

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ESTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GASTROENTERİTLİ OLGULARDA *E. COLI* O157 : H7 SEROTİPİNİN
ARAŞTIRILMASI

Bio. Canan ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Memnune ERANDAÇ

Sivas-2005

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 05.01.1984 tarih ve 84/1 No'lu kararı ile kabul edilen tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır.

Bu çalışma T-250 proje numaralı "Gastroenteritli Olgularda *E. coli* O157 : H7 Serotipinin Araştırılması" isimli proje kapsamında Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

TEŐEKKÜR

Bu çalıőmanın gerçekleőmesinde büyük katkıları bulunan, yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Memnune ERANDA'a, tezimin oluőmasında katkısı bulunan, bana yol gösteren ve her konuda yardımını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. M. Zahir BAKICI'ya, çalıőmalarımın her aőamasında moral ve destekleriyle bana yardımcı olan aileme, Sayın Tamer KARABULUT'a ve C.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarı çalıőanlarına içtenlikle teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1- GİRİŞ VE AMAÇ	- 7 -
2- GENEL BİLGİLER	- 9 -
2.1. ÜREME VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	- 10 -
2.2. DİRENÇ	- 12 -
2.3. ANTİJEN YAPILARI VE TİPLENDİRİLMESİ.....	- 12 -
2.4. VİRÜLANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ	- 15 -
2.5. E. COLİ’NİN HASTALANDIRICILIK ÖZELLİKLERİ VE YAPTIĞI HASTALIKLAR	- 16 -
2.5.1. Bağırsaklarda Oluşturdukları Hastalıklar	- 16 -
2.5.2. Bağırsak Dışında Oluşturdukları Hastalıklar.....	- 19 -
2.6. ENTEROHEMORAJİK E. COLİ (EHEC)’NİN HASTALANDIRICILIK ÖZELLİKLERİ VE YAPTIĞI HASTALIKLAR	- 19 -
2.6.1. Hemorajik kolit (HC)	13- 19 -
2.6.2. Hemolitik üremik sendrom (HUS)	- 20 -
2.6.3. Trombotik trombositopenik purpura (TTP).....	- 20 -
2.7. LABORATUVAR TANISI	14- 20 -
2.8. TEDAVİ	- 22 -
2.9. EPİDEMİYOLOJİ VE KORUNMA	- 23 -
3. GEREÇ VE YÖNTEM	- 26 -
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	- 26 -
3.2. Yöntem.....	- 27 -
4. BULGULAR	- 29 -
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	- 31 -
6. ÖZET	- 35 -
7. KAYNAKLAR	- 37 -

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 - İnsanda İshal Etkeni Olabilen <i>E. coli</i> Kökenlerinde Sık Görülen Serogrup veya Serotipler.....	8
Tablo 2 - Bağırsak Enfeksiyonlarına Neden Olan <i>E. coli</i> Virotiplerinin Genel Özellikleri.....	12
Tablo 3 - <i>E. coli</i> O157 : H7 Serotipinin Servis ve Poliklinik Hastalarına Göre Dağılımı.....	24

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Escherichia coli (*E. coli*), Enterobacteriaceae ailesi içerisinde *Escherichia* genusuna bağlı, 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 filamanlı şekiller de bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla birlikte hareketleri yavaştır. Organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur (1, 2).

Kısaca *E. coli* olarak tanımlanan bu bakteri ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından izole edilmiştir. *Escherichia*, bu bilim adamının ismine bağlı olarak verilmiştir, coli ise, colon (bağırsak) kelimesinden gelmekte ve bakterinin bağırsak ile ilgili olduğunu göstermektedir. *E. coli*'nin doğal yaşama ortamı insan ve hayvanların bağırsaklarıdır. Bu nedenle *E. coli* su ve besinlerdeki fekal kirlenmenin göstergesidir (3, 4).

1960'lerden itibaren *E. coli* kökenlerinin bağırsakta patojen olduklarına ilişkin bilgiler yer almaya başlamış ve hastalık oluşturma mekanizmalarına göre bugüne kadar en az 5 grup tanımlanmıştır. Bunlar; Enterotoksinojenik (ETEC), Enteropatojenik (EPEC), Enteroagregatif (EAggEC), Enteroinvaziv (EIEC) ve Enterohemorajik (EHEC)'dir (5- 9).

Bu ayrı gruplardaki *E. coli*'ler patogenezleri yönünden önemli ortak özelliklere sahiptirler:

- Önemli virülans özellikleri plazmitlerin kontrolü altındadır.
- Bağırsak mukozası ile ilişkileri özgündür.
- Enterotoksin veya sitotoksin oluştururlar.
- Her grup, belirli O: H serotiplerini içerir.

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC); hemorajik kolit (HC) ve ayrıca akut böbrek yetmezliği, trombositopeni ve anemi ile seyreden hemolitik üremik sendromun (HUS) etkenidir. EHEC suşları içinde daha çok *E. coli* O157: H7'nin hemorajik kolit (HC) ve hemolitik üremik sendrom (HUS) tipindeki hastalıklardan sorumlu olduğu görülmektedir. Bu kökenlerin *Shigella dysenteriae*'ninkine benzer bir ekzotoksin yaptıkları bildirilmektedir. Bu toksine verotoksin adı verilmektedir. Bu kökenlere Verotoksijenik *E. coli* (VTEC)'de denir (2, 3, 4, 7).

EHEC, özellikle gelişmiş ülkelerde kanlı ishal etkeni olarak bilinen *E. coli* serotiplerini içerir. Yaşlı bakım evleri ve çocuk yuvalarında salgınlara neden olurlar. Bu suşla enfekte olan bireylerde daha çok kanlı ishal meydana gelmektedir. Etken primer olarak yiyecek ve içeceklerle geçer, ancak çocuk yuvaları, bakım evleri ve kreş gibi yerlerde görülen salgınlarda sırasından kişiden kişiye de geçebilmektedir. O157: H7' nin Kuzey Amerika ve Avrupa'da sık görüldüğü ve salgınlara yaptığı bildirilmektedir (10 - 13).

Teknolojik olarak işlem görmüş ve az pişmiş etlerin tüketildiği gelişmiş ülkelerde sporadik olgulara rastlanmasına karşın gelişmekte olan ülkelerde nadiren ishale neden olur. Sığırlar *E. coli* O157: H7' nin önemli bir kaynağı olarak görülmektedir (5, 12).

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı' na gönderilen gastroenteritli hastaların dışkı örnekleri incelendi ve bu örneklerde saptanan *E. coli* suşlarındaki O157: H7 serotipinin varlığı araştırıldı.

2- GENEL BİLGİLER

E. coli, *Escherichia* genusu içinde önemli bir tür ve insan için önem taşıyan fırsatçı bir patojendir. Kalın bağırsak florasında yaygın olarak yer alır ve aynı zamanda bir çok bakteriyel enfeksiyonun sorumlusudur. Üriner sistem enfeksiyonu, bağırsak enfeksiyonları ve bağırsak dışı enfeksiyonlar (bakteriyemi, menenjit, pnömoni) gibi hastalıklara yol açmaktadır (1, 3).

Besin zehirlenmeleri gerek dünyada, gerekse ülkemizde önemini koruyan enfeksiyon hastalıklarından biridir. Besin zehirlenmesine neden olan *Salmonella*, *Shigella* gibi önemli etkenlerin yanı sıra, *E.coli* O157: H7 serotipinden olmak üzere VTEC suşları da büyük önem taşımaktadır (1, 3).

İlk olarak 1975 yılında ve daha sonra da 1978–1982 yılları arasında, diyarenin gözlemlendiği hastalardan Centers for Disease Control (CDC) tarafından izole ve identifiye edilen *E. coli* O157: H7' nin tam anlamıyla insan patojeni olarak tanımlanması, kontamine hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan 2 adet gastroenterit salgınında identifiye edilmesiyle ortaya konulmuştur (14, 15).

Diğer enterik patojenlere göre oluşturduğu enfeksiyonların sayısı daha az olmakla birlikte, *E. coli* O157: H7' nin neden olduğu hastalıklar ciddi ve hayatı tehdit edici niteliktedir. Hastalık ishalden, ölümlle sonuçlanabilen hemolitik üremik sendrom (HUS) veya trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi ciddi komplikasyonların görüldüğü kanlı ishale kadar uzanabilen bir klinik tablo seyredebilir (2, 5, 7, 10).

Ancak dışkı örneklerinden *E. coli* izole etmek, ishal olgularının laboratuvar tanısı için yeterli değildir. Hemorajik kolite neden olan EHEC kökenleri sıklıkla *E.coli* O157: H7 serotipine ait olduğundan, bu hastalığın tanısı için dışkı örneklerinde bu serotipin araştırılması önem kazanmaktadır.

