasına neden olur.

İnsanların beğeniyle tükettikleri çiğ köfte, hijyenik olmayan koşullarda hazırlandığı durumlarda, bir çok mikroorganizma bulundurmaktadır. Bunlardan en önemlisi fekal kontaminasyonun göstergesi olan *Escherichia coli*'dir. Başta gıda maddeleri olmak üzere insanların kullanımına açık olan materyallerde bu mikroorganizmanın bulunmasına izin verilmez. *Escherichia* grubunda çok farklı serotipler bulunmasına rağmen, bunlardan yalnızca pek azının hastalıklarla ilgili olduğu araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Serotiplerin çoğunluğu konağa adapte özellik göstermektedir. *Escherichia* grubunda yer alan *E.coli* O157:H7 serotipi bugün gıdalarla insanlara bulaşan en önemli patojen mikroorganizmalardan birisi olarak kabul edilmektedir. Bu etken başta yetersiz pişirilmiş hamburger, çiğ köfte, kıyma olmak üzere et ürünleri ile salgınlara ve bireysel hastalanmalara neden olmaktadır. Yine kesimhanelerde derinin yüzülmesi ve iç organlarının çıkarılması sırasında sığır eti kontamine olabilir ve bu kontamine et, kıyma, fermente sucuk, salam gibi ürünler halinde tüketiciye sunularak enfeksiyonların yayılmasına neden olabilir. Et ve et ürünleri dışında bu bakteri kontamine olmuş su ve su kaynakları ile de bulaşarak salgınlara ve ölümlere neden olabilir. Ayrıca çiğ süttten yapılan peynirler, yoğurt gibi süt ürünleri, pastörize olmamış meyve suları da enfeksiyon kaynağıdır. Bu bakterilerle meyve ve sebzelerin kontaminasyonu çiftçilerin gübreleri uygunsuz kullanmaları ve atık suları arazi sulamada kullanmaları ile oluşur. Ancak bu bakteri içme ve kullanma sularının klorlanması ile kolaylıkla ortadan kaldırılabılır. Kontaminasyon kaynağı etkenler gıda bozulmalarına, gıda zehirlenmelerine (intoksikasyonlar) ve gıda kaynaklı hastalıklara (enfeksiyon) neden olmakta ve bunun sonucunda sağlık sorunları ve büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Mikroorganizmalarla kontamine gıdaların çok az tüketilmesi durumunda bile hastalığın çıkma riski vardır. Patojen mikroorganizmaları veya toksinleri yüksek düzeyde içeren gıda maddelerinde etkenin yüksek dozuna rağmen tat, koku ve lezzetinde bir değişiklik olmayabilir. Etkenlerin enfeksiyon dozu mikroorganizmaya ve kişiye göre değişir. Besin kaynaklı hastalıklara: hamile bayanlar, çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıflamış olan insanlar daha çok duyarlıdır.

Genel olarak patojen mikroorganizmaların gıda maddelerinde bulunmaları gastrointestinal kanal hastalıklarının başlıca nedenlerindedir. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi enterohemorajik patojen bir mikroorganizmadır ve şiddetli karın ağrısı ve kanlı sürgün ile karakterize Hemorajik kolit'e (HC) neden olur. HC salgınının birincil sebebi besin kaynaklıdır. Yapılan epidemiyolojik araştırmaların sonucunda gıda zehirlenmelerindeki artışların başlıca nedeni ürünlerin mikrobiyolojik güvenliğinin tam olarak sağlanmamasından kaynaklanmaktadır. Mikroorganizmalar da üreyebilmek ve gelişebilmek için diğer canlılar gibi karbon, azot, mineral ve vitaminlere ihtiyaç duyarlar. Et ve et ürünleri bu açıdan mikroorganizmalar için çok zengin bir besin kaynağıdır. İşlenmiş et ürünlerinde üretim sırasında uygulanan hatalı işlem ve üretim esnasında oluşan kontaminasyonlar, hatalı ısı işlemi ve ısıya dayanıklı toksinlerin üremesi ile gıda zehirlenmeleri oluşmaktadır.

Escherichia coli O157:H7 serotipi fekal kontaminasyonun göstergesi olan koliform Yine gıda maddelerinin üretiminde, ambalajlanmasında ve tüketiminde görev alan insanlar gıda maddelerinin kontaminasyonunda önemli rol oynar. Besin kaynaklı salgınların yaklaşık % 20'si besinlerle temasta olan bireylerin neden olduğu yetersiz personel hijyeninden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle halka açık gıda satışı yapan işletmelerde çalışanların hijyen konusunda eğitilip bilinçlendirilmesi, insanların sağlıklı ve kaliteli gıdalarla beslenmesi oldukça önemlidir.

Pek çok lokanta ve benzeri toplu tüketim yerlerinde çiğ köfteler hijyenik olmayan koşullarda hazırlanmakta ve uzun süre bekletilmektedir. Dolayısı ile çiğ köftenin hijyenik kalitesi, çiğ olarak tüketilmesi nedeni ile çiğ köftenin yapımında kullanılan etin, yardımcı malzemenin ve köfteyi yapan kişinin hijyenik durumundan önemli ölçüde etkilenmektedir. Üretim sırasında personel hijyeninin sağlanmadığı ve köftenin bileşimine giren maddelerin istenmeyen mikroorganizmalarla kontamine olması ve bunların insanlarca tüketilmesi sonucunda gıda enfeksiyon ve intoksikasyonları meydana gelmektedir.

Bu çalışmanın amacı, *E.coli* O157:H7 suşunun Kayseri ilinde sevilerek tüketilen geleneksel bir gıda olan çiğ köftelerde bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır. Bu sayede halk sağlığı açısından önem taşıyan bu mikroorganizmanın çiğ köftelerde varlığının ortaya konulması ve buna paralel olarak alınması gereken tedbirlerin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 ETİYOLOJİ

Yıllardır gıda maddelerinde fekal kontaminasyonun göstergesi olarak kabul edilen *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan koliform grubu bir mikroorganizmadır. Koliform grubu mikroorganizmalara pek çok gıda hammaddesinde rastlanmaktadır. Bunların başında; taze sebzeler, taze yumurta, çiğ süt, kabuklu ve diğer su ürünleri gelmektedir. Gıdalarda koliform mikroorganizmaların bulunması; kötü sanitasyon şartlarının, yetersiz ve yanlış pastörizasyon uygulamalarının, pişirme ve pastörizasyon sonrasında tekrar bir bulaşma olduğunun bir göstergesidir (1-3).

Koliform bakteriler içinde fekal koliform olarak tanımlanan bakterilerin büyük çoğunluğunun *E. coli* olduğu bildirilmektedir ve dolayısıyla *E. coli* bulunan bir örnek direkt veya dolaylı olarak dışkı ile kontamine olmuş kabul edilir (2).

İlk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilen ve önce *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilen *Escherichia coli* 20. yüzyılın ortasına kadar sıcakkanlı hayvanların normal florası olarak kabul edilmiştir. Ancak daha sonra bu etkenin patojenik serotiplerinin ortaya konulması bu bakteriye sadece fekal kontaminasyon kaynağı olarak bakışı değiştirmiştir. Bugün bilinen en önemli gıda kaynaklı patojen *E. coli* 'nin O157:H7 serotipidir. Bu serotip başta hemolitik üremik sendrom (HUS) olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. *E. coli* 'nin önemi

sadece gıda mikrobiyolojisinde lokal kirliliğin belirlenmesindeki kullanımından değil, genetik yapısı en iyi şekilde bilinen canlı türü olmasından dolayı genetik çalışmalarda sıklıkla kullanılmasından ileri gelmektedir (1, 2, 4).

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Escherichia* cinsi içinde en önemli tür *Escherichia coli*'dir. *E. coli* Gram negatif, 2-6 µm boy ve 1-1.5 µm eninde genellikle kısa kalın çomaklar bazen de oldukça uzun filamentler meydana getirebilen, sporsuz, bazı suşları kapsüllü ancak çoğu suşları kapsülsüz, hareketli, fakültatif anaerobik bakterilerdir (2).

Fakültatif anaerobik olan bu enterik mikroorganizma fimbriaları vasıtası ile bağırsak epitel hücrelerine kolonize olur. *E. coli* flagellaları aracılığı ile hareket eder. Flagella, H antijenini oluşturan polarize flegellum proteinlerinden oluşur. *E. coli*'nin dış membranı lipopolisakkaritten yapılmıştır. *E. coli* yapay besiyerlerinde kolay ürer. En iyi üreme derecesi 37 °C'dir, ancak oldukça farklı derecelerde de üremesini sürdürür. Nutrient agar, kanlı agar ve Enterobakterilerin differensiyel ve selektif besiyerlerinde (Mac Conkey, Eosine Methylene Blue agar gibi) 37 °C'de 24 saatte gözle görülebilir hafifçe yüksek, düzgün, parlak, pigmentsiz koloniler oluşturur (S tipi koloniler). Bazı eski kültürlerde kaba, düzensiz koloniler gözlenebilir. (R tipi koloni) Kapsüllü suşlar ise mukoid tip koloniler meydana getirir. (M tipi koloniler). Mac Conkey agarda ve Endo agarda laktozu kullanarak pembe renkli koloniler oluşturur. Eosine Methylene Blue (EMB) agarda laktoz, eozin ve metilen mavisi boyaları bulunur. *E. coli*'nin etkisiyle laktoz parçalanır ve oluşan asit, kolonilerin mavi siyah röfleli görünmesini sağlar. Dolayısıyla koyu, madeni parlaklıkta yeşilimsi renkte metalik röfle veren koloniler oluşturur. Sıvı besiyerlerinde 12-24 saatlik inkübasyon sonucunda homojen bir bulanıklık meydana getirir. Örneğin Nutrient buyyonda 37 °C'de 24 saatlik bir inkübasyon sonucu bulanıklık meydana getirir (1-3, 5, 6).

E. coli laktoz, maltoz, glukoz, mannitol, ksiloz, rhamnoz, arabinozu fermente ederek asit ve gaz oluşturur. Sakkaroz, rafinoz ve gliserine etkisi değişiktir. Dekstrin, nişasta, glikojen ve inositolü fermente etmez. İndol ve Metil Red testleri pozitifdir. Voges Proskauer testi negatifdir, sitrat'lı besiyerlerinde üremez, üreli besiyerlerinde üreyi kullanamadıkları için üreyemez. Genellikle Hidrojen Sülfür (H₂S) gazı oluşturmaz, oksidaz negatifdir, nitratı nitrite indirger (Tablo 2.1.1). *E.coli* fiziksel ve kimyasal etkenlere karşıda oldukça dayanıklıdır. Su, dışkı, hayvan barınakları gibi doğal

koşullarda aylarca canlı kalabilir. Isı ve soğuğa dayanıklıdır. 55°C'de 1 saat ısıtmakla inaktive olmaz. Bazı suşlar pastörizasyon sonunda da aktivitelerini devam ettirmektedirler. Oda ısısında aylarca canlı kalabilirler. Dezenfektanlara, bazı boya maddelerine (Malaşit yeşili, Füksin vb.), safra ve safra tuzlarına. % 7 NaCl'e karşı duyarlıdır. Fenol, kreosol gibi dezenfektanlara direnç gösterirler (2, 3)

Tablo 2.1.1. *Escherichia coli*'nin bazı serotiplerinin biyokimyasal özellikler (1)

<i>Escherichia coli</i>	İn	MR	VP	HS	Or	Hr	Gi	La	Mn	So	LD
<i>Tip I</i>	+	+	-	-	±	+	+	+	+	±	+
<i>Tip II</i>	-	+	-	-	±	+	+	+	+	±	±
<i>E.coli</i> O:157H:7	+	+	-	-	±	+	+	+	+	-	+

İn : İndol ; MR: Metil red ; VP: Voges-Proskauer ; HS Hidrojen sülfür ; Or : Ornithin dekarboksilaz ; Hi: hareket ; Gi : Glikozdan gaz ; La : Laktoz ; Mn : Mannitol ; So : Sorbitol ; LD : Lisin dekarboksilaz

