

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇANAKKALE'DE (TÜRKİYE) TÜKETİLEN
BAZI KREMALİ PASTALARDA *Escherichia
coli* O157:H7 SEROTİPİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ebru AYVERDİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih:06/02/2012

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Başaran DÜLGER

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

EBRU AYVERDİ tarafından **DOÇ. DR. BAŞARAN DÜLGER** yönetiminde hazırlanan “**ÇANAKKALE’DE (TÜRKİYE) TÜKETİLEN BAZI KREMALİ PASTALARDA *Escherichia coli* O157:H7 SEROTİPİNİN ARAŞTIRILMASI**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Başaran DÜLGER

Danışman

Doç. Dr. Cüneyt AKI

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Alper ŞENER

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 06/02/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Ebru AYVERDİ

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Başaran DÜLGER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerinden sıkça yararlandığım, tüm aşamalarda desteğini benden esirgemeyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araş. Gör. Dr. Nurcihan HACIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Yardımları ve arkadaşlıkları sayesinde birçok aksiliğin üstesinden gelebilmemi sağlayan sevgili arkadaşlarım Gizem GENÇ ve Gülşah KAHYA'ya çok teşekkür ederim.

Çıkmaza girdiğim zamanlarda yol gösterici fikirlerini benimle paylaşarak, bana destek oldukları için ve en önemlisi de arkadaşlıkları için değerli hocam Meral ÖZCINAR EŞLİ ve değerli hocam Mehmet EŞLİ'ye çok teşekkür ederim.

Hayatımın her evresinde ve her koşulda tartışmasız bana güvenen ve destek olan, söz konusu eğitimim olduğunda her türlü fedakarlığı göstermekte bir an olsun tereddüt etmeyen ve beni her daim koşulsuz seven annem Gülgez AYVERDİ ve babam Yılmaz AYVERDİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ebru AYVERDİ

SİMGELER VE KISALTMALAR

a_w	Su aktivesi
°C	Santigrat derece
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
Dk	Dakika
DAEC	Diffuz-adhering <i>Escherichia coli</i>
EAggEC	EnteroAggregatif <i>Escherichia coli</i>
EHEC	Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
EMB	Eozin Metilen Blue
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
G	Gram
Gİ	Gastrointestinal İnfeksiyonlar
GMP	Good Manufacturing Practice (İyi Üretim Uygulamaları)
HACCP	Analysis Critical Control Point (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktalarının Belirlenmesi)
HC	Hemorajik Kolit
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
IMVIC	Indol - Metil Red - Voges Proskauer - Citrate Testleri
Kob	Koloni oluşturan birim
LSTB	Lauryl Sulphate Tryptose Broth
mDA	Mega Dalton
mL	Mililitre

MUG	4 - methyl umbelliferone glucuronide
N	Normal
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
Nm	Nanometre
PCR	Polymerase Chain Reaction – Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	Power pf Hydrogen (Asitlik - Bazlık derecesi)
SMAC	Sorbitol MacConkey Agar
STEC	Shiga - toksin üreten <i>Escherichia coli</i>
Stx	Shiga-like toxine (Shiga benzeri toksin)
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura
UV	Ultra Viyole
VT	Verotoksin
%	Yüzde işareti
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre

ÖZET

ÇANAKKALE'DE (TÜRKİYE) TÜKETİLEN BAZI KREMALİ PASTALARDA *Escherichia coli* O157:H7 SEROTİPİNİN ARAŞTIRILMASI

Ebru AYVERDİ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Doç. Dr. Başaran DÜLGER

06/02/2012, 47

Bu araştırma, Çanakkale (Türkiye) ilindeki fırın, pastane ve marketlerde tüketime sunulan kremalı pastalarda *Escherichia coli* O157:H7 serotipi varlığının tespiti için yapılmıştır. Araştırmada 100 adet sade, kakaolu ve meyveli kremalı pasta örneği incelendi. Özenginleştirme işleminin ardından SMAC (Sorbitol MacConkey) katı besiyerine yapılan ekimler sonucunda 82 adet tipik (renksiz - şeffaf) koloni izole edilmiştir. İleri mikrobiyolojik analiz basamaklarının uygulanması sonucunda, izolatların hiçbirinde *Escherichia coli* ve buna bağlı olarak *Escherichia coli* O157:H7 serotipi saptanmamıştır. Buna rağmen yapılan biyokimyasal testlerin sonuçlarına göre pastalarda muhtemel *Enterobacter* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp. ve *Citrobacter* sp. varlığına rastlanmıştır.

Sonuç olarak kremalı pastalarda *Escherichia coli* O157:H7 serotipi saptanamamıştır. Fakat uygulanan biyokimyasal test sonuçlarına dayanarak, pastalarda diğer koliform grubu üyelerine rastlanması, pastaların hijyen bakımından yetersiz olabileceği ve halk sağlığını tehdit edebileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, Kremalı pasta

ABSTRACT

THE INVESTIGATION of *Escherichia coli* O157:H7 SEROTYPE in SOME CREAM PASTRIES CONSUMED in ÇANAKKALE (TURKEY)

Ebru AYVERDİ

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology, Thesis of Master of Science

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Başaran DÜLGER

06/02/2012, 47

This research was undertaken to investigate the presence of O157:H7 serotype of *Escherichia coli* in cream pastries offered to consumption in bakeries, patisseries and supermarkets in Çanakkale. 100 samples of cream pastries with plain, cacao and fruit flavored were analysed. After the enrichment, the samples were cultivated to the SMAC (Sorbitol MacConkey) medium and 82 typical (colorless and liquid) colonies were isolated. As a result of the forward microbiological analyses, neither *Escherichia coli* nor *Escherichia coli* O157:H7 weren't detected. However the results of the biochemical tests shows that the cream pastries involved with the possible *Enterobacter* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp. and *Citrobacter* sp. strains.

In the conclusion, serotype of O157:H7 of *Escherichia coli* wasn't detected in any of cream pastries. In addition to that, depending on the biochemical tests results cream pastries involved the other group of coliform bacteria. In this respect, it could be mentioned about that the pastries might not be sanitary and this might be a threaten for the public health.

Keywords: Cream pastry, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7

İÇERİK	Sayfa
TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BELGESİ	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Pasta Hakkında Genel Bilgiler	4
2.2. <i>Escherichia coli</i> Bakterisinin Genel Özellikleri	6
2.3. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	8
2.3.1. <i>E. coli</i> O157:H7 Serotipinin Tarihçesi ve Epidemiyolojisi	8
2.3.2. <i>E. coli</i> O157:H7 Serotipinin Kaynağı ve Yayılması	11
2.3.3. <i>E. coli</i> O157:H7 Serotipinin Gelişim ve Canlılığını Etkileyen Faktörler.....	13
2.3.4. <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin Etiyolojisi	15
2.3.5. <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin Oluşturduğu Toksinler	16
2.3.6. <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin Neden Olduğu Sendromlar	17
2.3.7. <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin Kontrolü ve Önleme Yolları	18
2.3.8. <i>E.coli</i> O157:H7 Serotipinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu ..	19
2.3.9. Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Niteliği Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar	23
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Materyal	25

3.1.1. Kremalı Pasta Numuneleri	25
3.1.2. Besiyerleri	25
3.1.3. Ayıraçlar	27
3.1.4. Solüsyonlar	27
3.1.5. Kitler	27
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Kremalı Pastaların Örneklerinin Toplanması	28
3.2.2. <i>E. coli</i> İzolasyonu	28
3.2.3. <i>E. coli</i> İdentifikasyonu	28
3.2.4. Mikroskopik Analiz	29
3.2.5. Biyokimyasal Testler	29
3.2.6. Latex Aglütinasyon Testi	30
3.2.7. Fekal <i>E. coli</i> Sayımı	30
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	31
BÖLÜM 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
Çizelgeler	I
Şekiller	II
Özgeçmiş	III

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Pasta, içine katılmış türlü maddelerle özel bir tat verilmiş, fırında veya başka bir yolla pişirilerek hazırlanmış bir tür hamur tatlısı olarak tanımlanır (TDK, 2011). Çağımız insanı tarafından tüketilen ve besleyici özellikte olan bu gıda maddesi genellikle doğum günü, düğün ve yıldönümleri gibi özel günlere eşlik etmesiyle birlikte, ülkemizde de geleneksel tatlılarla rekabete girecek kadar damak tadımıza yerleşmiştir.

Kremalı pastaların uygun pH ve su aktivitesi (a_w) değerleri ve içeriğinde bulunan süt, şeker, un, krema, yumurta, nişasta, kakao gibi ürünler mikroorganizmaların üremeleri için uygun substratı sağlamaktadır. Özellikle çiğ süt ve türevi olan malzemelerin üretimde kullanılması gıda zehirlenmelerine yol açacak olan mikroorganizmaların üremesine neden olmaktadır. Süt; karbonhidrat, protein, mineral madde ve vitaminler yönünden oldukça zengin bir besin olup, bu özellikleri nedeniyle pek çok mikroorganizmanın gelişmesi için ideal bir ortamdır. Süt ve süt ürünlerinin temel maddesi olan çiğ sütün kalitesini, sağıldığı hayvanın memesinden başlamak üzere sağılma, depolama, taşıma, işleme ve ürün haline dönüşene kadar olan tüm aşamalardaki pek çok faktör etkiler (Tekinşen ve ark., 2002).

Kremalı pasta üretiminde, pastanın kek kısmı ısı işlemine (fırınlama) tabi tutulduğundan mikrobiyolojik açıdan sorun yaratmayabilir. Ancak, kullanılan kremanın işlem görmemiş süttten elde edilmesi kontaminasyona neden olmaktadır. Bir süt ürünü olan krema; sütlerin santrifüj edilmesi ya da bir süre kendi haline bırakılması ile elde edilen, koyu kıvamlı az veya çok oranda süt yağı içeren, ülkemizde genelde çiğ olarak tüketilen, kremşanti ve pasta yapımında da çiğ olarak kullanılan bir üründür (Öksüztepe ve ark., 2010).

Krema, süt ve yumurta kullanılarak yapılan pastalarda *B. cereus*, *Brucella* spp. ve *Salmonella* gibi patojen mikroorganizmalar üreyebilir. Bununla birlikte kremalı pastalarda koliform grubu bakteriler, *E. coli*, *Listeria*, *S. aureus* ve maya-küf gibi mikroorganizmalar görülebilir. Gıdalarda gelişim gösteren bu tür mikroorganizmalar insanlarda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelere neden olmaktadır (Evren, 2006).

Escherichia coli insan ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak sisteminin doğal florasının bir üyesi olarak kabul edilmektedir. *E. coli* suşları genellikle insan kalın bağırsağında bulunan zararsız kommensallerdir. Ancak bazı suşlar patojeniktirler ve belirgin diyarel sendromlara yol açarlar (Özbaş ve Aytaç, 1995).

Escherichia coli, enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvaziv (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difuz-adhering (DAEC), entero-agregativ (EA_ggEC) olmak üzere 6 ana grup altında toplanmaktadırlar (Halkman ve ark., 2001).

Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) bakterisinin O157:H7 serotipi son yıllarda ortaya çıkan en önemli gıda kaynaklı patojenlerden biridir. Kimi zaman ölümcül olmak üzere birçok gastrointestinal hastalığa neden olmakla birlikte, dünyanın her yerinde sıklıkla görülmektedir (Mabrouk, 2001).

Escherichia coli O157:H7, ilk kez 1975 yılında California’da yaşayan ağır kanamalı diyare geçiren bir kadın hastadan izole edilmiştir. Serotipin tam anlamıyla insan patojeni olarak tanımlanması, 1982 yılında ABD’nin Michigan ve Oregon eyaletlerindeki bir restaurant zincirinde, yetersiz ısı işlem görmüş kontamine hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan 2 adet gastroenterit salgınında identifiye edilmesiyle ortaya konulmuştur (Halkman ve ark., 2001; Temelli, 2002).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sığır sürülerinin önemli bir kısmının *E.coli* O157:H7 patojenini çevreye dışkıları vasıtasıyla saçtığı görülmüştür. *E. coli* O157:H7 salgınlarının çoğunluğu dışkı ile kontamine olmuş hayvansal kökenli gıdalardan ve meyve ve sebze ürünlerinden kaynaklanmaktadır. Pek çok ülkede kontamine et ve et ürünleri, fekal yollarla kirlenen içme suları ile kullanma suları, peynirler, süt ve yoğurtlara bağlı infeksiyonlar meydana geldiği bildirilmiştir (Akçamlı, 2008).

Escherichia coli O157:H7 serotipinin neden olduğu hastalıklar; tipik ve oldukça sert geçen hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP)’dir (Özbaş ve Aytaç, 1995; Halkman ve ark., 2001).

EHEC ile kontamine gıdalar için uygulanabilecek en etkili yöntem, gıdaların uygun ısıya işleme (pişirme veya pastörizasyon) tabi tutulmasıdır. Uygun pişirme ve gıdaların işlenmesi sırasındaki hijyen kurallarına uyulması gastroenterit vakalarını en aza indireyecektir. Pastörize edilmemiş süt ve meyve suları ile yetersiz pişirilmiş kıyma, et ve hamburgerlerin tüketiminden kaçınılmalıdır. Bununla beraber klorlanmamış suların içilmemesi ve gıda işlek yerlerindeki ekipmanların yüzey temizliğinde kullanılmaması gerekmektedir (Halkman ve ark., 2001; Öztelli 2004).

Türkiye’de süt ve süt ürünlerinde *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin varlığı üzerine yapılan çok az sayıda çalışma vardır (Aslantaş ve Yıldız, 2002). Ülkemizde henüz *E. coli* O157:H7 serotipinin neden olduğu bir salgın görülmemiştir. Fakat salgının görülmemesi bu serotipin ülkemizde bulunmadığının ve hastalıklara yol açmadığının ya da açmayacağına göstergesi değildir (Öztelli, 2002).

Bu çalışmanın amacı, Çanakkale ilinde satışı sunulan kremalı pastalarda *E. coli* O157:H7'nin varlığını araştırmak ve kremalı pastaların bir halk sağlığı problemi oluşturup oluşturmadığını belirlemektir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Pasta Hakkında Genel Bilgiler

Tarihte insanların ilk ekmeği yapmaları ve sonrasında onu çeşitli malzemelerle tatlandırmaları pastacılığın başlangıcı sayılıyor. Unun keşfinden hemen sonra insanlık pastayla tanışmıştır denilebilir. Ortaçağ İngilteresinden kalan yazılarda anlatılan pastalar, geleneksel anlamda bildiğimiz pastalardan farklıdır. Bunlar unla yapılmış tatlı yiyecekler olarak tanımlanırlar. İlk çağlarda, Neolitik köylerde, arkeologların bulduğu pastalar; öğütülmüş, ıslatılmış ve sıkıştırılmış tahıllardan yapılmış ve büyük ihtimale sonra sıcak taşların üzerinde pişirilmiş yiyeceklerdi. Bu pastaların günümüzdeki versiyonu, yulafli bisküvilerdir.

Yunanlılar, pastalar için “düz/flat” anlamına gelen “plakous” kelimesini kullanırlardı. Pastaları genellikle fındık ve bal karışımından yapılırdı ve “satura” adını verilen bir çeşit pastaları vardı. Romalılar döneminde, Yunanlıların “plakous” kelimesinden türeyerek, pasta “placenta” adını aldı. Romalıların “placenta”sı günümüzde yapılan cheesecake gibidir. Eski Yunanlılar ve Romalılar döneminde çok ilerlemeler kaydeden pastacılık, Roma İmparatorluğu’nun çöküşü ile büyük bir darbe olsa da; Amerika’nın keşfi ile tekrar canlılık kazanmıştır. Yeni kıtanın keşfi, Avrupa’da şeker ve kakao bolluğuna sebep olmuştur (http://www.koniks.com/topic.asp?TOPIC_ID=12303).

