



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİVAS İLİ İÇME ve KULLANMA SULARINDA
Escherichia coli O157:H7 SUŞU' NUN ARAŞTIRILMASI

RUKİYE ASLAN DURAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SİVAS-2015

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİVAS İLİ İÇME ve KULLANMA SULARINDA
Escherichia coli O157:H7 SUŞU' NUN ARAŞTIRILMASI

RUKİYE ASLAN DURAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. ZEYNEP SÜMER

SİVAS
2015

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye (Danışman)	Prof.Dr. Zeynep SÜMER	_____
Üye	Prof.Dr. Ömer POYRAZ	_____
Üye	Doç.Dr. Naim NUR	_____

ONAY

Bu tez çalışması, / /2015 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ali ÇELİKSÖZ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 009 sayılı kararı ile kabul edilen Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Bir yudum su için...

ÖZET

SİVAS İLİ İÇME VE KULLANMA SULARINDA *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 SUŞU' NUN ARAŞTIRILMASI

Rukiye ASLAN DURAK

Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji Anabilimdalı

Danışman: Prof. Dr. Zeynep SÜMER

2015, 71 Sayfa

Bu çalışmada, Sivas ili içme ve kullanma sularında *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Sivas ili 16 ilçesi arasından basit rastgele seçilen 5 ilçe; Gemerek, Şarkışla, Ulaş, Yıldızeli ve Zara içme ve kullanma sularından 200 adet su örneği toplanmıştır.

Araştırma “TS EN ISO 9308-1 *Esherichia coli* ve Koliform Bakterilerin Tespiti ve Sayımı: Membran Filtrasyon Yöntemi” ’ne göre çalışılmıştır. Laktozlu TTC Tergitol besiyeri selektif besiyeri olarak kullanılmıştır. *Escherichia coli* tanımlanması için oksidaz ve indol testleri uygulanmıştır. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi tanımlanması için SMAC agar, doğrulanması için ise lateks aglutinasyon test kiti kullanılmıştır.

Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 serotipi araştırmak için incelemeye alınan 200 adet su örneğinde bu serotipe rastlanılmazken, 80 adet su örneğinde koliform bakteriye, 66 adet su örneğinde *Escherichia coli* bakterisine rastlanılmıştır. Tüm örnekler içerisinde, toplam koliform bakteri oranı %40, *Escherichia coli* oranı %33 olarak belirlenmiştir. İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki yönetmeliğe göre içme ve kullanma sularının 100 ml’sinde koliform bakteri bulunmaması gerekliliği belirtildiğinden Sivas ili içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalite kontrolü açısından kontrollerin daha sık yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İçme ve Kullanma Suyu, Su Analizi, *Escherichia coli*

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 SEROTYPE IN DRINKING AND USING WATERS IN SIVAS

Rukiye ASLAN DURAK

Master of Science Thesis, Department of Microbiology

Supervisor: Prof. Dr. Zeynep SÜMER

2015, 71 pages

In this study, the presence of *Escherichia coli* O157:H7 strain of Sivas province is intended to investigate in the drinking and using water. For this purpose, choose from a simple 5 randomly selected district from 16 districts of Sivas province; in the district 200 pieces collected water sample collected from drinking and using water used in Gemerek, Şarkışla, Ulaş, Yıldızeli and Zara.

In this research; “TS EN ISO 9308-1 Water quality: Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform bacteria: Membrane Filtration System” was used according to the method. TTC Tergitol with lactose growth medium which was used as a selective growth medium. Oxidase and indole tests, performed for identification of *Escherichia coli*. SMAC agar was used for identification of *Escherichia coli* O157:H7, and latex agglutination test was used to verify *Escherichia coli* O157:H7.

In the case of imported 200 pieces to examine the water to investigate, Enterohaemorrhagic O157:H7 serotype of *Escherichia coli* was negative and coliform bacteria was positive in 80 pieces of examine water and *Escherichia coli* was positive in 66 pieces of examine water. In all instances, total coliform bacteria, the rate is set at 40% and the rate is set at 33% of *Escherichia coli*. Human Consumption Waters About regulation, drinking and using water, the lack of necessity of bacterial coliform in 100 ml is noted. According to this regulation the microbiological quality of the drinking and using water, Sivas province in terms of control of the controls should be done more often concluded.

Key words: Drinking and Using water, Water Analysis, *Escherichia coli*

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın oluşum, olgunlaşma ve sonuçlanma süresi içerisinde yardımlarına müracaat ederek engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım başta saygıdeğer danışmanım Prof.Dr. Zeynep SÜMER'e, çalışmanın her aşamasında bilgisini, emeğini, manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen ve önemli katkılarda bulunan kıymetli hocam Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Mehmet ATAŞ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimde emeği geçen değerli hocalarım Prof.Dr. Ömer POYRAZ'a, Prof.Dr. M. Zahir BAKICI'ya, Prof.Dr. Yasemin ÖZTOP'a ve Yrd. Doç.Dr. Ziynet ÇINAR'a minnettarlarımı sunarım.

Çalışmalarımın Sivas İl Sağlık Müdürlüğü Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda geçen kısımlarında yardımlarını, bilgi, ilgi ve desteklerini esirgemeyen laboratuvar çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Varlıkları ve her daim destekleri ile yanımda olan arkadaşlarım Eczacılık Fakültesi Araş.Gör. Merve-Mustafa ERGÜL çiftine teşekkür ederim.

Bu zorlu süreç içerisinde kolaylıklar yaratan ve hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen sevgili annem Melek Hanım'a, babam Doç.Dr. Ömer ASLAN'a ve sevgili kardeşlerime teşekkür ederim.

Yine bu süreç içerisinde elini, emeğini, manevi desteğini esirgemeyerek hep yanımda olan sevgili eşim Dr. Said DURAK'a minnettarlığımı sunarım.

“Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından T-590 proje numarası ile desteklenmiştir.” Verdikleri destekten dolayı Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Su	4
2.1.1 Suyun Yaşantımızdaki Önemi	4
2.1.2 Suyun Sağlık Açısından Nitelikleri	5
2.1.2.1 Suyun Fiziksel Nitelikleri	6
2.1.2.1.1 Sıcaklık	6
2.1.2.1.2 Renk	6
2.1.2.1.3 Tat ve Koku	6
2.1.2.1.4 Bulanıklık	6
2.1.2.1.5 Elektriksel İletkenlik	7
2.1.2.2 Suyun Kimyasal Nitelikleri	7
2.1.2.2.1 pH Değeri	7
2.1.2.2.2 Elementer Yapı	7
2.1.2.2.3 Çözünmüş Oksijen	9
2.1.2.3 Suyun Mikrobiyolojik Nitelikleri	9
2.1.3 İçme ve Kullanma Suyu İle İlgili Tanımlar	9
2.2 <i>Escherichia coli</i>	10
2.2.1 Tarihçesi	10
2.2.2 Sınıflandırılması	11
2.2.3 Genel Özellikleri	11
2.2.4 Morfolojik Özellikleri	12
2.2.5 Antijenik Yapısı	12
2.2.6 Biyokimyasal Özellikleri	13
2.2.7 Serotipleri ve Patojeniteleri	13
2.2.7.1 Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	14

2.2.7.2	Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC).....	14
2.2.7.3	Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC).....	15
2.2.7.4	Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC).....	15
2.2.7.5	Diffüz Adhering <i>E. coli</i> (DAEC).....	15
2.2.7.6	Enteroagregativ <i>E. coli</i> (EaggEC, EAEC)	16
2.3	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Serotipi	16
2.3.1	Tarihçesi	16
2.3.2	Biyokimyasal Özellikleri.....	17
2.3.3	Gelişimi ve Canlı Kalması	18
2.3.3.1	Sıcaklığın Etkisi.....	18
2.3.3.2	Asit toleransı.....	18
2.3.3.3	Tuz Konsantrasyonu	19
2.3.3.4	Su Aktivitesi	19
2.3.4	Toksinleri.....	19
2.3.5	Neden Olduğu Hastalıklar	20
2.3.5.1	Hemorajik Kolitis	20
2.3.5.2	Hemolitik Üremik Sendrom.....	21
2.3.5.3	Trombotik Trombositopenik Purpura	21
2.3.6	<i>E. coli</i> O157:H7 İzolasyon Yöntemleri.....	21
2.3.6.1	Klasik Yöntemler	22
2.3.6.2	Gelişmiş Yöntemler	23
2.3.7	<i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin Sularda Tespiti	24
2.3.7.1	En Muhtemel Sayı Yöntemi	24
2.3.7.2	Katı Besiyeri Yöntemi	25
2.3.7.3	Membran Filtrasyon Yöntemi	26
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1	Kullanılan Malzemeler	27
3.2	Kullanılan Besiyerleri.....	27
3.3	Kullanılan Alet, Ekipman ve Kimyasallar	29
3.4	Su Örneklerinin Toplanması	31
3.5	Koliform ve <i>Escherichia coli</i> Analizi İçin Membran Filtre Tekniği.....	39
3.5.1	Filtrasyon.....	39
3.5.2	İnkübasyon, Doğrulama ve Değerlendirme.....	39
3.5.2.1	Koliform Bakterilerin Doğrulaması.....	39

3.5.2.2 Fekal Koliform Bakteri Doğrulaması	40
3.5.2.3 <i>E. coli</i> Doğrulaması	40
3.5.2.4 <i>E. coli</i> O157:H7'nin Katı Besiyerinde İzolasyonu	40
3.6 Biyokimyasal Testler	41
3.6.1 β -glukuronidaz testi	41
3.6.2 İndol Testi.....	41
3.7 Serolojik Testler	42
4. BULGULAR	43
4.1 Tergitol TTC Besiyerindeki Üreme Sonuçları.....	43
4.2 LSTB + MUG Broth Besiyerindeki Üreme Sonuçları	44
4.3 SMAC Agardaki Üreme Sonuçları.....	44
4.4 <i>E. coli</i> O157:H7 Lateks Aglutinasyon Testi sonucu	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	46
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sulardan bakteriyolojik numune alma.....	38
Şekil 2. Koliform bakterilerin TTC Tergitol besiyerinde üreme görünümleri.....	44
Şekil 3. <i>E. coli</i> bakterilerinin SMAC agarda üreme görüntüleri.....	45

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Su örneklerinin alındığı ilçe ve köyler	31
Tablo 2. Su örneklerinin alındığı ilçelere göre dağılımı.....	38
Tablo 3. <i>E. coli</i> ve Koliform bakteri izolasyon sonuçları.....	43

SİMGELER DİZİNİ

α	Alfa
aw	Activity water
β	Beta
cm ²	Santimetrekare
g	Gram
kob	Koloni oluşturan birim
μ m	Mikrometre
μ mol	Mikromol
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
Lt	Litre
Ppm	Parts per million

KISALTMALAR DİZİNİ

AMP	Adenosine Monophosphate
BGBB	Brillant Green Bile Broth
CDC	ABD Hastalık Kontrol Önleme Merkezi
DAEC	Diffüz Adhering <i>Escherichia coli</i>
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EAEC	Enteroagregativ <i>Escherichia coli</i>
EAggEC	Enteroagregativ <i>Escherichia coli</i>
EC	<i>Escherichia coli</i> Broth Besiyeri
EHEC	Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
EMB	Eosin Methylene Blue Agar
EMS	En Muhtemel Sayı
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
EIA	Enzim Immunoassay
FIA	Floresan Immunoassay
GMP	Guanosine Monophosphate
HC	Hemorajik Kolit
HE	Hektoen Enterik
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
ISO	Uluslararası Standartlar Örgütü
LIA	Lizin İron Agar
LST	Lauryl Sülfat Triptoz
MUG	Metil Umbelliferone Glukuronid
NPS	Nutrient Ped Sets
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIA	Radio Immuno Assay
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
RSS	Restriction Site Specific
SLT	Shiga Like Toxin
SMAC	Sorbitol MacConkey Agar
SS	Salmonella Shigella Agar
STX	Shiga Toxin
TSA	Triptik Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
TSİ	Üç Şekerli Demirli Besiyeri
TTC	2,3,5-Triphenyltetrazoliumchloride
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura
TW	Trypton Water

VRB	Violet Bile Red Agar
VT	Verotoksin
VTEC	Verotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
UV	Ultraviyole
XLD	Ksiloz Lizin Deoksilat Agar

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Su, canlılığın devamı için en gerekli bileşenlerin başında gelmektedir. Bu bileşenler içerisinde kirlenme potansiyeli en yüksek olan bileşen sudur. Bulaşıcı hastalıkların ortaya çıkması ve yayılmasında en önemli nedenlerden biri de sudur (Selçuk, 2011).

Suların insan sağlığı açısından risk taşımasının en temel nedeni sulara insan ve hayvan dışkıları ile karışan patojen mikroorganizma ve virüslerdir. Bu kirlenmeye neden olan bakteriler, virüsler ve diğer hastalık yapıcı canlılar, özellikle hasta insan ve hayvan dışkılarında bulunmaktadır. Hastalıkların insanlara bulaşması da bu dışkıların karışmış olduğu sularla doğrudan temasla gerçekleşmektedir. İçme suyu temininde suların mikrobiyolojik kirlenmesi önemli ölçüde sorun oluşturmaktadır (Kolören, vd., 2011).

Dünya nüfusunun hızla artması ile birlikte içme ve kullanma suyu gereksinimi de artmıştır ve halen artmaktadır. Su ihtiyacına paralel, oluşan çevre kirliliği sonucunda su kaynakları gün geçtikçe kirlenmekte ve tüketime uygun kalitede su kaynağının bulunup kullanıma sunulması kısıtlı hale gelmektedir. Elverişli su kaynaklarının bulunması durumunda ise bu suların arıtımlarında, dağıtım ve depolanmalarındaki aksaklıklar nedeniyle içme suyu kalitesi olumsuz yönde etkilenmektedir (Güler, 2012).

İçme ve kullanma sularının topluma ulaştırılması ve şebekelerden akan suların Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenen standartlara uygunluğunun sağlanması kamusal kuruluşlarca sağlanan bir kamu hizmetidir. Ülkemizde içme ve kullanma sularının temini ve korunmasına yönelik faaliyetler çeşitli kurumlar tarafından yürütülmektedir. Bu kurumlardan Devlet Su İşleri, daha önce nüfusu 100.000'i aşan yerleşim yerlerinde çalışmalarını sürdürmekte iken, 2007 yılında yapılan mevzuat değişikliği sonrası belediye teşkilatı olan yerleşim yerlerinde içme ve kullanma suyu sağlamaya yönelik faaliyetlerini yürütmektedir. İçme ve kullanma sularının kaynağından tüketiciye ulaştığı nihai noktaya kadar gerekli altyapı, ıslah, arıtma, dezenfeksiyon, şebeke çalışmaları belediye teşkilatı olan yerlerde Belediye, belediye teşkilatı olmayan yerlerde İl Özel İdareleri tarafından yürütülmektedir. Umumi Hıfzıssıhha Kanunu, Sular Hakkında Kanun ve 181 sayılı Sağlık Bakanlığının Kuruluşu ile ilgili Kanun Hükmündeki Kararnamenin verdiği yetki ve sorumluluklar çerçevesinde ülkemizde suların sağlık açısından denetimi Sağlık Bakanlığı'na aittir. Sağlık Bakanlığı yerel yönetimlerce sağlanan suyun denetim, kontrol ve danışmanlık hizmetlerini

yürütür. Türkiye’de içme ve kullanma sularının teknik ve hijyenik şartlara uygunluğu, suların kalite standartlarının sağlanması ve izlenmesi ile ilgili düzenlemeler 7.03.2013 tarihli ve 28580 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik’le belirlenmiştir (Anonim, 2013; Anonim, 2008; Çobanoğlu, vd., 2005).

Günümüzde dünyada su temini noktasında sıkıntılar yaşanmaktadır. Tatlı su kaynaklarının giderek azalması, hali hazırda bulunan su kaynaklarının temiz ve akılcı kullanımını gerektirmektedir. Kirli suların tüketiminden kaynaklanan hastalıkların sayısında artış görülmektedir. Suların dışkı ve lağım suları ile kirlenmesi halk sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir. Dışkı ile kontamine olmuş sularda bulunan patojen mikroorganizma sayısı, suların miktar olarak fazla olmasından dolayı sularda daha seyrek bulunmaktadır. Bundan dolayı da bu patojenlerin içme ve kullanma sularında teşhisi ve izolasyonu da zorlaşmaktadır. Bu amaçla, sularda dışkı ile kirlenme olup olmadığının incelenmesi için biyoindikatör olarak kabul edilen; *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ve *Clostridium perfringens* bakterileri kullanılmaktadır (Öztelli, 2004).

Günümüz gıda mikrobiyolojisi üzerinde en çok araştırma yapılan mikroorganizma Enterobacteriaceae familyasının üyeleri olan *Esheria coli* ve *Salmonella sp.* bakterileridir. Bu bakterilerin gıda maddelerinde, içme ve kullanma sularında bulunmaması gerekmektedir. Özellikle *Esheria coli*’nin dünyada üzerinde en çok araştırma yapılan bakteri olması, hemen hemen tüm gelişme parametrelerinin bilinmesi ve çabuk gelişmesi gibi nedenlerden dolayı bu bakteri fekal kirliliğin göstergesi olarak sularda ve gıdalarda aranmaktadır (Noveir, 1993).

İnsanlarda çok şiddetli enfeksiyonlara neden olan Enterohemorajik *E. coli* O157:H7 suşu özellikle son yıllarda gündeme çok fazla gelen gıda kaynaklı patojen olarak bilinmektedir (Kolören, vd., 2011).

E. coli O157:H7 serotipi ilk kez 1982 yılında Amerika ve Kanada’da oluşan *Escherichia coli* salgını sonucunda tanımlanmış ve daha sonra birçok ülkede de benzeri salgınlar gözlenmiştir. Bugün süt ineklerinin bağırsakları *E. coli* O157:H7 kaynağı olarak kabul edilmektedir. Literatürlerde O157:H7’nin gıda kaynaklı salgınlarının yanı sıra su kaynaklı salgınlarına da rastlanmaktadır. Literatürlere geçen su kaynaklı en büyük O157:H7 salgını 1990-1995 yılları arasında Kanada’da gerçekleşmiştir. Salgın sonucunda 7000’in üzerinde vaka gözlenmiş ve 7 kişi de hayatını kaybetmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda aşırı yağışlar sonrası yağmur suları ile birlikte hayvan

dışkılarının içme ve kullanma suyu şebekelerine karışması ve yetersiz klorlama işleminden dolayı salgınların çoğaldığı gözlemlenmiştir. İçme ve kullanma sularının klorlanması ile O157:H7 serotipi kontrol altına alınabilmektedir. Ülkemizde su kaynaklı O157:H7 serotipi salgınlarına rastlanılmamıştır fakat bu durum sularda O157:H7 serotip bulunmadığı anlamına gelmemektedir (Öztelli, 2004).

Dünyada ve ülkemizde gıda kaynaklı en tehlikeli patojen olan ve bugün biyolojik silah olarak kullanılabilen *Esherichia coli* O157:H7 suşu hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Sivas ilinde bugüne kadar suların mikrobiyolojik kaliteleri üzerine yapılan çalışmalar olsada, içme ve kullanma sularında *Esherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı Sivas ili içme ve kullanma sularında *Esherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı, sulardaki koliform bakteri ve fekal kökenli *Esherichia coli* bakterilerinin bulunma oranının belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Su

2.1.1 Suyun Yaşantımızdaki Önemi

İnsan sağlığı için en önemli etmenlerin başında su gelmektedir. İnsan vücut ağırlığının %65-70'i sudur. Canlı organizmaların en temel birimini oluşturan hücrelerin yaşamlarına devam edebilmeleri ancak su ile mümkündür (Uyak, 2006).

