

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİVAS İLİNDE SATIŞA SUNULAN TAZE ve SALAMURA
PEYNİRLERDE ENTEROHEMORAJİK *E. COLİ* 0157:H7 SUŞUNUN
ARAŞTIRILMASI**

AHMET YOKUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ DR. A. YASEMİN ÖZTOP

SİVAS
2010

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

Başkan Prof. Dr. Ömer Poyraz

ye Doç. Dr. A. Yasemin ztop

ye Doç. Dr. Ali eliksz

ONAY

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

Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ
SAğLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli 007 nolu toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Klavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

TEŐEKKÖR

Bu çalıőmanın gerçekleőmesinde bŸyŸk katkıları bulunan, yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. A. Yasemin ÖZTOP'a, benim için çalışma ortamı sağlayan Halk Sağlığı Laboratuvarı MŸdŸrŸ Sayın Dr. Ahmet ALİM'e, her konuda yardımını ve vaktini esirgemeyen Halk Sağlığı Laboratuvarı MŸdŸr Yardımcısı, Sayın Mehmet ATAŐ'a, hayatımın her evresinde hep yanımda olan aileme teőekkŸrlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Escherichia coli.....	3
2.1.1 Tarihçe.....	3
2.1.2 Sınıflandırması.....	3
2.1.3 Yapısal özellikleri	3
2.1.4 Kültür özellikleri.....	3
2.1.5 Biyokimyasal özellikleri.....	4
2.1.6 Antijenik yapısı.....	4
2.1.7 Serotipleri ve yaptıkları hastalıklar	5
2.1.7.1 Enteroinvaziv <i>E.coli</i> (EIEC).....	7
2.1.7.2 Enteropatojenik <i>E.coli</i> (EPEC).....	7
2.1.7.3 Enteroagregatif <i>E.coli</i> (EaggEC,EAEC).....	7
2.1.7.4 Enterotoksijenik <i>E.coli</i> (ETEC).....	8
2.1.7.5 Diffüz Adherent <i>E.coli</i> (DAEC)	8
2.1.7.6 Enterohemorajik <i>E.coli</i> (EHEC).....	8
2.2 <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipi.....	9
2.2.1 Biyokimyasal Özellikleri.....	10
2.2.2 Virülans Faktörleri	13
2.2.3 Yaptığı hastalıklar	14
2.2.3.1 Hemorajik Kolit	14
2.2.3.2 Hemolitik Üremik Sendrom.....	15
2.2.3.3 Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)	15
2.2.3.4 <i>E.coli</i> O157:H7'nin Neden Olduğu Kansız Diyare	16

2.2.3.5 Asemptomatik Kişilerde <i>E.coli O157</i> 'nin Bulunması.....	16
2.2.4 <i>E.coli O157:H7</i> 'nin Bulaştığı Gıdalar	16
2.2.4.1 Peynir.....	17
2.2.4.1.1 Peynirlerde bulunan patojen mikroorganizmalar	19
2.2.5 <i>E. coli O157:H7</i> Suşundan Korunma.....	20
2.3 <i>E. coli O157:H7</i> Suşunun Gıdalarda Belirlenmesi.....	21
2.3.1 Standart Analiz Yöntemi	21
2.3.1.1 Zenginleştirme	21
2.3.1.2 İzolasyon.....	21
2.3.1.3 Doğrulama	22
2.3.2 <i>E. coli O157:H7</i> Aranmasında Kullanılan Hızlı Yöntemler.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler	24
3.2 Kullanılan Besiyerleri	24
3.2.1 Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) (Oxoid CM 0509).....	24
3.2.2 Metilumbelliferil- β -D-glucuronid (MUG) içeren Lauryl Sülfat Triptoz Buyyon (LSTB) (Oxid CM0967)	25
3.2.3 Nutrient Buyyon (NB) (Lab M 68).....	25
3.2.4 Eozin Metilen Mavisini (EMB) besiyeri.....	26
3.2.5 Sefiksim Tellüritli-Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC) (Merck 1.09207)	26
3.2.5.1 Sefiksim Tellürit Selektif Supplement (CT Supplement) (Oxoid SR0172E)	26
3.2.6 İndol Besiyeri.....	27
3.2.7 MR(Metil Red) / VP(Voges Proskauer) Besiyeri (Atabay kimya M070)....	27
3.2.8 Simons Sitrat Agar (OXOID CM155)	27
3.3 Kullanılan Ayraçlar	28
3.3.1 İndol Testi Ayırıcı (Kovacs)	28
3.3.2 Metil Kırmızısı Test Ayırıcı.....	28
3.3.3 Voges Proskauer Test Ayırıcı	28
3.4 Kullanılan Kit	29

3.4.1 <i>E.coli</i> O157:H7 Lateks Test Kiti (Remel Wellcolex).....	29
3.5 Kullanılan Boyalar	29
3.5.1 Gram Boyama Seti	29
3.5.1.1 Kristal moru:	29
3.5.1.2 Lugol çözeltisi:	30
3.5.1.3 Sulu fuksin çözeltisi	30
3.6. Peynir Örneklerinin Toplanması.....	31
3.7. Peynir Örneklerinin Homojenize Edilmesi ve Ön Zenginleştirme İşlemi... 31	
3.8. Örneklerde Fekal <i>E.coli</i> 'nin Belirlenmesi.....	31
3.9. <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin İzolasyonu ve Tanımlanması:	32
3.9.1. Mikroskopik İnceleme.....	32
3.9.2. Biyokimyasal Testler.....	32
3.9.2.1. İndol Testi.....	32
3.9.2.2. Metil Kırmızısı-Voges Proskauer (MR-VP) Testi	33
3.9.2.3. Lateks Aglütinasyon Testi.....	33
4. BULGULAR	35
4.1 Örneklerde Fekal <i>E.coli</i> 'nin belirlenmesi	35
4.2 <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin İzolasyonu ve Tanımlanması:	35
4.2.1 CT-SMAC Agardaki Üreme Sonuçları.....	35
4.2.2 Mikroskopik İnceleme Sonuçları.....	35
4.2.3 Biyokimyasal Test Sonuçları.....	36
4.2.4 <i>E. coli</i> O157:H7 Lateks Aglütinasyon Testi sonucu.....	36
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇLAR.....	43
7. KAYNAKLAR.....	44

KISALTMALAR ve SİMGELER

C.D.C	: ABD Hastalık kontrol ve Önleme Merkezi
CT	: Sefiksim Tellürit
CT SMAC	: Sefiksim Tellürit Sorbitol MacConkey agar
DEC	: Diyarejenik <i>Escherichia coli</i>
E.coli	: <i>Escherichia coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EMB	: Eosin Metilen Blue
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
HUS	: Hemolitik Üremik Sendrom
LD	: Lizin Dekarboksilaz
LEE	: Locus of Enterocyte Effacement
LSTB	: Lauryl Sulfat Triptoz Buyyon
MUG	: 4-metilumbelliferil- β -D-glukuronid
MR	: Metil kırmızısı
NB	: Nutrient Buyyon
TPS	: Tamponlanmış Peptonlu Su
SLT1	: Shiga Benzeri Toksin 1
SLT2	: Shiga Benzeri Toksin 2
SLTEC	: Shiga ve Benzeri Toksin Üreten <i>Escherichia coli</i>
STEC	: Shiga Toksin Üreten <i>Escherichia coli</i>
TPP	: Trombotik Trombositopenik Purpura
VP	: Voges Proskauer
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

SİVAS İLİNDE SATIŞA SUNULAN TAZE VE SALAMURA PEYNİRLERDE ENTEROHEMORAJİK *E. COLİ* 0157:H7 SUŞUNUN ARAŞTIRILMASI.

Ahmet YOKUŞ

Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman Doç. Dr. A. Yasemin ÖZTOP

2010, 51 sayfa

Bu araştırmada Sivas ilinin farklı yerlerinden alınan 100 adet beyaz peynir örneğinde Enterohemorajik *E.coli* O157:H7 suşunun varlığı araştırıldı. Peynir örnekleri ön zenginleştirme işleminden sonra 4-metilumbelliferil-β-D-glukuronid (MUG) içeren Lauryl Sulfat Triptoz Buyyona (LSTB) ekildi. Tümünde fekal *E. coli* ürediği saptandı. Sorbitol Mac Conkey agara yapılan ekimler sonucunda 22 örneğe ait plakta renksiz koloniler gözlemlendi. Bu kolonilerin mikroskopik incelemesi, indol, metil red, vogeus proskauer ve sitrat testleri yapıldı. İncelenen 22 örneğin 3'ünün test sonuçları *E.coli* O157:H7 ile uyumlu bulundu. Üç örneğe ait kolonilere lateks aglütinasyon testi yapıldı ve aglütinasyonun oluşmadığı görüldü.

Sonuç olarak, toplam 100 adet peynir örneğinin tamamından fekal *E.coli* izole edilirken, *E.coli* O157:H7 suşu izole edilemedi. Satılan peynirlerin fekal *E.coli* gibi hijyen indikatörü mikroorganizmayla kontamine olması nedeniyle Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne uymadığı ve peynirlerin tüketici sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Peynir, *E.coli* O157:H7

ABSTRACT

THE RESEARCH OF ENTEROHEMORRHAGİK *E. COLI* 0157:H7 STRAIN IN SOFT WHITE CHEESE WHICH ARE ON SELL IN SIVAS

Ahmet YOKUŞ

Master Thesis, Department Of Microbiology

Supervisor Doç. Dr. A. Yasemin ÖZTOP

2010, 51 page

In this study, the existence of enterohemorrhagik *E.coli* 0157:H7 strain in 100 white cheeses taken from different parts of Sivas was investigated. Cheese samples were inoculated to Lauryl Sulfate Triptoz Buyyon (LSTB) including 4-metilumbelliferil- β -D-glukuronid (MUG) after the pre-enrichment procedure. It was observed in all that fecal *E.coli* was reproduced. Colourless colonies were observed in the plaques of 22 samples after the plantations applied to Sorbitol MacConkey Agar. These colonies' microscobic analysis, indol, methyl red, vogeus proskauer and sitrat tests were made. The three test results, which were examined, of 22 samples were found coherent with the *E.coli*. Latex agglutination test was made to the colonies belonging to these three samples and it was observed that agglutination was not formed.

As a result, while fecal *E.coli* were isolating from all the 100 cheese samples, *E.coli* 0157:H7 strain was not isolated. It was agreed that as the cheeses, which were sold, were contaminated with the hygen indicator microorganism such as fecal *E.coli*, they were not accord with the Turk Food Codex Microbiologic Criteria Notification and these cheeses will have risk for the health of consumers.

Key words: Cheese, *E.coli* 0157:H7

1.GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanlarda oldukça şiddetli enfeksiyonlara yol açan *Enterohemorajik Escherichia coli* (EHEC)' nin *O157:H7* suşu özellikle son yıllarda adından sıklıkla bahsedilen gıda kaynaklı bir patojen olarak bilinmektedir (Jay 2000,Erol 2007). *Escherichia coli* (*E.coli*) *O157:H7* serotipinin bugün gıdalar ile insanlara bulaşan patojenler arasında en önemlilerden biri olması, patojenliğinin fazla olmasının yanı sıra, başta yetersiz pişirilmiş hamburgerler olmak üzere et ve et ürünleri ile salgınlara veya bireysel hastalanmalara neden olabilmesinden kaynaklanmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

E.coli O157:H7 serotipi ilk kez ABD' de 1982 yılındaki iki salgında 47 olgudan izole edilmiş, bunun hemen arkasından çeşitli ülkelerde de benzeri salgınlar izlenmiştir (Novier ve ark.2002). Ülkemizde en sık görülen gıda zehirlenmeleri *E. coli*'nin etken olduğu zehirlenmelerdir (Erol, 2007). *E. coli* suşları insanlarda gıda zehirlenmesinde enterit tablosu oluşturabildiği gibi bazen de ölüme sebep olmaktadır (Vernozy, 2000).

E.coli O157:H7 suşu insanlarda hemorajik kolit (kanlı diyare), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombositpenik purpura olmak üzere üç temel hastalık tablosu oluşturması nedeniyle *E.coli*'nin diğer serotiplerinden daha tehlikelidir. *E.coli O157:H7* serotipi gıdalardan, sudan ve insandan insana bulaşabilmektedir. Başta sığır dışkısı olmak üzere doğrudan veya dolaylı olarak hayvanların dışkısının bulaştığı her türlü gıda maddesi *E.coli O157:H7* enfeksiyonu bakımından potansiyel tehlike taşımaktadır. Pek çok gıda maddesinde, içme ve kullanma suları ile yüzülen göllerde *E.coli O157:H7* varlığı saptanmıştır (İnal 1990). Çeşitli ülkelere de bu serotipin neden olduğu enfeksiyonların büyük bir bölümünün başta yetersiz pişirilmiş et ve et ürünleri, pastörize edilmemiş süt ve peynir olmak üzere sığır kaynaklı gıdalar ile olduğu bildirilmiştir. Diğer hayvanlar ve özellikle geviş getiren hayvanlar *E. coli O157:H7*'nin kaynağıdır (Firstenberg ve ark., 1997).

Gıdalar, insanlarda enfeksiyonlara neden olan patojen mikroorganizmaların bulaşmasına veya gelişmesine ortam hazırlayan uygun olmayan hijyen ve sanitasyon koşullarında üretilip pazarlanırlarsa, insanlarda önemli sağlık sorunları ve salgınlar

neden olmaktadır. Bu nedenle gıdaların özellikle süt ve peynir gibi süt ürünlerinin satışa sunumuna kadar yapılan işlemler çok önemlidir (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

Peynirlere bulaşan mikroorganizmalar hızlı bir şekilde ürerler. Bunun sonucunda peynirlerde acılaşma, kokuşma ve ekşime gibi bozulmalar oluşur. Peynirlere çeşitli kaynaklardan bulaşan mikroorganizmalar içinde insanlar için en zararlı olanlar koliform grubu bakterilerdir. Peynirlerde fekal *E.coli*'nin bulunması gıdanın insan veya sıcak kanlı hayvanlar tarafından kirletilmiş olduğunu göstermektedir (İnal 1990, Tan 2002). Ülkemizdeki peynirlerin genellikle hijyenik koşulları yetersiz olan küçük aile işletmelerinde ve mandıralarda, çoğunlukla çiğ ve kalitesiz sütten üretildiği, sağlıksız koşullarda satışa sunulduğu ve bu ürünlerin halk sağlığı bakımından güvenilir olmadığı belirtilmektedir (Tekinşen ve ark., 2002).

Yurdumuzda süt ve süt rnlerinde *E.coli O157:H7*'nin peynirlerde varlığını araştıran az sayıda çalışma yapılmıştır (Aslantaş ve Yıldız 2002). Sivas ilinde ise günümüze kadar bu konuda yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada, Sivas ilinde satışa sunulan peynirlerde *E.coli O157:H7* suşunun varlığı ve fekal orjinli *E. coli*'lerin bulunma oranının araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Escherichia coli

2.1.1 Tarihçe

Escherichia coli ilk kez 1885 yılında Alman bilim adamı Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra bu bakteriye *Escherichia coli* adı verilmiştir. coli, colon (bağırsak) kelimesinden gelmekte ve bakterinin bağırsak ile ilgili olduğunu göstermektedir (Fritz ve ark., 1997).