Son yıllarda pek çok ülkede *E. coli* enfeksiyonunun sayısında artış kaydedilmiştir. İngiltere' de 1992–94 yılları arasında doğrulanmış olgu sayısı 173 iken

1996 yılında 660 olguya çıkmıştır (16). Amerika’ da 1995 yılında 20.000 olgu ve 250 ölüm olduğu belirtilmektedir (6). Türkiye’de yapılan çalışmalarda; O157: H7’nin dışkı kültürlerinden izole edilme sıklığı ; % 0–0,5 olarak bildirilmiştir (17, 18, 19).

Bu patojenin geçişinde başlıca gıdalar; et ve et ürünleri, çiğ süt ve süt ürünleri ile kontamine sular ve besinlerdir (16, 20, 21). Bu nedenle bu tip besinler yetkili kuruluşlarca sık sık kontrol edilmeli ve hijyen konusunda gerek besin üreticisine gerekse halka bu konuda yeterince bilgi verilmelidir. Ayrıca pastörize edilmemiş süt ürünleri ve meyve suları ile yetersiz pişirilmiş kıyma, et ürünleri ve hamburgerlerin tüketiminden kaçınılmalıdır. Klorlanmamış suların içilmemesi veya gıda işlek yerlerindeki ekipmanların temizliğinde kullanılmaması gerekmektedir. Çiftliklerde, gıda işlek yerlerinde ve kreşlerde çalışan personelin, güvenli gıda sağlama teknikleri, çiğ ve pişmiş gıdalardan kaynaklanabilen direkt ve indirekt kontaminasyonlar ve personel hijyeni konusunda eğitilmesi, bakterinin insanlara geçişini en aza indirmede önem taşımaktadır (22, 23).

2.1. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

E. coli bakterileri buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Fakültatif anaerop olup optimal üreme ısısı 37 °C’ dir. Özellikle 44 °C’ de üreyebilmeleri *Enterobacter* ve *Serratia* gibi benzer bazı bakterilerden ayırt edici bir özelliktir (1, 2, 24). *E. coli* O157 : H7 serotipinin 7-10 °C’ lardan 50 °C’ lere kadar geniş bir aralıkta gelişebildiği, optimum üreme ısısının 37 °C olduğu bildirilmektedir (1, 2, 25).

E. coli bakterileri, ortalama pH 7.2’ de iyi ürerler ve buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Fakat, pH 5-8 arasında da üreyebilmektedirler (1, 2).

E. coli O157 : H7 serotipi ise pH 4.4 ve altındaki asidik gıdalarda, 0.95 ve altındaki su aktivitesi değerlerinde gelişebilmekte, orta yoğunluktaki tuzda (% 6.5 NaCl) canlılığını sürdürebilmektedir (25).

E. coli bakterileri, jelozda hafif kabarık, yuvarlak, düzgün 1–2 mm çapında parlak S tipi koloniler oluştururlar. Bazı kökenlerin kolonileri hafif mukoid (M) koloniler şeklindedir. R kolonileri de oluşabilir. *E. coli* bakterileri birçok şekerleri asit ve gaz meydana getirerek parçalarlar. Laktoza olan etkileri bu şekere etki etmeyen diğer bağırsak bakterilerinden ve özellikle *Salmonella* ve *Shigella*’lardan ayırt edici bir özellikleridir. Bu nedenle pratikte *E. coli*’nin dışkıda birlikte bulunduğu laktoz olumsuz bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılmaktadır. EMB besiyeri bunlardan en çok kullanılanlardan biri olup, içinde laktoz ve eozin metilen mavisi vardır. *E. coli* bakterileri bu besiyerinde laktozu parçalayıp asit oluşturduklarından kolonileri mavi-siyah parlaklıklı olup laktozu parçalayamayan bakterilerin kolonileri renksizdir. Aynı temele dayalı SS agar, Mc Conkey jelozu vb. besiyerlerinde de *E. coli* basilleri kırmızı koloniler yapmaktadırlar (1, 10, 16, 26).

Verotoksin (Shiga-benzeri toksin) oluşturan kökenler, diğer kökenlerden farklı olarak sorbitolü fermente edemezler. *E. coli* O157 : H7 serotipi standart Mc Conkey agar besiyerinde laktozu fermente eder ve pembe koloniler oluştururken, seçici bir besiyeri olan Sorbitollü Mc Conkey Agar besiyerinde ise sorbitolü fermente edemez (26). Bu nedenle, SMAC besiyerinde saptanabilirler. Dışkı kültürleri SMAC besiyerine ekildiğinde, oluşan renksiz koloniler O157 : H7 antiserumu ile lam aglutinasyonunda incelenmelidir. Ayrıca verotoksini kültür filtratlarında saptayabilen ELİSA ve lateks aglutinasyonu kitleri de kullanılabilir. Kesin tanı Vero hücrelerinde sitotoksisitenin gösterilmesi ve bunun nötralizasyon testiyle doğrulanması ile konulabilmektedir (10, 16). Günümüzde yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri, ilk plaktan seçilen 20–100 kolonide verotoksin geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) veya hibridizasyonla aranmasıdır (1, 5, 10, 16).

E. coli bakterileri triptofandan indol yaparlar, metil kırmızısı testi olumlu, Voges proskauer testi olumsuzdur. Simon’ un sitratlı besiyerinde üremezler. Bu dört karakter; İndol (İ), Metil kırmızısı (M), Voges proskauer (V) ve Sitrat(C) birlikte incelenebilir ve ilk harflerin birleşmesinden oluşan İMVİC testleri adını alırlar. Özellikle bağırsak bakterilerini bu testlerle olan ilişkilerine göre ayırt etmek mümkündür. Bu durumda *E. coli* için İMVİC testleri (+++-) olarak değerlendirilmektedir (2, 3, 26).

2.2. Direnç

E. coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. *E.coli* suşlarının direnci diğer enterobakterilerden çok farklı değildir. Soğuğa dirençli olmakla beraber dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Malaşit yeşili, sodyum tetratiyonat, fuksin, bizmut sitrat, sodyum sülfat, sodyum deoksikolat ve safra tuzları gibi boyalara ve kimyasal maddelere *Shigella* ve *Salmonella' lardan* daha duyarlıdır. Bu nedenle dışkıda bulunan diğer bakterilerin izolasyonunda, *E. coli' nin* üremesine engel olmak için, içerisinde bu maddeler bulunan selektif besiyerleri bulunmaktadır (1, 26).

E. coli kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen bulaşıcı direnç plazmitleri taşıdıklarından bugün dışkıdan izole edilen *E. coli* bakterilerinin bir kısmı ve özellikle hastane ortamından ayrılan kökenlerin önemli bir kısmı ampisilin, sefalotin streptomisin, tetrasiklinler, sulfonamid bir kısmı da kloramfenikol, kanamisin ve başka kemoteropatlara direnç kazanmaktadır (1, 2, 10, 27, 28).

2.3. Antijen Yapıları ve Tiplendirilmesi

E. coli bakterilerinde karmaşık ancak iyi bir antijen yapısı ve değişik antijen tipleri vardır. *E. coli' nin* somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) antijenleri vardır (2, 4).

O antijenleri; ısıya dayanıklı, lipopolisakkarit yapısında antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli formole dayanıksızdır. Şimdiye kadar birbirinden ayrı 171 O antijeni bulunmuşsa da bunlardan en çok 25 kadarına rastlanmaktadır. *E. coli' ler* serolojik olarak O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenlerine göre de serovarlara ayrılmaktadırlar (2, 10).

H antijenleri; protein yapısında ve termolabildirler. Miktarca az olmakla beraber monofazik olan kirpik antijenleri hareketli kökenlerde bulunurlar. 100 °C' de ısıtılmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle harap olurlar, formale karşı dayanıklıdırlar.

Şimdiye kadar 56 farklı H antijeni bulunmuştur. İdentifikasyonda ancak 20 kadarı kullanılmaktadır (2, 10).

K antijenleri; kapsül antijeni niteliğindeki antijenlerdir. Aglütinasyon özelliklerine göre incelenmiş olan K antijenleri, yapılarının gösterdiği ayrıma göre adlandırılmışlardır. K₁, K₂ şeklinde adlandırılan K antijenlerinin yaklaşık 80 çeşidi saptanmıştır. Polisakkarit yapısında antijenlerdir. Bu antijenleri bulunduran *E. coli* bakterileri O antiserumları ile aglütine olmazlar. Isıya dayanıklı olup 100 °C' de 1-2 saat kaynatmakla ancak ortadan kaldırılabilirler (2, 10).