Yaşamın devamı için ihtiyaç duyulan su; akarsular, göl, deniz gibi su kaynaklarından sağlanmaktadır. Dünyada son yıllarda endüstrileşme, şehirleşme, nüfus artışı ve zirai mücadele ilaçlarının oranındaki artış ile birlikte hem suya olan ihtiyaç hem de sulardaki kirlenme oranları artmıştır. Bu sorun ülkemizde oldukça büyük önem arz etmekte ve yağışların azalması ile birlikte daha da riskli hale gelmektedir (Akhan, vd., 2007).

Suyun canlı vücudundaki işlevleri;

- Hücre ve dokuların yapılarının korunması,
- Fizyolojik fonksiyonların yerine getirilmesi,
- Hücre ve dokuların beslenmesi için gerekli unsurların taşınması,
- Hücre ve dokuların metabolizma artıklarının vücut dışına atılması,
- Vücut ısısının düzenlenmesidir (Köksal, 2007).

İnsanların fizyolojik olarak kullandıkları içme suyunun yanı sıra günlük bakımda ihtiyaç duydukları kullanım suyu da önemli bir yer tutmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından kullanım suyu ihtiyacı kişi başına ortalama 150 lt/gün olarak kabul edilmekte olup bu miktar batı ülkelerinde günlük 500 lt/gün'e kadar yükselmekte, Asya ve Afrika bölgelerinde ise 50 lt/gün'e kadar düşmektedir. Günlük fizyolojik ihtiyaç olarak tüketilmesi gereken su miktarı 2,5 lt'dir.

Suyun kullanım amaçları;

- İçme ve yemek pişirme ihtiyaçları,
- Kişisel temizlik ihtiyaçları,
- Zirai sulama ihtiyaçları,
- Cadde ve sokakların temizliği,
- Eğlence ve sportif amaçlar,
- Park ve bahçe havuzları,
- Hidroelektrik santralleri,

- Acil ihtiyaçlar (yangın söndürme) eklindeyir (Köksal, 2007).

Su kirliliği, insanın doğaya karşı etkileri sonucunda oluşan, suyun kullanımını kısıtlayan ya da engelleyen ve ekolojik dengeleri bozan kalite değişimleri olarak tanımlanmaktadır. Toplum sağlığı açısından sağlıklı ve güvenilir bir içme suyu tüketime son derece önemlidir. Dünya Sağlık rgt (DSÖ) verilerine göre, gelişmekte olan ülkelerde hastalıkların yaklaşık %80'inin güvenilir su kaynaklarının ve temizlik koşullarının yetersizliğinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Her yıl yarıdan fazlasını çocukların oluşturduğu 5 milyondan fazla kişi su kirliliğine bağlı olarak hayatını kaybetmektedir (Alemdar, vd., 2009). Çünkü su kalitesi ve insan sağlığı birbiri ile yakın ilişi içerisindedir. Temiz olmayan sularla pek çok hastalık etkeni (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophyla*, *Shigella* spp. gibi) insanlara bulaşabilmekte ve önemli sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (Alişarlı, vd., 2007).

İçme suları ile insan sağlığı arasındaki ilişi net bir şekilde ortaya çıkarılmıştır. Dolayısı ile içme suyu temin sistemleri ve bu suların tüketicie ulaştırıldığı sistemlerde gereken kalitenin sağlanması son derece önemlidir. Bu konudaki sorumluluğun büyük bir kısmı kamu kurum ve kuruluşlarına düşmektedir. Tüketicie ulaşan suyun kalitesi, su kaynağının kalitesinden, arıtmadan dağıtıma kadar olan her aşamada gereken hassasiyetin gösterilmesine ve içme suyu standartları dikkate alınarak gerekli olan su kalitesinin sağlanmasına bağlıdır (Alişarlı, vd., 2007).

İçmeye elverişli olan suların gerekli kaliteye sahip olması ve sahip olduğu kalitenin korunması büyük önem taşımaktadır. Kullandığımız ve kullanacağımız suların kirlilik bakımından potansiyel durumunu inceleme zorunluluğu söz konusudur. Bu konu ile ilgili lkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından 2013 yılında Avrupa Birliğine yelik müzakereleri kapsamında ıkarılan “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik” 'te içme ve kullanma sularında aranması gereken özellikler listelenmiştir (Anonim, 2013).

2.1.2 Suyun Sağlık Açısından Nitelikleri

İçme suyu ya da kullanma suyu olarak nitelendirilen suyun sağlık açısından uygun olması gerekmektedir. Suyun insan sağlığına uygunluğunun anlaşılabilmesi fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelenmesi ve taşıyabileceği zararlı maddelerin tespit edilmesi ile mümkün olacaktır (Demirer, 1995).

2.1.2.1 Suyun Fiziksel Nitelikleri

Suyun sahip olduğu sıcaklık, tat ve koku, renk, bulanıklık, toplam katı madde, askıda katı madde, çökebilir katı madde, elektriksel iletkenlik, radyoaktivite, yoğunluk ve viskozite gibi değerleridir (Acehan, 2007).

2.1.2.1.1 Sıcaklık

Sıcaklık su kaynağının fiziksel, kimyasal ve biyolojik değerlerini etkiler. Böylece pek çok parametrenin konsantrasyonu değişir. Suyun sıcaklığının artması ile kimyasal reaksiyonların hızı ve sudaki maddelerin buharlaşma hızı da artar. Suyun sıcaklığının artması ayrıca O₂, CO₂, N₂, CH₄ gibi gazların suda çözünlüğünü azaltır. Sıcak sularda organizmaların solunum hızının artması oksijen tüketimini artırır ve organik maddelerin bozulmasına neden olur. Sudaki besleyici şartların uygunluğunda, artan bakteri ve fitoplanktonlar suyun bulanıklığının artmasına neden olur (Polat, 2000).

2.1.2.1.2 Renk

Suda çözünmüş halde bulunan organik ve inorganik maddeler, suda yaşıyan bitkisel canlılar, mineraller ve bunların dışında fabrika ve sanayi atıkları sularda renk oluşumuna neden olurlar. Bu maddeler sularda mikroorganizmalar için uygun yaşam ortamı oluşturmanın yanısıra su içimi açısından hem estetik hem de psikolojik açıdan iticiliğe neden olmaktadır. Sularda renk giderilmesi işlemleri, ozonlama, sedimantasyon ve filtrasyon işlemleri ile gerçekleştirilebilir (Aktürk, 2009).

2.1.2.1.3 Tat ve Koku

Su içerisinde bulunan canlı veya ölmüş mikroorganizmalar, çözünmüş halde bulunan hidrojen sülfür, metan ve karbondioksit gibi gazlar, organik maddeler, sodyum klorür ve demir bileşikleri, diğer elementlerin karbonat ve sülfat tuzları ile fenollü maddeler suya tat ve koku verir. Tat genelde kokuyu oluşturan nedenlerin sonucunda ortaya çıkar. Eriyik haldeki mineraller suya yalnızca tat verdikleri halde koku vermezler. Çözünmüş gazlardan ileri gelen tat ve kokular havalandırma yolu ile giderilebilir (Aktürk, 2009).

2.1.2.1.4 Bulanıklık

İçme ve kullanma sularının berraklığı suyun temizliği ile doğru orantılıdır. Su bulanıklığı, içinde kolloidal halde bulunan organik ve inorganik maddelerden kaynaklanır. Organik maddeler arasında patojen mikroorganizmaların bulunma

ihtimalinden dolayı bulanık sular daima şüpheli olarak kabul edilmelidir. Önceden herhangi bir temizleme işlemine tabii tutulsa da, bulanık görünümlü suların içilmemesi, ev ve işletmelerde kullanılmaması gerekmektedir (Aktürk, 2009).

2.1.2.1.5 Elektriksel İletkenlik

Suların elektriksel iletkenliği, içinde bulunan iyonların çeşidine ve konsantrasyonlarına bağlıdır. Sudaki iyon konsantrasyonu artıkça, iletkenlikte o oranda artar. İletkenlik, suyun içindeki eriyik haldeki toplam katı maddelerin konsantrasyonu açısından önemlidir (Aktürk, 2009).

2.1.2.2 Suyun Kimyasal Nitelikleri

Suyun pH, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli, alkalinite veya asidite, sertlik, çözülmüş oksijen, biyolojik oksijen ihtiyacı, kimyasal oksijen ihtiyacı, nitrojen ve klorür değerleri suyun kimyasal özelliklerini oluşturmaktadır (Acehan, 2007).

2.1.2.2.1 pH Değeri

Suyun pH değeri suda, kalsiyum bikarbonat ve alkali tuzlar bulunursa alkali, fazla miktarda karbondioksit bulunursa asit reaksiyon gösterir. Suyun alkali değerinin fazla olması suda kokuşmaya neden olur. Suyun pH değerinin nötr veya hafif alkali olması gerekmektedir. Kaynak sularının pH'ı 7,0 - 8,5; içme ve kullanma sularının pH'ı 6,5 - 9,2 değerleri arasında olmalıdır (Demirer, 1995).

2.1.2.2.2 Elementer Yapı

Su kimyasal özellikleri açısından insan sağlığı için gerekli olan ve doğal olarak suda bulunabilen oksijen, karbondioksit, iyot, flor, kalsiyum, magnezyum, NaCl gibi maddeleri içermeli fakat buna karşı olarakta amonyak, nitrat, nitrit, civa, kurşun, arsenik, deterjanlar, pestisidler, gübre gibi maddeleri asla içermemelidir. Su içerisinde;

- Karbondioksit miktarı 15 – 18 mg/lt olmalıdır. Bu miktarın üzerinde “agressivite” özelliği ortaya çıkmaktadır.
- İyot miktarı 10 – 20 gama/lt olmalıdır. Eksikliği durumunda “endemik guatr” ortaya çıkmaktadır.
- Flor miktarı 0,5 – 1,5 mg/lt olmalıdır. Fazlalığı “fluorozis” ’e, eksikliği diş çürüklerine neden olmaktadır.

- Kalsiyum miktarı 75 – 200 mg/lt olmalıdır. Suda kalsiyumun fazla olduğu koşullar suyun sertleşmesine neden olmaktadır.
- Magnezyum miktarı 50 – 180 mg/lt olmalı ve yine magnezyumun da suda fazla olduğu koşullar suyun sertleşmesine neden olmaktadır.
- Klorür miktarı 200 – 600 mg/lt olmalıdır. Fazlalığı idrar ile kirlenme göstergesidir.
- Nitrat miktarı 20 – 45 mg/lt olmalıdır. Fazlalığı organik maddelerle kirlenme göstergesi olarak kabul edilmektedir.
- Nitrit miktarı 3 – 5 mg/lt olmalıdır. Nitritin fazlalığı da organik maddelerle kirlenme göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Tüm bu maddelerin yanısıra suda normal şartlarda bulunabilen Kalsiyum ve Magnezyum gibi maddelerin karbonat asidi veya sabit asitler (sülfat, klorür, nitrat asitleri) ile yapmış olduğu tuzların suda çözünmesi su sertliği oluşturmaktadır. Su sertliği, geçici ve kalıcı sertlik olmak üzere iki şekilde oluşabilmektedir. Geçici sertlik, Kalsiyum ve Magnezyum gibi maddelerin karbonat asidi ile oluşturduğu tuzların suda çözünmesi ile oluşan sertliktir ve bu sertlikler suların kaynatılması ile giderilebilmektedir. Kalıcı sertlik ise Kalsiyum ve Magnezyum gibi maddelerin sabit asitler olan sülfat, klorür ve nitrat asitleri gibi asitlerle oluşturdukları tuzların suda çözünmesi ile oluşturdukları sertliktir. Bu sertlikler suların kaynatılması ile giderilemez. Kalıcı sert suların sertliği ancak suyun soda ile muamelesi sonucu giderilebilir. Bu iki sertlik özelliklerinin yanısıra sudaki geçici sertlikle kalıcı sertliğin toplamı toplam sertliği oluşturmaktadır ve birimi Fransız Sertlik Derecesi olup 1 Fransız Sertlik Derecesi “1 litre suda 10 mg Kalsiyum Karbonatın verdiği sertlik düzeyi” olarak tanımlanmaktadır. Sertlik düzeyleri tatlı su (0-7 sertlik derecesi), yumuşak su (8-14 sertlik derecesi), orta sert su (15-28 sertlik derecesi) ve sert su (28 üzeri sertlik derecesi) olarak sınıflanmaktadır. Sert suların kullanıldığı bölgelerde temizlik maddelerinin daha az köpürmesi nedeni ile daha fazla temizlik maddesi kullanılması gibi olumsuz bir etki bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda yumuşak suların kullanıldığı bölgelerde sert suların kullanıldığı bölgelere göre kalp-damar sistemi hastalıklarından ölümlerin daha fazla olduğu gözlemlenmektedir (Köksal, 2007). Suların agresifliği, serbest karbondioksit (CO₂) ile bikarbonat (HCO₃⁻) iyonunun dengede olmasından ileri gelir. Agresif sular boruların korozyona uğramasına neden olur. Borulardaki aşınma halinde borudan ayrılan elementler su kalitesinin bozulmasına sebep olur (Eroğlu, 2008).

2.1.2.2.3 Çözünmüş Oksijen

Sularda bulunan doğal oksijen suya toprak havasından karışmaktadır. Normal parametrik değeri 6-12 mg/l'tir. Sudaki oksijen miktarındaki düşüğe paralel olarak suyun kirlendiği, buna karşılık oksijen miktarının artması ile de suyun agresivitesinin arttığı ve suyun aşındırıcı olduğu düşünülmektedir (Köksal, 2007).

2.1.2.3 Suyun Mikrobiyolojik Nitelikleri

Suda bulunan patojen ve saprofit mikroorganizmalar suyun bakteriyolojik özelliklerini oluşturur. Bazı bulaşıcı hastalıklar ve bağırsak hastalıkları özellikle dışkı ile kontamine olmuş sular ile taşınır (Muslu, 1985).

Suda doğal olarak bulunan mikroorganizmalar; *Spirillum*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Archromabacter*, *Chromobacterium* türleri ile *Micrococcus* ve *Sarcina*'nın bazı türleridir.

Su kaynaklarının insan sağlığı açısından hijyenik ve tüketimde güvenilir olabilmesi için suyun fekal kirlenmeye maruz kalıp kalmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Fekal kontaminasyonun indikatörü olarak en çok koliform grubu bakteriler özellikle de *Escherichia coli* bakterisi aranmaktadır (Aktürk, 2009). Bu bakterilerin varlığı suyun kaynağından başlayıp taşınmasına kadar bir ya da daha fazla aşamada doğrudan dışkı ile ya da dolaylı olarak lağım suyu ile bulaştığının göstergesidir (Dinçer, vd., 2001).

2.1.3 İçme ve Kullanma Suyu İle İlgili Tanımlar

İçme ve kullanma sularının nitelikleri, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik ile belirlenmiştir. Bu mevzuatlar DSÖ tarafından belirlenen standartlara uygundur. Bu mevzuatlara uygun olan içme ve kullanma suları sağlıklı ve temiz olarak kabul edilir (Eroğlu, 2008).

31.12.2004 tarihli ve 25687 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde içme ve kullanma suyu; "İnsanların günlük faaliyetlerinde içme, yıkanma, temizlik ve bu gibi ihtiyaçları için kullandıkları, sağlaması gereken özellikleri İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik ile belirlenmiş olan, bir toplu su temini sistemi aracılığıyla çok sayıda tüketicinin ortak kullanımına sunulan sulardır." olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2004).

17.02.2005 tarihli ve 25730 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik'te içme ve kullanma suyu "Genel olarak içme,

yemek yapma, temizlik ve diğer evsel amaçlar ile gıda maddelerinin ve diğer insani tüketim amaçlı ürünlerin hazırlanması, işlenmesi, saklanması ve pazarlanması amacıyla kullanılan, orjinine bakılmaksızın, orijinal haliyle ya da arıtılmış olarak ister kaynağından isterse dağıtım aşısından temin edilen ve mevzuatta belirtilen parametre değerlerini sağlayan ve ticari amaçlı satışa arz edilmeyen sular” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2005).

İçme ve kullanma suyu standartları belirlenirken dikkat edilmesi gereken nokta, suyun doğrudan ya da dolaylı olarak insan sağlığı açısından herhangi bir tehlike taşımaması ve çeşitli hastalıklara neden olmamasıdır. Burada önemli olan içme ve kullanma sularının temizliğinin güvence altına alınmasıdır (Anonim, 2010).

İçme ve kullanma suları, toplumun içme ve kullanma; yemek yapma, temizlik, banyo ve benzeri ihtiyaçları için kullanmakta oldukları sulardır (Atasoylu, vd., 2006). İçme ve kullanma sularının nitelikleri birbirinin aynısı olmalıdır. Genellikle toplumda içme suyunun farklı, kullanma suyunun farklı sular olduğu yönünde yaygın bir düşünce vardır fakat kullanma suyunun, yani insanların temizlikte, bulaşıkta, çamaşırda kullandıkları suların insan sağlığını riske edecek nitelikte olmaması gerekmektedir (Güler, 2008).

İçme ve kullanma sularında istenilen ve istenmeyen temel vasıflar özetle;

- Su; kokusuz, renksiz, berrak ve içimi serinletici olmalıdır.
- Su hastalık yapan mikroorganizma içermemelidir.
- Suda sağlığa zararlı kimyasal maddeler bulunmamalıdır.
- Su kullanma maksatlarına uygun olmalıdır.
- Su agresif olmamalıdır (Eroğlu, 2008).

2.2 *Escherichia coli*

2.2.1 Tarihçesi

Escherichia coli, ilk olarak 1885 yılında Alman pediatrist Dr.Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve *Bacterium coli commune* adıyla tarif edilmiştir. Daha sonra bağırsak dışı infeksiyonlardaki patojenliği tanınmış ve 1919 yılında Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cins adı önerilene kadar *Bacterium coli* adı kullanılmıştır. 1945 yılında bakımevindeki çocuklarda ishal salgınlarına yol açtığıın gösterilmesiyle bağırsak patojeni olan *Escherichia coli* EPEC suşlarının tanımı başlamıştır. 1969 yılına gelindiğinde Ortadoğu'daki İngiliz askerlerindeki ishal

olgularından ETEC suşları, yine aynı yıllarda Japonya ve Brezilya'da basilli dizanteriden ayırt edilemeyen bağırsak infeksiyonlarına yol açan EIEC suşları izole edilmiştir (Denise, vd., 2000; Pennington, 2014).

2.2.2 Sınıflandırılması

Alem: *Eubacteria*

Şube: *Proteobacteria*

Sınıf: *Gammoproteobacteria*

Takım: *Enterobacteriaceae*

Cins: *Escherichia*

Tür: *Escherichia coli*

İkili ismi: "*Escherichia coli*" T. Escherich, 1885 (Anonim, 2002).

2.2.3 Genel Özellikleri

Escherichia coli, Enterobacteriaceae familyasında *Escherichia* genusuna bağlıdır. Gram negatif özellikte olan cins, 1-1,5 µm eninde ve 2-6 µm boylarındadır. Uçları yuvarlak çomak şeklinde, çoğunlukla hareketli, sporsuz, bazı suşları kapsüllü, asidorezistans özellikte olmayan bir bakteridir (Duffy, vd., 1999).