2.1.2 Sınıflandırması

Superkingdom: Eubacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Enterobacteriaceae

Genus: Escherichia

Species: Escherichia coli ([http // www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) / Taksonomi / Browser).

2.1.3 Yapısal Özellikleri

E. coli, gram negatif fakültatif anaerop, sporsuz, çomak şeklinde bir bakteridir. Yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde düz ve uçları yuvarlaktır. Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa, bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta 'Y' harfi şeklinde, dallanan flamanlı şekillerde bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla birlikte hareketleri yavaştır. Organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül veya mikrokapsül bulunur (Bilgehan, 2004).

2.1.4 Kültür Özellikleri

E.coli'lerin izole edilmesi ve tanımlanmasında çeşitli besiyerleri kullanılmaktadır. Bu bakteriler genel kullanım besiyerlerinde ürerler. Optimal üreme sıcaklıkları 37 °C dir. Ancak 44 °C'de de üreyebilirler. Özellikle 44°C'da üreyebilmeleri *Enterobacter* ve *Serratia* türlerinden ayırtedici bir özelliktir. Besiyerlerinde etkenin üreyebilmesi için en uygun pH 7,0-7,2'dir (Bilgehan 2004, Erol 2007). *E. coli*'lerin agarda oluşturdukları S tipi koloniler hafif yuvarlak, düzgün, bombeli ve

1-2mm çapındadır. Kapsüllü *E.coli*' lerin 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*' ler Mac Conkey agarda pembe kırmızı koloniler oluştururken, Eosin metilen blue (EMB) agarda metalik renkte röfle veya madeni parlaklık veren koloniler oluştururlar (Murray ve ark.2009). Salmonella Shigella (SS) agarda üremeleri baskılanır. Ksiloz Lizin Deoksilat (XLD) agarda sarı, Hektoen Enterik agarda (HE) sarı-turuncu renkte koloniler oluştururlar. Üç şekerli demirli (TSİ) besiyerinde dipte gaz, hem dipte hem de yatık kısımda asit (sarı) reaksiyon verirler. Lizin İron Agar (LİA) besiyerinde dipte asit (sarı), yatık kısımda alkali (mor renk) oluştururlar (Bilgehan, 2004).

2.1.5 Biyokimyasal Özellikleri

E.coli glukoz, laktoz, maltoz, mannitol, ksiloz gibi şekerleri asit ve gaz yaparak fermante ederken sükroz, salisin, rafinoz gibi şekerlere etkisi değişkendir. Adenitol ve inozitolü genellikle fermante etmezler. Nişastadan gaz oluşturmazlar. İndol pozitifirler. Metil Red testi pozitif, Voges Proskauer testi negatiftir. Sitrathı besiyerinde üremezler (IMVIC:++--). Karbon kaynağı olarak sitrathı kullanmaz, asetatı kullanırlar, üreli besiyerinde üreyi kullanamadığı için üreyemezler, KCN testi negatiftir. Dezenfektanlara, bazı boya maddelerine (malaşit yeşili, fuksin gibi) safra ve safra tuzlarına duyarlı, fakat soğuğa, ısıya dirençlidirler (Bilgehan, 2004).

2.1.6 Antijenik Yapısı

E.coli' i lerde karmaşık ancak iyi bir antijen yapısı ve değişik antijen tipleri vardır. Bu bakterilerin somatik (O), kirpik (H), kapsül (K) antijenleri bulunur (Ustaçelebi 1999). *E. coli* suşlarında 181 somatik, 90 kapsül ve 56 kirpik antijeni vardır. *E.coli*' nin serolojik tiplendirmesi O antijeni ve H antijenine göre yapılmaktadır. *E.coli*' nin O ve H antijenleri sabit ve güvenilir suş özellikleridir. Suşların K antijenleride olabilir ancak K antijeni nadiren değerlendirilir.İshallerle ilişkili *E.coli* suşlarının O ve H serotiplerinin belirlenmesi özellikle epidemiyolojik araştırmalarda faydalıdır (Murray ve ark., 2009).

O antijenleri, lipopolisakkarit yapıda ısıya ve alkole dayanıklı formole dayanıksızdır. Termostabil özellik gösteren O antijenlerinden en çok rastlanılanları 25 tanedir (Bilgehan 1996, Erdem 1999).

H antijenleri, protein yapısında, ısıya dayanıksızdır. H antijenleri sadece hareketli türlerde bulunmaktadır. H antijenleri birbirleri ve diğer bakterilerin antijenleri ile çapraz reaksiyon vermezler. Alkol ve proteolitik enzimlerle inaktive olurlar. Formole dayanıklıdır (Erdem, 1999).

K antijenleri, kapsül antijeni niteliğindeki antijenlerdir. Aglütinasyon özelliklerine göre incelenmiş olan K antijenleri, yapılarının gösterdiği ayrıma göre adlandırılmışlardır. K antijenleri polisakkarit yapıda ve ısıya dayanıklıdır. 100-120 °C'de 1-2 saat kaynatmakla ortadan kaldırılabirler. Bu antijene sahip bakteriler somatik antiserumlarıyla aglütinasyon oluşturmazlar. Bu antijenler O antijeninin aglütinasyon oluşturmaya engel olurlar (Bilgehan, 1996).

2.1.7 Serotipleri ve Yaptıkları Hastalıklar

Günümüzde *E.coli* suşlarının serotiplendirilmesi, Kaufman tarafından geliştirilen şemaya göre yapılmaktadır. Serotiplendirmede 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 (Murray ve ark., 2009).

E. coli suşları hayvanların ve insanların bağırsak florasının bir üyesidir. Normal olarak vücutta bulunan zararlı bakteri türlerini baskılaması ve vitamin sentezine katkıda bulunmaları nedeniyle vücut için yararlı olarak da nitelendirilebilmektedirler (Halkman ve ark., 2001). Fakat konağıyla arasındaki denge bozulduğunda *E.coli* gastrointestinal kanal dışına çıkarak, yerleştiği sistemle ilgili klinik tablolara sebep olabilir (Tabak, 2000). İdrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, menenjit ve ishaller *E.coli* nin en sık neden olduğu hastalıklardır (Murray ve ark., 2009).

Bağırsak dışındaki *E.coli* enfeksiyonlarının başlıcaları; üriner sistem enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, menenjit (özellikle yeni doğanlarda) ve bakteriyemidir. Üriner sistem enfeksiyonlarında en sık rastlanan etken *E.coli*'dir. Solunum yolu enfeksiyonları hastane kaynaklı olabilir. Nozokomiyal pnömonilerde etken mikroorganizma %12-50 oranında *E.coli*'dir. Yenidoğan menenjiti, K1 kapsül antijeni taşıyan *E.coli* suşları tarafından oluşturulur. Ölüm oranı %40-80 arasındadır. *E.coli* fırsatçı bir patojendir. Yara enfeksiyonlarına, apendiks yırtılması sonucunda peritonitlere yol açabilirler. Enfeksiyon yaptıkları bölgelerden kana karışarak bakteriyemi yapabilirler. *E. coli* suşları, septik atrit, endoftalmit, karaciğer absesi, endokardit, osteomyelit, prostatit, sinüzit, tromboflebite de neden olabilir (Ustaçelebi, 1999).

İnsanlarda diyareye neden olan *E.coli* serotipleri patojenik, enteropatojenik, enterovirulent, diyarejenik serotipler olarak adlandırılmaktadır. Bu serotipler virulans özellikleri, patojenite mekanizması, klinik sendromlar, ve O, H antijenlerine göre gruplandırılırlar. Bu gruplar şunlardır;

- Enterohemorajik (EHEC)
- Enteroinvaziv (EIEC)
- Enteropatojenik (EPEC)
- Entero-agregatif (EaggEC, EAEC)
- Enterotoksijenik (ETEC)
- Diffüz Adherent (DAEC)

2.1.7.1 Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC)

Enteroinvaziv *E. coli* ilk olarak 1944 yılında parakolon basil olarak tanımlanmış daha sonra *E.coli* O124 olarak adlandırılmıştır. 1971 yılında EIEC suşlarının tipik EIEC enfeksiyonu olan kanlı ishale neden olduğu ve fakir ülkelerde görüldüğü saptanmıştır. EIEC suşları genel olarak hareketsizdir, enterositleri kaplamakta ve onların şeklini değiştirerek bu hücrelerin ölümüne neden olmaktadır. EIEC'nin invaziv karakteri 140 MDa'luk bir invazyon plazmidi tarafından yönetilmektedir (Eklund 2005). Neden olduğu dizanteri tablosu *Shigella*'ların gösterdiği dizanteriye benzerlik gösterir. *Shigella spp.* ile EIEC suşları arasında fenotipik ve genotipik benzerlikler bulunmaktadır. Hastalığın inkübasyon periyodu 8-44 saat olup, ortalama 26 saattir. Başlıca belirtileri ateş, titreme, abdominal kramp, dizanteridir. Bakterinin başlıca bulaşma kaynakları hasta kişiler, bulaşlı su ve gıdalardır (Doyle, 1991).

2.1.7.2 Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)

İlk olarak 1945 yılında John Bray tarafından *Bacillus coli napolitanum* ismiyle yaz ishaline neden olan bir etken olarak rapor edilmiştir. Günümüzde EPEC, gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda görülen ishale etkenlerindedir. Başlıca rezervuarı insandır. Gıda alanında çalışanlar ve kanalizasyon suları gıda kontaminasyon kaynakları arasında yer alır ve insanlara gıdalardan bulaşır (Bilgehan 1996, Hudson ve ark., 2000). Hijyen standartlarının yüksek olduğu yerlerde yaygın değildir. Neden olduğu ishalden ölüm oranı % 30 dolayındadır. Sporadik EPEC enfeksiyonları ise endüstriyel ülkelerde görülmektedir (Nataro ve Kaper 1998).

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

Orijinal olarak Hep-2 hücre kültürlerinde gösterdiği spesifik agregatif aderens paterni ile tanımlanan EAEC, hen yoksul hem de endüstrileşmiş ülkelerdeki çocuklarda endemik ishal, epidemik ishal, gelişmekte olan ülkelerde seyahat ishalleri, insan immün yetmelik virüsü (AIDS) enfeksiyonu olan hastalarda kalıcı diyare olmak üzere çeşitli klinik durumlarda ishale neden olmaktadır. EAEC ishali hafif inflamasyon (karın ağrısı ve ateş) bulgu ve septomları gösterir ancak dışkı genellikle kan ve lökosit içermez (Murray ve ark., 2009).

2.1.7.4 Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC) suşlarının insanlardaki ishallerle hastalıklarla olan ilişkisi 1960'larda ortaya çıkarılmıştır. O zamandan beri ETEC enfeksiyonlarının gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkma oranı artmıştır. ETEC turist ishallerinin en yaygın etkenidir ve endüstrileşmiş ülkelerde ara sıra görülen salgınlara neden olur. ETEC, fimbriyal kolonizasyon faktörlerini (CFs) ve ilgili kolonizasyon faktör antijenlerini kullanarak bağırsak epitel hücrelerine kolonize olmaktadır. Buna ek olarak ETEC suşları, plazmid tarafından kodlanan ısıya dirençli (Heat Stable Toxin =ST) ve/veya ısıya duyarlı (Heat Labile Toxin =LT) toksinler üretirler. Toksinler ST ve LT toksinleri St_a, St_b ve LT₁, LT₂ olmak üzere alt gruplara ayrılırlar. Bunlardan LT₁ kolera toksini ile %75 aminoasit benzerliğine sahiptir (Eklund, 2005). Etkenin zehirlenme yapabilmesi için gıdada 10⁶/g oranında bulunması gerekir. ETEC suşları mayonez, peynir, hazır gıdalar ve dışkıyla bulaşmış sularda bulunurlar (Abdullah ve Davies 1999, Hudson ve ark., 2000).

2.1.7.5 Diffüz Adherent *E.coli* (DAEC)

Diffüz Adherent *E.coli* (DAEC) hücre çözen *E.coli* olarak bilinmektedir. Oniki aylık çocuklarda ishale neden olmaktadır ve gelişmiş ülkelerdeki önemli patojenlerden biridir. Kesin patogenezi hakkında çok az şey bilinmektedir. Fakat DAEC suşları; epitel hücreleri üzerindeki yaygın yapışma şekilleri, alfa hemolizin üretimi ve sitotoksik nekroz faktör-1 ile karakterize edilmektedir. Buna ilaveten bütün kromozom ve plazmitlerin aracılık ettiği fimbriyal adhezinde (AIDA-1) yaygın yapışma fenotipleri ile ilgilidir (Eklund 2005).

2.1.7.6 Enterohemorajik *E.coli* (EHEC)

Diyarejenik *E.coli*'nin Shiga toksin oluşturan *E.coli* (STEC) kategorisini, bu organizmanın ürettiği toksinlere göre EHEC'den ziyade STEC olarak adlandırılır. EHEC suşları lizojen bir bakteriyofaj tarafından kodlanan, vero hücrelerine toksik etki gösteren ve protein sentezini inhibe eden Shiga toksin benzeri verotoksin salgırlar. Kuzey Amerika ve Avrupa'da en sık tanımlanmış olan diyarejenik *E.coli* serotipleridir. O157 STEC ABD'de her yıl tahminen 73000 hastalık ve 60 ölüm vakasına neden olmaktadır. *E.coli* O157:H7 serotipi hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS), trombotik trombositopenik purpura (TTP)

olmak üzere 3 temel klinik tabloya neden olur. EHEC'in verotoksin olarak da bilinen Stx1 ve Stx2 olmak üzere iki farklı Shiga toksin tanımlanmıştır. Ek olarak Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f olmak üzere Stx2'nin çeşitli varyantları vardır (Murray ve ark., 2009).

O157 STEC, sütü ve eti için üretilen sığırlarda kolonize olur, bu nedenle bulaşın diğer kaynaklarına göre et, daha çok *O157* STEC salgınlarına neden olmuştur. Bulaşın diğer kaynakları çiğ süt, sosis, rosto et, klorlanmamış şebeke suyu, elma şırası, çiğ sebzelerdir. Bu kaynaklar tipik olarak sığır dışkısı ile kontamine olmuş suya maruz kalırlar. EHEC suşu kişiden kişiye kolaylıkla yayılır, çünkü enfeksiyöz dozu düşüktür (< 200 CFU). Kişiden kişiye yayılımın olduğu salgınlar, okullar, uzun dönemli bakım kurumları, günlük bakım merkezlerinde ortaya çıkmıştır (Murray ve ark., 2009).