E. coli suşlarının serotiplendirilmesi, Kauffman tarafından geliştirilen şemaya göre yapılabilir. 164 O grubu, 57 H grubu ve 90 K grubu vardır. Serotiplendirmede öncelikle O ve H antiserumları kullanılmaktadır. Suşların kapsül antijenleri de olabilir, fakat kapsül antijeni nadiren değerlendirilir. O serogruplaması için kökenlerin buyyon kültürü, Tip A kapsül antijeni çok olanlarda 120 °C' de 2 saat, diğerlerinde 100 °C' de 1 saat ısıtılmalı ve antiserum ile aglütinasyon tüpünde titrimetrik olarak çalışılarak orijinal titreye yakınlığı gösterilmelidir. Bu serogruplama EPEC, EIEC, EHEC gibi özel kökenlerde kullanılmaktadır (1, 10).

E. coli bakterileri O, K ve H antijenlerine göre serolojik olarak serovarlara, fajlara göre faj tiplerine ayrılırlar. *E. coli* suşlarının antijen yapılarının belirlenmesi, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda yararlıdır. *E. coli*' nin oluşturduğu çeşitli hastalık tabloları ile özel antijen tipleri arasında ilişkiler vardır. Örneğin serotip O157 : H7, verotoksin oluşturur, hemorajik diyareye ve hemolitik üremik sendroma yol açar (26, 29).

İnsanda ishal etkeni olabilen *E. coli* kökenlerinde sık görülen serogrup veya serotipler Tablo 1' de gösterilmiştir (10).

Tablo 1 – İnsanda İshal Etkeni Olabilen *E. coli* Kökenlerinde Sık Görülen Serogrup veya Serotipler

Köken / Yaptıkları Hastalıklar	O veya O : H Grubu
EPEC (bebek ishalleri)	O20, O26, O44, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142
EIEC (tüm yaşlarda dizanteri)	O28, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167
EHEC (tüm yaşlarda enterohemorajik ishal, küçük çocuklarda hemolitik üremik sendrom)	O26:H111, O111:H-, O157: H7

*EPEC: Enteropatojenik *E. coli*
Enterohemorajik *E. coli*

* EIEC: Enteroinvaziv *E. coli*

*EHEC:

2.4. Virülans ve Patogenite Özellikleri

E. coli' nin çeşitli konaklarda, değişik dokuları enfekte edebilmek için çok sayıda virülans faktörü vardır. Bunlar yapısal faktörler veya hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi değişik ürünlerdir.

Enfeksiyonun ilk adımı yüzey faktörleri ile konak dokuya tutunmadır. Değişik dokulara tutunma (adezyon) için, *E. coli*' de çeşitli yüzey yapıları vardır (1, 4). Bunlar ;

- 1) K₁ kapsülü
- 2) Tip I (MS – Mannoos sensitive) Fimbriya
- 3) Tip II (MR – Mannoos resistant) Fimbriyalar
- 4) S Fimbriya
- 5) P Fimbriya
- 6) X Faktör gibi oluşumlardır.

Enterotoksinler : ETEC suşları, yapımı plazmidle kodlanan, ısıya duyarlı LT ve ısıya dirençli ST olmak üzere, bağırsaklarda aktif olan 2 ekzotoksin salgılar (1).

Verotoksinler : 50' den fazla serotipi bulunan Enterohemorajik *E. coli*' nin en yaygın örneği olan O157 : H7, *Shigella dysenteriae* tip I tarafından üretilen toksine benzerliğinden dolayı Shiga benzeri toksin (Shiga like toxin – SLT) olarak da bilinen vero sitotoxin veya verotoxin (VT) üretimi ile dikkat çekmektedir. Bu bakteri biyokimyasal olarak birbirlerine oldukça benzeyen, protein sentezini inhibe eden, Vero ve HeLa hücrelerine karşı aktif olan Shiga like toxin 1 (VT1) ve Shiga like toxin 2 (VT2) olmak üzere iki adet güçlü toksin üretmektedir. Ayrı ayrı ya da birlikte üretilen VT 1 ve VT 2' nin farklı molekül ağırlığına sahip 2 alt ünitesi bulunmaktadır. Her iki toksin de 1 α ve 5 β olmak üzere 6 alt birimden oluşur. Ayrıca VT 2' nin çeşitli varyansları da identifiye edilmiştir. Kolonda aktif olan bu toksinler, endotelial hücrelere bağlanarak hemorajik kolit (HC) oluşturmaktadır (4, 5, 13, 30).

Bu kökenlerin konak hücreye hangi adezinlerle tutunduğu bilinmemektedir; ancak bunlarda EPEC gibi eae geni taşırlar ve onlar gibi mukoza yüzeyinde yapışma şeklindeki özel tutunmaya neden olurlar. Bu iki grup arasındaki en önemli farklar; EHEC kökenlerinin Shiga benzeri toksin üretmeleri ve kalın bağırsakta patoloji oluşturmalarıdır. EHEC' ye bağlı ishal, EPEC' in oluşturduğu mekanizmadan çok toksinin etkisine bağlıdır (4, 7, 13).

SLT, hücre kültürlerinde tipik sitotoksik etki oluşturur. Bu etki ilk kez Vero hücrelerinde gözlemlendiğinden, toksin verotoksin = VT, bu *E. Coli* kökenleri de VTEC olarak bilinmektedir (2, 4, 26).

Verotoksinler, konak hücrede 60 S ribozoma bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Son yıllarda elde edilen bulgular bu etkinin sadece bağırsak mukoza hücresinde sınırlı kalmadığını, toksinin kan dolaşımına geçerek endotel hücrelerinde de toksik etki yaparak HUS' un başlamasına yol açtığını düşündürmektedir (4, 5).

2.5. *E. coli*'nin Hastalandırıcılık Özellikleri ve Yaptığı Hastalıklar

İnsanlarda *E. coli*' nin yaptığı hastalıklar intestinal (bağırsak hastalıkları) ve ekstraintestinal (bağırsak dışı hastalıklar) olarak iki grupta incelenebilir.

2.5.1. Bağırsaklarda Oluşturdukları Hastalıklar : Bağırsaklarda hafif diyareden, kolera benzeri ağır sıvı kayıplarıyla seyreden diyareye, ya da, beraberinde hemolitik üremik sendrom gibi hayatı tehdit eden komplikasyonları olan kanlı diyareye kadar ağırlığı değişen, gastrointestinal hastalıklara beş farklı *E. coli* grubu neden olmaktadır (8, 26, 29,31).

1) Enterotoksinojenik *E. coli* (ETEC) : Gelişmekte olan ülkelerde 2 yaşın altındaki çocuklarda ve bebeklerde bakteriyel diyarenin en önemli nedenidir. ETEC suşlarının yaygın olarak bulunduğu Hindistan gibi ülkelerde toplumun önemli kısmı bağışiktır. Bölgeye dışardan gelen erişkinlerde diyare oluşur ve buna " turist diyaresi " adı verilir. Turist diyaresi , gelişmekte olan ülkelere seyahat edenlerde görülmektedir.

EPEC enfeksiyonu kontamine su ve yiyeceklerin ağız yoluyla alınması sonucu ortaya çıkmaktadır. Hastalığın en sık görülen belirtileri; sulu ishal, karın krampları, düşük ateş, mide bulantısı ve genel hastalık halidir. Mukozaya penetrasyon ve invazyon yoktur (1, 4, 5).

2) Enteropatojenik E. coli (EPEC) : Bebeklerde ve 2 yaş altındaki çocuklarda ishale yol açmaktadır. Süt bebeği diyarelerinden sorumludur. Bu hastalık genelde çocuk ishali olarak bilinmektedir. Hastalığın en sık görülen belirtileri; ateş, kusma, mukuslu-kansız-sulu diyare ve genel hastalık halidir. Hastanelerde, bebek servislerinde ve kreşlerde salgınlara yol açmaktadır. Erişkinlerde nadiren görülmektedir (1,5).

3) Enteroinvaziv E. coli (EIEC) : *Shigella* benzeri ishalleri neden olur. Direkt kolon mukozasına invazyon yapar, epitel hücreleri içinde çoğalır ve epitel hücrelerini tahrip eder. Ateş, karın ağrısı, kanlı-mukuslu tipik dizanteri veya sulu diyare yapmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde ve gelişmiş ülkelerde de diğer *E. coli* diyarelerine oranla seyrek görülmektedir. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) adı altında daha çok çocuklarda fakat aynı zamanda erişkinlerde de dizanteriform sürgünlere yol açan *E. coli* bakterileri toplanmaktadır (1, 13).

4) Enterohemorajik E. coli (EHEC) : Özellikle gelişmiş ülkelerde kanlı ishal etkeni olarak bilinen *E. coli* serovarlarını içerir. Hemorajik Kolit, Hemolitik Üremik Sendrom ve Trombotik Trombositopenik Purpuraya yol açmaktadır (4, 10).

5) Enteroagregatif E. coli (EAaggEC) : Bu terim LT veya ST üretmeyen, invaziv olmayan, O ve H antijenlerine sahip olmayan, Hep-2 ve HeLa hücrelerine tipik olarak tutunan *E. coli* suşlarını tanımlamaktadır. Akut ve persistan diyarelere neden olan yeni bir patojendir. Hemorajik nekroz nedeniyle kolondaki villusların küntleşmesi veya yok edilmesine rağmen kesin patogenetik mekanizması bilinmemektedir (4, 10).