E. coli, insan ve hayvan gastrointestinal florasının doğal elemanıdır. Konak organizma ile kurulmuş olan simbiyotik denge bozulduğunda *E. coli* bağırsak dışına çıkarak yerleştiği sistemle ilgili klinik tablolara neden olur (Bayar, 2007).

E. coli izolasyonu ve identifikasyonunda çok sayıda besiyeri kullanılabilir. Genel kullanım besiyerlerinde ürerler ve optimal üreme sıcaklıkları 37°C'dir. Ancak 44°C'de de üreyebilirler ve bu özelliklerinden dolayı da *Enterobacter* ve *Serratia* türlerinden ayırtedilebilirler. Bakterinin uygun üreme pH'ı 7,0-7,2'dir (Bilgehan, 2004; Erol, 2007).

E. coli'nin agarda oluşturduğu S tipi koloniler hafif yuvarlak, düzgün, bombeli ve 1-2 mm çapındadır. Kapsüllü *E. coli* kolonileri mukoid özellikte olup, çapları daha büyüktür. Sıvı besiyerlerinde 12-18 saat sonra homojen bir bulanıklık meydana gelirken dipte hafif bir çökelti oluşur ve tüp çalkanınca kolaylıkla dağılır. Daha sonra tüpün üst düzeyinde tüpe yapışık bir ince zar oluşur.

E. coli; Eosin Metilen Blue (EMB) agarda metalik röfle veya madeni parlaklık oluştururken, MacConkey agarda pembe-kırmızı koloni oluşturur (Özaslan, 2009). Salmonella Shigella (SS) agarda üremeleri baskılanır. Ksiloz Lizin Deoksilat (XLD)

agarda sarı, Hektoen Enterik (HE) agarda sarı-turuncu renkte koloni oluşturur. Üç Şekerli Demirli (TSİ) besiyerinde dipte gaz, hem dipte hem de yatık kısımda asit (sarı) reaksiyon verir. Lizin İron Agar (LIA) besiyerinde dipte asit (sarı), yatık kısımda alkali (mor renk) oluşturur (Bilgehan, 2004).

E. coli; bakteri metabolizması, hücre duvarı biyosentezi, hücrelerin bölünme süreçleri, bakteri genetiği ve daha birçok farklı bilimsel çalışmalarda en çok incelenen bakteri türüdür. Dolayısı ile bu bakteri ile yapılan çalışmalar bakterinin genomunun tamamen belirlenmesini sağlamıştır (Willke, 2008).

2.2.4 Morfolojik Özellikleri

Escherichia coli 2-6 µm boyunda ve 1-1,5 µm eninde, düz, çomak şeklinde, uçları yuvarlak bir bakteridir. Bazı kültürlerde normalden uzun, Y harfi şeklinde, dallanan filamentli görünümde bazı kültürlerde de koka benzer şekilde bulunabilir. Peritrik kirpikleri ile hareket edebilir fakat hareketleri genellikle yavaştır. Hareketsiz suşlarında vardır. Bazı suşlarında da kapsül bulunabilir. Gram negatif özellik taşırlar ve bakteriyolojik boyalarla iyi boyanabilirler (Bilgehan, 2004; Ustaçelebi, 1999).

2.2.5 Antijenik Yapısı

Escherichia coli'nin karmaşık ancak iyi bir antijen yapısı vardır. Bu bakteride somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) antijenleri bulunur (Ustaçelebi, 1999). *E. coli* suşlarında 181 somatik, 90 kapsül ve 56 kirpik antijeni vardır. Bakterinin serolojik tiplendirmesi O ve H antijenine göre yapılmaktadır. Bu antijenler sabit ve güvenilir suş özelliğindedir. İshallerle ilişkili *E. coli* suşlarının O ve H serotiplerinin belirlenmesi özellikle epidemiyolojik araştırmalarda faydalıdır (Özaslan, 2009).

O antijenleri: Somatik antijendir ve lipopolisakkarit yapısındadır. Isıya ve kaynatmaya dayanıklı, formole dayanıksızdır. Termotabil özellik gösteren O antijenlerinden en çok rastlanan 25 kadar antijendir (Bilgehan, 1996).

H antijenleri: Protein yapılı, ısıya dayanıksızdır. Alkol ve proteolitik enzimlerle muamele ile inaktive olurlar. Formole dayanıklıdır. H antijeni *Escherichia coli*'de az miktarda olduğundan bunları çoğaltmak için bakterinin yumuşak agarda pasajlarının yapılması gerekir (Bilgehan, 1996; Doyle, 1991).

K antijenleri: Polisakkarit yapıda ve ısıya dayanıklıdır. 100-120°C'de 1-2 saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilir. Bu antijene sahip bakteriler somatik antiserumları ile

aglutinasyon oluşturmaz. Bu antijenler O antijenlerinin aglutinasyonunun meydana gelmesine mani olurlar (Bilgehan, 1996; Halkman, vd., 2001).

2.2.6 Biyokimyasal Özellikleri

Esheria coli; glikoz, laktoz, maltoz, mannitol, ksiloz şekerlerini asit ve gaz yaparak fermente ederken sükröz, salisin, rafinoz gibi şekerlere etkisi değişkendir. Nişastadan gaz oluşturmaz. İndol pozitifdir. Metil-Red testi pozitif, Voges-Proskauer testi negatifdir. Sitrat kullanımı negatifdir. Böylece IMVIC testleri (++--)'dir. Üre besiyerinde üreyi kullanamadığı için üreyemez, KCN testi negatifdir. Genellikle H₂S oluşturmaz. Dezenfektanlara, bazı boya maddelerine (malasit yesili, fuksin vb.), safra ve safra tuzlarına ve %7 NaCl' ye karşı duyarlı, fakat ısı ve soğuga dirençlidir (Bayar, 2007).

E. coli'nin optimal pH değeri nötre yakın olmakla birlikte, diğer koşulların uygun olması halinde pH 4,4 gibi oldukça asidik değerlerde de üreyebilir. *E. coli*'nin patojen olmayan suşları, insanların ve sıcakkanlı hayvanların normal bağırsak florasında bulunur. Etken, dışkı ile dışarı atılarak çeşitli yollarla gıdalara bulaşp enfeksiyon ve intoksikasyonların oluşumuna neden olabilir (Erol, 2007).

2.2.7 Serotipleri ve Patojeniteleri

E. coli suşlarının serotiplendirilmesinde öncelikle O ve H antiserumları kullanılmakta, K antijeni nadiren değerlendirilmektedir. Serotiplendirme sonucunda bakterinin sahip olduğu antijenler yanyana yazılarak *E. coli*'nin hangi serotipe ait olduğu tespit edilir. *E. coli* suşlarının antijen yapılarının belirlenmesi özellikle epidemiyolojik çalışmalarda önemlidir. *E. coli*'nin oluşturduğu çeşitli hastalık tabloları ile özel antijen tipleri arasında ilişkiler bulunmaktadır (Özaslan, 2009).

İnsanlarda diyareye neden olan *E. coli* suşları 2. Dünya Savaşı'ndan sonra ortaya çıkarılmıştır. Bu tarihe kadar düşük virülansa sahip olduğu ve idrar yolları enfeksiyonlarına neden olduğu kabul edilen *E. coli*'nin diyare etmeni olarak tanımlanması ile bu bakteriye karşı bakış değişmiştir. Bugün insanlarda diyareye neden olan *E. coli* serotipleri patojenik, enteropatojenik, enterovirulent, diyarejenik serotipler olarak adlandırılmaktadır. Bu serotipler virülans özellikleri, patojenite mekanizması, klinik sendromlar ve O:H serotiplerine göre; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvaziv (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difüz-adhering (DAEC) ve entero-agregativ (EAggEC) olmak üzere 6 ana grup altında toplanmaktadır (Hudson, vd., 2000).

2.2.7.1 Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

İlk kez 1945 yılında John Bray tarafından “*Bacillus coli nepolitanum*” ismiyle yaz ishaline neden olan etken olarak bildirilmiştir. Günümüzde EPEC, gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda görülen ishalin yaygın etkenidir. Bu ishalde fatalite %30 civarındadır. Sporadik EPEC enfeksiyonları ise endüstriyel ülkelerde görülmektedir. Bununla birlikte endüstriyelleşmiş ülkelerde EPEC’in neden olduğu salgınlar çok seyrek (Eklund, 2005).

Patojenitesi toksinlerle ilgili değildir. Hijyen standartlarının yüksek olduğu yerlerde yaygın değildir. Genellikle gelişmekte olan ülkelerde daha çok görülür. Başlıca rezervuarı insandır. Gıda sektöründe çalışan insanlar ve kanalizasyon suları gıda kontaminasyon kaynaklarıdır. İnsanlara gıdalardan bulaşır. Yetişkinler arasında taşıyıcıların yüksek olmasına rağmen bağışıklık kazanıldığından hastalık nadir görülür (Bilgehan, 1996; Hudson, vd., 2000).

2.2.7.2 Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) suşlarının insanlardaki ishalleri hastalıklarla olan ilişkisi 1960’larda ortaya çıkarılmıştır. O zamandan beri ETEC enfeksiyonlarının gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkma oranı artmıştır (Eklund, 2005).

Hijyen standartları yüksek bölgelerden düşük hijyen standartlarına sahip bölgelere seyahat eden kişilerde daha çok görülmesinden dolayı “turist ishali” ismini almıştır. Turist ishalinin görülen en yaygın şeklidir ve bu ishalin de %60-70 oranında sorumlusudur. Etken genel olarak gıda kontaminasyonu, atık sular ve bakteri ile enfekte olmuş insanlardır. Etken vücuda alındıktan sonra ince bağırsaktaki mukozal hücrelere yerleşerek ısıya dayanıklı ve ısıya dayanıksız iki enterotoksin üretir. Sindirim yoluyla alımından sonra ETEC hücreleri ince bağırsakların mukoza tabakasına yerleşir ve kolonize olur. Burada mukozal hücrelere yapışır; ısıya dayanıklı (ST) ve ısıya dayanıksız (LT) olmak üzere iki enterotoksin üretir. LT, bağırsak hücresinin adenylate cyclase; ST, guanylate cyclase’ını stimüle ederek AMP (adenosine monophosphate) ve GMP (guanosine monophosphate) birikimine neden olur. Sonuçta, bu cyclic nükleotidler, sulu diare ile sonuçlanan sıvı reaksiyonuna neden olur. Etkenin zehirlenme yapabilmesi için gıdada 10⁶ hücre/g oranında bulunması gerekir. Mayonez, hazır gıdalar, fekal materyalle bulaşmış sular, peynir gibi gıdalarda bulunur (Halkman, vd., 2001; Hudson, vd., 2000).

2.2.7.3 Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC, 1944 yılında ilk olarak parakolon basil olarak tanımlanmış daha sonra ise *Esheria coli* O124 olarak tanımlanmıştır. 1971 yılında ise EIEC suşlarının EIEC enfeksiyonu olan kanlı ishale neden olduğu ve genellikle gelir düzeyi düşük ülkelerde daha yüksek oranda görüldüğü tespit edilmiştir (Eklund, 2005).

EIEC enfeksiyonlarının başlıca belirtisi dizanteri tablosudur. *Shigella*'lar tarafından oluşturulan dizanteriye benzerlik gösterir. Kolitis, dizanteri, ateş, abdominal kramp ve kanlı diyare bu hastalığın semptomlarının başlıcalarıdır (Erol, 2007; Özbaş, vd., 1995).

2.2.7.4 Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

EHEC'in ilk olarak 1977 yılında Vero hücrelerine sitotoksik etki ettiği ve bu hücrelerin ölümüne neden olmasından dolayı "verotoksin (VT)" adı verilen bir toksin ürettiği tespit edilmiştir. Dolayısı ile bu patojenlere verositotoksijenik *E. coli* (VTEC) adı verilmiştir (Eklund, 2005).

Bu verotoksinin yapısal ve biyolojik aktivite bakımından *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından üretilen STX toksini ile büyük oranda benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Toksin aynı zamandan anti-STX ile nötralize olabilmış ve bu nedenle Shiga benzeri toksin (Shiga-Like Toksin=SLT) olarak adlandırılmıştır. SLT toksinlerinin 2 ana grubu olduğu bildirilmiştir. Bunlar SLT-I ve SLT-II veya bilinen adıyla VT1 ve VT2'dir. Günümüzde bu toksinler STX1 ve STX2 olarak ayrılmış ve çeşitli varyantları içerdiği saptanmıştır (Eklund, 2005).

Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura olmak üzere üç temel hastalık tablosu oluşturmasından dolayı EHEC diğer *E. coli* tiplerinden daha tehlikelidir. EHEC'in neden olduğu hastalıklar süresince bağırsaklarda kan, karın ağrısı ve hastada bazen kusma görülür. Hastalık ortalama 3-4 gündür. Etkenin başlıca kaynağı süt sığırlarıdır ve genellikle az pişmiş etlerin ve pastörize edilmemiş sütlerin tüketimi ile insanlara geçer (Halkman, vd., 2001).

2.2.7.5 Diffüz Adhering *E. coli* (DAEC)

DAEC, hücre çözücü *Esheria coli* olarak bilinmektedir. Gelişmiş ülkelerdeki patojenlerden biridir ve genelde 12 aylık çocuklarda ishale neden olmaktadır. Patojenite mekanizması yaygın aderans yoluyla. DAEC suşları; epitel hücreleri üzerindeki

yaygın yapışma şekilleri α -hemolizin üretimi ve sitotoksik nekroz faktör-1 ile karakterize edilmektedir (Eklund, 2005).

2.2.7.6 Enteroagregatif *E. coli* (EaggEC, EAEC)

Özellikle çocuklarda görülen akut ve uzun süreli ishalin en önemli etkeni olarak bilinmektedir. Sulu diyareye neden olur. Özellikle Meksika ve Şili'deki çocuklarda ve bu bölgeye seyahat edenlerde sıkça görülür. Gezgin diyaresi ve küçük çocuklarda persistan diyare etkenidir (Özelli, 2004).

2.3 *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi

2.3.1 Tarihçesi

Escherichia coli O157:H7; gıda güvenliği açısından büyük bir tehdit ve gerektiği durumlarda biyoterörizmde kullanılabilen bir bakteridir. *Escherichia coli* serotipleri arasında en önemlisi ve en tehlikelidir. Genelde ölümlü sonuçlanan gıda kaynaklı zehirlenmelerden sorumludur (Alişarlı, vd., 2004; Erol, 2007).

E. coli O157:H7'nin asıl kaynağı sığırlar olmakla birlikte koyun, kedi, köpek gibi diğer sıcakkanlı hayvanlarda kaynak olabilmektedir. İnsanlara bulaşım şekli taşıyıcı ya da hasta hayvanla temas, kişiden kişiye bulaş veya kontamine gıdanın tüketimi ile gerçekleşmektedir (Tosun, vd., 2003). Etkeni taşıyan hayvanların dışkısı gıdaları ve suları kontamine ederek hastalığın yayılmasına neden olur (Hajian, vd., 2011). *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş suların ekili alanlarda kullanımı ile bakteri gıdalara bulaşabilmektedir (Tosun, vd., 2003).

E. coli O157:H7 ilk kez 1975'te, Kalifornia'da ağır kanamalı diyare geçiren kadın bir hastadan izole edilmiştir (Özbaş, vd., 1995). Daha sonra 1982 yılında Amerika'nın Michigan ve Oregon eyaletlerinde bulunan aynı restaurant zincirinden, yetersiz ısı işlem görmüş kontamine hamburgerleri tüketen 47 kişinin, benzer klinik belirtilerle (kramp, karın ağrısı, sulu ve hemorajik diyare) hastanelere başvurması ile ABD Hastalık Kontrol Önleme Merkezi (C.D.C.) tarafından identifiye edilerek, tam anlamıyla bir insan patojeni olarak tanımlanmıştır (Kuntz, vd., 1999; Karaca, 2011).

Bu hastalık tablosunun ardından çeşitli ülkelerde de benzeri salgınlar izlenmiştir. Daha önceliklere benzemeyen hastalığın aniden ortaya çıkması ve çeşitli analizler ile bu bakterinin diğer *E. coli* serotiplerinden ayrılığının gösterilmesi O157:H7 serotipinin

“muhtemelen laboratuvar kaçını bir bakteri” olduğunu düşündürmektedir (Noveir, vd., 2000).

1982 yılında ilk kez Kuzey Amerika’da görülmüş fakat bugün artık 6 kıtada ve en az 16 ülkede hızla yayılan, neden olduğu vakaların sayısı hızla artan bir tehlike haline gelmiştir. Özellikle Mayıs–Ekim ayları arasında ve kış aylarında vaka sayısında artışlar olduğu gözlenmiştir (Alişarlı, vd., 2004; Erol, 2007).

ABD’de *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarından suların sorumlu olduğu düşünülmüştür. Salgından önce soğuk ve yağışlı hava nedeniyle şehrin çevresindeki su kaynakları şehrin ana suyuna karışmıştır. Ayrıca şehrin dışındaki su kaynağından da bu bakterinin izole edilmesi *E. coli* O157:H7’nin su kaynaklarıyla bulaştığını gündeme getirmiştir (Noveir, 1998).

Dünyada en geniş çapta *E. coli* O157:H7 salgını 1990-1995 yılları arasında Kanada’da gözlenmiştir. 7000’den fazla insanı etkileyen bu salgın sonucunda 7 kişide hayatını kaybetmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda bu salgının, *E. coli* O157:H7 serotipinin içme suyuna karışması sonucu ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Michel, vd., 1998; Mackay, 2002).

2.3.2 Biyokimyasal Özellikleri

Escherichia coli O157:H7 suşu biyokimyasal özellikleri diğer *E. coli* suşları ile benzerlik göstermektedir (Gümüşsoy, vd., 2005). *E. coli* O157:H7 serotipi üzerinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları ile bu bakterinin bazı farklı özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Diğer *E. coli*’lerden; 44,5°C-45°C’de gelişmemesi veya az gelişebilmesi, 24 saatte sorbitolü fermente edememesi, β -glukuronidaz enzim aktivitesine sahip olmaması, eae genine sahip olması ve enterohemolizin üretimi ile ayrılır (Gümüşsoy, vd., 2005).

E. coli O157:H7 serotipi glikozdan gaz üretir, üreaz enzimine sahip değildir. H₂S oluşturmaz ve indol testi pozitifdir. *E. coli* O157:H7’nin optimal üreme sıcaklığı 37°C olmasına rağmen 20-40°C de, optimal pH’ı 7-7,2 olmasına rağmen, pH 5-8’de üreyebilmektedir (Leyer, vd., 1995).

E. coli O157:H7 serotipinin yüksek tuz konsantrasyonlarına da direnç gösterdiği belirtilmektedir. Yapılan bir araştırmada *E. coli* O157:H7’nin 200 ppm nitrit ve %4 NaCl içeren ve pH’sı 5,6 olan sıvı besiyerinde gelişebildiği bildirilmiştir (Sarı, 2006).

2.3.3 Gelişimi ve Canlı Kalması

2.3.3.1 Sıcaklığın Etkisi

Escherichia coli O157:H7, minimum 8°C olmak üzere genelde 30-42°C'ler arasında iyi ürerken, optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. 44,5-45°C'de ise yavaş gelişmektedir. Bakteri sıcaklığa duyarlıdır ve pastörizasyonla inaktive olur. *E. coli* O157:H7 soğuğa dirençlidir. -20°C'de dondurulmuş gıdalarda (kıymalarda) canlılıklarını koruyabilirler. Ayrıca - 80°C'de dondurulan kıyma içinde *E. coli* O157:H7 bakteri popülasyonunda önemli bir değişiklik olmadığı da belirtilmiştir (Karaca, 2011).