2.2 *E.coli O157:H7* Serotipi

E. coli O157:H7 serotipi EHEC grubu içindedir ve en tehlikeli gıda kaynaklı patojenler içinde yer alır (Halkman ve ark., 2001). *E. coli O157:H7* serotipinin genetik çalışmalar sırasında elde edildiği ve bir kaza sonucu doğaya salındığı şeklinde görüşler de bulunmaktadır. Griffin ve Tauxe'ye göre bu serotip muhtemelen enteropatojenik bir atadan genetik çalışmalar sonucu oldukça yakın bir dönemde ortaya çıkmıştır. Bu bakterinin başlıca kaynağı daha çok sığırlar olmak üzere koyun, keçi, geyik, tavuk, köpek, domuz, martılardır. Genelde dışkıdaki yaygınlığı % 0-10 oranında değişmekle beraber, genç hayvanlarda daha fazla olduğu sığır dışkısında 5°C'de 70 güne kadar canlılığını koruyabildiği ve verotoksin üretme kapasitesini kaybetmediği ortaya konulmuştur (Temelli, 2002). Çeşitli araştırmalar, bu bakterinin başta süt inekleri olmak üzere sıcak kanlı hayvanlar olarak tanımlanan memeli ve kanatlı hayvanların dışkıları ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısıyla tüm çevreye yayıldığını göstermiştir (Halkman ve ark., 2001).

Bu bakteri süt ineklerinin dışkılarında diğer sığırlara göre daha fazla bulunmaktadır (Wang ve ark., 2000). Çiğ süt ve ürünlerine bakterinin bulaşması, meme başlarından, sağım makineleri ile alet ve ekipman hijyeni yetersiz

pastörizasyon, pastörizasyon sonrası kontaminasyon ile olabilmektedir. Son yıllarda bu ürünlerin tüketimine bağlı salgınlar sıklıkla gözlenmektedir.

2.2.1 Biyokimyasal Özellikleri

E.coli O157:H7'in diğer *E.coli* suşlarından ayıran başlıca özellikleri; sorbitolü fermente edememesi, 4-methylumbelliferonglucoronide'i (MUG) hidrolize eden β -glukorinidaz enzim aktivesine sahip olmamasıdır. (*E.coli*'lerin %99'u β -glukorinidaz enzimi içerir) ve 44-45 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda gelişmemesidir. Ayrıca *eae* genine (bu gen bakterinin enterosite yapışmasını sağlayan intimini kodlar) sahip olması, 60 mDa plazmid taşıması ve yaygın olarak görülmeyen 5000-8000 Dalton moleküler ağırlıkta OMP ekspresyonu ve enterohemolizin üretimi ile ayrılır (Leyer ve ark., 1995).

E.coli O157:H7 serotipi glikozdan gaz oluşturur, üreazı yoktur ve H₂S oluşturmaz. *E.coli O157:H7*'in 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 ve ark., 1995).

E.coli'lerin % 98-99 kadarı β -glucuronidase enzimine sahiptir. Diğer bakterilerde çok ender olarak görülen bu enzim 4-methylumbelliferon β -D glucoronide (MUG) substratını parçalar ve parçalanma ürünlerinden 4-methylumberone uzun dalga boylu UV lambası (366nm) ile floresan ışımaya verir. *E.coli*'nin florojenik MUG belirteci özelliğini sağlayan β -glucuronidase enzimi uidA geni tarafından kodlanmaktadır (Halkman 2005).

E.coli dışındaki β -glucuronidase pozitif suşların *E.coli* analizlerinde sahte pozitif reaksiyon vermesi indol testi ile önlenir. β - glucuronidase bakteriler içinde indol pozitif olan tek bakteri *E.coli*'dir. MUG içeren Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSTB) gibi bazı besiyerleri triptofan içerirler. İnkübasyondan sonra UV ışığı ile floresan veren tüplere kovacs ayırıcı damlatılarak indol testi yapılır, floresan pozitif ve indol pozitif tüpler *E.coli* olarak değerlendirilir. Bu yöntemde toplam analiz süresi 37°C' de 24 saat (gerekirse 48 saat) inkübasyon süresi ile floresan ve indol testleri için gereken birkaç dakikalık süre toplamıdır. Sıvı besiyerinde genel olarak 18-24 saat sonunda gelişme olduğu dikkate alınırsa analiz süresi oldukça kısadır. Floresan kontrolü için mikrobiyoloji

laboratuvarlarında bulunan uzun dalga boylu UV lambaları ile her zaman tatmin edici sonuç alınmamaktadır. Bu nedenle MUG reaksiyonunun belirlenmesi için geliştirilmiş özel 366 nm dalga boyundaki UV el lambası kullanılması önerilmektedir. Bazı *E. coli* suşları yoğun üremeye bağlı olarak aşırı miktarda asit oluşturabilirler ve bu asitlik floresan ışımayı maskeler. Bu gibi durumlarda besiyerine 1 ml 1N NaOH ilavesi ile fluoresan reaksiyonu kesinleştirilir. *E. coli* O157:H7 suşunda H₂S oluşturma, Voges Proskauer, sorbitol testleri negatif, laktoz ve glikozdan gaz oluşturma, indol, metil red, hareket ve lizin dekarboksilaz (LD) testleri ise pozitifdir (Leyer ve ark., 1995, Kehl 2002).

MUG sisteminin kullanıldığı besiyerlerinde doğal olarak koliform grup analizi de yapılmaktadır. LSTB' daki durham tüplerinde gaz oluşturma koliform varlığı yönünden pozitif olarak değerlendirilmektedir. Koliform grubun standart olarak kanıtlanması için Brilliant Green Bile Broth (BGBB) (%2) besiyerlerine ekim yapılmalıdır. LSTB kullanıldığında, *E. coli* sonuçları, koliform grup sonuçlarından daha çabuk alınmaktadır (Kehl, 2002).

Standart yöntemlerle *E. coli* O157:H7 izolasyonunda yoğun refakatçi flora varlığına bağlı olarak sıklıkla yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Benzer şekilde analiz edilen diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi, selektif zenginleştirme ortamı olarak kullanılan besiyerinde *E. coli* O157:H7 suşu ile aynı düzeyde gelişebilen *E. coli* tip 1, *C. freundii*, *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei* gibi yakın akraba türler selektif katı besiyerinde de rahatlıkla gelişebilmekte ve eğer başlangıçta *E. coli* O157:H7 sayısı bu flora içinde yeterli bir oranda değilse bu bakterilerin baskılaması nedeniyle analiz sonucu hatalı olarak negatif alınmaktadır. Burada hedef bakterinin selektif sıvı ve katı besiyerlerinde gelişebilen refakatçi flora içindeki oranı en düşük % 1 olmalıdır. Bu şekilde standart boy bir petri kutusunda bulunan selektif bir katı besiyerine selektif zenginleştirme kültüründen yapılan ekim ve inkübasyon sonucunda oluşacak 100 koloni içinden hedef bakterinin diğerlerinden farklı olan koloni morfolojisine göre ayırt edilmesi ve izolasyonu mümkündür. Burada, petri kutusunda 100 koloni oluşacak şekilde selektif zenginleştirme kültüründen seyreltme yapılması esastır. Bu orandan daha düşük konsantrasyonlarda bulunacak hedef bakterinin petri

kutusunda görülmesi ve izolasyonu mümkün değildir. Gıda maddesinde başlangıçta bu oranın % 0.1 olduğu varsayılırsa selektif zenginleştirme sonunda bu oran korunacak, petri kutusunda 100 koloni oluşması sağlanacak şekilde yapılan seyreltmede petri kutusunda hedef bakteriden 1 adedinin koloni oluşturma olasılığı % 10 olacak, bir diğer deyiş ile % 90 olasılıkla petri kutusunda hedef bakteri koloni oluşturmayacaktır. Bu koşulda, *E. coli O157:H7*'nin koloni oluşturması için petri kutusunda 1000 koloni oluşacak şekilde seyreltme yapılması gerekmektedir. Ancak, bu koşulda da refakatçi bakteri kolonileri hedef bakteriyi maskeleyecek ve 1000 koloni içinden *E. coli O157:H7*'nin seçilip izolasyonu mümkün olmayacaktır. Klasik yöntemlerle yapılan analizlerde yakın akraba refakatçi floranın inhibisyonu üzerinde pek çok çalışma yapılmaktadır. Bunların inhibisyonu için yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığı, düşük pH, çeşitli antibiyotiklerin kullanılması, kısa inkübasyon süresi gibi faktörler araştırılmaktadır (Doyle 1991, Halkman ve ark., 1998, Janes ve ark., 2002).

Yapılan bir çalışmada, *E.coli O157:H7*'nin etli konserve besinlerinin kullanılmasında, korunmasında kullanılan asitlere (sitrik, asetik, laktik asitlere) diğer bağırsak patojenlerinden daha dayanıklı olduğu belirtilmiştir (Akkuş 1996). pH 1,5-2,5 değerlerinde bile *E.coli O157:H7*'nin 3-4 saat canlı kalabildiği belirtilmiştir. Bu da *E.coli O157:H7*'nin düşük dozlarda bile mide asidinden geçerek enfeksiyona neden olmasını açıklamaktadır.

E. coli O157:H7'nin üremesi üzerine sıcaklığın da etkisi bulunmaktadır. Minimum üreme sıcaklığı 8-10 °C'dir. Optimal olarak 30-42 °C'de iyi ürerler. Bakteri sıcağa duyarlıdır ve pastörizasyonda inaktive olur. Bir gıdada 10⁴ kob/ml bakterinin ölmesi için 72°C pastörizasyon sıcaklığı 16-20 saniye yeterli bulunmaktadır. *E. coli O157:H7* soğuğa dirençlidir, -20 °C'da dondurulmuş gıdalarda (kıymalarda) canlılığını korur ve pH 5,7-7,5'de iyi ürer. Bununla beraber pH 3,6'da buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen gıdalarda canlılığını korumakta ve pH değeri 4 olan sıvı kültürlerde üreyebilmektedir. Ayrıca bakteri asitli gıdalarda canlılığını korumakta, fermante sucuk ve elma suyu gibi gıdalar uygun besiyeri olmaktadır. Yeni bir tip hemolizin olarak kabul edilen enterohemolizin, verotoksin pozitif *E.coli O157:H7* serotipleri tarafından

üretirken, bu özellik diğer *E. coli*'lerde yoktur. Enterohemolizin sadece eritrositleri yıkanmış kanlı agarda belirlenebilir. Bu şekilde 33 adet verotoksik *E. coli* O157:H7 suşundan 32 adedinin enterohemolizin ürettiği gösterilmiştir (Wang ve ark 2000).

2.2.2 Virülans Faktörleri

EHEC suşlarının virülans faktörleri Shiga toksin 1, 2 ve bunların varyantları, STEC hemolizin, bağırsak epitel hücrelerine kümelenmeyi sağlayan STEC intimidinidir. Ayrıca ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1geni) ve seroproteinazlar da diğer virülans faktörlerdendir (Abdullah ve Davies 1999).

E. coli O157:H7 suşu Shiga like toxin 1;SLT-1 olarak adlandırılan (yeni terminolojide Stx 1 ve Stx 2)' toksinler üretmektedir. Şigatoksinler Vero hücre kültürlerine sitotoksik etkili olduğundan verotoksin -1 (V_t 1) ve verotoksin-2 (V_t 2) olarak da adlandırılmaktadırlar (Cosansu ve Ayhan 2000).

Stx toksini, *S. dysenteriae* tip I'in ürettiği toksinden sadece bir aminoasit farklıdır ve antijenik olarak bu toksinden ayırt edilemez. Stx 2 ise bu toksinlere % 50-60 oranında benzerlik gösterir ve 5 değişik varyant içerir (Stx 2, 2c, 2d, 2e ve 2f). Şiga toksijenik *E. coli* (STEC) bu toksinlerin (Stx-1,Stx-2) birini veya her ikisini de üretebilmektedir. Ciddi klinik semptomlar daha çok Stx-2 üreten *E.coli* O157:H7 suşunun neden olduğu infeksiyonlarda görülmektedir. Özellikle Hemorajik Üremik Sendrom (HUS) vakalarında izole edilen toksin Stx 2'dir. Yapısal olarak Stx'ler shiga toksin gibi, toksik etkiyi gösteren bir A ve hücreye girişi sağlayan beş B alt ünitesi içerir. A ünitesi hücrede 60S ribozomda 28S rRNA'dan bir adenin molekülünün çıkması ile protein sentezini inhibe etmektedir. Bu olay geri dönüşümsüzdür ve hücrenin ölümüne neden olurlar. Stx'ler intestinal sistemde üretildikten sonra dolaşım sistemine karışarak iç organlarda hasara neden olurlar (Abdullah ve Davies 1999).

Stx'lerin patojenik mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat ishal, Hemorajik kolit (HC), Hemorajik Üremik Sendrom (HUS) ve Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) gelişimine katkıda buldukları düşünülmektedir. HC'in, Stx'lerin intestinal sisteme bırakıldıktan sonra ve HUS/TTP'nın da Stx'lerin kana karışmasından sonra ortaya çıktığı tahmin

edilmektedir. HUS'lu hastaların kanlarında Stx'lere rastlanmıştır. Stx 2 ve Stx 2c'in insanlardan izole edilen suşlarda en sık bulunan toksinler olduğu belirtilmektedir (Abdullah ve Davies 1999).

2.2.3 Yaptığı Hastalıklar

E.coli O157:H7 enfeksiyonları gençlerde daha etkilidir. Japonya'da yapılan araştırmalarda gençlerin ve çocukların *E.coli O157:H7* serotipinin yapmış olduğu hastalıklara duyarlılığı belirgin bir şekilde gösterilmiştir. Dışkılarında bu bakteriye rastlanan 20 yaş altındaki kişilerin %80'den fazlası tipik semptomları gösterirken, yine dışkılarında *E.coli O157:H7* serotipi bulunan 30-46 yaş arasındaki kişilerin %70'i tipik semptomları göstermemiştir (Halkman ve ark., 2001).

Diyarejenik *E.coli*'lerin (DEC) neden olduğu gıda kaynaklı hastalıkların klinik, halk sağlığı ve ekonomik yönden önemi vardır. Sadece *E.coli O157:H7* serotipinin neden olduğu hastalıkların tedavi giderleri ve iş gücü kaybı bedelinin yılda 229-610 milyon \$ olduğu tahmin edilmektedir (Halkman ve ark., 2001).

Bu serotipin yapmış olduğu başlıca hastalıklar;

2.2.3.1 Hemorajik Kolit

Hemorajik kolit 1982'de Oregon ve Michigan'da çeşitli kanlı ishal sendromları olan iki vakada spesifik restoran zincirlerindeki hamburger tüketimi sonucunda gözlenmiştir. Hemorajik kolitin belirtileri abdominal kramp, kanlı dışkı ve çok az ateştir. Vakaların yarısında dışkıdan *E.coli O157:H7* izole edilmiştir. Sonradan bu serotipin Stx ürettiği gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar sonucunda Stx'in hemorajik kolitin önemli bir sebebi olarak gösterilmiştir (Kapper, 1998).