Bağırsak enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* virotiplerinin özellikleri Tablo 2' de verilmiştir (1).

Tablo 2: Bağırsak Enfeksiyonlarına Neden Olan *E. coli* Virotiplerinin Özellikleri

Virotip	Patogenez	Bağırsak Enf.	Kliniği	Yaş grubu	Risk Faktörü
ETEC	LT ve ST	Bebek ve Turist Diyaresi	Bol sulu diyare, Kramplar, Bulantı	< 2 yaş Erişkinler	Endemik ve Gelişmekte Olan Ülkelere seyahat
EPEC	Bağırsak Epiteline Tutunma	Akut diyare	Bol sulu diyare,ateş, kusma, mukuslu dışkı	< 2 yaş Erişkinler	Bebek servisleri ve kreşlerde
EIEC	Bağırsak Mukozasına İnvazyon, Üreme ve yıkım	Dizanteri	Kanlı, mukuslu dışkı, dışkıda bol lökosit, ateş, karın ağrısı - kramp	Erişkinler	Endemik bölgeye seyahat
EHEC	Shiga benzeri Toxin (verotoksin)	Diyare, Hemorajik kolit	Lökositsiz diyare, karın ağrısı, ateş, kanlı dışkı, HUS, TTP	Çocuklar	Az pişmiş et tüketimi, Kontamine sular
EAggEC	Bilinmiyor	Kronik ve Akut diyare	Sulu diyare, kusma, dehidratasyon	Tüm yaşlar	Bilinmiyor

*ETEC: Enterotoksijenik *E. coli*

*EPEC: Enterotoksijenik *E. coli*

*EIEC:

Enteroinvaziv *E. coli*

*EHEC: Enterohemorajik *E. coli* *EAggEC: Enteroagregatif *E. coli*

*HUS: Hemolitik Üremik Sendrom *TTP: Trombotik Trombositopenik Purpura

2.5.2. Bağırsak Dışında Oluşturdukları Hastalıklar : Üriner sistem enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, menenjit ve bakteriyemi'dir. Normal bağırsak florasında bulunan *E. coli* bakterileri herhangi bir nedenle buldukları yerin dışına başka dokulara geçme olanağını buldukları takdirde çeşitli ve bazen önemli yangılı enfeksiyonların oluşmasına etken olabilirler. Bu şekilde bağırsak dışı dokulara ve en çok üriner sistem, safra yolları ve safra kesesi, menenjler, akciğer ve peritona ulaşan bakteriler bu organların süpüratif enfeksiyonlarını meydana getirirler. Üriner sisteme bağlı olarak piyelit, piyelonefrit ve en fazla sistit görülür. İdrar yolu enfeksiyonlarının en sık rastlanan etkeni *E. coli'* dir (1, 2).

2.6. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)'nin Hastalandırıcılık Özellikleri ve Yaptığı Hastalıklar

E. coli O157: H7' nin neden olduğu enfeksiyonlar, asemptomatik taşıyıcılıktan sulu ishal, bol kanlı dışkılama ve hemolitik üremik sendroma varan geniş bir klinik tablo oluşturmaktadır (6,16). Bu klinik tablolar;

- 1) Hemorajik kolit (HC)
- 2) Hemolitik üremik sendrom (HUS)
- 3) Trombotik trombositopenik purpura (TTP)

E. coli O157: H7 enfeksiyonlarının çoğunda sulu ishal görülür. EHEC, abdominal kramplarla birlikte hafif sulu ishalden ağır seyirli kanlı ishale kadar değişebilen çeşitli klinik tablolara neden olabilir. Dışkıda genellikle inflamatuvar hücre yoktur; ancak çok ciddi olgularda antibiyotiğe bağlı kolitlerle karıştırılabilir (5). Kuluçka süresi 3–4 gün arasında değişmektedir. Klinik tablo 2–15 gün sürer. Etken her yaşta hastalığa neden olmakla birlikte 5 yaşın altında ve 60 yaşın üstünde daha ağır seyretmekte, ölüm oranı daha yüksek olmaktadır (13, 29, 31).

2.6.1. Hemorajik kolit (HC) : Hemorajik kolitin en çarpıcı özelliği hemolitik üremik sendrom gibi morbidite ve mortalitesi yüksek bir komplikasyona yol açabilmesidir (4). En erken bulgusu ciddi karın ağrısı ve birkaç saat içinde eklenen sulu

ishaldir. Hastalığın 2. ve 3. gününde kanlı ishal başlar. Hastaların yarısında kusma, 1/3'ünde ateş görülebilir. İnkübasyon süresi 3–4 gündür. Hastalık 2–15 gün sürebilmesine karşın ortalama 7 günde kendini sınırlar (4, 13, 16).

2.6.2. Hemolitik üremik sendrom (HUS) : En sık 1–4 yaşları arasındaki çocuklar etkilenir. Sendrom hemorajik kolit bulgularından iki gün ila altı hafta sonra gelişir. Hemolitik üremik sendromda trombositopeni, hemolitik anemi ve akut böbrek yetmezliği görülür. Hemorajik koliti izleyerek HUS gelişme oranı %8–36 arasında değişmektedir. Ölüm, HUS' lu hastaların %3' ü ile %5' i arasında meydana gelebilir (4, 26). HUS hemorajik kolit gelişen hastaların %7–25' inde ortaya çıkabilmekte ve HUS gelişenlerden EHEC izolasyonu %90' lara varabilmektedir (4).

2.6.3. Trombotik trombositopenik purpura (TTP) : Pek çok yönüyle HUS' a benzer. Ancak erişkinlerde daha sık oluşur. Ateş daha yüksektir ve nörolojik tutulum belirgindir (4, 16).

2.7. Laboratuvar Tanısı

Dışkı kültüründe *E. coli* izole etmek, bu bakteriden kaynaklanan ishallerin laboratuvar tanısı için yeterli değildir. Çünkü, bağırsak patojeni *E. coli* kökenlerini birbirinden biyokimyasal olarak ayırmak olası değildir. Bundan farklı olarak Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) laktozu yavaş fermente etmesi, hareketsiz ve lizin negatif olması ile önemli bir ayırt edici özelliğe sahiptir. İnflamatuvar hücre olmaksızın sulu dışkı genellikle Enterotoksinojenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ve Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC)' yi akla getirmelidir. Buna karşın dizanterik dışkıda Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), kanlı dışkıda ise Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) düşünülmelidir (5).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)' lerin identifikasyonları güçtür. Çünkü standart biyolojik yöntemlerle, floradaki *E. coli*' ler patojen *E. coli*' lerden ayırtedilemezler. EHEC' lerin identifikasyonu için altı yöntem geliştirilmiştir. Bunlar:

- 1) Sitotoksin üretimi
- 2) Biyokimyasal yöntemler
- 3) Serotiplendirme
- 4) Serum antikor düzeyi saptaması
- 5) DNA hibridizasyonu
- 6) ELISA

1) Sitotoksin Üretimi: *E. coli*' nin kültür filtratlarında gösterilen toksin HeLa veya Vero hücrelerine sitotoksiktir. Verotoksijenik *E. coli*' lerin büyük çoğunluğunun (% 15-75) O157 : H7 serogrubunca üretilmesi tanıda önemli bir ipucudur. Ancak uzun zaman alması, özel laboratuvar koşulları gerektirmesi, pek çok *E. coli* türünün düşük düzeyde verotoksin üretebilmesi ve yöntem farklılıkları dezavantajlarıdır (13, 30).

2) Biyokimyasal Yöntemler: *E. coli* O157 : H7' nin sorbitolü fermente etmemesi önemli bir biyokimyasal parametredir. Bu özelliği ile *E. coli* O157 : H7 diğer *E. coli*' lerden % 95 oranında ayırt edilebilir. Burada suşun ornitin ve lizini dekarboksilize etmelerinin de gösterilmesi özgüllüğü artırabilir (32, 46).

3) Serotiplendirme: Sorbitolü fermente etmeyen *E. coli*' ler Sorbitollü Mac Conkey Agar (SMAC) besiyerinde gösterildikten sonra, ticari olarak elde edilen O 157 : H7 antiserumu ile tiplendirme yapılabilir (16, 32).

4) Serum Antikor Düzeyi Saptanması: *E. coli* O157 : H7' nin salgıladığı Shiga-Like Toxin (SLT)' ye karşı serumda oluşmuş antikorların gösterilmesi, klinikle etlken arasındaki ilişkiyi göstermesi açısından değerlidir. Akut ve konvelasan dönemlerde alınan serumlarda dört kat titre artışı olması anlamlıdır. Konvelasan seruma gereksinim duyulması tanıyı geciktirmektedir ve bu nedenle kısıtlı kullanılmaktadır (13).

5) DNA Hibridizasyonu: EHEC identifikasyonunda ya toksin üretimi kodlayan gen ya da EHEC' in bağlanma faktörünü kodlayan plazmidi saptayan DNA problemleri geliştirilmiştir. Çok duyarlı bir yöntemdir ancak özel laboratuvar koşulları gerektirmesi

ve küçük miktarlarda SLT' nin pek çok *E. coli* tarafından üretilmesi yöntemin sakıncalarındandır (40).

6) ELİSA: Bu yönteme göre ya monoklonal antikorlar antitoksine bağlanırlar ya da toksin reseptör anoluğuna bağlanır. Duyarlı bir yöntemdir (16).

E. coli O157: H7' yi diğer *E. coli* suşlarından ayıran 3 temel kültürel özellik;

- 24 saatte sorbitolü fermente etmemesi,
- Flurojenik ürünün oluşumuna yol açan 4-methyl umbelliferone gulukoronide'i (MUG) hidrolize eden β -glukuronidase enzim aktivitesine sahip olmaması
- 44 – 45 °C' lerde zayıf gelişmesidir.

Optimum gelişme PH' ı 7.0 olan *E. coli* O157: H7 PH 4.5 – 9.0 aralığında da gelişebilmektedir (1, 14, 15).

E. coli O157: H7' nin sorbitolü fermente etmemesi önemli bir biyokimyasal parametredir. Bu özelliği ile *E. coli* O157: H7, diğer *E. coli*' lerden % 95 oranında ayırt edilebilir. Bu amaçla geliştirilen SMAC besiyeri, O157: H7' nin izolasyonu için duyarlı bir besiyeridir. Sorbitolü femente etmeyen *E. coli*' ler SMAC besiyerinde gösterildikten sonra, ticari olarak elde edilebilen O157 : H7 antiserumu ile tiplendirme yapılabilir (13, 24, 32).

2.8. Tedavi

E. coli O157: H7' nin neden olduğu enfeksiyonlar, insandan insana yayılması, ciddi komplikasyonlara neden olması, henüz spesifik tedavinin olmaması nedeniyle özel öneme sahiptir (1, 2). EHEC ishaline karşı uygun bir tedavi geliştirilememiştir. Bağırsak hareketlerini durduran ajanlardan sakınılmalıdır. Antibiyotik kullanımı, EHEC

infeksiyonlarında yararlı olmadığı gibi muhtemelen zarar da vermektedir. SLT kodlayan genin ılımlı bir bakteriyofaj kontrolünde olması nedeniyle antibiyotik tedavisi, bu bakteriyofajın litik siklusa geçmesine ve SLT kodlayan gen kopyalarının artmasına neden olacaktır; buna bağlı olarak artan toksin üretiminin hemolitik üremik sendrom (HUS)' a daha kolaylıkla yol açabileceği düşünülmektedir. İmmünoglobülin infüzyonu, taze dondurulmuş plazma ve plazma değişimleriyle başarı sağlanmış, ancak bunların rutin kullanımını destekleyecek kesin veriler elde edilmemiştir. Tedavide asıl olan dehidratasyon, elektrolit bozukluğu ve gastrointestinal kan kayıplarının düzeltilmesidir (4, 5, 29).

2.9. Epidemiyoloji ve Korunma

E. coli O157: H7 enfeksiyonlarının önemli bir kaynağı hayvansal kaynaklı gıdalardır. Bu patojenin geçişindeki başlıca gıdalar; sığır eti ve ürünleri ile işlenmemiş çiğ süt ve ürünleridir. Birçok salgında yetersiz pişirilmiş hamburgerlerin şüpheli gıda olduğu bildirilmektedir(33, 34, 35). ABD' de az pişmiş hamburgerler ile, İngiltere' de yoğurt ve elma suyundan kaynaklanan salgınlar gözlenmiştir (29). Bunun yanında soğuk sandviçler, hot dogs, rosto, kurutulmuş kürlenmiş salam, kurutulmuş fermente sucuk, çiğ süttten yapılan peynirler, yoğurt, alfalfa ve beyaz turp filizi, pastörize olmayan meyva suları (elma, portakal), çiğ taze meyva ve sebzeler, mayonez, elma şırası, pişmiş mısır, kanatlı hayvan, domuz, geyik, kuzu etleri de çeşitli salgınlarda kaynak olarak gösterilmektedir (35, 36, 37, 38).

EHEC' in genelde dışkıdaki yaygınlığı % 0–10 arasında değişmekle beraber, özellikle genç hayvanlarda daha fazla olduğu, sığır dışkısında 5 °C' de 70 güne kadar canlılığını koruyabildiği ve verotoksin üretme kapasitesini kaybetmediği düşünülmektedir (11, 12). Epidemiyolojik olarak insanlara geçiş, direkt olarak meslekle ilgili hayvanla temas şeklinde, indirekt olarak da dışkı ve atıklarla kontamine olmuş gıdaların, içme ve halka açık yüzme havuzu olarak kullanılan suların, alınması durumunda, çiğ ya da yetersiz pişirilmiş gıdaların hazırlanması sırasında temas edilen araçlar veya eller vasıtasıyla oluşabilen kontaminasyonlar ile ve en önemlisi kişiden

kişiyeye temas (fokal-oral yolla) aracılığı ile olmaktadır. Ayrıca asemptomatik taşıyıcı olan enfekte insanlar da patojenin geçişinde rol oynamaktadırlar (11, 12).

Kesimhanelerde derinin yüzülmesi ve iç organlarının çıkarılması sırasında sığır eti kontamine olabilmektedir. Etin parçalanması, kıyılması sırasında yüzeyden iç kısımlara geçen bakteri, yeterli ısı işlemin yapılmadığı durumlarda canlılığını sürdürmekte ve halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Güney Yorksire' de Sheffield bölgesindeki yerel mezbahalardan alınan sığır etlerinin tüketimi ile 1992 Mayıs-Haziran aylarında gözlenen salgınların incelenmesi sonucunda, 2103 sığır rektal svab örneğinin 84'ü (% 4) *E. coli* O157: H7 bakımından pozitif, pozitif örneklerin 78'inin (% 93) ise verotoksin ürettikleri tespit edilmiştir (34).

Dünyadaki *E. coli* O157: H7' ye ait en büyük salgın, 1996' da Japonya' da beyaz turp filizlerinden kaynaklanan 9451 adet enfeksiyon vakasının gözlenmesiyle ortaya çıkmıştır. 1997' de Michigan ve Virginia' da birbirini takip eden salgınlarda, sorumlu gıdanın aynı tohumlardan gelişen alfalfa filizleri olduğu, kontaminasyonun hasat sırasında veya sonrasında elle müdahale edilmesi ve işlenmesi sonucu ortaya çıktığı, bakteri sayısının artışında filizlenme dönemindeki nem ve ısı şartlarının önemli bir etken olduğu bildirilmelidir (36, 37).

Araştırmalarda, aktif klor, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, asitlendirilmiş NaClO_2 , ClO_2 , Na_3PO_4 , Vegi-Clean, Tsunami, Vortexx, Klorin (NaOCl), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, H_2O_2 , tıodyum fosfat gibi kimyasalların belli doz, ısı ve zamanlarda Alfalfa tohum ve filizlerinde bulunabilen patojenin sayısını azalttığı sonucuna varılmıştır (36, 37).

Genellikle su kaynaklı hastalık salgınları, su kaynağının (kaynak, kuyu suyu) ya yetersiz korunmasından ya da distilasyon, karbonasyon, ozonasyon, filtrasyon gibi uygulamaların yetersizliğinden şekillenmektedir. Atıkların taşması, seller ve yüzey suları ile karışması sonucu bakteriyel popülasyonun toprağa geçmesiyle, yeraltı (kaynak) suları kontamine olmaktadır. Bakteri ve virüsler, yeraltı sularında yüzey sularına göre daha uzun süre canlı kalabilmekte ve büyük bir tehlike oluşturmaktadırlar (20, 30).

Enfeksiyonu önlemek için, tarımsal üretimden, gıdaların işlenmesi ve hazırlanmasına kadar olan işlemlerin, her basamağında kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir. Çiftliklerde, gıda işlek yerlerinde ve kreşlerde çalışan personelin, güvenli gıda sağlama teknikleri, çiğ ve pişmiş gıdalardan kaynaklanabilen direkt ve indirekt kontaminasyonlar ve personel hijyeni konularında eğitilmesi, bakterinin insanlara geçişini minimuma indirmeye önem taşımaktadır. Enfeksiyonun yayılmasını engellemek için, özellikle çocukların tuvalet sonrasında, yemek öncesinde, çiftlik hayvanları ve çiğ gıdalarla temastan sonra ellerini sabunla uygun bir şekilde yıkaması sağlanmalıdır (1, 2, 4).