Bununla birlikte Fransa’dapastacıların sayısı artsa da devrin kralları ve imtiyazlı aileleri, pastacıları yalnız kendilerine pasta yapmaları için himayeleri altına almışlardır. Fransa’da pastacılığın yayılarak yeni bir çığır açması 1789’da büyük Fransız Devrimi ile olmuştur. Yalnızca kraliyet sarayında ve imtiyazlı ailelerde çalışan pastacılar işlerini kaybedince, Fransa’nın her tarafına yayılarak pasta imalathanelerini açmışlardır. Böylece bütün pasta çeşitlerini Fransa’ya yayarak halka tattırmışlardır. Bu şekilde Fransa’da modern pastacılık doğmuştur. Modern pastacılığın en büyük önderleri ise, Şef Aşçı Marie Antoine Carême, Urbain Dubols, İsviçreli Fransız Jules Gouffé olarak bilinmektedir.

18. yüzyılda, çırpılan yumurtadan yapılan pasta sayısı arttığı için, maya kullanımı düşmüştür. Çırpılan karışımlar pasta kalıplarına dökülüp yaratıcı sonuçlar üretilmiştir. Bazen de karışımların yuvarlak çemberlere dökülmesiyle çeşitli şekillerde pastalar üretmişlerdir. Bugün kullandığımız pasta kalıpları, o dönemde kullanılan yuvarlak çemberlerin gelişmesiyle üretilmiştir (<http://www.pastaciokulu.com/pastacilik/pastaciligini-gelisimi/86-fransiz-pastaciligi>).

Pastacılık sanatı öncelikli olarak Fransa olmak üzere, birçok ülkede gelişim göstermiştir. Yaratıcı şefler ve icat edilen pastacılık ürünleri sayesinde, hemen hemen her ülkenin kendine has bir mutfağı oluşmuştur. Amerika'nın doğu kıyılarında, pasta zenginliğin sembolü olarak bilinir ve ülkenin her bölgesinin kendine ait bir damak tadı vardır. İtalya, Avusturya, Almanya da tatlı ve pasta denildiğinde akla ilk gelen ülkeler arasındadır. Ülkemiz insanların damak tadı ise genellikle şerbetli tatlılara yatkın olup, pastacılık konusunda da büyük ilerleme kaydedilmiştir.

19. yüzyılda Endüstriyel Devrim sonrası, demir yollarının kurulmasıyla ve seri üretimin başlamasıyla, pasta malzemeleri daha ucuz ve kolay ulaşılabilir hale geldi. Kabartma tozu ve kabartma sodası gibi yeni mayalama malzemeleri üretildi. 1835'te günümüzde çok kullanılan, krem tartar ve sodyumkarbonatın karışımı olan kabartma tozu üretildi ve satışa sunuldu. Ünlü pasta şeflerinin buluşlarıyla birlikte pastacılık, zamanla bir mutfak sanatı olmanın yanısıra ilerleme kaydeden bir sektöre de dönüşmüştür. Kremanın keşfiyle pastacılıkta yeni bir dönem başlamıştır. Bir tür şekerli krema olan krem şanti pastalara hafif ve ağızda eriyen yumuşak bir yapı kazandırır ve pasta dekorasyonuna da büyük katkı sağlar (<http://ekimbutikpasta.com/pastaciligintarihi.html>).

Kremalı pastaların uygun pH ve su aktivitesi (a_w) değerleri ve içeriğinde bulunan süt, şeker, un, krema, yumurta, nişasta, kakao gibi ürünler mikroorganizmaların üremeleri için uygun substratı sağlamaktadır. Özellikle çiğ süt ve türevi olan malzemelerin üretimde kullanılması, gıda zehirlenmelerine yol açacak olan mikroorganizmaların üremesine neden olmaktadır. Süt; karbonhidrat, protein, mineral madde ve vitaminler yönünden oldukça zengin bir besin olup, bu özellikleri nedeniyle pek çok mikroorganizmanın gelişmesi için ideal bir ortamdır. Süt ve süt ürünlerinin temel maddesi olan çiğ sütün kalitesini, sağıldığı hayvanın memesinden başlamak üzere sağılma, depolama, taşıma, işleme ve ürün haline dönüşene kadar olan tüm aşamalardaki pek çok faktör etkiler. Kremalı pasta üretiminde, pastanın kek kısmı ısı işlemine (fırınlama) tabii tutulduğundan mikrobiyolojik açıdan sorun yaratmayabilir. Ancak, kullanılan kremanın işlem görmemiş süttten elde edilmesi kontaminasyona neden olmaktadır. Bir süt ürünü olan krema; sütlerin santrifüj edilmesi ya da bir süre kendi haline bırakılması ile elde edilen, koyu kıvamlı az veya çok oranda süt yağı içeren, ülkemizde genelde çiğ olarak tüketilen, krem şanti ve pasta yapımında da çiğ olarak kullanılan bir üründür (Öksüztepe ve ark., 2010).

Krema, süt ve yumurta kullanılarak yapılan pastalarda *B. cereus*, *Brucella* spp. ve *Salmonella* gibi patojen mikroorganizmalar üreyebilir. Bununla birlikte kremalı pastalarda

koliform grubu bakteriler, *E. coli*, *Listeria*, *S. aureus* ve maya-küf gibi mikroorganizmalar görülebilir. Gıdalarda gelişim gösteren bu tür mikroorganizmalar insanlarda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelere neden olmaktadır (Evren, 2006).

2.2. *Escherichia coli* Bakterisinin Genel Özellikleri

Escherichia coli ilk kez Dr. Theodor Escheric tarafından 1885'te tanımlanmış ve *Bacterium coli comunne* adı verilmiştir. Bakteri insan ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak sisteminin doğal florasının bir üyesi olarak kabul edilmektedir. *E. coli* suşları genellikle insan kalın bağırsağında bulunan zararsız kommensallerdir. Ancak bazı suşlar patojeniktirler ve belirgin diyarel sendromlara yol açarlar. Diyarel hastalıklara ilişkili olarak *E. coli* üzerine yapılan ilk çalışmalar, ölüm oranının % 50'lere ulaştığı 1940'larda başlamıştır (Özbaş ve Aytaç, 1995). *Escherichia coli*, normal olarak vücutta bulunan zararlı bakteri türlerini baskılaması ve vitamin sentezine katkıda bulunması nedeni ile vücut için yararlı olarak da nitelendirilebilmektedir (Anonymous, 2000).

Escherichia coli (*E. coli*), Gram negatif, Enterobacteriaceae familyası içerisindeki *Escherichia* genusuna bağlı, fakültatif anaerob, çoğunlukla hareketli (kısa ve peritrik flagellaları sayesinde), sporsuz, çubuk morfolojisinde; 0,4-0,7 µm eninde ve 2-6 µm boyunda, bazı suşları kapsüllü, asidorezistans özellikte olmayan bir bakteridir (Temelli, 2002; Erol, 2007).

Suşların yaklaşık % 95'ini içeren *E. coli* biyotip I, indol ve metil red pozitif, Voges proskauer ve sitrat negatiftir. Buna karşın suşların yaklaşık % 5'ini içeren *E. coli* biyotip II'de bu reaksiyonlardan (IMVEC) indol de negatiftir (Erol, 2007).

Suda canlılığını sürdürebilmesinden dolayı fekal bulaşmanın ve *S. typhi* gibi enterik patojenlerin muhtemel varlığına işaret (indikatör) eder (Erol, 2007).

Kauffmann'ın modifiye edilmiş *E. coli* sınıflandırması şemasına göre; *E. coli*, O (somatik), H (flagella) ve K (kapsül) yüzey antijenlerine bağlı olarak serotiplendirilmiştir. O ve H antijenleri özel olarak birleşerek izolatın serotipini oluşturur. Günümüzde her biri bir serogrubu temsil eden 170 farklı O antijeni tanımlanmıştır (Nataro ve ark., 1998). *E. coli*'de O1-O171 arasında gösterilen 165 somatik O antijeni, K1-K90 arasında gösterilen 90 kapsül K antijeni ve H1 - H56 arasında gösterilen 56 flagella H antijeni saptanmıştır. En son çalışmalara göre bugün; 174 O, 56 H ve 80 K antijeni olduğu saptanmıştır (Akçamlı, 2008).

Bugün insanlarda diyareye neden olan *E. coli* serotipleri virulans özellikleri, patojenite mekanizması, klinik sendromları, epidemiyolojilerindeki farklılıklar ve O:H serogruplarına göre başlıca; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvaziv (EIEC),

enterohemorajik (EHEC), difuz-adhering (DAEC), entero-agregativ (EAggEC) olmak üzere 6 ana grup altında toplanmaktadırlar (Halkman ve ark., 2001; Ünlütürk ve Turantaş, 2003).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC): Daha çok yeni doğanlarda ve 2 yaşın altındaki çocuklarda diyareye neden olur, 1 yaşın altındaki çocuklarda görülen diyarelerin yaklaşık % 30'unu oluşturmaktadır. Yetişkinlerin çoğu da bu etkeni taşımakla birlikte, immum sistemlerinin güçlü olması nedeniyle semptomları göstermezler. Akut sulu diyare, bulantı ve düşük dereceli ateş EPEC infeksiyonlarında görülen en yaygın semptomlardır (Erol, 2007). Bazı EPEC suşları bir ya da daha çok verositotoksin üretirler. Sulu ve kanlı bir dışkı ile görülen ishaller neden olurlar (Halkman ve ark., 2001).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): Isıya duyarlı (LT) ve ısıya dirençli (ST) toksin oluşturan ETEC, gelişmekte olan ülkelerde biri çocuk ishali, diğeri turist ishali olmak üzere iki önemli klinik sendromla ilişkilendirilmektedir (Erol, 2007). Bu suşlar bağırsağa tutunma ve kolonizasyon için özel bir yapışma fimbriyası içerirler. Genellikle düşük bir ateşe neden olabilirler ya da ateş görülmez. Sulu bir diyareye neden olurlar ve tipik gastroenteritis etmenidirler. Turist ishali (seyahat diyaresi) olarak tanımlanan hastalıklara ve özellikle sıcak mevsimlerde bebek ishallerine neden olurlar. Bu bakterilerin hastalığa neden olabilmesi için çok sayıda bakterinin vücuda girmesi gerekir. Bir diğeri deyiş ile bunlarda enfektif doz yüksektir (Halkman ve ark., 2001).

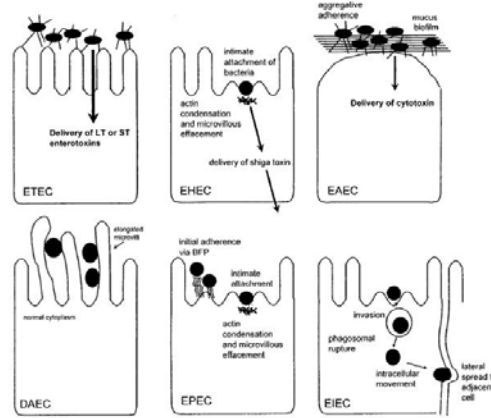
Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC): İnsan ve hayvanlarda dizanteri benzeri invaziv diyareye neden olur. EIEC infeksiyonlarında hastalığın seyri *Shigella dysantheriae*'nin yumuşak seyirli formu ile büyük benzerlik gösterir (Erol, 2007). EIEC suşları ise genellikle laktoz negatif ya da laktoz geç pozitif ile hareketsiz olma gibi atipik özellikler taşırlar ve *Shigella* türleri ile antijenik olarak yakınlık gösterirler. Diğeri enterovirulent tiplerden farklı olarak invaziv özellik taşırlar ve fekal lökositlere rastlanır. Mukoid ve kanlı bir dışkı görülür. Ateş yüksektir. Bu gruba giren bakterilerde enfektif doz düşüktür (Halkman ve ark., 2001).

Difuz-adhering *E. coli* (DAEC): Daha önceden EPEC grubunda yer alan ve Hep-2 hücre modeline göre diffuz adhesyon ile karakterize edilen diğeri grup DAEC olarak adlandırılmıştır. Bunlar da çocuklarda süreklilik gösteren diyareye neden olurlar (Halkman ve ark., 2001). DAEC'e bağlı ishaller, infant çağından daha büyük çocuklarda etken olarak saptandığından, bu durum büyük olasılıkla yaş bağımlı duyarlılıktan kaynaklanmaktadır (Topçu ve ark., 2008).

Entero-Agregativ *E. coli* (EAggEC): Tropik ülkelerde çocuklarda süreklilik gösteren diyareye neden olurlar. EAggEC'lerin % 50'sinde virulans faktör olarak ısıya dirençli enterotoksin (EASTI) bulunmuştur (Ünsal, 2007). EAEC, epitelyum hücrelerine iki farklı

fenotipik özellikte, diffüz ve agregatif fenotip sergileyerek adhere olur. Hep-2 hücrelerine kümeler oluşturacak şekilde agregasyon gösterir (Topçu ve ark., 2008).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): Diyareye neden *E. coli* serotipleri içinde en önemlileri *E. coli* O157:H7 ve O126:H11 serotipleridir. Her iki bakteri de EHEC grubu içinde yer almakta ve benzer hastalıkları yapmakla beraber O126:H11 serotipine gıdalarda rastlanmamıştır (Halkman ve ark., 2001). Hemorajik kolitis (HC), Hemorajik üremik sendrom (HUS) ve Trombotik trombositopenik purpura (TTP) EHEC' in başlıca klinik belirtileridir. EHEC'in virulensi çok yüksek ve minimal infeksiyon dozu çok düşüktür. Ruminantların gastrointestinal kanalları O157:H7 serotipinin önemli rezervuarıdır. İnfeksiyon başta kıyım, hamburger gibi sığır ve diğer ruminantlardan sağlanan ve yeterince pişirilmeyen kontamine gıdalardan kaynaklanmaktadır (Doyle, 1991; Erol, 2007).



Şekil 2.1. Diyarejenik *E. coli* suşlarının patogenezi (Nataro ve Kaper, 1998)

2.3. *Escherichia coli* O157:H7

2.3.1. *E. coli* O157:H7 Serotipinin Tarihiçesi ve Epidemiyolojisi

E. coli O157:H7 ilk kez 1975 yılında ağır kanamalı diyare geçiren California'lı bir kadın hastadan izole edilmiştir. Bakterinin önemli bir gıda patojeni olarak tanımlanması ise 1982 yılında Oregon (26 vaka) ve Michigan (21 vaka)'da kanamalı kolit olarak seyreden iki salgında hastalığa neden olan etken olarak bulunması ile gerçekleşmiştir. Salgının yetersiz ısıtım işlem görmüş hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklandığı bilinmektedir. Hastalardan ve şüpheli gıdalardan izole edilen izolatların EIEC gibi invaziv olmadığı, ETEC gibi enterotoksin üretmedikleri belirlenmiştir. Meydana getirdiği hastalık bakımından EPEC'ten farklı olduğu saptanmış ve bu nedenle gastrointestinal *E. coli*'nin 4. bir grubu olan

enterohemorajik EHEC olarak tanımlanmıştır (Özbaş ve Aytaç, 1995; Coşansu ve Ayhan, 2000).

Griffin ve Tauxe'ye (1991) göre *E. coli* O157:H7 muhtemelen enteropatojenik bir atadan genetik çalışmalar sırasında oldukça yakın bir dönemde ortaya çıkmış ve bir kaza sonucu doğaya salınmıştır (Coşansu ve Ayhan, 2000).

E. coli O157:H7; gram negatif, gıda güvenliğini tehdit eden, zoonotik ve gerektiğinde bioterörizm için kullanılabilme veya ihmaliinde biyolojik teröre neden olma özelliğinde bir bakteridir. İlk kez Kuzey Amerika'da görülmekle beraber, günümüzde 6 kıtada ve en az 16 ülkede giderek artan sayıda vakalara rastlandığı, genelde Mayıs-Ekim aylarında ve kışın vaka sayısında artış olduğu gözlemlenmiştir. 1982 ile 1992 yılları arasında ABD'de 17 salgın görülmüştür. İskoçya'da 1996-97'da bu bakteri yüzünden 21 kişi hayatını kaybetmiştir (Halkman ve ark., 2001; Akçamlı, 2008).

1993'te, Washington, İdoha, Nevada ve California eyaletlerindeki, fast food restaurantlarda yetersiz pişirilmiş hamburgerlerin tüketiminden kaynaklanan, toplam 732 kişinin etkilendiği, bunlardan 195'inin tedaviye ihtiyaç duyduğu, 4 çocuğun da öldüğü salgından sonra, *E. coli* O157:H7'den kaynaklanan gıda zehirlenmeleri daha büyük bir önem kazanmıştır (Temelli, 2002).

ABD'de meydana gelen 68 *E. coli* O157: H7 salgın vakası kaynağının, % 32,4'ünü sığır kıyması, % 2,9'unu kızarmış sığır eti, % 2,9'nun ise çiğ sütlerden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Colorado'da 1997 yılının yazında *E. coli* O157: H7 enfeksiyonları riski nedeniyle yaklaşık olarak 25 milyon poundluk dondurulmuş et ve ürünü piyasadan çekilmiştir (Ünsal, 2007).

Diyarejenik *E. coli* türlerinin (DEC) neden olduğu gıda kaynaklı hastalıkların klinik, halk sağlığı ve ekonomik önemi vardır. Sadece *E. coli* O157:H7 serotipinin neden olduğu hastalıkların tedavi giderleri ve işgücü kaybı bedelinin yılda 229-610 milyon Amerikan doları tahmin edilmektedir. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) tahminlerine göre sadece ABD'de gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar toplamı olarak yılda 76 milyon vaka olmakta, bunlardan 300.000'i tedavi görürken 5000 ölümle sonuçlanmakta, *E. coli* O157:H7 ise 20.000 vaka ve 250 ölümden sorumlu tutulmaktadır. ABD'de hastalığın sıklığı her 100.000 kişide 2,1 kişi iken, bu değer Kanada'da 1991-1996 yılları arasında 3 - 5, 3 kişi olarak değişmiştir (Akçamlı, 2008; Çiçek 2008).

E. coli O157:H7 serotipinin izole edildiği yıl (1975) Kanada Ottawa'da evde yapılan sandviçlerin de salgına neden olduğu bildirilmiştir. Benzer vakalar ABD, Kanada ve İngiltere'de görülmüş, daha sonra Meksika, Çin, Arjantin, Belçika gibi ülkelerde de aynı

hastalığa rastlanmış; 1996 yaz aylarında ise Japonya’da 16 kişinin ölümüne neden olan salgının etkeni *E. coli* O157:H7 olarak bildirilmiştir (Akçamlı, 2008).

E. coli O157:H7 enfeksiyonları gençlerde daha etkilidir. Japonya’da yapılan araştırmalarda gençlerin ve çocukların *E. coli* O157:H7 serotipine duyarlılığı açık 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 bu semptomları göstermemiştir (Erol, 2007; Akçamlı, 2008).

Çizelge 2.1. *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin epidemiyolojisi (Doyle, 1991; Özbaş ve Aytaç, 1995; Erol, 2007)

Yıl	Yer	Vaka Sayısı	Hastalık Kaynağı
1982	Oregon	26	Sığır eti
1982	Michigan	21	Sığır eti
1982	Ontario	31	Sığır eti, İnsan - insan
1984	Nebraska	34	Sığır eti
1984	Kuzey Carolina	36	İnsan - insan
1985	Ontario	73	Jambon, hindi, peynirli sandviç, insan – insan
1985	İngiltere	24	Patates
1986	Ontario	46	Çiğ süt
1986	Alberto	16	Sığır eti
1986	Washington	37	Sığır eti
1987	İngiltere	26	Hindili sandviç
1987	Utah	51	Sığır eti
1988	Minnesota	30	Sığır eti
1990	Missouri	240	İçme suyu
1991	ABD	21	Göl suyu
1991	ABD	18	Taze elma suyu
1991	İngiltere	16	Yoğurt
1994	İngiltere	En az 70	Pastörize süt
1996	Japonya	>5499	Çimlendirilmiş Alfa-alfa

Çizelge 2.1’de belirtilen salgınlara ek olarak 2011 yılı Mayıs ayında Almanya’da meydana gelen EHEC salgına neden olan serotipin O104:H4 olduğu saptanmıştır. Salgında 3816 hastanın, 845’inde HUS görüldüğü ve 54 kişinin de hayatını kaybettiği bildirilmiştir. (Frank ve ark., 2011). Hastalık kaynağının enfekte sebze filizleri olduğu saptanmıştır.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention)’nin verilerine göre, aynı yıl Aralık ayında ABD’nin Arizona (1), Arkansas (2), Georgia (1), Illinois (9), Indiana (2), Kansas (3), Kentucky (1), Minnesota (3), Missouri (37), and Nebraska (1) eyaletlerinde meydana gelen *E. coli* O157:H7 salgınında 60 kişi enfekte olmuştur. Bu salgının kaynağının ise marul olduğu bildirilmiştir.

2.3.2. *E. coli* O157:H7 Serotipinin Kaynağı ve Yayılması

Literatürlerde *E. coli* O157:H7 serotipinin kaynağına yönelik farklı bilgiler yer almaktadır. Bu patojenin başlıca kaynağının daha çok genç sığırlar olmak üzere koyun, keçi, geyik, kuzu, tavuk, domuz, kedi, köpek ve martılar olduğu bildirilmektedir (Temelli, 2002). Bunun nedeni ise, bu bakteriden kaynaklanan birçok salgında etkenin, sığır eti ve et ürünleri ile çiğ sütlerin olmasıdır (Ünsal, 2007).

Patojen bakterilerin evrimi üzerinde çalışmalar yoğun şekilde sürmektedir. *Escherichia*, *Salmonella* ve *Shigella* türleri üzerinde yapılan genetik analizler *E. coli* O157:H7 serotipinin bireysel bir patojen olmadığı, bunun enterik bir bakteriden evrimleştiği şeklindeki teori oldukça benimsenmiştir. 16S rRNA ve 5S rRNA dizilişleri ile yapılan filogenetik araştırmalar *Escherichia* spp. ve *Salmonella* spp.’nin memeli hayvanların ilk türeyişi olan 120-160 milyon yıl önce ortak bir atadan ayrıldıkları, *Shigella* spp.’nin erken primatların olduğu 80 milyon yıl kadar önce *E. coli* bakterisinden türediği, kommensal *E. coli* suşlarının memelilerin bağırsağını tercih ederken, patojen *E. coli* suşlarının barsak epitelini aşır dolaşım sistemine ve buradan uygun bulunduğu yerlere lokalize oldukları kabul edilmektedir (Park ve ark., 1999).

Çeşitli araştırma sonuçları bu bakterinin başta süt inekleri olmak üzere sıcakkanlı hayvanlar olarak tanımlanan memeli ve kanatlı hayvanların dışkıları ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısı ile tüm çevreye yayıldığını göstermiştir (Halkman ve ark., 2001).

Deneysel olarak 25 adet *E. coli* O157: H7 verilen civcivlerin inokülasyondan 8 ay sonrasına kadar dışkıları ile bu bakteriyi attıklarının belirlenmesi üzerine önce bu bakterinin kaynağının kanatlılar olduğu düşünülmeye rağmen daha sonra 50 tavuk çiftliğinde 500 tavuk dışkısı üzerinde yapılan araştırmada bu bakteriye rastlanılmaması kanatlıların bu açıdan potansiyel kaynak olmadığını göstermiştir (Doyle, 1997; Halkman ve ark., 2001).

Sığırlar semptom göstermeksizin hastalık etkenlerini taşırlar ve dışkıları ile çevreye bulaştırırlar. Değişik ülkelerde yapılan taramalarda süt sığırlarının % 3,2'sinin, besi sığırlarının % 1,6'sının *E. coli* O157:H7 içerdiği saptanmıştır. Sığırların normal bağırsak mikroflorasının bir parçası olan *E. coli* O157:H7 miktarı sığırların yaşıyla da değişim göstermektedir. Genç sığırların yaşlı sığırlardan daha fazla taşıyıcı oldukları saptanmıştır. Çiftlik ve sürü bazında yapılan çalışmalarda etken, su ve yemlerden de izole edilmiştir. Etkenin sığırlardaki insidansı sıcak yaz aylarında daha yüksektir (Erol, 2007; Çiçek, 2008).

E. coli O157, göçmen kuşların sindirim florasında da bulunduğundan uzak bölgelere kolayca yayılabilen bir bakteridir. Nitekim bu özellikleri sayesinde doğadaki doğal dönüşümünü her zaman korumaktadır. *E. coli* O157 serotipinin prevalansı; coğrafi bölge, mevsim, hayvanın türü, yaşı ve cinsiyeti, beslenme şekli gibi birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Sığırlar, koyunlara ve mısır silajıyla beslenen hayvanlar beslenmeyenlere göre daha yüksek bir kontaminasyon göstermektedir. Modern çiftliklerde beslenen süt ineklerinin dışkılarında daha az rastlanılmaktadır. Ayrıca kesim yapılan mezbananın hijyenik şartları ve çalışma koşulları, kesim sonrası etin işlenmesi ve son tüketim safhasına kadar olan tüm aşamalarda hijyen kurallarına GMP (Good Manufacture Practise) titizlikle uyulmaması tüm tabloyu olumsuz etkilemektedir (Alişarlı ve Akman, 2004; Akçamlı, 2008).

Epidemiyolojik çalışmalar *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarının önemli bir bölümünün hamburger gibi yetersiz pişirilmiş sığır kıyması ya da kıyma bazlı gıdalar ile daha az olarak da çiğ süt tüketiminden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Bu nedenle çiğ gıda tüketiminin önlenmesi ve gıdaların yeterince pişirilmeleri infeksiyon riskini büyük ölçüde ortadan kaldıracaktır (Erol, 2007).

Son yıllarda yapılan çalışmalar sığır dışındaki hayvanlardan elde edilen gıdalar ve dışkı ile kontamine bazı bitkisel gıdaların da infeksiyonun insanlara geçmesinde muhtemel vektörler arasında yer aldığını göstermiştir. Bu çerçevede domuz, koyun, keçi ve kanatlı hayvan etleri ile elma suyu (sığır dışkısı ile kontamine ve pastörize edilmemiş), marul, alfa alfa benzeri çiğ olarak tüketilen diğer bazı bitkisel gıdalar ve özellikle klorlanmamış yüzey suları örnek olarak verilebilir. Sebze, salata, patates, salata yapımında kullanılan diğer yeşil sebzeler (marul) ve suyun kontamine olmasında tarımsal alanların ruminant dışkısıyla gübrelenmesi veya çapraz kontaminasyonlar büyük rol oynar (Erol, 2007).

Özellikle çiğ sütün ve çiğ süt ile yapılan peynir, tereyağı gibi ürünlerin tüketilmesi infeksiyonlara neden olmaktadır. Çoğunlukla restaurantlarda meyve ve sebzelerin kros-kontaminasyonu sonucu *E. coli* O157:H7 salgınları çıktığı belirtilmektedir (Çiçek, 2008).

Literatürlere geçen su kaynaklı en büyük O157:H7 salgını 1990-1995 yılları arasında Kanada'da gerçekleşmiştir. Bu salgının sonucunda 7000'in üstünde vaka görülmüş ve 7 kişi hayatını kaybetmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda aşırı yağışlar sonucunda yağmur suyuyla birlikte hayvan dışkısının içme suyu şebekesine karıştığı ve klorlamanın da yetersiz kalması sonucu bu salgının patlak verdiği tespit edilmiştir (Öztelli, 2004).

Epidemiyolojik olarak insanlara geçiş, direkt olarak meslekle ilgili hayvanla temas şeklinde, indirekt olarak dışkı ve atıklarla kontamine olmuş gıdaların, içme ve halka açık yüzme havuzu olarak kullanılan suların alınması durumunda olabilmektedir. Bununla beraber çiğ ya da yetersiz pişirilmiş gıdaların hazırlanması sırasında temas edilen araçlar veya eller vasıtasıyla oluşabilen kros kontaminasyonlar ile ve en önemlisi kişiden kişiye temas (oral-fekal yolla) aracılığıyla da olmaktadır (Temelli, 2002).

2.3.3. *E. coli* O157:H7 Serotipinin Gelişim ve Canlılığını Etkileyen Faktörler

Sıcaklık

E. coli O157:H7 serotipi de diğer *E. coli*'ler gibi optimum olarak 37 °C'da gelişir. *E. coli* O157:H7 serotipinin gelişmesi üzerine yapılan çalışmaların çoğu bu serotipin izolasyon çalışmalarına yöneliktir (Halkman ve ark., 2001). Bakterinin 7- 10°C'lerden 50°C'lere kadar geniş bir aralıkta gelişebildiği, optimum üreme ısısının 37°C olduğu bildirilmektedir (Temelli, 2002).

E. coli O157:H7 30-42°C'ler arasında ürerken, 44-45°C'de oldukça yavaş gelişir. Minimal üreme sıcaklığı 6°C'dir. Etken ısıya duyarlıdır ve bu nedenle termal inaktivasyon korunmada en etkili yöntemdir. *E. coli* O157:H7 57,2, 60, 62,8 ve 64,3°C'lerde sırasıyla 270, 45, 24 ve 9,6 saniyede elimine edilebilir. Pastörizasyon işlemi (72°C, 15 s) 10⁴ kob/ml düzeyindeki O157:H7'nin inaktivasyonu için yeterlidir. Diğer taraftan *E. coli* O157:H7 - 20°C'de donmuş muhafaza edilen kıymalarda canlılığını korur (Erol, 2007).

pH

E. coli O157:H7'nin, pH 4,5 – 9,0 ve pH 4,4'ün altındaki asidik gıdalarda geliştiği ortaya konulmuştur (Temelli, 2002; Erol, 2007). Bakterinin aside adaptasyonu ve depolama ısısındaki canlılığının araştırıldığı bir çalışmada, ketçap ve hardal örnekleri, *E. coli* O157:H7 serotipinin 3 farklı suşu ile 105 kob/g seviyesinde kontamine edilerek, 5 ve 23°C'lerde pH 5,0'de depolanmış; hardal örneklerinden farklı olarak ketçapta, asit adaptasyonunun, bakterinin suşlarına ve depolama ısalarına bağlı olarak canlılığı arttırdığı ve suşların 5°C'de 23°C'den daha uzun süre canlı kaldığı tespit edilmiştir (Temelli, 2002; Akçamlı, 2008).

Yapılan bir başka çalışmada *E.coli* O157:H7 serotipinin mayonez, elma sirkesi, peynir, yoğurt, et ürünleri gibi düşük pH değerlerine (≤ 4.5) sahip fermente gıdalarda bile canlılığını belli bir süre koruduğu bildirilmiştir (Temelli, 2002; Erol, 2007).

Çeşitli araştırmalar gıda kaynaklı hemorajik kolit vakalarında anahtar rol oynayan *E. coli* O157:H7 serotipinin aside dirençli olduğunu ve bu toleransının midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesini sağladığını göstermiştir. Bu bakterinin aside direnci insanlarda enfeksiyon dozunun çok düşük olmasını etkileyen bir faktör olarak kabul edilmektedir. *Salmonella*'nın tersine olarak 1-2 pH olan insan midesinde yaklaşık 3 saat süren sindirim sırasında canlı kalabilmesi ve buradan bağırsağa geçmesi bu ilişkiyi açıklamaktadır (Halkman ve ark., 2001).

İşlenmiş ve korunmuş gıdalarda bulunan organik asitler, özellikle asidik gıdalarda *E. coli* O157:H7 serotipinin aside adapte olmasını ve daha sonra normalde organizmayı inaktive etmesi gereken pH düzeylerini tolere etmesine neden olabilmektedir (Coşansu ve Ayhan, 2000).

E. coli O157:H7 üzerine bazı organik asitlerin baskılayıcı etkileri asetik>laktik>sitrik asit sıralaması şeklindedir. Organik asitlerin (ör: % 2'lik asetik asit) karkas yüzeyine püskürtme yöntemiyle uygulanması ancak düşük düzeyde etkili olmaktadır. Etkenin gelişimi % 8,5'lik tuz konsantrasyonu ile baskılanmaktadır (Erol, 2007).

Su Aktivitesi

Bütün gıdalar su ihtiva eder ve gıdalardaki biyolojik ve kimyasal değişikliklerden kaynaklanan bozulmaların sebebinin yüksek miktarda su ihtiva etmesi olduğu genel bir kanıdır. Su aktivitesi, a_w , gıda ürünlerinde suyun yapısal ve kimyasal olarak ne kadar sıkı bağlandığının ölçülmesidir. Su aktivitesi ise mikrobiyolojik gelişme ve enzim aktivitesi açısından su miktarını en iyi açıklayan kriterdir. Gerek gıdanın işlenmesi gerekse depolanması sırasında a_w içeriğinin kontrolü bu nedenle önemlidir. Aynı toplam rutubete sahip gıdada yağ (suyu tutmayan), karbonhidrat ve protein (suyu tutan) gibi bileşenlerin değişmesi su aktivitesini önemli ölçüde değiştirir (http://www.betalab.com.tr/u_g_01.html).

E. coli O157:H7 serotipinin optimum su aktivitesi (a_w) 0,98 olarak saptanmıştır. Bu değer 0,95'in altına düşerse etkenin üremesinin engellendiği bildirilmiştir (Halkman ve ark., 2001; Ünsal, 2007). Fermente ürüne uygulanan kurutma işlemi *E. coli* O157:H7 üzerinde inhibisyon etkisi gösterecektir. Glass ve ark., (1992), 21 günlük kurutma sonunda nem/protein oranı 1,6:1 olan fermente sosiste *E. coli* O157:H7 sayısının $4,6 \times 10^4$ adet/g'dan $1,3 \times 10^3$ adet/g'a düşüğünü; buna karşın 18 günlük kurutma işleminden sonra nem/protein

oranı 1,9:1 olan fermente sosiste $4,9 \times 10^4$ adet/g'dan $1,3 \times 10^4$ 'e düştüğünü saptamışlardır (Coşansu ve Ayhan, 2000).

Tuz (NaCl) Konsantrasyonu

E. coli O157:H7'nin aside kayda değer ölçüde yüksek bir direnç göstermediği ve % 6,5 NaCl içeren TS broth besiyerinde gelişemediği belirtilmektedir (Halkman ve ark., 2001). Deneysel amaçlı üretilen Cheddar peynirinin yapım aşamalarında, bakterinin canlı kalabilmesinin, fermentasyona dayanıklılığına, depolama sıcaklığına (4°C) ve düşük tuz konsantrasyonuna (yaklaşık % 3,5) bağlı olduğu ifade edilmektedir (Temelli, 2002).

NaCl konsantrasyonu yükseldikçe *E. coli* O157:H7 üzerindeki inhibisyon etki de artmaktadır. Mısır'a özgü taze sosise ilave edilen % 2 ve % 3 NaCl, inokülasyondan hemen sonra patojenin sayısında 0,6 ve 0,9 log birimi azalma meydana getirmiş; 8 saatlik inkübasyon sonrasında ise % 2 NaCl içeriğinde 2,8 log adet/g ve % 3 NaCl içeriğinde 3,3 log adet/g fark bulunmuştur (Coşansu ve Ayhan, 2000)

İnkübasyon derecesi ve tuz oranının *E. coli* O157: H7 serotipinin gelişimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; etkenin 7°C'de % 6 NaCl içeren TSB besiyerinde birinci gün üreme gösterdiği, 38. günde ise üremenin görülmediği tespit edilmiştir (Conner, 1992).

Antibiyotik Duyarlılık Özellikleri

E. coli O157: H7 serotipinin sefalotin ve kolistin'e karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir (Ünsal, 2007).

Tedavi amacı ile antibiyotiklerin kullanılması tartışmalıdır. Prospektif yapılan iki çalışmada antibiyotiklerin HUS gelişimini azalttığı gösterilirken, retrospektif çalışmalarda ise antibiyotik kullanımının HUS gelişme riskini artırdığı bildirilmiştir. Ancak retrospektif çalışmalarda elde edilen bu verinin, antibiyotiklerin özellikle HUS gelişme riski daha yüksek olan hastalarda kullanılmış olmasından dolayı geniş prospektif çalışmalarla desteklenmeye ihtiyacı vardır. Antibiyotik kullanımının potansiyel olarak riskli olması, HUS gelişmesini artırması ile ilgili olarak iki mekanizma öne sürülmüştür; 1- Bakterinin lizisi ile toksinlerin daha fazla açığa çıkması 2- İntrakolonik diğer bakterilerin de antibiyotiklerle ölmesi sonucu toksinin sistemik emiliminin artması. Antibiyotik kullanımı ne kadar tartışmalı olsa da antimotilitik ajanların kullanımından özellikle kaçınılması gereklidir (Topçu ve ark., 2008).

2.3.4. *E.coli* O157:H7 Serotipinin Etiyolojisi

E. coli O157:H7 serotipi, sorbitolü fermente edememesi, β-glucuronidase

(uidA) enzimine sahip olmaması, buna karşın eae genine sahip olması, 60 mDa (pO157) plasmid taşınması (Dunn, 2003) ve yaygın olarak görülmeyen 5000-8000 Dalton moleküler ağırlıkta OMP ekspresyonu, 44-45°C ve üzerindeki sıcaklıklarda gelişmemesi (Kim ve ark., 2005) ve enterohemolizin üretimi ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılır (Erol, 2007; Akçamlı, 2008).

E. coli bakterisinin florojenik MUG belirteci, uidA geni tarafından kodlanan β -glucuronidase enziminin aktivitesine bağlıdır. EHEC *E. coli* O157:H7 serotipinde de bu genin varlığı gösterilmiş olmakla beraber, yapılan sekans analizleri bu serotipte uidA geninde birkaç baz mutasyonu olduğunu göstermiştir. Bu nedenle *E. coli* O157:H7 serotipinde diğer *E. coli*'lerde tipik olan MUG reaksiyonu negatiftir (Nataro ve Kaper, 1998; Halkman ve ark., 2001).

MUG negatif *E. coli* O157 izolatlarının verositotoksin pozitif olduğu söylenebilir. Bir çalışmada 188 *E. coli* O157 serotipinin MUG ve verositotoksin testleri yapılmış, bunlardan 155 *E. coli* O157:H7, 10 *E. coli* O157:H⁻ ve 1 *E. coli* O157:H (rough) olmak üzere 166 adedi MUG negatif ve verositotoksin pozitif iken, diğer 22 izolat (2 O157:H⁻, 1 O157:H, 19 diğer H tipleri; H6, H16, H19, H25, H42, H45) MUG pozitif ve verositotoksin negatif olarak bulunmuştur (Noveir ve Halkman, 2000; Halkman ve ark., 2001).

E. coli dışında β -glucuronidase pozitif suşların *E. coli* analizlerinde sahte pozitif reaksiyon vermesi indol testi ile önlenir. β -glucuronidase pozitif 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 ışını ile fluoresan veren tüplere kovacs ayırıcı damlatılarak indol testi yapılır, fluoresan pozitif ve indol pozitif tüpler *E. coli* olarak değerlendirilir. Bu yöntemde toplam analiz süresi 37°C'de 24(gerekirse 48) saat inkübasyon süresi ile fluoresan ve indol testleri için gereken birkaç dakikalık süre toplamıdır. Sıvı besiyerlerinde genel olarak 18-24 saat sonunda gelişme olduğu dikkate alınırsa analiz süresi oldukça kısadır. Fluoresan kontrolü için mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunan uzun dalga boylu UV lambaları ile her zaman tatmin edici sonuç alınamamaktadır. 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 asitlikfluoresan ışımaya maskeler. Bu gibi durumlarda besiyerine 1 ml 1 N NaOH ilavesi ile fluoresan reaksiyon kesinleştirilir. *E. coli* O157:H7 serotipinde MUG, H₂S oluşturma, Voges-Proskauer, sorbitol testleri negatif, laktoz ve glikozdan gaz oluşturma, indol, Metil Red,

hareket ve lizin dekarboksilaz (LD) testleri ise pozitifdir (Koreman ve ark., 1997; Kehl, 2002; Sarı, 2008).

2.3.5. *E.coli* O157:H7 Serotipinin Oluşturduğu Toksinler

ETEC suşlarının patojenitesinde ısıya dirençli (ST) ve ısıya duyarlı (LT) iki enterotoksin rol oynar. Bu enterotoksinlerin etkisiyle, bağırsağa bol sıvı elektrolit salgılanması sonucu ishal gelişir. Shiga-like toxin (SLT) veya verotoksin (VT) olarak da bilinen Stx, *Shigella dysenteriae* tip 1'in ürettiği shiga toksinle benzerliğinden dolayı bu ismi alır (Dunn, 2003). Shigatoksinler Vero hücre kültürlerine sitotoksik etkili olduğundan verotoksinler (Vt1 ve Vt2) olarak da adlandırılmaktadır (Çiçek, 2008).

VT1 moleküler ağırlığı 29.000-30.000 olan A ve moleküler ağırlığı 5.000-6.000 arasında olan B alt ünitelerinden oluşmuştur ve izoelektrik noktası 7.03'tür. VT1 saflaştırılmış ve sınıflandırılmış olmasına rağmen, hastalık oluşturma yolu tam olarak saptanamamıştır. Yapılan çalışmalar toksinin A alt ünitesinin, 60S'lik ribozom alt ünitesini yıkıma uğratarak protein sentezini inhibe ettiğini göstermektedir. B alt ünitesi de toksine bağlanarak hücre yüzeyine tutunmak için reseptör oluşturur (Weeratna ve Doyle, 1991).

Patojenik mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen; HC, HUS ve TTP sendromları sırasında meydana gelen diyareden sorumlu olduğu saptanmıştır. HC (Hemorajik kolit)'nin, stx intestinal boşluğa salındığı zaman ortaya çıktığı ve mukozal yüzeye apoptik hasar verdiği saptanmıştır. HUS/TTP ise stx'in kan dolaşımına karışıp vasküler endotelial hücrelere, özellikle böbrek hücrelerine, hasar verdiği bilinmektedir (Dunn, 2003).

Stx 1 *S. dysenteriae* tip I toksininden 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). Shiga toksijenik *E. coli* (STEC) bu toksinlerin birini veya her ikisini de üretebilir. Ciddi klinik semptomlar daha çok Stx 2 üreten *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarında görülmektedir. Özellikle HUS vakalarında izole edilen toksin Stx 2'dir (Dunn, 2003; Çiçek, 2008).

Stx, intimin (EHEC ve EPEC'te diğer virulens faktörlerine bağlanma proteini) ve enterohemolizinin primer virulens faktörler olduğu düşünülmektedir. Üzerinde en çok çalışma yapılan ve iyi tanımlanan yapılar bunlardır. Diğer hemoliziner, intestinal bağlanma faktörleri ve O157 lipopolisakkaritleri de STEC'in patogenezinde eşit ölçüde önemli olabilir (Dunn, 2003).

EHEC tarafından oluşturulan bu toksinler doku kültürü analizleri ile belirlenir. Bununla beraber, EHEC suşlarındaki SLT varlığını belirleyebilecek şekilde DNA prob ve PCR analizleri geliştirilmiştir (Halkman ve ark., 2001).

2.3.6. *E.coli* O157:H7 Serotipinin Neden Olduğu Sendromlar

E. coli O157:H7 serotipinin neden olduğu hastalığın üç belirgin klinik göstergesi; hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olduğu bilinmektedir (Özbaş ve Aytaç, 1995; Erol, 2007). *E. coli* O157: H7 enfeksiyonlarında minimal enfeksiyon dozu (MID) 10-100 kob/g gibi çok düşük değerdedir (Ünsal, 2007). Hastalık dizanteri ve invazif *E. coli* vakalarından düşük ateş ve kanlı ishal görülmesi ile ayrılmaktadır (Mabrouk, 2001).

Hemorajik Kolit (HC)

İlk belirtileri karın krampları ve kanlı diyaredir. Hemorajik kolit, aniden ortaya çıkar kramplı karın ağrılarıyla başlar ve 24 saat içinde sulu diyare ile devam eder. Diyare sırasında görülen kan artar ve dışkı zamanla tümüyle kan olur (Öztelli, 2004). Ateşin olmaması en belirgin klinik bulgudur. Hastalık genelde 2-9 gün içinde kendiliğinden iyileşir (Ünsal, 2007).

Hemolitik Üremik Sendrom (HUS)

İlk kez 1955 yılında tanımlanan hemolitik üremik sendrom (HUS) en fazla ölüme neden olan hastalıktır. Ölüm oranı çocuklarda %10, yaşlılarda bu oran %50 olarak bildirilmiştir. Çocuklarda akut böbrek yetmezliğinin en önemli nedenidir (Çiçek, 2008).

Hastalığın patogenezinin endotelial hücrelerini hasara uğratan ve pıhtılaşma mekanizmasını bozan toksinle ilgili olduğu, mikrotrombusların böbrek veya diğer organlardaki kılcal damarları tıkayarak kanda artık ürünlerin birikimine yol açtığı bildirilmiştir (Ünsal, 2007). Kan pıhtılarının böbrekteki helezoni tüpleri tıkaması ve artık ürünlerin kanda birikmesi sonucu diyaliz tedavisi ve kan naklini gerektirecek böbrek yetmezliği oluşur (Çiçek, 2008).

HUS genellikle hemorajik kolit oluşuktan 7 gün sonra oluşur ve tanı konduğunda dışkı kültürlerinde mikroorganizma bulunmayabilir. HUS genellikle bağırsak veya solunum sistemi hastalıklarından birkaç hafta sonra oluşan bir sendromdur (Öztelli, 2004).

HUS hastalarında akut renal yetmezlik, trombositopeni ve mikroanjipatik hemolitik anemiye takiben diyare görülür. % 5-10'a varan ölümler görülebilir (Dunn, 2003).

Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)

Klinik belirtileri HUS'a benzemekle birlikte farklı olarak TTP'de Merkezi Sinir Sistemi de etkilenmekte ve beyinde oluşan kan pıhtıları nedeniyle ölüm oranı yüksektir (Dunn, 2003; Ünsal, 2007; Çiçek, 2008).

Bu temel klinik bulgular dışında *E. coli* O157:H7 ile infekte insanlarda gözlenen diğer komplikasyonlar ise hemorajik sistit, konvülsiyonlar, sepsis ve anemi şeklindedir (Ünsal, 2007). TTP'de ateş ve beyinde hasara sebep olan semptomları da görülür (Erol, 2007).

2.3.7. *E.coli* O157:H7 Serotipinin Kontrolü ve Önleme Yolları

E. coli O157:H7 serotipinin rezervuarı başta sığırlar olmak üzere ruminantların GI kanallarıdır. Bu nedenle çiftlikten tüketiciye kadar olan tüm aşamalarda gerekli önlemlerin alınması *E. coli* O157:H7 kontrolünde vazgeçilmez öneme sahiptir. Et ve süt üretiminden yararlanılan hayvanlar içerisinde *E. coli* O157:H7 taşıyıcısı olanlar bir program dahilinde takip edilmelidir (Erol, 2007).

Hijyenik kesim uygulamaları ile karkasın dışı ile kontaminasyon riski azaltılabilmektedir. Ayrıca koruyucu önlem olarak, etin kesim sonrası hızla 7°C'nin altında sütün ise 5°C ve altında soğutulması gerekmektedir. Aynı şekilde meme ve sağım hijyenine de özen gösterilmelidir. (Temelli, 2002; Erol, 2007).

Çiftliklerde, besin işleme yerlerinde, kreş ve bakım evlerinde çalışan personelin; hijyenik besin sağlama teknikleri, çiğ ve pişmiş besinlerden kaynaklanabilen direkt ve indirekt kontaminasyonlarla birlikte personel hijyen konusunda eğitilmesi, bakterinin insanlara geçişini minimuma indirgenmesinde çok önem taşımaktadır (Temelli, 2002).

Enfeksiyonun yayılmasını engellemek için özellikle çocukların; tuvalet sonrasında, yemek öncesinde, çiftlik hayvanları ve çiğ besinlere temastan sonra ellerini sabunla uygun şekilde yıkaması sağlanmalıdır (Temelli, 2002).

Klorlanmamış suların içilmemesi veya besin işlem yerlerindeki ekipmanların yüzey temizliğinde kullanılmaması, klor veya diğer etkili dezenfektanların uygulandığı suların tüketilmesi gerekmektedir (Temelli, 2002).

Genel olarak hayvansal gıda üretiminde GMP ve HACCP'nin uygulanması, riskli gıdaların tüketimi öncesi yeterince pişirilmesi, *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının kontrolünde önemli noktaları oluşturmaktadır (Erol, 2007).

Kıyma ve benzeri çiğ gıdalar tüketilmeden önce iyice (en az 60°C) pişirilmelidir. Taze meyve ve sebzeler tüketilmeden önce iyice yıkanmalıdır. Sığırların kullandığı göllerde ve işlem görmemiş yüzey içme sularında yüzülmemelidir (Erol, 2007).

2.3.8. *E. coli* O157:H7 Serotipinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

E. coli O157:H7 serotipinin çeşitli gıda, klinik ve çevre örneklerinde aranmasına yönelik olarak kısaca klasik ve gelişmiş olarak 2 ana grupta toplanabilecek çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Klasik yöntemler ile gelişmiş yöntemler kıyaslandığında klasik yöntemler sarf malzemesi gideri açısından avantajlı ancak, iş gücü maliyeti, analizin duyarlılığı ve süre açısından dezavantajlıdır (Halkman ve ark., 2001).

Klasik Yöntemler

STEC O157:H7 serotipinin düşük dozlarının saptanabilmesi önemlidir. Çünkü düşük dozda bile insanda hastalığa neden olabilmektedir. Bu nedenle mikrobiyolojik çalışmalarda miktarının belirlenmesinden çok, varlık/yokluk analizlerine ağırlık verilir (Dunn, 2003).

Buna göre materyalde *E. coli* O157:H7'nin varlığının gösterilmesi sırasıyla seçici bir sıvı besiyerinde zenginleştirme, seçici ve ayırt edici bir katı besiyerine ekim, şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve/veya lateks agglutinasyon testleri ile *E. coli* O157 olarak belirlenmesi ve en son olarak izolatın H7 antijeni içerip içermediğinin belirlenmesidir. *E. coli* O157 olduğu saptanan izolatların verotoksin analizlerinin de yapılması gerekmektedir (Halkman ve ark., 2001).

Klasik yöntemlerle *E. coli* O157:H7 izolasyonunda yoğun refakatçı flora varlığına bağlı olarak sıklıkla sahte negatif sonuçlar alınabilmektedir. Benzer şekilde analiz edilen diğer mikroorganizmalarda da olduğu gibi, seçici zenginleştirme ortamı olarak kullanılan besiyerinde *E. coli* O157:H7 serotipi ile aynı düzeyde gelişebilen *E. coli* tip 1, *Citr. freundii*, *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei* gibi yakın akraba türler seçici katı besiyerinde de rahatlıkla gelişebilmekte ve eğer başlangıçta *E. coli* O157:H7 sayısı bu flora içinde yeterli bir oranda değil ise bu bakterilerin baskılaması nedeni ile analiz sonucu hatalı olarak negatif alınmaktadır. Klasik yöntemlerle yapılan analizlerde yakın akraba refakatçı floranın inhibisyonu üzerinde pek çok çalışma yapılmaktadır. Bunların inhibisyonu için yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığı, düşük pH, çeşitli antibiyotiklerin kullanılması, kısa inkübasyon süresi gibi faktörler araştırılmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

E. coli O157:H7 serotipinin klasik yöntemlerle belirlenmesi amacı ile kullanılan seçici besiyerleri içinde modifiye EC (mEC) broth, modifiye trypticase soy (mTS) broth, LST broth, EZ coli zenginleştirme besiyeri ve özellikle kümes hayvanları ile yapılan analizlerde önerilen piliç ekstrakt broth bulunmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

Seçici katı besiyeri olarak bugün en yaygın kullanılan sorbitol MacConkey (SMAC) agar ve bu besiyerinin çeşitli modifikasyonlarıdır. Bu besiyerinin standart MacConkey agardan farkı, bileşiminde laktoz yerine sorbitol bulunmasıdır. *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitol negatif olduğu için bu besiyerinde renksiz koloniler oluşturmakta, buna karşı

sorbitolu kullanan bakterilerin oluşturduğu asitlik bir pH indikatörü yardımı ile kolonilerin kırmızı görülmesine neden olmakta, böylece *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitol pozitif bakterilerden ayırt edilmektedir. Her sorbitol negatif *E. coli* suşu O157:H7 serotipi olarak değerlendirilmemeli, basit olarak MUG testi ile izolatanın *E. coli* tip 1 olup olmadığı kontrol edilmelidir.

SMAC agar besiyeri çeşitli seçici katkıları ile desteklenmekte ve böylece besiyerine refakatçi floranın daha yüksek düzeyde baskılanmasını sağlayacak seçicilik kazandırılmaya çalışılmaktadır. Bu katkıları arasında antiserum, 5-brom-4-klor-3-indoksil- β -D-glukuronik asit sikloheksil amonyum tuzu; BCIG, sefiksim ve tellürit, ramnoz ve sefiksim ve MUG çeşitli araştırmalarda denenmiştir. Bunlar arasında yeni bir sefalosporin olan sefiksim sorbitol negatif olan *Proteus spp.*'nin inhibisyonu için önemlidir. SMAC dışında, phenol red sorbitol (PRS) + MUG agar, L-EMB agar, hemorrhagic colitis (HC) agar, enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) agar, BCM O157 agar, CHROMagar O157, modifiye edilmiş EMB (mEMB) agar, Fluorocult *E. coli* O157 agar, standart enterik agar ve purple agar base + %1 sorbitol besiyeri kombinasyonu besiyerleri de çeşitli denemelerde kullanılmıştır (Halkman ve ark., 2001).

Klasik yöntemle *E. coli* O157:H7 aranmasında son aşama seçici katı besiyerinden izole edilen şüpheli kolonilerin tanımlanmasıdır. Bu tanımlama O157 serotipi için biyokimyasal testler ile yapılabileceği gibi doğrudan lateks agglutinasyon testi ile de yapılabilmekte, ancak O157 olduğu belirlenen izolatanın H7 olup olmadığı H7 antiserumu ile belirlenebilmektedir. Buna göre *E. coli* O157:H7 serotipinde MUG, hidrojen sülfür oluşturma, Voges-Proskauer, sorbitol testleri negatif, laktoz, glikozdan gaz oluşturma, indol, metil red, hareket ve lisin dekarboksilaz testleri ise pozitifdir. Aynı biyokimyasal test sonuçlarını veren diğer bakteriler *Kluyvera ascorbata* ve *Kluyvera cryocrescens* olmakla beraber bu türler rutin gıda kontrollerinde seçici zenginleştirme ve seçici katı besiyerine geçme aşamalarında inhibe olmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

E. coli O157 suşlarının serolojik esaslarla belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan lateks agglutinasyon kiti 2 adet lateks solüsyonu içermektedir. Bunlardan test solüsyonu *E. coli* O157 antijenine spesifik tavşan antikoları ile sensitize edilmiş lateks partiküllerinden oluşmaktadır. Kontrol solüsyonu ise pre-immun halde tavşan globulinleri içermektedir. Test edilecek kültürler SMAC agar üzerinde geliştirildikten sonra, sorbitol negatif koloniler, lateks testine tabi tutularak test sonucu 1 dakika içerisinde tespit edilebilmektedir (Halkman ve ark., 2001).

Gelişmiş ve Hızlı Testler

Klasik yöntemlerle birçok infeksiyon teşhis edilebilmekte ise de bunlar bazen yetersiz kalabilmekte ve özellikle refakatçi floranın baskılaması nedeniyle çoğu kez yanıltıcı sonuçlar alınabilmektedir. Bu nedenle giderek gelişen analiz teknikleri içerisinde başta DNA esaslı testler ve immunoenzimatik yöntemler olmak üzere çeşitli analiz yöntemleri üzerine çalışılmakta, bunların bir kısmı ticari olarak üretilip pazarlanmaktadır. Bu yöntemlere son zamanlarda yeni serolojik metotlar, özellikle, immunoassay, radioimmunoassay (RIA), fluorescent immunoassay (FIA), enzim immunoassay (EIA), immün peroksidaz testleri vs. katılarak bakterilerin belirlenmesinde daha güvenli ve erken sonuçlar alınmaktadır. Ancak, bu testler pahalı olduğu gibi yetişmiş personele ve iyi donatılmış laboratuvarlara gereksinim duymaktadır. Bu kadar duyarlı olmalarına karşı, bazı olgularda da yine çapraz reaksiyonlar ve şüpheli durumlar ortaya çıkmakta ve tanı gecikmektedir. İmmunolojik belirleme ve identifikasyon sistemleri analiz süresinde kayda değer bir kısalma sağlamaktadır. Bunlar arasında latex agglutinasyon, ELISA, koloni immunblot analizleri, direkt immunofloresan filtre ve immün yakalama teknikleri *E. coli* O157:H7 analizlerinde kullanılmaktadır (Halkman ve ark., 2001). *E. coli* O157:H7 tespitinde kullanılan bir çok serolojik ve biyokimyasal yöntem O, H antijeni veya Stx belirlenmesi esasına dayanmaktadır ve bu amaçla spesifik monoklonal ve poliklonal antiserumlar geliştirilmiştir (Dunn 2003; Çiçek 2008).

ELISA yöntemi O157 ve H7 antijenini teşhis için monoklonal antikorların (MAb) kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Özellikle fekal örneklerde ELISA ve gıda numunelerinde “sandwich” ELISA yönteminin güvenilir ve hızlı sonuçlar verdiği belirtilmektedir. IMS sistemi manyetik bir aparatla O157 antijenine kovalent bağlanarak gelişen bir bakteriyel yakalama sistemi olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde monoklonal antikorlarla kaplanmış manyetik tanecikler kullanılmaktadır. Bu antikorlar bakteriye bağlayarak onların sayımını mümkün kılmaktadır. IMS yönteminin klinik örneklerde, gıda numunelerinde ve sığır fekal örneklerinde klasik yöntemlere oranla çok daha duyarlı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca uygulanmasının benzer yöntemlere oranla basit olması artı bir özellik olarak gösterilmektedir (Çiçek, 2008).

USDA-FSIS (ABD Tarım Bakanlığı Gıda Güvenliği ve Kontrolü Şubesi) etlerden *E. coli* O157:H7 izolasyonu için geliştirdiği yöntem 3M petrifilm *E. coli* petrilere ve poliklonal O157 antikor ile immünolojik boyama esasına dayanmaktadır. Zenginleştirme kültürünün çeşitli dilüsyonları petri film petrilere ekilmekte, oluşan koloniler doğrudan temas ile nitroselüloz kağıtlara alınmakta, buradaki immün pozitif koloni beneklerine uyan petri film petrilindeki koloniler ve zenginleştirme kültüründen bu kez SMAC-BCIG agara ekim

yapılmakta, şüpheli koloniler EMB agar ile PRS-MUG agar besiyerlerine sürülmekte, tipik *E. coli* O157:H7 kolonileri lateks aglütinasyon testine alınmakta, ayrıca biyokimyasal ve serolojik olarak doğrulanmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

Günümüzde *E. coli* O157:H7 belirlenmesinde multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği de sıklıkla kullanılmaktadır. PCR, DNA'nın ortamda polimeraz enzimi ve DNA sentezi için uygun maddeler bulunması halinde karşıt sıralarını sentezleyebilme yeteneğinden faydalanılarak oluşturulan bir reaksiyondur. DNA ve RNA dizilerinin sayısal olarak artırılması esasına dayanan PCR'in en önemli özelliği seçilmiş bir DNA dizisini çoğaltarak istenmeyen dizilerin ortaya çıkmasını engellemesidir. Bu özellik sadece dizinin tanınmasını kolaylaştırmakla kalmaz, ayrıca DNA'nın analiz edilmesini de sağlamaktadır. PCR ile virulans faktör genleri teşhis edilebilmekte ve böylece serotip tanımlanabilmektedir. O veya H antijeni, Stx genleri, 60 Mda plazmid gibi virülans faktörleri tespit edilerek *E. coli* O157:H7 serotipi belirlenmektedir. PCR tekniğinin de *E. coli* O157:H7 serotipinin diğer *E. coli* serotiplerinden ve diğer Gram negatif bakterilerden ayrılmasında duyarlı ve hızlı bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Çiçek, 2008).

2.3.9. Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Niteliği Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar

Özer ve ark. (1968) araştırmalarında, inceledikleri 45 kremalı pasta örneğinden 43'ünde (% 93,33) koliform grubu bakteri tespit etmişlerdir. En az 0/g, en çok 38.000/g olmak üzere ortalama 2.800/g düzeyinde bulunduğunu belirtmişlerdir.

Erol ve ark. (1996) inceledikleri kremalı pasta örneklerinde ortalama 10^3 kob/g enterobakter, 10^1 - 10^2 kob/g koliform bakteri ve 10^3 - 10^4 oranında enterokok grubu bakteri saptamışlardır.

Akgün ve ark. (1997), 30 adet kremalı pasta örneği üzerindeki araştırmaları sonucu 1 adet pastada bulunmamak üzere diğer 29 örnekte koliform sayısının $1,0 \times 10^2$ kob/g ile $2,2 \times 10^6$ kob/g arasında değiştiğini; örneklerin %70'inde *E. coli* bulunmadığını, *E. coli* saptanan 9 örnekte de sayılarının $1,06 \times 10^3$ kob/g - $9,0 \times 10^5$ kob/g düzeyinde olduğunu saptamışlardır.

Doğan ve ark. (2001), 84 adet pasta örneği üzerinde yaptıkları araştırmalarda ortalama koliform bakteri sayısını $1,3 \times 10^4$ EMS/g, fekal koliform sayısını $4,4 \times 10^3$ EMS/g ve *E. coli* sayısını ise $2,7 \times 10^3$ EMS/g olarak bulmuşlardır.

Alişarlı ve ark. (2002), 100 adet puding türü tatlı ve 75 adet kremalı pasta örneğinde yaptıkları araştırmada, kremalı pastaların pudinglere nazaran mikrobiyolojik kalitelerinin oldukça düşük olduğunu saptamışlardır. Kremalı pasta örneklerinde enterobakteriler % 93

oranında belirlenirken. 32 (% 43) örnekte bakteri düzeyi 10^5 - 10^7 kob/g olarak saptamışlardır.

Alışarlı ve ark. (2003), kremalı pastalarda *Staphylococcus aureus* şuşunun gelişmesi ve enterotoksin oluşturma özellikleriyle ilgili yaptıkları araştırmada pastaların krema kısmında $1,2 \times 10^2$ kob/g enterobakter grubu mikroorganizma bulunduğunu belirtmişlerdir.

Gümüş ve ark. (2005), mikrobiyolojik analizlerini yaptıkları 120 adet yaş pasta örneğinden 3 adet (% 5) meyveli pastada koliforma rastlamazken, diğer 57 örnekte (% 95) 10^2 kob/g ile 8×10^4 kob/g arasında değişen ve ortalama $1,55 \times 10^4$ kob/g değerinde koliform bakteri tespit etmişlerdir. Çikolatalı pastaların da 6 adetinde (% 10) koliform bakteri bulamayıp, geriye kalan 54 örnekte (% 90) $6,1 \times 10^1$ kob/g ile 8×10^4 kob/g arasında değişen ve ortalama $6,16 \times 10^3$ kob/g değerinde koliform bakteri saptamışlardır.

Evren (2006), Samsun'daki pastanelerden temin ettiği 34 pasta örneği üzerindeki incelemesinde, 17 adet kakaolu kremalı pastada ortalama $7,6 \times 10^3$ kob/g koliform grubu bakteri ve ortalama $1,1 \times 10^3$ kob/g *E. coli*; geriye kalan 17 adet meyveli kremalı pastada ise ortalama $1,1 \times 10^4$ kob/g koliform grubu bakteri ve ortalama $2,0 \times 10^3$ kob/g *E. coli* saptamıştır.

Öksüztepe ve ark. (2010), inceledikleri kremalı pasta örneklerinden CT-SMAC besiyerine yaptıkları ekim sonucunda sadece kremalı pastalardan 65 örnekten 138, kakaolu kremalı pastalardan 8 örnekten 25, meyveli kremalı pastalardan 19 örnekten 45 adet tipik koloni (renksiz-şeffaf) elde etmişlerdir. Bu kolonilere uygulanan diğer basamakların sonucunda hiçbir örnekte *E. coli* O157:H7 saptanmamıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kremalı Pasta Numuneleri

Çalışmanın materyalini oluşturan kremalı pasta örnekleri, Çanakkale ilindeki pastane, fırın ve marketlerden temin edilmiş olup; toplamda 100 adet sade kremalı, çikolata kremalı ve meyve kremalı pasta örneği incelenmiştir. Alınan numuneler steril kaplarda laboratuvara getirilmiş ve aynı gün incelenmiştir.

3.1.2. Besiyerleri

Besiyeri 1. Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS)

Kazein enzim hidrolizati	10 g
Sodyum klorür	5,0 g
Disodyum hidrojen fosfat 12H ₂ O	9,0 g
Monopotasyum hidrojen fosfat	1,5 g

Besiyeri 1 karışımın pH'sı 7,2 - 7,4'e ayarlandıktan sonra her bir deney tüpüne 9 mL eklendi. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

Besiyeri 2. MUG içeren Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSTB)

Kazein enzim hidrolizati	20 g
Laktoz	5,0 g
Sodyum klorür	5,0 g
Dipotasyum fosfat	2,75 g
Monopotasyum fosfat	2,75 g
Sodyum lauril sülfat	0,10 g
4 – metilumbelliferil β – D – glukoronid (MUG)	0,05 g

Besiyeri çift güçlü olarak hazırlandı. Karışımın pH'sı 6,8 – 7,0'ye ayarlanıp durham tüplü her bir deney tüpüne 9 mL eklendi. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

Besiyeri 3. Nutrient Broth, pH 6,9 w/o NaCl (NB)

Peptic digest of animal tissue	5,0 g
--------------------------------	-------

Beef extract	3,0 g
--------------	-------

Besiyeri 3 karışımın pH'sı 7,4 – 7,6'ya ayarlanıp her bir deney tüpüne 5 mL eklendi. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

Besiyeri 4. Sorbitol MacConkey Agar (SMAC)

Peptic digest of animal tissue	17,0 g
Proteoz pepton	3,0 g
Sorbitol	10,0 g
Safra tuzu	1,5 g
Sodyum klorür	5,0 g
Nötral red	0,03 g
Kristal viyole	0,001 g
Agar	13,50 g

Besiyeri 4 karışımın pH'sı 7,1 - 7,3'e ayarlanıp 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra 10 cm çapındaki petri kutularına döküldü ve kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

Besiyeri 5. MR –VP Medium (Buffered Glucose Broth) (Glucose Phosphate Broth)

Tamponlanmış pepton	7,0 g
Dekstroz	5,0 g
Dipotasyum fosfat	5,0 g

Besiyeri 5 karışımın pH'sı 7,5 – 7,7'ye ayarlanıp her bir deney tüpüne 5 ml eklendi. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

Besiyeri 6. Simmons Citrate Agar

Magnezyum sülfat	0,20 g
Amonyum dihidrojen fosfat	1,0 g
Dipotasyum fosfat	1,0 g
Sodyum sitrat	2,0 g
Sodyum klorür	5,0 g

Brom timol mavisi	0,08 g
Agar	15,0 g

Besiyeri 7 karışımın pH'sı 7,0 – 7,2'ye ayarlanıp ağzı kapaklı deney tüplerine 10 mL eklendi. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

3.1.3. Ayıraçlar

Ayıraç 1. İndol Test Ayıracı (Kovacs)

β – dimetilaminobenzaldehit	10 g
Izoamil alkol	150 mL
HCl (konsantre)	50 mL

Ayıraç 2. Metil Red Ayıracı

Metil kırmızısı	0,050 g
Etil alkol (%95'lik)	150 mL
Distile su	100 mL

Ayıraç 3. Voges Proskauer Test Ayıracı

Alfa naftol	5,0 g
Absolut etil alkol	100 mL
Distile su	100 mL
Potasyum hidroksit	10,0 g

3.1.4. Solüsyonlar

Peptonlu Fizyolojik Su

Pepton	1,0 g
NaCl	85 g
Distile su	1000 mL

Karışımın pH'sı 6,8 – 7,0'ye ayarlanıp deney tüplerine 9 mL eklendi. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı (Bridson, 1988).

Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)

NaCl

Distile su

3.1.5. Kitler

E. coli O157:H7 Latex Test Kiti

Test Latex

Kontrol Latex

Pozitif Kontrol Süspansiyon

Negatif Kontrol Süspansiyon

Reaksiyon Kartları

3.2. Yöntem

3.2.1. Kremalı Pastaların Örneklerinin Toplanması

Farklı noktalardan (fırın, pastane ve marketler), periyodik olarak alınan 100 adet kremalı pasta örneği steril kaplar içerisinde muhafaza edilerek incelemenin yapılacağı laboratuvara getirilmiştir. *E. coli* izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla her pasta örneğinden steril koşullarda 25'er gram alındı. Hata payını en aza indirmek ve mikrobiyolojik analizlerin güvenilirliğini artırmak için her pasta örneğine çift analiz uygulandı (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

3.2.2. *E. coli* İzolasyonu

İzolasyon amacıyla alınan 25'er gramlık kremalı pasta numuneleri ilk olarak ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu. Bunun için, içerisinde 225 mL TPS bulunan stomacher torbasına 25 g pasta örnekleri eklendi. Kullanılan numuneye ait isimlendirme bilgileri torba üzerine yazıldı. Pasta örneklerinin parçalanıp iyice homojen hale gelmesi için stomacher'da 2 dakika homojenize edildi. Daha sonra numune 37°C'de 1 - 3 saat inkübasyona bırakıldı. Bu işlemin ardından ön zenginleştirme besiyerinden 1 mL alınarak 9 mL'lik peptonlu fizyolojik su çözeltisi içeren deney tüpüne aktararak ana dilüsyon elde edildi. Daha sonra 10⁻³ basamağına kadar numunelerin diğer dilüsyonları hazırlandı. Dilüsyonların yapılması sırasında her aktarımda yeni pipet ucu kullanıldı (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

Hazırlanan her bir dilüsyondan 1'er mL MUG içeren LSTB bulunan 3 tüpe ekim yapıldı. Tüpler 37°C'de, 24 - 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda bulanıklık ve durham tüplerinde gaz oluşumu gösteren her bir tüp uzun dalga boyunda UV lamba (Vilber Lourmat, 6 w – 365 nm tube 12 watt, V02 9309, France) altında floresan oluşumu (mavi röfle) yönünden incelendi (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

3.2.3. *E. coli* İdentifikasyonu

E. coli identifikasyonu amacıyla MUG içeren LSTP tüplerinin her bir dilüsyonundan (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) bir öze dolusu alınarak, SMAC agara yayma plak metodu ile paralel ekimler yapıldı. Ekim yapılan petriyerler 37°C’de, 24 – 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası sorbitol (-) olan olan renksiz koloniler NB’a aktarılarak 37°C’de 18 saat inkübe edildi. NB’ta üreme gözlenen tüplere mikroskopik muayene yapıldı (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

3.2.4. Mikroskopik Analiz

Morfolojik yapısı ve hareket özelliğini ortaya koymak amacıyla NB’taki üremelerden hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendi. Bu amaçla, etkenin morfolojik yapısı Gram boyama metodu ile saptanırken; hareketli olup olmadığı hareket muayenesi yapılarak tespit edildi (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

Gram Boyama Metodu: NB’tan bir öze dolusu kültür alıp, önceden alkol ile temizlenmiş bir lam üzerine yayıldı. Preparat havada kurutulduktan sonra üç kez alevden geçirilerek tespit işlemi gerçekleştirildi. Preparat kristal moru çözeltisi ile 2 -3 dk boyandı. Boya dökülerek distile su ile yıkandı. Ardından 1 -2 dk iyot çözeltisi ile muamele edildi. Tekrar distile suyla yıkama işleminin ardından, preparatın üzerine alkol çözeltisi damlatılarak dekolorizasyon basamağı gerçekleştirildi. distile su ile yıkanan preparat, 30 saniye safranin çözeltisi ile boyandı. Preparat distile su ile yıkandı ve kurutulmaya bırakıldı. Kurumasının ardından preparat immersiyon objektifinde incelendi (Bilgehan, 1996).

Hareket Muayenesi: Lam - lamel arası muayene yönteminden yararlanıldı. NB’tan bir öze dolusu kültür alınıp temiz bir lam üzerine süspanse edildi. Lam üzerine lamel kapatıldı ve preparat immersiyon objektifinde incelendi (Bilgehan, 1996).

3.2.5. Biyokimyasal Testler

Mikroorganizmaların identifikasyonunda IMVIC testlerinden yararlanıldı. IMVIC testi; indol, metil red, voges proskauer ve sitrat testleri olmak üzere 4 aşamadan oluşmaktadır (Baran ve Gülmez,2001).

İndol Testi: İzole edilen saf kültürden Tryptone Water besiyerine ekim yapıldı. 37°C’de 24 – 48 saatlik inkübasyon sonunda, tüplere 0,5 mL Kovacs indol ayırıcı eklendi. Birkaç saniye içerisinde besiyeri yüzeyinde kırmızı halkanın oluşumu pozitif (+), sarı - kahverengi halka oluşumu ise negatif (-) olarak değerlendirildi (Benner, 1984).

Metil Red-Voges Proskauer (MRVP) Testi: İzole edilen bakterinin saf kültüründen 5 mL’lik MRVP Broth besiyerine inokülasyon yapıldı ve 37°C’de 48 - 72 saatlik inkübasyona bırakıldı. MR testi için, inkübasyon sonunda tüpe birkaç damla metil red

indikatörü eklendi ve besiyerindeki kırmızı renk oluşum pozitif, sarı – turuncu renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi. VP testi için ise ekim yapılmış olan MRVP Broth içerisine 1 mL % 40’lık potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ve 3 mL % 5’lik alfa naftol çözeltisi eklendi. Besiyerinde meydana gelen pembe – kırmızı renk pozitif, sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi (Benner, 1984).

Sitrat Testi: Yatık hazırlanmış Simmons Citrate Agar’a genç kültürden ekim yapıldı ve tüpler 37°C’de 24 – 48 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda mavi renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (Benner, 1984).

3.2.6. Latex Aglutinasyon Testi

SMAC besiyerindeki renksiz kolonilerden elde edilen saf kültürlerin IMVIC testi sonuçlarına göre, hiç *Escherichia coli* türüne rastlanmadığından ve Latex test kiti sadece *E. coli* O157:H7 serotipini tanımlamak üzere tasarlandığı için bu aşamaya geçilmemiştir.

Çizelge 3.1. *Escherichia coli* türlerinin IMVIC testine verdikleri yanıt

<i>Escherichia coli</i>	İndol	Metil Red	Voges Proskauer	Citrate
Tip I	+	+	-	-
Tip II	-	+	-	-

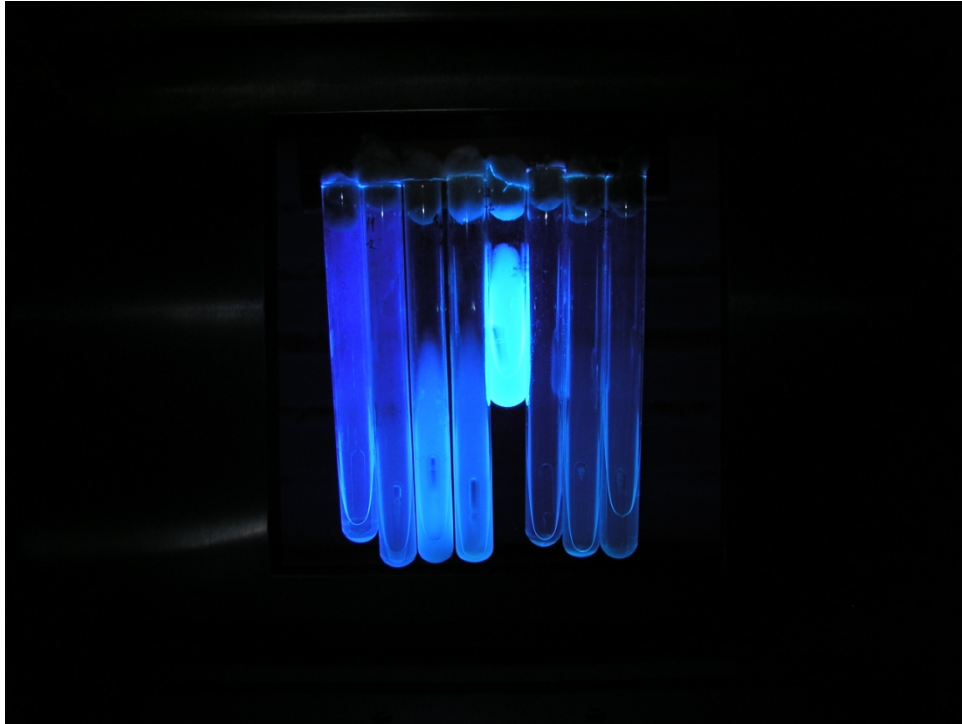
3.2.7. Fekal *E. coli* Sayımı

Kremalı pasta numunelerinin her birinden MUG içeren LSTB tüplerine ekim yapılarak 37°C’de 24 - 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüplerde meydana gelen bulanıklık ve gaz oluşumu ile birlikte, UV lamba altında yapılan muayenede mavi röfle veren tüplerde fekal *E. coli*’nin varlığı saptandı (Sarı, 2008; Karaca, 2011).

BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**

Çanakkale ilindeki fırın, pastane ve marketlerde tüketime sunulan kremalı pastalarda *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin varlığının araştırıldığı bu çalışmanın sonucunda aşağıda belirtilen bulgulara ulaşılmıştır.

Kremalı pastaların MUG içeren LSTB besiyerindeki üremelerine yönelik bulgular Çizelge 4.1’de verilmiştir. 100 adet kremalı pasta örneğinden MUG içeren LSTB’a yapılan ekimler sonucunda, her bir numunenin 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} ’lük seyreltmelerinde üremenin olduğu ve buna bağlı olarak bulanıklık ve gaz oluşumunun gerçekleştiği gözlenmiştir. Pozitif sonuç alınan bu tüplerin UV lamba altında incelenmeleri sonucunda, 21 tüpte mavi röfle oluşumu gözlenirken, diğer 79 tüpün UV lamba altında floresan bir ışımaya yapmadığı saptanmıştır. MUG içeren LSTB besiyerinde mavi röfle oluşumu Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. MUG içeren LSTB besiyerinde mavi röfle oluşumu

E. coli O157:H7 β - glucuronidase enzimine sahip olmadığından içeriğinde MUG bulunan besiyerlerinde floresan yansıma vermez. UV lamba altında yapılan incelemelerin ardından, bu tüplerden selektif bir besiyeri olan SMAC agara ekimler yapılmıştır. SMAC agar, MacConkey agarın içeriğine sorbitol eklenmesiyle oluşturulmuş modifiye bir besiyeridir. *E. coli* O157:H7 diğer *E. coli*’lerden farklı olarak sorbitolü fermente edemez ve

bunun sonucunda SMAC agar yüzeyinde renksiz koloniler oluşturur. SMAG agarda renksiz koloni oluşumu Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 SMAC agarda oluşan renksiz koloniler

MUG içeren LSTB’tan SMAC agara yapılan ekimler sonucunda 82 adet tipik renksiz koloni izole edilmiştir. MUG içeren LSTB’un UV lamba altında yapılan inceleme sonuçları ve SMAC agardaki koloni oluşumu sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

İzolatlara uygulanan IMVIC testleri sonucunda hiç *Escherichia coli* suşu saptanmamıştır. *E. coli* biyotip I, IMVIC reaksiyonunda (+, +, -, -) sonuçlarını verirken; *E. coli* biyotip II ise (-, +, -, -) sonuçlarını vermektedir. Çizelge 4.3’te elde edilen izolatlara uygulanan IMVIC testlerinin sonuçları gösterilmektedir. Bu sonuçlarda, *E. coli* suşu ile uyum gösteren bir izolat saptanmamıştır. Bu işlemin sonucunda hiç *E. coli* suşuna rastlanmadığı için Latex aglütinasyon test kitinin uygulanacağı bir sonraki identifikasyon aşamasına geçilmemiştir.

IMVIC sonuçlarına bakıldığında birçok izolatın muhtemel *Enterobacter* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp. ve *Citrobacter* sp. genusu üyeleri baskın olmakla birlikte tanımlanamayan sonuçlara da rastlanmıştır. Diğer izolatların identifikasyonu amaçlanmadığından, biyokimyasal testlerin devamı getirilmemiştir.

E. coli O157:H7 serotipinin insan sağlığı açısından büyük bir tehdit oluşturmasından dolayı, bu patojenin çeşitli gıdalarda aranması üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça fazladır. Çalışmamızın materyalini oluşturan kremalı pastalarda, bu patojen yönünden risk taşıyan kısmın çiğ, işlem görmemiş veya etkenle daha sonra kontamine olmuş sütün kullanılmasıyla yapılan kremler olduğu düşünülmektedir. Buna rağmen özellikle kremalı pastalarda *E. coli* O157:H7 serotipinin aranmasına yönelik çok az sayıda kaynak bulunmasından dolayı, tartışmalar kısmında pastalara ilave olarak, süt ve süt ürünlerinde *E. coli* O157:H7 aranmasını amaçlayan çalışmalardan da yararlanılmıştır. Fekal orijinli olan bu patojenin süt ve süt ürünlerindeki varlığının saptanması üzerine yapılmış olan birçok çalışma mevcuttur.

1986 yılında, Kanada’da pastörize edilmeyen süt tüketimi sonucu yaşları 4 ile 5 arasında değişen 60 çocuk ve 14 yetişkin kişinin 48’inde enfeksiyon meydana gelmiş, 3 çocukta HUS gelişmiş ve 43’ünden *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir (Öksüztepe ve ark., 2010).

Padye ve Doyle (1991), perakende satılan taze sığır kıyması ve çiğ süt örneklerinde yaptıkları incelemeye göre 107 kıyma örneğinin 3 (% 2,8)’ünden ve 115 çiğ süt örneğinden 11 (%10)’inden elde ettikleri izolatlarda *E. coli* O157:H7 serotipini saptamışlardır. Yapılan bir başka çalışmada, iki farklı çiftlikten temin edilen 23 adet çiğ süt örneğinden 1 (% 4,34)’inde *E. coli* O157:H7 patojenine rastlanmıştır (Wells ve ark., 1991).

Mabrouk (2001), Mısır’dan temin ettiği çeşitli gıdalar ve madıra ürünleri üzerine yapılan bir tez çalışmasında, 40 adet sığır sütü örneğinin 2’sinde (% 5); 41 adet bufalo sütü örneğinin 2’sinde (% 4.87) ve 20 adet peynir örneğinin 1’inde (% 5) *E. coli* O157:H7 patojenine rastlanmıştır.

Öksüz ve ark., (2004) çiğ süt ve çiğ süttten yapılmış peynirlerde *E. coli* O157:H7 varlığını araştırdıkları çalışmalarında, inceledikleri 100 örneğin 1’inde (% 1) *E. coli* O157:H7 izole etmişlerdir.

Afyonkarahisar il merkezinde bulunan çeşitli bakkal ile marketlerden satın alınan 100 adet çiğsüt ve semt pazarlarından satın alınan 100 adet beyaz peynir örneğinde *E. coli* O157:H7 varlığının araştırıldığı bir başka çalışmada; 100 adet çiğsüt örneğinden 3’ünde (%3) ve 100 adet peynir örneğinden 1’inde (%1) *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Akkaya ve ark., 2007).

Konya ilinde satışa sunulan 200 adet küflü peynirde *E. coli* O157:H7 aranmasına yönelik yapılan çalışmada, küflü peynirlerin 40’ında (% 17) *E. coli* ürediği saptandı. İzole

edilen *E. coli* suşlarından 3'ü (% 7,5) *E. coli* O157 ve 1'i (% 2,5) *E. coli* O157:H7 olarak identifiye edildi (Akçamlı, 2008).

Bu çalışmaların sonuçlarına baktığımızda *E. coli* O157:H7 serotipinin izole edilebildiğini, bu değerlerin çalışmamız sonucu ortaya çıkan değerlerden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Meydana gelen bu farklılıkların birçok sebepten ileri geldiği varsayılabilir. Bunlara örnek olarak numunelerin temin edildiği coğrafi bölgelerin farklılıklarını, örneklerin farklı kaynaklardan toplanmış olmasını, mevsimsel değişiklikleri, kullanılan materyalin veya yöntemin farklılığını, yetersiz pastörizasyon uygulanmış materyalin kullanılması; hayvansal kaynaklı olduğu dikkate alındığı takdirde, hayvanın türü, yaşı, cinsiyeti ve beslenme şekli gibi birçok faktör farklı sonuçların doğmasına neden olabilir diye düşünebiliriz.

Ansary ve Kaspar (1997), 19 adet peynir örneğinin 11 (% 58)'inde *Escherichia coli* izole etmişler fakat bu izolatların hiçbirinde O157:H7 serotipini saptayamamışlardır.

Akgün ve ark. (1997) 30 adet kremalı pasta örneğinin %70'inde *E. coli* bulunmadığını *E. coli* saptanan 9 örnekte de sayılarının $1,06 \times 10^3$ kob/g - $9,0 \times 10^5$ kob/g düzeyinde olduğunu saptamışlardır.

Dayıcı (2000) koyun, keçi ve inek sütünün karışımından elde edilen ve pastörize edilmemiş mihaliç peynirleri üzerine yaptığı çalışma sonucunda, örneklerin hiçbirinin *E. coli* O157:H7 serotipini içermediğini tespit etmiştir.

Doğan ve ark. (2001), 84 adet pasta örneğinde *E. coli* sayısını ise $2,7 \times 10^3$ EMS/g olarak bulmuşlardır.

Alişarlı ve ark. (2002), 100 adet puding türü tatlı ve 75 adet kremalı pasta örneğinde yaptıkları araştırmada, kremalı pastaların pudinglere nazaran mikrobiyolojik kalitelerinin oldukça düşük olduğunu saptamışlardır.

Ankara'da yapılan bir başka çalışmaya göre incelenen 150 adet sokak sütünde *E. coli* O157:H7 suşuna rastlanmamıştır (Altun ve ark., 2002). Kars ilinde yapılan bir başka çalışmada, analizi yapılan 100 adet çiğ süt örneğinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 suşuna rastlanmamıştır (Baz ve ark., 2003).

Kayseri ilindeki köy pazarlarından temine edilen 100 adet taze peynirde *E. coli* O157:H7'nin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise, ortalama $2,2 \times 10^1$ KMS/100 g koliform grubu bakteri bulunduğu tespit edilmiş fakat hiçbir örnekte *E. coli* O157:H7 serotipi izole edilememiştir (Gümüşsoy ve Gönülalan, 2005).

Öksüztepe ve ark., (2010) Elazığ'da tüketime sunulan 200 adet kremalı pasta örneğinde *E. coli* O157:H7 serotipinin aranmasını amaçladıkları çalışmalarında, izole

ettikleri 208 adet tipik koloniden (renksiz - şeffaf) hiçbirinin *E. coli* O157:H7 özelliğini göstermediğini saptamışlardır.

Yukarıda örnek gösterilen araştırmalar, çalışmamız sonucu elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir. Öksüztepe ve ark., (2010) yaptıkları araştırma, çalışmamızla benzer nitelikte olup bulgularımız da paralellik göstermektedir. Pasta yapımında temel maddelerden biri sayılan kremanın genellikle çiğ süt kullanılarak elde edildiği bilinmektedir. İşlem görmemiş süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan salgınlar düşünüldüğünde, çalışmanın arz ettiği önemin daha iyi anlaşılacağı düşünülmektedir.

Bu sonuçlar göz önüne alındığında *E. coli* O157:H7 yönünden kremalı pastaların incelenmesi ve ne *E. coli* suşuna ne de doğal olarak O157:H7 serotipine rastlanamamasını; öncelikli olarak pastalarda steril olan endüstriyel kremaların kullanılmasına bağlayabileceğimiz gibi, kremanın hazırlanması sırasında kullanılan katkı maddelerinin oldukça hijyenik koşullarda temin edildiği de düşünülebilir.

Çizelge 4.1. Kremalı pasta örneklerinin MUG içeren LSTB’ a ekiminden alınan sonuçlar

NUMUNE NO																				
S.O	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10 ⁻²	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10 ⁻³	---	+-	---	+++	+-	+-	+++	+++	---	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

NUMUNE NO																					
S.O	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++
10 ⁻²	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++
10 ⁻³	+++	+++	+++	+-	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+-	---	---	+-	---

NUMUNE NO																					
S.O	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	
10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10 ⁻²	---	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10 ⁻³	---	+-	+-	---	+-	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

NUMUNE NO																					
S.O	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	
10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10 ⁻²	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	+++	+++	+++	+-	+-	+++	+-	+++	+++	+-	+++	+++	+-	---
10 ⁻³	+-	+++	+++	+++	+++	---	+-	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+-	+-	+-	+++	

NUMUNE NO																					
S.O	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	
10 ⁻¹	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++
10 ⁻²	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++	+-	+++	+-	---	
10 ⁻³	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+-	+-	---	+-	+++	+-	+-	---	+-	---	+-	---	---	

S.O: Seyreltme oranı, +: Bulanıklık (üreme) ve gaz oluşumu pozitif, -: Üreme ve gaz oluşumu negatif

Çizelge 4.2. MUG içeren LSTB'un bulunduğu tüplerin UV'deki ışımaya ve SMAC agarda koloni oluşumu

Numune No	MUG Reaksiyonu	SMAC	Numune No	MUG Reaksiyonu	SMAC
1	-	Rk	51	-	Rk
2	-	Rk	52	-	Rk
3	-	Rk	53	-	Prk
4	-	Rk	54	-	Rk
5	+	Rk	55	-	Rk
6	-	Rk	56	-	Rk
7	+	Rk	57	-	Rk
8	+	Rk	58	-	Rk
9	-	Rk	59	+	Prk
10	-	Rk	60	-	Rk
11	-	Rk	61	-	Rk
12	+	Rk	62	-	Rk
13	-	Rk	63	-	Prk
14	+	Rk	64	-	Rk
15	-	Rk	65	-	Prk
16	+	Prk	66	+	Prk
17	+	Rk	67	-	Prk
18	+	Rk	68	-	Rk
19	+	Rk	69	+	Prk
20	-	Prk	70	-	Rk
21	-	Rk	71	+	Prk
22	-	Rk	72	-	Rk
23	-	Rk	73	+	Rk
24	-	Rk	74	-	Rk
25	-	Rk	75	+	Rk
26	+	Rk	76	-	Rk
27	-	Rk	77	-	Rk
28	-	Rk	78	-	Rk
29	-	Rk	79	-	Rk
30	-	Rk	80	-	Rk

31	-	Rk	81	+	Rk
32	-	Rk	82	-	Rk
33	-	Rk	83	-	Prk
34	-	Rk	84	-	Rk
35	-	Rk	85	-	Rk
36	+	Rk	86	-	Rk
37	+	Rk	87	-	Prk
38	-	Prk	88	-	Rk
39	-	Prk	89	-	Rk
40	-	Rk	90	-	Rk
41	-	Prk	91	-	Rk
42	+	Prk	92	-	Rk
43	-	Rk	93	-	Prk
44	-	Rk	94	-	Rk
45	-	Rk	95	-	Rk
46	-	Rk	96	-	Rk
47	-	Rk	97	-	Rk
48	-	Prk	98	-	Rk
49	-	Rk	99	-	Rk
50	-	Rk	100	-	Rk

Prk: Pembe renkli koloni, Rk: Renksiz koloni

Çizelge 4.3. Elde edilen izolatların IMVIC testi sonuçları

Numune No	In.	Mr.	Vp.	Ci.	Numune No	In.	Mr.	Vp.	Ci.
1	+	+	-	+	51	+	V	+	+
2	-	+	V	+	52	+	-	-	+
3	-	+	+	+	53	+	-	V	+
4	+	+	-	+	54	+	-	+	+
5	+	+	-	+	55	+	+	-	+
6	-	-	+	+	56	+	+	+	+
7	+	-	-	+	57	+	+	+	+
8	+	+	-	+	58	+	V	+	+
9	+	+	+	+	59	+	-	+	+
10	+	-	-	+	60	+	-	+	+
11	+	+	+	+	61	+	+	-	+
12	+	+	+	+	62	+	-	+	+
13	+	+	-	+	63	-	V	+	+
14	+	+	+	+	64	+	-	+	+
15	+	+	-	+	65	+	+	+	+
16	+	+	-	+	66	-	-	+	+
17	+	-	+	-	67	-	+	+	+
18	-	+	+	+	68	+	+	-	+
19	+	-	+	+	69	+	-	+	+
20	+	-	+	-	70	+	+	-	+
21	-	-	+	-	71	+	V	+	+
22	+	-	+	-	72	+	+	+	+
23	+	-	+	-	73	+	+	-	+
24	+	-	+	-	74	+	+	-	+
25	+	-	+	+	75	-	-	+	+
26	+	-	+	+	76	+	+	+	+
27	+	-	+	+	77	+	-	+	+
28	+	+	+	+	78	+	+	+	+
29	-	-	+	+	79	+	-	+	+
30	-	-	+	+	80	+	+	+	+

31	+	-	+	+	81	+	+	-	+
32	+	-	+	+	82	-	+	+	+
33	-	-	+	+	83	+	-	+	+
34	-	-	+	+	84	+	+	V	+
35	+	-	+	+	85	+	V	+	+
36	+	+	-	+	86	+	-	+	+
37	+	-	+	+	87	-	-	+	+
38	+	+	+	+	88	+	-	+	+
39	+	-	+	+	89	+	+	+	+
40	-	-	+	+	90	-	-	+	+
41	-	-	+	+	91	-	-	+	+
42	+	-	+	+	92	-	+	+	+
43	-	-	+	+	93	+	-	-	+
44	+	-	+	+	94	-	+	-	+
45	-	-	+	+	95	+	-	+	+
46	+	+	V	+	96	+	-	+	+
47	+	-	V	+	97	-	+	+	+
48	+	+	V	+	98	-	+	+	+
49	+	-	+	+	99	-	V	+	+
50	+	V	+	+	100	+	+	+	+

In.: İndol, Mr.: Metil Red, Vp.: Voges Proskauer, Ci.: Simmons Citrate, V: Değişkenlik gösteren (-/+)

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çanakkale’de süt kaynaklı bir ürün olan kremalarda ve buna bağlı olarak kremalı pastalarda *E. coli* O157:H7’nin varlığı üzerine yapılan bu çalışma bir ilk olup amacı, halkın severek tükettiği, gözde bir gıda maddesi olan kremalı pastaların sağlık açısından bir risk oluşturup oluşturmadığını araştırılmasıdır.

Literatür bilgisinde de sık sık bahsedildiği gibi özellikle çocuklar olmak üzere, gençler ve yaşlılar üzerinde çok ciddi sağlık sorunlarına neden olabilen *E. coli* O157:H7 açısından incelenen materyal olan kremalı pastaların bu riski taşımadığı saptanmıştır. Fakat bununla beraber elde edilen bulgularda kremalı pastaların tam anlamıyla güvenilir olduğundan da bahsedemeyiz.

Araştırmalarımız sırasında yapılan biyokimyasal testlerin sonuçlarına dayanarak, kremalı pasta örneklerinde oldukça yoğun bir şekilde *Enterobacter* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp.ve *Citrobacter* sp. genusu üyelerine rastlanmıştır. Bu veriler doğrultusunda koliform grubu bakterilerin pastalarda bulunabileceği yorumu yapılabilir. Bu sonuçlar her ne kadar *E. coli* O157:H7 patojeni yönünden içimizi rahatlatacak yönde olsa da; aynı zamanda elde ettiğimiz diğer bulgular bu gibi süt ve süt ürünü ihtiva eden gıdaları tüketirken dikkatli olmamız gerektiği uyarısında bulunmaktadır. Araştırma ve bulgular kısmında da belirtilmiş olan diğer koliform grubu üyesi bakterilerin varlığı, kremalı pastalarda *E. coli* suşunun da bulunabileceği ihtimalini beraberinde getirmektedir.

Çiğ süt ve süt ürünlerinin patojenik *E. coli* O157:H7 ile kontamine olması, sütün sağımından işlenmesine kadar geçen süreçte ve bundan sonraki aşamalarda, hava yolu ile veya gıda işlek yerlerde çalışan personelin hijyen kurallarına uymaması gibi nedenlerle gerçekleşebilmektedir ve yapılan çalışmalar da bu bilgileri doğrulamaktadır. Son yıllarda bu ürünlerin tüketimine bağlı olarak meydana gelen salgınlar sıklıkla gözlenmektedir.

Buna bağlı olarak işletmelerin sanitasyon kurallarına önem gösterdikleri de çıkarılabilecek sonuçlardan biri olabilir. Bu tez çalışması için temin edilen numunelerde, steril halde tüketime sunulan endüstriyel kremaların kullanılmış olduğu düşünülebilir. Tezin materyalini oluşturan kremalı pastaların *E. coli* O157:H7 serotipi yönünden incelenmesi sonucu patojenik bir türe rastlanmaması halk sağlığı açısından önemli bir bulgudur. Bu çalışmada varlığı saptanamayan *E. coli* O157:H7 serotipi haricinde, temizliği ve insan sağlığı açısından şüphe uyandırıcı unsurlar taşıması nedeniyle bu ürünlere dikkat edilmesi gerektiği gerçeği unutulmamalıdır.

Avrupa Birliđi sürecinde olan ölkemizde, gıda kalitesini yükseltmek amacıyla getirilen sıkı denetlemelerle de, *E. coli* O157:H7 ve benzeri tehlikeli patojenlerden kaynaklanan salgınların ve hastalıkların gerçekleşmesinin önlenmesi çalışmaları devam etmektedir.

Hızla yayılan ve ölümcül düzeylere ulaşabilen bu salgın kaynağından korunmak amacıyla tüketilen ürünlerin güvenilir ürünler olmasına dikkat edilmelidir. Pastörize edilmemiş sütler ve bu sütlerden yapılan diğer besin maddeleri tüketilmemelidir. Bütün bu bilgiler doğrutusunda üreticilerin ve satıcıların sanitasyon kurallarına uymaları ve gıda denetimlerinin sıklaştırılması alınabilecek başlıca önlemlerdendir. Bu noktada gıda işletmecilerine büyük bir görev ve aynı zamanda vicdani bir sorumluluk da düşmektedir. Ayrıca tüketicilerin satın aldıkları gıda ürünlerin hijyeni konusunda bilinçlendirilmeleri gerekmektedir. Gıda ürünlerini sanitasyon bakımından güven duyulan işletmelerden temin etmeleri de bir diğer koruyucu önlem olarak sayılabilir.

KAYNAKLAR

- Akçamlı E., 2008. Konya İlinde Pazarlarda Açıkta Satılan Küflü Peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Suşunun Varlığının Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Vet.) Anabilim Dalı, Konya.
- Akgün S., Soyutemiz E., Anar Ş. ve Çıbık R., 1997. Tüketime Sunulan Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Niteliklerinin Saptanması. *Gıda*, 22 (6): 433-438.
- Akkaya L., Alışarlı M., Kara R. ve Telli R., 2007. Afyonkarahisar'da Tüketime Sunulan Çiğ Süt ve Peynirlerde *E. coli* O157:H7 Varlığının Belirlenmesi. *Y. Y. Ü. Vet. Bil. Dergisi*, 18 (1): 1-5
- Alışarlı M., Sancak Y. C., Akkaya L. ve Elibol C., 2002. Bazı Sütlü Tatlıların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci.*, 26: 975-982.
- Alışarlı M., Sağun E., Alemdar S. ve Akkaya L., 2003. Kremalı Pastalarda *Staphylococcus aureus* Suşlarının Gelişme ve Enterotoksin Oluşturma Özellikleri Üzerine Etki Yapan Faktörler. *Turk J Vet Anim Sci.*, 26: 535-542.
- Alışarlı M. ve Akman H. N., 2004. Perekende Satılan Kıymaların *Escherichia coli* O157:H7 Yönünden İncelenmesi. *Y. Y. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 15 (1-2): 65-69.
- Altun B., Beşler T. ve Ünal S., 2002. Ankara'da Satılan Sütlerin Değerlendirilmesi. *Sted.*, 11 (2): 51-55.
- Anonymous, 2000. *Escherichia coli* O157:H7 enterohemorrhagic (EHEC) http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNADO152.pdf
- Ansary S. E. ve Kapsar C. W., 1997. Survey of Cetail Cheeses, Dairy Processing Environments and Raw Milk for *E. coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microb.*, 25: 131-134 .
- Aslantaş Ö. ve Yıldız P., 2002. Kars Yöresinde Hayvansal Kaynaklı Gıdalarda: *Escherichia coli* O157:H7 İzolasyonu. *Vet. Bil. Derg.*, 18 (1-2): 107-111.
- Baran F. ve Gülmez F., 2001. The Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in the Ground Beef and Chicken Drumsticks. *Internal Journal of Food Safety*, 2: 13-15.
- 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 *E. coli* O157:H7 Yönünden İncelenmesi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 9 (2): 165-167.
- Benner D. J., 1984. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. Editors, NR Krieg and JG Holt, Maryland/USA.
- Bilgehan H., 1996. *Klinik Mikrobiyoloji* (9. Baskı). Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir. 5-15 s.

- Bridson E. Y., 1988. *The Oxoid Manuel* (8. Baskı). Oxoid Ltd., Hamshire, 32-230.
- CDC Official Website. Investigation Announcement: Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Linked to Romaine Lettuce December 7, 2011. <http://www.cdc.gov/ecoli/2011/ecoliO157/romainelettuce/120711/index.html>
- Conner D. E., 1992. Temperature and NaCl Affect Growth and Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in Poultry-based and Laboratory Media. *J. Food Sci.*, 57 (2): 532-533.
- Coşansu S. ve Ayhan K., 2000. Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 ve Fermente Et Ürünlerindeki Önemi. *Gıda Dergisi*, 25 (1): 33-38.
- Çiçek E., 2008. Ege Bölgesindeki Sığırların Süt ve Dışkı Örneklerinden *Escherichia coli* O157:H7 İzolasyonu ve Verotoksinlerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Dayıcı R., 2000. İnek, Koyun ve Keçi Sütü Kullanılarak Yapılan Mihaliç Peynirlerinin Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Doğan H. B., Çakır İ., Keven F., Coşansu S., Kıral N., Dağar T. İ., Gürcan G. ve Halkman A. K., 2001. Çeşitli Gıdalarda Koliform, Fekal Koliform ve *E. coli* Varlığı. *Gıda*, 26 (2): 83-90.
- Doyle P., 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its Significance in Foods. *Int. J. Food Micr.*, 12: 289-302.
- Doyle M. P., Zhao T., Meng J. ve Zhao S., 1997. *Escherichia coli* O157:H7. In "Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. Eds M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville. ASM Press Washington D.C. 768 p". pp 171-191.
- Dunn J. R., 2003. The Epidemiology of Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Louisiana Dairy Cattle, Beef Cattle and White-Tailed Deer. <http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-0409103-102328/>, 23/03/11.
- Erol İ., Sırıken B., Şireli U. T., Kısa Ö., Albay A., Gün H. ve Kaymaz Ş., 1996. Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. *AÜ Vet Fak Derg.*, 43: 413-420.
- Erol İ., 2007. *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti. Çamlıca Mah. 12 Sk. No: 10/16, Yenimahalle/Ankara. 392 s.
- Evren M., 2006. Samsun Piyasasında Satışa Sunulan Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Nitelikleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi. 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

- Frank C., Werber D., Cramer J.P., Askar, M., Faber, M., Heiden, M., Bernard, H., Fruth, A., Prager, R., Spode, A., Wadl, M., Zoufaly, A., Jordan, S., Kemper, M.J., Follin, P., Müller, L., King, L.A., Rosner, B., Buchholz, U., Stark, K., ve Krause, G., 2011. Epidemic Profile of Shiga-Toxin–Producing *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak in Germany. *N Engl J Med* 365: 1771-1780.
- Gümüşsoy G. F. ve Gönülalan Z., 2005. Kayseri İlinde Köy Pazarlarında Satılan Taze Peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Suşunun Araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14 (1): 13-19.
- Gümüş T., Dayıoğlu O. ve Konyalı A. M., 2005. Tekirdağ’da Tüketime Sunulan Yaş Pastaların Mikrobiyolojik Kalitesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2 (3): 1-8.
- Halkman A. K., Noveir M. R. ve Doğan H. B., 2001. *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. A. Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd., Ankara. 53 s.
- Karaca P., 2011. Çanakkale’de (Türkiye) Tüketilen Bazı Ezine Peynirlerindeki *Escherichia coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması, (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale.
- Kehl S. C., 2002. Role of Laboratory in the Diagnosis of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 2711-2715.
- Koreman E. W., Allen S. D., Janda W. M. , Shchreckerberger P. G. ve Winn W. C., 1997. *Color Atlas and Teret Book of Diagnostik Microbiology, Enteric Gram Negative Rods* (5. Baskı). Lippincott, Philedelphia, Newyork. 196-199.
- Mabrouk E., 2001. Search for *E. coli* O157:H7 in Egyptian foods and dairy products. A Thesis (Submitted to the Botany and Microbiology Department Faculty of Science, Al-Azhar University in Cairo, for the award of Ph.D. (Doctor of Philosophy) in Microbiology.
- Nataro J. P. ve Kaper J. B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11(1):142.
- Noveir M. R. ve Halkman A. K., 2000. A Study on Selective Broths and Agar Media for the Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 Serotype. *Turk J Vet Anim Sci*, 24: 459-464.
- Öksüz Ö., Arıcı M., Kurultay S. ve Gümüş T., 2004. Incidence of *Escherichia coli* O157 in Raw Milk and Pickled Cheese Manufactured from Raw Milk in Turkey. *Food Control*, 15, 453-456.

- Öksüztepe G., Patır B., Çalıcıoğlu M., İlhak O. İ. ve Dikici A., 2010. Elazığ'da Satılan Kremalı Pastalarda *E. coli* O157:H7'nin Varlığı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (2): 307-311.
- Özer Ö., Özalp E., Açıkgoz M., Aytaç H., Ünal T., Ceran A. ve Burgu İ., 1968. Ankara Pastanelerinde Satılan Yaş Pastaların Bakteriyolojik Nitelikleri Üzerine Araştırmalar. *AÜ Vet Fak Derg*, 40, 22-31.
- Özbaş Z. Y. ve Aytaç S. A., 1995. *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri. *Türk Hijyen Biyoloji Dergisi*, 52 (1): 47-53.
- Öztelli Y., 2004. Bayburt İli Merkez İlçede İçme Sularında Enterohemorajik *Escherichia coli* (O157:H7)'nin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta.
- Padhye N. V. ve Doyle, M. P., 1991. Rapid Procedure for Detecting Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 In Food. *Appl. Envr. Micr.*, 57 (9) : 2693-2698.
- Park S., Worobo R. ve Durst R., 1999. *Escherichia coli* O157:H7 As an Emerging Foodborne Pathogen: A Literature Rewiew. *Critical Reviews. Food Sci. Nutrition*, 39 (6): 481-502.
- Sarı H. A., 2008. Beyaz Peynirlerde *Escherichia coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması, (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Tekinşen O. C., Atasever M., Keleş A., ve Tekinsen K. K., 2002. *Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir*. (I.Baskı), Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya: 39-63
- Temelli S., 2002. Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *E. coli* O157:H7 ve Önemi. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 21: 133-138.
- Topçu A. W., Söyletir G. ve Doğanay M., 2008. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 3*. Nobel Tıp Kitapevi. 1053-1057.
- Ünlütürk A. ve Turantaş F., 2003. *Gıda Mikrobiyolojisi* (3. Baskı). Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova/İzmir. 606 s.
- Ünsal C., 2007. Erzurum Bölgesinde Satışa Sunulan Etlerde *E. coli* O157:H7' nin Varlığının Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum.
- Vanderzant C. ve Splittstoesser D.F., 1992. *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods* (3. Baskı), American Public Health Association, NW Washington, DC. 112-360.

Weeratna R.D. ve Doyle M.P., 1991. Detection and production of verotoxin 1 of *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Appl. Environ. Microbiol*, 57(10):2951.

Wells J. G., Shipman L. D., Grene K.D., Sowers E. G., Gren E. J., Cameron D. N., Downes F. P, Martin M. L., Griffin P. M., Ostroff S. M., Potter M. E., Tauxe R. V. ve Wachsmuth I. K., 1991. Isolation of *E. coli* serotype O157:H7 and other shiga-like toxin producing *E. coli* from dirty cattle. *J Clin Microbiol*, 29: 985-989.

<http://tdkterim.gov.tr/bts/>

http://www.koniks.com/topic.asp?TOPIC_ID=12303, 09/02/2009.

<http://www.pastaciokulu.com/pastacilik/pastaciligini-gelisimi/86-fransiz-pastaciligi>, 09/01/2011.

<http://ekimbutikpasta.com/pastaciligintarihi.html>

http://www.betalab.com.tr/u_g_01.html

ÇİZELGELER	Sayfa No
Çizelge 2.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H/7 serotipinin epidemiyolojisi.....	10
Çizelge 3.1. <i>Escherichia coli</i> türlerinin IMVIC testine verdikleri yanıt.....	30
Çizelge 4.1. Kremalı pasta örneklerinin MUG içeren LSTB'a ekiminden alınan sonuçlar.....	36
Çizelge 4.2. MUG içeren LSTB'un bulunduğu tüplerin UV'deki ışımaya ve SMAC agarda koloni oluşumu.....	37
Çizelge 4.3. Elde edilen izolatların IMVIC testi sonuçları.....	39

ŞEKİLLER	Sayfa No
Şekil 2.1. Diyarejenik <i>E. coli</i> suşlarının patogenezi (Nataro ve Kaper, 1998)	8
Şekil 4.1. MUG içeren LSTB besiyerinde mavi röfle oluşumu	31
Şekil 4.2. SMAC agarda oluşan renksiz koloniler	32

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ebru AYVERDİ
Doğum Yeri : Bakırköy
Doğum Tarihi : 26.05.1987

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLER

N. Hacıoğlu, E. Ayverdi, G. Genç, G. Kahya, B. Dulger, “Çanakkale Boğazı Kıyı Sularının Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Kirlilik Parametrelerinin Araştırılması” X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi (04-07 Ekim 2011), Bildirim Özeti Kitabı, 286, Çanakkale (2011)

İŞ DENEYİMİ

İLETİŞİM

E-posta adresi: ebruayverdi@gmail.com