Hemorajik kolit aniden ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ile başlar ve 24-48 saat içinde sulu diyare ile devam eder. Diyare sırasında görülen kan miktarı zamanla artar ve dışkı tümüyle kan olur. Hastalığın ortaya çıkması genellikle 3-9 gün (ortalama 4 gün), hastalık süresi 2-9 gündür. Hastalığın ortalama 8 gün sürdüğü şeklinde kaynaklara da rastlanmaktadır. Kramplı karın ağrılarının doğum sırasındakine benzer yoğunlukta olduğu ve apandisit ağrısından daha şiddetli olduğu bildirilmektedir. Bu hastalık dizanteri ve invaziv *E.coli*'nin neden olduğu

gastroenteritten, ateşin yükselmesi ve kanlı dışkı ile ayrılmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

2.2.3.2 Hemolitik Üremik Sendrom

İlk olarak 1955’de tanımlanmıştır. HUS çocuklardaki akut renal yetmezliğin önemli nedenlerinden birisidir. İngiltere’de çocuklarda yapılan bir çalışmada, HUS’un akut renal yetmezliğin en sık ve en önemli nedeni olduğu saptanmıştır. Sıklıkla yaz aylarındaki sporadik vakalar ve küçük epidemiler halinde görülür. Bu sendrom sıklıkla kanlı diyareyle seyreden gastroenteriti takiben akut olarak başlayan mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve renal yetmezlik ile karakterize edilir. Epidemilerin çıktığı bölgelerdeki hastalarda bu komplikasyonların gelişme oranı etkilenen populusyona göre değişiklik gösterir. Yayılım hızı toplum arasında çok düşüktür. Genellikle çocuklarda ve yaşlı insanlarda yüksektir (Arslantürk 1996). Yaşlılarda HUS; ateş ve Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) olmak üzere iki ilave semptom ile görülür. Bu durumda yaşlılarda ölüm oranı ortalama %50’ye çıkmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

Klinik olarak HUS gösteren hastalarda, ciddi bir hastalık seyri veya bazen sarılık ve sıklıkla yüksek tansiyon oluşmaktadır. Hastaların sıklıkla diyaliz ve kan nakline gereksinim duydukları ve kalp yetmezliği, koma, kalp krizi gibi kardiovasküler ve merkezi sinir sistemi hastalıklarının gelişebildiği bildirilmektedir (Özbaş ve Aytaç 1995).

HUS küçük epidemiler oluşturan mevsimsel dağılım gösteren bir sendrom olup, toksinlerle oluşmaktadır. İngiltere’de ve Amerika’da birkaç çalışmada ve Kanada’da yapılan bir çalışmada klasik HUS’lu hastaların %90’ında verotoksin üreten *E.coli* saptanmıştır (Arslantürk 1996).

2.2.3.3 Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)

TTP, mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni, nörolojik hastalık, renal hastalık ve ateş ile karakterize edilir. TTP, birçok yönüyle HUS’a benzerdir. Fakat sıklıkla erişkinlerde görülür, çoğu zaman ateşle birliktelik gösterir ve hastalığın öncesinde HUS’un bir belirtisi olan diyare gibi bulgular görülmez. Yapılan çalışmalarda hastaların %14’ünde karın ağrısı olduğu saptanmıştır (Arslantürk

1996). TTP’de merkezi sinir sistemi bozukluğu temel özelliştir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşur ve ölüm görülür (Doyle ve ark.,1997).

2.2.3.4 *E.coli* O157:H7’nin Neden Olduğu Kansız Diyare

E.coli O157:H7 enfeksiyonlarının çoğu sulu diyareyle başlayıp daha sonra kanlı diyare ile seyredir. Sporadik vakaların %95inden fazlası kanlı diyarelidir. Epidemiler sırasında enfekte kişilerin %17- 30’unda ve sporadik vakaların % 4- 5’inde kan görülmediği bildirilmiştir. Kansız diyareli kişilerde, kanlı diyareli kişilere oranla daha az oranda HUS ve TTP gibi komplikasyonlar görülmüştür (Arslantürk, 1996).

2.2.3.5 Asemptomatik Kişilerde *E.coli* O157’nin Bulunması

E.coli O157:H7 genellikle semptomu olmayan kişilerden izole edilmez. Bununla beraber, epidemiler sırasında bazen bakteriyi taşıyan semptomsuz kişilere rastlanılmaktadır. Bir araştırmada üç anaokulunda iyi pişirilmemiş sütlerin içilmesi sonucu oluşan *E.coli* O157:H7 epidemisi sırasında semptomsuz çocukların dışkısında *E.coli* O157:H7 izole edilmiş ve bakım evlerindeki epidemilerde de semptomsuz kişilerde *E.coli* O157:H7 serotipi saptanmıştır. Bakım evlerindeki epidemilerde enfekte hamburger yiyen asemptomatik kişilerin dışkısından *E.coli* O157:H7 izole edilmiştir (Arslantürk, 1996).

2.2.4 *E.coli* O157:H7’nin Bulaştığı Gıdalar

Başta sığıı dışkısı olmak üzere doğrudan ve/veya dolaylı olarak hayvanların dışkısının bulaştığı her türlü gıda maddesi *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu bakımından potansiyel tehlike taşımaktadır. Çeşitli gıda maddelerinde, içme ve kullanma sularında, göllerde *E. coli* O157:H7’i bulunmuştur (İnal, 1990).

Dünyanın çeşitli yerlerindeki enfeksiyonların büyük bir bölümü başta yetersiz pişirilmiş et ve pastörize edilmemiş süt olmak üzere sığıı kaynaklı gıdalar ile olmuştur. Diğer hayvanlar ve özellikle gevişler *E. coli* O157:H7’nin kaynağıdır (Firstenberg ve Sullivan 1997).

E. coli O157:H7 başta sığıı olmak üzere domuz, koyun, piliç etlerinden, hamburger ve köfte olmak üzere kıyma ile hazırlanan et ürünlerinden izole edilmiştir (Sarimehmetoğlu ve ark., 1998). Hayvanların dışkılarıyla etlerin

kontamine olabildiği gösterilmiştir. İngiltere’de yapılan bir çalışmada sığır dışkılarında % 15.7, koyun dışkılarında % 2,2 oranında bakteri saptanmıştır. *E. coli O157:H7*, et ürünlerinden başka ürünlerde çeşitli peynirler, çiğ süt, yoğurt, su kaynakları, salatalar ve salata sosları, evde yapılan sandviç, turp filizi, pastörize edilmemiş elma şarabı ve taze sıkılmış elma suyunda bulunmuş ve çeşitli enfeksiyonlara neden olmuştur. Afrika ülkelerinde yüzey suyunun içilmesine bağlı olarak binlerce kişinin etkilendiği salgınlar olmuştur (Özalp ve Kaymaz 1992).

Bu bakterinin iceberg salatalarında canlı kalması, yapraklara penetrasyonu ve klorun bakteriye etkisi üzerine de araştırma yapılmıştır. Yapılan çalışmada hücrelerin kesik dokulara 73,5 µm altına penetre olduğu, 200 ppm klorun 5 dakika içinde 0,7-1,0 log birimi indirgeme sağlamakla beraber doku içine nüfuz etmiş *E. coli O157:H7* hücrelerinin klor etkisinden daha fazla korunduğu bulunmuştur. Böylece çiğ yenilen salata türü sebzelerin de tehlikeli olabileceği ortaya konulmuştur (Aksu ve ark., 1999).

Taze sıkılmış elma suyu ABD’de ve Batı Avrupa ülkelerinde oldukça yaygın bir tüketim alanına sahiptir. Ağaçtan yere dökülmüş ve dışkı ile bulaşmış elmaların yeterince yıkanmadan büfelerde sıkılarak tüketime sunulması sonunda kayıtlara geçen pek çok enfeksiyon görülmüştür. Yine ABD’de pastörize edilmemiş elma suyundan yapılan elma şarabı pek çok enfeksiyona neden olmuştur. Elma şarabında kullanılan elmaya diğer meyva şaraplarında olduğu gibi ısıl işlem uygulanmaması ve elma şarabında alkolün % 4-5 düzeyinde olması enfeksiyon riskini artırmaktadır (Janes ve ark., 2002).

2.2.4.1 Peynir

Çok büyük bir çeşitlilikteki aroma, tat, yapı ve şekle sahip bir grup fermante süt ürünü için kullanılan genel isimdir. Özellikle yağ, protein, kalsiyum, fosfor, vitamin A bakımından zengin, yüksek besleyici değerinde, sevilen tat ve aromaya sahip olan peynir, oldukça fazla tüketilen bir süt ürünüdür (Güven ve ark., 1996).

Peynir; çeşitli hayvanlardan (inek, koyun, keçi) elde edilen sütlerin maya ve organik asitlerle ekşitildikten sonra, doğrudan veya çeşitli tat ve koku verici katkıları katılarak değişik şekillerde işlenmesi sonucu olgunlaştırılan veya

olgunlaştırılmadan elde edilen bir üründür (Kamber, 2005). Peynir kelimesi modern Türkçe'ye Farsça sütün yapılmış anlamına gelen panir kelimesinden geçmiştir.

Yeterli ve dengeli beslenme toplumu oluşturan bireylerin sağlıklı yaşaması, varlığını sürdürebilmesi bakımından temel koşullardan birisi belki de en önemlisidir. Büyüme, gelişme, yaşamın sürdürülmesi, sağlığın korunması için belirli bir düzeyde hayvansal gıdaların tüketilmesi gerekir. Hayvansal bir gıda olan süt her zaman ve her yerde bulunabilen ve içerdiği besin maddeleriyle, her yaştaki insanın beslenmesinde önemli bir yer tutar. Ayrıca süt, gıda endüstrisinin de temel maddelerinden birisidir (İnal 1990). Dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacının önemli bir kısmı sığır, manda koyun, keçi gibi evcil hayvanların sütünden sağlanır. Süt hayvanlarının dünyadaki dağılımı ve verimi büyük farklılıklar göstermektedir. Dünya ülkelerindeki tüketim alışkanlıkları arasında da büyük farklılıklar vardır (Özalp ve Kaymaz 1992).

Sütün vücut için en iyi değerlendirme şekli onun doğrudan doğruya süt olarak içilmesi ile mümkündür. Ancak süt, hacimli olması, naklinin zor olması ve çabuk bozulması gibi nedenlerden dolayı daha dayanıklı ürünlere dönüştürülmekte ve bunlar arasında peynir önemli yer tutmaktadır (Tekinşen ve ark.2002). Türkiye'de üretilen çiğ süt, içme sütü, tereyağı, peynir, yoğurt, dondurma, süt tozu gibi çeşitli süt ürünlerine dönüştürülmektedir. Bu süt ürünleri içerisinde toplam çiğ sütün yaklaşık %40' lık payını peynir almaktadır. Yani toplam 4-5 milyon civarında çiğ süt ,peynir üretimi için ayrılmaktadır (Demirbaş, 2000).

Peynirin günlük beslenmedeki önemi; kolay sindirilebilme özelliğinin yanı sıra, yağ, vitaminler, serum proteinleri ve diğer besin unsurlarının da bir ölçüde peynirin yapısına girmesinden ileri gelir. Peynir, özellikle yüksek kalitede protein, yağ, A ve B2 vitaminleri yönünden oldukça zengindir. Türkiye'de yüksek teknolojiye sahip süt işleme tesislerinde yabancı kökenli birçok peynir de üretilmektedir. Küçük ölçekli veya mandıra tipi teknolojisi düşük olan işletmelerde satılan peynirler halk sağlığı açısından risk taşımakta, hijyenik şartlara önem verilmemesi nedeniyle risk oranı artmaktadır (Tan ve Ertürk 2002).

2.2.4.1.1 Peynirlerde Bulunan Patojen Mikroorganizmalar

Gıda kaynaklı hastalıklar genel anlamda patojenik mikroorganizmalar, mikrobiyal toksinler ile kontamine olmuş gıdaların yenilmesi ile oluşan ve daha çok gastrointestinal semptomlarla seyreden klinik tablolar olup intoksikasyonlar, ve infeksiyonlar şeklinde görülür. Gıda kaynaklı infeksiyonlar (GKİ), ülkeden ülkeye, toplumsal yaşam biçimlerine ve ekonomik koşullara bağlı farklılıklar göstermekle birlikte, hem gelişmiş hem de az gelişmiş ülkelerde sıklıkla görülmektedir. Bu gün için besinlere bağlı 200'den fazla infeksiyon tanımlanmış olup, bunların çoğu bakterilere bağlı olmak üzere, virüslere, parazitlere bağlı oluşmaktadır. Patojenik spektrum zamanla değişim göstermektedir. 1900'lü yıllarda gıda kaynaklı infeksiyonlar içinde tifoid ateş, bruselloz, tüberküloz ve zoonotik streptokokal infeksiyon ilk sıralarda yer alırken, sütün sanitasyon ve pastörizasyonu, hayvanlarda hastalık kontrolü çalışmaları, suların güvenli kaynaklardan temini ve diğer önlemler ile spektrum değişmiştir. Günümüzde gıda kaynaklı infeksiyonlara neden olan en önemli patojenler arasında *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium türleri*, *Brucella türleri*, *S. aureus*, *E coli O157:H7*, *B. cereus*, ve *L. Monocytogenes* bulunur. Bununla birlikte bu patojenler gıda kaynaklı infeksiyonların tahmini sayısının sadece %19'undan sorumlu bulunmuştur (Kartal, 2005).

Peynir birçok gıda kökenli hastalığın kaynağını oluşturur. Bu hastalıklar arasında bruselloz, listeriyoz, şigeloz, salmonelloz, Enteropatojenik *E.coli*'nin neden olduğu gastroenterit ve stafilokokların etken olduğu gıda zehirlenmeleri sayılabilir (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

Protein ve kalsiyum bakımından oldukça zengin bir besin maddesi olan peynirde, farklı kaynaklardan bulaşan birçok mikroorganizma grubu çok hızlı çoğalma gösterir. Bu mikroorganizmalardan bazıları saprofit olup peynirde bulunan protein, yağ ve karbonhidrat gibi besin kaynaklarını kullanarak kötü tad ve aromaya sebep olan metabolitleri üretirler. Bunun sonucu olarak peynirlerde acılaşma, kokuşma gibi bozulmalar meydana gelir. Peynirlere çeşitli kaynaklardan bulaşan bu mikroorganizmalar içerisinde, en zararlı gurubu koliform bakteriler

oluşturmaktadır. Koliform bakterileri içerisinde *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* ve *Klebsiella pneumoniae* sayılabilir. Koliform grubu bakteriler süt şekerini asit ve gazla çevirmekte ve oluşan gaz peynirin iç kısmında toplanarak gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır (Halkman, 2005) .

İnsanlarda oldukça şiddetli hastalıklara yol açan Enterohemorajik *E. coli* son derece önemli gıda kaynaklı patojendir. *E. coli* üzerinde yapılan çalışmalarda özellikle *E. coli O157:H7* suşunun insan sağlığı açısından en riskli tür olduğu ifade edilmektedir. *E. coli O157:H7* insanlara kontaminasyonu süt ve süt ürünleri gibi gıda maddeleriyle olduğu tespit edilmiştir (Halkman, 2005) .