Pastörize edilmemiş süt ürünleri ve meyve suları ile yetersiz pişirilmiş kıyma, et ürünleri ve hamburgerlerin tüketiminden kaçınılmalıdır. Klorlanmamış suların, içilmemesi veya gıda işlek yerlerindeki ekipmanların yüzey temizliğinde kullanılmaması, klor veya diğer etkili dezenfektanların uygulandığı suların tüketilmesi gerekmektedir. İşlem görmemiş havuz veya göl sularında yüzmenin patojenin geçişi için bir risk olduğu öğretilmeli, şüpheli suların kullanılmadan önce mutlaka kaynatılması sağlanmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; C.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı' na 230 adet servis ve 142 adet poliklinik hastası olmak üzere toplam 372 hastadan gönderilen dışkı örnekleri incelenerek, bu örneklerde saptanan *E. coli* suşlarındaki O157 : H7 serotipinin varlığı araştırıldı.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- SMAC (Sorbitollü Mc Conkey Agar) Besiyeri
- O157 : H7 Antiserumu
- Lam
- Öze
- Etüv
- Otoklav
- Santifrj
- Steril cam tüpler
- Serum fizyolojik (SF)
- Pipet
- Buzdolabı

3.2. Yöntem

Bu çalışmada C.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı' na 230 adet servis ve 142 adet poliklinik hastası olmak üzere toplam 372 hastadan gönderilen dışkı örnekleri incelenerek, *E. coli* O157: H7 serotipinin varlığı araştırıldı.

Servis ve poliklinik hastalarından gönderilen dışkı örnekleri kanlı, EMB, SS ve SF besiyerlerinin yanı sıra seçici ve ayırt edici bir besiyeri olan SMAC besiyerine de ekildi. Örnekler, 37 °C' de 24–48 saat inkübe edildikten sonra değerlendirmeye alındı. SMAC besiyeri *E. coli* O157: H7 suşu için seçici ve ayırt edici bir ortamdır. *E. coli* O157: H7 suşu sorbitolü fermente edemez (*E. coli* kökenlerinin % 93' ü sorbitolü fermente eder). Besiyerinde gelişen koloniler eğer sorbitolü kullanabilen sorbitol pozitif (+) bakteriye ait ise koloniler renkli görülür, sorbitolü kullanamayan sorbitol negatif (-) bakteriye ait ise renksiz (besiyeri renginde) görülürler. Renksiz koloniler *E. coli* O157 : H7 olabileceği gibi standart *E. coli* dışında diğer yakın akraba türleri de olabilir. Burada zorluk *E. coli* O157: H7' nin diğer sorbitol negatif (-) türlerden ayrımı değildir. Asıl zorluk dışkı ile gelmiş O157: H7' nin bulunduğu ortamda yine dışkı ile gelmiş çok sayıda standart *E. coli*' nin bulunmasıdır. Saf halde besiyerinden ayrılan bu kolonilerin O157 : H7 olup olmadığı ancak uygulanan serotiplendirme yöntemiyle doğrulanır. Enterobakteriler için biyotiplendirme, aynı tür içinde yer alan suşların birbirinden ayırılması için sınırlı bir yöntem olmakla birlikte, klinik önemi olan bazı tiplerin tanımlanmasında ve bu tiplerin epidemiyolojik amaçlarla izlenmesinde son derece yararlı ve pratik bir yöntemdir (1, 2, 39).

Çalışmamızda; sorbitol negatif olarak değerlendirilen kolonilerin ürettiği plaklar parafilmlelenerek, buzdolabına kaldırıldı. Daha sonra toplanan plaklardan SMAC besiyerine pasaj çekildi. Ve örnekler 24-48 saat 37 °C' de inkübe edildikten sonra serotiplendirme işlemine geçildi.

Serotiplendirme işleminde uygulanan basamaklar ;

- Öncelikle kapaklı cam tüpler içine 3' er ml serum fizyolojik (SF) konuldu ve kapakları kapatılarak 121 °C' de otoklavda 1 saat steril edildi.
- Daha sonra ; sorbitol negatif bakteri kolonilerinden öze yardımıyla alınarak, bu örnekler cam tüplerde süspanse edildi.
- Hazırlanan bu bakteri süspanasyonu 100 °C' de 1 saat bekletildikten sonra, 1500 devirde 15 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra ; üstteki sıvı kısım döküldü ve alttaki süpernatant kısma 0.5 ml serum fizyolojik eklendi.
- Daha sonra serotiplendirme işlemine geçildi. Temiz bir lama 10 µ hazırlanan bakteri süspanasyonu ve 10 µ' da O157 antiserumu damlatılarak aglütinasyon olup olmadığına bakıldı.

Çalışma güvenilirliğimizi artırmak için; hasta örneklerine uygulanan bütün bu işlemler; aynı zamanda elimizdeki *E. coli* O157 : H7 kalite kontrol suşu için de aynı şekilde uygulandı. Fakat yapılan çalışma sonunda hasta numunelerinin hiç birinde aglütinasyon gözlenmezken; kalite kontrol suşu ile yapılan çalışmada güçlü bir aglütinasyon gözlendi.

Damlatılan antiserum, *E. coli* O157 : H7 serotipinin yapısında bulunan O157 antijeni ile birleşerek aglütinasyon olmasını sağlamaktadır. Alınan koloni O157 : H7 serotipine ait değilse aglütinasyon gerçekleşmemektedir.

4. BULGULAR

Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 230 adet servis ve 142 adet poliklinik hastalarının örneklerinden SMAC besiyerine yapılan ekimler sonucu; servis hastalarının 72 adedi (% 57.15)' i, poliklinik hastalarının 54 adedi (% 42.85)' i sorbitol negatif olmak üzere toplam 126 adet sorbitol (-) negatif koloni üreyen plak elde edildi (Tablo 3).Bu plaklardaki sorbitol (-) negatif kolonilerden alınarak yapılan serolojik incelemeler sonucunda *E. coli* O157 : H7 suşuna rastlanmadı.

Ayrıca; servis hastalarının 158 adedi (% 64.23)' ü, poliklinik hastalarının 88 adedi (% 35.77)' i sorbitol (+) pozitif olmak üzere toplam 246 adet sorbitol (+) pozitif koloni üreyen plak elde edildi (Tablo3).

E. coli O157 : H7 SMAC besiyerinde sorbitolü kullanamadığından dolayı sorbitol (-) negatif olarak üreyen bir bakteridir. Soluk ve renksiz koloniler şeklinde üremektedirler. Sorbitolü kullanabilen diğer bakteriler ise pembe renkli koloniler şeklinde ürerler. Bu nedenle sorbitol (+) pozitif bakterilerin ürettiği plaklar serolojik incelemede değerlendirmeye alınmadı.

Tablo 3: *E. coli* O157: H7 Serovatifinin Servis ve Poliklinik Hastalarına G6re Dağılımları

Servis / Poliklinik	<u>Sorbitol Negatif</u>		<u>Sorbitol Pozitif</u>		<u>Toplam</u>	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Servis	72	57.15	158	64.23	230	61.83
Poliklinik	54	42.85	88	35.77	142	38.17
Toplam	126	100	246	100	372	100

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Escherichia coli O157 : H7' nin insan patojeni olduğu ilk defa 1982 yılında Amerika' da fast-food restoran zinciriyle ilişkili kanlı diyare salgınında anlaşılmıştır (14). *E. coli* O157 : H7 enfeksiyonu insandan insana yayılması, ciddi komplikasyonlara neden olması, henüz özgül tedavisinin olmaması nedeniyle özel öneme sahiptir (1, 2, 4).

Son yıllarda pek çok ülkede *E. coli* O157 : H7 enfeksiyonunun sayısında artış kaydedilmiştir. İngiltere' de 1992-94 yılları arasında doğrulanmış olgu sayısı 173 iken 1996 yılında 600 600 olguya çıkmıştır (16). Amerika' da 1995 yılında 20.000 olgu ve 250 ölüm olduğu belirtilmektedir (6).

Dünyadaki *E. coli* O157: H7' ye ait en büyük salgın, 1996' da Japonya' da beyaz turp filizlerinden kaynaklanan 9451 adet enfeksiyon vakasının gözlenmesiyle ortaya çıkmıştır. 1997' de Michigan ve Virginia' da birbirini takip eden salgınlarda, sorumlu gıdanın aynı tohumlardan gelişen alfalfa filizleri olduğu, kontaminasyonun hasat sırasında veya sonrasında elle müdahale edilmesi ve işlenmesi sonucu ortaya çıktığı, bakteri sayısının artışıyla filizlenme dönemindeki nem ve ısı şartlarının önemli bir etken olduğu bildirilmektedir (36, 37).

Kaddu ve ark. 237 diyareli çocuktan toplanan dışkı örneklerinde *E. coli* O157 : H7 serotipini araştırmışlar, yapılan çalışma sonunda *E. coli* O157 : H7 saptayamamışlardır (40).

Yine aynı çalışmada; Uganda' da merkez bölgesindeki bir sürüden elde edilen 159 küçükbaş hayvanın 45' inden Shiga-like Toksin üreten *E. coli* (STEC) izole edilmiş, izole edilen bu bakterilere O ve H antiserumları ile tiplendirme yapılmış, fakat O serotipine ait bir suş saptanamamıştır (40).

Chapman ve arkadaşlarının İngiltere’ de yaptıkları bir çalışmada 690 dışkı örneği incelenmiş ve 15’ inde sefiksime tellurit sorbitol agarda *E. coli* O157 izole edilmiştir (41).

Park ve arkadaşlarının Amerika Birleşik Devletleri’ nde yaptıkları bir çalışmada, 601 dışkı örneği incelenmiş ve 34’ ünde *E. coli* O157 : H7 serotipi izole edilmiştir (42).

Türkiye’ de *E. coli* O157 : H7’ nin neden olduğu salgın bildirilmemiştir. Bu bakterinin gastroenteritteki rolü sadece birkaç çalışmada araştırılmıştır. Türkiye’de yapılan çalışmalarda; O157: H7’ nin dışkı kültürlerinden izole edilme sıklığı ; % 0–0.5 olarak bildirilmiştir (17, 18, 19).

Erensoy ve ark. 42’ si hemorajik kolit tablosunda, 10’ u kanlı-mukuslu olmak üzere 300 sürgün olgusu ile 100 sağlıklı kişide *E. coli* O157 : H7 araştırmışlar fakat yaptıkları çalışmada *E. coli* O157 : H7 serotipini saptayamamışlardır (9).

Kaleli ve ark. gastroenteritli olan 681 hastanın dışkı örneklerinde Sorbitollü Mc Conkey Agar besiyeri kullanarak yaptıkları çalışmada *E. coli* O157 : H7 serotipini araştırmışlar, örneklerin 1’ inde (% 0.1) *E. coli* O157 : H7 saptamışlardır (17).

Tolun ve ark. gastroenteritli hastalardan gönderilen sulu veya kanlı 511 dışkı örneği ve sağlıklı kişilerden alınan 100 dışkı örneğini, Verotoksinojenik *E. coli* (VTEC) varlığı açısından polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Gastroenteritli hastalardan alınan 511 dışkı örneğinin dokuzu PCR yöntemi ile VTEC açısından pozitif bulunmuştur. Bu PCR pozitif örneklerden, sorbitollü Mc Conkey Agar besiyerinde elde edilen kültürlerden izole edilen 2 suş *E. coli* O157 olarak tanımlanmıştır. İncelenen 100 sağlıklı bireye ait dışkı örneklerinin ise hepsi negatif olarak belirlenmiştir (43).

Aksungur ve ark. yaptıkları çalışmada; 877 gaita örneğinde *E. coli* O157 : H7 serotipi araştırılmış ve örneklerin 6’ sında (% 0.75) *E. coli* O157 : H7 saptanmıştır (44).

Payne ve ark. İngiltere' nin Kuzey Wales bölgesindeki bir çiftlikte yaptıkları çalışmada; çiftliği ziyarete gelenlerden 23 kişide *E. coli* O157 : H7 izole etmişlerdir. Yine aynı çalışmada; çiftlik hayvanlarının çevredeki dışkılarından da *E. coli* O157 : H7 saptandığı ileri sürülmüştür (45).

E. coli O157 : H7' nin enfektif dozu tam olarak bilinmemekle birlikte, mevcut salgınlardan elde edilen verilere göre, bu dozun 10-100 organizma gibi çok düşük düzeylerde olduğu ileri sürülmektedir (46).

E. coli O157 : H7'nin büyükbaş ve küçükbaş hayvanlarda bulunması, enfeksiyonun 10-100 bakteriyle bile olması, insandan insana bulaşın fazla olması, su ve gıda kaynaklı salgınlardan olması bu ajanla oluşan enfeksiyonun Türkiye için de önemli olabileceğini düşündürmektedir (46, 47).

Bulaşmanın gıda kaynaklı olması nedeniyle çeşitli çalışmalarda gıdalarda *E. coli* O157 : H7 araştırılmıştır. İstanbul' da çeşitli gıda maddelerinde, Van' da açık olarak satılan tavuk etleri, sığır etleri ve çiğ köftelerde *E. coli* O157 : H7 araştırılmış ancak bu örneklerin hiç birinde saptanamamıştır (35, 48).

Gelişmiş ülkelerde hızlı bir şekilde önem kazanan, bu bakteriyle olan enfeksiyon gelişmekte olan ülkelerde pek görülmemektedir. Bunun nedeni; teknolojik olarak işlenmiş ve az pişirilmiş etlerle bulaşmanın daha yaygın olmasından kaynaklanmaktadır (5).

Bu çalışmada; *E. coli* O157 : H7' nin Sivas ve çevresindeki gastroenteritli olgulardaki varlığının araştırılması amaçlandı. İncelenen örneklerde *E. coli* O157 : H7 serotipine rastlanmadı. Kültür ve serotiplendirme yöntemlerinin yanı sıra moleküler tanı yöntemlerinin de uygulanması, etkenin varlığının ortaya çıkarılmasına katkı sağlayabilir.

Çalışmamızda, *E. coli* O157 : H7 serotipinin saptanamamış olmasına karşın, bu etkenin salgınlardaki önemli rolü, oluşturduğu hastalıklar, ölümlerle sonuçlanabilen ciddi

komplasyonlara yol açabilmesi gibi özellikleri göz önüne alındığında, daha kapsamlı ve ileri düzeydeki tanı yöntemlerine gereksinim olduğu düşünülmektedir.

ÖZET

Bu çalışmada; C.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı' na toplam 372 adet gastroenteritli hastadan gönderilen dışkı örnekleri incelenerek, bu örneklerde saptanan *E. coli* suşlarındaki O157: H7 serotipinin varlığı araştırıldı.

230 adet servis ve 142 adet poliklinik hastalarının örneklerinden SMAC besiyerine yapılan ekimler sonucu; servis hastalarının 72 adedi (% 57.15)' i, poliklinik hastalarının 54 adedi (% 42.85)' i sorbitol negatif olmak üzere toplam 126 adet sorbitol (-) negatif koloni elde edildi. Bu sorbitol (-) negatif kolonilerden alınarak yapılan serolojik incelemeler sonucunda *E. coli* O157 : H7 suşuna rastlanmadı.

Ayrıca; servis hastalarının 158 adedi (% 64.23)' ü, poliklinik hastalarının 88 adedi (% 35.77)' i sorbitol (+) pozitif olmak üzere, toplam 246 adet sorbitol (+) pozitif koloni elde edildi ve bu koloniler değerlendirmeye alınmadı.

SUMMARY

In this study, by the investigation of the stool samples at total of 372 units of the patients with gastroenteritis which were sent to the C.Ü. Faculty of Medicine Investigation and Application Hospital's Microbiology Laboratory, the existence of O157 : H7 serotype which is at *E. coli* strains was investigated.

The result of the culture done at SMAC which are from the samples of 230 units of service and 142 units of outpatient clinic patients with the total of 126 units of sorbitol negative (-) colonies of 72 units of service patients, 54 units of outpatient clinic patients that are sorbitol negative (-) were obtained. At the result of serologic investigations which were gained from these colonies, *E. coli* O157 : H7 strains weren't come across.

Furthermore; 158 units of service patients and 88 units of outpatient clinic patients that is totaly 246 units which were sorbitol positive (+) colonies weren't appraised.

KAYNAKLAR

1. **Ustaçelebi Ş:** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi Ltd Şti, Ankara, 1. baskı, s: 480-485, (1999).
2. **Bilgehan H:** Klinik Mikrobiyoloji, “Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları” , Barış Yayınları, İzmir, 10. baskı, s: 5-17, (2000).
3. **Fritz H. Kayser, Kurt A. Bienz, Johannes Eckert, Jean Lindenmann, (Çeviri: Anđ Ö, Anđ-Küçüker M, Tümbay E.):** Tıbbi Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul, 1. baskı, s: 291-295, (1997)
4. **Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA:** Medical Microbiology. p: 268-273. ASM Press, Washington, (2002).
5. **Topçu A. Wilke, Söyletir G, Doğanay M:** İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti, İstanbul, 1. baskı, s: 608-612, (1996).
6. **Smith HR:** Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of infections verocytotoxin-producing Escherichia coli O157. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. Antalya, s: 24-25, (04-09 Ekim 1998).
7. **Jhon P. Harley, Donald A. Klein :** Microbiology. 4th Ed, Lonsing M, Prescott, p: 793-795, (1999).
8. **Özerol İ, Özbilge H:** Escherichia coli Diyarelerinin Patogenezindeki Son Gelişmeler. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 2(1) : 86-102, (1995).
9. **Erensoy S, Tokbaş A:** İzmir’ deki Sürgün Olgularında Escherichia coli O157 : H7 Araştırılması. İnfeksiyon Dergisi, 6 (4) : 285-286, (1992).
10. **Serter D, Ertem E, Gökengin D:** Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti, İstanbul, 1. baskı, s: 250-261, (2000).
11. **VIII. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi:** Kongre Kitabı. Antalya, s: 207-209, (06-10 Ekim1997).
12. **Ural O:** Escherichia coli O157 : H7 İnfeksiyonlarının Epidemiyolojik, Mikrobiyolojik ve Klinik Özellikleri. İnfeksiyon Dergisi, 10 (1) : 97-100, (1996).
13. **Zinsser:** Microbiology. 20th Ed, California, p: 544-548, (1992).

14. **Griffin PM, Tauxe RV:** Shiga – like Toxin – Producing *E. coli* Infections, The epidemiology of Infections Caused by *E. coli* O157 : H7, Other Enterohemorrhagic *E. coli* And Associated Hemolytic Uremic Syndrome. *Epidemiologic Reviews*, 13: 61-91, (1991).
15. **Jhonson JL, Rose BE, Sharar AK, Ransom GM, Lattuada CP, Mcnamara AM:** Methods Used for Detection and Recovery of *E. coli* O157 : H7 Associated with a food-Borne Disease Outbreak. *J. Food Prot.*, 58:6, p: 597-603, (1995)
16. **Konemann EW, Allen SD, Jande WM, Schreckenber PC, Jonda WM:** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Ed, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, p: 539-576, (1997).
17. **Kaleli İ, Şengül M, Özen N, Akşit F:** Gastroenteritli Olgularda *Escherichia coli* O157' nin Araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 13 (2) : 235-238, (1999).
18. **Şen İ, Kılıç H, Sümerkan B:** Gastroenteritli Olgularda Enterohemorajik *Escherichia coli* O157 : H7 Serotipinin Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. Antalya*, s: 27-28, (1993).
19. **Erensoy S, Tokbaş A:** İnsanda Sürgün Nedeni Olan *Escherichia coli* Suşları. *İnfeksiyon Dergisi*, 6(2) : 155-159, (1992).
20. **Islam M, Doyle PM, Phatak CS, Millner P, Jiang X:** Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in Soil and on Carrots and Onions Grown in Fields Treated With Contaminated Manure Composts or İrrigation Water. *Food Microb.*, 22, p: 63-70,(2005).
21. **Crowley H, Cagney C, Sheridan J.J, Anderson W, McDowell D.A, Blair I.S, Bishop R.H, Duffy G:** Enterobacteriaceae in beef products from retail outlets in the Republic of Ireland and comparison of the presence and counts of *E. coli* O157: H7 in these products. *Food Microb.*, 22, p: 409-414, (2005).
22. **Temelli S:** Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *E. coli* O157 : H7 ve Önemi. *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* s: 133 – 138, (2002).
23. **Chapman P.A, Ashton R:** An evaluation of rapid methods for detecting *Escherichia coli* O157 on beef carcasses. *International Journal of Food Microbiology*, 87, p: 279–285, (2003).

24. **Hart T, Shears P:** Tıp Mikrobiyolojisi (Renkli Atlas), Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti, s: 80-125, (2001).
25. **Guraya R, Frank JF, Hassan AN:** Effectiveness of Salt, PH, and Diacetyl as Inhibitors for *E. coli* O157: H7 in Dairy Foods Stored at Refrigeration Temperatures. *J. Food Prot.*, 61: 9, 1098-1012, (1998).
26. **Bilgehan H:** Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, İzmir, 3. Baskı, s: 425–464, (2002).
27. **Türkmen L:** İdrar Örneklerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Değişik Antibiyotiklere Duyarlılığı. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9 (3), s: 185–189, (2002).
28. **Şencan İ, Sevinç M:** Toplum Kökenli Üropatojen *Escherichia coli* İzolatlarında Antimikrobiyal Direncin İzlemi. *Klinik Dergisi*, 15 (3), s: 85–88, (2002).
29. **Felek S:** Sistemik İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, s: 154–160, (2000).
30. **Aljaro G.C, Muniesa M, Jofre J, Blanch A.R:** Prevalence of the *stx2* Gene in Coliform Populations from Aquatic Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (6), p: 3535–3540,(2004).
31. **Salyers A. Abigail, White D. Dixie:** *Bacterial Pathogenesis*. p: 190-212, ASM Pres, (1994).
32. **March SB, Ratnam S:** Sorbitol Mc Conkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157: H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, p: 869–872, (1986).
33. **Linton M, McClements JM, Patterson MF:** Survival of *E. coli* O157: H7 during Storage in Pressure – Treated Orange Juice. *J. Food Prot.*, 62: 9, p: 1038-1040, (1999).
34. **Chapman PA, Siddons CA, Wright DJ, Norman P, Fox J, Crick E:** Cattle as a Possible Source of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157: H7 Infections In Man. *Epidemiol. Infect.*, 111, p: 439-447, (1993).
35. **Baran F, Gülmez M:** The Occurrence of *Escherichia coli* O157: H7 in the Ground Beef and Chicken Drumsticks. *Journal Food Safety*, 2, p: 13–15, (2004).

36. **Taormina PJ, Beuchat LR:** Behavior of Enterohemorrhagic E. coli O157 : H7 on Alfalfa Sprouts during the Sprouting Process as Influenced by Treatments with Various Chemicals. *J. Food Prot.*, 62:8, p: 850–856, (1999).
37. **Beuchat LR, Taormina PJ:** Comparison of Chemical Treatments to Eliminate Enterohemorajik E. coli O157: H7 on Alfalfa Seeds. *J. Food Prot.*, 62:4, p: 318-324, (1999).
38. **Bolton FJ, Chapman PA, Farthing M, Saada-Mani J, O' Brien S, Painter MJ, Salmon RL, Sebastian M, Smith HR, Trevena B, Wood MJ:** Guidelines for the Control of Infection with Verocytotoxin Producing Escherichia coli (VTEC). *Commun Dis Public Health*, 3: 14-23, (2000).
39. **Erdem B:** Enterobakterilerde Tiplendirim Yöntemleri. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı, s:92-94, (4-9 Ekim 1998).
40. **Kaddu DH, Aisu T, Gleier K, Zimmermann S, Beutin M:** Occurrence of Shiga toxin-producing Escherichia coli in Fecal Samples from Children with Diarrhea and from Healthy Zebu Cattle in Uganda. *International Journal of Food Microbiology*, p: 95-101, 66 (2001).
41. **Chapman PA, Siddons CA:** A Comparison of Immuno-magnetic Separation and Direct Culture for the Isolation of Verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 from cases of Bloody Diarrhoea, Non-Bloody Diarrhoea and asymptomatic Contacts. *The Journal of Medical Microbiology.*, p: 267-271, 44 (1996).
42. **Park CH, Vandell NM, Hixon DL:** Rapid immunoassay for detection of Escherichia coli O157 directly from stool specimens. *Journal Clin Microbiol*, p: 988-90, 34: (1996).
43. **Tolun V, Anđ-Küçüker M, Diren Ş, Anđ Ö:** Diyareli Hastalardan Alınan Dışkı Örneklerinde Verotoksijenik E. coli (VTEC)' lerin PCR Yöntemi ile Saptanması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 31: 174-177, (2002).
44. **Aksungur P. Yaman A :**Ç.Ü. Balcılı Hastanesinde Gaita örneklerinde Escherichia Coli O157 : H7 izolasyonu. *Çukurova Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 1: 20, s : 17-21, (1995).

- 45. Payne JIC, Petrovik M, Roberts RJ, Paul A, Linnane E, Walker M, Kirby D, Burgess A, Smith RM, Cheasty T, Willshaw G, Salmon RL:** Verocytotoxin – Producing Escherichia coli O157 Gastroenteritis in Farm Visitors, North Wales. Emerging Infectious Diseases, p: 526-30, May 9:5 (2003).
- 46. Teunis P, Takumi K, Shinagawa K:** Dose Response for Infection by Escherichia coli O157 : H7 from Outbreak Data. Risk Analysis, p: 401-07, 24:2 (2004).
- 47. Abbot SL, Hanson DF, Felland TD, Connel S, Shum AH, Janda MJ:** Escherichia coli O157 : H7 Generates A Unique Biochemical Profile On Microscan Conventional Gram-Negative Identification Panels, Journal of Clinical Microbiology, p: 823-824, March (1994).
- 48. Tolun V, Susever S, Yılmaz G, Küçüker MA, Anđ Ö:** İstanbul’ da Satılan Süt ve Süt Ürünlerinde Salmonella ve Verotoksijenik Escherichia coli (VTEC) Varlığının Araştırılması, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 32: 48-54, (2002).