Uzun süreli araştırmalar sonucu O157:H7 serotipinin 7-10°C'lerden 50°C'lere kadar geniş değerlerde gelişebildiği fakat optimal üreme ısısının 37°C olduğu tespit edilmiştir (Temelli, 2002).

Murano ve Pierson'un 1993'te ısı şoku ve gelişme atmosferinin *E. coli* O157:H7 serotipinin ısı direnci üzerindeki etkisini incelediği araştırmaya göre bakterilerin normal gelişme sıcaklıklarının birkaç derece üzerindeki sıcaklıklara maruz bırakıldıklarında hücrelerin yeni bir grup protein sentezlediği ve daha sonra normalde kendileri için öldürücü olabilecek sıcaklıklara karşı daha iyi direnç gösterdikleri gözlemlenmiştir. Aerobik ve anaerobik koşullarda üreyebilen *E. coli* O157:H7'ye ısı şoku uygulanması sonrasında, ısı işlemlerde canlı kalan organizma sayısının arttığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda, bakteriye uygulanan ılımlı ısı stresi veya ısı şokunun bakterinin inhibisyonu için seçilen proses sıcaklığında, canlı kalabilme yeteneğini arttırabileceği belirtilmiştir (Murano, vd., 1993).

2.3.3.2 Asit toleransı

E. coli O157:H7'yi diğer patojen bakterilerden ayıran en önemli özelliklerin başında asidik koşullara karşı dirençli olması gelmektedir. Etkenin gıdalarda canlılığını koruyabilme özelliği ile fermente sucuk, elma suyu gibi asidik gıdaların tüketiminden kaynaklı enfeksiyonların nedenine açıklık getirmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda pH' ı 3,4-4,0 olan elma şarabında 8°C'de 31 gün canlı kalabildiği ve yine laktik asit, asetik asit ve sitrik asit ile yapılan denemelerde de canlı kalabildiği belirtilmiştir. *E. coli* O157:H7 üzerine bazı organik asitlerin baskılayıcı etkileri asetik asit > laktik asit > sitrik asit sıralaması şeklindedir (Erol, 2007; Özbaş, vd., 1995).

E. coli O157:H7'nin optimum pH değeri 5,7-7,5 arasındadır. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda pH 3,6'da buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen gıdalarda

canlılığını korumakta, pH değeri 4,0 olan sıvı kültürlerde ise üreyebildikleri belirtilmektedir (Erol, 2007). Patojen olan *E. coli*'nin pH 5,4'ün altında üreyemediği için *E. coli*'nin O157:H7 serotipinin düşük pH'lı ortamlara dayanıklı olduğu, bu konuda ortamdaki asit çeşidinin etkili olduğu ifade edilmektedir. Etkenin aside karşı direnci ortam pH'ına ve üreme fazına bağlıdır ve birçok EHEC suşu için asit tolerans düzeyinin de oldukça yüksek olduğu, *E. coli* O157:H7'nin pH'sı 2,5 ve 3,0 olan ortamlarda en az 5 saat canlı kalabildiği bildirilmiştir (Arocha, vd., 1992).

E. coli O157:H7'nin pH 1,5-2,5 aralığında bile 3-4 saat canlı kalabildiği belirtilmiştir. Bu da *E. coli* O157:H7'nin düşük dozlarda bile mide asitinden geçerek infeksiyonlara neden olması ile açıklanmaktadır (Wang, vd., 2000).

2.3.3.3 Tuz Konsantrasyonu

E. coli O157:H7 serotipi yüksek tuz konsantrasyonlarına direnç göstermektedir. Yapılan araştırmalarda *E. coli* O157:H7'nin %6,5 NaCl'da gelişebildiği, NaCl'ün inhibisyon etkisinin %8,5 derişimde başladığı bildirilmiştir (Halkman, vd., 2001).

E. coli O157:H7'nin gelişimi üzerinde inkübasyon derecesi ve tuz oranının etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada etkenin 7°C'de %6 NaCl içeren TSB (Tryptic Soy Broth) besiyerinde birinci gün üreme gösterdiği fakat 38. günde ise üremenin görülmediği tespit edilmiştir (Massa, vd., 1999).

2.3.3.4 Su Aktivitesi

E. coli O157:H7'nin optimum su aktivitesi (aw) değeri 0,98 olarak belirlenmiştir. Bu değer 0,95'in altına düştüğü durumlarda etkenin üremesinin engellendiği bildirilmiştir. Hayvan dışkıları *E. coli* O157:H7 için yaşanmaya uygun bir ortamdır ve burda aylarca canlılığını koruyabilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin 5°C'de 0,98 su aktivesinde 70 gün yaşayabildiği, ayrıca 108 hücre/gram *E. coli* O157:H7 taşıyan bir dışkıda 99 gün sonra bile organizmanın canlılığını koruyabildiği tespit edilmiştir. Bu patojenin canlılığını toprakta bu kadar uzun süre devam ettirebilmesi insanlarda neden olduğu infeksiyonlar açısından önemlidir (Caprioli, vd., 2005).

2.3.4 Toksinleri

E. coli O157:H7'nin patojenitesi tam olarak açıklanamamış olmakla beraber önemli virülans faktörleri tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda tüm klinik izolatların 1 ya da 2 verotoksin ürettikleri, bunların doku kültüründe geliştirilen Vero ve HeLa hücre

kültürlerine sitotoksik oldukları saptanmıştır. Saflaştırılmış broth toksinleri Verotoksin-1 (VT-1) ve Verotoksin-2 (VT-2) olarak adlandırılmıştır (Halkman, vd., 2001; Beutin, vd., 2004).

Bu toksinlerden birincisi Shigatoksin 1 (STX1), *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından oluşturulan STX1 ile *Shigella dysenteriae*'nin oluşturduğu STX1 sadece A polipeptitindeki tek aminoasit ile ayrılır. Bu özelliğinden dolayı O157:H7 serotipinin ürettiği bu toksin Shiga-Like toxin 1 (SLT-1) veya Shiga Toxin 1 (STX1) olarak adlandırılır. İkinci toksin; Shiga Toxin 2 (STX2); Shiga toxin (STX1) ile %55–60' lık bir homolog benzerliğe sahip olmasına rağmen Shiga Like Toxin 2 (STX2) olarak adlandırılmıştır. Bu toksinlerin çalışma mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır. Ciddi klinik semptomların daha çok STX 2 üreten *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarından kaynaklandığı görülmektedir. Özellikle Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) vakalarında izole edilen toksin STX 2'dir. STX'ler intestinal sistemde bakteri tarafından üretildikten sonra dolaşım sistemine karışarak iç organlarda hasara neden olurlar (Abdullah, vd., 1999; Halkman, vd., 2001).

2.3.5 Neden Olduğu Hastalıklar

İnsanlar ve sıcakkanlı hayvanlar enterohemorajik *E. coli*'nin esas kaynağıdır. Bu kaynaklara ait dışkı veya lağım suları ile çevre kirlenmesi ve bunun ardından su ve gıdalarda kaynaklarında oluşabilecek kontaminasyon ile etkenin alınması mümkün olmaktadır. 50'den fazla suşu olduğu tespit edilen EHEC'in insanlarda hemorajik kolitis, Hemolitik Üremik Sendrom, ve Trombotik Trombositopenik Purpura meydana getiren en yaygın suşu O157:H7, *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından üretilen SLT olarak da bilinen vero sitotoksin veya verotoksin üretebilme yeteneğine sahiptir. Bu yüzden Shigella benzeri toksin üreten *E. coli* (STEC) olarak da tanımlanmaktadır ve başlıca 3 tip hastalığa neden olmaktadır (Sarı, 2006).

2.3.5.1 Hemorajik Kolitis

Hemorajik kolit, 1982'de Amerika'nın Oregon ve Michigan eyaletlerinde kanlı ishal sendromuna neden olan özel restoran zincirlerine ait hamburgerlerin tüketilmesi sonucunda gözlenmiştir. Hemorajik kolitin belirtileri kanlı dışkı, ateş ve abdominal kramp'tir. Bu eyaletlerdeki vakaların yarısında dışkıdan *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Daha sonra bu serotipin STX ürettiği gösterilmiştir (Yokuş, 2010).

EHEC için tipik belirti olan hemorajik kolitisin ortaya çıkmasına invaziv bakteriler tarafından oluşturulan sitotoksin neden olur. Yapılan çalışmalar STX'in hemorajik kolitin önemli bir sebebi olarak gösterilmiştir (Erol, 2007).

2.3.5.2 Hemolitik Üremik Sendrom

Escherichia coli O157:H7, 1982 yılından beri hemorajik kolitis ve Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) nedeni olarak ABD, Kanada, İngiltere, Japonya, Avrupa ve Afrika gibi ülkelerde görülmektedir (Erol, 2007). *Escherichia coli*'nin en önemli virülans faktörlerden olan şigatoksine ait reseptörler bağırsak ve böbrek hücrelerinde bulunur. Toksin böbrekte akut böbrek yetmezliğine ve kanamalara neden olur. Oluşturduğu klinik tabloya Hemolitik Üremik Sendrom denmektedir (Kuşoğlu, vd., 2011).

Hastalık ilk olarak 1955'te tanımlanmıştır. İngiltere'de çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada HUS'un akut renal yetmezliğin en önemli nedeni olduğu belirlenmiştir. Özellikle yaz aylarında sporadik vakalarda küçük epidemiler şeklinde gözlemlendiği söylenmiştir. Bu sendromda genellikle kanlı diyareyle seyreden gastroenteriti takiben akut olarak başlayan mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve renal yetmezlik ile karakterize edilir. Toplumda yayılım hızı çok düşüktür fakat çocuk ve yaşlılarda hızlı yayılabilmektedir (Arslantürk 1996). Yaşlılarda HUS; ateş ve TTP olmak üzere iki ilave semptom ile görülür (Halkman, vd., 2001).

2.3.5.3 Trombotik Trombositopenik Purpura

Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)'nin belirtileri mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni, nörolojik hastalık, renal hastalık ve ateştir. TTP, birçok yönüyle HUS' a benzer fakat daha çok yetişkinlerde görülür. Genelde ateşle birlikte gözlenir ve hastalığın öncesinde HUS'un belirtileri olan diyare gibi bulgular görülmez. Çalışmalarda hastaların %14'ünde karın ağrısı görüldüğü belirlenmiştir (Bayar, 2007). TTP'de merkezi sinir sistemi bozukluğu temel özelliktir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşur ve ölüm görülür (Doyle, 1991).

2.3.6 *E. coli* O157:H7 İzolasyon Yöntemleri

E. coli O157:H7 serotipinin gıdalarda, sularda, klinik ve çevre örneklerinde aranmasına yönelik klasik ve gelişmiş olarak 2 ana grupta toplanabilecek yöntemi bulunmaktadır. *E. coli* O157:H7 serotipinin aranmasında klasik yöntemler gelişmiş yöntemlere göre

sarf malzemesi açısından daha avantajlı fakat iş gücü maliyeti, analizin duyarlılığı ve sonuca ulaşma süresi açısından daha dezavantajlıdır (Halkman, vd., 2001).

2.3.6.1 Klasik Yöntemler

E. coli O157:H7 serotipinin belirlenmesi için kullanılan klasik yöntemlerin çoğu var/yok testleridir. Bu testlerde, genelde selektif zenginleştirme ve katı besiyerine ekim aşamalarından oluşmaktadır ve analiz edilecek olan bakterinin belirli miktar örnek içerisinde varlık ya da yokluk durumu araştırılmaktadır. Buna göre materyalde *E. coli* O157:H7'nin varlığının gösterilmesi sırasıyla selektif bir sıvı besiyerinde zenginleştirme, selektif ve ayırt edici bir katı besiyerine ekim, şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve/veya lateks aglutinasyon testleri ile *E. coli* O157 olarak belirlenmesi ve en son olarak izolatanın H7 antijeni içerip içermediğinin belirlenmesidir. *E. coli* O157 olduğu saptanan izolatların verotoksin analizlerinin de yapılması gerekmektedir. Belirlenen izolatanın H7 olup olmadığı H7 antiserumu ile belirlenebilmektedir (Halkman, vd., 2001).

E. coli O157:H7 için selektif katı besiyeri olarak en çok Sorbitol MacConkey (SMAC) agar ve bu besiyerinin çeşitli modifikasyonları kullanılmaktadır. SMAC agarda MacConkey agardan farklı olarak laktoz yerine sorbitol kullanılmıştır. Sorbitolu fermente etmemesi nedeni ile sorbitol negatif olan *E. coli* O157:H7 bu besiyerinde renksiz koloniler meydana getirir ve bu özelliği ile de sorbitol pozitif bakterilerden ayırt edilebilmektedir (March, vd., 1989; Smith, vd., 1993).

SMAC agar içerisinde bulunan safra tuzları ve kristal viyole boya ile Gram pozitif bakterilerin üremesini engellenmektedir. SMAC ile yapılan araştırmalarda agar; cefixime ve tellurite, antiserum, ramnoz ve cefixime ile modifiye edilebilmekte ve refakatçi flora baskılanabilmektedir (Özbaş, vd., 1995; Fujisawa, vd., 2000).

E. coli O157:H7 suşlarının belirlenmesinde kullanılan lateks kiti iki adet lateks solüsyonu içermektedir. Bu solüsyonlardan test solüsyonu, *E. coli* O157 antijenine özel tavşan antikoru ile kaplanmış lateks partiküllerinden oluşurken, kontrol solüsyonu pre-immun halde buluna tavşan globülinleri içerir. Burada test edilecek kültürler SMAC agarda geliştirikten sonra, sorbitol negatif koloniler, lateks aglutinasyon testine tabii tutularak test sonucu 1 dakika içerisinde tespit edilebilmektedir (Halkman, vd., 2001).

2.3.6.2 Gelişmiş Yöntemler

Klasik yöntemlerle çok sayıda enfeksiyon teşhis edilebilmesine rağmen bazı koşullarda bu yöntemler yetersiz kalmakta ve özellikle refakatçi floranın baskılanması nedeni ile sahte negatif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Yenilenen analiz teknikleri ile başta DNA esaslı testler ve immuno enzimatik yöntemler olmak üzere çeşitli analiz yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır. Yenilenen ve gelişen yöntemlerle birlikte, serolojik metotlar, özellikle immunoassay, radioimmunoassay (RIA), floresan immunoassay (FIA), enzim immunoassay (EIA), immün peroksidaz testleri vs. katılarak bakterilerin belirlenmesinde daha güvenli ve daha erken sonuçlar alınmaktadır. Fakat dezavantaj olarak bu testlerin pahalı olmasının yanında ve testlere hakim personele duyulan ihtiyaç oldukça fazladır (Halkman, vd., 2001).

İmmunomanyetik ayırım yöntemi ile çalışan sistemler üzerinde son yıllarda yoğun bir ilgi vardır. Bu yöntemde monoklonal antikorlarla kaplanmış manyetik tanecikler kullanılır. Bu antikorlar bakteriyi bağlayarak onların sayımını mümkün kılmaktadır (Okrend, vd., 1992). İmmunomanyetik ayırım yönteminde O157 spesifik antikorların paramanyetik parçacıklara tutturulması şeklinde bir selektif zenginleştirme ile dışkıda 107 kob/g koliform bakteri bulunurken 102 kob/g düzeyindeki *E. coli* O157:H7 belirlenebilmiştir. Bu yöntem pek çok araştırmacı olarak güvenilir ve duyarlı olarak bulunmuş ve doğrulama için doğrudan izolasyon sağlaması nedeni ile diğer gelişmiş analiz yöntemlerine göre avantajlı olarak tanımlanmıştır (Halkman, vd., 2001).

Son dönemlerde *E. coli* suşlarının toksin oluşturan serotiplerinin belirlenmesinde multipleks PCR yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem ile bifteklerde *E. coli* O157:H7 ve toksinlerinin araştırıldığı bir çalışmada PCR'ı inhibe eden gıda parçacıkları iki aşamalı basit bir filtrasyon ile giderilebilmiştir. Bu yöntem ile genel bir besiyerinde 37°C'da 6 saat inkübasyon ile 103 kob/g, bir gece inkübasyon ile 1 kob/g düzeyinde duyarlık sağlanmaktadır. Benzer şekilde yürütülen bir araştırmada da multipleks PCR tekniği kullanılarak başarılı sonuçlar alınmıştır. "Restriction-site specific-PCR; RSS-PCR" yöntemi ile çevresel örneklerden izole edilmiş çok sayıdaki *E. coli* izolatının *E. coli* O157:H7 olup olmadığının belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılabileceği, bunların dışında lazer taramalı konfokal mikroskopik araştırmalar ile de etlerde *E. coli* O157:H7'nin belirlenebileceği gösterilmiştir (Erol, 2007; Halkman, vd., 2001).

2.3.7 *Escherichia coli* O157:H7'nin Sularda Tespiti

Gıdaların ve suların mikrobiyolojik kalitelerinin saptanması amacı ile yapılan kontrollerin olabildiğince basit ve hızlı bir şekilde gerçekleşebilmesi için birçok yeni analiz yöntemi geliştirilmektedir (Dudak, vd., 2006).

Sularda *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 bakterisinin araştırılması yapılırken önce suda bulunabilecek koliform bakterilerin varlığı araştırılır (Rice, vd., 1996; Rothmaier, vd., 1996).

Var/yok testi ile yapılan analizlerde selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, izolasyon, biyokimyasal identifikasyon ve serolojik yöntemlerle doğrulama aşamaları vardır. Sularda bulunan diğer refakatçi bakterilerin *E. coli* O157:H7'yi maskeleyesi ile sahte negatif sonuçlar alınabilmesi nedeni ile analizlerde daha duyarlı yöntemler kullanılmaktadır (Halkman, 2000).

Koliform bakteriler, insan ve hayvan dışkılarında bulunan bakterilerin büyük çoğunluğunun oluşturur. Tifo ve diğer su enfeksiyonu etkenleri sulara genellikle dışkı ile karışırlar. Dolayısı ile dışkı ile kontamine olmuş suda patojen bakteriler, virüsler ve koliform bakteriler bulunur. Yapılan araştırmalara göre tifolu hastanın dışkısı ile kontamine olmuş bir suda, tifo basillerinden çok koliform bakteriler bulunmaktadır. Dolayısı ile suda koliform bakterilerin bulunmaması suyun temiz olduğuna, belli bir miktarın üzerinde bulunması ise o suyun tehlikeli olduğuna işaret eder (Öztelli, 2004).

Bir gıda maddesinde, suda ya da herhangi bir materyalde *E. coli* araştırılmasına yönelik tüm yöntemler koliform bakteri araştırılması işlemi temel alır. Bu yöntemler en muhtemel sayı (EMS) yöntemi, katı besiyeri kullanılan yöntemler, membran filtrasyon yöntemi olarak sınıflandırılmaktadır (Halkman, 2000).

2.3.7.1 En Muhtemel Sayı Yöntemi

Genel olarak koliform/fekal koliform bakteriler sayılırken EMS yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar sırası ile;

- Koliform bakterilerin muhtemel sayısını belirlemek,
- Koliformların kesin sayısını onaylamak ve aynı anda farklı bir besiyerinde fekal koliformların sayısını belirlemek,
- *E. coli* sayısını belirlemektir.

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ve Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO)'ne göre koliform bakterileri aramak için kullanılan standart analiz yöntemlerine göre örnek hazırlanıp dilüsyonları yapılır. Daha sonra ardışık 5 dilüsyondan 3'er adet Lauryl Sülfat

Tryptoz Broth (LST) besiyerine 1'er ml. ekim yapılır. 37°C'de 24 saat (gerekirse 48 saat) inkübasyona bırakılır. Ardından pozitif sonuç veren tüpler muhtemel koliform bakteri olarak değerlendirilir. Yöntemde muhtemel koliform bakteri sayısının doğrulanması içinde Brilliant Green Bile Broth (BGBB) besiyerine ekim yapılır. 37°C'de 24 saat (gerekirse 48 saat) inkübasyona bırakılır. Pozitif sonuç veren tüpler koliform olarak doğrulanır (Halkman, 2000).

TS 6063/ISO 7251'e göre EMS yöntemi ile *E. coli* aranmasında analiz koliform bakteri grubunda olduğu gibi hazırlanıp dilüsyonların yapılmasından sonra, ardışık 5 dilüsyondan 3'er adet LST besiyerine 1'er ml. ekim yapılır. Daha sonra tüpler 37°C'de 24 saat (gerekirse 48 saat) inkübasyona bırakılır. Ardından pozitif sonuç veren tüplerden 44,5°C'de tutulan *E. coli* (EC) Broth besiyerlerine ekim yapılır ve gaz oluşumu için yine 44,5°C'de 24 saat (gerekirse 48 saat) inkübe edilir. Bu sürenin sonunda gaz oluşumu görülen tüpler fekal koliform olarak değerlendirilir. Sonra EC Broth besiyerinde pozitif sonuç veren tüplerden 44,5°C'deki Trypton Water (TW) besiyerine ekim yapılır. Yine bu sıcaklıkta 48 saat inkübasyona bırakılır. İndol testi yapılır. İndol pozitif sonuç veren tüpler *E. coli*, indol negatif sonuç veren tüpler ise diğer fekal koliform bakteriler olarak değerlendirilir (Halkman, 2000).

2.3.7.2 Katı Besiyeri Yöntemi

Dünyada birçok yasal kuruluş tarafından koliform bakteriler ve *E. coli* aranmasında analiz yöntemi olarak EMS yöntemi belirlenmesine rağmen özellikle izolasyon amaçlı sayım çalışmalarında katı besiyeri yöntemi tercih edilmektedir. Bu amaçla genel olarak Violet Bile Red (VRB) Agar kullanılmaktadır. Bu besiyerinde sayım yapılırken yayma, dökme ve çift tabaka dökme plak yöntemleri kullanılmaktadır.

Petriefilm VRB yöntemi, VRB Agar besiyerine alternatif olarak tercih edilebilmektedir. Bu yöntemde VRB Laktoz Agar besiyeri kullanılması önerilmektedir. Besiyeri hazırlanırken katılaştırıcı ajan olarak agar yerine soğuk suda çözünebilen bir madde kullanılmaktadır. Bileşenler kurutularak üzeri plastik film ile kaplanmış halde kullanıma hazır olarak satılmaktadır. Yönteme göre seyreltiden veya direkt örnekten 1 ml alınarak besiyeri üzerine ilave edilir. Plastik film üzerine basınç uygulanarak örneğin 20 cm² alana yayılması sağlanır. 32°C'da 24 saat inkübasyondan sonra, etrafında bir veya daha fazla gaz kabarcığı görünen koloniler koliform olarak sayılır. Burada koliform ya da diğer tür kolonilerin rengi kırmızı olur.

E. coli'nin sayımında bir diğer katı besiyeri olarak Triptik Soy Agar (TSA) kullanılmaktadır. Bu besiyeri dökme plak şeklinde hazırlanır. 35°C'de 2 saat inkübe edilir ve daha sonra besiyerine ikinci tabaka olarak VRB Agar ile kaplanır. 44,5°C'de 24 saat inkübe edilir. Bu yöntemde diğer yöntemlere göre hasar görmüş olan *E. coli* hücreleri daha rahat bir şekilde sayılabilmektedir.

Koliform bakteri izolasyonunda kullanılan diğer bazı katı besiyerleri; Fecal Coliform Agar, Pepton Tergitol Glucuronide Agar, Deoxycholate Agar, Endo Agar, EMB Agar, Brilliant Green Agar, XLD Agar'dır (Halkman, 2000).

2.3.7.3 Membran Filtrasyon Yöntemi

Membran filtrasyon yöntemi özellikle su ve diğer sıvı gıdaların analizinde kullanılmaktadır. Bu yöntemde mikroorganizmalar membran bir filtreden geçirilerek filtre üzerinde tutunmaları sağlanmaktadır. Ardından filtreler analize uygun besiyerleri üzerine yerleştirilir. İnkübasyon sonrasında oluşan koloni sayısı ile analizi yapılan materyaldeki mikroorganizma sayısı hesaplanabilmektedir. Filtreler üzerinde bulunan kareler yardımı ile mikroorganizmaların sayımı kolaylaşmaktadır (Halkman, 2000).

Membran filtrasyon işleminde temel amaç sıvı örnekler içerisinde bulunan partiküllerin filtre tarafından tutulmasını sağlamaktır. Burada yapılan fiziksel bir işlemdir. Membran filtrasyon işleminde analiz edilecek olan örneğin türüne göre por çapı farklı büyüklüklerde olan filtreler kullanılabilir (Anonim, 2013).

Membran filtrasyon yönteminin diğer yöntemlere göre en önemli avantajı örnekte çok az sayıda bile bulunabilecek mikroorganizmaların belirlenmesidir. İnkübasyondan sonra filtreler kurutularak saklanabilmektedir (Halkman, 2000).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Malzemeler

- Tiyosülfatlı su numune şişesi
- Tiyosülfatsız su numune şişesi
- pH metre
- İnkübatör (2 adet, 36°C ve 44°C'lik)
- Buzdolabı
- Otoklav
- Steril Pipetler
- Alkol (%70'lik)

3.2 Kullanılan Besiyerleri

Tergitol TTC NKS/ NPS (Sartorius 14056)

TS EN ISO 9308-1 yöntemine uygun olan bu besiyeri, ham maddeler, su, atık su, meşrubatlar gibi sıvılardaki ve diğer ürünlerdeki *E. coli* ve koliform bakterilerin belirlenmesi için kullanılır. Standart membran filtrasyon tekniğinde kullanılan besiyeridir. 0,45 µm, beyaz zemin üzerine yeşil çizgi ile karelendirilmiş selüloz nitrat membran filtre ile kullanılır. Bu filtreler, NKS/NPS filtreler olarak bilinir. NKS; Almanca "Nährkartonscheiben" kelimesinin kısaltılmış şeklidir ve İngilizce karşılığı "Nutrient Ped Sets" (NPS)'dir. Tüm dünyada bu kısaltma çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Anonim, 2013). Steril, kullanıma hazır dehidre besiyeridir (Anonim, 2014). TTC Tergitol besiyeri özel yöntemlerle bileşim maddeleri pedlere emdirilmiş, kurutulmuş, herbiri steril petri kaplarına yerleştirilmiş ve tek tek steril paketlenmiş hazır besiyeridir. Hazırlanmasında enerji ve zaman faktörünü sıfıra indiren besiyerleridir. Kurutulmuş hazır besiyerlerinin kullanılabilmesi için dozajlama şırıngası tarafından 3,5 ml distile su ile ıslatılması gerekmektedir (Anonim, 2013).

Bileşim: Lactose, Meat extract, Yeast extract, Peptone, Tergitol (1%), Bromothymolblue, TTC (1%)

Tryptone Soy Agar (TSA; Lab011)

In vitro standart mikrobiyolojik analizlerde genel katı besiyeri olarak kullanılır. İndikatör ve inhibitör içermeyen, çok amaçlı kullanım alanına sahip genel katı

besiyeridir. TTC besiyerinde üremiş olan *E. coli*'leri çoğaltmak ve ISO 9308-1 yöntemine göre oksidaz testini yapmak için kullanıldı (Anonim, 2004).

Bileşim:	Tryptone	15,0 g/L
	Soy Peptone	5,0 g/L
	Sodium chloride	5,0 g/L
	Agar-agar	12,0 g/L

Fluorocult Lauryl Sulfate Tryptose + MUG Broth (Merck 1.12588)

In vitro standart mikrobiyolojik analizlerde koliform grup bakteriler ve özellikle *Escherichia coli*'nin aranması ve sayılması için selektif sıvı besiyeri olarak kullanılır. Bakterilerin β -glukurorinidaz enzimine sahip olması ve floresan oluşumu yönünden incelenmesi için kullanıldı (Anonim, 2013).

Bileşim:	Tryptose	20,0 g/L
	Lactose	5,0 g/L
	NaCl	5,0 g/L
	Sodium Lauryl Sulfate	0,1 g/L
	K ₂ HPO ₄	2,75 g/L
	KH ₂ PO ₄	2,75 g/L
	L-Tryptophane	1,0 g/L
	MUG	0,1 g/L

Eosin Methylene Blue Agar (EMB; Oxoid CM0069)

In vitro standart mikrobiyolojik analizlerde Enterobacteriaceae familyasının patojen üyeleri ve koliform grup bakteriler için selektif katı besiyeri olarak kullanılır. Besiyerindeki boyalar başta Gram pozitif bakteriler olmak üzere refakatçi floranın gelişimini baskılar. Bileşimindeki laktoz ve sakkaroz nedeni ile her iki karbohidrat bakımından negatif olan *Salmonella*, *Shigella* ayrımı için geliştirilmiştir. Yaygın olarak koliform grup bakteri sayımında ve *E. coli* tanımlanmasında kullanılır (Anonim, 2013)

Bileşim:	Peptone	10,0 g/L
	Lactose	10,0 g/L
	Dipotassium hydrogen phosphate	2,0 g/L
	Eosin Y	0,4 g/L
	Methylene blue	0,065 g/L
	Agar	15,0 g/L

Sorbitol-MacConkey Agar (SMAC; Merck 1.09207)

Klinik örneklerden *E. coli* O157:H7'nin izolasyonu için kullanılan seçici besiyeridir. Bu besiyeri normal MacConkey agarda bulunan %1 laktoz yerine %1 sorbitol ilavesi ile *E. coli* O157:H7 serotipinin belirlenmesi için geliştirilmiştir (Öngen, 2008).

Bileşim:	Peptone	20,0 g/L
	NaCl	5,0 g/L
	Bile Salts	31,5 g/L
	Sorbitol	10,0 g/L
	Crystal violet	0,001 g/L
	Neutral red	0,03 g/L
	Agar-agar	15,0 g/L

3.3 Kullanılan Alet, Ekipman ve Kimyasallar

Membran Filtre (Sartorius 11406)

Selüloz nitrattan oluşmaktadır ve uygulamalarda yüksek renkte kontrast sağlayan arka plana sahiptir. Özel olarak geliştirilmiş ve filtrasyon sırasında hızlı akış sağlayan por aralığı 0,45µm'dir. Membran filtre 47-50 mm genişliğinde çapa sahiptir ve genelde beyaz, yeşil ya da gri renklerinde olabilmektedir (Anonim, 2006).

Oksidaz Testi (Merck 113300)

Oksidaz reaksiyonu aerobik bakterilerde sitokrom oksidaz sisteminin bulunduğunu ifade eder. Bu test mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve intraselüler olan oksidaz enziminin varlığını ortaya koymak için kullanılır. Bu enzim demir içeren bir hemoproteindir ve nonfermentatif (aerobik) solunuma katılır. İncelenen bakteride bu enzim bulunuyorsa ayırıcı indofenol mavisine oksitler ve mavi-mor renk açığa çıkar (Aydın, 2004). Çalışmada ticari olarak satışa sunulan oksidaz test çubukları kullanıldı ve kutu üzerindeki renk skalası ile karşılaştırmalar yapılarak sonuçlar değerlendirildi.

Bileşim:	N,N-Dimethyl-1	
	4-phenylenediammonium chloride	0,1 µmol
	α-naphthol	1,0 µmol

Kovacs' İndol Ayıracı (Merck 1.09293)

Bu test mikroorganizmaların bir aminosit olan triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılmaktadır. Araştırmada ticari olarak satışa sunulan Kovacs' indol ayıracı kullanıldı (Baden, 2011).

Bileşim: n-Butanol
Hidroklorik asit
4-dimetilaminobenzenaldehit

UV lamba (Merck UV lamp 366 nm)

Ticari olarak satışa sunulan 366 nm'lik dalga boyunda ultraviyole (UV) test lambası kullanıldı (Halkman, vd., 2011).

Membran Filtrasyon Seti (Sartorius 16612)

Membran filtrasyon işleminde kullanılan düzenekler; vakum pompası, vakum hortumu, vakum erleni, ana gövde, filtre gövdesi ve membran filtrelerden oluşmaktadır. Burada kullanılan ana gövde otoklavda sterilizasyona dayanıklı camdan veya tercihen paslanmaz çelikten yapılmıştır. Filtrelerin por çapları, filtrenin üst yüzeyinden alt tarafa doğru ilerledikçe 3-5 kat genişleyecek şekilde yapılmıştır. Bu nedenle bakteriler üst tarafta tutulurken, besiyeri kapiller hareketle kolayca yukarıya doğru yükselebilmekte ve böylece filtre üzerinde kalan mikroorganizmaların besin maddelerini alarak gelişmeleri ve koloni oluşturmaları sağlanmaktadır. Filtrelerin yapıldıkları membranların cinsine göre tek kullanımlık ya da tekrar kullanılabilir olanları bulunmaktadır. Burada kullanılan pedler, steril dehidre besiyeri içerdikleri için 3,0-3,5 ml steril demineralize su ile ıslatılıp, hemen kullanıma hazır hale getirilmektedir (Anonim, 2014).

***E. coli* O157:H7 Aglutinasyon Test Kiti (Remel Wellcolex ZC61)**

E. coli O157:H7 var/yok analizlerinde kullanılan bir hızlı lateks aglutinasyon testi olan Remel Wellcolex testi ticari olarak satışa sunulan test kitleri prosedürüne uygun olarak kullanıldı (Halkman, vd., 2011).

Test Prosedürü

Wellcolex *E. coli* O157:H7 iki test reaktifi içerir. O157 test reaktifi; *E. coli* O157 için özel tavşan antikorlarıyla kaplanmış kırmızı lateks parçacıklarından oluşmuş bir

süspansiyondur. *E. coli* O157 için özgül tavşan antikorları ile kaplı lateks partikülleri içeren süspansiyon, *E. coli* O157 antijeni taşıyan bakterilerle karıştırıldığı zaman aglutinasyon meydana gelir. Benzer şekilde H7 test reaktifi; *E. coli* H7 antijenlerine özgül antikorlarla kaplı mavi lateks parçacıkları içeren süspansiyondur. Bu süspansiyonla *E. coli* H7 antijeni taşıyan bakteriler karıştırıldığı zaman aglutinasyon meydana gelir (Anonim, 2014).

Kit İçeriği

O157 test lateksi, O157 kontrol lateksi, H7 test lateksi, H7 kontrol lateksi, pozitif kontrol (inaktive edilmiş *E. coli* O157:H7 antijenleri), negatif kontrol (inaktive edilmiş *E. coli* O106:H33 antijenleri), reaksiyon kartları ve karıştırma çubuklarını içerir (Anonim, 2014).

3.4 Su Örneklerinin Toplanması

Bu araştırmada Mart – Haziran 2014 tarihleri arasında Sivas ili Gemerek, Şarkışla, Ulaş, Yıldızeli, Zara ilçelerinden elde edilen 200 adet içme ve kullanma suyu örnekleri *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığı bakımından incelendi. Örneklerin toplanmasında Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (SKKY) Numune Alma ve Analiz Metodları Tebliği esas alındı. (Şekil 1.)

No	Tarih	Suyun Alındığı İlçe	Suyun Alındığı Yer
1	26.03.2014	Şarkışla	Çatalyol Köyü
2	“	“	Döllük Köyü
3	“	“	Elmalı Köyü
4	“	“	Harunköy Köyü
5	“	“	Merkez Hüyük Köyü
6	“	“	Maksütlük Köyü
7	“	“	Polatpaşa Köyü
8	01.04.2014	“	Karacaören Köyü
9	“	“	Başören Köyü
10	“	“	Demirboğa Köyü
11	“	“	Karaklıpınar Köyü
12	“	“	Kanalga Köyü
13	“	“	Oluktaş Köyü

14	“	“	Samankaya Köyü
15	“	“	Tavladere Köyü
16	“	“	Uçuk Köyü
17	“	“	Yeniyapan Köyü
18	02.04.2014	“	Güçük Köyü
19	“	“	Baltalar Köyü
20	“	“	Çekem Köyü
21	08.04.2014	“	Sultanköy Köyü
22	“	“	Demirköprü Köyü
23	“	“	İğecik Köyü
24	09.04.2014	“	Akçakışla Bel.
25	“	“	Kızıcakışla Bel.
26	15.04.2014	“	İğecik Köyü
27	“	“	Demirköprü Köyü
28	“	“	Kevenik Köyü
29	“	“	Elmalı Köyü
30	06.05.2014	“	İğdeliören Köyü
31	“	“	Yapracık Köyü
32	07.05.2014	“	Alıkören Köyü
33	“	“	Kazancık Köyü
34	“	“	Kahvepınar Köyü
35	“	“	Küçüktopaç Köyü
36	“	“	Sarıkavak Köyü
37	“	“	Fakılı Köyü
38	“	“	Kılıççı Köyü
39	“	“	Kaymak Köyü
40	“	“	Karakuz Köyü
41	“	“	Ortatopaç Köyü
42	08.05.2014	“	Saraç Köyü
43	“	“	Sarıkaya Köyü
44	“	“	Hüyükköy Köyü
45	“	“	Sivrialan Köyü
46	03.06.2014	“	Kahvepınar Köyü

47	“	“	Küçüktopaç Köyü
48	“	“	Sarıkavak Köyü
49	“	“	Fakılı Köyü
50	10.04.2014	Zara	İğdeli Köyü
51	“	“	Kanlıçayır Köyü
52	“	“	Kurukköprü Köyü
53	“	“	Sancakkale Köyü
54	“	“	Kısık Köyü
55	“	“	Büyükköy Köyü
56	“	“	Belentarla Köyü
57	16.04.2014	“	Cemal Köyü
58	“	“	Danışık Köyü
59	“	“	Korkut Köyü
60	“	“	Şerefiye Beldesi
61	17.04.2014	“	Evrencik Köyü
62	“	“	Söğütözü Köyü
63	“	“	Kardere Köyü
64	29.04.2014	“	Canova Köyü
65	12.05.2014	“	Ağlıkçay Köyü
66	“	“	Aluçluseki Köyü
67	“	“	Topaktaş Köyü
68	“	“	Evrencik Köyü
69	13.05.2014	“	Aşağımescit Köyü
70	“	“	Yukarımescit Köyü
71	“	“	Taşgöze Köyü
72	“	“	Yeşildere Köyü
73	“	“	Atgeçmez Köyü
74	14.05.2014	“	Kürünlü Köyü
75	“	“	Söğütlüağıl Köyü
76	15.05.2014	“	Eymir Köyü
77	“	“	Kavasbaşıçifliği Köyü
78	02.06.2014	“	Yeşildere Köyü
79	“	“	Atgeçmez Köyü

80	“	“	Zoğallı Köyü
81	“	“	Pozarak Köyü
82	“	“	Eymir Köyü
83	“	“	Ütük Köyü
84	03.06.2014	“	Karacahisar Köyü
85	“	“	Akören Köyü
86	“	“	Kuşçu Köyü
87	“	“	Gümüşçevre Köyü
88	“	“	Ilca Köyü
89	19.03.2014	Ulaş	Kurtlukaya Köyü
90	“	“	Boğazdere Köyü
91	“	“	Kazanpınar Köyü
92	“	“	Çevirme Köyü
93	“	“	Hacıyurt Köyü
94	20.03.2014	“	Şenyurt Köyü
95	“	“	Çavdar Köyü
96	25.03.2014	“	Yapalı Köyü
97	15.04.2014	“	Yenikarahisar Bel.
98	“	“	Küpeli Köyü
99	“	“	Acıyurt Köyü
100	“	“	Yenikarahisar Bel.
101	16.04.2014	“	Kapukaya Köyü
102	“	“	Eskikarahisar Köyü
103	“	“	Gürpınar Köyü
104	29.05.2014	“	Karacalar Köyü
105	“	“	Karasar Köyü
106	“	“	Y.K.Hisar Geven Köyü
107	“	“	Kurtoğlu Köyü
108	“	“	Çevirme Köyü
109	20.03.2014	Yıldızeli	Danaören Köyü
110	“	“	Karacaören Köyü
111	“	“	Buğdayören Köyü
112	“	“	İğdecikler Köyü

113	25.03.2014	“	Avcıpınar Köyü
114	“	“	Cizözü Köyü
115	“	“	Nevruz Köyü
116	26.03.2014	“	Delikaya Köyü
117	“	“	Davulalan Köyü
118	27.03.2014	“	Karakoç Köyü
119	“	“	Kaleköy Köyü
120	31.03.2014	“	Akçalı Köyü
121	“	“	Banaz Köyü
122	“	“	Kalın Bel.
123	“	“	Ortaklar Köyü
124	“	“	Ortaçakmak Köyü
125	“	“	Mumcuçiftliği Köyü
126	“	“	Gökkaya Köyü
127	“	“	Alaca Köyü
128	08.04.2014	“	Esmebaşı Köyü
129	“	“	Şeyh Halil Köyü
130	10.04.2014	“	Kaman Köyü
131	17.04.2014	“	Geynik Köyü
132	“	“	Doğanlı Köyü
133	22.04.2014	“	Direkli Köyü
134	“	“	Emirler Köyü
135	“	“	Gökçeli Köyü
136	28.04.2014	“	Erenler Köyü
137	“	“	İncetaş Köyü
138	“	“	İğnebey Köyü
139	29.04.2014	“	Kavak Bel.
140	“	“	Kümbet Bel.
141	30.04.2014	“	Kaleköy
142	“	“	Akçakale Köyü
143	08.05.2014	“	Belçik Köyü
144	“	“	Karakaya Köyü
145	“	“	Kıllık Köyü

146	12.05.2014	“	Bedel Köyü
147	“	“	Nevruz Köyü
148	13.05.2014	“	Çağlayan Köyü
149	“	“	Çöte Köyü
150	“	“	Karakoç Köyü
151	“	“	Merkez Yeniköy
152	“	“	Yiğitler Köyü
153	“	“	Yeriyapan Köyü
154	“	“	Yılanlıkaya Köyü
155	“	“	Yusufoğlan Köyü
156	27.05.2014	“	Yaylagöze Köyü
157	“	“	Yeşilalan Köyü
158	“	“	Yolkaya Köyü
159	“	“	Yukarıkecik Köyü
160	“	“	Karaleylek Köyü
161	“	“	Nallı Köyü
162	“	“	Karalar Köyü
163	“	“	Sarıkaya Köyü
164	28.05.2014	“	Kapaklıkaya Köyü
165	“	“	Kavakdere Köyü
166	“	“	Kayalıpınar Köyü
167	“	“	Kırkpınar Köyü
168	“	“	Konaközü Köyü
169	“	“	Yücebaca Köyü
170	“	“	Kargın Köyü
171	24.03.2014	Gemerek	Çepni Bel.
172	“	“	Kümerören Köyü
173	“	“	Bulhasan Köyü
174	“	“	Eskiyurt Köyü
175	“	“	Örenyurt Köyü
176	14.04.2014	“	Gemerek Bel.
177	“	“	Yeniçubuk Bel.
178	“	“	Çepni Bel.

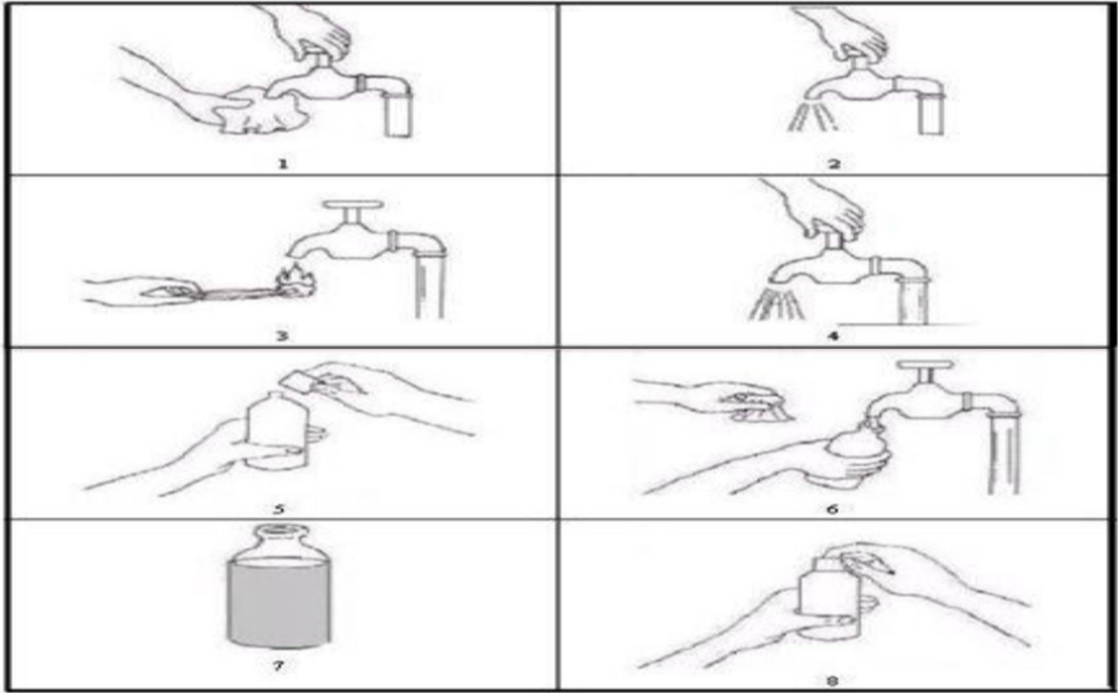
179	“	“	İnkışla Bel.
180	“	“	Sızır Bel.
181	“	“	Eğerci Bel.
182	“	“	Ağçaşar Köyü
183	21.04.2014	“	Hacıyusuf Köyü
184	“	“	Karaerkek Köyü
185	“	“	Kartalkaya Köyü
186	“	“	Karaağıl Köyü
187	21.05.2014	“	Gem. Bel.
188	“	“	Sızır Bel.
189	“	“	Kocaoğlu Köyü
190	“	“	Kümerören Köyü
191	“	“	Çepni Bel.
192	“	“	Yeniçubuk Bel.
193	“	“	Tatlıpınar Köyü
194	“	“	Eskiçubuk Köyü
195	“	“	İkizce Köyü
196	“	“	Küçüktuzhisar Köyü
197	“	“	Çepni Bel.
198	“	“	Sızır Bel.
199	“	“	Kümeören Köyü
200	“	“	Kocaoğlu Köyü

Tablo 1. Su örneklerinin alındığı ilçe ve köyler

Örnekler numune toplama şişelerinde ve soğuk zincir altında getirildikleri Sivas İl Sağlık Müdürlüğü Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda analize alındı. Çalışma daha sonra Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütüldü. Araştırma TS EN ISO 9308-1 standartına göre gerçekleştirildi. Araştırma için gerekli olan izinler T.C. Sivas Valiliği'nden, onaylar Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 07.01.2014 tarihinde 2014-01/01 nolu karar ile alındı.

	Gemerek	Şarkışla	Ulaş	Yıldızeli	Zara	Toplam
Örnek Alınan Bölgeler	30	49	20	62	39	200

Tablo 2. Su örneklerinin alındığı ilçelere göre dağılımı



- 1- Musluk ağzı temiz bir bez ile silindi.
- 2- Su musluktan 2 dakika boyunca akıtıldı.
- 3- Ardından musluk ağzı alevden geçirilerek kuru ısı ile sterilizasyona tabii tutuldu.
- 4- Musluk orta şiddette açılarak su 2 dk. boş akıtıldı.
- 5- Numune alınacak şişelerin ağzı alevden geçirildi.
- 6- Yaklaşık 300 ml miktarında örnek alındı.
- 7- Numune şişelerinin ağzı tekrar alevden geçirildi ve kapatıldı.
- 8- Soğuk zincirde incelenmek üzere laboratuvara getirildi (Anonim, 1991).

Şekil 1. Sulardan bakteriyolojik numune alma

3.5 Koliform ve *Escherichia coli* Analizi İçin Membran Filtre Tekniği

3.5.1 Filtrasyon

Filtrasyon işlemine başlamadan önce çalışma alanı kontaminasyonu engellenmek amacı ile %70'lik etil alkolle dezenfekte edildi. Ortamda sterilizasyonu sağlamak için ve havadan gelebilecek kontaminasyon riskine karşı Bunzen beki açıldı. Dehidre halde, hazır bulunan TTC Tergitol besiyeri dozajlama şırıngası kullanılarak 3,5 ml distile suyla ıslatıldı. Filtrasyon sistemindeki her bir filtre bek alevinden geçirilerek sanitize edildi. Filtrasyon için önce her bir filtre sistemine membran filtreler, ardından da süzme hunileri yerleştirildi. Numune şişeleri iyice çalkalandı ve sular hunilere her bir hunide 100 ml su olacak şekilde boşaltıldı. Vakum pompası çalıştırıldı, vakum muslukları açıldı. Yaklaşık 30 sn.-1 dk. bekledikten sonra suların süzülme işlemi tamamlandı. 200 adet su örneğinin her biri membran filtrasyon cihazı ile (16612, Sartorius, Göttingen, Germany) por büyüklüğü 0,45 µm olan steril sellüloz nitrat filtrelerden vakum uygulanarak süzüldü. Her bir su örneği için ayrı membran filtre kullanıldı (Dufour, vd., 1975).

Su örneğinde varsa mevcut bütün bakteriler 0,45 µm por çaplı membran filtre üzerinde toplandı. Filtrasyon işlemi bittikten sonra vakum muslukları kapatıldı. Süzme hunileri kaldırılıp, membran filtreler üst yüzeyleri yukarda kalacak şekilde, alevden geçirilen steril bir pens yardımı ile tutarak TTC Tergitol besiyerine, besiyeri ve membran filtre arasında hiç hava kalmayacak bir şekilde yerleştirildi (Anonim, 2004).

3.5.2 İnkübasyon, Doğrulama ve Değerlendirme

Filtrasyon işlemi 36°C ve 44°C'lik sıcaklıklardaki iki ayrı inkübasyon için tekrarlandı ve bu sıcaklıklarda 24 ve 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında filtre üzerine tutunmuş olan her bir bakteri besiyerlerinde üreyerek koloniler oluşturdu. Bu sıcaklıklarda besiyerlerinin altında sarı renkli zon oluşturan tüm koloniler şüpheli olarak değerlendirildi (Özaslan, 2009).

3.5.2.1 Koliform Bakterilerin Doğrulanması

Oksidaz testi yapmak ve koliform bakterileri çoğaltma amacı ile TTC Tergitol besiyerindeki şüpheli kolonilerden seçilerek TSA (Tryptik Soy Agar) besiyerine ekim yapıldı. Dehidre halde olan TSA besiyeri, 37,0 g/L olacak şekilde tartılarak, damıtık su içinde ısıtılarak eritildi ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi. Steril petrilere

12,5'er mL dökülerek dökme plaklar hazırlandı (Anonim, 2013). Besiyerine kolonileri tek tek düşürmek için seyreltme yöntemi ile zik zak çizgi ekimi yapıldı. $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 21 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. Üreme görülen besiyerlerindeki kolonilere oksidaz çubukları sürüldü ve 30 sn. içinde mavi-mor renk oluşumu gözlenen oksidaz çubuklarındaki koloniler oksidaz pozitif (+), renk değiştirmeyen, beyaz oksidaz çubuklarındaki koloniler ise oksidaz negatif (-) olarak değerlendirildi. Koliform bakteriler oksidaz (-) negatiftir.

3.5.2.2 Fekal Koliform Bakteri Doğrulaması

Fekal koliform bakterilerde oksidaz testi için TTC Tergitol besiyerindeki şüpheli kolonilerden seçilerek TSA besiyerine zik zak çizgi ekim yapıldı ve 44°C 'de 21 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oksidaz çubukları kolonilere sürüldü ve 30 sn. içinde mavi-mor renk oluşumuna gözlenen çubuklardaki koloniler oksidaz (+), mavi-mor renk oluşumu gözlenmeyen koloniler ise oksidaz negatif (-) olarak değerlendirildi. Fekal koliform bakteriler oksidaz (-) negatiftir.

3.5.2.3 *E. coli* Doğrulaması

TSA besiyerinde 37°C 'de üremiş olan oksidaz (-) kolonilerden LST+MUG broth besiyerine ekim yapıldı. Dehidre halde LST+MUG besiyeri 36,5 g/L olacak şekilde tartılarak, damıtık su içinde eritildi, deney tüplerine 10'ar ml dağıtılıp otoklavda 121°C 'da 15 dakika sterilize edildi. Broth besiyeri hazırlandı. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı renktedir (Anonim, 2014). TSA besiyerinde oksidaz (-) özellikte olan bakterilerden iğne öze ile alınarak LST+MUG broth besiyerine iyice karıştırılarak ekim yapıldı ve 37°C 'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Bulanıklık ve gaz oluşumu gözlenen tüpler 366 nm dalga boylu UV lambası ile incelendi ve floresan ışın verme durumuna göre tüplere 2-3 damla indol reaktifi damlatıldı. Birkaç saniye içerisinde besiyeri üzerinde kırmızı-pembe renklerinde oluşan halka indol pozitif (+) olarak değerlendirildi. Oksidaz (-) ve indol (+) olan şüpheli koloniler *E. coli* olarak doğrulandı ve şüpheli görülen bakteriler %16'lık gliserollü buyyonda -20°C 'de muhafaza edildi (Anonim, 2014).

3.5.2.4 *E. coli* O157:H7'nin Katı Besiyerinde İzolasyonu

Gliserollü buyyon da bekletilen bakteriler çözünmesi için buzdolabından çıkarıldı. Bakterileri canlandırmak ve *E. coli* olduklarını doğrulamak amacı ile EMB besiyeri

hazırlandı. Dehidre besiyeri 37,5 g/L olacak şekilde tartılarak, damıtık su içinde ısıtılarak eritildi, otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi. 60°C'ye kadar soğutuldu ve petrilere 12,5-13 ml dökülerek dökme plak hazırlandı (Anonim, 2014). Şüpheli koloniler EMB agara yayma yöntemi ile ekildi. 37°C'de 18 saat inkübasyonun ardından *E. coli* olduğu doğrulanan bakterilerden *E. coli* O157:H7 serotipini araştırmak için SMAC besiyeri hazırlandı. Dehidre halde SMAC (Sorbitol MacConkey) besiyeri, 25,75 g/500 ml tartılarak distile su içinde eritildi ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi. Steril petri kutularına 12,5'er ml dökülerek dökme plak hazırlandı (Anonim, 2014). Şüpheli bakteriler SMAC agara tek koloni elde etmek için seyreltilerek her çizişte azalan zik zak çizgi yöntemi ile ekildi. 37°C'de 18 saat inkübasyonun ardından üremeler değerlendirildi. Renksiz koloni oluşumu gözlenen örnekler kontrol amaçlı olarak bir kez daha SMAC agara ekildi ve 37°C'de bir gün daha inkübasyonun ardından besiyerlerinde tekrar renksiz koloni oluşumu gözlenmesi üzerine lateks aglutinasyon testi uygulanmak üzere *E. coli* O157:H7 kiti hazırlandı ve şüpheli koloniler test edildi.

3.6 Biyokimyasal Testler

3.6.1 β -glukuronidaz testi

Fluorocult Lauryl Sulfate Tryptose Broth+MUG (Merck 1.12588) sıvı besiyerine TSA besiyerinde şüpheli görülen kolonilerin inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Tüpler 366 nm dalga boyundaki UV lamba ile floresan oluşumu (mavi röfle) yönünden incelendi (Gümüşsoy, vd., 2005). Floresan ışın verenler β -glukuronidaz pozitif (+), floresan ışın vermeyenler β -glukuronidaz negatif (-) olarak değerlendirildi (Sezgin, 2013).

3.6.2 İndol Testi

İçerisinde LSTB+MUG bulunan tüplere 0,5 ml Kovacs' indol ayırıcı damlatıldı ve yaklaşık 60 sn. kadar beklenildi. Tüplerin üst kısımlarında oluşan pembe-kırmızı halka indol (+) olarak kabul edildi.

3.7 Serolojik Testler

***E. coli* O157:H7 Lateks Aglutinasyon Testi**

E. coli O157:H7 serotipinin varlığını araştırmak amacı ile Wellcolex *E. coli* O157:H7 lateks aglutinasyon test kiti kullanıldı. Oksidaz testi negatif (-), indol testi pozitif (+) olan ve sorbitolü fermente etmeyen kùltùrlerdeki kolonilere *E. coli* O157:H7 aglutinasyon testi test prosedùrüne gùre uygulandı (Gùmùşsoy, vd., 2005).

4. BULGULAR

Bu araştırmada Mart-Haziran 2014 tarihleri arasında Sivas ili Gemerek, şarkışla, Ulaş, Yıldızeli ve Zara ilçelerinden temin edilen 200 adet içme ve kullanma suyu rneği *E. coli* O157:H7 serotipi bakımından incelendi.

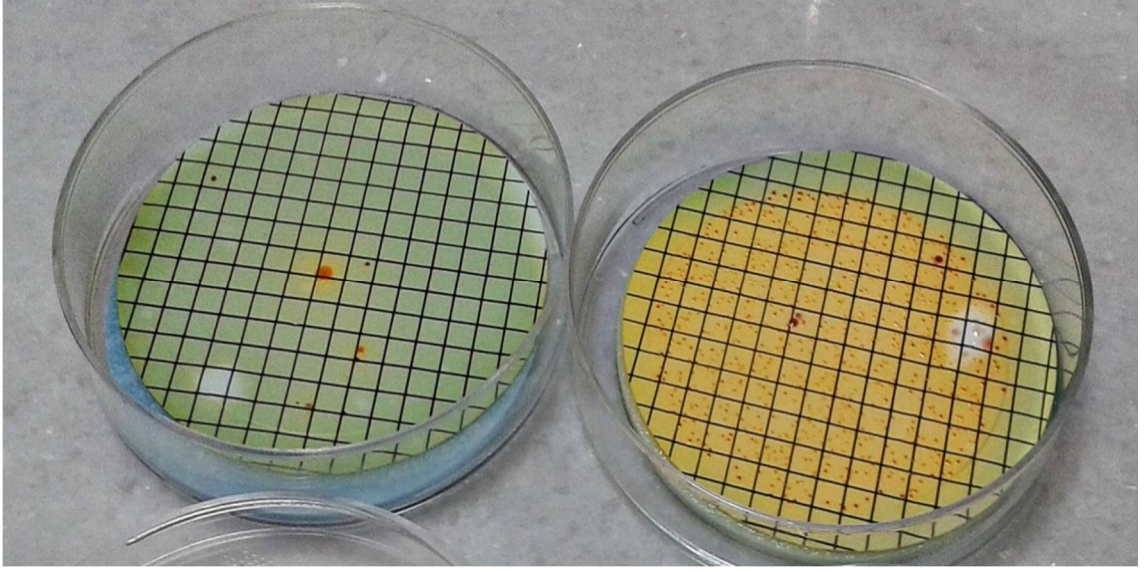
200 adet su örneğinin 80 tanesi koliform bakteri olarak belirlendi. Bu bakterilerden 66'sı *E. coli* olarak değerlendirildi. Bu bakterilerin EMB agara ekilmesi ile bakterilerin tamamı *E. coli* olarak doğrulandı. SMAC agara ekilen 66 adet bakteriden 3 tanesi sorbitol negatif özellik göstererek renksiz koloni oluşumuna neden oldu. Bu koloniler *E. coli* O157:H7 yönünden şüpheli olarak değerlendirildi ve lateks aglütinasyon testine tabii tutuldu.

	Gemerek	şarkışla	Ulaş	Yıldızeli	Zara	Toplam
rnek Sayısı (n)	30	49	20	62	39	200
<i>E. coli</i> (n)	11	16	5	21	13	66
<i>E. coli</i> (%)	36,67	32,70	25	33,90	33,30	33
Koliform Bakteri (n)	12	20	8	24	16	80
Koliform Bakteri (%)	40	40,82	40	38,71	41,02	40

Tablo 3. *E. coli* ve Koliform bakteri izolasyon sonuçları

4.1 Tergitol TTC Besiyerindeki reme Sonuçları

TTC Tergitol besiyeri toplam koliform ve *E. coli* tayini amacı ile kullanıldı. Besiyerinde gözlenen renk değişikliklerine bağlı olarak 200 adet örnek içerisinden 80 adet koliform bakteri izole edildi.



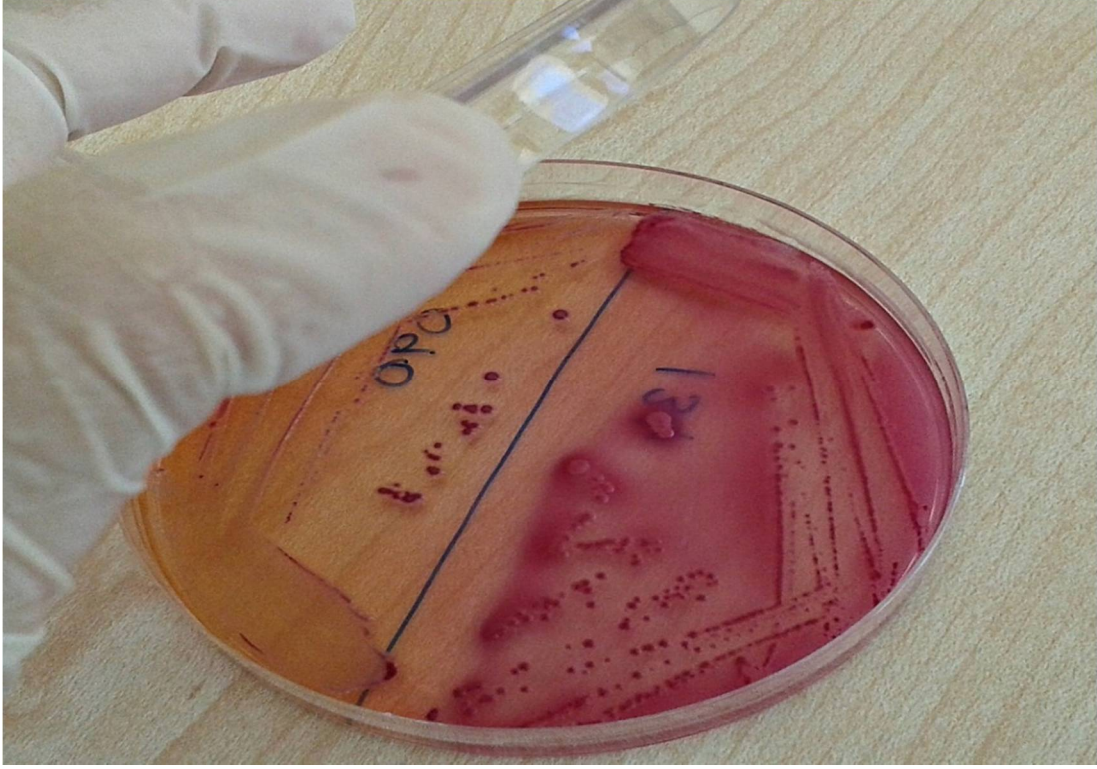
Şekil 2. Koliform bakterilerin TTC Tergitol besiyerinde üreme görünüşleri

4.2 LSTB + MUG Broth Besiyerindeki Üreme Sonuçları

LSTB+MUG besiyeri bakterilerin β -glukurorinidaz enzim aktivilerini test etmek ve indol testi uygulamak amacı ile kullanıldı. 80 adet koliform bakteri arasından *E. coli* O157:H7 serotipi için β -glukurorinidaz (MUG) enzim aktivitesi negatif sonuç alınmadı. 66 örnek, β -glukurorinidaz (MUG) enzim aktivitesi pozitif ve indol testi pozitif olarak değerlendirildi.

4.3 SMAC Agardaki Üreme Sonuçları

SMAC agarda gözlenen üremeler sonucunda, 66 örnek arasından 3 örneğin besiyerinde renksiz koloniler oluşturduğu tespit edildi. Bu koloniler *E. coli* O157:H7 serotipi açısından şüpheli olarak değerlendirildi. Diğer 63 örnekten pembe renkli koloniler izole edildi ve sorbitol (+) olduklarından değerlendirilmeye alınmadı.



Şekil 3. *E. coli* bakterilerinin SMAC agarda üreme görüntüleri

4.4 *E. coli* O157:H7 Lateks Aglutinasyon Testi sonucu

Çalışmalarımız sonrasında oksidaz testi (-), indol testi (+) ve SMAC agarda renksiz koloni oluşturarak sorbitol (-) olduğu belirlenen 3 örnekten alınan şüpheli kolonilere *E. coli* O157:H7 lateks aglutinasyon testi uygulandı. Prosedüre göre uygulanan test sonucunda *Escherichia coli* O157:H7 serotipine rastlanmadı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İçme ve kullanma suları, içme, yemek yapma, temizlik, kişisel bakım ve diğer evsel amaçlarla, gıda maddelerinin ve diğer insani tüketim ürünlerinin hazırlanması, işlenmesi, saklanması ve pazarlanması amacı ile kullanılan, kaynağına bakılmaksızın asıl hali ile ya da arıtılmış bir şekilde ister kaynağından ister dağıtım ağından temin edilen; fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak belirli parametrik değerlere sahip, ticari amaçla satışa sunulmayan sulardır (Kolören, vd., 2011).

İçme ve kullanma suları sürekli insan ve hayvan kaynaklı kontaminasyon faktörleri ile temas halindedir. Klorlama ile yapılan kontrol çalışmalarının yetersiz kaldığı noktalarda ortaya çıkan patojen etkenler kısa vade ve uzun vadede halk sağlığını tehdit etmektedir. Patojen etkenleri taşıyan suların tüketilmesi ile oluşan salgının yanında yetersiz ve dengesiz beslenme sonucu ile oluşan salgınlarda dünyanın birçok yerinde insanlar yaşamlarını yitirebilmektedir. Şehir şebeke sularının mikrobiyolojik kontrolleri sık sık yapılmalıdır. Kanalizasyon sistemlerinin yeterince güvenilir olmaması ve şebekeye ait borularda oluşan su kesintileri nedeniyle ortaya çıkan negatif basınca bağlı olarak, içme ve kullanma sularına olan sızıntı ile koliform bakteri kontaminasyon riski artmaktadır. Yine içme ve kullanma sularının klorlama işlemi yapıldıktan sonra gerekli etkileşim görülmeden tüketilmesi sonucu oluşabilecek salgın riski artmaktadır. Bu ve benzeri nedenlerden dolayı içme ve kullanma sularının kontrolü zorunlu hale gelmektedir (Avcı, vd., 2006). Bu sularda herhangi bir kirlilik tespit edildiğinde, kirlenme nedeni, kirlilik kaynağı araştırılmalı ve bu neden ortadan kaldırılmadan sular kullanılmamalıdır (Akhan, vd., 2007).

Suların rutin kontrollerinde salgın hastalık yapan patojenlerin tümünün araştırılması pratik olmadığından sularda fekal kirlilik indikatörü olan mikroorganizmalar yani koliform grubu mikroorganizmalar; Enterokoklar, *E. coli* ve sülfid indirgeyen anaerob bakteriler aranmaktadır (Alişarlı, vd., 2007).

İnsanların ve hayvanların bağırsak florasında bulunan *Escherichia coli* gıda hijyeninde indikatör mikroorganizma olarak kabul edilmektedir. Bu mikroorganizmaya içme-kullanma sularında ve gıdalarda rastlanması halinde fekal bir kontaminasyon olduğu düşünülmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipinin gıdalarda ve sularda bulunması halinde ise tüketim maddesinin hijyenik kalitesinin düşmesinin yanında ölümcül bir enfeksiyon tehlikesi ile de karşı karşıya kalınmaktadır (Ertaş, vd., 2013).

Sularda koliform bakteri ve *E. coli* varlığı hakkında ülkemizde ve dünyada yapılan birçok çalışma bulunmaktadır.

Avcı ve ark. (2006), Tokat İli içme sularını çoklu tüp yöntemi ile inceledikleri çalışmalarında toplam örneklerinin %12,7'sini koliform bakteri yönünden pozitif değerlendirmişlerdir.

Ağaoğlu ve ark. (2000), Van ve yöresindeki kaynak sularının mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesini konu edinen araştırmalarında koliform bakterilerin sayımı için tahmin ve doğrulama deneylerini uygulamışlar ve sonuç olarak sularda %33 oranında koliform bakteri tespit etmişler.

Alemdar ve ark. (2009), Bitlis ili içme sularının mikrobiyolojik ve fiziksel özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında koliform ve *E. coli* sayımında membran filtrasyon yöntemini kullanmışlar ve suların %7'sinde koliform, %7'sinde *E. coli* izole etmişlerdir.

Özaslan (2009), Adana içme suyunda fekal koliform bakteri aradığı çalışmasında koliform organizmaların tayini için membran filtre tekniğini kullanmış ve örneklerin %8,5'ini fekal koliform bakteriler yönünden pozitif olarak değerlendirmiştir.

Demir (2008), Isparta ve çevresinde içme suyu kalitesini araştırdığı çalışmasında membran filtrasyon yöntemini kullanmış ve çalışmasında fekal koliform bakteriye rastlamamıştır.

Burke ve ark. (1984), Batı Avustralya'daki 21000 nüfuslu bir şehirde Aralık 1981 ve Aralık 1982 yılları arasında bir yıl süre ile evlerde kullanılan içme ve kullanma suları ile yaptıkları bir araştırmada örneklerden %11 oranında *E. coli* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Hasde ve ark. (2002), Ankara il merkezinde bulunan askeri birliklerdeki kuyu sularının mikrobiyolojik kalitesini polimeraz zincir reaksiyon sistemi ile araştırmışlar ve *E. coli* oranını %50 olarak saptamışlardır.

Akman (1966), Erzurum ili içme suları ile ilgili yaptığı çalışmada 75 su örneğinin 15'inde (%20) *E. coli* tespit etmiştir.

Köksal ve ark. (2007), İstanbul'un içme suyu kaynakları, arıtma sistemleri ve şebeke sularını indikatör ve bazı patojen bakteriler açısından değerlendirdikleri bir çalışmalarında %2 oranında *E. coli* bulduklarını bildirmişlerdir.

Alişarlı ve ark. (2007), Van içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesini inceledikleri bir çalışmada Van merkez ve ilçelerden topladıkları 366 adet su örneğini membran filtrasyon yöntemi ile incelemişler ve Van merkezde kuyu sularının %7'sini,

kaynak/çeşme sularının %13'ünü, ilçelerdeki kuyu, kaynak/çeşme ve musluk sularının ise sırasıyla %24, %11 ve %1'ini *E. coli* yönünden standartlara uygun bulmamışlardır.

E. coli O157:H7 serotipi, sık gözlenen bir bakteri değildir. Bakterinin izolasyonunda coğrafik konuma ve mevsimsel değişikliklere bağlı olarak farklılıklar gözlenmektedir. Bakteri daha çok Kanada, İngiltere, Kuzey Amerika'da izole edilmiştir. Özellikle bahar aylarında bakteri izolasyonunun arttığı gözlemlenmiştir. Ülkemizde henüz O157:H7 serotipi salgınına rastlanmamıştır fakat bu durum bulaş ve salgın riskini ortadan kaldırmamaktadır (Öztelli, 2004).

E. coli O157:H7 serotipinin sulardaki varlığı hakkında dünyada ve ülkemizde birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalardan bazılarında bu serotipe rastlanılırken bazı araştırmaların sonucunda serotiple karşılaşma olmamıştır.

E. coli O157:H7 serotipini diğer *E. coli*'lerden ayıran en önemli özellik β -glukuronidaz enziminin olmaması sonucu MUG reaksiyonuna verdiği tepkinin negatif olmasıdır. SMAC agarda diğer *E. coli*'lerden farklı olarak renksiz koloni meydana getirir. *E. coli* O157:H7 saf kültür elde etmek amacıyla sorbitol içeren besiyerine ekim yapılması gerekir. SMAC agardaki sorbitolün ayrıştırılmasıyla birlikte indol aktivitesinin de *E. coli* O157:H7 suşunun identifikasyonunda çok önemli bir özellik olduğu ve indol aktivitesinin, indolün triptofana hidrolizi ile sonuçlandığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Doyle, 1991).

Bopp ve ark. (2003), PCR ve IMS yöntemleriyle sularda yaptıkları bir *E. coli* O157:H7 araştırmasında, bu serotipi izole etmişlerdir ve bu sonucu su kaynağına yakın bölgelerde yer alan foseptik çukuruna bağlamışlar.

Kerr ve ark. (1999), şişelenmiş mineral sularında aradıkları *E. coli* O157:H7'yi membran filtrasyon yöntemi ile izole etmişler ve bakterilerin bu sularda 70 gün canlı kalabildiklerini kaydetmişlerdir.

Jay ve ark. (2007), yaptıkları bir araştırmada 2006 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin 26 farklı eyaletinde ortaya çıkan, 3 kişinin öldüğü ve 205 kişinin ağır hasta olarak hastanede tedavi gördüğü *Escherichia coli* O157:H7 salgınına, hayvan dışkı ve yeraltı sularının karıştığı yüzey suları ile sulanan ıspanakların tüketilmesinin yol açtığı belirlemişlerdir.

1991 yılının yaz aylarında Oregon'da yapay göldeki fekal kontaminasyon sonucu, 21 çocuğun enfekte olduğu, aynı yıl Missouri'de kaynak sularının dezenfekte edilmemesi sonucu, 243 kişinin etkilendiği ve 4 kişinin öldüğü salgınlar bulunmaktadır.

Ayrıca Güney Afrika'da da içme ve sulama sularının kontaminasyonu sonucu 2000 adet *E. coli* O157:H7 vakası bildirilmiştir (Temelli, 2002).

Öztelli (2004), Bayburt ili içme sularında *Escherichia coli* O157:H7 serotipi aramış fakat sulara bu serotipe hiç rastlamamıştır. Araştırmasını EMS yöntemi ile yürütmüştür.

Bu araştırmada Sivas ili Gemerek, Şarkışla, Ulaş, Yıldızeli ve Zara ilçelerinden temin edilen 200 adet içme ve kullanma suyu örneği bakteriyolojik ve serolojik yöntemler kullanılarak *E. coli* O157:H7 serotipi bakımından incelendi. İncelenen 200 adet örneğin 80 tanesi selektif TTC Tergitol besiyerinde üreyerek koliform bakteri olarak değerlendirildi. Bu bakteriler arasında MUG içeren LSTB besiyerinde mavi röfle verip, indol testi pozitif çıkan 66 tanesi *Escherichia coli* olarak değerlendirildi. Röfle vermeyen 14 örneğin diğer fekal koliform bakteriler olduğu düşünüldü. Çalışma sonucunda toplam koliform bakteri oranı %40, *Escherichia coli* oranı %33 olarak tespit edildi. Bu sonuç yurdumuzda yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik Ek-1'de bulunan içme ve kullanma sularının sahip olması gereken mikrobiyolojik parametrik değer koliform ve *E. coli* bakterileri için 0/100ml'dir. Dolayısı ile incelediğimiz su örneklerinin insan sağlığı için zararlı oldukları, hastalık oluşturma riski taşıdıkları ve suların arıtım ya da dağıtım aşamalarının birinde çevreden kontamine olduğu sonuçları çıkarılabilir.

SMAC agara yaptığımız ekimlerde 3 örneğin renksiz koloni oluşturması ile bu bakterilere lateks aglutinasyon testi uygulandı. Hiçbir bakterinin çökelme yapmadığı gözlemlendi ve Sivas ili içme ve kullanma sularında *E. coli* O157:H7 suşu aradığımız çalışmamızda bizde ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda olduğu gibi *E. coli* O157:H7 serotipine rastlamadık.

Kaynağı su olan salgınlar genellikle su kaynağının (kaynak, kuyu suyu) yetersiz korunmasından ya da distilasyon, karbonasyon, ozonasyon, filtrasyon gibi uygulamaların yetersizliğinden dolayı oluşmaktadır. Atıkların taşınması, seller ve yüzey suları ile karışması sonucu, bakteriyel popülasyonun toprağa geçmesi ile yeraltı (kaynak) sularının kontaminasyonu gerçekleşmektedir. Bakteriler yeraltı sularında yüzey sularına göre daha uzun süre canlılıklarını devam ettirebilmektedir (Temelli, 2002).

Sivas ilinde içme ve kullanma sularında koliform bakteri ve *E. coli* varlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumları'na bağlı Sivas Halk Sağlığı Laboratuvarında yapılmaktadır fakat pozitif *E. coli* varlığında suşların O157:H7 serotipi olup olmadıkları

değerlendirilmemektedir. Daha önceden de Sivas ili içme sularında mikrobiyolojik kalite araştırmaları yapılmış fakat çalışmamız ilimizde *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin varlığının araştırılması açısından ilk olma özelliği taşımaktadır.

Her ne kadar çalışmamızda sulara *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin varlığını gösterememiş olsakta, bu durum içme ve kullanma sularında bu serotipin bulunmadığı ve kontaminasyon riskinin olmadığı anlamına gelmemektedir. Oluşabilecek *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarını önlemek amacıyla klorlama ile dezenfeksiyon işleminin uygulanmadığı sular tüketilmemeli, içme ve kullanma suyu olarak tüketilen şebeke suları mutlaka klor ile yeterli miktarda dezenfeksiyona tabii tutulmalıdır. Tahıl, meyve ve sebzelerin sulama işleminde kullanılacak olan su, evsel atık su ise kullanımdan önce biyolojik ya da fiziksel arıtım işlemlerinden geçirilmelidir. Tüketiminde şüphe görülen sular kullanımdan önce mutlaka kaynatılmalıdır. Dezenfeksiyon işlemi yapılmamış havuz suları ve göl sularında yüzmenin patojen bakteri bulaş riski taşıdığı göz ardı edilmemelidir.

Sulara *Escherichia coli* analizleri ölkemizde birçok laboratuvarada rutin olarak yapılmasına rağmen, biyolojik silah olarak kullanılabilen *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı dikkate alınmamaktadır. Suşun varlığı araştırılmak istenildiğinde; analiz duyarlılığının riskli, analiz süresinin uzun, sarf malzemesi maliyetinin yüksek olmasından dolayı yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesi araştırmaların seyrini ve işleyişlerini kolaylaştıracaktır.

KAYNAKLAR

- Abdullah, N.S. ve Davies R. (1999). Growth and Toxin Production of Enterotoxigenic, Journal of Applied Microbiology, 87(1), 1-15.
- Acehan, G. (2007). İçme Sularının Mikrobiyolojik Kirlenme Potansiyellerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Ağaoğlu, S., Ekici K. ve Alemdar S., Dede S. (1999). Van ve Yöresi Kaynak Sularının Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Kaliteleri Üzerine Araştırmalar, Van Tıp Dergisi, 6(2), 30-33.
- Akhan, M. ve Çetin Ö. (2007). Bir Kaynak Suyu Tesisinde Olası Mikrobiyal Kontaminasyonun İncelenmesi, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 37(4), 213-220.
- Akman, M. (1966). Erzurum İli İçme Sularının Bakteriyolojik Kontrolü, Mikrobiyoloji Bülteni, 1, 17-30.
- Aktürk, S. (2009). Adana-Tufanbeyli Yol Hattındaki Çeşme Sularının Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Alemdar, S., Kahraman T., Ağaoğlu S. ve Alisharlı M. (2009). Bitlis İli İçme Sularının Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri, Ekoloji, 29-38.
- Alisharlı, M., ve Akman, N.H. (2004). Perakende Satılan Kıymaların *Escherichia coli* O157 Yönünden İncelenmesi, YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi, 15(1-2), 65-69.
- Alisharlı, M., Ağaoğlu S. ve Alemdar, S. (2007). Van Bölgesi İçme ve Kullanma Sularının Mikrobiyolojik Kalitesinin Halk Sağlığı Yönünden İncelenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(1), 67-77.
- Anonim (2013a). Diatek. http://www.diatek.com.tr/Urunler/Mikrobiyolojik-Analiz-Urunleri/Hypet-Aqua-Membran-Besiyeri_39.htm
- Anonim (2014a). <http://www.sartorius.com/en/product/product-detail/16612/>
- Anonim (2014b). Su Mikrobiyolojisi Membran Filtrasyon Sistemleri, Orlab Merck.
- Anonim (2005). İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, T.C. Sağlık Bakanlığı Resmi Gazete, 17.02.2005/25730.
- Anonim (2008). İçme Suları Konulu Genelge, T.C. İç İşleri Bakanlığı Mahalli İdareler Genel Müdürlüğü, 54.
- Anonim (2010). İnsani Tüketim Amaçlı Sulardan Numune Alımı, Taşınması ve Analizine İlişkin El Kitabı, T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara.
- Anonim (2013a). İTASHY, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, T.C. Sağlık Bakanlığı, 7 Mart.
- Anonim (2013b). LabM. <http://www.labm.com/products/tryptone-soy-agar-usp-tsa.asp>
- Anonim (2014c). http://www.emdmillipore.com/TR/en/product/Lauryl-sulfate-broth_MDA_CHEM-112588#anchor_BRO
- Anonim (2014d). http://www.merckmillipore.com/TR/en/product/SMAC-agar-base_MDA_CHEM-109207#documentation
- Anonim (2013c). www.mikrobiyoloji.org
- Anonim (2002). NCBI. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Anonim (2004). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Resmi Gazete Tarihi: 31.12.2004, Sayısı: 25687.

- Anonim (2014d). Sartorius. http://www.sartorius.com/fileadmin/fm-dam/DDM/Lab-Products-and-Services/Microbiology/Microbial-Enumeration/Nutrient-Pad-Sets-and-Membranes/Manuals/Manual_NPS_14056_Tergitol_TTC_SM-6092-a.pdf
- Anonim (2006). Sartorius Stedim Biotech. http://www.sartorius.com/fileadmin/fm-dam/sartorius_media/Lab-Products-and-Services/Microbiology/Microbial-Enumeration/Microsart-Emotion/Data-Sheets/Data_Microsart_Emotion_Membranes_SM-2006-e.pdf
- Anonim (1991). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analiz Metodları Tebliği, Resmi Gazete Sayı:20748.
- Anonim (2013d). Su Mikrobiyolojisi. www.sumikrobiyolojisi.org
- Anonim (2014e). Thermo Scientific. http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0069&org=66
- Anonim (2014f). Thermo Scientific *E. coli* O157:H7. <http://www.thermoscientific.com/en/product/remel-wellcolex-e-coli-o157-h7.html>
- Anonim (2004). TS EN ISO 9308-1, Türk Standartı 9308-1, Türk Standartları Enstitüsü, Nisan, Ankara.
- Arocha, M.M., Mcvey, M., Loder, S.D., Rupnow, J.H. ve Bullerman, L. (1992). Behavior of Hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 During the Manufacture of Cottage Cheese, *Journal of Food Protection*, 326-394.
- Atasoylu, G., Okyay, P., Güney N., Deniz Y., Çobanoğlu, M. ve Beşer, E. (2006). Aydın İli Halk Sağlığı Laboratuvarı 2004 Yılı İçme ve Kullanma Suyu Analizleri, *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 5(3), 187-195.
- Avcı, S., Bakıcı, Z.M. ve Erandaç, M. (2006). Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 28(4), 107-112.
- Aydın, M. (2004). Bakteri İdentifikasyonunda Kullanılan Standart Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler, Tıp ve Dişhekimliği Genel ve Özel Mikrobiyoloji; Konu 11, Güneş Kitabevi, Ankara.
- Baden, W. (2011). Merck Kimyasallar ve Reaktifler Kataloğu, Merck.
- Bayar, S. (2007). İzmir İlinde Satışa Sunulan Et ve Et Ürünlerinde *Escherichia coli* O157:H7 Aranması ve Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Beutin, L., Krause, G., Zimmermann, S., Kaulfuss, S. ve Gleier, K. (2004). Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Human Patients in Germany over a 3-Year Period, *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1099-1108.
- Bilgehan, H. (2004). Klinik Mikrobiyolojik Tanı (4. Baskı), Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir.
- Bopp, D.J., Sauders, B.D., Waring, A.,L., Ackelsberg, J., Dumas, N., Howland, E.B., Dziewulski, D., Wallace, B.J., Kelly, M., Halse, T., Musser, A.K., Smith, P.F., Morse, D.L. ve Limberger, R.J. (2003). Detection, Isolation, and Molecular Subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* Associated with a Large Waterborne Outbreak, *Journal of Clinical Microbiology*, 41(1), 174-180.
- Burke, V., Robinson, J., Gracey, M., Peterson, D. ve Partridge, K. (1984). Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a Metropolitan Water Supply: Seasonal Correlation with Clinical Isolate, *Applied and Environmental Microbiology*, 48(2), 361-366.
- Caprioli, A., Morabito, S., Brugere, H. ve Oswald, E. (2005). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: Emerging Issues on Virulence and Modes of Transmission, *Veterinary*, 36, 289-311.

- Çobanoğlu, Z., Kesici, C. ve Ökten, C. (2005). Su Temini ve Denetimi İle İlgili Yasal Düzenlemeler, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Gıda Güvenliği Daire Başkanlığı, Ankara
- Demir, S. (2008). Isparta ve Yakın Çevresi Yeraltı Sularının Hidrojeolojik, Hidrojeokimyasal ve İzotop Jeokimyasal İncelenmesi ve İçme Suyu Kalitesinin İzlenmesi, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Demirer, M.A. (1995). Su Hijyeni, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.
- Denise, R.C.R., Duffy, G., Sheridan, J.J., Whiting, R.C., Blair, I.S. ve McDowell, D.A. (2000). Effects of Acid Adaptation, Product pH, and Heating on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Pepperoni, Applied and Environmental Microbiology, 66(4), 1726-1729.
- Diñçer, S., Matyar, F. ve Sönmez M. N.(2001). Seyhan Nehrinin Fekal Kirlilik Düzeyi ve Fekal Koliform Antibiyotik Hassasiyetleri, 12.Biyoteknoloji Kongresi.
- Doyle, M.P. (1991). *Escherichia coli* O157:H7 and its Significance in Foods, International Journal of Microbiology, 289-302.
- Dudak, F.C., Boyacı, İ.H., Heineman, W.R., Halsall, B.H. ve Seliskar, C.J. (2006). Sulardaki *Escherichia coli*'nin Hızlı Tayini için Paramanyetik Küreler Kullanılarak Florometrik Analiz Yönteminin Gelistirilmesi, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 391-392.
- Duffy, G., Whiting R.C. ve Sheridan. J.J. (1999). The Effect Of a Competitive Microflora, pH and Temperature on the Growth Kinetics of *Escherichia coli* O157:H7, Food Microbiology, 299-307.
- Dufour A.P. ve Cabelli, V.J. (1975). Membrane Filter Procedure for Enumerating the Component Genera of the Coliform Group in Seawater, Applied Microbiology, 29(6), 826-833.
- Eklund, M. (2005). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from Humans in Finland, Publication of National Public Health Institute, Finland.
- Erkman, N.G. (2011). Düzce İlindeki İçme ve Kullanma Sularının Durumunun Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Düzce.
- Eroğlu, V. (2008). Su Tasfiyesi, Başak Matbaacılık, Ankara.
- Erol, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara.
- Ertuş, N., Yıldırım, Y., Karadal, F. Ve Al, S. (2013). Hayvansal Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7'nin Önemi, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 10(1), 45-52.
- Fujisawa, T., Sata, S., Aikawa, K., Takahashi, T., Yamai, S. ve Shimada, T. (2000). Modification of Sorbitol MacConkey Medium Containing Cefixime and Tellurite for Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Radish Sprouts, Applied and Environmental Microbiology, 66(7), 3117-3118.
- Güler, Ç. (2008). İçme Suyundaki Kirleticiler ve Halk Sağlığı, Yazıt Yayıncılık, Ankara.
- Güler, Ç. (2012). Bireysel Su Savurganlığını Azaltmaya Yönelik Uygulamalar, Özgür Doruk Güler Çevre Dizisi: 2, Palme Yayınevi, Ankara.
- Gümüşsoy, G.F. ve Gönülalan, Z. (2005). Kayseri İlinde Köy Pazarlarında Satılan Taze Peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Suşunun Araştırılması, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 14(1), 13-19.
- Hajian, S., Rahimi, E. ve Mommtaz, H. (2011). A 3-year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, camel, sheep, goat, chicken and beef minced meat, International

- Conference on Food Engineering and Biotechnology, IACSIT Press, Singapore, 9:5-6.
- Halkman, K.A. ve Sağdaş, Ö.E. (2011). Merck Mikrobiyoloji El Kitabı (Hızlı Erişim) II. Baskı, Merck mikrobiyoloji.org, Ankara.
- Halkman, K.A., Noveir, M.R. ve Doğan, H.B. (2001). *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi, Sim Matbaacılık, Ankara.
- Halkman, K. (2000). *E. coli* O157:H7 Serotipi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Notları, Ankara Üniversitesi.
- Hasde, M., Oğur, R. ve Tekbaş, Ö.F. (2002). Ankara İl Merkezinde Bulunan Askeri Birliklerdeki Kuyu Sularının Polimeraz Zincir Reaksiyon Sistemi İle Mikrobiyolojik Analizlerinin Yapılması, *Gülhane Tıp Dergisi*, 44(4), 373-377.
- Hudson, J.A., Nicol, C., Capill, J. ve Bennet, J. (2000). Isolation of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from Foods Using EHEC Agar, *Letters in Applied Microbiology*, 30(2), 109-113.
- Jay, M.T., Cooley, M., Carychao, D., Wiscomb, G.W., Sweitzer, R.,A., Miksza, L.C., Farrar, J.,A., Lau, D.K., Milington, A., Asmundson, R.V., Atwill, E.R. ve Mandrell, R.E. (2007). *Escherichia coli* O157:H7 in Feral Swine near Spinach Fields and Cattle, Central California Coast, *Emerging Infectious Diseases*, 13(12), 1908-1911.
- Karaca, P., (2011). Çanakkale’de (Türkiye) Tüketilen Bazı Ezine Peynirlerindeki *Escherichia coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Kerr M., Fitzgerald, M., Sheridan, J.J., McDowell, J.A. ve Blair, I.S. (1999). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Bottled Natural Mineral Water, *Journal of Applied Microbiology*, 87, 833-841.
- Kolören, Z., Demirel, E. ve Taş, B. (2011). Ulugöl (Ordu, Türkiye)’de Fekal Kirlilik İndikatörü Bakterilerin Tespiti, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2), 151-156.
- Köksal, F., Oğuzkurt, N. ve Samastı, M. (2007). İstanbul İçme Sularının Bakteriolojik Yönden İncelenmesi: Aeromonas Sorunu, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(3), 164-168.
- Köksal, S. (2007). Halk Sağlığı - Çevre Sağlığı Ders Kitabı, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD, İstanbul.
- Kuntz, T.B. ve Kuntz, S.T. (1999). Enterohemorrhagic *E. coli* Infection, Primary Care Update for OB/GYNs, 6(6), 192-196.
- Kuşoğlu, H. ve Yaman, G. (2011). Enterohemorajik *E. coli* ve 2001 Almanya Salgını (EHEC Virüsü), *Acıbadem Hemşirelik E-Dergi*.
http://www.acibademhemsirelik.com/e-dergi/yeni_tasarim/files/EHEC%20hulya1%202_son.pdf
- Leyer, G.J., Wang, L.L. ve Johnson, E.A. (1995). Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 Increases Survival in Acidic Foods, *Applied and Environmental Microbiology* 61(10), 3752-3755.
- Mackay, B. (2002). Walkerton, 2 years later: “Memory fades very quickly” , *Journal of Ayub Medical College*, 166(10), 1326.
- March, S.B. ve Ratnam, S. (1989). Latex Agglutination Test for Detection of *Escherichia coli* Serotype O157, *Journal of Clinical Microbiology*, 27(7), 1675-1677.
- Massa, S. Goffredo, E., Altieri, C. ve Natola, K. (1999). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized milk stored at 8 °C, *Letters in Applied Microbiology*, 28(1), 89-92.

- Michel, P., Wilson, J.B., Martin, S.W., Clarke, R.C., McEwen, S.A. ve Gyles, C.L. (1998). Temporal and Geographical Distributions of Reported Cases of *Escherichia coli* O157:H7 Infection in Ontario, *Epidemiol. Infect.*, 122, 193-200.
- Murano, E.A. ve Pierson, M.D. (1993). Effect of Heat Shock and Growth Atmosphere on the Heat Resistance of *Escherichia coli* O157:H7, *J. Food Protect.*, 56(4), 330-332.
- Muslu, Y. (1985). Su Temini ve Çevre Sağlığı, Cilt:3, İstanbul Teknik Üniversitesi Matbaası, İstanbul.
- Noveir, M.R. (1998). Gıda Kaynaklı *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Bir Araştırma, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Noveir, M.R. (1993). Gıda Maddelerinde Koliform Grup Bakteri Aranması Üzerine Karşılaştırmalı Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Noveir, M.R., Doğan, H.B. ve Halkman, K. A. Çeşitli Hayvansal Gıdalarda Enterobacteriaceae Ürünlerinin Varlığı, *Gıda Dergisi* 25(6), 423-428.
- Okrend, A.J.G., Rose, B.E. ve Lattuada, C.P. (1992). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 Using 0157 Specific Antibody Coated Magnetic Beads, *Journal of Food Protection*, 55, 214-217.
- Öngen, B. (2008). *Escherichia coli* İshallerinde Laboratuvar Tanısı, *Ankem Dergisi* 22, 197-210.
- Özaslan, A. (2009). Adana İçme Suyunda Fekal Koliform Düzeyinin Belirlenmesi ve Antibiyotik Dirençlilik Frekansları, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Özbaş, Y.Z. ve Aytaç, A.S. (1995). *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 52(1), 47-53.
- Öztelli, Y. (2004). Bayburt İli Merkez İçme Sularında Enterohemorajik *Escherichia coli* (O157:H7)' nin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Pennington, T.H. (2014). *E. coli* O157 outbreaks in the United Kingdom: Past, Present, and Future, *Infection and Drug Resistance Dove Press Journal*, 7, 211-222.
- Polat, M. (2000). Ankara Kentine İçme Suyu Sağlayan Baraj Göllerinde Tabakalaşma ve Alt-Üst Olma İle Ötrofikasyon Olaylarının İncelenmesi, *DSİ Teknik Bülteni*, 1, Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, 27-38.
- Rice, E.W., Johnson, C.H. ve Reasoner, D.J. (1996). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Water from Coliform Enrichment Cultures, *Letters in Applied Microbiology*, 23. - 1996, 179-182.
- Rothmaier, R., Weidenmann A. ve Botzenhart K. (1996). Transport of *Escherichia coli* Through soil to Groundwater traced by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD), *Water Science and Technology*, 35, 351-357.
- Sarı, A.H. (2006). Beyaz Peynirlerde *E. coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Selçuk, Z. (2011). Van ve Yöresi İçme Sularında *Aeromonas* spp., Koliform, *Escherichia coli* Varlığının Araştırılması ve İzole Edilen *Aeromonas* Türlerinin Antimikrobiyel Maddelere Dirençliliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Sezgin, E. (2013). Aydın'da Tüketime Sunulan Kıyma ve Hamburger Köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

- Smith, H.R. ve Scotland, S.M. (1993). Isolation and Identification Methods for *Escherichia coli* O157 and Other Verocytotoxin Producing Strains, J. Clin. Pathol.,46, 10-17.
- Temelli, S. (2002). Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *E. coli* O157:H7 ve Önemi, Uludağ Univ., J. Fac. Vet. Med., 21, 133-138.
- Tosun, H. ve Gönül, A. (2003). *E. coli* O157: H7'nin Aside Tolerans Kazanması, Orta Doğu Mikrobiyolojisi Dergisi, 10(1), 10-17.
- Ustaçelebi, Ş. (1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Uyak, V. (2006). İçme Sularının Özellikleri, Kalite Parametreleri ve Kirleticilerin Sağlık Etkileri, Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Denizli.
- Wang, G., Zhao, T. ve Doyle, M.P. (2000). Survival and Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in Unpasteurized Milk, J. Food Prot., 60(6), 610-613.
- Willke, A. (2008). *Escherichia coli* İshallerinde Etiyoloji ve Patogenez, Ankem Dergisi, 22(2), 188-191.
- Yokuş, A. (2010). Sivas İlinde Satışa Sunulan Taze ve Salamura Peynirlerde Enterohemorajik *E. coli* O157:H7 Suşunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Rukiye ASLAN DURAK
Doğum Yeri ve Tarihi	İspir / Erzurum, 24/02/1989
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Eğriköprü Mah. Akademisyenler Sit. 1b/11 SİVAS
E-posta Adresi	rukiyeaslandurak@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Kongre (YDA) Lisesi, 2005
Lisans	Uludağ Üniversitesi, 2012

İş Tecrübesi

Ödüller, Teşvikler ve Üyelikler