2.2.5 *E. coli O157:H7* Suşundan Korunma

Enterobacteriaceae ailesindeki bakteriler (*E. coli* dahil), ısıya duyarlıdır ve 70 °C'nin üstünde ısıtma ile yok edilebilirler. Çiğ veya az pişmiş gıdalar, pişmiş gıdanın hammadde ile veya kontamine olmuş aletle temasa geçmesi enfeksiyonun başlıca nedenleridir. Uygun pişirme ve gıdanın hijyenik işlenmesi, üretici personelin hijyene dikkat etmesi enterobakteriyel enfeksiyonları yüksek oranda engelleyecektir (Çakır, 2000).

Kıyma ve köftenin tamamen pişirilmesi halinde mikroorganizma yok edilir. Etin en kalın kısmına saplanan bir termometre en az 72 °C'yi göstermelidir. Et pişirilirken etin pembe renginin kaybolup gri kahverengiye dönüşmesi ve et suyunun tamamen uzaklaşması ile yeterli pişirme sağlanabilmektedir. Et hazırlanırken diğer yiyeceklerden ayrı tutulmalı, çiğ etle temas eden tüm yüzeyler ve aletler tekrar kullanılmadan önce iyice yıkanmalıdır. Üzerinde çiğ etin bulunmuş olduğu yıkanmamış bir tabağa sonradan pişmiş köfteleri koymak enfeksiyonu artırır. Ayrıca koruyucu önlem olarak, etin kesim sonrası hızla 7°C altında, sütün ise 5°C ve altında soğutulması gerekmektedir. Ellerin yıkanması da benzer şekilde önemlidir (Akkuş, 1996).

Gıdalardan *E.coliO157:H7*'yi yok etmek için uygulanan en etkili metodun ısıtma (pişirme veya pastörizasyon) olduğu bildirilmektedir. Pastörize edilmemiş süttten ve meyve suyundan kaçınılmalıdır. Ticari meyve suları her zaman pastörize

edilmelidir. Meyve ve sebzeler, özellikle eğer pişirilmeyeceklerse, iyice yıkanmalıdırlar (Çakır, 2000).

Klorlanmamış suların içilmemesi, bu suların gıda işlek yerlerindeki ekipmanların yüzey temizliğinde kullanılmaması gerekir. Klor veya daha etkili dezenfektanların uygulandığı suların tüketilmesi gerekmektedir. Tahıl, meyva ve sebzelerin sulanmasında kullanılan atık suların belli işlemlerden geçirilmesi önerilmektedir. Şüpheli suların tüketilmeden önce mutlaka kaynatılması sağlanmalıdır. İşlem görmemiş havuz veya göl sularında yüzmenin bir risk olduğu anlatılmalıdır.

Günümüzde EHEC'e bağlı hastalıklardan korunmak için kullanılan etkin bir aşı bulunmamakta ancak hayvanlarda deneysel uygulamalar devam etmektedir (Temelli, 2002).

2.3 *E. coli* O157:H7 Suşunun Gıdalarda Belirlenmesi

2.3.1 Standart Analiz Yöntemi

E. coli O157:H7'nin besinlerde aranmasında zenginleştirme, izolasyon ve doğrulama işlemleri gibi 3 temel aşama uygulanmaktadır.

2.3.1.1 Zenginleştirme

Besinlerde *E. coli* O157:H7 'nin varlığının aranmasında ilk uygulanan işlem zenginleştirme aşamasıdır. Bu aşamada 10-25 g tartılan besinler 90-225 mL sıvı besiyeri içinde homojenize edilir ve 37 °C 'da 6-24 saat inkübasyona bırakılır. Sıvı besiyeri olarak modifiye triptik soy buyyon (mTSB), EHEC zenginleştirici buyyon (EEB), triptikaz novobiosin (TN) buyyon veya lauryl sulfat triptoz buyyon kullanılabilir. Zenginleştirme besiyerinde antibiyotik kullanımından başka inkübasyon sıcaklığının 43-44°C'a çıkarılması ile de refakatçi flora baskılanabilmektedir (Çakır 2000, Halkman ve ark. 2001).

2.3.1.2 İzolasyon

Zenginleştirme besiyerindeki örneklerden katı besiyerlerine ekilerek *E. coli* O157:H7'nin izolasyonu yapılmaya çalışılır. Bu aşamada bakterinin sorbitol negatif, β-D-glukuronidaz negatif olma özelliğinden yararlanır. Kullanılan besiyerlerinden bazıları; Sorbitol MacConkey agar (SMAC), Hemorajik Koltis

(HC; hemorrhagic colitis) agar ve Tellurite-Cefixime-SMAC (CT- SMAC) agardır (Çakır 2000, Halkman ve ark. 2001).

SMAC agar besiyerine ekim yapıldıktan sonra plaklar 35 °C' da 18 saat bekletildiğinde sorbitolü kullanmayan bakteriler (sorbitol negatif) soluk pembe veya renksiz, kullanan bakteriler (*E.coli* ve diğer enterikler) ise, parlak pembe renkte koloniler oluştururlar. SMAC agar besiyerinin bileşimine MUG katılarak glukuronidaz aktivitesi de tespit edilebileceği gibi, bileşiminde MUG bulunan Fluorocult *E. coli* O157 agar gibi bir besiyerine sorbitol negatif kolonilerden sürme yapılarak da fluoresan negatif koloniler izole edilebilmektedir (Çakır 2000, Halkman ve ark. 2001).

Son zamanlarda *E. coli* O157:H7 izolasyonunda CT-SMAC besiyerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Besiyerinin bileşiminde bulunan antibiyotikler diğer mikroorganizmaların gelişmesini etkili bir şekilde önlemektedir. Bu besiyerinin bileşimi SMAC agar ile aynı olup, sterilizasyon işleminden sonra filtre ile sterilize edilmiş potasyum tellürit (2,50 mg/l) ve sefiksime (0,05 mg/l) katılarak hazırlanmaktadır. İnkübasyon sonunda sorbitol pozitif koloniler pembe veya kırmızı renkte, tipik O157:H7 kolonileri ise renksiz veya dumanımsı gri renkte 1-2 mm çapında koloniler oluşturmaktadır (Çakır, 2000, Halkman ve ark., 2001).

2.3.1.3 Doğrulama

Zenginleştirme aşamasında kullanılan mTSB besiyerinde, izolasyonda kullanılan SMAC Agar ve HC Agar besiyerlerinde eğer örnekte koliform sayısı çok fazla ise *E.coli* O157:H7'nin gelişimi maskelenebilmektedir. Ayrıca *Escherichia hermani* ve *Citrobacter freundii* gibi bazı enterik bakteriler benzer biyokimyasal özelliklerinden dolayı izolasyonda yanlış negatif sonuçların alınmasına neden olabilmektedir. *E. coli* türlerinin büyük çoğunluğu sorbitolü fermente edebilmelerine karşın suşların %6'sının sorbitolü fermente edemedikleri bilinmektedir. Gıda örneğinde böyle atipik suşların bulunması durumunda CT-SMAC agar besiyerinde *E.coli* O157:H7' ye benzer koloniler oluşturmaktadırlar. Bu durumda yapılması gereken glukuronidaz aktivitelerine göre yanlış negatif sonuç veren kolonilerin ayırt edilmesidir (Çakır, 2000, Halkman ve ark., 2001).

Selektif besiyerinde gelişen tipik kolonilerden birkaç tane alınarak içerisinde % 0,6 oranında maya ekstraktı bulunan yatık Tryptic Soy agar (TSAYE; Tryptic Soy Agar Yeast Extract) besiyerine ekim yapılır. 37°C' da bir gece inkübasyonun ardından gelişen mikroorganizmalara indol testi uygulanır. Bunun için yatık agardan bir öze örnek alınarak Kovac's ayırıcı ile ıslatılmış filtre kâğıdı üzerine konular ve renk değişimi gözlenir. Enterohemorajik *E. coli* türleri reaksiyona pozitif sonuç vermektedir. Doğrulama amacıyla kullanılan diğer testler; Selektif zenginleştirme ve katı besiyerinde inkübasyon aşamalarından sonra izolasyonu yapılan kültürlerin *E. coli O157:H7* serotipi olduklarının, *E. coli O157:H7* lateks test kitleri, *E. coli O157* ve *E. coli H7* antiserumları ve biyokimyasal testler uygulanarak doğrulanması gerekmektedir (Çakır2000, Halkman ve ark. 2001).

2.3.2 *E. coli O157:H7* Aranmasında Kullanılan Hızlı Yöntemler

E. coli O157:H7 aranmasında kullanılan yöntemler şunlardır;

1-GLISA Hızlı Arama ve Doğrulama Testi (Gold Labelled Immuno Sorbent Assay)

2- EZ Coli Hızlı Arama Sistemi

3- İmmünomanyetik Ayırım Tekniği

4- Diğer Hızlı Yöntemler

Bu hızlı test yöntemleri dışında DNA problrarı kullanılarak yapılan testler ve *E. coli* suşlarına ait spesifik yapısal veya toksin proteinlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak elektroforez işlemi ile tespit edilmesi esasına dayalı yöntemler de bulunmaktadır. Ancak bu yöntemler henüz gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılmamaktadır (Çakır 2000, Halkman ve ark. 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

- Işık mikroskobu
- Etüv (37⁰C)
- Buzdolabı (+4⁰C)
- Otoklav
- Deney tüpleri (10 ml)
- Steril kavanozlar
- Steril taşıma kapları
- Steril petri kapları (60X15 mm)
- Beher ve Erlen (500 ml)
- Balonjoje (2 L'lik)
- Halka ve iğne öze
- Steril pipetler (1ml'lik, 5ml'lik , 10 ml'lik)

3.2 Kullanılan Besiyerleri

3.2.1 Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) (Oxoid CM 0509)

İçerik:

Pepton	10 g
Sodyum klorit	5 g
Disodyum fosfat	3,5 g
Potasyum dihidrojen fosfat	1,5 g

Hazırlanması: Balonjoje içine 20 g besiyerinden tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklendi. Çözünmesi sağlandıktan sonra, 121 ⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılmaya kadar +4 ⁰C'de saklandı.

3.2.2 Metilumbelliferil- β -D-glucuronid (MUG) içeren Lauryl Sülfat Triptoz Buyyon (LSTB) (Oxid CM0967)

İçerik:

Triptoz	20 g
Laktoz	5 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2,75 g
Potasyum dihidrojen fosfat	2,75 g
Sodyum klorür	5 g
Triptofan	1 g
Sodyum lauryl sülfat	0,1 g
4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG)	0.1 g

Hazırlanması: Balonjoje içine besiyerinden 36.7 g tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklenerek çözünmesi sağlandı. pH'sı 6,8-7,0 ye ayarlanıp durham tüplü her bir deney tüpüne 9 ml dağıtıldı. Tüpler otoklavda 121 °C'de 15 steril edildikten sonra kullanılmaya kadar +4 °C'de saklandı.

3.2.3 Nutrient Buyyon (NB) (Lab M 68)

İçerik:

Sığır ekstraktı	1 g
Maya ekstraktı	2 g
Pepton	5 g
Sodyum klorür	5 g

Hazırlanması: Balonjoje içine besiyerinden 13 g tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklenerek çözünmesi sağlandı. Karışımın pH'sı 7,4-7,6'ya ayarlanıp her bir deney tüpüne 5 ml ilave edildi. Tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılmaya kadar +4 °C'de saklandı.

3.2.4 Eozin Metilen Mavisi (EMB) Besiyeri

İçerik

Pepton	10,0 g
Laktoz	10,0 g
Sükroz	5,0 g
K ₂ HP04	2,0 g
Agar	15,0 g
Eozin Y	0,49 g
Metilen Mavisi	0,069 g

Kaynatılarak eritildi ve 121 °C'de 15 dakika otavlanarak sterillendi. Biraz soğutulup plaklara döküldü. pH 7,1 olmalıdır

3.2.5 Sefiksim Tellüritli-Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC) (Merck 1.09207)

İçerik:

Pepton	20 g
Sorbitol	10 g
Safra tuzu	1.5 g
Sodyum klorür	5 g
Nötral kırmızısı	0,03 g
Kristal moru	0,001 g
Agar	15 g

3.2.5.1 Sefiksim Tellürit Selektif Supplement (CT Supplement) (Oxoid SR0172E)

Potasyum tellürit	1.25 mg
Sefiksim	0.0 25 mg

Hazırlanması: Dehidre besiyeri, 25,75 g/500 mL olacak şekilde ısıtılarak distile su içinde çözünmesi sağlandı ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. 50 °C'a soğuyunca üzerine 2 mL steril damıtık su ile sulandırılmış 1 şişe

CT-Supplement ilave edilerek karıştırıldı ve steril petri kutularına 12,5'er mL döküldü.

3.2.6 İndol Besiyeri

İçerik:

Pepton	2 g
Sodyum klorür	0.5 g
Distile su	100 mL

Hazırlanması: Balonjoje içine yukarıdaki maddeler tartılarak konuldu, üzerine 100mL distile su eklendi, ısıtılarak çözünmesi sağlandı. Tüplere 5 mL dağıtıldı ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Son pH 7.2'ye ayarlandı (Bilgehan, 2004).

3.2.7 MR(Metil Red) / VP(Voges Proskauer) Besiyeri (Atabay kimya M070)

İçerik:

Pepton	7 g
Dekstroz	5 g
Dipotasyum Fosfat	5 g

Hazırlanması: Balonjojeye 17g besiyeri tartılarak konuldu, üzerine 1L distile su eklendi. Çözünmesi sağlandıktan sonra tüplere 10 mL dağıtıldı. Tüpler otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi (Bilgehan, 2004).

3.2.8 Simons Sitrat Agar (OXOID CM155)

İçerik:

Magnezyum sülfat	0.2 g
Amonyumdihidrojenfosfat	0.2 g
Sodyum amonyumfosfat	0.8 g
Sodyum Sitrat	2 g
Sodyum Klorür	5 g
Bromtimol mavisi	0.08g
Agar	15 g

Hazırlanması: Balonjoje içinde 23 g besiyeri konuldu, üzerine 1L distile su eklendi. Tüplere dağıtılıp otoklavda 121°C’da 15 dakika sterilize edildikten sonra tüpler yatık durumda kalacak şekilde tutularak besiyeri katılaştırıldı (Bilgehan 2004).

3.3 Kullanılan Ayıraçlar

3.3.1 İndol Testi Ayıracı (Kovacs)

İçerik:

p-dimetilaminobenzaldehit	10 g
İzoamilalkol	150 ml
HCl (konsantre)	50 ml

3.3.2 Metil Kırmızısı Test Ayıracı

İçerik:

Metil kırmızısı	0,050 g
Ethyl alcohol (% 95’lik)	150 ml
Distile su	100 ml

3.3.3 Voges Proskauer Test Ayıracı

İçerik:

Alfa naftol	5 g
Saf etil alkol	100 ml
Potasyum hidroksit	10 g
Distile su	100 ml

3.4 Kullanılan Kit

3.4.1 *E.coli* O157:H7 Lateks Test Kiti (Remel Wellcolex)

İçerik:

O157 Test Lateks: *E.coli* O157 için özgül tavşan IgG ile kaplı lateks partikülleri içeren süspansiyon. *E.coli* O157 antijeni taşıyan bakterilerle karıştırıldığında aglütinasyon meydana gelir.