E. coli dışkı içinde bulunan bakteridir. Diğer bağırsak bakterileri gibi çeşitli antijenlere sahiptir. O antijenleri, somatik ve termostabil antijen olup ısıya (100 °C'ye), kaynatmaya ve alkole dayanıklı, formole dayanıksız lipopolisakkarit yapısındadır. Serolojik incelemeler 163 farklı O antijeninin bulunduğunu göstermiştir. H antijenleri, hareketli olan *Escherichia coli*'lerin termolabil kirpik antijenleridir. Protein yapısındadır. Alkol ve proteolitik fermentler ile harap olur. 100 °C'lik ısıya dayanıksız olup formole dayanıklıdır. K antijenleri, kapsül antijeni olup polisakkarit yapısında ve ısıya dayanıklıdır. 10-120 °C'de 1-2 saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilir. Bu antijene sahip bakteriler somatik antiserumları ile aglütinasyon oluşturmaz. K antijenleri L, B, A harfleri ile gösterilen birbirinden farklı olmak üzere üç kısımdır. Bunlardan L ve B antijenleri yüzlek somatik antijenlerdir ve A antijeni ise kapsül antijenidir. Bu antijenler O antijenlerinin aglütinasyonunun meydana gelmesine mani olurlar. L antijeni, yüzlek bir somatik antijeni ya da bir zarf antijeni olup termolabildir. Isıya duyarlıdır. 60 °C'de bile antijenik özelliğini kaybeder. 100 °C'de bir saatte harap olur. L antijenleri genellikle hemolitik ve insanlar için patojendir. L antijeni bulunan bakteriler canlı iken O serumu ile aglütine olmazlar. Ancak 100 °C'de 1-1,5 saat kaynatılırsa aglütine

olurlar. Aglütinasyon granüler tarzdadır. B antijeni, termolabil yüzlek bir O antijenidir ve canlı bakterilerin O serumu aglütine olmasına mani olur. *Escherichia coli*'de B antijeni nadirdir. Ancak çocuklarda görülen gastroenteritis olaylarında hastalık etkeni *E. coli*'lerde sabit olarak bulunurlar. B serumu ile aglütinasyon lam üzerinde veya tüpte yapılır. Aglütinasyonda bakteri kümeleri bir zara benzer. A antijeni, termostabil bir kapsül antijenidir ve ancak 120 °C'de yaklaşık iki saat ısıtmakla harap olur. A antijeni içeren suşların oluşturdukları koloniler beyaz ve büyüktür. Mukoid kolonilere benzerler. Bu antijeni içeren bakteriler kapsüllüdür. A antijeni içermeyen bakteriler ise yassı ve mukoid olmayan koloniler oluştururlar. A antijeni ile aglütinasyon lamda yada tüpte yapılabilir. Vi antijeni, O aglütinasyonuna engel olmaktadır ve 100 °C'de ısıtmakla harap olur. Fimbria antijenleri, etkenin hemaglütinasyon özelliğini belirler ve enteropatojenik *Escherichia coli*'lerde (EPEC) bulunur (2, 5, 6).

E. coli'ler kökenleri, virulans özellikleri, bağırsak mukozası ile ilişkileri, toksin oluşturma yetenekleri, oluşturdukları klinik semptomlar, epidemiyolojileri, O:H serotiplerine göre; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvazif (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difuz-adhering (DAEC), entero-agregatif (EAaggEC) olmak üzere altı ana grup altında toplanmaktadırlar (6, 7).

Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), özellikle sıcak ülkelerde bebeklerde enterit olarak ortaya çıkan hastalığın etkenidir. Aynı zamanda erişkinlerde de seyahat diyaresine neden olmaktadır. Etken salgıladığı ekzotoksinlerle bağırsaktaki salgısal enzimleri uyararak salgısal sürgüne neden olur. Hafif sürgünden klasik kolera tablosuna kadar değişen enteritlere neden olabilir. ETEC'lerde bağırsak epitel hücrelerine yapışmayı sağlayan piluslarındaki antijenik yapılarıdır. Genellikle düşük ateşe neden olabilirler ya da ateş görülmez, bu bakterilerin hastalığa neden olabilmesi için çok sayıda bakterinin vücuda girmesi gereklidir. Bulaşma kontamine yiyecek ve içeceklerle olur (5, 8). EPEC suşları enterotoksin üretmezler. Bu suşlar bir yada daha çok verotoksin üretirler. Sulu ve kanlı bir dışkı görülen ishale neden olurlar. En çok bebekler ve çocuklarda görülen hastalığın etmeni olan EPEC'lerin patogenezi ve sınıflandırılması henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu bakteri günümüzde iyi hijyenik standartlara sahip ülkelerde yaygın olmamakla birlikte gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda görülen ishalin en önemli nedenidir (7, 8).

EAEC grubundaki suşlar tropik ülke çocuklarında süreklilik gösteren diyarelere neden olmaktadır. Virülans faktörü olarak ısıya dirençli enterotoksin içermektedir. DAEC grubundaki suşlar ise yine çocuklarda süreklilik gösteren diyareye neden olurlar. Hücreye adezyon yolu ile yapışırlar. EIEC suşları ise genellikle laktoz negatif ve hareketsizdir. Enterotoksin üretmezler. Sulu, kanlı ve genellikle mukozalı bir diyareye sebep olurlar. Kalın bağırsakta yerleşirler, epitel hücrelerine girerek burada çoğalırlar ve hücreleri öldürürler (9, 10). Hastalığın ilerlemesi sonucunda özellikle çocuklarda HUS görülebilir. Enfektif doz yüksektir. EHEC suşları sulu çoğunlukla kanlı bir diyareye neden olmaktadır. EHEC, Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) ve HUS'un etmenidir. Tüm EHEC suşları, *Shigella* benzeri toksin = Shiga toksin ürettiklerinden STEC olarak anılırlar. STEC grubunun gıda kaynaklı tek serotipi *E.coli* O157:H7'dir. (7, 9, 11),

E. coli O157:H7 içerdiği verotoksinden dolayı virulansı yüksektir. İlk olarak 1975 yılında ve daha sonrada 1978-1982 yılları arasında diyarenin gözleendiği hastalardan Hastalık Kontrol Merkezi tarafından izole ve identifiye edilen *E. coli* O157:H7'nin tam anlamıyla insan patojeni olarak tanımlanması, 1982 yılında Oregon ve Michigan'da yetersiz ısı işlem görmüş kontamine hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan iki adet gastroenteritis salgınında identifiye edilmesi ile ortaya konulmuştur (8). Ancak 1993 yılında Washington, Idaho, Nevada, ve California eyaletlerindeki fast food restoranlardaki yetersiz pişirilmiş hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan toplam 732 kişinin etkilendiği, bunlardan 195'inin tedaviye ihtiyaç duyduğu ve 4 çocuğun da öldüğü salgından sonra *E. coli* O157:H7'den kaynaklanan gıda zehirlenmelerinin önemi de artmıştır. *E. coli* O157:H7 tarafından üretilen toksinler insanlarda kanlı diyare ile seyreden ölümcül hemolitik üremik sendroma neden olabilir (10, 12-14). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 20.000 adet enfeksiyon vakası ve 250 adet HUS ve çeşitli komplikasyonlara bağlı ölümler görüldüğü bildirilmektedir. Daha sonraki birçok çalışmalarda tüm sürgünlerin % 0,008-2,2'sinden, hemorajik kolit olaylarının % 15-50'sinden bu serotipin sorumlu olduğu bulunmuştur (15, 16).

E. coli O157:H7 serotipi genel olarak Kuzey Amerika ülkelerinde daha sıklıkla görülmekle beraber bugün altı kıtada en az 16 ülkede giderek artan sayıda vakaya rastlandığı, genel olarak Mayıs- Ekim aylarında vaka sayısında artış olduğu, hastalığın beş yada daha altındaki çocuklar ile 65 yaş ile daha yukarı yaşlılarda daha çok

görüldüğü bildirilmektedir. Salgınlar birincil olarak besin kaynaklıdır. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının %38-61'i HC'e yol açar. Hemolitik üremi ve TTP-en önemli ve en sık karşılaşılan komplikasyonlardır (5, 13, 15).

E. coli O157:H7 serotipi, patojenitesinde çok önemli role sahip olan üç farklı virülans faktörüne sahiptir. İlk ve klinik olarak en önemli virülans faktör, Stotoksik Shiga-benzeri toksin üreten faktördür (SLT-I ve SLT-II). DNA sekans analizleri ile elde edilen bulgulara göre ana toksin *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından oluşturulan "shiga toxin" ile % 99 gibi çok büyük bir benzerlik gösterir ve bu nedenle "shiga like toxin 1 , SLT-1 (yeni terminolojide Stx 1)" olarak adlandırılır. Diğer toksin Stx 1 ile sadece %55-60 homolog olmasına karşın SLT-2 (yeni terminolojide Stx 2) olarak adlandırılır (4, 5). *E.coli* O157:H7 'nin Shiga-like toksini insan kolon ve onikiparmak bağırsağı için sitotoksiktir. Toksin bağırsakta sıvı birikimine ve kript epitellerinin yıkımı ile kolonik lezyonlara sebep olur. Shiga toksin, 60 S ribozomal alt üniteye sahip N-glikozidik bağlanmayı bölen RNA N- glikosidaz aktivitesi sergileyerek protein sentezini inhibe eder. *E.coli* O157:H7'den diğer bütün *E. coli* türlerindeki alfa hemolizin ile ilgili olarak bir hemolizin antijeni izole edilir. Bu antijen plazmid üzerinde lokalize olan *hly A* geni tarafından kodlanır. Hemolizin antijeni HUS'lu hastaların % 95'inde belirlenmiştir. Enfeksiyonun patogenezisinde hemolizin antijeninin rolü belirsizdir. Sonucu virülans faktör bağırsak yüzeyine kolonize olur ve yapışır (5, 17, 18).

E. coli O157: H7'nin minimum üreme sıcaklığının 8 °C, maximum üreme sıcaklığının ise 44-45 °C (ortalama 37°C) olduğu belirtilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipi diğer *E. coli*'lerden; 44,5 °C ve üzerinde gelişmemesi, sorbitolü fermente edememesi, β-glukorinidaz enzimlerine sahip olmaması ve enterohemolizin üretimi ile ayrılır. *E. coli*'lerin % 95'i sorbitolü 24 saat içinde fermente ederken *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitolü 48 saat içinde fermente edememektedir. Yine *E. coli*'lerin % 97'si β-glukorinidaz enzimi içerirken *E. coli* O157:H7 serotipi β-glukorinidaz enzimi içermez. *E. coli* O157:H7 diğer *E. coli*'lere göre safra tuzlarına daha az dayanıklıdır. Antijenik yapısı ile diğer *E. coli*'lerden ayrılır (2, 4, 5).

E. coli'nin fulorojenik ürünün oluşumuna yol açan 4- methyl umbelliferone glukuronide'i (MUG) hidrolize eden β-glukorinidaz enzim aktivitesine sahip değildir. *E. coli*'nin fulorojenik MUG belirteci *uidA* geni tarafından kodlanan β- glukorinidaz enziminin aktivitesine bağlıdır. EHEC *E. coli* O157:H7'de de bu genin varlığı

gösterilmiş olmakla beraber yapılan araştırmalarda bu serotipte *uidA* geninde birkaç baz mutasyonu olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle *E. coli* O157:H7 serotipinde diğer *E. coli* 'lerde tipik olan MUG reaksiyonu negatiftir (5, 14). *E. coli* O157:H7 serotipi'nin optimum gelişme pH'sı 7,0 iken etken pH 4,5-9,0 aralığında da gelişebilmektedir ve diğer *E. coli*'ler gibi optimum 37 °C'de üreyebilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipinde MUG, H₂S oluşturma, Voges-Proskauer, sorbitol testleri negatif, laktoz ve glukozdan gaz oluşturma, indol, Metil Red, hareket ve lizin dekarboksilaz testleri ise pozitiftir. Tablo 2.1.2'de *E. coli* O157:H7 serotipinin biyokimyasal özellikleri gösterilmiştir (5, 19, 20)

Tablo 2.1.2 *E. coli* O157:H7 serotipinin biyokimyasal özellikleri (1)

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

Çeşitli çalışmalar gıda kaynaklı HC vakalarında anahtar rol oynayan *E. coli* O157:H7'nin aside dirençli olduğunu ve midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesini sağladığını göstermiştir. Etken pH 4.4 ve altındaki asidik gıdalarda 0.95 ve altındaki su aktivitelerinde gelişebilmektedir. Bu bakterinin aside dirençliliği insanlarda enfeksiyon dozunun çok düşük olmasını etkileyen en önemli faktörlerdendir. *E. coli* O157:H7 serotipi pH 1,5'da canlılığını üç saat boyunca koruyabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçebilir. Mayonez,

fermente etler gibi asitli gıdalarda diğer patojenler inhibe olurken *E. coli* O157:H7'nin rahatlıkla gelişmesi için bir avantaj olduğu gösterilmektedir. Bu özelliği ile elma suyu ve geleneksel olarak güvenli kabul edilen fermente et ürünlerinde canlılığını koruyabilmektedir (4, 5, 9, 21, 22).

E. coli O157:H7 serotipinin aside dirençliliği 4 °C'de 'de soğuk depoda uzun süre stabil kalır. Bu durumda sığırların sindirim ve boşaltım sisteminde asit ortama direnç kazanan bu patojenin karkasa bulaşması halinde soğuk depo ortamında canlılığını uzun süre koruyacağı ve etten elde edilecek asitli ürünlerde de ortam sıcaklığı ve diğer koşulların uygun hale gelmesi ile gelişmesini rahatlıkla sürdürebilir. *E. coli* O157:H7 serotipi yüksek tuz konsantrasyonlarına da direnç göstermektedir. Etken kuru ortamda canlılığını uzun süre koruyabilmektedir. (1, 5, 14).

E. coli O157:H7 normal gelişme ısısının birkaç derece fazlasında inkübasyon bırakıldığı bir çalışmada hücrelerin yeni bir grup protein sentezleyerek daha sonra kendileri için öldürücü olabilecek sıcaklıklara daha dirençli hale geldikleri bulunmuştur. Etken düşük pH ve düşük ısılardaki depolamalarda bile canlı kalabildiğinden tavuk eti ve kıymaların dondurularak saklanması patojenin ısıya karşı dayanıklılığını arttırdığı için dondurma ile yıkımlanmadığı ortaya çıkarılmıştır (9, 23, 24).

2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Enterohemorajik *E. coli* O157:H7 önemli bir gıda kaynaklı patojendir. *E. coli* O157:H7 ilk kez 1982 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) hazır yiyecek restoran zincirlerinden kontamine hamburgerlerin tüketilmesi ile ilişkili olarak meydana gelen zehirlenmelerde izole edilmiştir ABD'de en çok 10 yaş ve altındaki çocuklarda tehlikeli olan *E. coli* O157:H7 tarafından meydana getirilen enfeksiyonlar kontamine gıdalar vasıtası ile ve kişiden kişiye kontak yolu ile bulaşmaktadır (13, 14, 21). Vaka sıklığına neden olarak enfektif dozun düşük oluşu gösterilmektedir. Etkenin insanlara geçişi direk olarak hayvanla temas, indirek olarak dışkı ve atıklarla kontamine olmuş gıdalar, çiğ veya az pişmiş gıdalar ve gıdaların hazırlanması sırasında temas edilen araçlar veya eller vasıtasıyla oluşabilen kros kontaminasyonlar ve kişiden kişiye temas aracılığı ile olur. Yine hayvan dışkısı ile kontamine olan su ve toprak da hastalığın taşınmasında önem taşımaktadır (4, 13, 23, 25, 26).

E. coli O157:H7 enfeksiyonlarının önemli bir kaynağı hayvansal orijinli gıdalardır. Bu patojenin geçişindeki başlıca gıdalar; sığır eti ve ürünleri, işlenmemiş süt ve süt

ürünleridir. Kesimhanelerde derinin yüzülmesi ve iç organların çıkarılması sırasında sığır eti kontamine olabilmektedir. Etin kıyılması ve parçalanması sırasında yüzeyden iç kısımlara geçen bakteri yeterli ısı işlemi yapılmadığında canlılığını sürdürebilmekte ve halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır (9, 27, 28). Buna ilaveten yapılan epidemiyolojik araştırmalar enfeksiyonların bölgelerdeki restoranlarda iyi pişirilmemiş etler veya et ürünleri ile ilgili olarak ortaya çıktığı ve sporadik vakalarda enfeksiyonun nadiren identifiye edilebildiği bildirilmiştir. 1982 yılından beri pek çok gıda zehirlenmesi vakalarına neden olan mikroorganizma olarak *E. coli* O157:H7 serotipi izole edilmiştir. Hastalık fast-food lokantalarında satılan iyi pişirilmemiş hamburgerler ile ilişki Et ürünlerinin dışında peynir, çiğ süt, yoğurt gibi süt ürünleri, kontamine içme suları ve su kaynakları, salatalar ve salata sosları, sandviçler, iyi pastörize edilmemiş elma şarabı, enfeksiyon kaynağı olarak gösterilmektedir. Ayrıca Japonya'da turp filizi, Kanada'da nehir suyu, pek çok Avrupa ülkesinde ve ABD'de pastörize edilmemiş elma şarabı elmaların yeterince yıkanmadan ayaküstü büfelerde sıkılarak satılması ile salgınlar ve ölümler meydana gelmektedir. Bulaşma kaynakları ABD ile Avrupa ülkeleri arasında farklılıklar göstermektedir. ABD ve İngiltere'de *E. coli* O157:H7'nin asıl kaynağı hamburger eti ve diğer et ürünleri Avrupa kıtasında keçi sütü, çeşitli peynirler ve kişiden kişiye bulaşmalar daha önemlidir (5, 16, 18, 27,29- 32).

Temmuz 1993'de California'da hamburger yiyerek zehirlendiği belirlenen ve kanlı diyare şikayeti ile hastaneye getirilen 13 yaşındaki bir kız çocuğunda *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu bildirilmiştir. Yine aynı şehirde başka iki olayda 18 yaşındaki kanlı diyare oluşan bir erkek çocuğunda ve 84 yaşında kansız diyare gelişen Diabetus mellitus ve kronik üremili yaşlı bir kadında *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu belirlenmiş ve yapılan araştırmalarda her iki hastanın da hamburger yediği bildirilmiştir (24). Hiçbir hastada HUS gelişmemesine rağmen yaşlı kadının kronik böbrek hastalığından dolayı hastaneye kaldırıldıktan üç gün sonra öldüğü bildirilmiştir (28). New York'ta 1999 yılında bir çocuk kampında dondurulmuş kıymadan kaynaklanan *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu bildirilmiştir. Ayrıca 1994'te fermente salam tüketimine bağlı bir salgında bildirilmiştir (16).

ABD'de 1993 yılında meydana gelen zehirlenme olayında hamburger yiyen 89 kişiden 20'si *E. coli* O157:H7'ye bağlı olarak hasta olmuş ve hastalığın nedeni hamburgerlerin yeterince pişirilmemesi gösterilmiştir (27). *E. coli* O157:H7 gastrointestinal kanalda

ABD’de 1993 yılında meydana gelen zehirlenme olayında hamburger yiyen 89 kişiden 20’si *E. coli* O157:H7’ye bağılı olarak hasta olmuş ve hastalığın nedeni hamburgerlerin yeterince pişirilmemesi gösterilmiştir (27). *E. coli* O157:H7 gastrointestinal kanalda üreyebilir ve canlı kalabilir. Enfeksiyon dozu çok düşüktür ve gastroenteritise neden olur. Dışkı ile atılarak çevreyi kontamine eder (16, 27).

E. coli O157:H7’den kaynaklanan HC ve HUS ortaya çıkması iyi pişirilmemiş etlerin tüketilmesi ile ilişkilidir. Çalışmalar perakende satılan etlerin % 3,7’sinin *E. coli* O157:H7 içerebileceğini göstermektedir. Bu oran diğer gıda kaynaklı patojenlerle karşılaştırıldığında düşük görülebilir ancak *E. coli* O157:H7 serotipinin oluşturduğu hastalığın şiddeti bu patojeni gıda güvenliği hakkında daha önemli yapar (20).

Genç ve sağlıklı sığırlar *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarına karşı oldukça dirençlidirler. Etken diğer hayvanlardan çok ruminantların sindirim kanalına kolonize olur ve burada kalır. Ayrıca etken ruminantlar içinde de süt ineklerinin dışkısında diğer sığırlara göre daha fazla bulunmaktadır (28). *E. coli* O157:H7 serotipinin bulaşmasında en önemli taşıyıcı sığırlardır. Ancak Avrupa’da yapılan çalışmalarda sığır karkasında etkenin yaygınlığının oldukça düşük olduğu ve domuz et ve et ürünlerinde shiga benzeri toksin içerdiği tespit edilmiş ve domuzların da etken için taşıyıcı olabilecekleri belirtilmiştir (29, 30).

Süt sığırlarının dışkısında 10^3 - 10^5 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7’nin aşılma, dışkının 5, 22 ve 37 °C ‘lerde depolandığı bir çalışmada *E. coli* O157:H7’nin 5 °C’de 70 gün canlılığını koruduğu sığır dışkısında 50 günden daha fazla süre içinde halen belirlenebilecek düzeyde kaldığı tespit edilmiştir (5). Bu bulgulara göre sığır dışkısının bu patojenin yayılmasında önemli bir taşıyıcı olarak dışkının sığırlara, gıdalara ve çevreye *E. coli* O157:H7’nin yayılmasında potansiyel bir taşıyıcı olduğunu göstermektedir. Ruminantları beslemede kullanılan silajların yapımı sırasında yetersiz fermantasyonunda *E. coli* O157:H7’nin sayısında artışa ve dolayısı ile bu kontamine silajların bu bakterinin ruminantlar arasında taşınmasında etkili olabileceği belirlenmiştir (5, 14, 33).

Kişiden kişiye bulaşma başka bir enfeksiyon kaynağıdır. Temasla bulaşma sekonder olarak meydana gelir. Sekonder vakalar primer vakaları ve asemptomatik enfeksiyonları takiben bir iki hafta içinde gelişir. Çocuklarda etkenin dışkı ile atılımı 13-17 gün sürer,

Hastalık sezonsal olarak görülür ve en çok yazın ve sonbaharda görülür (16). *E.coli* O157:H7 serotipi tarafından oluşturulan diyarejenik hastalıkların klinik, halk sağlığı ve ekonomik önemleri vardır. ABD Hastalık Kontrol Merkezi tahminlerine göre sadece ABD’de yılda toplam 76 milyon gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalık vakası olmakta ve bunlardan 300,000’i tedavi görürken 500 ölüm olmaktadır ve *E. coli* O157:H7 serotipi 200,000 vaka ve 250 ölümden sorumlu tutulmaktadır(16). Japonya’da 1996 yılının yaz aylarında 16 kişinin ölümüne neden olan salgının etkenini *E. coli* O157:H7 olarak belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları genellikle çok küçük çocukları, yaşlıları ve immun sistemi zayıf olan kişileri etkilemektedir. Hastalar hastalığın ortaya çıkmasından itibaren 10 gün süre ile *E. coli* O157:H7 yayarlar. Bir araştırmaya göre ABD’de bakterili gıdaların yenilmesinden dolayı her yıl 52 kişinin öldüğü gösterilmiştir (5, 22, 35).

2.3. YAPTIĞI HASTALIKLAR

E. coli O157:H7 kaynaklı pek çok gıda zehirlenmesi vakası bildirilmiştir. Bu vakaların sıklığına neden olarak etkenin enfektif dozunun oldukça düşük olması gösterilmektedir. Etkenin 10-100 kadar düşük dozlar ile enfeksiyon oluşabileceğini belirtmektedir (20). Diyareye neden *E. coli* serotipleri içinde en önemlileri *E. coli* O157:H7 ve O126:H11 serotipleridir (5). *E. coli* O157:H7 serotipi ürettiği verotoksinden dolayı, diyare, HC, HUS ve TTP gibi önemli klinik bulguları içeren hastalıklara neden olmasından dolayı diğer pek çok *E. coli* suşuna nazaran insanlar için önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. HC aniden ortaya çıkar ve şiddetli karın ağrısı ve kanlı sürgün ve ateş ile karakterize bir hastalıktır. Hastalık oluştuktan sonra 24-48 saat içinde sulu diyare ile devam eder. Diyare sırasında görülen kan artar ve dışkı zamanla tümüyle kan olur. Kusma nadirdir. Hastalığın inkübasyon süresi 3-9 gündür, hastalık süresi ise 2-9 gündür. Radyolojik ve kolonoskopik incelemelerde kolon mukazasında ödem, erozyon veya hemoraji saptanır. Bağırsak duvarı incelmıştır. Salgınlar birincil olarak besin kaynaklıdır. *E. coli* O157:H7 sporadik diyarel hastalıkların oldukça yaygın bir sebebidir. Çocuk ve yaşlılarda klinik belirtiler ve komplikasyon riski hayli yüksektir (9, 25, 26, 35).

Hastalık genelde bir hafta içinde düzelmesine rağmen hastaların % 5-10’unda hemolitik anemi, trombositopeni ve böbrek yetmezliği ile karakterize olan HUS gelişir. HUS *E. coli* O157:H7 enfeksiyonunun en ciddi sonuçlarından birisidir. HUS *E.coli*

O157:H7 ile enfekte olan hastaların % 2-8'inde gelişmektedir. En yaygın olarak çocuklar etkilenir ve çocuklarda akut böbrek yetersizliğinin yaygın bir sebebidir ve çocukların % 3-5'inde ve 30 yaş üzerindeki kişilerde kalıcı böbrek fonksiyon kaybına neden olabilir. Çoğu kez hastalara diyaliz ve kan nakli gerekebilir ve koma ile karakterize merkezi sinir sistemi hastalıkları gelişir. Hastalarda sarılık, sıklıkla yüksek tansiyon ve kalp yetmezliği de görülebilir. HUS'da tipik olarak 5-10 içinde ilk olarak diyare gelişir ve semptomların gelişmesinden sonra üç gün içinde kusma gelişebilir. HUS'lu hastaların % 8'inde yüksek kan basıncı, körlük, felç gibi komplikasyonlar da oluşabilir (16, 17, 27, 35, 36)

Yaşlı insanlarda HUS ve ateş ile merkezi sinir sistemi bozukluğu semptomları ile seyreden TTP meydana gelir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşur ve genellikle ölüm ile sonuçlanır. Yaşlılarda ölüm oranı % 50'ye kadar yükselir (37, 38).

2.4. TEŞHİS VE KORUNMA

Gıdalar, klinik örnekler ve diğer materyalde *E. coli* O157:H7 belirlenmesine ilişkin pek çok yöntem üzerinde çalışılmaktadır. Bunlardan klasik olarak tanımlananlar biyokimyasal testler üzerine kurulmuştur ve rutin test laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Başta serolojik yöntemler olmak üzere geliştirilmiş testler, öncelikle maliyet ve deneyim faktörleri nedeniyle genellikle araştırma laboratuvarlarında uygulanmaktadır (5).

Gıdalarda bu bakteri sadece aranır, sayısı önemli değildir. Buna göre eğer varsa kaç adet olduğu önemsizdir, var/yok testi ile yapılan analizinde selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, izolasyon, identifikasyon ve serolojik yöntemlerle doğrulama aşamaları vardır. (1)

Gıda maddesinde bulunan diğer refakatçi bakterilerin *E. coli* O157:H7'yi maskeleyebilmesi ve dolayısı ile sahte negatif sonuçlar alınabilmesi nedeni ile analizinde giderek daha duyarlı olan enzimatik, genetik ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır. *E. coli* O157:H7 serotipin standart kültürel yöntemlerle belirlenmesinde ele alınan iki kriter sorbitolü kullanamaması ve MUG reaksiyonunun negatif olmasıdır. Bu iki temel reaksiyon ile katı besiyerinde gelişmiş olan koloniler arasından muhtemel *E. coli* O157:H7 serotipleri seçilebilir (1, 2, 5).

E. coli O157:H7'nin belirlenmesinde önce selektif sıvı besiyerinde zenginleştirme yapıldıktan sonra selektif ve katı besiyerlerine ekim yapılır. Bu amaçla dışkı yada şüpheli marazi maddeden izole edilen *E. coli* O157:H7 serotipinin sorbitol negatif olması nedeni ile bileşiminden laktoz çıkartılmış, yerine sorbitol ilave edilen Sorbitol Mac Conkey (SMAC) agara ekilir ve 37 ° C'de 18-24 saat inkübe edilir. *E. coli* O157:H7 sorbitolü fermente etme yeteneği çok azdır ya da yoktur. Bu serotip SMAC agarda gelişen pozitif koloniler renksiz görülür. Her ne kadar *E. coli* lerin çoğu sorbitolü fermente ederken % 6 kadar *E. coli* sorbitol negatiftir. Bu atipik suşlar da gıdalarda bulunabilmektedir. SMAC agar sorbitol reaksiyonuna dayalı olarak yeterli derecede bir ayırt edici özellik sağlamaktadır. Ancak selektif özelliği zayıftır (20, 24, 34).

HC ve HUS ile ilişkili bazı *E. coli* O157:H7 suşları sorbitolu fermente edebilir ve yanlış negatif sonuçlar verebilir. Bu nedenle her sorbitol negatif *E. coli* suşu O157:H7 serotipi olarak değerlendirilmemeli, basit olarak MUG testi ile izolatan *E. coli* tip 1 olup olmadığı kontrol edilmelidir. Refakatçi flora içinde en yaygın bulunan bakterilerden *E. coli* tip 1, *C. freundii*, *Serratia* spp. sorbitol pozitif iken, *H. alvei* sorbitol negatiftir, *Enterobacter* 'lerde ise sorbitol reaksiyonu türlere göre değişmektedir. *E. hermannii* ve diğer bazı enterik bakteriler biyokimyasal olarak tipik *E. coli* O157 sonuçlarını verirler. Bu nedenle biyokimyasal identifikasyonda dikkatli olunması ve sahte pozitif sonuçlardan sakınılması ve serolojik yöntemlerle doğrulama yapılması gerektiği vurgulanmaktadır. *E. coli* O157:H7'nin sayısı bu flora içinde yeterli bir oranda değil ise de refakatçi flora tarafından baskılanarak ve analiz sonucu hatalı olarak negatif çıkacaktır. Bu durumu engellemek için besiyerine, agarın daha duyarlılığını arttırmak için cefixime, rhamnose ve tellürit gibi ayırıcı maddeler agara ilave edilebilir. Agarın yüzeyindeki şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve latex aglütinasyon testleri ile *E. coli* O157'nin H7 antijeni içerip içermediği belirlenir (5, 17, 39, 40)

İlk kez Feng ve Hartman tarafından 1982 yılında ortaya konulan MUG tekniği. son yıllarda *E. coli* sayımına yeni bir yaklaşım getirmiştir. Bu tekniğin prensibi; doğrudan besiyerinin ilave edilen ya da selektif katkı olarak ilave edilen 4-methyleumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) adlı bileşiğin *E. coli* 'de yapısal bir enzim olarak bulunan β -D-glucuronidase (MUGase, β -GUR) enzimi tarafından 4-methyleumbelliferone adlı fulorojenik bir ürüne dönüşmesi ve bu ürünün de 366 nm uzun dalga boylu ultraviyole ışık altında fuloresan ışımaya vermesi esasına dayanmaktadır. MUG sistemi

kullanıldığında dikkat edilmesi gereken en önemli nokta kendiliğinden fuloresan veren cam tüplerdir. Analiz sonucu negatif olsa dahi bu tür tüplerde pozitifmiş gibi görünmekte ve bu da sahte pozitif sonuçların alınmasına neden olmaktadır. Bunu önlemek için besiyeri tüplere dağıtılmadan önce tüpler UV lamba ile kontrol edilmeli ve böyle tüpler kullanılmamalıdır. MUG negatif *E. coli* O157 izolatlarının verositol toksin pozitif olduğu söylenebilir (5, 41).

E. coli O157:H7 şuşlarının serolojik özelliklerini belirlemede en çok kullanılan test Latex Aglutinasyon testidir. Lateks aglutinasyon doğrulama testi *E. coli* O157:H7 şuşlarının 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 antikoları ile kaplanmış lateks partiküllerinden oluşurken, diğeri ise kontrol solüsyonudur ve pre-immun halde tavşan globülinleri içerir. İzolasyon aşamasında elde edilen sorbitol negatif koloniler lateks aglutinasyon testine tabi tutularak bir dakika içinde etken belirlenebilmektedir. Ancak *E. hermanii* sorbitol negatif olup *E. coli* O157 antiserumu ile aglutine olabilir ve *E. coli* O157 ile karışabilir bu yüzden *E. hermanii*'nin sellübiyozu fermente etme özelliğinden dolayı sellobiyoz Mac Conkey agar *E. hermanii*'nin ayırımında kullanılabilir (5, 40). GLISA (Gold Labelled Immuno Sorbent Assay) testi, gıdalarda *E. coli* O157:H7 aranması ve doğrulanması için immun akış prensibine dayanılarak geliştirilmiş immunolojik bir tarama testidir. Et ve kanatlı eti ürünlerinde *E. coli* O157:H7 aranmasında zenginleştirme besiyeri olarak mEC Broth+novobiosin önerilmektedir. Bu yöntemle tanımlanan *E. coli* O157:H7 'nin doğrulanması için, zenginleştirme kültüründen Fluorocult *E. coli* O157:H7 Agar, Fluorocult HC Agar, CT-SMAC Agar veya SMAC Agar besiyerlerinden herhangi birine sürme yapıp 37 °C' de 18-24 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda 1-5 adet renksiz, şüpheli koloni alınıp 0,2 ml saf su içinde çözüldürüldükten sonra identifikasyon aygıtı ile kontrolü yapıp doğrulanmaktadır (20, 38, 42-44). ELISA etlerde *E. coli* O157'nin varlığını göstermek için gerekli zamanı önemli bir şekilde azaltan hızlı ve güvenilir bir testtir. Gerek ELISA uygulamaları gerek nötralizasyon testleri enfekte olmuş hastaların belirlenmesinde duyarlı değildir. Selektif zenginleştirme kültürünün "sandwich" ELISA *E. coli* O157 antijeni için spesifik bir poliklonal antikor ile uygulanmasıdır. Yüksek düzeydeki spesifikliği, duyarlılığı ve hızlı olmasının yanında bu işlem rutin mikrobiyolojik kontroller için kolay ve uygun bir yöntemdir. Et ve tavuk ürünlerinden *E. coli* O157 antijeni için ticari

olarak bulunan "reactive disc blot" ELISA sisteminin kullanıldığı bir tarama yöntemi de tasarlanmıştır (5, 42)

E. coli O157:H7 'nin zenginleştirme ve katı besiyeri kullanılmadan antikor-direkt epifluorescent filtre tekniği (Ab-DEFT) ile doğrudan sayımı mümkündür. Bu analiz yöntemi ile 15 dakika süre ile tripsin ve Triton X-100 ile muamele edilen kıyma 5 mm por çaplı ön filtreden sonra 0,2 mm por çaplı siyah polikarbonat filtreden geçirilmekte ve son filtre doğrudan fluorescein ile işaretlenmiş anti-O157 poliklonal antikor ile boyanıp yıkanmakta ve epifloresan mikroskopta incelenmekte, böylece 1 saatten daha az bir süre içinde analiz tamamlanmaktadır. *E. coli* O157:H7 varlığı ticari kit olan HEC O157 ELISA ile test edilebilir (5).

İmmünomanyetik ayırım tekniği gıda maddelerinde ve diğer örneklerde mikroorganizmaların aranmasında kullanılan hızlı, yüksek spesifikliğe sahip ve uygulaması basit bir yöntemdir. Bu yöntemin prensibi spesifik immünokimyasal ajanlar (monoklonal, poliklonal ve rekombinant antikorlar) ile kaplanmış manyetize olabilir boncuklar kullanılarak istenen mikroorganizmanın belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemle göre geliştirilmiş, Dynabeads anti *E. coli* O157 kitleri bulunmaktadır (5, 42).

Gelişen teknoloji ile birlikte *E. coli* O157:H7'nin teşhisinde başta DNA esaslı testler ve immünenzimatik yöntemler gibi çeşitli analiz yöntemleri geliştirilmiştir. İmmunoassay, radioimmunoassay, fluorescent immunoassay, enzim immunoassay, immün peroksidaz gibi serolojik testlerle bakterilerin belirlenmesi daha kolay ve daha kısa zamanda gerçekleştirilmektedir. Ayrıca ELISA, latex aglutinasyon, direkt immunofloresan filtre ve immün yakalama teknikleri de *E. coli* O157:H7 analizlerinde kullanılmaktadır. Bu hızlı test yöntemleri dışında DNA problemleri kullanılarak yapılan testler ve *E. coli* suşlarına ait spesifik yapısal veya toksin proteinlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılarak elektroforez işlemi ile tespit edilmesi esasına dayalı yöntemler de bulunmaktadır. Ancak bu yöntemler henüz gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılmamaktadır (5).

E. coli O157:H7'nin gıda maddelerinde yaygınlığını ortaya koymak amacı ile çeşitli ülkelerde farklı gıda maddelerinde ve ilişkili materyalde araştırmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda özellikle çiğ et ve çiğ süt gibi hayvansal orijinli gıdalarda

etkenin izole edilebildiği aktarılmaktadır. Et ve et ürünlerinde yapılan çeşitli çalışmalar *E. coli* O157:H7 yaygınlığının genellikle düşük olduğunu ortaya koymaktadır(1)

Doyle ve Schoeni (26) çeşitli kasaplık hayvan etleri ve kanatlı etlerinde yaptığı araştırmada % 1,5-3,7 arasında değişen oranlarda etken izole ettiklerini bildirmişlerdir

Mısır'da yapılan bir çalışmada Abdul-Raouf ve ark. (38) çeşitli gıdalarda *E. coli* O157:H7 araştırmışlardır. Buna göre mezbaha, süper market ve çiftliklerden alınan 50 sığır eti kıymasının 3'ünde (% 6,0), 50 tavuk eti kıymasının 2'sinde (% 4), etkeni saptamışlardır.

Olivera ve Tatjana (18) İnceledikleri 65 kıyma numunesinin sadece 1'sinde O157 serogrubu izole etmişlerdir.

Ülkemizde, Gönül (33) 20 çiğ süt numunesinde *E. coli* O157:H7 serotipini araştırmışlar ancak etkeni izole edememişlerdir. *E. coli* O157:H7 serotipinin çeşitli ülkelerdeki gıda maddelerindeki varlığı tablo 2.4.1'de gösterilmektedir.

Etken yüksek ısıya duyarlı olduğu için, gıda maddelerinin etkenin ölmesi için önerilen ısıda pişirilmesi ile *E. coli* O157:H7'nin inaktivasyonu sağlanabilir. Etin parçalanması ve kıyılması sırasında etin yüzeyinden iç kısımlarına geçen bakteri yeterli ısı işlemi uygulanmadığı takdirde canlılığını sürdürmekte ve halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü haline gelebilmektedir. Bu yüzden et ve et ürünlerinde uygulanan ısı işlemi ürünün her yerinde 70 °C ve üzerinde olması, etin pembe rengini kaybolup gri kahverengiye dönüşmesi ve et suyunun tamamen uzaklaşması ile yeterli pişirme sağlanabilmektedir (5, 43).

Tablo 2.4.1. *E. coli* O157:H7 serotipininin farklı ülkelerdeki çeşitli gıdalardan izolasyonu (35)

Ülke	İnek sütü (%)	Koyun sütü (%)	Keçi sütü (%)	İnek eti (%)	Sosis (%)	Hamburger (%)
Arjantin				3.8	4.8:3,3	0,0
Avusturya	3,0					
Brezilya						0,0
Kolombiya						8,7
Danimarka				0.3		
Mısır	6,0			6.0		
Fransa					0,4	
Almanya	0,3					
Yunanistan	0,0		1,0	0.0	1,3	0,0
Hollanda	0,0			1.1		
İsviçre				0,0		
UK	0,0	0,0	0,0	1.1	4,1	3,7

Çiğ sütteki *E. coli* O157:H7 pastörizasyon ısısı ile inaktive olabilmektedir. Bu bakteri ışınlamaya da duyarlıdır, dondurulmuş, pişirilmemiş et ve et ürünlerine iyonize ışınlarının uygulanması ile gıda kaynaklı hastalıkların düzeyleri azaltılabilir. Işınlama gıda maddelerinde bir hijyen güvencesi sağlamaktadır. Ancak etkenin aside direnç kazanması ışınlamaya da direnç kazanmasını sağlamaktadır (5, 33).

ABD'deki Gıda Güvenlik ve Denetim Servisi *E. coli* O157:H7'nin iyonize ışınlarla pişirmeksizin etkili bir şekilde elimine edilebileceğinden dolayı gelecekte sığır etinin yüzeyinin büyük ölçüde ışınlanabileceğine inanmaktadır. Sığır etlerinin ışınlanmasında ışınlanmamış etlerde olduğu gibi etin tadında ve besin değerinde herhangi bir değişiklik olmaz. Işınlama yöntemi ile hastalık etkeni elimine edileceğinden hem sağlık hem de ekonomik açıdan yararlıdır. *E. coli* O157:H7'nin inaktivasyonu için çeşitli kimyasallar denenmektedir. bu kimyasallardan klor sular için etkili olabilmekte, yağlı ve yağsız sığır etleri için hidrojen peroksit etkili olmaktadır. Yine et endüstrisinde emülsifer olarak kullanılan monolaurin ve baharat ekstraktı olan eugenol inaktivasyonda etkili bileşiklerdir (5, 19).

Sağlıklı insanlarda normal flora olarak bulunan mikroorganizmalar da gıda maddeleri için bulaşma kaynağıdır. Üstelik kişinin hastalıklı olması durumunda bu etkenlere hastalık etmeni olan patojen mikroorganizmalarda eklenmektedir. (5, 44, 45).

Gıdaların taşınmasında kullanılan kaplar içerisine konulan hayvansal ve bitkisel gıdaların yüzeyinde bulunan mikroorganizmalarla kontamine olurlar. Bu nedenle gıda işletmelerinde çalışan işçilerin beyaz iş giysileri giymeleri, ağız ve saçların bir bone ile kapatılması, el ve tırnak temizliğine özen gösterilip, eldiven giyilmesi, ve işçilerin sanitasyon hakkında bilinçlendirilmesi ile gıda kaynaklı enfeksiyonların bulaşma riskinin azaltılacağı göz önüne alınmalıdır. Ellerde ki kalıcı flora derinin üstünde yada içinde yerleşir ve Streptokok ve Stafilokoklardan oluşmaktadır. Geçici flora ise el epitelinin üstünde bulunur ve ellerin su ve sabunla yıkanması ile yok edilebilir ve bu flora içerisinde en başta *E. coli* olmak üzere Gram negatif bakteriler bulunur. Bu açıdan ellerin çiğ gıdalara değmeden önce ve sonra yıkanması hastalığın önlenmesinde oldukça önemli bir faktördür (11, 14, 24, 44, 46).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.İZOLASYON MATERYALİ

Bu çalışma için Kayseri ilindeki 5 farklı perakende satış noktasından Eylül ve Kasım 2003 tarihleri arasında, iki haftalık periyodik aralıklarla 20'şer adet olmak üzere toplam 100 adet çiğ köfte numunesi alınarak steril koşullar altında ve soğuk zincirde laboratuara götürüldü. Aynı gün *E. coli* O157:H7 serotipinin izolasyon ve identifikasyonu için analiz işlemlerine başlandı.

3.2.BESİYERLERİ

3.2.1. Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) (Oxoid CM509) : *E coli* O157:H7 serotipinin izolasyonunda kullanılan ön zenginleştirme besiyeridir. Zenginleştirme besiyeri kullanılmasındaki amaç diğer refakatçi floranın baskılanmasını sağlamak ve *E. coli* O157:H7 serotipinin üremesi için uygun bir ortam sağlamaktır (2).

3.2.2. MUG Lauryl Sulphate Tryptose Broth (acumedia) : β -Glucuronidase aktivitesi belirlemek amacı ile kullanılan methyl-umbellipherylglucuronidase katkılı zenginleştirme besiyeridir (5, 6).

3.2.3. Brilliant Green Bile Broth (BGBB) (acumedia): Koliform grubu mikroorganizmaların izolasyonunun doğrulanmasında kullanıldı (6).

3.2.4. Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) (LabM) : *E. coli* O157:H7 serotipinin izolasyonu için kullanılmıştır (5).

3.2.5. EC Broth (acumedia): Alınan numunelerde *E. coli* O157:H7'nin izolasyonun doğrulanmasında kullanılmıştır (6).

3.2.6. Nutrient Broth(acumedia) : Alınan numunelerde *E. coli* O157:H7'nin üretilmesi için kullanılan genel bir besiyeridir (2).

3.2.7. Metil Red-Voges Proskauer Besiyerleri : İzole edilen etkenlerinin Metil Red ve Vagos Proskauer testleri için kullanılmıştır (1, 2).

3.2.8. Üre agar: İzole edilen etkenin üreaz testi için kullanılmıştır (2).

3.2.9. Dekarboksilaz Besiyeri: *E. coli* O157:H7 serotipinin identifikasyonunda kullanılan dekarboksilaz testi için kullanılmıştır (2).

3.2.10. *E. coli* O157:H7 Latex Agglütinasyon kiti (Oxoid DR620M): Latex agglütinasyon testi için kullanılmıştır (5).

3.2.11. Referans Suş : İzolasyon ve identifikasyonun çalışmalarının her aşamasında *E. coli* O157:H7 (NCTC-12900) kontrol suşu kullanılmıştır.

3.3. İZOLASYON ÇALIŞMALARI

3.3.1. Gıda maddelerinin toplanması ve dilüsyonlarının hazırlanması: *E. coli* O157:H7 suşunun izolasyonu amacıyla Kayseri ilinde bulunan çeşitli işletmelerden toplam 100 çiğ köfte numuneleri toplandı. Numuneler steril bir stomacher torbasına 25 gram olacak şekilde tartıldı. Daha sonra tartılan numune üzerine 225 ml tamponlanmış peptonlu su ilave edilerek stomacher'de 2 dakikalık homojenizasyon işlemine tabi tutuldu. Homojenize olan numune 37 °C'de 1-3 saat etüvde inkübasyona bırakılarak ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirildi. Bu süre sonunda ön zenginleştirme besiyerinden 1 ml alınıp 9 ml fizyolojik tuzlu su çözeltisi içeren tüpe aktarılarak ana dilüsyon hazırlandı. Daha sonra 10⁻³ basamağına kadar numunelerin diğer dilüsyonları yapıldı. Numunenin hazırlanıp dilüsyonlarının yapılmasından sonra, ardışık 3 dilüsyondan 3'er adet MUG'lu LST broth besiyerine 1'er ml ekim yapıldı ve tüpler 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda gaz oluşan ve üreme olan LSTB'lu tüpler koliform pozitif olarak değerlendirildi ve 10⁻¹ , 10⁻² , 10⁻³ 'lük dilüsyonlarından oluşan test tüplerindeki gaz oluşumu ve üremelere göre EMS tablosundan yararlanılarak

koliform sayısı belirlendi. Gaz oluşumu gözlenen LSTB tüplerinden 10'ar ml Brilliant Green Bile Broth (BGBB) içeren tüplere 1'er öze dolusu ekim yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda gaz teşekkül eden 3 tüp dilüsyonlarından oluşan test tüplerinde yine EMS tablosuna bakılarak en muhtemel koliform bakteri sayısı hesaplandı. BGBB ortamında gaz oluşumu, doğrulama deneyi olarak değerlendirildi. Üreme ve gaz oluşan LST+MUG 'lu tüpler UV lambasında incelendi. Röfle verenler muhtemelen *E. coli* olarak değerlendirildi. Burada pozitif sonuç veren tüplerden, EC Broth besiyerine ekim yapıldı ve 37°C'de 24-48 inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda tüplerde üremenin ve gaz oluşumunun görülmesi ile fekal *E. coli* 'nin varlığı doğrulandı (47).

3.3.2. *E. coli* O157:H7 serotipinin İzolasyonu: Çiğ köfte numunelerinde izolasyon amacı ile SMAC agara yayma metodu ile paralel ekimler yapıldı. Selektif zenginleştirme kültürünün 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} 'lük dilüsyonlarının her birinden bir öze dolusu alınarak SMAC besiyerine seyreltme yöntemi ile ekildi. 35- 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinde soluk pembe veya renksiz koloniler *E. coli* O157:H7 şüpheli olarak değerlendirildi ve şüpheli koloniler iğne uçlu öze ile Nutrient Broth'a inokule edildi. 44 °C'de 18 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme olan tüpler için identifikasyon testleri uygulandı (47).

3.4. İDENTİFİKASYON ÇALIŞMALARI

İnkübasyon sonrasında üreme olan Nutrient Broth'lu tüplerdeki kültürlerden Gram boyama yapıldı ve mikroskop altında incelendi.

3.4.1. Gram Boyama: İncelenecek olan kültürden bir öze dolusu lam üzerine aktarıldı ve lamın üzerine ince bir film tabakası halinde yayıldı. Havada iyice kurutuldu ve lamın alt yüzü üç kez alevden geçirilerek bakterilerin tespiti yapıldı. Gram boyama yapmak için hazırlanmış preparatın üzerine kristal viyole boyası veya metilen mavisi damlatılıp 3-4 dakika beklendi ve distile su ile yıkanarak kristal viyole uzaklaştırıldı. Preparata iyot-lugol çözeltisi damlatılarak 1-2 dakika bekletildi, distile su ile yıkanarak iyot-lugol çözeltisi uzaklaştırıldı. Preparatın üzerine % 96'lık etil alkol damlatılarak 10 saniye beklendi, distile su ile yıkandı ve safranin damlatılarak 20-30 saniye bekletildi. Preparat distile su ile yıkanarak kurutuldu. Preparata immersiyon yağı damlatıldı ve 100'lük objektifle incelendi. pembe-kırmızı renkli bakteriler Gram negatif olarak değerlendirildi (1, 2).

3.4.2. Hareket Testi: Normal bir lam üzerine, 2–3 öze dolusu bakteri kültürü aktarıldı. Lam üzerindeki bu kültür sıvısının kenar kısmından, yaklaşık 45 °'lik bir eğimle bir lamel temas ettirilerek yavaşça lam üzerine kapatıldı. Bu aşamada lam ile lamel arasında meydana gelebilecek hava kabarcıklarının engellenmesine dikkat edildi. Hazırlanan preparatta, lamel üzerine immersiyon yağı damlatılarak hemen, mikroskopta 100 'lük objektif ve kondansatör açıkken veya 40'lık objektifte kondansatör kapalı iken incelendi. Hareket pozitif kültürlerle diğer biyokimyasal testler uygulandı (2).

3.5. BİYOKİMYASAL TESTLER

E. coli O157:H7 serotipinden şüpheli kültürlerin biyokimyasal özelliklerini belirlemek için; karbonhidrat fermantasyon testleri, indol, Metil Red- Voges Proskauer, üre, lizin dekarboksilaz, hidrojen sülfür, sitrat kullanım testleri uygulandı.

Latex Aglütinasyon Testi: İndol testi pozitif olan, sorbitolu fermente etmeyen, β -glucuronidase negatif kolonilere Latex Aglütinasyon testi uygulandı (5). Latex aglütinasyon kiti oda sıcaklığına getirildikten sonra latex süspansiyonu güçlü bir şekilde karıştırılarak çalkalandı. Reaksiyon kartında yer alan dairelerinden biri test diğeri kontrol dairesi olarak belirlendi. Bu dairelere birer damla fizyolojik tuzlu su (FTS) damlatıldı. Steril öze yardımıyla SMAC'da tespit edilen şüpheli renksiz kolonilerden 2-5 adet alındı. Test ve kontrol halkasındaki FTS içinde partikül kalmayacak şekilde süspansiyon edildi. Her iki dairedeki kültür ayrı bir öze ile karıştırıldı. Test halkasının bulunduğu kısma bir pipet yardımı ile bir damla latex süspansiyonu, kontrol halkasının bulunduğu kısma ise bir damla kontrol latex süspansiyonundan damlatıldı. Her iki halka içinde yer alan karışım öze yardımıyla 60 saniye boyunca dairesel olarak karıştırıldı. Süre içinde test halkasında aglütinasyon oluşturan suş *E. coli* O157:H7 olarak değerlendirildi (32).

İSTATİSTİK METOT

Çalışmada numunelerin alındığı haftalarda *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmaların varlığı significant test ile değerlendirildi. Numunelerin alındığı haftalara göre mikroorganizma varlığının belirlenmesinde ise kikare (X^2) testi kullanıldı (48).

4. BULGULAR

Çalışmada, 5 farklı yerden alınan yüz adet çiğ köfte numunesi paralelli olarak ön zenginleştirmeleri yapıldıktan sonra, MUG'lu LSTB besiyerinin bulunduğu 3'er adet tüpe 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} 'lük dilüsyonlarının ekimi yapıldı. İnkübasyon süresi sonunda numunelerde tespit edilen koliform mikroorganizma sayıları, tüplerde meydana gelen bulanıklık ve gaz oluşumuna göre en muhtemel sayı (EMS) tablosu ile (Tablo 4.1) değerlendirildi. Toplam yüz adet çiğ köfte numunesinin 79'unda 1100 EMS/g'dan fazla, 7'sinde 1100 EMS/g, 6'sında 210 EMS/g, 8'inde ise 3 EMS/g'dan az düzeyde koliform mikroorganizma belirlendi (Tablo 4.2). Koliform bakterilerin varlığını doğrulamak için bulanıklık ve gaz oluşumu pozitif olan MUG'lu LSTB'lardan BGGBB içeren tüplere ekimler yapıldı. MUG'lu LSTB besiyerine yapılan ekimlerden sonra üreme ve gaz oluşumu gözlenen tüpler 366 nm dalga boyuna sahip U.V. lambası ile metalik mavi röflenin varlığı yönünden incelendi. Metalik mavi röfle veren tüpler fekal *E. coli* pozitif olarak değerlendirildi. İncelenen 100 adet çiğ köfte numunesinin 70 adedinde fekal *E. coli*'nin varlığı belirlendi. *E. coli* varlığının doğrulaması için bulanıklık ve gaz oluşumu pozitif MUG'lu LSTB'lardan E.C. broth içeren tüplere ekimler yapıldı. Çiğ köfte numunelerinden *E. coli* O157:H7'nin izolasyonu için, bulanıklık ve gaz oluşumu pozitif olan MUG'lu LSTB'lardan SMAC agara yayma metodu ile paralel ekimler yapıldı. 35-37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinde soluk pembe veya renksiz koloniler *E. coli* O157:H7 yönünden şüpheli olarak değerlendirildi ve şüpheli koloniler iğne uçlu öze ile Nutrient Broth'a geçildi.

44°C'de 18 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme olan tüplere, Gram boyama, hareket muayenesi, karbonhidrat fermantasyon, indol, Metil Red, Voges Prouskauer, üre, katalaz, lizin dekarboksilaz testleri uygulandı.

Sorbitol negatif, indol pozitif sonuç veren kolonilere lateks aglütinasyon testi uygulandı. Lateks aglütinasyon testi sonucunda analizi gerçekleştirilen çiğ köfte numunelerinde *E. coli* O157:H7 serotipine rastlanılmadı. Sorbitol negatif ve indol pozitif sonuç veren kolonilere uygulanan diğer biyokimyasal testler sonucunda, 10 adet çiğ köfte numunesinde *Proteus mirabilis*, 5'inde *P. vulgaris*, 9'unda *Serratia rubidaea*, 6'sında *Hafnia alvei* ve 5'inde ise *Morganella morganii*'nin varlığı belirlendi.

Tablo 4.1. En Muhtemel Sayı Cetveli (47)

Pozitif Tüpler				% 95 Güvenlik Sınırı	
0,1	0,01	0,001	EMS/gr	Alt Sınır	Üst Sınır
0	0	0	<3	-	
0	1	0	3+	<1	17
1	0	0	4	<1	21
1	0	1	7+	2	27
1	1	0	7	2	28
1	2	0	11+	4	35
2	0	0	9	2	38
2	0	1	14+	5	48
2	1	0	15+	5	50
2	1	1	20+	7	60
2	2	0	21	8	62
3	0	0	23	9	130
3	0	1	39	10	180
3	1	0	43	10	210
3	1	1	75	20	280
3	2	0	93	30	380
3	2	1	150	50	500
3	2	2	210	80	640
3	3	0	240	90	1400
3	3	1	460	100	2400
3	3	2	1100	300	4800
3	3	3	> 1100		

Tablo. 4.2. Çiğ köfte numunelerinde tespit edilen koliform bakteri sayıları

Numune	Pozitif tüpler / 3 tüp				Numune	Pozitif tüpler / 3 tüp			
	0.1	0.01	0.001	EMS		0.1	0.01	0.001	EMS
1	3	3	2	1100	31	3	3	3	> 1100
2	3	3	3	> 1100	32	3	3	3	> 1100
3	3	3	3	> 1100	33	3	3	3	> 1100
4	3	3	3	> 1100	34	3	3	3	> 1100
5	3	3	2	1100	35	3	3	3	> 1100
6	3	3	3	> 1100	36	0	0	0	< 3
7	3	3	3	> 1100	37	3	3	3	> 1100
8	3	2	2	210	38	3	3	3	> 1100
9	3	3	2	1100	39	3	3	3	> 1100
10	3	3	3	> 1100	40	3	2	2	210
11	0	0	0	< 3	41	3	3	3	> 1100
12	3	3	2	1100	42	3	3	3	> 1100
13	3	3	3	> 1100	43	3	3	3	> 1100
14	3	3	3	> 1100	44	3	3	3	> 1100
15	3	3	3	> 1100	45	3	3	3	> 1100
16	0	0	0	< 3	46	3	3	3	> 1100
17	3	2	2	210	47	3	3	3	> 1100
18	3	3	3	> 1100	48	3	3	3	> 1100
19	3	3	3	> 1100	49	3	3	3	> 1100
20	3	3	3	> 1100	50	3	3	3	> 1100
21	3	3	3	> 1100	51	3	3	3	> 1100
22	3	3	3	> 1100	52	3	3	3	> 1100
23	0	0	0	< 3	53	3	3	3	> 1100
24	3	3	3	>1100	54	3	3	3	> 1100
25	3	2	2	210	55	3	3	3	> 1100
26	3	3	3	> 1100	56	3	3	3	> 1100
27	3	3	3	> 1100	57	3	3	3	> 1100
28	3	3	3	> 1100	58	3	3	3	> 1100
29	3	3	3	> 1100	59	3	3	3	> 1100
30	3	3	3	> 1100	60	3	3	3	> 1100

Tablo. 4.2. 'nin devamı

Numune	Pozitif tüpler / 3 tüp				Numune	Pozitif tüpler / 3 tüp			
	0.1	0.01	0.001	EMS		0.1	0.01	0.001	EMS
61	3	3	3	> 1100	81	3	3	3	> 1100
62	3	3	3	> 1100	82	3	3	3	> 1100
63	3	2	2	210	83	3	3	3	> 1100
64	3	3	3	> 1100	84	3	3	3	> 1100
65	3	3	3	> 1100	85	3	3	3	> 1100
66	3	3	3	> 1100	86	3	3	2	1100
67	3	3	3	> 1100	87	3	2	2	210
68	0	0	0	< 3	88	3	3	3	> 1100
69	3	3	3	> 1100	89	3	3	3	> 1100
70	0	0	0	< 3	90	3	3	3	> 1100
71	3	3	3	>1100	91	3	3	3	> 1100
72	3	3	3	>1100	92	0	0	0	< 3
73	3	3	2	1100	93	3	3	3	> 1100
74	3	3	3	> 1100	94	3	3	3	> 1100
75	3	3	3	> 1100	95	3	3	3	> 1100
76	3	3	3	> 1100	96	3	3	2	1100
77	0	0	0	< 3	97	3	3	3	> 1100
78	3	3	3	> 1100	98	3	3	3	> 1100
79	3	3	3	> 1100	99	3	3	3	> 1100
80	3	3	3	> 1100	100	3	3	3	> 1100

Tablo 4.3. Çiğ köfte numunelerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları

Numuneler	MUG'lu LSBT Üreme+ Gaz	MUG reaksiyonu	BGBB Üreme+Gaz	ECB Üreme+Gaz	SMAC Üreme
1	+	-	+	+	+
2	+	+	+	-	+
3	+	+	+	-	-
4	+	+	+	+	-
5	+	-	+	+	+
6	+	-	+	+	+
7	+	+	+	+	-
8	+	+	+	+	-
9	+	+	+	+	-
10	+	+	+	+	-
11	-				
12	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+
14	+	-	+	+	-
15	+	+	+	+	+
16	-				
17	+	+	+	+	-
18	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	-
21	+	+	+	+	-
22	+	-	+	+	+
23	-				
24	+	+	+	+	-
25	+	+	+	+	-
26	+	+	+	+	-
27	+	+	+	+	-
28	+	+	+	+	-
29	+	-	+	+	+
30	+	+	+	+	-
31	+	+	+	+	-
32	+	-	+	+	-
33	+	+	+	+	-
34	+	-	+	+	-
35	+	+	+	+	+

Tablo 4.3.'ün devamı

Numuneler	MUG'lu LSTB Üreme+ Gaz	MUG reaksiyonu	BGBB Üreme+Gaz	ECB Üreme+Gaz	SMAC Üreme
36	-				
37	+	+	+	+	+
38	+	+	+	+	-
39	+	-	+	+	+
40	+	+	+	+	-
41	+	+	+	+	+
42	+	+	+	+	-
43	+	+	+	+	-
44	+	+	+	+	+
45	+	-	+	+	-
46	+	+	+	+	+
47	+	+	+	+	-
48	+	-	+	+	-
49	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	-
51	+	-	+	+	-
52	+	+	+	+	+
53	+	-	+	+	-
54	+	+	+	+	+
55	+	+	+	+	-
56	+	-	+	+	-
57	+	+	+	+	-
58	+	+	+	+	+
59	+	+	+	+	-
60	+	+	+	+	-
61	+	+	+	+	+
62	+	+	+	+	-
63	+	+	+	+	+
64	+	+	+	+	-
65	+	+	+	+	-
66	+	+	+	+	+
67	+	+	+	+	-
68	-				
69	+	+	+	+	-
70	-				

Tablo 4.3.'ün devamı

Numuneler	MUG'lu LSTB Üreme+ Gaz	MUG reaksiyonu	BGBB Üreme+Gaz	ECB Üreme+Gaz	SMAC Üreme
71	+	+	+	-	+
72	+	-	+	-	-
73	+	+	+	-	-
75	+	-	+	-	-
76	+	+	+	-	-
77	-				
78	+	+	+	+	-
79	+	-	+	+	-
80	+	+	+	+	+
81	+	+	+	+	-
82	+	-	+	+	+
83	+	+	+	+	+
84	+	+	+	+	+
85	+	+	+	+	-
86	+	+	+	+	+
87	+	-	+	+	+
88	+	+	+	+	-
89	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	-
91	+	+	+	+	+
92	-				
93	+	+	+	+	-
94	+	+	+	+	-
95	+	+	+	+	-
96	+	-	+	+	+
97	+	+	+	+	-
98	+	+	+	+	-
99	+	+	+	+	-
100	+	+	+	+	-

Tablo 4.4. Renksiz kolonilerin biyokimyasal test sonuçları

Numuneler	Hr	İn	MR	VP	H ₂ S	Si	Ma	Gl	La	So	Ür	LD
1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
2	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
6	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
12	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
13	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
15	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
18	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
19	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
22	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
29	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
35	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
37	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
39	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
41	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
44	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
46	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
49	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
52	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
54	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
58	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
61	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
63	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
66	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
71	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
80	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
81	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
82	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
83	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
84	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
86	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
89	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
91	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
96	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-

Hr : hareket İn : İndol , Mr : Metil red , VP : Voges-Proskauer , H₂S: Hidrojen sülfür ,Si: Sitrat Kullanımı;
Ma : Mannitol, Gl : Glikozdan gaz , La : Laktöz , So : Sorbitol , Ür: Üre. LD : Lisin dekarboksilaz,

Tablo 4.5. Çiğ köftede numunelerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmalar

Numunenin alındığı haftalar	Numune sayısı	İzole Edilen Mikroorganizma		
		Türü	Sayısı	Yüzde Oranı (%)
1. Hafta	25	<i>Proteus mirabilis</i>	4	16
		<i>Serratia rubidaea</i>	3	12
		<i>Proteus vulgaris</i>	2	8
		<i>Hafnia alvei</i>	1	4
3. Hafta	25	<i>Morganella morganii</i>	3	12
		<i>Proteus mirabilis</i>	2	8
		<i>Serratia rubidaea</i>	1	4
		<i>Hafnia alvei</i>	2	8
5. Hafta	25	<i>Proteus mirabilis</i>	2	8
		<i>Proteus vulgaris</i>	3	12
		<i>Serratia rubidaea</i>	2	8
		<i>Hafnia alvei</i>	2	8
7. Hafta	25	<i>Morganella morganii</i>	2	8
		<i>Proteus mirabilis</i>	2	8
		<i>Serratia rubidaea</i>	3	12
		<i>Hafnia alvei</i>	1	4
Toplam 100			35	

Çalışmada işletmelerden alınan numunelerdeki *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmaların varlığı istatistiksel açıdan önemli bulunurken ($P < 0.05$), haftalara göre aynı mikroorganizmaların varlığı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır ($P > 0.05$).

Tablo 4.6. *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmaların haftalara göre varlığının önemi

Numunelerin alındığı haftalar	Mikroorganizma		Toplam
	Var	Yok	
1. Hafta	10	15	25
3. Hafta	8	17	25
5. Hafta	9	16	25
7. Hafta	8	17	25
Toplam	35	65	100

$$\chi^2 = 0,84$$

$$P > 0,05$$

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

E. coli O157:H7, *E. coli*'nin özel bir serotipidir. Bugün için dünyada üzerinde en çok araştırma yapılan gıda kaynaklı patojen olan *E. coli* O157:H7 serotipi özellikle çocuklarda ve yaşlılarda ölüme kadar giden çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Bu serotip nedeniyle meydana gelen gıda zehirlenmeleri ve ölümlerden dolayı bütün dünyada etkenin önemi oldukça büyüktür (1). Türk Gıda Kodeksinin, et ürünleri için bildirdiği mikrobiyolojik kriterlere göre *E. coli* O157:H7 serotipinin et ürünlerinde bulunmasına müsaade edilmemektedir (49).

E. coli O157:H7'nin gıda maddelerinde yaygınlığını ortaya koymak için çeşitli ülkelerde farklı gıda maddelerinde araştırmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalar çiğ et ve çiğ süt gibi hayvansal orijinli gıdalarda etkenin izole edilebildiği bildirilmektedir (20).

Fransa'da Bouvet ve ark. (36) tarafından domuz sucuğunda yapılan bir çalışmada 500 adet et örneğinden sadece bir tanesinde *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Yine benzer bir çalışmada Arjantin'de Chinen ve ark. (22) tarafından yapılmıştır ve 83 adet taze sucuk örneğinden % 8.7 sinde, 30 adet kurutulmuş sucuk örneğinden % 3.3'ünden *E. coli* O157:H7 serotipini izole etmişlerdir.

Brezilya'da Silveria ve ark. (37) tarafından hamburgerler ile yapılan bir çalışmada 886 hamburger örneği incelenmiş ve araştırma sonunda analiz edilen numunelerde *E. coli* O157 serotipine rastlanmamıştır.

Danimarka'da 1584 adet çiğ kıyma numunesi *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığını araştırmak üzere incelenmiş ve 1584 adet örneğin % 0,3 'ünde etken izole edilmiştir (20). Hollanda'da Heuvelink ve ark. (31) tarafından yapılan çalışmada 571 adet çiğ sığır kıymasının % 1,1'inde etkene rastlanmıştır.

İsviçre'de Fantelli ve Stephan (15) tarafından 211 adet çiğ kıyma örneğinde *E. coli* O157:H7 serotipi araştırılmış ve yapılan analizlerde etken bulunamamıştır. Yine Malezya'da Radu ve ark. (50) tarafından yapılan bir çalışmada piyasadan toplanan 25 sığır etinin 9'undan *E. coli* O157:H7 serotipi izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Chapman ve ark. (51) tarafından sığır karkasları üzerinde yapılan çalışmada karkasların % 1,4'ünde *E. coli* O157 serotipi bulunmuştur.

Mısır'da Abdul-Rauf ve ark. (38). yaptıkları çalışmada 50 adet sığır eti kıymasının 3'ünde (% 6), kuzu kıymasının 1'inde (% 4), 50 adet tavuk eti kıymasının 2'sinde (% 4) *E. coli* O157:H7 bulunduğunu belirtmişlerdir.

Dontorou ve ark. (35) koyun, keçi, ve inek sütlerinden topladıkları 300 süt numunesi ve 50 adet iyi pişirilmemiş hamburger numunesi, 61 adet jambon, hindi, karışık salata içeren sandviç numunesini, 75 adet sosis ve 50 adet domuz bağırsağından hazırlanmış kokoreç numunesini incelemişler ve süt numunelerinden sadece 100 koyun sütü numunesinden 1'inde (% 1) *E. coli* O157:H7 serotipi izole edilirken diğer süt numunelerinde etken izole edilememiştir. Yine aynı çalışmada 50 kokoreç numunesinden 1'inde (% 2), 75 sosis numunesinden 1'inde (% 1,3) etken bulunurken diğer et ürünlerinde bulunmamıştır. *E. coli* O157:H7 serotipinin, sosis ve kokoreçte düşük düzeylerde bulunması ve çalışmadaki diğer et ürünlerinde izole edilememesi yapılan bu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Chapman, ve ark. (30). tarafından 120 adet et örneği *E. coli* O157 serotipinin varlığını araştırmışlar ve klasik metot ve hızlı belirleme metotları kullanılarak yapılan bu çalışmada % 1,4'ünde pozitif sonuç bulmuşlardır.

Noveir ve ark. (32). tarafından incelenen 255 adet çiğ sığır kıymasının 1'inde (% 0,4), 50 adet pişmemiş hamburger numunesinin 1'inde (% 2) ve 101 adet sucuk numunesinin 1'inde (% 1) *E. coli* O157 serotipi izole etmişlerdir.

Türkiye'de *E.coli* O157:H7 serotipi üzerinde yapılan çalışmalarda, Aksu ve ark. (4) tarafından yapılan çalışmada dana kıyma, kuzu kıyma, dana kuş başı, köfte türleri, sucuk, pastırma, salam ve sosis numunelerinde yaptıkları incelemelerde 50 adet dana kıyma numunesinin 3'ünde (% 6) 25 adet kuzu kıyma numunesinin 1'inde (% 4) ve 50 adet pişirilmemiş köfte numunesinin 1'inde (% 2) etken izole ederken diğer et ürünlerinde *E. coli* O157:H7 serotipine rastlamamışlardır.

Cebiroğlu ve Nazlı (20) 155 adet dondurulmuş ve dondurulmamış hamburger örneklerini incelemişler ve 91 adet hamburger numunesinden 4'ünde (% 4,39) *E. coli* O157:H7 serotipini saptarlarken 64 köfte numunesinde etkeni izole edememişlerdir. Araştırmacıların elde etmiş oldukları bulgular bu çalışmadaki sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Baran (52) tarafından yapılan çalışmada 50'şer adet hazır sığır kıyması ve tavuk budu kullanılarak hazırlanan çiğ et ve köfte çeşitleri incelenmiş ve 50 adet kıyma numunesinin 3 (% 6)'ünde *E. coli* O157:H7 izole edilirken, tavuk budu numunelerinde bu bakteriye rastlanmamıştır.

Yurdumuzda tüketime sunulan kıyma ve baharatın mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek üzere yapılan çeşitli araştırmalar sığır kıymalarının koliform bakteriler, *E. coli*, fekal streptokoklar ve *Staphylococcus aureus* ile önemli derecede kontamine olduğunu göstermektedir (53). Tekinşen ve ark. (54) Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kaliteleri üzerine yaptıkları çalışmada örneklerin ortalama 10^5 - 10^6 kob.g *E. coli* ve *Staphylococcus* spp. ile kontamine olduklarını saptamışlardır.

Erol ve ark. (53) Piyasada satılan kırmızı ve karabiberlerin önemli miktarlarda enterobakter, maya, küf ve stafilokoklarla kontamine olduklarını bildirmektedirler.

E. coli O157:H7 serotipinin en büyük rezervuarları sığırlardır. Özellikle mezbahalarda kesim sırasında hijyen kurallarına dikkat edilmediği takdirde etlerde yüksek oranda *E. coli* O157:H7'ye rastlanılmaktadır. Enfeksiyonu önlemek için tarımsal üretimden, gıdaların işlenmesi ve hazırlanmasına kadar olan tüm prosesin her basamağında kontrol

önlemlerinin alınması gerekmektedir. Hijyenik kesim uygulamaları ile karkasın dışkı ile kontaminasyon riski azaltılabilir (9).

E. coli O157:H7 serotipi sorbitolü fermente edemez. Bu nedenle çalışmada etkenin izolasyonu için laktoz yerine sorbitol içeren Sorbitol Mac Conkey Agar kullanıldı. İzole edilen şüpheli kolonilerin doğrulanmasına yönelik indol testi ve β -glucuronidase aktivitesinin belirlenmesi amacı ile de MUG katkılı Lauryl Sulphate Broth kullanıldı. *E. coli* O157:H7'nin glucuronidase aktivitesi negatif olduğu için UV altında kolonilerin mavi floresans vermemeleri, indol pozitif olmaları, sorbitolu fermente edememesi etkenin tanısında önemli ipuçları olarak kullanıldı (20). Bu özelliklere sahip olan ve Latex aglütinasyon kitleriyle doğrulama testlerine tabi tutulan 100 adet çiğ köfte numunesinde *E. coli* O157:H7 serotipine rastlanılmadı. Ancak numunelerde yüksek oranda koliform bakteri ve fekal *E. coli* kontaminasyonları belirlendi ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait bazı mikroorganizmalara rastlandı.

Dünya çapında ve Türkiye'de yapılan çalışmalarda bu serotipin düşük düzeylerde bulunması yada izole edilememesi bu çalışmadan elde edilen sonuçlara paralellik göstermektedir.

E. coli O157:H7'ye bağlı olarak gıda zehirlenmesi oluşumu için gereken mikroorganizma sayısının çok düşük olması durumunda dahi zehirlenme olaylarına sebep olabileceği için, etkenin etlerde çok düşük düzeylerde dahi bulunması halk sağlığı açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu nedenle hijyenik olmayan koşullarda elde edilen etlerin çiğ yada az pişmiş olarak tüketilmesi, etkenin gıda zehirlenmesi meydana getirmesi açısından önemli bir risk faktörü olacaktır.

Bu araştırmada *E. coli* O157:H7 serotipinin bulunmayışının sebebi refakatçi floranın yüksek düzeyde bulunması olabilir buna bağlı olarak negatif sonuç alınmış olabilir yada etken numunede belirlenebilecek düzeyde olmayabilir. Çalışma için kullanılan çiğ köfte numuneleri küçük işletmelerden toplandığı için köfte yapımında kullanılan etler beklemiş olabilir ve bu süre zarfında başka mikroorganizmalar çoğalabilir ve *E. coli* O157:H7 serotipini maskeleyebilir. Ayrıca köfte yapımında kullanılan baharatların antimikrobiyal etkilerinden dolayı etken elimine olmuş olabilir. Etkenin izolasyonunda immunomagnetik ayırım, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi gelişmiş hızlı yöntemler kullanılması ve ile etkenin izolasyon şansını artırabiliriz.

E. coli O157:H7 serotipi hayvansal ve bitkisel orijinli bir çok gıda maddesinden izole edilmiştir. Etken özellikle çiğ et ve süt ürünlerinde daha yaygın olarak bulunmaktadır. Ancak çeşitli teknolojik işlemlere tabi tutulmuş gıda maddelerinde de bulunabilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipinin oluşturduğu enfeksiyonlarda tipik bir sağaltım yöntemi yoktur. Bu nedenle koruyucu önlemler alınmalıdır. Enfeksiyonun kontrolünde en önemli nokta gıdaların işlenmesi, muhafazası ve pazarlanması sırasında hijyen kurallarına uyulmasıdır. Çünkü etken fekal kirliliğin bir göstergesidir (44).

Etkenin gelişmesi, özellikle Gram pozitif koklar gibi yerli mikroflora tarafından baskılanabilir yada inhibe edilebilir. Bazı yerli mikrofloralar patojen etkenin gelişmesini inhibe edebilecek şekilde pH'ın hızla düşmesine neden olabilir (5).

Kıyma, baharat ve bulgurun karıştırılıp yoğrulması ile hazırlanan çiğ köfte çoğu insanların inanışlarının aksine hijyenik koşullarda hazırlandığı taktirde rahatlıkla tüketilebilecek bir gıda maddesidir. Çiğ köftenin hammaddesi et olduğu için köfte yapımında kullanılacak et, sağlıklı hayvanlardan kesimhanelerde veteriner hekim kontrolü altında hijyenik koşullarda elde edilmeli ve yoğurma işlemini gerçekleştiren insanların el ve vücut temizliğine özen göstermesi gerekmektedir.

Personel hijyeninin sağlanmasında tuvaletlerin özel bir önemi vardır. Çünkü bir çok patojen etken özellikle *E. coli* gıdaların işlenmesi, depolanması ve servisi sırasında kontamine gıda maddeleri aracılığı ile insanlara bulaşmaktadır.

Gıda işletmelerinde kullanılan alet ve ekipmanlarda önemli bir kontaminasyon kaynağı olduğundan bunlar çalışma günü sonunda işletmenin temizlik programına uygun bir şekilde temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir. Genellikle üretim esnasında ürünün bulaşması büyük ölçüde alet ve ekipmanın yüzeyinde ve çalışanların ellerinde bulunan mikrobiyal yüke bağlı olarak meydana gelir. Bu nedenle ekipmanda ulaşılamayan ölü noktalar, kırık ve çatlaklar bulunmamalıdır. Kolay temizlenebilecek şekilde dizayn edilmelidir. Çiğ ve pişmiş gıdalar için kullanılan alet ve ekipmanlar ayrı olmalıdır. Aksi taktirde patojen mikroorganizmalar çapraz bulaşma sonucunda pişmiş gıdaya veya işlenmiş son ürüne bulaşır (41, 43, 44).

Sonuç olarak çalışmada, incelenen numunelerin hiçbirisinde *E. coli* O157:H7 serotipinin belirlenememesine rağmen numunelerde koliform bakteri ve fekal *E. coli* kontaminasyonlarının yüksek oranda bulunması ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait diğer mikroorganizmalara da rastlanması bakımından çiğ köftenin halk sağlığı açısından

önemli bir risk faktörü olabileceği belirlendi. Bu nedenle hammadde, katkı maddesi, hijyenik açılarından özenle üretilmesi, personelin eğitilmesi ve pazarlama koşullarının düzeltilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Ülkemizde tüketilen hayvansal gıda maddelerinde hijyenik kalite oldukça düşüktür. Özellikle halka açık satış yapılan işletmelerde işletme ve personel temizliğine gereken özen gösterilmediğinden ve satışa sunulan et ürünlerine yetersiz ısı uygulanmasından dolayı bu etken sağlık açısından önemli bir risk kaynağıdır. Bu açıdan besinlerin güvenli üretim ve pazarlanması hakkında çalışan elemanların eğitilmesi besin kaynaklı hastalıkların önlenmesinde en önemli faktördür. Köfte hazırlama sırasında köfteye el ile teması olan bireyin kişisel temizliğinin besin kaynaklı hastalıkların önlenmesinde önemli bir rolü vardır. Halkın sağlıklı ve kaliteli gıdalar ile beslenmesi ve sağlıklı kuşakların yetişmesi gıda maddelerinin özellikle hayvansal gıdaların üretiminden tüketimine kadar olan bütün aşamalarında hijyen kurallarına tam anlamı ile uymak koşulu ve her aşamada *E. coli* O157:H7 serotipinin rutin olarak kontrolü ile gerçekleştirilebilir.



6. KAYNAKLAR

1. Tunail N. Mikrobiyolojik enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. In:Akçelik M. Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB, Gürgün V, Halkman K, Kaleli D, Kuleaşan H. Özkaya DF. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbaacılık Ltd Şti. Ankara, 1999 : 59-90
2. Arda M. Temel Mikrobiyoloji (1. Baskı). Medisan Yayn, Ankara 1997 : 423-469
3. Arda M. Minbay A, Aydın N. Özel Mikrobiyoloji (4. Baskı). A.Ü Vet. Fak. Yayn. Ankara 1997 : 45-50
4. Aksu A. Özgen-Arun Ö, Aydın, A, Uğur M. *Escherichia coli* O157:H7 'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg., 1999 : 30(2) : 77-81
5. Halkman AK. Noveir MR, Doğan HB. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi Orkim Ltd. Şti. Ankara 2001 : 2-35.
6. Bekar M. *Enterobacteriaceae* Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. Etlik Vet. Kont. Arş. Enst., Ankara. 1997: 56-87
7. Keskintepe H. İnsan ve hayvanlarda Enteropatojenik *Escherichia coli* enfeksiyonları. İ.Ü. Vet. Fak. Derg.. 1976 : 3(2) : 30-46
8. Erensoy S. Tokbaş A. İzmir'deki sürgün olgularında *Escherichia coli*: O157:H7 araştırılması. İnfeks. Derg., 1992 : 6(4) : 285-286

9. Temelli S. Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157:H7 ve önemi. U.Ü. J. Fac. Vet. Med., 2002; 21 : 133-138
10. Otkun O. Yüce K. İzmir bölgesinde ishallerde dört bakteriyel etken : *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri, Enteropatojen *Escherichia coli* ve ısıya duyarlı toksin üreten Enterotoksinojen *Escherichia coli*. İnfeks. Derg., 1995 : 9(4) : 357-360
11. Çon AH, Gökalp HS. Gıda Mikrobiyolojisi. Pamukkale Üniversitesi Ders Notları, Denizli ; 1997 : 14- 15, 70-79
12. Ünlütürk A, Turantaş F. Et ve et ürünlerinde mikrobiyolojik bozulmalar, patojen mikroorganizmalar ve muhafaza yöntemleri. In: Ünlütürk A. Turantaş f (eds), Gıda Mikrobiyolojisi.(1. Baskı), Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir, 1999 : 45-53. 163-287
13. Cornick NA, Booher SL, Casey TA, Moon HW. Persistent colonization of sheep by *Escherichia coli* O157:H7 and other *E.coli* pathotypes. Env. Microbiol., 2000; 66 : 4926-4934
14. Anonymous. Enhanced detection of sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infections, New Jersey, July 1994. CDC MMWR Weekly. 1995;44(22) : 417-418
15. 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
16. Anonymous. Epidemiologic notes and reports isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis, United States. CDC MMWR Weekly. 1997; 46(30) : 700-704.
17. Özbaş ZY, Aytaç SA. *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiyolojisi, gıdalarla ilişkisi, patojenitesi ve izolasyon yöntemleri. Türk Hij. Biyol. Derg. 1995; 52 (1) : 47-52
18. Olivera B., Tatjana L. Occurrence of *E. coli* O157 and other verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in ground beef. World Congress on Food Hygien. Proceeding. 1997. p.200, 24-29 August, The Netherlands
19. Conner DE, Kotrola JS. Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 under acidic conditions. Appl. Env. Microbiol 1995 : 61 (1) : 382-385.
20. Cebiroğlu H. Nazlı B. Dondurulmuş hamburger köfte ve diğer köfte çeşitlerinde enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı üzerine araştırmalar. I.Ü Vet. Fak. Derg., 1999 : 25 (1) : 107-123

21. Benezet A, Osa JM, Botas M, Olmo N, Perez-Florez F. Presence of *Escherichia coli* O157:H7 in Spanish meat and meat product. *Alimentaria* 1995: 51-55
22. Chinen I, Tanora JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi G, Ledri S, Baschkier A, Scarpin M, Manfredi E, Rivas M. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J. Food Prot.*, 2001: 64: 1346-1351
23. Ahmed NM, Conner DE, Huffman DL. Heat-resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition. *J. Food. Sci.*, 1995: 60(3). 606-610
24. Terada K. Information about food poisoning caused by *Escherichia coli* O157. *J. Infect. Dis.* 1995: 171 : 1042-1045
25. McCarthy J, Holbrook R, Stephens P.J. An improved direct method for the enumeration of stressed *E. coli* O157:H7 from food. *J. Food Prot.*, 1998: 61(9) : 1093-1097
26. Doyle MP, Schoeni, JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meat and poultry. *Appl. Env. Microbiol.*, 1987: 53(10) . 2394-2397
27. Anonymous. Outbreaks Associated with Fresh and Fresh-Cut Produce. Incidence, growth and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. U.S. Food and Drug Adm. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Chapter IV. 2001:11-12.
28. Can Sancak Y, Boynukara B, Ağaoğlu S. Van'da tüketime sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1993 : 4 (1-2) : 73-87
29. Anonymous. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to home-cooked hamburger. California, July 1993. *CDC MMWR Weekly*. 1994:43(12) : 213-216.
30. Chapman PA, Ashton R. An Evaluation of rapid methods for detecting *Escherichia coli* O157 on beef carcasses. *Int.J.Food Microbiol.*, 2003 : 87 : 279-285
31. Hauvelink AE, Wernars, K, De Boer E.. Occurrence of *Escherichia coli* O157 and other verocytotoxin-producing *E.coli* in retail raw meats in Netherlands. *J.Food Prot.*, 1996: 59(12). 1267-1272
32. Noveir MR, Doğan HB, Halkman AK. A note on *Escherichia coli* O157:H7 serotype in türkish meat products. *Meat Science*. 2000 : 331-335
33. Gönül ŞA. Çiğ süt ve peynir örneklerinde enterohemorajik *E.coli*'ye rastlanma sıklığı. *Kükem Derg.*, 1997: 20(2): 69-73
34. Buchanan RL, Doyle MP. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E.coli*. *Food Tech*. 1997: 51(10) : 69-76

35. Dontorou C, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levidiotou S. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece . Int.J.Food Microbiol., 2003 : 82 : 273-279
36. Bouvet J, Bavai C, Rossel R, Le Roux A, Montet MP, Ray- Gueniot S, Mazuy C, Atrache V, Vernozy- Rozand C. Effect of cutting proces on pork meat contamination by verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and *E. coli* O157:H7. Int.J.Food Microbiol., 2002 : 77 : 91-97
37. Silveira N.T., Silva N., Contreras C., Mitaguski L., Baccin M.L., Koono E., Beraquet Y. Occurence of *E. coli* O157:H7 in hamburgers in Brazil. J. Food Prot.1999: 62:1333-1335
38. Abdul-Rauf UM, Ammar MS, Beuchat, LR. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Egyptian foods. Int.J. Food. Microbiol., 1996: 29: 423-426
39. Hussein S, Brandolyn H. Thran, Doug Redelman. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in bovine rumen fluid and feces by flow cytometry. Food Control 2002 : 1-8
40. Anonymous. *E. coli* O157:H7 Procedure for isolation and identification from stool specimens. foodborne and diarrheal diseases branch, division of baterial and mycotic diseases, National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention MS C-09 1600 Clifton Rd Atlanta, 1994 : (703) 487-4650
41. Noveir M, Halkman AK, Doğan H. Gıda maddelerinde E.coli sayımında MUG'lu besiyeri kullanımı. Gıda.,1993; 18(6): 343-350
42. Delince H. Rapid detection of irradiated frozen hamburgers. Radiation physics and chemistry 2002 : 63(3-6) : 443-446
43. Blackburn W, McCarthy JD. Modifications to methods for the enumeration and detection of injured *Escherichia coli* O157:H7 in foods. Int.J.Food Microbiol., 2000 : 55 : 285-290
44. Keçeligil HT, Kolbakır F. El hijyeninin infeksiyon kontrolündeki yeri. Klimik Derg., 1994 : 7 (1) : 20-27
45. Erdoğan Ö.T. Halka açık gıda satışı yapan iş yerlerinde genel hijyen durumu. Kükem Derg., 1998 : 21(1) : 65-68
46. Sarıgöl C. Elazığ'da tüketilen kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların varlığı üzerine araştırmalar. Fırat Üniv. Vet. Fak. Derg., 1982 : 7 (1-2) . 179-186

47. Vanderzant C, Splittstoesser Don F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. (3 th ed). American Public Health Association, NW Washington, DC. 1992: 338-366.
48. Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik (4. Baskı). Kaan Kitabevi, Eskişehir, 2001:343-360
49. Anonim. Et ürünleri tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ. Türk Gıda Kodeksi 17 Mart 2001 Resmi Gazete Sayı: 24345 Sayfa: 29
50. Radu S, Abdul Mutalib S, Rusul G, Ahmad Z, Morigaki T, Asai N, Kim YB, Okuda J, Nishibuchi M. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in the beef market in Malaysia. Appl. Env. Microbiol., 1198; 64 (3) :1153-1156
51. Chapman PA, Ellin M, Ashton R. Evaluation of a novel enrichment procedure for the isolation of *Escherichia coli* O157 from naturally contaminated raw beef, lamb and mixed meat products. Food Mic., 2001 : 18 : 471-478
52. Baran KF. Hazır kıyma ve tavuk etlerinde *Escherichia coli* O157:H7'nin araştırılması. Kafkas Univ. Sağ. Bil. Enst. Yüksek Lisans Tez Özeti Kars. 1995
53. Erol I, Mutluer B, Vatansever L. A tipi *Staphylococcus aureus* 'un çiğ köftede üreme ve toksin oluşturma yeteneğinin belirlenmesi. Gıda., 1993 : 18(5) : 315-318
54. Tekinşen OC, Yurtyeri A, Mutluer B. Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi. A.Ü.Vet.Fak. Derg., 1980 :27 (1-2) : 45-63

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Kayseri'de doğdu. İlköğrenimini Kayseri Fatih İlkokulunda orta öğrenimini Kayseri 60. Yıl İlköğretim okulunda tamamladı.1995yılında Kayseri Sümer Lisesinden mezun oldu. Aynı yıl içinde Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesine giriş yaptı ve 28.06.2000 yılında mezun oldu. Eylül 2001 tarihinde Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2002 Aralık ayında Kayseri Merve Et kombinasında Veteriner Hekim olarak çalışmaya başladı ve halen çalışmaktadır.

Adres:

Mevlana Mh. Ahmet Haşim Sk.

No: 17/3

Kocasinan/KAYSERİ

Tel: 0.352.339 62 82

e-mail: nurhan_ertas@mynet.com