O157 Kontrol Lateks: Tavşan IgG ile kaplı lateks partikülleri içeren süspansiyon

H7 Test Lateks: *E.coli* H7 için özgül tavşan IgG ile kaplı lateks partikülleri içeren süspansiyon. *E.coli* H7 antijeni taşıyan bakterilerle karıştırıldığında aglütinasyon meydana gelir. *E.coli* O157 test lateksiyle aglütinasyon oluşturan bakteriler kanlı agarda bir gece üretildikten sonra H7 test lateks ile aglütinasyon testi yapılır.

H7 Kontrol Lateks: Tavşan IgG ile kaplı lateks partikülleri içeren süspansiyon

Pozitif kontrol: İnaktive edilmiş *E.coli*O157:H7 antijenleri

Negatif kontrol: İnaktive edilmiş *E.coli*O106:H33 antijenleri

Reaksiyon kartları

Karıştırma Çubukları

3.5 Kullanılan Boyalar

3.5.1 Gram Boyama Seti

3.5.1.1 Kristal moru:

Kristal moru	1g
Asit fenik kristal	2g
% 96'lık etil alkol	10 mL
Distile su	100 mL

Hazırlanması: Bir cam havada kristal moru yavaş yavaş eklenen alkol ve asit fenik kristalleri ile ezilerek karıştırıldı. Distile suyun 2/3'ü eklendikten sonra mezüre alınarak hacim 100 mL'ye tamamlandı. Oda derecesinde 24 saat

ekletildikten sonra süzgeç kağıdından süzülerek damlalıklı koyu renkli şişeye aktarıldı (Bilgehan 2004).

3.5.1.2 Lugol Çözeltisi:

İyot kristalleri	1 g
Potasyum iyodür	2 g
Distile su	300 mL

Hazırlanması: Bir cam havanda iyot ve potasyum iyodür kristalleri ezilerek karıştırıldı. Üzerine 300 mL distile su eklendikten sonra damlalıklı koyu renkli şişeye aktarıldı.

3.5.1.3 Sulu Fuksin Çözeltisi

Ziehl Neelsen'in fenollü fuksini	2 mL
Distile su	18 mL

Hazırlanması: Karıştırılarak damlalıklı koyu renkli şişeye konuldu.

Ziehl Neelsen'in fenollü fuksini	
Bazik fuksin	1 g
Fenol kristalleri	5 g
Saf etil alkol	10 mL
Distile su	100 mL

3.6. Peynir Örneklerinin Toplanması

Çalışmada Haziran-Temmuz 2009 tarihinde, Sivas ili pazarlarından, mandıra ve marketlerden 100 adet peynir örneği toplandı. Peynir örnekleri 200-300 gr olacak şekilde satıcılardan alınarak numaralandırılmış olan steril plastik kutulara konuldu ve kutular buz aküleri bulunan termoslar içinde laboratuvara getirildi. Peynir örnekleri analiz işlemine kadar +4°C 'de buzdolabında tutuldu.

3.7. Peynir Örneklerinin Homojenize Edilmesi ve Ön Zenginleştirme İşlemi

Her bir peynir örneği steril pens ve spatül yardımıyla alınarak hassas terazide 25 gr olacak şekilde tartıldı. Homojenizasyon işlemi için hassas terazide tartılan 25 gr peynir örneği 225 ml tamponlanmış peptonlu su (TPS) bulunan cam kavanozlara konularak steril havanla ezildi ve 2-3 dakika çalkalandı. Örneğe ait bilgi cam kavanozlara kayıt edildi. Örnekler parçalanıp homojenize hale geldikten sonra çalkalama işlemine son verildi. Homojenize olan örnekler 3 saat 37 °C'de etüvde bekletildikten sonra, 1mL steril pipetle alınarak 9 ml peptonlu fizyolojik su içeren tüpe aktarıldı. Daha sonra her bir örneğin aynı şekilde olmak üzere 10⁻³ basamağına kadar dilüsyonları hazırlandı. Dilüsyonlar hazırlanırken her defasında farklı pipet kullanıldı (Vanderzant ve splittstvesser 1992).

3.8. Örneklerde Fekal *E.coli*'nin Belirlenmesi

Örneklerin peptonlu sudaki sulandırılmalarının her birinden (10⁻¹den üç, 10⁻² den üç ve 10⁻³ den üç tüpe) toplam dokuz adet MUG içeren LSTB'lu tüplere 1'er mL ekim yapıldı. Tüpler 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda bulanıklık ve durham tüplerinde gaz oluşumu saptanan tüpler uzun dalga boyunda UV lamba (Vilber Lourmat, 6 W-365 mm tube.12 watt, VO2 9309, France) altında floresan oluşumu (mavi röfle) yönünden incelendi. Gaz oluşumuyla birlikte mavi röfle veren besiyerlerinde fekal *E.coli* ürediği sonucuna varıldı. Ayrıca bu besiyerlerinden EMB besiyerine ekim yapılarak 24 saat 35°C'da bekletildi. EMB besiyerinde üreyen kolonilerin metalik parlaklık oluşturmasıyla da doğrulama yapıldı (Vanderzant ve Splittstosser 1992).

3.9. *E.coli* O157:H7 Serotipinin İzolasyonu ve Tanımlanması:

Gaz oluşumuyla birlikte mavi röfle veren MUG içeren LSTB'lu besiyerlerin her bir dilüsyonundan (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) bir öze dolusu alınarak CT-SMAC agara tek koloni ekimi yapıldı ve plaklar 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda sorbitolü kullanmayan renksiz koloniler belirlenerek, bu kolonilerin her birinden nutrient buyyona ekimi yapıldı. Nutrient buyyonlar 44 °C'de 18 saat bekletildi. NB'da görülen üremelerden, mikroskopik incelemeler ve biyokimyasal testler yapıldı (Vanderzant ve Splittstoesser 1992).

3.9.1. Mikroskopik İnceleme

Hareket İncelemesi: Etken mikroorganizmanın morfolojik yapısı ve hareket özelliğinin ortaya konulması amacıyla NB'da çoğaltılan mikroorganizmalardan hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendi.

Gram Boyama Yöntemi: Gram boyama yönteminde, besiyerinden bir öze dolusu alınarak temiz bir lam üzerinde preparat hazırlandı. Preparatlar alevden geçirildikten sonra gram boyam yöntemiyle boyandı. Preparatlar kuruduktan sonra Mikroskopta immersiyon objektifinde incelendi (Poyraz, 1998).

3.9.2. Biyokimyasal Testler

3.9.2.1. İndol Testi

Nutrient buyyonda üreyen saf kültürden 0.1 mL alınarak indol besiyerine ekildi. 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 0,5 ml kovaks ayırıcı tüp kenarından damlatılarak besiyerinin üzerinde tabakalandırıldı. Birkaç saniye içerisinde besiyeri ile ayıraç arasında parlak kırmızı halkanın oluşması olumlu sonuç olarak kabul edildi (Bilgehan, 2004).

3.9.2.2. Metil Kırmızısı-Voges Proskauer (MR-VP) Testi

MR Testi

MR/VP besiyerine Nutrient buyyonda üreyen saf kültürden ekim yapıldı. 35⁰C'de 48 saat inkübe edildi. Kültür içerisine 5-6 damla ayıraç damlatıldı. Tüpte kırmızı rengin oluşması testin olumlu sonuç verdiğini gösterdi (Bilgehan, 2004).

Voges Proskauer (VP) Testi

Saf kültürden MRVP buyyona ekim yapılarak inkübasyona bırakılan tüpten 24 saat sonunda 1 ml alınarak steril başka bir tüpe aktarıldı. Bu tüpe önce 0,6 ml alpha naphtol ayırıcından ve hemen arkasından 0,2 ml KOH ayırıcından damlatıldı. Besiyeri çalkalandı ve 10-15 dk dik olarak bekletildi. Bu süre sonunda kırmızı rengin oluşması testin pozitif olduğunu gösterdi (Bilgehan 2004).

Simmons Sitrat Testi

Saf kültürden Simmons sitrate agara özeyle ekim yapıldı. 37 °C'de 24-48 saat bekletildi. Sitratı kullanarak üreyen bakteriler koyu mavi renk oluşturdu. Sitratı kullanmayan bakteriler ise besiyerinin rengini değiştirmede ve sitrat negatif olarak değerlendirildi (Bilgehan 2004).

3.9.2.3. Lateks Aglutinasyon Testi

Mikroskopik inceleme ve biyokimyasal testler sonucunda hareketli, gram negatif basil olan, indol, metil kırmızısı testi pozitif, Voges Proskauer, sitrat testleri negatif saf kültürler, *E.coli O157:H7* serotipi olabilecekleri şüphesiyle lateks aglutinasyon testi uygulamak üzere ayırıldı. Aglutinasyon testi kitin prosedürüne göre yapıldı.

1. Reaksiyon kartında yer alan dairelerden biri test diğeri kontrol dairesi olarak belirlendi. Reaksiyon kartındaki iki daire içine 40 µl serum fizyolojik konuldu.
2. Kültürdeki şüpheli koloni karıştırmaya çubuğuyla alınarak her iki daire içindeki serum fizyolojikle homojen görünüm elde edilinceye kadar karıştırdı.

3. O157 test lateksten bir damla test dairesi üzerine, O157 Kontrol lateksten bir damla kontrol dairesi üzerine damlatıldı ve karıştırıldı.
4. Reaksiyon kartı 30 saniye yavaşça döndürülerek aglütinasyon olup oluşmadığı gözlemlendi.

4. BULGULAR

Çalışmada Sivas ili ve köylerinden toplanan 100 adet ev yapımı peynirlerde fekal *E.coli* ve *E.coli O157:H7* suşu araştırıldı. Peynir örneklerine ön zenginleştirme işlemi yapıldıktan sonra tamponlanmış peptonlu suda hazırlanan dilüsyonlarından MUG' lu LSTB'a ekim yapıldı. Daha sonra bu besiyerinde fekal *E.coli* olarak saptanan örnekler SMAC agara ekildi. SMAC agarda üreyen şüpheli kolonilere doğrulama testleri uygulandı.

4.1 Örneklerde Fekal *E.coli*'nin Belirlenmesi

Örneklerin peptonlu sudaki sulandırımının MUG içeren LSTB'lu tüplere 1'er mL ekimleri yapıldıktan ve 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra, 10⁻¹ sulandırımlı 214 tüpte, 10⁻² sulandırımlı, 216 tüpte ve 10⁻³ sulandırımlı 137 tüpte gaz oluşumu ile birlikte UV lamba altında mavi röfle görüldü. Her peynir örneğinin farklı sulandırımına ait MUG'lu LSTB'lu tüplerdeki üreme belirtileri birlikte değerlendirildiğinde, tüm peynir örneklerinden fekal *E.coli*'nin üremiş olduğu bulundu. Bulanıklık ve gaz oluşumu veren tüplerden EMB besiyerine ekilerek, örneklerin tamamında *E.coli*'ye özgü metalik parlaklık veren ve koloniler saptandı.

4.2 *E.coli O157:H7* Serotipinin İzolasyonu ve Tanımlanması:

4.2.1 CT-SMAC Agardaki Üreme Sonuçları

Fekal *E.coli* ürediği belirlenen MUG içeren LSTB'lu besiyerinden CT-SMAC agara yapılan ekimler sonunda, 22 adet renksiz, saman sarısı, 78 adet peynir örneğinden ise, pembe kırmızı renkli koloniler üredi. CT-SMAC agarda üretilen 22 adet peynir örneğine ait renksiz koloniler *E.coli O157:H7* serotipi olma şüphesiyle ayırtedildiler.

4.2.2 Mikroskobik İnceleme Sonuçları

CT- SMAC agarda üreyen renksiz kolonilerin nutrient buyyona ekimleri yapılarak saf kültürleri elde edildi. Bu kültürlerin mikroskobik incelemeleri sonucunda; 8

adet peynir örneğine ait kültürlerdeki bakterilerin hareketli, 8 adet örneğe ait kültürlerdeki bakterilerin gram negatif (pembe, kırmızı renkli) basil şeklinde oldukları görüldü.

4.2.3 Biyokimyasal Test Sonuçları

Hareket özelliğine sahip 8 adet örneğe ait saf kültürlere indol, metil kırmızısı, voges proskauer, sitrat testi uygulandı. Bu biyokimyasal testler sonucunda 3 adet peynir örneğine ait kültürlerin indol ve metil kırmızısı testi pozitif, voges proskauer ve Simons sitrat testi negatif olarak bulundu. (IMVİC +++-). Diğer 5 adet peynir örneğine ait kültürler İMVİC +++- test sonucunu vermediği için 3 adet peynir örneğine ait kültürler *E. coli O157:H7* açısından incelemeye alındı.

4.2.4 *E. coli O157:H7* Lateks Aglütinasyon Testi sonucu

Biyokimyasal testlerde *E. coli O157:H7* pozitif sonuç veren 3 adet peynir örneğine ait kültürlere lateks aglütinasyon testi uygulandı. Aglütinasyon testi uygulama süresi (1 dk) sonucunda hiçbir örnekte aglütinasyon oluşmadı. Böylece 3 adet şüpheli peynir örneğinden üreyen bakterilerin *E.coli O157:H7* suşu olmadığı saptandı.

5. TARTIŞMA

Peynir hastalık etkeni olan mikroorganizmaların gelişmesi için son derece uygun bir ortamdır. Peynirin içerdiği laktoz, süt yağı, azot kaynağı, mineraller, yüksek su oranı mikroorganizmalar için besleyicidir. Çeşitli ülkelerde patojen mikroorganizmalar ve toksinleriyle kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan zehirlenmeler ve enfeksiyonlar görülmektedir. Koliform grubu bakteriler insan ve hayvan dışkılarında oldukça fazladır. *E.coli* taze insan dışkısında 10^8 - 10^9 / g değerine ulaşmaktadır. Peynirin yapımı ve satışa sunulması aşamalarında fekal *E.coli* ile bulaş olabilmektedir. *E.coli* fekal bulaşmanın indikatörüdür. Bu bakterinin saptandığı örnekler fekal kaynaklı bir bulaşmaya maruz kalmışlardır. Bu bakterinin gıdalarda yüksek sayıda çıkması, o ortamda patojen mikroorganizmaların bulunabileceğinin göstergesidir (Dülger ve Gücin 1999).

E.coli'nin bir serotipi olan *E.coli O157:H7*'nin de başlıca kaynağı sığır ve koyunların bağırsak sistemidir. Bakteri bu hayvanların dışkılarıyla çevreye yayılmaktadır. Özellikle süt ineklerinin *E.coli O157:H7*'nin kaynağı olması nedeniyle, etkenin insanlara bulaşmasında inek sütünün çok önemli rolü vardır. Bakteriler, taşıyıcı ineklerin sağılması sırasında sağım hijyenine dikkat edilmemesi nedeniyle sütlere bulaşabilmektedir. Bu sütlerin çiğ veya uygun pastörizasyon işlemlerinden geçirilmeden kullanılması sonucunda insanlarda enfeksiyonlar ve salgınlar meydana gelebilir. Ayrıca *E.coli O157:H7* serotipiyle bulaşlı sütlerden uygun yöntemlerle yapılmayan peynirler de hastalık riski taşımaktadırlar (Sarımehmetoğlu, 1998).

Yurdumuzda sığırlarda *E.coliO157:H7* suşunun bulunduğunu gösteren bazı çalışmalar yapılmıştır. Afyon il merkezinde 4 mezbahadan toplanan 300 adet sığır dışkısında *E.coliO157:H7* suşu araştırılmış, 4 hayvanın dışkı örneğinde (%1.33) *E.coliO157:H7* izole edilmiştir (Akkaya ve ark., 2004).

Erzurum bölgesinde satışa sunulan 330 adet et örneğinde *E.coli O157:H7* suşu araştırılmış ve örneklerin 4'ünde bulunmuştur (Ünsal, 2007).

İzmir ilinde satışa sunulan 100 adet et ve et ürünlerinde %10 oranında *E.col O157:H7* suşu izole edilmiştir (Bayar, 2007).

Yurdumuzda satıŖa sunulan peynirlerin mikrobiyolojik kalitesini saptamak amacıyla yapılan çok sayıda araŖtırma bulunmaktadır. Bunlar arasında peynirlerde koliform bakteriler ve *E.coli*'nin varlığını araŖtıran bazı alıŖmalar Ŗunlardır;

Van otlu peynirleriyle yapılan bir alıŖmada, 10 adet taze otlu peynirlerin tamamında koliform bakteri tespit edilmiŖtir (Kurt ve Akyüz 1984).

Kars'da ili 60 adet kaŖar peyniri örneğinin mikrobiyolojik yönden incelenmesinin sonunda, peynir örneklerinde %40'ında koliform bakteriler bulunmuŖtur (Kamber, 2005).

Ankara'da marketlerde satılan 50 adet beyaz peynir örneğinin %64'nde koliform bakteri ve %22'sinde *E. coli* saptanmıŖtır (Kalkan ve ark.,1991).

Elazığ yöresinde 50 adet beyaz peynir rneği üzerine yapılan alıŖmada örneklerin tamamında koliform ve *E.coli* retildiği bildirilmiŖtir (Güven ve ark., 1996).

Bursa yöresinde satıŖa sunulan peynirlerle yapılan bir alıŖmada, incelenen tüm örneklerin koliform bakteriler içerdiği, izole edilen 264 koliform bakterinin %40.3'ünün *E.coli* olduğu bulunmuŖtur (Dülger ve Gücin 1999).

Otlu peynirlerin mikrobiyolojik yönden incelendiği alıŖmada, örneklerin %36.7'sinde *E.coli* saptamıŖlardır (CoŖkun ve ztrk 2000).

Yapılan diğer bir alıŖmada satıŖa hazır hale gelen kaŖar peynirlerindeki koliform bakteri sayısının 5.1x10 kob/g düzeyinde olduğunu, ayrıca peynir yapılacak, çiğ süt örneklerinin tamamında *E.coli*'yi saptadıklarını ve 70 0C'deki haŖlama sonrasında *E.coli*'nin sadece bir örnekten (%20) yıkımlandığını bildirmiŖlerdir (Soyutemiz ve ark, 2000).

Muğla halk pazarında satıŖa sunulan 26 adet beyaz peynir rneği ile yapılan bir alıŖmada, örneklerin tamamında koliform bakteri saptanırken, 14'nde *E.coli* saptanmıŖtır (Uğur, 2001).

Ankara'da toplanan 97 peynir örneğinin incelenmesi sonunda, örneklerin 73'nde koliform bakteri, 70 tanesinde *E.coli* izole edilmiŖtir (Doğan ve ark., 2001).

Taze kaşar peynirlerin bakteriyolojik kaliteleri üzerine yapılmış bir çalışmada, 125 adet taze kaşar peynir örneğinin 18 adedinde (%14,4) ortalama 3.9×10^6 kob/g düzeyinde koliform bakteri bulunurken, 5 adedinde (%27.8) *E.coli* bulunmuştur. Alınan peynir örneklerinde bu bakterinin yüksek sayılarda bulunması, peynir yapımında çiğ süt kullanımının yaygın olduğu veya üretiminde hijyenik koşullara uyulmadığını düşündürmektedir. Benzer bulgular, benzer yaklaşımlı çalışmalarla da göze çarpmaktadır (Günşen ve Büyükyörük 2003).

Ankara'da yapılan başka bir çalışmada tüketime sunulan 50 adet beyaz peynir örneğinin 26 tanesinde koliform bakteriler ve *E.coli* saptanmıştır (Alas, 2004).

İstanbul'da Ocak-Mart aylarında 20 semt pazarından toplanan 50 adet beyaz peynir örneğinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada 48 örnekte (% 96) koliform bakteri, 43 örnekte (% 86) *E.coli* bulunmuştur (Keskin ve ark.2006).

Burdur'da tüketime sunulan 100 adet beyaz örneğinin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada peynir örneklerinin %83'ünde koliform bakteri, % 40'ında *E.coli* saptanmıştır (Kurşun ve ark., 2007).

Şanlıurfa'da satışa sunulan 99 beyaz peynir örneğinin % 88.9'unda *E. coli* bulunduğu bildirilmiştir (Yaşar, 2007).

Çalışmamızda incelenen 100 peynir örneğinin ön zenginleştirme işlemi ve MUG içeren LSTB'a ekimleri sonunda, her bir örneğe ait LSTB'ların en az bir sulandırımında gaz oluşumuyla birlikte UV ışığı altında mavi röfle görülmüştür. Böylece örneklerin tümünde fekal *E.coli* bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuç yurdumuzda yapılan diğer araştırma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Gıda maddeleri tüzüğü ve Türk Standartları Enstitüsü'ne göre gıda maddelerinde *E.coli*'nin bulunmaması gerekmektedir. Bu nedenle, incelediğimiz peynirlerin sağlığa zararlı olduğu, hastalık riski taşımakta oldukları, bu peynirlerin çiğ süttten veya yetersiz pastörizasyon işlemlerinden sonra yapıldığı veya satışa sunum aşamasında satan kişiden, çevreden kontamine olduğu sonuçları çıkarılabilir.

Çeşitli ülkelerde peynirlerde *E.coli O157:H7* suşu üzerine yapılan bir kısım çalışmalarda suş bulunamazken bazı çalışmalarda suş izole edilmiştir.

Yumuşak ve yarı yumuşak 19 adet peynir örneğinde *E.coli O157:H7* serotipinin varlığının araştırıldığı bir çalışmada, üzerine yapılan çalışmada, suşu izole edememişlerdir (Ansay ve Kapsar 1997).

ABD’de yapılan bir çalışmada 45 adet peynir örneğinin 44 tanesinde *E.coli* suşu izole edilmiştir (Flowers ve ark., 1992).

Araştırmacılar 95 beyaz peynir örneğinin 3’ünde *E.coli O157:H7* suşunu izole etmişlerdir (Aubert ve ark., 1995).

Feta ve teleme peynirleri üzerine yapılan bir çalışmada her iki peynir türünde de *E.coli O157:H7* suşuna rastlanılmıştır. Araştırmacılar feta peynirlerinde teleme peynirlerine oranla daha yüksek bir bakteri miktarı tespit etmişlerdir (Govaris ve ark., 2002).

Yurdumuzda çeşitli illerde üretilen peynirlerde *E.coli O157:H7* serotipinin varlığını araştıran az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur.

Kars ilinde satışa sunulan çiğ süt ve taze beyaz peynirlerin kolform grubu bakteri, fekal *E.coli* ve *E.coli O157:H7* yönünden incelenmesi konulu bir çalışmada, 100 adet çiğ süt ve 100 adet beyaz peynir örneği incelenmiş, örneklerin tamamında koliform grubu bakteriler ve peynirlerin tamamında *E.coli* izole edilirken, hiçbirinde *E. coli O157:H7* izole edilmemiştir (Baz ve ark., 2003).

İnek, koyun ve keçi sütlerinin karışımıyla pastörize edilmeden hazırlanan 4 çeşit mihaliç peynirinin 7, 30., 60., ve 90. günlerinde mikrobiyolojik analizinin yapıldığı bir çalışmada tüm peynir çeşitlerinin *E.coli O157:H7*’yi içermedikleri bulunmuştur (Dayıcı, 2000).

Yapılan çalışmaların bir kısmında ise, *E.coli O157:H7* suşunun izole edildiği bildirilmiştir. 30 adet teneke tulum peynir örneğinde *E.coli O157:H7* suşu araştırıldığı bir çalışmada, peynir örneklerinin birinde *E.coli O157:H7* suşu saptanmıştır (Gönül, 1997).

Araştırmacıların İstanbul'da 50 adet beyaz peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada bir örnekten *E.coli O157:H7* suşunu izole etmişlerdi (Aksu ve ark., 1999).

Konya ve yöresinde tüketime sunulan 234 adet küflü peynir örneğinden 40'ında (%17) *E.coli*, birinden (%2.5) *E.coli O157:H7* suşu izole edilmiştir (Akçamlı, 2008).

Afyonkarahisar'da tüketime sunulan 100 adet çiğ süt ve 100 adet peynirde *E. coli O157:H7* varlığı araştırılmış, çiğ süt örneklelerinin 3'ünde, peynir örneklelerinin birinde *E. coli O157:H7* izole edilmiştir. Araştırmacılar, bu peynir numunesinde mikroorganizmanın bulunmasını, üretimde kullanılan sütün pastörize edilmeden kullanılmasına ve/veya hijyen kurallarına yeterince dikkat edilmesine bağlı olarak sonradan şekillenen bir kontaminasyona bağlamışlardır. Peynirlerin 1-1,5 ay olgunlaşma ve 4 °C'de depolama şartlarında etkenin canlılığını koruduğunu ve bu peynirlerin ilk 30-44 günler arasında tüketilmesi durumunda bu bakteriden ileri gelen hastalık olgularının ortaya çıkabileceğini bildirmişlerdir (Akkaya ve ark., 2007).

E.coli O157:H7 suşunu, diğer *E.coli*'lerden ayıran en önemli kriterlerden bir tanesi MUG reaksiyonuna sahip olmamalarıdır. *E.coli O157:H7* suşu'nun SMAC agarda renksiz koloniler meydana getirdikleri bilinmektedir. Bu nedenle *E.coli O157:H7* suşu'nun diğer *E.coli* suşlarından ayırımının yapılması gerekmektedir. Bu amaçla kolonilerin izolasyonunda sorbitol içeren besiyerlerine ekimleri yapılarak saf kültür elde edilmelidir. SMAC agar'daki sorbitolün ayrıştırılmasıyla birlikte indol aktivitesinde, *E.coli O157:H7* suşunun identifikasyonunda çok önemli bir özellik olduğu ve indol aktivitesinin, indolün triptofana hidrolize ile sonuçlandığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Doyle 1991, Gönül 1997, Halkman ve ark 1998). 20 çiğ süt ve 30 adet peynir olmak üzere toplam 50 örnekte *E.coli O157:H7* araştırılmıştır. Araştırıcı *E.coli O157:H7* susunun analizi için SMAC agar kullanmış ve doğrulama için *E.coli O157* latex test kiti kullanmıştır. Araştırıcı çiğ süt örneklelerinin hiçbirinden *E.coli O157:H7* suşunu saptayamazken 1 adet teneke tulum peynir numunesinden *E.coli O157:H7* suşunu izole etmiştir (Gönül, 1997).

Kayseri ilinde köy pazarlarında satılan taze peynirlerde *E.coli O157:H7* suşunun araştırıldığı bir çalışmada, 100 adet peynir örneği toplanmış ön zenginleştirme işleminden geçirilen örnekler MUG içeren LSTB'a ekilmiş, 86 örnekte üreme saptanmış, bunların SMAC agara ekilmesi sonucunda 17 örneğe ait plakta renksiz koloniler üretilmiştir. Bu kolonilerin ait olduğu 4 peynir örneğinden üretilen koloniler şüpheli bulunarak lateks aglütinasyon testi yapılmış ve hiçbirinde aglütinasyon oluşmamıştır. Sonuçta, 58 peynir örneğinde fekal *E.coli* bulunduğu, *E.coli O157:H7* serotipinin izole edilemediği bildirilmiştir (Gümüşsoy ve Gönülalan 2005).

Aydın ilinde toplanan peynirlerde yapılan bir çalışmada, peynir örneklerinde *E. coli O157:H7* serotipinin varlığının araştırılmasında, MUG içeren LSTB ve SMAC agardan yararlanılmıştır. SMAC agarda üreyen renksiz kolonilere yapılan indol testi sonucunda 11 adet peynir numunesinden 5 adedinin indol test sonucu pozitif bulunmuştur. Bu 5 adet şüpheli koloniye uygulanan Lateks aglütinasyon testi sonucunda hiçbirinin *E. coli O157:H7* suşu olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan birisi de; *E. coli O157:H7* suşunun kesin teşhisinde elde edilen biyokimyasal test sonuçlarının mutlaka doğrulama testleri ile teyit edilerek bir sonuca varılmasıdır. Böylelikle elde edilecek sonuçların daha güvenilir olacağı bir gerçektir (Sarı, 2008).

Bu çalışmada Sivas ilinde satışa sunulan 100 adet peynir örneğinin tümünde fekal *E. coli* bulunurken, örneklerin hiçbirinde *E. coli O157:H7* serotipi izole edilememiştir. Böylece, Sivas'ta tüketime sunulan peynirlerin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır. Sivas'ta peynirlerin geleneksel olarak çiğ süttten yapılması ve henüz olgunlaşmadan satışa sunulması, semt pazarlarında satılan peynirlerin genellikle köylerde hijyenik olmayan koşullar altında üretilen peynirler olması, pazarlamanın hijyenik olmayan ortamlarda ve üstü açık olarak yapılması halk sağlığı açısından sakıncalar taşıdığı sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇLAR

Sivas ili ve köylerinden toplanan 100 adet taze peynir örneği *E.coli O157:H7* suşu açısından incelenmiştir. Yapılan incelemede peynir örneklerinin ön zenginleştirme işleminden sonra MUG'lu LSTB'a ekimleri yapıldı. Belli bir inkübasyondan sonra bu besiyeri bulanıklık, gaz oluşumu ve UV lamba ile mavi röfle yönünden incelendi. İncelenen peynir örneklerinin tamamında bulanıklık, gaz oluşumu ve mavi röfle görüldü. Dolayısıyla peynir örneklerinin tamamında koliform ve fekal *E.coli* saptandı.

MUG içeren LSTB'lu besiyerinden CT-SMAC agara yapılan ekimler sonunda, 22 adet renksiz, saman sarısı, 78 adet peynirde ise pembe renkli koloniler gözlemlendi. CT-SMAC agarda üretilen 22 adet peynir örneğine ait renksiz koloniler *E.coli O157:H7* serotipi olma şüphesiyle ayırıldı. Bu koloniler NB'e ekimleri yapılarak saf kolonileri elde edildi. Hareket muayenesi ve gram boyama yapıldı. 8 örneğin gram negatif ve hareketli olduğu tayin edildi. 8 örneğe biyokimyasal testler uygulandı ve 3 örneğin ait biyokimyasal test sonuçları (İMVİC++--) şüpheli olarak değerlendirildi. Bu örneklerle lateks aglutinasyon testi uygulandı. Test sonucunda incelenen şüpheli örneklerin hiçbirinde aglutinasyon görülmedi. Böylece örneklerin hiçbirinde *E.coli O157:H7* suşu tespit edilemedi.

7. KAYNAKLAR

- Abdullah, N. ve Davies, R. (1999). Growth and Toxin Production of Enterotoksijenik *E.coli* in the Presence of Sodium Chloride, Suppl to Journal Appl Micr., 87 (1), 15
- Akçamlı, E. (2008). Konya İlinde Pazarlarda Açıkta Satılan Küflü Peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli O157:H7* suşunun Varlığının Araştırılması, Selçuk Üniv. Sağlık Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi
- Akkaya, L., Alişarlı, M., Kenar, B. ve Çetinkaya, Z. (2004). Sığır Dışkılarında Verotoksijenik *E. coli O157:H7*'nin Prevalansı, Türkiye 9.Gıda Kongresi, Bolu
- Akkaya, L., Alişarlı, M., Kara, R. ve Telli, R. (2007). Afyonkarahisar'da Tüketime Sunulan Çiğ Süt ve Peynirlerde *E. coli O157:H7* Varlığının Belirlenmesi, YYÜ Vet. Bil. Derg., 18 (1), 1-5
- Akkuş, F. (1996). Hazır Sığır Kıymalarında Verotoksin Oluşturan *E. coli O157:H7* İzolasyonu, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 68s.
- Aksu H., Özgen, Ö., Aydın A. ve Uğur, M. (1999). *E. coli O157:H7*'nin Hayvansal Kökenli Çeşitli Gıda Maddelerinde Varlığı, Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi , 30(2), 77-81
- Alas, T. (2004). Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Beyaz Peynir ve Sade Dondurmada *Listeria monocytogenes, Bacillus cereus*, Fekal koliform ve *E.coli* Varlığı, Ankara Üni. Fen Bilimleri Enst., Yüksek Lisans Tezi
- Anonim (1995). Beyaz Peynir, Türk Standartları Enstitüsü, TS 591, Ankara.
- Anonim (2002). [http // www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) / Taksonomi / Browser
- Anonim (2001). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Resmi Gazete, 24511, 02-09-2001
- Ansary, S.E. ve Kaspar, C.W (1997). Survey of Cetail Cheeses, Dairy Processing Enviroments and Raw Milk for *E.coli O157:H7*, Lett Appl Micr., 25, 131-134

- Apan, T.Z. (2004). Kırıkkale İlinde İnsan ve Hayvan Orjinli Örneklerden *E. coli O157:H7*'nin İzolasyon ve Seroprevalansı Üzerinde Çalışmalar, Kırıkkale Üniversitesi Araştırma Projesi, Proje No: 03/08.01.01
- Arda, M. (2000). Temel Mikrobiyoloji-1, Medisan Yayınevi, Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara
- Aslantaş, Ö. ve Yıldız, P. (2002). Kars Yöresinde Hayvansal Kaynaklı Gıdalarda *E. coli O157:H7* İzolasyonu, Vet. Bil. Derg., 18 (1-2), 107-111
- Aslantürk, A. (1996). 0-15 Yaş Grubu Akut Gastroenterit Olgularında *Escherichia coli O157:H7* Serotipinin Araştırılması, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Arş. Müd., Uzmanlık Tezi, Ankara
- Aubet, S., Cantoni, C., Sarti, A. (1995). Detection of *Escherichia coli O157:H7* in Foods of Animal Origin, Arch Vet Ital, 46 (3) 67-72
- Bayar, S. (2007). İzmir İlinde Satışa Sunulan Et ve Et Ürünlerinde *Escherichia coli O157:H7* Aranması ve Saptanması, Ege Üniv. Fen Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi
- Baz, E., Gülmez, M., Güven, A., Sezer, Ç. ve Duman, B. (2003). Kars İlinde Satışa Sunulan Çiğ Süt ve Taze Peynirlerin Koliform Grubu Bakteri, *E. coli* ve *Escherichia coli O157:H7* Yönünden İncelenmesi, Kafkas Üniv. Vet.Fak. Derg., 9(2), 165-167
- Bilgehan, H. (1996). Klinik Mikrobiyoloji (9. Baskı), Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 5-15
- Bilgehan, H. (2004). Klinik Mikrobiyolojik Tanı (4. Baskı), Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 777s.
- Coşansu, S. ve Ayhan, K. (2000). Survival of Enterohemorajik *Escherichia coli O157:H7* Strains in Turkish Soudjouck During Fermentation, Drying Storage Periods. Meat Sci 54: 407-411
- Coşkun, H., Öztürk, B. (2000). Otlu Peynir Adı Altında Üretilen Peynirlerin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri. Gıda Teknolojisi Dergisi, 6(8): 44-48.

- Çakır, İ. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Yayınlar, Sim Matbaacılık, Ankara, 403- 411
- Dayıcı, R. (2000). İnek, Koyun ve Keçi Sütü Kullanılarak Yapılan Mihaliç Peynirlerinin Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ
- Demirbaş, N. (2000). Dünya ve Türkiye’de Süt ve Süt Ürünleri Sanayinde Gelişmeler, İstanbul Ticaret Odası Yayınları, İstanbul,7, 100-140
- Doğan, H., Çakır, İ., Keven, F., Coşansu, S.,Kıral, N., Gürsu, G. ve Halkman, A.H. (2001). Çeitli Gıdalarda Koliform, Fekal Koliform ve *E.coli* Varlığı, Gıda, 26 (2), 83-90
- Doyle, P. (1997). *Escherichia coli* O157:H7 and its Significance in Foods, Int. Journal Food Microbiology, 289-302.
- Dülger, B. ve Gücin, F. (1999). Bursa’da Satışa Sunulan Taze Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Tanılanması, Uludağ Üniversitesi Biyoloji Dergisi,8 (32), 17-20
- Eklund, M. (2005). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Findings From Humans in Finland, Publications of the National Public Health Institute, 97 page
- Erdem, B. (1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi Ltd Sti, Ankara, 471-498
- Erol, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık Ltd. Sti. Ankara, 82-93
- Firstenberg-Eden, R. ve Sullivan, N. (1997). E. coli Rapid Detection System, A Rapid Method for the Detection of *Escherichia coli* O157 in Meat and Other Food, J Food Prot 60(3) 219-25.
- Flowers, R.S., Andrews, W., Donnelly, C.W. and Koenig, E. (1992). Pathogens In Milk and Milk Products. In Standart Methods for The Examination of Dairy Products, American Public Association, 32, 103-200

- Fritz, H. Jhannes, E. ve Lindenmann, J.(1997). (Çeviri: anđ, Ö. Küçüker, M.veTümbay, E.) Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,1, 291-295
- Govaris, A. ve Papageorgiou, DK. (2002). Behavior of *Escherichia coli O157:H7* during the manufacture and ripening of feta and telemes cheeses, J Food Protect, 65(1) , 609-615
- Gönül, Ş. (1997). Çiğ Süt ve Peynir Örneklerinin Enterohemorajik *Escherichia coli O157:H7* Rastlanma Sıklığı, Kükem Dergisi, 20 (2), 69-73
- Griffin ve Tauxe (2002).Behavior of *Escherichia coli O157:H7* in sour milk, cows milk, yogurt, ewes milk, Journal Dairy Res 69, 655-660
- Gülmez, M.,Güven, A.ve Çetinkaya, A. (2001). Kars'ta Tüketime Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri, Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 7(1), 55-62
- 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
- Günşen, U. ve Büyükyörük, İ. (2003). Piyasadan Temin Edilen Taze Kaşar Peynirlerinin Bakteriyolojik Kaliteleri ile Aflatoksin M1 Düzeylerinin Belirlenmesi. Türk Veteriner Dergisi, 27, 821-825
- Güven, A., Arslan, A. ve Patır, B. (1996). Şavak Salamura Peynirlerde Koliform Grubu Mikroorganizmaların Araştırılması, Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 2 (2), 167-172
- Halkman, A. K., Noveir, M. R. ve Dogan, H. B., (1998). Çeşitli Hayvansal Gıda Ürünlerinde *Escherichia coli O157:H7* aranması, TÜBİTAK –VHAG-1192 Nolu Proje, Ankara, 75 s.
- Halkman, A. K., Noveir, M. R. ve Dogan, H. B., (2001). *Escherichia coli O157:H7* Serotipi, Ankara Üniv. Gıda Müh. Bölümü, Sim Matbaacılık, Ankara, 44 s.
- Halkman, A.K. (2005). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Başak Matbaacılık, Ankara, 358 s.

- Hudson, J., Nicol C., Capill, J. ve Bennett, J. (2000). Isoation of Shiga toxin procuding *Escherichia coli* (STEC) from , Foods Using EHEC Agar, Lett Appl Micr., 30 (2), 109-113
- İnal, T. (1990). Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi, Final Ofset, İstanbul, 1108 s.
- Janes, M.E. Cobbs, T. Kooshes, S. ve Jhonson M.G. (2002). Survival differences of *Escherichia coli* O157:H7 strains in apples of three varieties stored at various temparatures, Journal Protect ,65, 1075-1080
- Jay, J.M. (2000). Modern Food Microbiology, Maryland, 531-547 Kalkan, A., Aktan H.T., Kamber, U., Ülgen M.T. ve Mutluer, B. (1991). Beyaz Peynirlerde koliform bakterilerin bulunuşu üzerine araştırma, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 38 (1-2), 108-113
- Kamber, U. (2005). Kars'ta Satışa Sunulan Kaşar ve Civil Peynirlerinin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalite Nitelikleri, Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 11(1), 33-38
- Kamber, U. (2005). Geleneksel Anadolu Peynirleri, Miki Maatbacılık, Ankara
- Kalkan, A, Aktan HT., Kamber U., Ülgen MT. ve Mutluer B.(1991). Beyaz Peynirlerde Koliform bakterilerin Bulunuşu Üzerine Araştırma, Ankara Ünivesitesi Vet. Fak. Derg. 38:108-113
- Kartal, E. (2005). Gıda Kaynaklı Patojenler, 187-193
- Kapper, J.B. ve O'Brien, A.(1998) *Escherichia coli* O157:H7 and Other Verotoksin Producing E.coli Strains,4-5
- Kehl, T. (2002). A Microbiological Study of Chesee, Milchwissenschaft, 53, 565-568
- Keskin, Y.,Özyaral,O.,Başkaya,R. ve Susur,A. (2006). Semt Pazarlarında Satılan Beyaz Peynirlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 36(1), 9-19
- Kurt, A. ve Akyüz, N. (1984) Van Otlı Peynirlerin Yapılışı ve Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri, Gıda Dergisi, 9 (3), 141-146

- Kurşun, Ö., Seval, K., Akçankale A. ve Güner, A. (2007). Burdur’da Tüketime Sunulan Salamura ve Beyaz Peynirlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum,
- Leyer, G.J., Wang, L. ve Johnson E.A. (1995) Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 Increases Survival in Acidic Foods, *Appl Envr. Micr.*, 61(10), 3752-3755.
- Murray, P.R., Baron J., Jorgensen, H., Landry, M. ve Pfaller A. (2009). *Klinik Mikrobiyoloji*, 9 (1), 649-678
- Nataro, J. P. ve Kaper, J. B., (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Clinical Microbiology Reviews*, Jan., 1, 142–201
- Noveir, M. R., Dogan, H. B. ve Halkman, A. K., (2002). Çeşitli Hayvansal Gıdalarda Enterobacteriaceae Üyelerinin Varlığı, *Gıda Dergisi*, 25(6), 423-428
- Öksüztepe, G., Patır, B., Dikici, A. ve İlhak, İ. (2009) Elazığ’da Tüketime Sunulan Vakum Paketli Taze Kaşar Peynirlerin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23(2), 89-94
- Özalp, E. ve Kaymaz, Ş. (1992). Süt Ürünleri Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Ankara, 184-232
- Özbaş, Y. ve Aytaç, A. (1995). *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Derg.*, 52(1), 47-53
- Poyraz, Ö. (1998). *Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu*, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları No:68 Sivas 244s.
- Sancak, YC., Kayardı, S., Sagun, E. ve Ekici, K. (1996). Otlı Peynirlerin Kimyasal Kompozisyonu, Su Aktivitesi Değeri ve Mikroorganizmalar Arasındaki İlişki, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(1-2): 75-79
- Sarı, A. (2008). Beyaz Peynirlerde *Escherichia coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması, Adnan Menderes Üniv. Sağlık Bil. Fak., Yüksek Lisans Tezi

- Sarimehmetoğlu, B., Küplülu, Ö. ve Kaymaz, Ş. (1998). Hamburger ve İnegöl Köftelerinde *Escherichia coli O157:H7* İzolasyonu, Ankara Üniv., Vet. Fak. Derg., 45 221-227
- Soyutemiz E, Anar S ve Çetinkaya F.(2000) Kaşar Peyniri Üretim Aşamalarında Görülen Mikrobiyolojik ve Kimyasal Değişiklikler. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19, 87-92
- Tabak, S. (2000). Akut Gastroenterit Olgularında Enterohemerajik ve Enterotoksijenik *E.coli* Toksinlerinin Araştırılması, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Uzmanlık Tezi
- Tan, S. ve Ertürk, Y.E. (2002). Peynir. TEAE Bakış Dergisi; 1(11): 1-4
- Tekinşen, O.C., Atasever, M. ve Keleş, A. (2002). Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 39-63
- Temelli, S. (2002) Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *Escherichia coli O157:H7* ve Önemi, Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 21, 133-138
- Uğur, A. (2001). Muğla Halk Pazarında Satışa Sunulan Ev Yapımı Peynirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri, Ekoloji Dergisi, 40(10), 3-8
- Ustaçelebi, Ş.(1999).Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara,1,480-485
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (1998). Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir,605 s.
- Ünsal, C. (2007). Erzurum Bölgesinde Satışa Sunulan Etlerde *E. coli O157:H7*'nin Araştırılması, Atatürk Üni. Sağ. Bil.Fak., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi
- Vanderzant, C. ve Splittstoesser, D.F. (1992). Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods (3 th ed), American Public Health Association, NW Washington, DC, 112-360
- Vatan, T. (1996). Bursa İl Merkezinde Satışa Sunulan Kaşar Peynirlerinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

- Vernozy, C. (2000). Verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) *Escherichia coli O157:H7* in Medicine and Food Industry, Ann Biol Clin (Paris),57,
- Wang, G., Zhao, T. ve Doyle, MP. (2000). Survival and Growth of *Escherichia coli O157:H7* in Unpasteurized and Pasteurised Milk,J. Food Prot. 60(6), 610- 613.
- Yaşar, F. (2007). Şanlıurfa'da Satışa Sunulan Taze, Tuzlu ve Beyaz Peynirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri, Harran Üniv. Sağlık Bil. Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi.