

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ



İSTANBUL İLİ SINIRLARI İÇİNDE SATIŞA SUNULAN SEBZE
ÖRNEKLERİNDE *Escherichia coli*' NİN REAL-TIME PCR YÖNTEMİ İLE
SHIGA BENZERİ TOKSİN GENLERİ VARLIĞI BAKIMINDAN
İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Burçin TURAN

HAZİRAN 2012

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ

İSTANBUL İLİ SINIRLARI İÇİNDE SATIŞA SUNULAN SEBZE
ÖRNEKLERİNDE *Escherichia coli*' NİN REAL-TIME PCR YÖNTEMİ İLE
SHIGA BENZERİ TOKSİN GENLERİ VARLIĞI BAKIMINDAN
İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Burçin TURAN

Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

HAZİRAN 2012

TEZ ONAYI

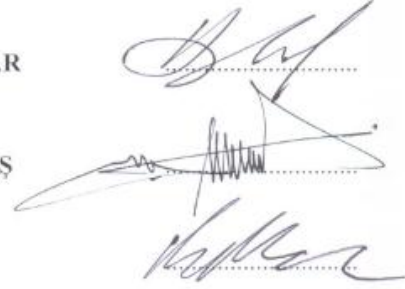
İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü' nün Y0913.040001 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Burçin TURAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "İSTANBUL İLİ SINIRLARI İÇİNDE SATIŞA SUNULAN SEBZE ÖRNEKLERİNDE *Escherichia coli*' NİN REAL-TIME PCR YÖNTEMİ İLE SHIGA BENZERİ TOKSİN GENLERİ VARLIĞI BAKIMINDAN İNCELENMESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Jüri Üyeleri :

Tez Danışmanı **Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR**
İstanbul Aydın Üniversitesi

Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ
İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. Kamil BOSTAN
İstanbul Üniversitesi



Teslim Tarihi : 11.06.2012
Savunma Tarihi : 19.06.2012

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Burçin TURAN (İmza)

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenip yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Değerli Tez Danışmanım Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR' a, Real-Time PCR ile ilgili metot çalışmalarına destek veren Almanya Justus-Liebig Giessen Üniversitesi'nden Dr. Ömer AKINEDEN' e, iyi bir çalışma ortamını sağlayan ve laboratuvar çalışmalarımda beni destekleyen İsmail Hakkı TEKİNER' e ve İnci GÖKÇE' ye, Bölüm Başkanım Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ' a, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kamil BOSTAN' a ve yüksek lisans eğitimim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme tüm kalbimle teşekkür ederim.

Burçin TURAN

Haziran 2012

**İSTANBUL İLİ SINIRLARI İÇİNDE SATIŞA SUNULAN SEBZE
ÖRNEKLERİNDE *Escherichia coli*' NİN REAL-TIME PCR YÖNTEMİ İLE
SHIGA BENZERİ TOKSİN GENLERİ VARLIĞI BAKIMINDAN
İNCELENMESİ**

ÖZET

Bu çalışmada, İstanbul ilindeki çeşitli semt pazarlarında satışa sunulan havuç, salatalık, domates, marul, maydanoz ve ıspanak örneklerinin her birinden 30' ar tane olmak üzere satın alınarak patojen *Escherichia (E.) coli* taraması yapıldı. Araştırmada toplam 180 sebze örneği kullanıldı. Tüm örneklerde ilk önce *E. coli* varlığı kültürel mikrobiyolojik metotlarla incelendi. *E. coli* üreyen sebze örneklerinde, iki farklı yöntem ile *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri varlığı incelendi. DNA izolasyonları; Eurofins GeneSpin DNA İzolasyon Kit prosedürüne göre ve kolonilerin sulandırılması yöntemi ile yapıldı. Kültür bazlı mikrobiyolojik yöntemle *E. coli* üremesi; ıspanakta % 93.3, marulda % 93.3, maydanozda % 86.6, havuçta % 43.3, salatalıkta % 33.3 ve domateste % 13.3 oranında saptandı. Real-Time PCR taraması sonunda *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerinin varlığı ve bu alanda yapılan literatür bilgileri dikkate alınarak STEC O157:H7 havuç ve marulda; STEC O26:H11 ve STEC O111:NM havuçta; STEC O119:H16 havuç, marul, salatalık ve maydanozda; STEC O157:NM marulda ve EPEC O119, EPEC O111:H2, EPEC O26:NM havuç, salatalık, domates, marul, maydanoz ve ıspanak örneklerinde olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; İstanbul ili sınırları içinde satışa sunulan sebze örneklerinde yapılan incelemede, kültür bazlı yöntem ve Real Time PCR ile doğrulama sonucunda; *E. coli*' nin varlığı ve bu *E. coli*' lerin patojen *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerini taşıdığı tespit edilerek, halk sağlığını tehdit ettiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sebze, *E. coli*, Shiga toksin, *E. coli* Serotipleri, Mikrobiyoloji, Real-Time PCR.

**SCREENING OF *Escherichia coli* in VEGETABLE SAMPLES
MARKETED in DIFFERENT DISTRICTS of İSTANBUL in CONSIDERATION
of OCCURENCE of SHIGA-LIKE TOXIN GENES by REAL-TIME PCR ASSAY**

ABSTRACT

In this study the presence of *Escherichia (E.) coli* in some selected vegetable samples such as carrot, cucumber, tomato, lettuce, parsley and spinach were studied in consideration of occurrence of Shiga-like toxin genes by Real-Time PCR. 30 samples from each of the vegetables, totally making 180 were collected in different districts of İstanbul. The samples were initially investigated for *E. coli* by culture-based microbiology. Those with a positive *E. coli* occurrence were also examined for *stx1*, *stx2* and *eae* genes according to two different methods by Real-Time PCR assay. DNA isolations were made by following up the instructions in Eurofins GeneSpin DNA Isolation Kit and by diluting the colonies. The obtained results by culture-based microbiology showed that occurrence of *E. coli* in the samples was found as 93.3% in spinach; 93.3% in lettuce; 86.6% in parsley; 43.3% in carrot; 33.3% in cucumber and 13.3% in tomato. On the other hand, screening by Real-Time PCR was also performed for these positively contaminated samples in order to understand serotype of *E. coli* by *stx1*, *stx2* and *eae* genes. The Real-Time PCR study resulted in STEC O157:H7 in carrot and lettuce; STEC O26:H11 and STEC O111:NM in carrot; STEC O119:H16 in carrot, lettuce, cucumber and parsley; STEC O157:NM in lettuce and EPEC O119, EPEC O111:H2, EPEC O26:NM in carrot, cucumber, tomato, lettuce, parsley and spinach, respectively.

In conclusion, it was shown that vegetable samples marketed in different districts of İstanbul were positively contaminated by *E. coli* according to the culture based microbiology. The results were also validated by Real Time PCR and pathogen *stx1*, *stx2* and *eae* genes significantly harmful to the public health were detected by Real-Time PCR assay

Key words: Vegetable, *E. coli*, Shiga toxin, *E. coli* Serotypes, Microbiology, Real-Time PCR.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
BEYAN	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
KISALTMALAR	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1. <i>Escherichia coli</i>	3
2.1.1. Taksonomi	3
2.1.2. Morfolojik Özellikleri	3
2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri.....	4
2.1.4. Antijenik Yapısı.....	4
2.1.4.1. O (Somatik) Antijeni	4
2.1.4.2. H (Hauch, Kamçı) Antijeni.....	5
2.1.4.3. K (Kapsül) Antijeni	5
2.2. <i>E. coli</i> ' nin Patolojik Grupları.....	5
2.2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonuna Neden Olan Patojen <i>E. coli</i>	5
2.2.1.1. Üropatojenik <i>E. coli</i> (UPEC).....	5
2.2.2. Diyareye Neden Olan Patojen <i>E. coli</i> Türleri.....	6
2.2.2.1. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC).....	6
2.2.2.2. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC).....	6
2.2.2.3. Enteroaggregative <i>E. coli</i> (EAEC).....	6
2.2.2.4. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC).....	7
2.2.2.5. Diffüz adherent <i>E. coli</i> (DAEC)	7
2.2.2.6. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC).....	8
2.2.2.6.1. İntimin.....	12
2.3. Gıda Kaynaklı <i>E. coli</i> ve Gıda Güvenliği Sorunları	13
2.3.1. <i>E. coli</i> ' nin Gıdalarla Bulaşma Yolları	17
2.4. Gıdalarda <i>E. coli</i> için Mikrobiyolojik Sınır Değerleri	18

2.4.1. Gıdalar Yoluyla Alınan <i>E. coli</i> ' de Enfektif Doz Miktarı	22
2.5. Gıdalarda <i>E. coli</i> Analiz Yöntemleri.....	22
2.5.1. Gıda Gruplarında <i>E. coli</i> ile İlgili Yapılan Araştırmalar	23
2.5.1.1. Su Kaynakları ve Sularda <i>E. coli</i> ile İlgili Yapılan Çalışmalar	23
2.5.1.2. Sebzeler ve Meyvelerde <i>E. coli</i> ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	25
2.6. Patojen <i>E. coli</i> Suşlarının Sebep Oldukları Hastalıklar	27
2.6.1. Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS).....	29
2.6.2. Hemorajik kolitis (HC).....	30
2.6.3. <i>E. coli</i> ' nin Neden Olduğu Kansız Diyare.....	30
2.6.4. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)	30
2.6.5. İdrar Yolları Enfeksiyonları	30
3. MATERYAL-METOT	31
3.1. Materyal	31
3.1.1. Örnek Alımı.....	31
3.2. Metot	32
3.2.1. Kültür Bazlı Yöntem	33
3.2.1.2. <i>E. coli</i> Ön zenginleştirme Prosedürü	35
3.2.1.3. <i>E. coli</i> Selektif Besiyerine Geçiş Prosedürü	35
3.2.2. Multipleks Real-Time PCR Metodu.....	36
3.2.2.1. <i>E. coli</i> DNA İzolasyon Prosedürü.....	36
3.2.2.1.1. Eurofins GeneScan GENE <i>Spin</i> DNA İzolasyonu Kiti Prosedürü ..	37
3.2.2.1.2. Kolonilerin Sulandırılması ile DNA İzolasyon Yöntemi	39
3.2.2.2. <i>E. coli</i> Shiga-like Toksin (<i>stx1</i> ve <i>stx2</i>) ve İntimin (<i>eae</i>) Genlerinin Real-Time PCR Prosedürü.....	40
3.2.2.3. Real-Time PCR Sonuçlarının Okunması ve Grafiklerin Değerlendirilmesi.....	41
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA	59
6. KAYNAKLAR	64
7. ÖZGEÇMİŞ	72

KISALTMALAR

A	: Adenin
A/E	: Yapışma ve bağlanma
bp	: Base pair – Baz çifti
BPW	: Buffered Peptone Water
c	: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı
C	: Sitozin
CDEC	: Cell-detaching <i>E. coli</i>
CDT 1-V	: Sitoletal distansiyon toksini
°C	: Santigrad derece
CLDTEC	: Sitoletal Distansiyon Toksini Üreten <i>E. coli</i>
CNF	: Sitotoksik nekrotizan faktör 1S1S1
DAEC	: Difüz adherent <i>E. coli</i>
DHEC	: Diyare ile ilişkili Hemolitik <i>E. coli</i>
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asid
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>eae</i>	: Intimin
EAggEC/EAEC	: Enteroaggregative <i>E. coli</i>
EAF	: EPEC uyum faktörü
EAST1	: EAEC stabil toksini
EFSA	: European Food Safety Association
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMS	: En Muhtemel Sayı
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
g	: Gram
G	: Guanin
Gb3	: Globotriasileramit
H	: Kamçı antijeni

H₂S	: Hidrojen sülfür
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points
HC	: Hemorajik Kolitis
HUS	: Hemorajik Üremik Sendrom
K	: Kapsül antijeni
kob	: Koloni oluşturan birim
LEE	: Enterosit silme lokusu
LPS	: Lipopolisakkarit
LT	: Isıya duyarlı enterotoksin
m	: (n – c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer
M	: c sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
n	: Numune sayısı.
NM	: Non-motile (Hareket etmeyen)
NTEC	: Nerotoksik <i>E. coli</i>
O	: Somatik antijen
PCR	: Polymerase Chain Reaction
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
ST	: Isıya dayanıklı enterotoksin
STEC	: Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>
Stx1	: Shiga toksin 1
Stx2	: Shiga toksin 2
T	: Timin
TBX	: Trypton Bile X-Glukoronid Agar
TEM	: Transmisyon Elektron Mikroskobu
TPS	: Tamponlanmış Peptonlu Su
TTP	: Trombotik Trombositopenik Purpura
UPEC	: Üropatojenik <i>E. coli</i>
VTEC	: Verotoksin üreten <i>E. coli</i>
WHO	: World Health Organization

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) karşılaştırılması.	3
Şekil 2.2: Shiga toksinin etki mekanizması	10
Şekil 2.3: <i>E. coli</i> ' nin mevcut bulaşma yollarının basitleştirilmiş şeması.	18
Şekil 2.4: EHEC bakterisinin hastalık iletim yolu.	28
Şekil 2.5: EHEC enfeksiyonunun günlere göre klinik seyri	29
Şekil 3.1: Genel Metot Şeması	33
Şekil 3.2: Kültür bazlı yöntem genel şeması	34
Şekil 4.1: Bütün örnekler içerisinde mikrobiyolojik olarak <i>E. coli</i> üreyen örnek sayısı.45	
Şekil 4.2: Sebze örneklerinde <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel olarak dağılımı.	46
Şekil 4.3: İntimin geni ve Shiga toksin genlerinin <i>E. coli</i> pozitif örneklerdeki yüzdesel dağılımı	46
Şekil 4.4: Havuç örneklerinde üreyen <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel dağılımı.	48
Şekil 4.5: <i>E. coli</i> üreyen havuç örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı	48
Şekil 4.6: Salatalık örneklerinde üreyen <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel dağılımı.....	50
Şekil 4.7: <i>E. coli</i> üreyen salatalık örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı .	50
Şekil 4.8: Domates örneklerinde üreyen <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel dağılımı.....	52
Şekil 4.9: <i>E. coli</i> üreyen domates örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı .	52
Şekil 4.10: Marul örneklerinde üreyen <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel dağılımı	54
Şekil 4.11: <i>E. coli</i> üreyen marul örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı ...	54
Şekil 4.12: Maydanoz örneklerinde üreyen <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel dağılımı.....	56
Şekil 4.13: <i>E. coli</i> üreyen maydanoz örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı	56

Şekil 4.14: Ispanak örneklerinde üreyen <i>E. coli</i> ' nin yüzdesel dağılımı	58
Şekil 4.15: <i>E. coli</i> üreyen ıspanak örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı	58

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Patojen <i>E. coli</i> suşlarının isimlendirilmesi ve sınıflandırılması	8
Tablo 2.2: <i>E. coli</i> suşlarındaki Shiga toksin 1' in amino asit sekans çeşitleri	11
Tablo 2.3: <i>E. coli</i> suşlarındaki Shiga toksin 2' nin amino asit sekans çeşitleri	12
Tablo 2.5: Türkiye' de 1999-2000 yılları itibariyle Gıda Kaynaklı Enfeksiyon ve İntoksikasyon İstatistikleri	16
Tablo 2.6: Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği Proses Hijyen Kriterleri' ne göre farklı gıda grupları için <i>E. coli</i> ' nin kabul edilebilir üst limitleri	19
Tablo 2.7: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği Proses Hijyen Kriterleri' ne göre farklı gıda grupları için <i>E. coli</i> 'nin kabul edilebilir üst limitleri	20
Tablo 2.8: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği <i>E. coli</i> için Gıda Güvenliği Kriterleri.....	21
Tablo 3.1: Sebze örnekleri, toplandığı yer ve miktarı/adet	32
Tablo 3.4: Real-Time PCR taraması sonucu belirlenen <i>E. coli</i> virülans genleri ve tespit edilen gen kombinasyonları üzerinden tahmin edilen <i>E. coli</i> serotipleri.....	42
Tablo 4.1:İncelenen sebze örnekleri dağılımı ve mikrobiyolojik olarak <i>E. colipozitif</i> örneklerin dağılımı.....	45
Tablo 4.2: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan havuç örneklerinde (n=30) kültürel olarak <i>E. coli</i> ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (<i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i>) tespiti	47
Tablo 4.3: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan salatalık örneklerinde (n=30) kültürel olarak <i>E. coli</i> ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (<i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i>) tespiti	49
Tablo 4.4: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan domates örneklerinde (n=30) kültürel olarak <i>E. coli</i> ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (<i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i>) tespiti	51
Tablo 4.5: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan marul örneklerinde (n=30) kültürel olarak <i>E. colive</i> Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (<i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i>) tespiti	53

Tablo 4.7:İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan ıspanak örneklerinde (n=30) kültürel olarak <i>E. colive</i> Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (<i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i>) tespiti	57
---	----

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sebzeler içerdikleri lif, vitamin, mineral madde, su, karbonhidrat ve protein gibi maddeler bakımından zengin olmaları nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır. Ülkemizde yüksek oranda üretilmesi nedeni ile fazla miktarda tüketilmektedir. Ayrıca, başta bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesi olmak üzere, immün sistemin güçlendirilmesi bakımından da faydalı bir gıda maddesidir.

Sağlık açısından faydaları olan sebzeler, tarladan sofraya kadar geçen sürede gerekli hijyenik koşulların sağlanamadığı durumlarda, çeşitli mikrobiyal patojenlerin bulaşmasına maruz kalarak insan sağlığına zararlı da olabilmektedir. Bilindiği gibi gıda kaynaklı hastalıklar, sağlık konusu bakımından Dünya’ da önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle gıdalarda bulunan mikrobiyal patojenlerin tespiti ve önlenmesi gıda güvenliği açısından önem taşımaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklara neden olan en önemli mikroorganizma *Escherichia (E.) coli*’ dir.

E. coli, doğal olarak sıcak kanlı hayvanların (sığır, koyun, keçi vs.) bağırsak floralarında bulunur ve hastalığa neden olmazlar. Ancak hayvansal kökenli olan *E. coli*’lerin bazı suşları insanlarda önemli hastalık ve ölümlere yol açmaktadır.

Patojen *E. coli* suşlarının bazıları, Shiga toksin adı verilen bir toksin salgılamaktadır. Aslında bu toksin “Shiga like toksin”dir ve ilk olarak *Shigella*’larda bulunduğu için Shiga toksin olarak adlandırılmıştır. Daha sonra *E. coli*’nin, böyle bir toksin üretme özelliği tespit edildiğinden, buna Shiga toksine benzer toksin anlamında Shiga like toksin denilmiştir. Maymunlarda bulunan, Vero hücre kültürlerinde etkisinden dolayı Verotoksin olarak da adlandırılmaktadır.

Shiga like toksin üreten *E. coli* (STEC) aynı zamanda verotoksin üreten *E. coli* (VTEC) olarak da isimlendirilmektedir. Shiga like toksin 1 ve 2 olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Shiga like toksin 2, Shiga like toksin 1’ e göre daha güçlü bir toksindir ve ciddi enfeksiyonlara neden olan *E. coli* suşları ile ilişkilidir. Bu toksinlere ek olarak *E. coli* suşlarının patojenitelerinin değerlendirilmesinde, bakteri hücre duvarındaki intimin önemli bir rol oynamaktadır. İntimin sayesinde *E. coli* bakterilerinin bağırsak epiteline yapışması mümkün olmaktadır. Bu şekilde patojen *E.*

coli suşları bağırsaklarda kolonize olmakta ve hastalık oluşturabilmektedir (Mora ve ark. 2011).

Bakterinin belirlenmesi için yapılan kültür bazlı yöntemler, besiyerlerinde bakterilerin hızla çoğalması ya da gözle görülür kolonilerin oluşmasını sağlamaktadır (Keer ve Birch, 2003). Ancak, kültür bazlı yöntemler, izole edilen mikroorganizmaların patojenitesi hakkında kesin bir bilgi vermemektedir. Klasik olarak yapılan biyokimyasal ve ELIZA yöntemleri ile *E. coli*' lerin patojeniteleri hakkında yine de kesin bir bilgi elde edilememektedir. Bu nedenle geleneksel kültür bazlı yöntemler kullanılarak öncelikle mikroorganizmaların varlığı canlılığına göre tespit edilmekte; daha sonra ise DNA tabanlı teknikler kullanılarak *E. coli*' lerin patojen suşları saptanabilmektedir. Moleküler teknikler tek bir örnekte mevcut mikroorganizmaların içerisinde spesifik olarak hedef mikroorganizmanın tanımlanmasını sağlamaktadır. Buna karşılık, kültür yöntemi çalışmalarda seçici (selektif) besiyerleri sayesinde sadece bu ortamlara spesifik üreyebilen mikroorganizmaların tespiti mümkündür. Ayrıca Real-Time PCR gibi DNA bazlı tekniklerde, üreme yeteneğine sahip mikroorganizmaların yanında, üreme ve yaşama kabiliyetini yitirmiş hücreler de tespit edilebilmektedir (Malorny ve ark. 2008).

Bu çalışmada; İstanbul ilinde satılan sebzeler *E. coli* bakımından incelenmesi, *E. coli* izole edilen izolatlarda bunların *stx1*, *stx2* ve *eae* patojen marker genlerinin Real-Time PCR yöntemi ile saptanması ve elde edilen sonuçlara göre hangi *E. coli* serotipi olabileceklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. *Escherichia coli*

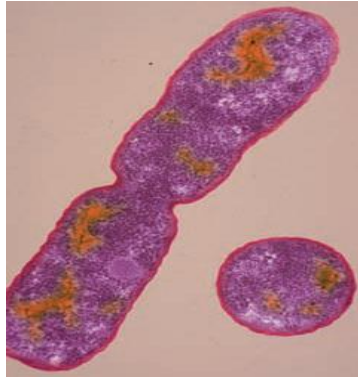
2.1.1. Taksonomi

Escherichia (E.) coli, ilk defa 1885 yılında Dr. Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarında bulunmuş ve *Bacterium coli commune* ismi verilmiştir (Mora ve ark. 2011). *Escherichia coli* adı ise 1920 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır.

2.1.2. Morfolojik Özellikleri

E. coli, çubuk şeklinde 1-5 µm uzunluğunda ve 0.3-0.4 µm kalınlığında hafif kavis ve eğrilmiş kısa çubuk formunda, gram negatif bir bakteridir. Hareketli ve hareketli olmayan kamçıları vardır ve fizyolojik olarak birçok habitata uyum sağlamaktadır (Torres, 2011).

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile *E. coli* görüntüleri Şekil 2.1' de gösterilmiştir (Black, 2008).



a)TEM



b) SEM

Şekil 2.1: Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) karşılaştırılması (Black, 2008)

2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri

E. coli, oksidaz negatif, katalaz pozitif olan ve laktoz fermente edebilen düz çubuklardır. Yapılan hücre testlerinde Metil-Kırmızı testi pozitif, Voges-Proskauer testi ise negatiftir. Hücreler, sitrat kullanmazlar, H₂S ya da lipaz üretmezler ve üre hidrolizi yapmazlar (Cabral, 2010). Fakültatif anaerob olduğu için hem oksijenli hem oksijensiz ortamda üreyebilirler. Anaerobik koşullarda fermentasyon yoluyla ürer ve son ürün olarak asit ve gaz oluşturur. Fermentasyon yapabildiği için kontamine olmuş gıdalarda ve içeceklerde, diğer gastrointestinal patajonlere göre daha kolay tespit edilmektedir. Mezofilik bir bakteri olan *E. coli*, 7-45°C arasında ve optimum olarak da 37°C' de üremektedir (Torres, 2011).

2.1.4. Antijenik Yapısı

E. coli antijenik özelliklerine göre; O (somatik hücre duvarı), H (Hauch, kamçı, flagella) ve K (kapsül) olmak üzere üç grup altında incelenmektedir (Nataro ve Kaper, 1998).

2.1.4.1. O (Somatik) Antijeni

O antijeninin polimorfik dış kısmı, iki ile yedi arasında değişen lipopolisakkaritten (LPS) oluşmaktadır. Her suş O- antijeni şeklinde *E. coli* yüzey yapısında bulunmaktadır. Bu antijen, O anti serumunda çapraz tepkime ile şekillenmektedir. Ancak, bakteri kaynatıldığı zaman O zincirleri birbirinden ayrılır ve diğer yüzey antijenleri ortada kalır. Böylece bakterinin O grubundan olduğuna karar verilir. Bu nedenle uluslararası standart prosedüre göre bir *E. coli*' nin O tipinin yazılması için bakterinin kaynatılması ve ilgili anti serumlarda seyreltme olarak aglütinasyon yapılması gerekmektedir. *E. coli* O- gruplaması için bazı ticari O anti serumları mevcuttur. Bu serumlar kullanıldığı zaman bakteri kültürünün kaynatılmasına gerek yoktur (Eklund, 2005).

2.1.4.2. H (Hauch, Kamçı) Antijeni

Flagellar olan H antijeni, suşların aktif hareketleri sayesinde fenotipin belirlenmesini sağlamaktadır. Bakterinin hareketi, *E. coli*' nin hücre yüzeyinde bulunan flagellumların dönmesi ile olmaktadır. Flagellanın alt birimi olan flagellum H-antijenine uygun protein taşımaktadır. Hareketsiz (Nonmotile=NM) olan suşların hareketsizlik özelliği genlere bağlıdır (Eklund, 2005).

2.1.4.3. K (Kapsül) Antijeni

K antijeninin varlığı ilk kez bakteriyel aglütinasyon testleri ile belirlenmiştir. Bir *E. coli* suşu, O antiserumunda inaglütinasyon olmuş ve ısıtıldığında ise K antijeninin varlığını belirten aglütinasyon oluşmuştur. Birkaç farklı molekül yapıları üzerinde çalışan uzmanlar K antijeninin polisakkarit içerdiğini gözlemlemişlerdir (Nataro ve Kaper, 1998).

2.2. *E. coli*' nin Patolojik Grupları

E. coli sebep olduğu hastalıklara göre farklı patotiplere ayrılmaktadır. Her patotip farklı virülans faktörleri ile farklı hastalık semptomlarına neden olmaktadır (Marrs ve ark. 2005).

2.2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonuna Neden Olan Patojen *E. coli*

2.2.1.1. Üropatojenik *E. coli* (UPEC)

İnsanlarda en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardan biri idrar yolları enfeksiyonlarıdır. Üropatojenik *E. coli* (UPEC) suşları, idrar yolları enfeksiyonlarının en önemli nedenidir ve erişkinlerde görülen komplike vakaların %80' inden sorumludur (Walters ve ark. 2012).

2.2.2. Diyareye Neden Olan Patojen *E. coli* Türleri

2.2.2.1. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

ETEC, ilk kez 1960' lı yıllarda diyare ile ilişkilendirilmiştir. Genellikle küçük çocuklarda dehidratasyona ve malnütrisyona yol açan birkaç gün süren bol sulu diyare ile karakterize edilmektedir (Cabral, 2010). Diğer enterik patojenlere göre ETEC' te karın ağrısı ve kusma daha az görülmektedir (Okeke, 2009).

ETEC suşlarının neden olduğu diyare "turist diyaresi" olarak da bilinmektedir. Bu grup önce koloni oluşturmakta sonra da enterotoksin üretmektedir. Bu suşlar, ya ısıya duyarlı enterotoksin (heat-labile=LT) ya ısıya dayanıklı enterotoksin (heat-stable=ST) ya da her iki toksini de beraber üretmektedirler (Johnson ve Nolan, 2009). LT toksini, 60⁰C' de 10 dakika kaynatıldığında inaktif olurken; ST toksini, 100⁰C' de 10 dakikada inaktif olmaktadır (Takeda, 2011). En sık görülen ETEC suşları; O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O85, O115, O128ac, O148, O159 ve O167' dir (Yoon ve Hovde, 2008).

2.2.2.2. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

EPEC, ilk defa 1940 yılı yaz aylarında çocuklarda görülmesiyle tanımlanmıştır. EPEC' in semptomları; diyare, kusma, ateş ve halsizliktir (Johnson ve Nolan, 2009). Bu mikroorganizma tutunma ve yapışma (A/E; Attaching-Effacing) lezyonları oluşturarak bağırsak epitel hücrelerine bağlanmaktadır (Eklund, 2005).

EPEC suşları; tipik ve atipik olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır (Bardiau ve ark. 2011). En sık görülen EPEC suşları; O26, O55, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128ab, O142 ve O158' dir (Johnson ve Nolan, 2009).

2.2.2.3. Enteroaggregative *E. coli* (EAEC)

EAggEC olarak bilinen bu bakteri, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda akut ve uzun süreli diyareye neden olmuştur. İlk defa 1987 yılında Nataro ve arkadaşları tarafından isimlendirilmiştir (Eklund, 2005). EAEC' nin tipik özelliği yayılmış yapışma ya da yığın şeklinde olmasıdır (Okeke, 2009). Geniş bir heterojen

gruba sahip olan EAEC suşlarının yaklaşık 90 tane serotipi tanımlanmıştır. En yaygın olan serotipler; O15:H18, O44:H18, O77:H18, O111:H12, O125 ve O126' dır (Eklund, 2005).

2.2.2.4. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC ilk kez 1944 yılında *Paracolon bacillus* olarak tanımlanmış ve daha sonra *E. coli* O124 olarak adlandırılmıştır. EIEC enfeksiyonunun tipik özelliği olan kanlı diyare, 1971 yılında, gelişmemiş ülkelerde görülmüştür. EIEC suşları genel olarak hareket etmezler. EIEC suşunun tipik özelliği invaziv (yayılımcı) olup insanlarda kalın bağırsak epitel hücrelerinde çoğalma yeteneğine sahip olmasıdır. Hastalık semptomları; mide krampları, diyare, kusma, ateş, titreme ve halsizlikle karakterize edilmiştir (Cabral, 2010). En sık görülen EIEC suşları; O28ac, O29, O112ac, O121, O124, O135, O136, O143, O144, O152, O159, O164, O167 ve O173' dür (Eklund, 2005).

2.2.2.5. Diffüz adherent *E. coli* (DAEC)

DAEC, 1-5 yaş arasındaki çocuklarda diyareye neden olan patojenik bir *E. coli* türüdür (Yoon ve Hovde,2008). Adından da anlaşılacağı gibi difüz aderans *E. coli* (DAEC), epitel hücrelerine difüz bağlılık göstermektedir (Okeke, 2009). DAEC, LT ve ST toksinlerini üretmez. EPEC gibi epitel hücrelerine bağlanma plazmidine sahip değildir. Bu mikroorganizmanın karakteristik özelliği HEp-2 hücrelerin olmasıdır. En sık görülen DAEC serotipleri; O1, O2, O21 ve O75' dir (Yoon ve Hovde, 2008).

Patojen *E. coli* suşlarının isimlendirilmesi ve sınıflandırılması Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1: Patojen *E. coli* suşlarının isimlendirilmesi ve sınıflandırılması

Kısaltma	İsim	Alt bölümü	Virülans özelliği	Hastalık	Gıda Hijyeninde Önemi
EPEC	Enteropatojenik <i>E. coli</i>	Sınıf I	Yapışma yeteneği (LEE ¹ , EAF ² Plazmid)	Bebek diyaresi	+
ETEC	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	Sınıf II LT Toksini ³ ST toksini ⁴	Yapışma yeteneği (LEE) Enterotoksin Kolonizasyon faktörü	Turist diyaresi	++
EIEC	Enteroinvasiv <i>E. coli</i>		İnvasiv, Enterotoksin	Dizanteri benzeri diyare	+
EHEC	Enterohemorajik <i>E. coli</i>		Verotoksin/Shiga-toksin, Yapışma yeteneği (LEE),(Enterohemolisin)	Diyare, HC ⁵ , HUS ⁶ , TTP ⁷	+++
EaggEC/EAEC	Enteroaggregatif <i>E. coli</i>		Enterotoksin (EAST1 ⁸), Yapışma yeteneği	Kalıcı diyare, seyahat diyaresi	+
DAEC	Diffüz-adherent <i>E. coli</i>		Adhezyon	İnfanal diyare	-
NTEC	Nekrotoksijenik <i>E. coli</i>		CNF ⁹ 1	Diyare, ekstraintestinal hastalıklar	-
CLDTEC	Sitoletal Distansiyon Toksini Üreten <i>E. coli</i>		CNF 2 Sitoletal distansiyon toksini (CDT I-V ¹⁰)	(İnfanal diyare)	-
CDEC/DHEC	Diyare ile ilişkili hemolitik <i>E. coli</i>		α – hemolizin	(İnfanal diyare)	-

Kaynak : Bülte ve Goll, 2006.

2.2.2.6. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

EHEC' in patojen *E. coli* sınıfında bulunması iki önemli çalışmaya dayanmaktadır. Birinci çalışma, Riley ve arkadaşlarının 1983 yılında iki salgın hakkında yaptıkları araştırmadır. Hastalarda kramp şeklinde karın ağrısı, sulu ve kanlı diyare gibi tipik sindirim sistemi semptomlarına rastlanmıştır. Bu hastalık önce hemorajik kolit (HC) olarak tanımlanmış ve bir fast food zincirindeki iyi pişmemiş hamburgerlerden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu hastalardan alınan dışkı örneklerinde, daha önceden nadir görülen bir *E. coli* serotipi olan *E. coli* O157:H7' ye rastlanmıştır. İkinci çalışmada Karmali ve arkadaşları 1983 yılında dışkıda fekal sitotoksin ve

¹ Enterosit silme lokusu

² EPEC uyum faktörü

³ Isıya duyarlı enterotoksin

⁴ Isıya dayanıklı enterotoksin

⁵ Hemorajik kolitis

⁶ Hemolitik üremik sendrom

⁷ Trombotiktrombositopenik purpura

⁸ EAEC stabil toksin

⁹ Sitotoksik nekrotizan faktör ısısı

¹⁰ Sitoletal distansiyon toksini

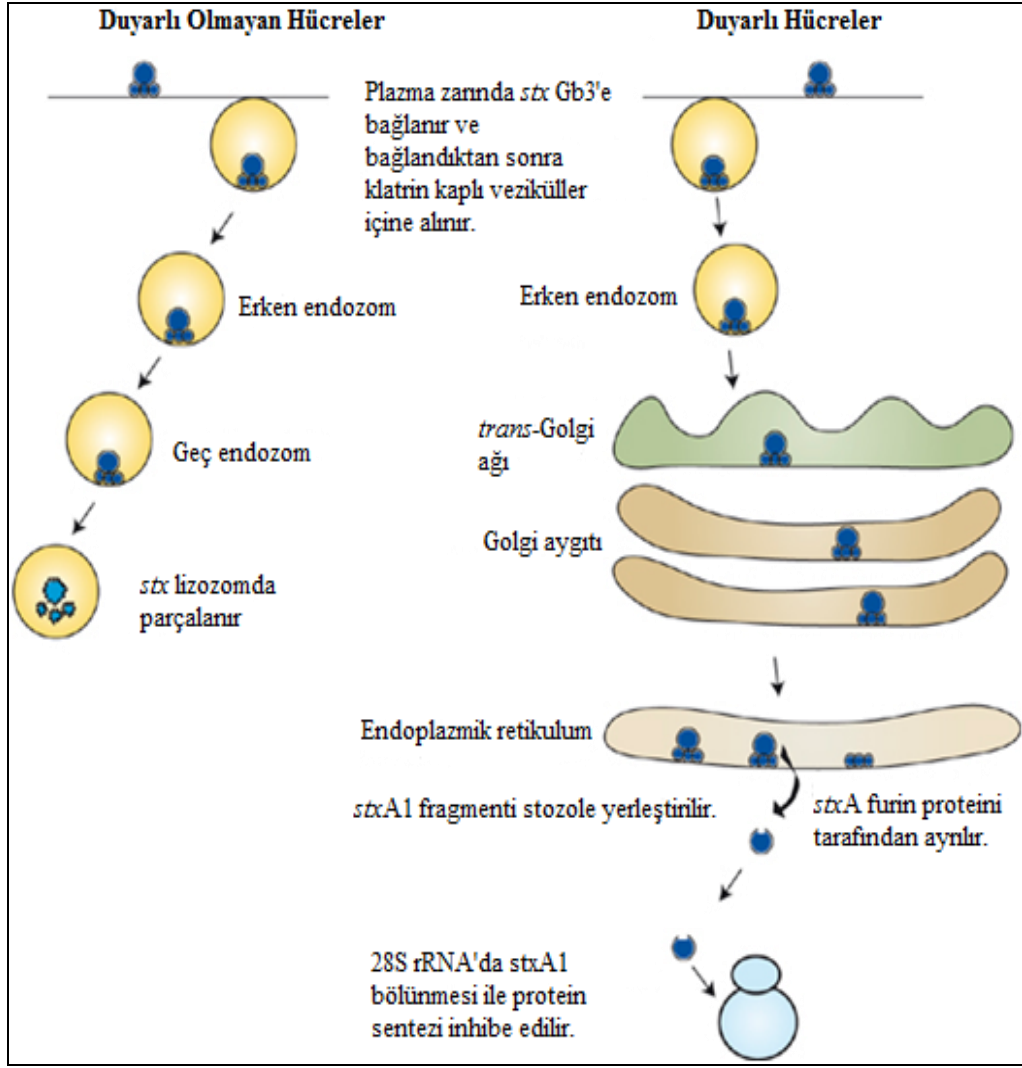
sitotoksin üreten *E. coli* ile hemolitik üremik sendrom (HÜS) arasındaki ilişkiyi rapor etmişlerdir (Nataro ve Kaper, 1998).

Shiga toksin ilk olarak Konawalchuk ve arkadaşları tarafından 1977 yılında tanımlanmış olup, kolay ayırt edilebilen ve ısıya karşı dayanıksız bir enterotoksin ürünü olduğu belirtilmiştir (Jenkins ve ark. 2008). EHEC suşlarının karakteristik özelliği Shiga toksin salgılamasıdır. Shiga toksin, *Shigella* tarafından salgılanan bir toksindir. Ancak, evrimsel süreçte *E. coli*' ye geçmiştir.

EHEC' in çok farklı suşları olup, Shiga toksin 1 ve Shiga toksin 2 olmak üzere iki farklı Shiga toksin salgılanmaktadır (Panos ve ark. 2006). *E. coli*' nin ürettiği Shiga toksin ile *Shigella dysenteriae* tip I' in ürettiği Shiga toksin birbirine çok benzemektedir. İki toksin arasında sadece 1-7 amino asit farklılığı vardır. *Stx1* ve *stx2* genlerinin amino asit dizilimleri %60 aynıdır. Bu nedenle EHEC bakterilerine Shiga Toksin Üreten *E. coli* (STEC) de denilmektedir (EFSA, 2011).

Shiga toksinler AB₅ molekül yapısına sahiptir. 1 A-alt ünitesi ile 5 B-alt ünitesinden meydana gelmektedir (Lee ve ark. 2010). 5 B-alt birimi kalın halka şeklinde bir yapı oluşturmaktadır. A-alt birimi ise bu halkaya kovalent olmayan bir şekilde bağlanmaktadır (Eklund, 2005). A-alt birimi protein sentezi inhibitörü iken, B-alt birimi konak hücrenin yüzeyinde bulunan globotriasileramite (Gb3) bağlanma yeteneğine sahiptir. Stx toksininin B-alt birimi Gb3' e bağlandıktan sonra, A-alt birimi hücrenin içerisine girmektedir (Lee ve ark. 2010). Daha sonra, A-alt birimi hücre içerisinde proteaz tarafından parçalanarak aktif A₁ ve A₂ fragmentleri oluşmaktadır. A₁ fragmenti, protein sentezi sırasında olan peptid zinciri uzama basamağını etkileyerek hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Eklund, 2005).

Shiga toksinin etki mekanizması Şekil 2.2' de verilmiştir (Paton ve Paton, 2006).



Şekil 2.2: Shiga toksinin etki mekanizması (Paton ve Paton, 2006)

Shiga toksin 1 ve 2' nin farklı çeşitleri vardır. Shiga toksin 1 ve 2, A veya B alt birimlerinde bulunan bir veya iki amino asit farklılıklarına göre birbirinden ayrılmaktadır (Eklund, 2005).

Bülte ve Goll (2006); tarafından oluşturulan Shiga toksin 1 ve 2' nin amino asit sekans türevleri Tablo 2.2 ve Tablo 2.3' de verilmiştir.

Tablo 2.2: *E. coli* suşlarındaki Shiga toksin 1' in amino asit sekans çeşitleri

Toksin Çeşidi	<i>StxI</i> ile homolog nükleotid dizisi		Kaynak	Açıklama
	A ¹	B ²		
<i>StxI</i>	%100	%100	Scotland ve ark. 1985; Strockbine ve ark.1986	
<i>StxIc</i>		%95	Zhang ve ark. 2002	Paton ve ark. 1995
<i>StxId</i>		%91	Bürk ve ark. 2003	<i>Stx 1v51</i> ve <i>STX 1v52</i> amino asit dizisi aynıdır ve Ohmura-Hoshino ve ark. 2003
<i>Stx1v51</i> , <i>Stx1v52</i>	k.A ³ (%94 AS)	k.A (%92 AS)	Ohmura-Hoshino ve ark. 2003	<i>Stx 1v51</i> ve <i>Stx 1v52</i> amino asit dizisi aynıdır ve BÜRK ve ark. 2003
<i>StxI</i> -Varyant mit IS1203v ₁		k.A	Suzuki ve ark. 2004	

Kaynak: Bülte ve Goll, 2006.

Tablo 2.2' de Shiga toksin 1 olarak bilinen en eski grup seçilmiştir (Strockbine ve ark. 1986). Zhang ve arkadaşları (2002); *stxI*, 1c toksinini insanlardan izole edilen suşlardan elde etmişlerdir. Bürk ve arkadaşları (2003); *stx 1d* toksinini tanımlamışlardır. Ohmura-Hoshino ve arkadaşları (2003); *stx1v51* ve *stx1v52* toksinlerini belirlemişlerdir. Diğer yazarlar, *stx-1*' in bir çeşidi olarak IS1203v₁' i tanımlamışlardır (Suzuki ve ark. 2004).

Tablo 2.3: *E. coli* suşlarındaki Shiga toksin 2' nin amino asit sekans çeşitleri

Toksın Çeşidi	Stx2 ile homolog nükleotid dizisi		Kaynak	Açıklama
	A ¹	B ²		
<i>Stx2</i>	%100	%100	Strockbine ve ark. 1986	
<i>Stx 2vh</i> (<i>Stx 2vh-a</i> , <i>Stx 2vh-b</i>)	%98,6	%95,5	Ito ve ark. 1990	WHO 1991, <i>Stx 2c</i> sınıflandırması; <i>Stx 2d</i> (<i>Stx 2d1</i> , <i>Stx 2d2</i>) için
<i>Stx 2vh</i>	%99	%95	Meyer ve ark. 1992	
<i>Stx 2va</i>	%69,5	%78,1	Gannon ve ark. 1990	Schmidt ve ark. 2000; <i>Stx 2f</i>
<i>Stx 2c</i>	%99,7	%95,2	Schmitt ve ark. 1991	WHO 1991; <i>Stx 2vh-a</i> ve <i>Stx 2vh-a</i>
<i>Stx 2e</i>	%94	%79	Weinstein ve ark. 1988	Aslında <i>Stx 2v</i>
<i>Stx 2d</i> (<i>Stx 2d1</i> , <i>Stx 2d2</i>)	(<i>Stx 2vh</i>)		Melton-Celsa ve ark. 1998	Pierard ve ark. 1998; <i>Stx 2d</i> ile aynı değil; Ito ve ark. 1990; <i>Stx 2vh</i> ile aynı.
<i>Stx 2d</i> (<i>Stx 2d ount</i> , <i>stx 2d O111</i> , <i>stx 2d Ox3a</i>)	%94,9	%86,6	Pierard ve ark. 1998	Melton-Celsa ve ark. 1998; <i>Stx 2d</i> ile aynı değil.
<i>Stx 2f</i>	%63,4	%75,4	Schmidt ve ark. 2000	
<i>Stx 2g</i>	k.A (%63-94,9)	k.A (%76,7-90,7)	Leung ve ark. 2003	
<i>Stx 2-NV206</i>	k.A (%94,5-99,0)	k.A (%81,5-96)	Bertin ve ark. 2001	

Kaynak: Bülte ve Goll, 2006.

2.2.2.6.1. İntimin

İntimin, *E. coli*' nin bağırsak lümenine tutunma ve yapışmasını sağlayan bir hücre duvarı yapısıdır. Bakterinin, konak hücrenin mikrovilluslarına yapışmasını sağlamaktadır (Bülte ve Goll, 2006). İntimin varlığı, *eae* geninin tespiti ile yapılır ve bulunduğu *E. coli*' ler diyare gibi hastalıklara neden olmaktadır. Ancak intimin ve Shiga toksin özelliklerinin beraber bulunduğu *E. coli*' ler ciddi hastalıklara neden olmaktadır (Öngen, 2008).

2.3. Gıda Kaynaklı *E. coli* ve Gıda Güvenliği Sorunları

Dünya Sağlık Örgütü, gıda kaynaklı mikrobiyal patojenlerin sebep olduğu diyare nedeniyle 1.8 milyon insanın öldüğünü bildirmiştir (WHO, 2007). Özellikle sanayileşmiş ülkelerde nüfusun yaklaşık %30' nun gıdaya bağlı rahatsızlıklardan şikayetçi oldukları raporlanmıştır.

Gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkeler için istatistiksel verilerin eksikliği nedeniyle gıdalar yoluyla oluşan salgınların ve hastalıkların tahmin edilen rakamlarının resmi rakamların çok üzerinde olduğu düşünülmektedir.

Gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan başlıca mikrobiyal patojenler arasında *E. coli* ilk sıraları almaktadır. WHO, yayımladığı son güncel raporunda (22 Temmuz 2011) 16 Avrupa Ülkesi ve Kuzey Amerika için *E. coli* bulaşması ve HÜS vakası olarak toplam 4075 bulaşma ve 50 ölüm raporlamıştır.

Tablo 2.4' de Dünya genelinde *E. coli* O104:H4 bulaşma ve HÜS vakalarının konsolide durumu verilmektedir.

Tablo 2.4: *E. coli* O104:H4 bulaşma ve HÜS vakasının Dünya genelindeki durumu

Ülke	HÜS		EHEC	
	Vaka	Ölüm	Vaka	Ölüm
Avusturya	1	0	4	0
Kanada	0	0	1	0
Çek Cumhuriyeti	0	0	1	0
Danimarka	10	0	15	0
Fransa	7	0	10	0
Almanya	857	32	3078	16
Yunanistan	0	0	1	0
Lüksemburg	1	0	1	0
Hollanda	4	0	7	0
Norveç	0	0	1	0
Polonya	2	0	1	0
İspanya	1	0	1	0
İsveç	18	1	35	0
İsviçre	0	0	5	0
İngiltere	3	0	4	0
Amerika Birleşik Devletleri	4	1	2	0
Toplam	908	34	3167	16

Kaynak: WHO, 2011.

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 6 kişiden 1'inin ya da yaklaşık 48 milyon kişinin gıda kaynaklı bir sebeple hastalandığı, 128 bininin tıbbi müdahale gördüğü ve yaklaşık 3.000 ölüm olduğu tahmin edilmektedir (CDC, 2011).

Gıda kaynaklı mikrobiyal patojen salgınların başında *E. coli* kaynaklı olanlar ilk sıralarda yer almaktadır. Dikkat çekici ilk *E. coli* salgını 1982 yılına kadar uzanmakta olup; bu salgın nedeniyle hastalanan ve yaşamını kaybeden insanlar raporlanmıştır. *E. coli*'nin kitlesel şekilde tanınırlığının olması ilk 1994 yılında gerçekleşmiştir. *E. coli* bulaşmış hamburgerleri tükettikleri için 600'ü aşkın kişi hastalanmış ve içlerinden 4'ü hayatını kaybetmiştir. Gıda endüstrisinde *E. coli* ve çoğu mikrobiyal patojenler için; hızlı ve kesin sonuç verecek tespit yöntemleri geliştirme sürecinin başlaması 1994 salgını sebebiyle olmuştur. Kaliforniya Eyaletinde 2006 yılında sebzelere *E. coli*

bulaşması sebebiyle gerçekleşen başka bir salgında ise 200' ü aşkın insan hastalanmış ve içlerinden 3' ü ölmüştür. Bu salgının, Kaliforniyalı çiftçilere verdiği maddi zararın boyutunun ise 74 milyon US\$ olduğu tahmin edilmektedir. Bu olaydan yaklaşık iki ay sonra ünlü fast food zincirleri TacoBell ve TacoJohn' s restoranlarında gıda kaynaklı *E. coli* sebebiyle 71 hastalık vakası raporlanmıştır. *E. coli*; Topps Et ve Et Ürünleri Şirketinin 2007 yılında ticari faaliyet sahasından çekilmesine dahi sebep olmuştur. Hamburger köftesi yapımında kullanılacak olan 47.7 bin ton et, *E. coli* O157:H7 tespit edilmesi üzerine imha edilmiştir. *E. coli* O157:H7 2009 yılında milföy ve kurabiye hamuru satın alan ve tüketen 69 kişinin hastalanmasına sebep olmuştur (Food Industry Watch, 2010).

Almanya' nın Hamburg kentinde Mayıs 2011' de ortaya çıkan *E. coli* salgını tüm Avrupa Birliği Ülkeleri için bu mikrobiyal patojenin insan sağlığı ve ekonomik açıdan riskleri bir kez daha somut şekilde ortaya koymuştur. Bu vakada *E. coli* bulaşması sebebiyle 2000' i aşkın kişiye tıbbi müdahale yapılmış olup; 17 ölüm vakası ise rapor edilmiştir. Alman, İspanyol ve Hollandalı sebze üreticilerinin maddi zararlarının 240 milyon Euro' yu bulduğu bildirilmiştir. Avrupa Birliğinin, Rusya Federasyonuna yıllık 4 milyar Euro mertebesinde olan meyve ve sebze ihracatında ciddi düşüş görülmüştür. Kuzey Almanya' da salatalık, domates ve yeşil yapraklı sebze satışları %90 azalmıştır. Belki de en önemli sonuç salgının gerçek kaynağının saptanamamış olmasıdır (Glotz, 2011).

İngiltere ve Galler' i kapsayan geniş kapsamlı bir araştırma 1992-2000 yılları arasında yapılmıştır. Yerli olarak üretilen gıdalar yüzünden 1995 yılında gerçekleşen ve bildirilmiş olan hastalık verileri incelenmiştir. 2 milyon 365 bin 909 vakanın olduğu görülmüştür. Bu rakamın 21 bin 138' ine tıbbi müdahale yapılmış ve 718' i ölümlerle sonuçlanmıştır. 2000 yılına gelindiğinde vaka sayısının 1 milyon 338 bin 772' ye düştüğü; 20 bin 759 tıbbi müdahalenin yapıldığı ve 480 ölümün raporlandığı görülmüştür. Bu rakamlara yol açan mikrobiyal patojenler arasında Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) O157' nin neden olduğu, zararın büyüklüğüne göre listede üçüncü sırada yer aldığı bildirilmiştir. (Adak ve ark. 2002).

Japonya’ da 1993 yılında bildirilen bir *E. coli* O157:H7 salgını neticesinde ise okul dönemi 2 bin 700 öğrencinin tıbbi müdahaleye maruz kaldığı bildirilmiştir (Scheutz, 2011). WHO, Avrupa Gıda Kaynaklı Enfeksiyon ve İntoksikasyon İzleme Programı kapsamında 1999-2000 yıllarını kapsayan Türkiye Ülke Raporunda “Gıda Kaynaklı Salgın ve Hastalıklar” hakkında dikkat çekici bilgiler vermektedir (Tablo 2.5). Bu rapora göre gıda kaynaklı hastalıklar arasında Salmonellozis ilk sırayı almaktadır. Ancak, ilginç şekilde *E. coli* hakkında raporlanmış veri görülmektedir. Özellikle ülkemizde yapılan epidemiyolojik *E. coli* prevalansını inceleyen bilimsel araştırmalar ise mevcut durumun tam tersini söylemektedir. Buna göre ülkemizde *E. coli*’ nin enteritia vakasının olmadığı bildirilmektedir. Bu da gerçekçi bir rapor değildir.

Tablo 2.5: Türkiye’ de 1999-2000 yılları itibariyle Gıda Kaynaklı Enfeksiyon ve İntoksikasyon İstatistikleri

	1999		2000	
	Vaka Sayısı	İnsidansı %	Vaka Sayısı	İnsidansı %
Salmonellozis	28.884	43.9	26.498	39.2
Staphylococcosis	0	0.0	0	0.0
Botulizm	96	0.1	18	0.0
Campylobacteriozis	0	0.0	0	0.0
Shigellozis	1.120	1.7	1.093	1.6
<i>E. coli</i> enteritis	0	0.0	0	0.0
Listeriozis	0	0.0	0	0.0
Kolera	0	0.0	0	0.0
Brusellozis	11.462	17.4	10.742	15.9
Diğer bakteriyel gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve zehirlenmeler	5.146	7.8	4.672	6.9
Hepatit A	14.323	21.8	10.435	15.4
Diğer viral enfeksiyonlar	0	0.0	0	0.0
Echinococcosis	0	0.0	0	0.0
Trichinellosis	0	0.0	0	0.0
Giardiazis	0	0.0	0	0.0
Amoebiazis	22.980	34.9	23.723	35.1
Mantar zehirlenmeleri	329	0.5	334	0.5
Bilinmeyen bulaşıcı enfeksiyonlar	0	0.0	0	0.0
Toplam	84.340	128.1	77.515	114.6

Kaynak: WHO, 2011.

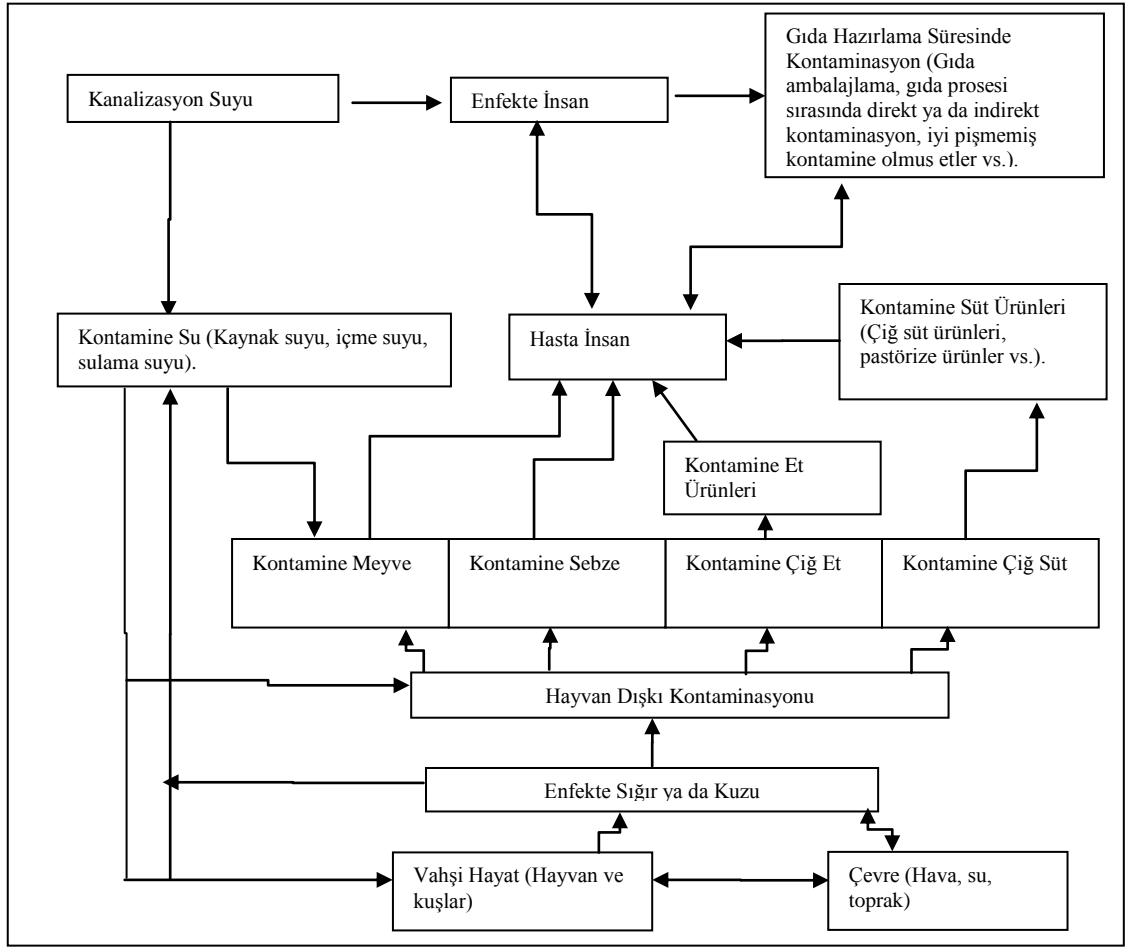
2.3.1. *E. coli*' nin Gıdalarla Bulaşma Yolları

Patojen *E. coli*' nin neden olduğu salgınlar; özellikle bulaşma gerçekleşmiş gıdalar, çiğ veya az pişmiş et ve et ürünleri ile çiğ süt gibi gıdalar yoluyla ilişkilendirilmiştir. Bunun haricinde, sebzelerin hasattan tüketimine kadar geçen aşamalarda patojen *E. coli* ile bulaşma olmuş insan elinin ürünle teması riski arttırmaktadır.

Sebzeler, gıda üretiminin tüm aşamalarında *E. coli* ile kontamine olabilir. Bu bakterinin normal yaşam alanı sağlıklı sığırın bağırsağı olarak tespit edilmiştir (Cabral, 2010). Gıda kaynaklı *E. coli* salgınlarının, en büyük kaynağının sığır dışkısı olduğu bilinmektedir (Bell, 2002). Dışkının toprak ile suya karışması ve tarlalarda gübre amacıyla kullanılması hasat öncesi en başta gelen kontaminasyon kaynağı olarak kabul edilmektedir (Franz ve van Bruggen, 2008).

Özellikle enfekte olan hayvan dışkısına insanların direkt veya indirekt olarak temas etmesi, sebze üretiminde gübre kullanımı, aynı zamanda dışkı bulaşmış suların sebze üretimi ve yıkanmasında kullanılması *E. coli* bulaşma riskini arttırmaktadır (Bell, 2002). Özellikle ülkemizde sebzelerin açıkta satılması, birçok kişi tarafından ellenmesi ve ambalajlama sisteminin olmaması bulaşma riskini arttırmaktadır.

E. coli' nin bulaşma yolları Şekil 2.3' te verilmiştir.



Şekil 2.3: *E. coli*' nin mevcut bulaşma yollarının basitleştirilmiş şeması (Bell, 2002)

2.4. Gıdalarda *E. coli* için Mikrobiyolojik Sınır Değerleri

Gıdalarda mikrobiyal patojenler için kabul edilebilir üst sınır değerler bulunmaktadır. Bu değerler, her tür mikrobiyal patojen ve gıda türü için farklı şekilde tespit edilmiştir. Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği (EC) 2073/2005 farklı gıda gruplarında *E. coli*' nin kabul edilebilir üst sınır değerlerini belirlemiştir. Buna göre Avrupa Birliği' ne ihraç edilecek gıda ürünleri için, kabul ve ret kararı bu değerlere göre verilmektedir. Yönetmelik, amaç olarak iki temel esas üzerine kuruludur. İlki, Gıda Güvenliği Kriterleridir. Burada birincil amaç herhangi bir gıda ürününün piyasadan çekilene ya da toplanana kadar rafta durduğu süre zarfında mikrobiyolojik bulaşma açısından kabul edilebilir üst sınırının belirlenmesidir. İkinci hedef ise Proses Hijyen

Kriterleridir. Son tüketiciye ve rafa gelmeden önce üretim esnasında alınması gereken tedbirler ve düzeltici faaliyetler için kabul edilebilir üst sınırları ifade eder (Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği, 2005).

Tablo 2.6’ da Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği (EC) 2073/2005 numaralı tebliğinde bulunan farklı gıda grupları için *E. coli*’ nin kabul edilebilir proses hijyen kriterlerindeki üst limitleri verilmektedir.

Tablo 2.6: Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği Proses Hijyen Kriterleri’ ne göre farklı gıda grupları için *E. coli*’ nin kabul edilebilir üst limitleri

Gıda Grubu	Gıda Çeşidi	Örnek Sayısı		Limit	
		n ⁽³⁾	c ⁽⁴⁾	m ⁽⁵⁾	M ⁽⁶⁾
Et ve et ürünleri	Kıyma ⁽¹⁾	5	2	50 kob/g	500 kob/g
	Mekanik olarak ayrılmış et ⁽¹⁾	5	2	50 kob/g	500 kob/g
	Hazır et ürünleri ⁽¹⁾	5	2	500 kob/g ya da cm ²	5000 kob/g ya da cm ²
Süt ve süt ürünleri	Isıl işlem uygulanmış süt veya peynir altı suyundan üretilen peynirler ⁽²⁾	5	2	100 kob/g	1000 kob/g
	Çiğ süt veya pastörizasyondan daha düşük sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanmış süttten üretilen tereyağı ve krema ⁽²⁾	5	2	10 kob/g	100 kob/g
Deniz ürünleri	Pişmiş kabuklular ve kabuklu yumuşakçaların kabuklu ve kabuksuz ürünleri	5	2	1/g	10/g
Sebze, meyve ve ürünleri	Tüketime hazır doğranmış meyve ve sebzeler	5	2	100 kob/g	1000 kob/g
	Tüketime hazır pastörize edilmemiş meyve ve sebze suları	5	2	100 kob/g	1000 kob/g

Kaynak: Avrupa Birliği Komisyonu Yönetmeliği, 2005

- (1) *E. coli* burada hijyen indikatörü olarak kullanılmaktadır.
(2) n: Numune sayısı.
(3) c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı.
(4) m:(n – c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer.
(5) M:c sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer.

Ülkemizde de Avrupa Birliği'nde olduğu gibi gıdalarda olabilecek mikrobiyal patojenler kabul edilebilir üst sınır değerler bulunmaktadır. İlgili yönetmelik Gıda Güvenliği Kriterleri ve Proses Hijyen Kriterleri olmak üzere iki temel üzerine kurulmuştur (Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2009).

Tablo 2.7' de Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Proses Hijyen Kriterleri'ne göre farklı gıda grupları için *E. coli*'nin kabul edilebilir üst değerleri verilmektedir.

Tablo 2.7: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği Proses Hijyen Kriterleri'ne göre farklı gıda grupları için *E. coli*'nin kabul edilebilir üst limitleri

Gıda Grubu	Gıda Çeşidi	Örnek Sayısı		Limit	
		n ⁽³⁾	c ⁽⁴⁾	m ⁽⁵⁾	M ⁽⁶⁾
Et ve et ürünleri	Kıyma ⁽¹⁾	5	2	50 kob/g	500 kob/g
	Mekanik olarak ayrılmış et ⁽¹⁾	5	2	50 kob/g	500 kob/g
	Hazır et ürünleri ⁽¹⁾	5	2	500 kob/g - cm ²	5000kob/g - cm ²
Süt ve süt ürünleri	Isıl işlem uygulanmış süt veya peynir altı suyundan üretilen peynirler ⁽²⁾	5	2	100 kob/g	1000 kob/g
	Çiğ süt veya pastörizasyondan daha düşük sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanmış süttten üretilen tereyağı ve krema ⁽²⁾	5	2	10 kob/g	100 kob/g
Deniz ürünleri	Pişmiş kabuklular ve kabuklu yumuşakçaların kabuklu ve kabuksuz ürünleri	5	2	1/g	10/g
Sebze, meyve ve ürünleri	Tüketime hazır doğranmış meyve ve sebzeler	5	2	100 kob/g	1000 kob/g
	Tüketime hazır pastörize edilmemiş meyve ve sebze suları	5	2	100 kob/g	1000 kob/g

Kaynak: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 29.12.2011-28157.

Tablo 2.8' de Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği Tüketime Hazır Gıda Grupları için *E. coli* Kabul Edilebilir Üst Sınır Değerleri verilmektedir.

- (1) *E. coli* burada fekal kontaminasyon indikatörü olarak kullanılmaktadır.
(2) *E. coli* burada hijyen indikatörü olarak kullanılmaktadır.
(3) n: Numune sayısı.
(4) c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı.
(5) m:(n – c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer.
(6) M:c sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer.

Tablo 2.8: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği *E. coli* için Gıda Güvenliği Kriterleri

Gıda Grubu	Mikroorganizma	Gıda Çeşidi	Örnek Sayısı		Limit	
			n ⁽²⁾	c ⁽³⁾	m ⁽⁴⁾	M ⁽⁵⁾
Et ve et ürünleri	<i>E. coli</i> O157	Kıyma	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157	Çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımları	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157	Fermente (sucuk vb.)	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157	Mekanik olarak ayrılmış kırmızı ve kanatlı eti	5	0	0/25 g-mL	
Süt ve süt ürünleri	<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Fermente süt ürünleri (kefir, yoğurt, meyveli vb yoğurtlar, ayran vb)	5	0	<3	
	<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Koyulaştırılmış süt	5	0	<3	
	<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Eritme peynirler ve eritme peynir ürünleri	5	0	<10 ¹	
Hububat ve fırıncılık ürünleri	<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Nişasta	5	0	<10 ¹	
	<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Tartlar ve yaş pastalar (kremalı, çikolatalı, dolgulu, meyveli vb.)	5	0	<3	
	<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Canlı çift kabuklu yumuşakçalar, canlı deniz kestaneleri, canlı gömlekliler ve canlı deniz karından bacaklıları	5	0	<3	
Meyve suları, alkolsüz içecekler ve benzerleri	<i>E. coli</i> O157	Doğrudan sıkılmış, pastörize edilmemiş, soğukta muhafaza edilmesi gereken, tüketime hazır meyve ve sebze suları	5	0	0/25 g-mL	
Kakao ve kakao ürünleri, çikolata ve çikolata ürünleri	<i>E. coli</i>	Helva, pekmez, lokum, baklava ve diğer şerbetli tatlılar, ezme, cezerye, fındık ve fıstık ezmeleri, şekerlemeler vb.	5	0	<10 ¹	
Hazır yemekler	<i>E. coli</i>	Tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb.	5	2	<10 ¹	10 ¹
	<i>E. coli</i>	Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü unlu mamul (makarna, her türlü börek, lahmacun, pide, pizza, mantı vb.)	5	0	<10 ¹	

Kaynak: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 29.12.2011-28157

(1)En Muhtemel Sayı (EMS) Yöntemi; (2) n: Numune sayısı; (3) c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı; (4) m:(n – c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer; (5)M:c sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer.

2.4.1. Gıdalar Yoluyla Alınan *E. coli*' de Enfektif Doz Miktarı

Patojen bir mikroorganizmanın, hastalığa neden olabilecek minimum sayısına enfektif doz denilmektedir. *E. coli* serotiplerinin hastalık yapabilmesi için belli bir doz ya da koloni sayısı olarak vücuda alınması gerekmektedir. Genellikle kontamine olmuş gıdanın yenilmesinden 26 saat sonra ortaya çıkan hastalığın yetişkinlerde ETEC serotipinin enfektif dozu, 10 milyondan 10 milyar koloniye kadar çıkmaktadır. Çocuklarda ise daha küçük dozları hastalığa neden olabilmektedir.

EPEC serotipinin bebeklerde hastalık yapabilmesi için çok düşük doz yeterlidir. Yetişkinlerde ise bu doz 10 milyon ile 10 milyar arasındadır. EPEC' in, kontamine olmuş gıdanın yenilmesinden 4 saat sonra semptomları ortaya çıkmaktadır. EHEC O157' nin enfektif dozu 10 ila 100 koloni arasında olup, çok düşüktür. Diğer EHEC suşlarının enfektif dozu bu suştan biraz daha yüksektir. Semptomları ise 3 ila 4 gün içinde ortaya çıkmaktadır. EIEC' nin enfektif dozu 10 kolonidir. Semptomları genellikle kontamine gıda alımından 12-72 saat sonra ortaya çıkmaktadır (FDA, 2012).

2.5. Gıdalarda *E. coli* Analiz Yöntemleri

Gıdalarda, hastalık yapıcı mikrobiyal patojenlerin tespit edilmesi için başta geleneksel kültür bazlı mikrobiyolojik yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde küreselleşen Dünya ve serbest ticaret nedeniyle herhangi bir gıda ürünü bir ülkeden uzak başka bir ülkeye rahatlıkla gönderilmektedir. Bu yoğun ve küresel gıda trafiğinin insan sağlığına risk teşkil edecek mikrobiyal patojenlerce bulaşma olup olmadığının hızlı ve kesin şekilde tespit edilmesi önem kazanmaktadır.

Hassas ve hızlı sonuç almak için farklı enstrümental analiz teknikleriyle birlikte son yıllarda GENOM projesinin açmış olduğu genetik bilimi sayesinde, DNA tabanlı moleküler tespit yöntemleri sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bu bağlamda, tez konusunu da teşkil eden moleküler teknikler, temelde aranan mikrobiyal patojenin belli bir gen bölgesine göre tasarlanmış primer ve prob sayesinde, kullanıcıya çok kısa bir sürede neredeyse kesin sonuç verebilmektedir. Özellikle bu çalışma kapsamında *E. coli* ve patojen türlerinin tespiti için kültür tabanlı klasik mikrobiyolojiden başlayarak, hızlı

var-yok tespit kitlerine, PCR, mikroarray gibi çağdaş moleküler tekniklere kadara geniş bir metot olanağı sunulmaktadır.

Gıdalarda ETEC varlığı; gıda örneklerinin ön zenginleştirilmesi, seçici besiyeri, toksin taraması veya ticari kitler kullanılarak elde edilen izolatlarda LT ve ST toksinlerinin PCR' da tespiti edilmesi ile olmaktadır. EPEC varlığı; gıda örneklerinin ön zenginleştirilmesi, seçici besiyeri ya da kültürden elde edilen izolatların PCR ile taraması sonucu ortaya çıkmaktadır. Gıdalarda EHEC taraması; seçici veya diferansiyel besiyerinde gıda örneklerinin kültür zenginleştirilmesi ile yapılmaktadır. Serolojik testler ile Shiga toksin saptanmaktadır. Ayrıca kültürden elde edilen izolatlarda *stx* genlerinin PCR' da taraması ile moleküler analiz yapılmaktadır. EIEC' nin gıdalardaki varlığı gıda örneklerinin kültür zenginleştirilmesi, seçici besiyeri çalışması ve *inv* genlerinin bakılması ile bulunmaktadır (FDA, 2012).

2.5.1. Gıda Gruplarında *E. coli* ile İlgili Yapılan Araştırmalar

Ülkemizde ve Dünya' da çeşitli gıda gruplarında *E. coli* analizleri yapılmaktadır. Çalışmalarda farklı metotlar kullanılarak *E. coli* için var/yok incelemesi, kantitatif analiz, salgıladığı toksinlere gen bölgeleri aracılığıyla bakılmaktadır. Çeşitli gıda gruplarında *E. coli* ile ilgili yapılan bazı araştırmalar aşağıdaki gibidir.

2.5.1.1. Su Kaynakları ve Sularda *E. coli* ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Sebzelerin yetiştirilmesinde ve yıkanmasında kullanılan suların değişik nedenlerle mikrobiyal kontaminasyona maruz kalması insan sağlığı açısından ciddi risk teşkil etmektedir. Bu durum gelişmiş, gelişmekte olan ve özellikle az gelişmiş ülkeler açısından önem taşımaktadır. Mikrobiyolojik olarak kirli su kaynakları kullanılarak yetiştirilen marul, domates, havuç, biber gibi çoğu sebze işlenmeden ya da çiğ olarak tüketici tarafından tüketilmektedir. WHO, çiğ sebzelerin tüketilmeden önce nelere dikkat edilmesi gerektiği hususunda ilgilileri uyarmaktadır. Hijyenik olmayan su kaynakları kullanılarak yetiştirilen sebzelerin sebep oldukları salgın hastalıklar Dünya' da ilgili resmi ve bağımsız kuruluşlar tarafından izlenmekte ve düzenli olarak rapor

edilmektedir. WHO' nun belirlediği kıstaslara göre sebzelerin yetiştirilmesinde kullanılacak olan su kaynağından alınacak örneklerin %80' inin mikrobiyal yükünün 2.0 log10kob/100 ml geçmemesi gerekmektedir (Beuchat, 2002).

Yurtdışında Yapılan Çalışmalar:

Kanada' da nehir kirliliğinin potansiyel kaynaklarının araştırıldığı bir çalışmada 898 fekalden 16' sında, 43 kanalizasyon suyunun 2' sinde ve 342 Oldman Nehri' nden alınan suyun 8' inde *E. coli* O157:H7 saptanmıştır (Jokinen ve ark. 2011).

Güney Afrika' da, 15 farklı bölgeden direkt ve endirekt insan tüketimi için 204 örnek toplanmış olup, hiçbir şüpheli örnekte *E. coli* O157:H7 suşuna rastlanmamıştır (Müller ve ark. 2001).

Nijerya' da yapılan bir araştırmada ise 196 sulama suyu ve bu kaynaklarla sulanan 326 sebze örneği olmak üzere toplam 522 örneğin 39' unda enteropatojenik *E. coli* bulunduğu ve 15 suşun ise toksik olduğu bildirilmiştir (Okafo ve ark. 2003).

Kaliforniya' da 2006 yılında ıspanaktan kaynaklanan *E. coli* O157:H7' nin neden olduğu bir salgın olmuştur. Kaliforniya Gıda Acil Müdahale Ekibi, Kaliforniya Halk Sağlığı Gıda ve İlaç Şubesi ve ABD Gıda ve İlaç İdaresinin oluşturduğu bir ekip bu salgının sebebini; sulama suları ile ıspanakların kontamine olduklarını bulmuşlardır (Gelting ve ark. 2011).

Artan su sıkıntısıyla karşı karşıya kalan Akdeniz ülkeleri, atık suların belediye tarafından geri dönüştürülmesi ile kurak ve yarı kurak bölgelerde sulama yapmaya başlamıştır. İtalya' da 2008-2009 yıllarında yapılan bir çalışmada sulama suyu ve bu su ile sulanan sebze ve meyvelerde *E. coli* analizi yapılmıştır. İtalya' nın sınır değerlerinin 50 katı kadar *E. coli* miktarı sulama sularında bulunmuştur. Domateste ise *E. coli* kontaminasyonu 10² kob/100 g olarak bulunmuştur (Cirelli ve ark. 2012).

Türkiye’ de Yapılan Çalışmalar:

Alemdar ve arkadaşları (2009); Bitlis ilindeki 164 içme suyunda *E. coli* analizi yapmış ve %8’ inde bu bakteriyi tespit etmişlerdir.

Afyon’ da içme ve kullanma suyu sağlayan kuyu, dağıtım yeri, su deposu, ev, işyeri, sokak çeşmesi ve özel işletme sondaj suyu gibi farklı yerlerden toplanan 30 su örneğinde yapılan *E. coli* analizlerinde 1 su örneğinde *E. coli* saptanmıştır (Kenar ve Altındış, 2001).

Kahramanmaraş’ ta akarsu kirliliği ile ilgili yapılan bir araştırmada Aksu Çayı ve kollarından alınan su örneklerinin %67’ sinde *E. coli* tespit edilmiştir (Toroğlu, 2006).

2.5.1.2. Sebzeler ve Meyvelerde *E. coli* ile İlgili Yapılan Çalışmalar

E. coli mikrobiyal patojenin gıda gruplarında varlığının incelenmesi kapsamlı araştırmalarda et ve et ürünleri ile süt ve süt ürünleri başı çekmektedir. Tezimizin ana konusu olan farklı sebzelerle ilgili olarak yapılan çalışmalar daha az sayıda olduğu görülmektedir. Bu konuda Dünya’ da ve ülkemizde yapılan incelemeler ağırlıklı olarak *E. coli* prevelansını tespit üzerinde yoğunlaşmaktadır. Son yıllarda hızlı ve güvenilir DNA tabanlı moleküler tekniklerin uygulamaları ön plana çıkmaya başlamıştır.

Yurtdışında Yapılan Çalışmalar:

Singapur’ da yapılan bir çalışmada; büyük ve yerel süpermarketlerden toplanan 125 sebze ve meyve örneğinde *E. coli* analizi yapılmış olup, hiçbir örnekte patojen *E. coli* saptanmamıştır (Seow ve ark. 2012).

Portekiz’ de iki süpermarketten toplanan; 38 latin marulu, 12 ıspanak ve 3-4 çeşit sebze içeren 101 karışık salatada *E. coli* analizi yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda; sadece 4 örnekte *E. coli* bulunmuş olup, bir tanesinde yüksek oranda *E. coli* kontaminasyonunun olduğu bulunmuştur (Santos ve ark. 2012).

Libya’ da 146 meyve suyunda *E. coli* analizi yapılmıştır. Hiçbir örnekte patojen *E. coli* görülmemiştir (Ghenghesh ve ark. 2005).

Peru' nun başkenti Lima' nın 42 Bölgesinde yerleşik marketlerden 2000-2001 yılları arasında toplanan 101 taze sebze örneğinde Shiga toksin üreten *E. coli* O157:H7 incelemesi yapılmıştır. İncelenen örneklerin 4' ünde Shiga toksin üreten gen tespit edilmiştir (Mora ve ark. 2007).

Bir diğer çalışma sebzelere verilen fiziksel hasarın mikrobiyolojik bulaşmanın artması açısından taşıdığı önemi göstermektedir. 3 hafta süren bir deneme sonucunda özellikle geniş yapraklı sebzelerde *E. coli* mikrobiyal yükünün 2.3 kob/g' den 5.1kob/g' a yükseldiği belirlenmiştir. (Harapas ve ark. 2010).

McMahon ve arkadaşları (2001); Kuzey İrlanda' da 86 sebze örneğinde yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7' ye rastlamamışlardır.

Zambiya' da taze kesilmiş sebzelerde yapılan bir çalışmada *E. coli* analizi yapılmıştır. Taze kesilmiş organik sebzelerin karıştırılarak yapıldığı bu çalışmada 160 sebze karışımından 10 tanesinde patojen *E. coli* bulunmuştur (Nguz ve ark. 2005).

İspanya' da sebze, meyve ve tohumların mikrobiyal kontaminasyonu üzerine yapılan bir çalışmada *E. coli* analizi yapılmıştır. Bu amaçla 2005-2006 yılları arasında 21 meyve, 28 sebze, 15 tohum ve 237 hazır salata (6 sebze içeren) temin edilmiştir. Taze meyvelerde patojen *E. coli* tespit edilmezken, 2 sebze ve 27 taze kesilmiş sebze örneğinde *E. coli* görülmüştür (Abadias ve ark. 2008).

Brezilya' da yapılan bir çalışmada 162 tane yapraklı sebze örneğinin 86' sında yani %53.1' inde *E. coli* saptanmıştır. (Oliveira ve ark. 2012).

Türkiye' de Yapılan Çalışmalar:

Çıtak ve arkadaşları (2009); Ankara' da yaptıkları çalışmada 20 brokoli, 20 bezelye ve 20 karnabahar olmak üzere toplam 60 örnekte *E. coli* taraması yapmıştır. 8 (%40) brokolide, 9 (%45) bezelyede ve 3 (%25) karnabaharda *E. coli*' ye rastlamıştır.

Doğan ve arkadaşları (2001); 84 salata örneğinde %78.6 oranında *E. coli* saptamıştır.

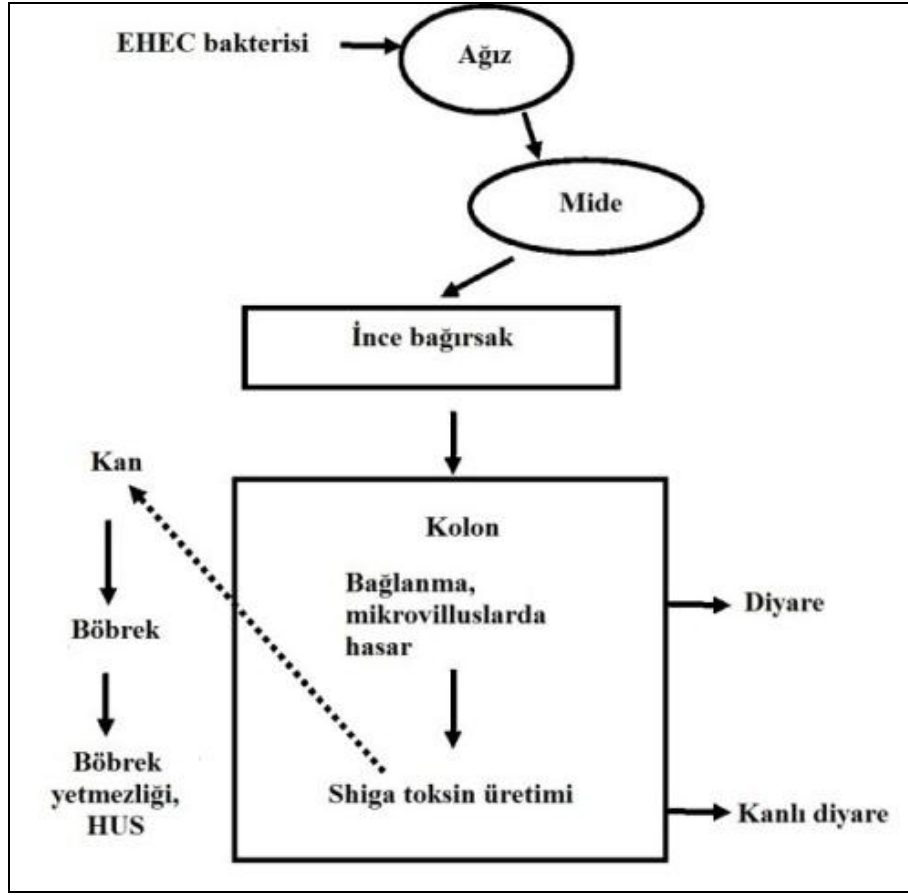
Arıcı ve arkadaşları (2003); 22 yarı hazır ve 14 hazır (katkılı, mayonezli) salata örneğinde *E. coli* incelemiştir. Sonuç olarak; örneklerin 32' sinde *E. coli* bulmuşlardır.

Ayçiçek ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada; Türkiye' deki çiğ sebzelerde (marul, kıvırcık, iceberg, maydanoz, dereotu ve havuç) *E. coli* taraması gerçekleştirmişlerdir. Araştırmalarında, *E. coli* kontaminasyonun en yüksek olduğu sebze; maydanoz (21/30, %70) ve dereotu (12/30, %40) olarak bulmuşlardır. Iceberg marul örneklerinde ise en düşük (%3,3) *E. coli* varlığını tespit etmişlerdir.

2.6. Patojen *E. coli* Suşlarının Sebep Oldukları Hastalıklar

Sağlıklı insanların bağırsak florasında toksin özellikleri olmayan ve apatojen olarak bilinen *E. coli* bulunmaktadır. Önemli olan hastalıklara neden olan patojen *E. coli* suşlarının saptanmasıdır. EHEC' te hastalıklara neden olan patojen bir *E. coli* suşudur. Enfekte olmuş gıdanın veya suyun ağız yoluyla alınması ile EHEC vücuda girebilmektedir. EHEC' in aside karşı dirençli olması nedeniyle mide asidinin düşük pH' ından etkilenmemekte ve mideden ince bağırsağa geçmektedir. İnce bağırsaktaki mikrovillüslara bağlanır ve karakteristik özelliği olan enterositleri salgılayarak diyareye neden olmaktadır. İnce bağırsaktan kolona geçen EHEC, eğer kolonda bulunan kan damarlarına yeterli miktarda Shiga toksin salgılayorsa hastalık kanlı diyareye dönüşebilir. Fazla miktarda salgılanan toksin kana geçerek; böbreklerde ve merkezi sinir sisteminde hasara neden olmakta ve hemolitik üremik sendroma (HÜS) neden olmaktadır (Gyles, 2007).

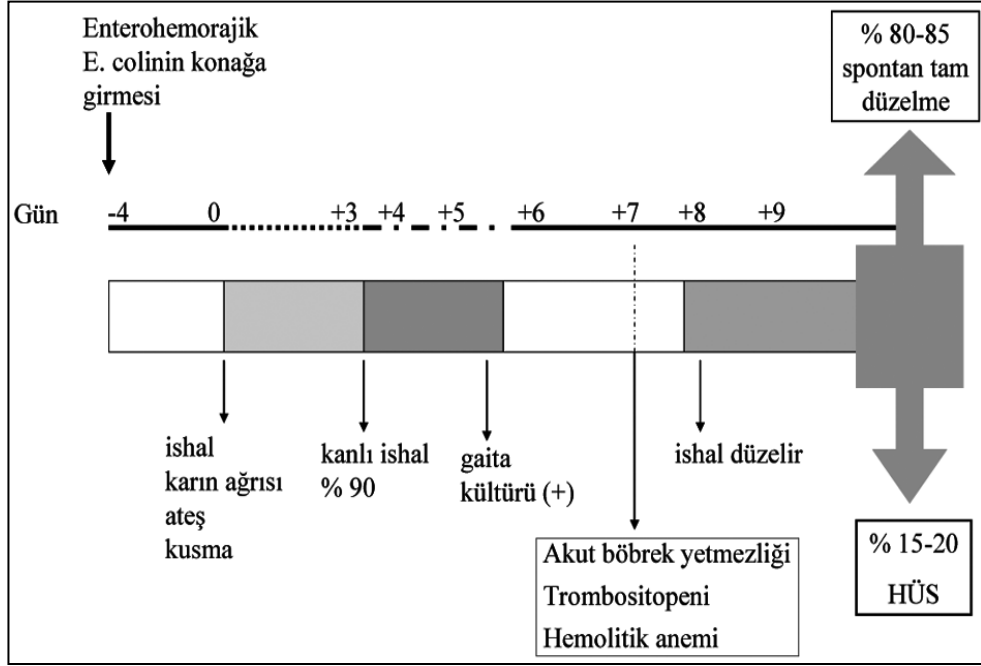
EHEC bakterisinin iletim yolu Şekil 2.4' de verilmiştir.



Şekil 2.4: EHEC bakterisinin hastalık iletim yolu (Gyles, 2007)

EHEC' in kontamine olmuş herhangi bir gıda maddesi ile vücuda alınmasından sonra 4 gün içerisinde diyare görülmektedir. Hastalığın 3. gününden itibaren kanlı diyare görülmeye başlanmaktadır. Kanlı diyare hastaların %90' ında görülmektedir (Öktem ve Kuybulu, 2011).

EHEC bakterisinin neden olduğu enfeksiyonun günlere göre klinik seyri Şekil 2.5' de verilmiştir.



Şekil 2.5: EHEC enfeksiyonunun günlere göre klinik seyri (Öktem ve Kuybulu, 2011).

2.6.1. Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS)

HÜS, ilk kez 1950 yıllarında çocuklarda yaygın olarak görülmüştür. Karakteristik özellikleri; böbreklerde bozukluk, hemolitik anemi ve trombosit eksikliğidir. *E. coli*' nin Shiga toksin üreten en yaygın serotipi O157:H7' dir ve bu hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalığın semptomları; diyare (24 saatte üç ya da üçten fazla), karın ağrısı ve kusma olarak sayılabilir (Frank ve ark. 2011). Diyareli olan ve diyareli olmayan (atipik) HÜS olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Gupta ve ark. 2011). HÜS' un klinik seyri; kanlı diyare, trombotik mikroanjyopati ve akut böbrek yetmezliğidir. Tedavide amaç; hastalarda böbrek fonksiyonlarını hızla kontrol altına almaktır. Hastalık, çocuklar dâhil olmak üzere tüm yaş gruplarında görülebilmektedir (Edey ve ark. 2008).

2.6.2. Hemorajik kolitis (HC)

Hemorajik kolitis, 1982 yılında Oregon ve Michigan' daki bir restoran zincirindeki hamburgerlerin tüketimi sonucu ortaya çıkan kanlı diyare ile tanımlanmıştır. Bu olaydaki hastaların yarısının dışkısında *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Hemorajik kolitis çeşitli abdominal kramplar, kanlı dışkı, düşük ateş, kolonlarda ödem, aşınma ve kanama şeklinde seyreder. Bu serotipin Shiga toksin ürettiği ise daha sonradan anlaşılmıştır. (Kaper ve O'Brien, 1998). Aniden ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ile başlayan hastalıkta 1-2 gün sonra kansız diyare görülmektedir. Hastalık 4-9 gün sürmektedir (Kornacki, 2010).

2.6.3. *E. coli*' nin Neden Olduğu Kansız Diyare

Hastalık tipik olarak, karın krampları ve sulu kansız diyare ile ortaya çıkmaktadır. Hastaların yarısında ise kusma görülmektedir (Parry ve Palmer, 2002). Bu hastalığa *E. coli* O157:H7 neden olmaktadır (Ekşi ve ark. 2007).

2.6.4. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)

TTP' nin beş temel belirtisi vardır. Bu belirtiler; mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni, böbrek ve nörolojik bozukluklar ve ateştir. Trombotik Trombositopenik Purpura, başta kadınlar olmak üzere erişkinlerde görülmektedir. Çocuklarda ise bu hastalığa nadir olarak rastlanmaktadır (Polito ve Kirsztajn, 2010). Bu hastalığa EHEC neden olmaktadır (Alişarlı ve Akman, 2004).

2.6.5. İdrar Yolları Enfeksiyonları

İdrar yolları enfeksiyonu, mesane ya da idrar yolu içerisindeki diğer yapıların enfeksiyonu olup bu hastalığa neden olan *E. coli*' ye üropatojenik *E. coli* (UPEC) denilmektedir. İdrar yolları enfeksiyonları her yaşta insanda olmaktadır. Kadınlarda %12 ve erkeklerde %3 oranında hastalık görülmektedir (Manning, 2010).

3. MATERYAL-METOT

3.1. Materyal

Çalışmada materyal temini için İstanbul ilindeki semt pazarlarından 2011 yılı ekim ayında, 30 adet ıspanak, 30 adet marul, 30 adet maydanoz, 30 adet domates, 30 adet salatalık ve 30 adet havuç olmak üzere toplam 180 adet sebze örneği *E. coli* yönünden incelenmek üzere toplanmıştır

3.1.1. Örnek Alımı

Sebzeler, farklı pazarlardan her örnek için 5' er tane olmak üzere random yöntemi ile toplanmıştır. Toplama işlemi sırasında steril eldivenler (Broche Nitril Muayene Eldiveni/ Malezya. Lot no: 182031003352) kullanılmış ve örnekler ağzı kilitli steril poşetlere (Akar Plastik Marka Açılır / Kapanır Kilitli Torba) konulmuştur. thermo box içerisinde uygun koşullarda analiz yapılmak üzere laboratuara getirilmiş ve bekletilmeden analize hazırlanmıştır (Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Ek 3 ve Ek 4, 29.12.2011-28157).

Sebze örneklerinin toplandığı yerler Tablo 3.1' de verilmiştir.

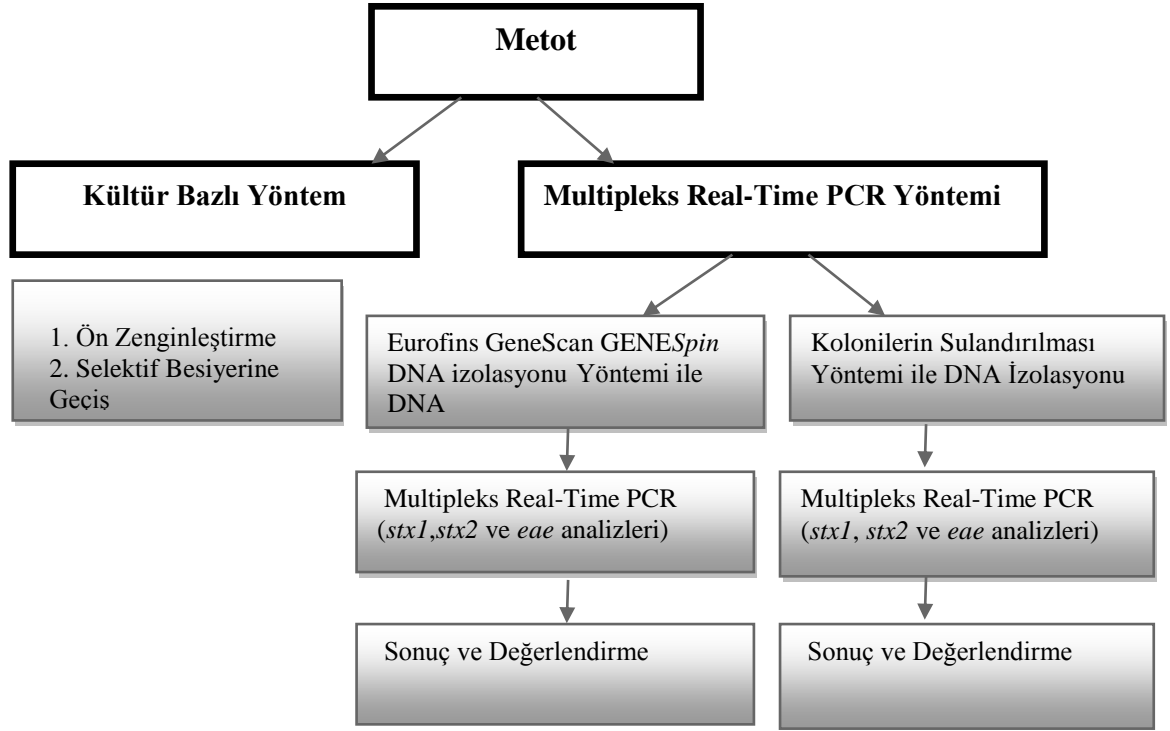
Tablo 3.1: Sebze örnekleri, toplandığı yer ve miktarı/adet

Örneknin Adı	Toplandığı Yer/Location	Miktar/Adet
Havuç	Esenler/Habiblerköyü	5
	Esenyurt/Balıkyolu	5
	Avcılar/Firüzköy	5
	Karagümrük	5
	Ulus/Etiler	5
	Yeşilpınar	5
Salatalık	Esenler/Habiblerköyü	5
	Esenyurt/Balıkyolu	5
	Avcılar/Firüzköy	5
	Zeytinburnu/Telsiz Mah.	5
	Sultangazi/Sultançiftliği	5
	Bayrampaşa/Bereç	5
Domates	Zeytinburnu/Telsiz Mah.	5
	Sultangazi/Sultançiftliği	5
	Bayrampaşa/Bereç	5
	Karagümrük	5
	Ulus/Etiler	5
	Yeşilpınar	5
Marul	Küçükçekmece/Kanarya	5
	Bağcılar/Çınar Mah.	5
	Güngören/Haznedar	5
	Eyüp	5
	Fatih	5
	Bakırköy/Yenimahalle	5
Maydanoz	Küçükçekmece/Kanarya	5
	Bağcılar/Çınar Mah.	5
	Güngören/Haznedar	5
	Bahçelievler/Yayla	5
	Çağlayan	5
	Beyoğlu	5
Ispanak	Eyüp	5
	Fatih	5
	Bakırköy/Yenimahalle	5
	Bahçelievler/Yayla	5
	Çağlayan	5
	Beyoğlu	5

3.2. Metot

Araştırmada kullanılan örneklerde ilk olarak kültür bazlı yöntem ile *E. coli* taraması yapılmış; daha sonra *E. coli* saptanan örnekler multipleks Real-Time PCR yöntemi ile *stx1*, *stx2* ve *eae* geni tayinleri yapılarak *E. coli*' nin öncelikle patojen olup olmadığı saptanmıştır (Ibekwe ve ark. 2002).

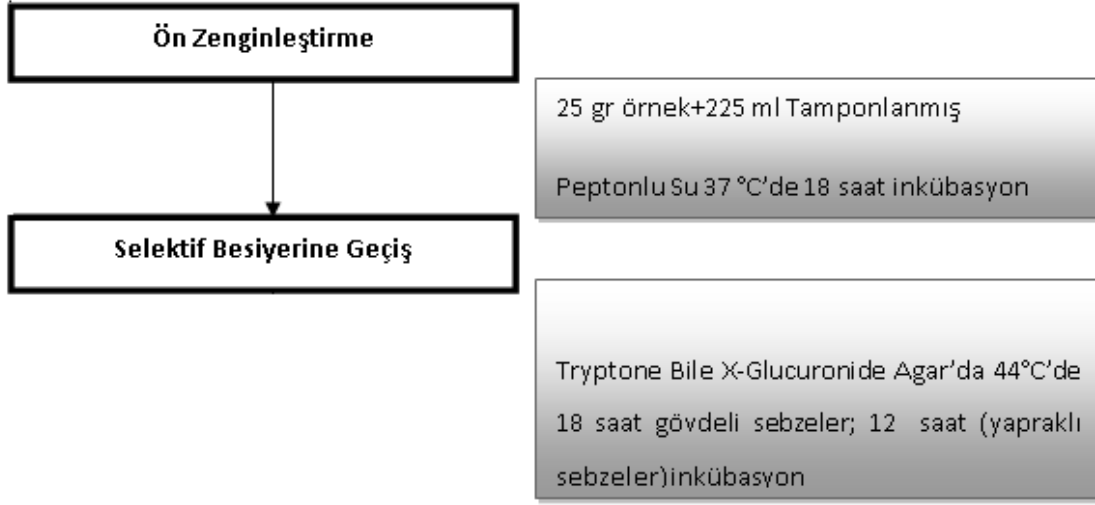
Örneklere *E. coli* yönünden yapılan incelemede aşağıda bildirilen sıralamaya uygun yöntemler kullanılmıştır. Şekil 3.1’ de genel metot şeması verilmiştir.



Şekil 3.1: Genel Metot Şeması

3.2.1. Kültür Bazlı Yöntem

Kültür bazlı yöntemde aşağıda bildirilen sıralamaya uygun bir şekilde işlem yapılmıştır. Şekil 3.2’ de kültür bazlı yöntem verilmiştir.



Şekil 3.2: Kültür bazlı yöntem genel şeması

3.2.1.1. Homojenizasyon İşlemi

Buz aküsü içerisinde, steril torbada laboratuara getirilen örnekler, hassas terazide steril stomacher bag (İnterscience Bag System Lot no: C0914653) içerisine, %96'lik Etanol çözeltisine batırılıp ardından bek alevinden geçirilen pens, spatül, ve bıçak yardımı ile numuneler karot yöntemi kullanılarak 25' er gram tartılmıştır. İşlemler sırasında kullanılan araç ve gereçler çapraz kontaminasyonu engellemek için yukarıdaki işlem her numune tartımı sırasından tekrarlanmıştır. Böylece kullanılan araç ve gereçlerin sterilizasyonu sağlanmıştır. Tartım sonrası stomacher bag içerisine, steril cam şişelerde hazırlanan ve otoklav işleminden sonra soğutulmuş 225 ml tamponlanmış peptonlu su (TPS) dökülmüştür ve NES marka stomachera konularak 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir.

Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) : LABM marka, LAB204 BPW lot numarası: 116502/160 ve ISO Standartlarına uygun.

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar (g/l)</u>
Enzimatik sindirim kazeini	10.0
Sodyum klorid	5.0
Disodyum hidrojen fosfat (anhydrous)	3.6
Potasyum dihidrojen fosfat	1.5

Her örnek için 225 ml TPS hazırlanarak, besiyeri 4.5/225 gr/ml konsantrasyonda olmak üzere distile su içinde çözdürölüp, steril cam şişelere konulmuştur ve cam şişeler otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir. (LAB M, LAB204 Buffered Peptone Water, Lot No: 116502/160 ISO).

3.2.1.2. *E. coli* Ön zenginleştirme Prosedürü

Geniş gövdeli sebzeler (salatalık, domates, havuç) stomacher torbasına konulmuş ve ağzı kilitlenerek ve 37°C’ de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Geniş yapraklı sebzeler ise (maydanoz, marul, ıspanak) stomacher torbasına konulmuş ve ağzı kilitlenerek 37°C’ de 12 saat inkübasyona bırakılmıştır (BS ISO 16649-2: 2001).

3.2.1.3. *E. coli* Selektif Besiyerine Geçiş Prosedürü

İnkübasyon süresi biten ön zenginleştirme torbasından 0,1 ml alınmış ve steril petri kabına dökülmüştür. Üzerine otoklavdan çıkarıldıktan sonra 47°C’ ye kadar soğutulmuş TBX dökülmüş ve yayma ekim yapılmıştır. Petriler 44°C’ de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır (BS ISO 16649-2: 2001).

Trypton Bile X-Glukoronid Agar (TBX): LABM marka, TBX lot numarası: 116795/152 ve ISO Standartlarına uygun.

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar (g/lt)</u>
Trypton	20.0
Bile salts no.3	1.5
X-glucuronide	0.075
Agar	15.0

Bir örnek için 15 ml olmak üzere 2 petriye toplam 30 ml TBX hazırlanmıştır. Her çalışma periyodu 30 örnek üzerinden yapıldığından bir çalışma için 1000 ml erlende 900 ml TBX Agar hazırlanmıştır. 900 ml TBX Agar hazırlamak için; 32,85 gr dehidre besiyeri, steril bir erlende tartılarak üzerine 900 ml distile su eklenmiştir. Daha sonra su banyosu veya manyetik ısıtıcılı karıştırıcı ile homojen hale getirilmiş ve 121°C' de 15 dakika otoklavlanmış ve sonrasında 47°C' ye soğutulan besiyeri steril petri kaplarına 15 ml/petri olacak şekilde dökülmüş ardından bu petri kapları oda sıcaklığında katılaşına kadar tutulmuştur (LAB M, LAB72 Trypton Bile X-Glukoronid Agar, Lot No: 116795/152 ISO).

3.2.2. Multipleks Real-Time PCR Metodu

3.2.2.1. *E. coli* DNA İzolasyon Prosedürü

E. coli DNA izolasyonu, Eurofins GeneScan GENEspin DNA izolasyonu kiti (Lot no: 1101/006, Katalog no: 5224400605) ve kolonilerin sulandırılması yöntemi olmak üzere iki farklı yöntem ile DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.2.2.1.1. Eurofins GeneScan GENESpin DNA İzolasyonu Kiti Prosedürü

Eurofins GENESpin DNA İzolasyon Kiti (Lot: 1101/006, Katalog no: 5224400605)

CF Liziz Buffer

C2 Buffer

C3 Buffer

Yıkama Buffer CQW

Yıkama Buffer C5

Elution Buffer CE

Proteinaz Buffer PB

Proteinaz K

50 GENESpincolon

100 collection tüp

Kit Malzemelerinin Çalışmaya Hazırlanması

Yeni açılan kitte, çalışmaya başlamadan önce, C4 solüsyonu, C5 Buffer ve Proteinaz K' nın hazırlanma prosedürüne göre;

C4 solüsyonunu elde edebilmek için; C2 Bufferve C3 Buffer kullanılır. Bu amaçla C3 Buffer şişesinin içerisine C2 Buffer tamamen dökülerek vortekslenmiş ve karışım iyice homojen hale getirilmiştir. Kit kutusu içerisindeki C4 Sticker Yapışkanı C3 Buffer Şişesinin üzerine yapıştırılıp C4 Solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan C4 solüsyonu şişesi 45°C' de 5 dakika su banyosunda ısıtılmıştır.

C5 Buffer elde edebilmek için; kit kutusu içerisindeki C5 Buffer üzerine 80 ml %96' lık etil alkol eklenip, karışım vortekslenerek iyice homojen hale getirilmiştir.

Proteinaz K enzimini elde edebilmek için; kit kutusu içerisinde 1' er adet Proteinaz K ve Proteinaz K Buffer şişesi bulunmaktadır. Proteinaz K oda sıcaklığında

muhafaza edilebilmesi için toz halindedir. Proteinaz K Buffer ise Proteinaz K' yı çözmek için kullanılan Bufferdır ve sıvı haldedir. Proteinaz K enzimini hazırlamak için Proteinaz K Buffer şişesinden 600 µl sıvı otomatik pipet yardımı ile çekilip Proteinaz K tozu bulunan şişeye aktarılmıştır. Karışım vortekslenerek iyice homojen hale getirilmiştir. Proteinaz K hazırlandıktan sonra oda sıcaklığında saklanamayıp, uygun saklanma koşulu olan -20°C' de muhafaza edilmelidir (Eurofins GENESpin DNA İzolasyon Kiti, Lot No: 1101/006, Katalog No: 5224400605).

DNA İzolasyonu:

DNA izolasyonu için Eurofins GeneScan GENESpin DNA izolasyonu kiti kullanılmıştır. Ön zenginleştirme solüsyonundan inkübasyon sonunda 550 µl alınmış ve steril bir ependorfa pipetlenmiştir. CF Lizis Buffer, başka yeni steril bir ependorfa örnek başına 550 µl alınmış ve 65°C' de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 550 µl CF Lizis Buffer, içerisinde 550 µl ön zenginleştirme bulunan ependorf üzerine pipetlenmiştir. Karışımı homojenize hale getirilebilmek için 15 saniye vortekslenmiştir. CF Lizis Buffer hücrelerin patlamasını sağlamıştır. Daha sonra üzerine 10 µl Proteinaz K eklenmiştir ve tekrardan 3 saniye vortekslenmiştir. Böylece ependorflarda 1100 µl örnek olmuştur. Ependorflar 65°C' de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında ependorfta bulunan karışım 10.000 rpm' de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda hücre artıkları dibe çökmüştür. Dibe çöken kısım 10 µl kadardır. Üstte kalan sıvıdan 1090 µl' lik kısım steril yeni bir ependorfa pipetlenmiştir. Üzerine 1090 µl C4 ve 1090 µl etanol konulmuş ve homojenizasyon için 30 saniye vortekslenmiştir. Ependorf tüpünde toplam 3270 µl karışım olmuştur. Filtreli tüp, GENESpin kolonunun üzerine geçirilmiştir. 3270 µl' lik karışımdan, 700 µl kapasiteli GENESpin kolonuna pipetlenmiştir ve 11.000 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. 3270 µl' lik karışımın 5 tur 700 µl olarak pipetlenmiştir ve 11.000 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Kolona geçen sıvı kısım dökülmüş ve filtreli kısım tekrardan kolona geçirilmiştir. Daha sonra, 400 µl CQW filtreli kolona pipetlenmiş ve 11.000 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Kolona geçen sıvı kısım dökülmüş ve filtreli kısım tekrardan kolona geçirilmiştir. Bu işlemlerden sonra saf DNA

elde edebilmek için yıkama aşamasına geçilmiştir. 700 µl C5 Buffer filtreli kolona pipetlenmiş ve 11.000 rpm' de 1 dakika sanrifüj yapılmıştır. Kolona geçen sıvı kısım dökülmüş ve filtreli kısım tekrardan kolona geçirilmiştir. Daha sonra, 200 µl C5 Buffer filtreli kolona pipetlenmiş ve 11.000 rpm' de 2 dakika sanrifüj yapılmıştır. Kolona geçen sıvı kısım dökülmüş ve filtreli kısım tekrardan kolona geçirilmiştir. Elution Buffer CE' den örnek başına 100 µl yeni steril bir ependorfa pipetlenmiştir ve 70°C' de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Filtreli tüp alınmış, alttaki GENESpin kolonu atılmıştır. GENESpin kolonu yerine yeni steril bir ependorf konulmuştur. Elution Buffer CE, inkübasyon sonunda filtreli tüpe pipetlenmiş ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 11.000 rpm' de 1 dakika sanrifüj yapılmıştır. Elution Buffer CE, DNA' nın filtreden çözünmesini sağlamıştır. Üstteki filtreli tüp atılmış ve santrifüj sonunda ependorfta kalan kısım DNA eldesidir (Eurofins GENESpin DNA İzolasyon Kiti, Lot No: 1101/006, Katalog No: 5224400605).

3.2.2.1.2. Kolonilerin Sulandırılması ile DNA İzolasyon Yöntemi

%0.9' luk fizyolojik tuzlu su (Eczacıbaşı-Baxter A.Ş. Elektrolit Seri no: G10 09 001) çözeltisinden 1 ml pipetle alınmıştır. Alınan çözelti petri kabına dökülmüş ve petri kabı elle sağa sola hareket ettirilerek çözeltinin dağılması ve yüzeye yayılması sağlanmıştır. Yayılma işlemi iyice sağlandıktan sonra petri kabı elle bir taraf yatırılarak sıvının toplanması sağlanmıştır ve pipet (Transferpette Marka) yardımıyla 1 ml çözelti partikül kaçmayacak şekilde çekilmiştir. Çekilen bu çözeltiden 100 µl' lik kısım 900 µl steril su ile bir ependorf tüpünde birleştirilmiş ve ardından karışımın içine 20 µl Proteinaz K eklenmiştir. Ependorf tüpü 56°C' de 30 dakika kuru ısıtıcı blokta inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası çözelti kuru ısıtıcı blokta 95°C' de 10 dakika daha inkübasyona bırakılmıştır. Ependorf tüpündeki ısınmış olan çözelti 10.000 rpm' de 30 saniye santrifüj edilerek DNA elde edilmiştir (ISO/FDIS 6887-1).

3.2.2.2. *E. coli* Shiga-like Toksin (*stx1* ve *stx2*) ve İntimin (*eae*) Genlerinin Real-Time PCR Prosedürü

Real-Time PCR çalışılmasına başlanılan andan itibaren kit solüsyonlarının ışık görmemesine ve Master Mix hazırlanan ependorf ve kurulan platelerin buz bloğu içerisinde yapılmasına dikkat edilmiştir. Real-Time PCR’da primer ile multipleks çalışma yapılmıştır. Real-Time PCR *E. coli* primeri için; Ibekwe ve arkadaşlarının (2002) yaptıkları çalışma baz alınmıştır. “Multiplex Fluorogenic Real-Time PCR for Detection and Quantification of *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Wastewater Wetlands” isimli makeleye göre primerler dizayn edilmiştir.

Primerlerin nükleotid dizilimleri Tablo 3.3’ de verilmiştir.

Tablo 3.3: Primerlerin nükleotid dizilimleri

Primer ^(a)	Sekans (5’3’)	Gen Tespiti ve Gen Büyüklüğü
<i>stx1</i> forward	GAC TGC AAA GAC GTA TGT AGA TTC G	<i>stx1</i> (150 bp)
<i>stx1</i> reverse	ATC TAT CCC TCT GAC ATC AAC TGC	
<i>stx2</i> forward	ATT AAC CAC ACC CCA CCG	<i>stx2</i> (200 bp)
<i>stx2</i> reverse	GTC ATG GAA ACC GTT GTC AC	
<i>eae</i> forward	GTA AGT TAC ACT ATA AAA GCA CCG TCG	<i>eae</i> (106 bp)
<i>eae</i> reverse	TCT GTG TGG ATG GTA ATA AAT TTT TG	

Kaynak: Ibekwe ve ark. 2002.

Çalışma için önce Master Mix hazırlanmıştır. Araştırılacak olan *stx1*, *stx2* ve *eae* için ayrı ayrı 3 tane Master Mix ependorfa pipetlenmiştir. *Stx1* için; örnek başına 12,5 µl Sybr Green Master Mix’ i, örnek başına 1 µl *stx1* primeri ve örnek başına 9,5 µl steril su konulmuştur. *Stx2* için; örnek başına 12,5 µl Sybr Green Master Mix’ i, örnek başına 1 µl *stx2* primeri ve örnek başına 9,5 µl steril su konulmuştur. *Eae* için; örnek başına 12,5 µl Sybr Green Master Mix’ i, örnek başına 1 µl *eae* primeri ve örnek başına 9,5 µl steril su konulmuştur. Master Mix hazırlandıktan sonra Real-Time PCR plateine kuyu

^(a) Primerlerin dizayn programı olarak Primer Express version 1.0 (PE Applied Biosystems) kullanılmıştır.

başına 23 µl Master Mix karışımı ve 2 µl DNA konulmuştur. Her bir örnek paralel olarak çalışılmıştır. Plate’ de negatif kontrol ve pozitif kontrol kuyuları belirtilmiştir. Negatif kontrol kuyularına DNA yerine 2 µl steril su konulmuştur. Pozitif kontrol olarak iki kuyuya *E. coli* suşu DNA’ sı konulmuştur. Plate’ in kapağı optik okuyucu yapan Real-Time PCR için dizayn edilmiş spin kapaklar ile üzerine dokunulmadan kalem yardımı ile dikkatlice kapatılmış ve Real-Time PCR okunması için hazır hale getirilmiştir. Real-Time PCR için MxPro3000P Data Software programı kullanılmaktadır. Real-Time PCR cihazı kapağı açılıp, plate cihaza yerleştirilmiştir. Programın açılış ekranından Syber Green butonu seçilmiştir. Plate Setup bölümünden örnek pipetlenen kuyucuklar ve pozitif kontrol kuyucukları için ‘Unknown’ ve negatif kontrol kuyucuğu için ‘NTC’ seçilmiştir. Plate’ e pipetleme yaptığımız sıra ile örneklerin adı kayıt edilmiştir. Tüm kuyucuklar için FAM florans boyası seçilmiştir. Thermal Profile Setup bölümünden ise Thermal Profil ayarlanmıştır. Thermal Profil; üç ayrı bölümden oluşmaktadır. Birinci bölüm, bir döngü 95°C’ de 10 dakika olarak; ikinci bölüm, 40 döngü 95°C’ de 20 saniye, 60°C’ de 30 saniye ve 72°C’ de 30 saniye, üçüncü bölüm 1 döngü 55°C’ de 10 dakika ve 95°C’ de 30 saniye olarak ayarlanmıştır.

3.2.2.3. Real-Time PCR Sonuçlarının Okunması ve Grafiklerin

Değerlendirilmesi

Çalışma bittikten sonra ‘analysis’ butonuna tıklanarak kuyular seçilmiş ve ‘results’ bölümünden sonuçlar incelenmiştir. İlk olarak NTC ve pozitif kuyucukları kontrol edilmiştir. NTC’ lerin ‘Amplification plots’ grafiğinde Threshold çizgisinin üzerinde hiç pik görülmemelidir. Tam tersi olarak pozitif kontrol kuyucuğunun ‘Amplification plots’ grafiğinde Threshold çizgisinin üzerinde pik görülmelidir. Bu kontrol yapıldıktan sonra, eğer her hangi bir sorun görülüyorsa; pozitif kontrol sonucu pozitif, negatif kontrolde negatif ise Real-Time PCR sağlıklı çalışmış ve sonuçları değerlendirebiliriz anlamına gelir. Daha sonra örnekler bu aralığa göre değerlendirilir.

Değerlendirme şu şekilde yapılmıştır:

Real-Time PCR değerlendirme prosedürüne göre; <40 döngüsü altında pik vermesi yani Threshold çizgisini geçmesi gerekmektedir. Pik veren siklus (döngü) numarasına Ct değeri denir. Bu değer <40 döngü sayısının altında çıkarsa örnek *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri için pozitif (var) olarak değerlendirilmektedir. Değerlendirmede bu proderüre uyularak, <40 döngüsü altında çıkan Ct değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

Real-Time PCR değerlendirmesi Ibekwe ve arkadaşları (2002); “Multiplex Fluorogenic Real-Time PCR for Detection and Quantification of *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Wastewater Wetlands” başlıklı makalelerinde yer alan multipleks PCR *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerinin tespiti ve serogrup tayini tablosu kullanılarak tasarlanmıştır (Tablo 4.8).

Tablo 3.4: Real-Time PCR taraması sonucu belirlenen *E. coli* virülans genleri ve tespit edilen gen kombinasyonları üzerinden tahmin edilen *E. coli* serotipleri

Serotip	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	Orjin/Hastalık
STEC O157:H7	+	+	+	İnsan/HUS/Diyare
STEC O26:H11	+	+	+	İnsan/HUS
STEC O111:NM	+	+	+	İnsan/HUS
STEC O119:H6	-	+	-	Dana/Normal flora
STEC O157:H7	-	+	+	Dana/Normal flora
STEC O157:NM	-	+	+	Dana/Normal flora
EPEC O119	-	-	-	İnsan/Diyare
EPEC O111:H2	-	-	-	İnsan
EPEC O26:NM	-	-	-	İnsan

4. BULGULAR

Bu çalışmada çiğ olarak en çok tüketilen sebze ürünlerinden olan havuç, salatalık, domates, marul, maydanoz ve ıspanakların kültür bazlı mikrobiyolojik yöntem ve Real-Time PCR yöntemi ile *E. coli*' nin *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri bakımından incelenmesi ve patojen serotiplerinin belirlenmesi araştırılmıştır. İlk önce kültür bazlı mikrobiyoloji yöntemi ile canlı *E. coli* varlığı belirlenmiş, daha sonra *E. coli*' nin patojenite tayini için Real-Time PCR' da *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerine bakılmıştır. Bu amaçla, semt pazarlarından farklı zamanlarda temin edilen 30 havuç, 30 salatalık, 30 domates, 30 marul, 30 maydanoz ve 30 ıspanak örneği analize dilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler sonucunda, marulda %93.3, ıspanakta %93.3, maydanozda %86.6, havuçta %43.3, salatalıkta %33.3 ve domateste %13.3 oranında *E. coli* bulaştığı saptanmıştır. Tüm sebze örneklerinin %60.5' inde *E. coli* üremesi görülmüştür (Tablo 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

Real-Time PCR analizleri sonucunda; 1 örnekte *sxt1*, *stx2* ve *eae* genleri, 2 örnekte *stx2* ve *eae* genleri, 10 örnekte *stx2* geni tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

Havuç örneklerinde 13 adet pozitif *E. coli*' den 3 tanesi patojen olarak bulunmuştur. Bu üç patojen *E. coli*' den 1 tanesi *sxt1*, *stx2* ve *eae* genlerine sahiptir ve patojenitesi oldukça yüksektir. Diğer 2 örnekte ise *sxt2* genine sahip *E. coli* varlığı tespit edilmistir. Pazarlarda satılan havuçların *E. coli* ile kontamine olması hatta bunların patojen *E. coli* olması oldukça yüksektir. Hijyenik olarak her 100 kişiden 43' ü *E. coli* ile kontamine olmuş havuç satın alırken, her 3 kişi ise havuç tüketimi ile patojen bir *E. coli*' ye maruz kalmaktadır. Yoğunluk olarak, pazarlarda satılan havuçların, *E. coli* ile kontamine olmuş ya da patojen *E. coli* taşınması bakımından özel bir dağılım görülmemektedir (Tablo 4.2, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).

Real-Time PCR analizleri sonucunda, salatalık örneklerinde 10 adet pozitif *E. coli*' den 1 tanesi patojen olarak bulunmuştur. Bu örnekte *stx2* genine sahip *E. coli* varlığı tespit edilmistir. Pazarlarda satılan salatalıkların *E. coli* ile kontamine olması hatta bunların patojen *E. coli* olması oldukça yüksektir. Hijyenik olarak; salatalık satın alan her 100 kişiden 33' ü *E. coli* ile kontamine olmuş salatalık satın alırken her 1 kişi

ise salatalık tüketimi ile patojen bir *E. coli*' ye maruz kalmaktadır Yoğunluk olarak, pazarlarda satılan salatalıkların, *E. coli* ile kontamine olmuş ya da patojen *E. coli* taşınması bakımından özel bir dağılım görülmemektedir (Tablo 4.3, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).

Real-Time PCR analizleri sonucunda, domates örneklerinde 4 adet pozitif *E. coli*' den hiç birinde *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri bulunmamıştır. Hijyenik olarak; domates satın alan her 100 kişiden 13' ü *E. coli* ile kontamine olmuş domates satın almıştır (Tablo 4.4, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9).

Real-Time PCR analizleri sonucunda, marul örneklerinde 28 adet pozitif *E. coli*' den 3 tanesi patojen olarak bulunmuştur. Bu örneklerden ikisinde *stx2* genine sahip *E. coli* varlığı tespit edilirken, bir tanesinde hem *stx2* hem de *eae* geni tespit edilmiştir. Pazarlarda satılan marulların *E. coli* ile kontamine olması hatta bunların patojen *E. coli* olması oldukça yüksektir. Hijyenik olarak her 100 kişiden 93' ü *E. coli* ile kontamine olmuş marul satın alırken, her 3 kişi ise marul tüketimi ile patojen bir *E. coli*' ye maruz kalmaktadır. Yoğunluk olarak, pazarlarda satılan marulların, *E. coli* ile kontamine olmuş ya da patojen *E. coli* taşınması bakımından özel bir dağılım görülmektedir (Tablo 4.5, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11).

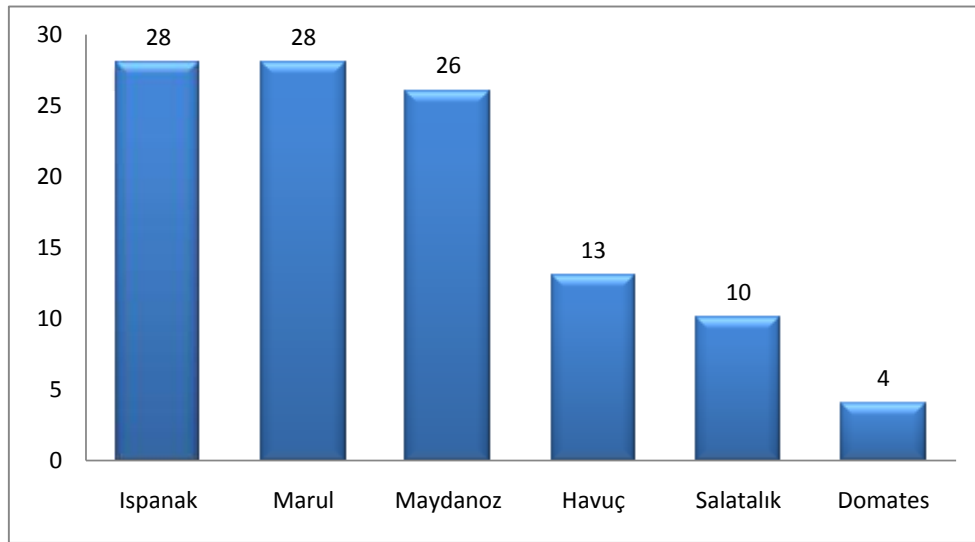
Real-Time PCR analizleri sonucunda, maydanoz örneklerinde 26 adet pozitif *E. coli*' den 6 tanesi patojen olarak bulunmuştur. Bu örneklerden beşinde *stx2* genine sahip *E. coli* varlığı tespit edilirken, bir tanesinde hem *stx2* hem de *eae* geni tespit edilmiştir. Pazarlarda satılan maydanozların *E. coli* ile kontamine olması hatta bunların patojen *E. coli* olması oldukça yüksektir. Hijyenik olarak her 100 kişiden 86' sı *E. coli* ile kontamine olmuş maydanoz satın alırken, her 6 kişi ise maydanoz tüketimi ile patojen bir *E. coli*' ye maruz kalmaktadır. Yoğunluk olarak, pazarlarda satılan maydanozların, *E. coli* ile kontamine olmuş ya da patojen *E. coli* taşınması bakımından özel bir dağılım görülmektedir (Tablo 4.6, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

Real-Time PCR analizleri sonucunda, ıspanak örneklerinde 28 adet pozitif *E. coli*' den hiç birinde patojen *E. coli* bulunmamıştır. Pazarlarda satılan ıspanakların *E. coli* ile kontamine olması hatta bunların patojen *E. coli* olması oldukça yüksektir.

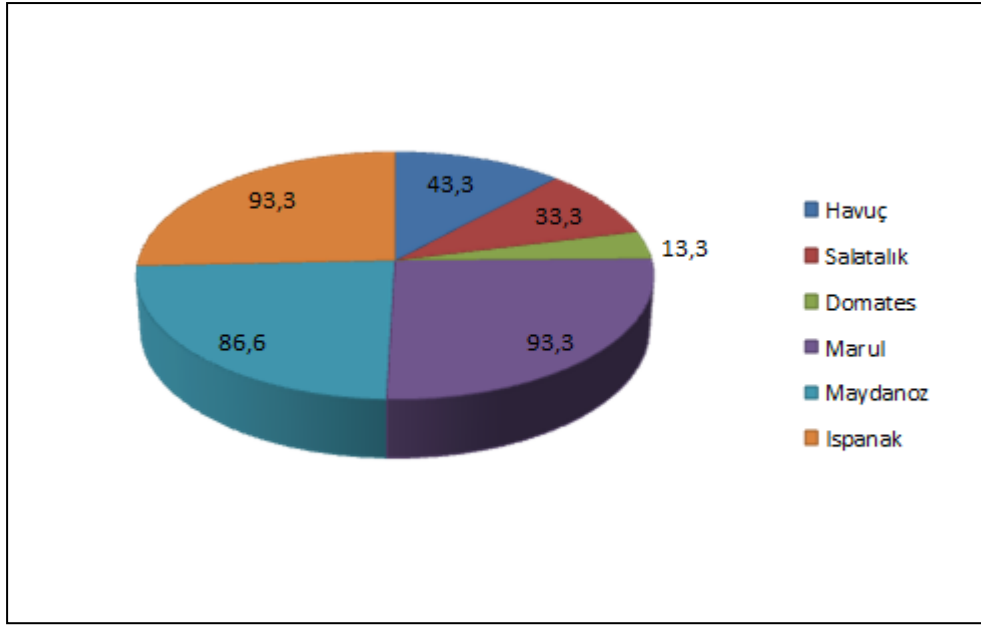
Hijyenik olarak her 100 kişiden 93' ü *E. coli* ile kontamine olmuş ıspanak satın almıştır. Yoğunluk olarak, pazarlarda satılan maydanozların, *E. coli* ile kontamine olmuş ya da patojen *E. coli* taşıması bakımından özel bir dağılım görülmektedir (Tablo 4.7, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15).

Tablo 4.1:İncelenen sebze örnekleri dağılımı ve mikrobiyolojik olarak *E. coli* pozitif örneklerin dağılımı

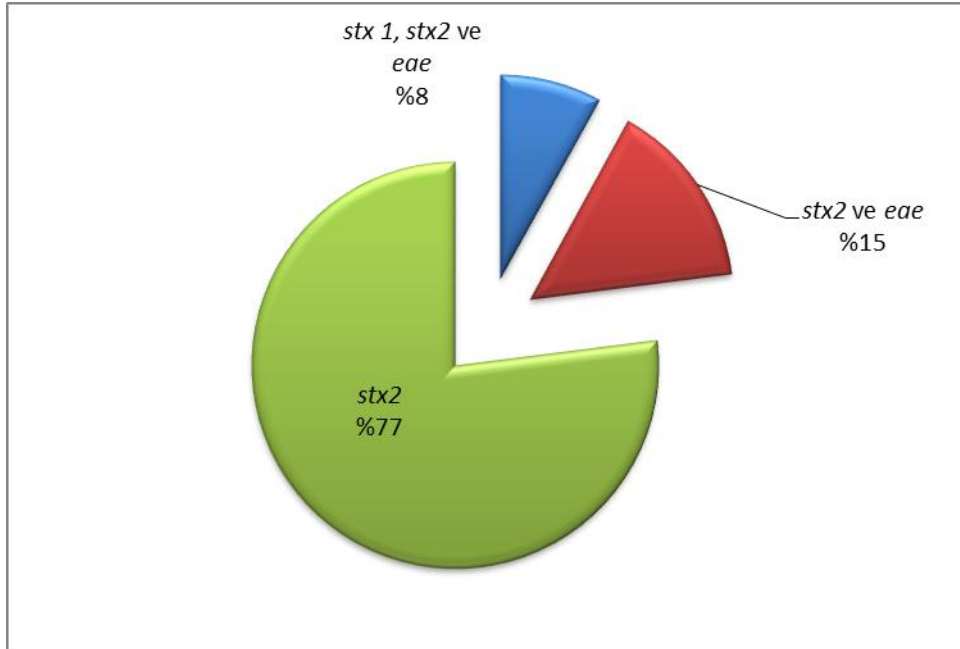
Analiz Edilen Örnek Adı	Örnek sayısı (n)	<i>E. coli</i> Bulunan Örnek Sayısı (n ₁)
Havuç	30	13
Salatalık	30	10
Domates	30	4
Marul	30	28
Maydanoz	30	26
Ispanak	30	28



Şekil 4.1: Bütün örnekler içerisinde mikrobiyolojik olarak *E. coli* üreyen örnek sayısı



Şekil 4.2: Sebze örneklerinde *E. coli*' nin yüzdesel olarak dağılımı



Şekil 4.3: İntimin geni ve Shiga toksin genlerinin *E. coli* pozitif örneklerdeki yüzdesel dağılımı

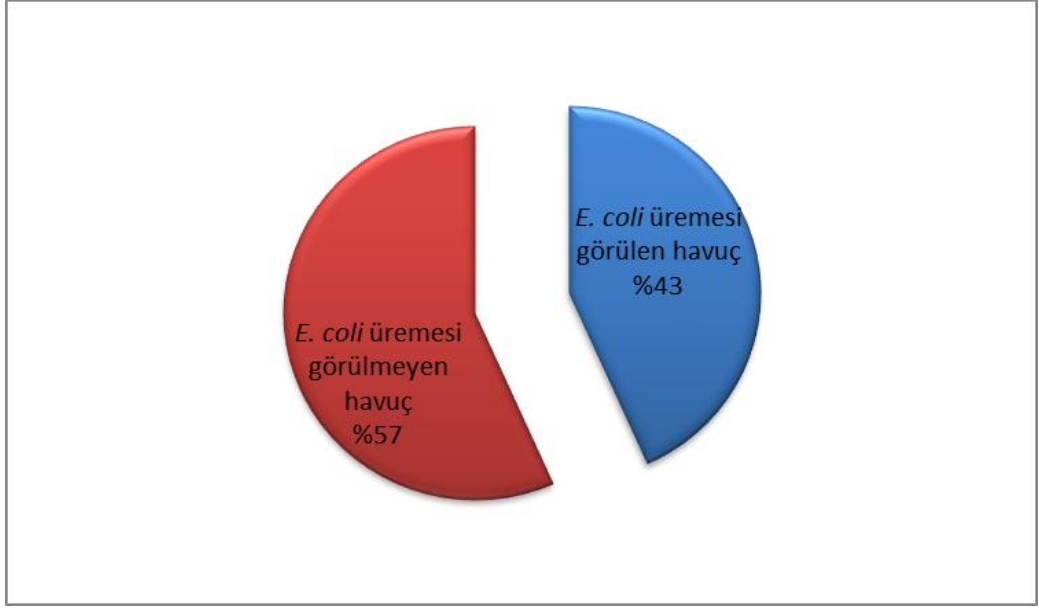
Tablo 4.2: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan havuç örneklerinde (n=30) kültürel olarak *E. coli* ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve *eae*) tespiti

Sıra No.	Örnek No.	Yer	Mikrobiyolojik ekim sonucu <i>E. coli</i> varlığı (var/yok)	Virülans Gen Profili					
				Eurofins Manuel Prosedürüne Göre (ct-değeri)			Kolonilerin Sulandırılması Yöntemine Göre (ct-değeri)		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx 2</i>	<i>Eae</i>
1	Y1	A	+	-	-	-	-	-	-
2	Y2	A	+	-	-	-	-	-	-
3	Y3	A	-	*					
4	Y4	A	-	*					
5	Y5	A	+	-	-	-	-	-	-
6	Y6	B	+	-	-	-	-	-	-
7	Y7	B	+	+	(13,92)	+	+	-	-
						(26,71)	(24,37)		
8	Y8	B	-	*					
9	Y9	B	-	*					
10	Y10	B	-	*					
11	Y11	C	-	*					
12	Y12	C	-	*					
13	Y13	C	+	-	-	-	-	+(36,74)	-
14	Y14	C	+	-	-	-	-	-	-
15	Y15	C	+	-	-	-	-	-	-
16	Y16	D	+	-	-	-	-	-	-
17	Y17	D	+	-	-	-	-	-	-
18	Y18	D	+	-	-	-	-	-	-
19	Y19	D	+	-	-	-	-	-	-
20	Y20	D	-	*					
21	Y21	E	-	*					
22	Y22	E	-	*					
23	Y23	E	-	*					
24	Y24	E	-	*					
25	Y25	E	+	-	+(35,01)	-	-	-	-
26	Y26	F	-	*					
27	Y27	F	-	*					
28	Y28	F	-	*					
29	Y29	F	-	*					
30	Y30	F	-	*					

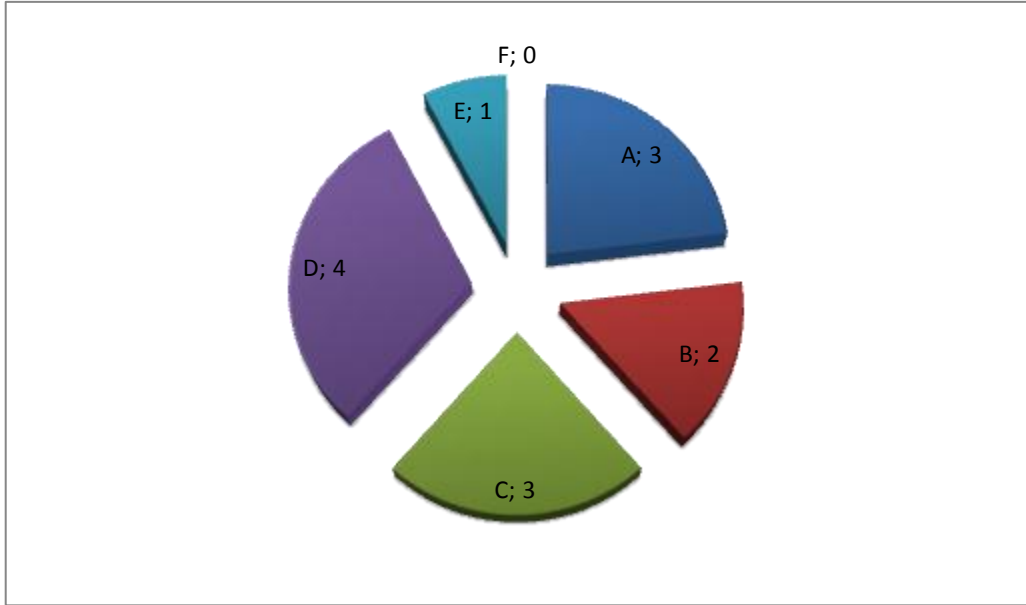
-: negatif; +: pozitif; *: yapılmadı

sxt1: shiga lik toxin 1 gen; *sxt2*: shiga lik e toxin 2 gen; *eae*: intimin gen

Yer: A: Esenler/Habiblerköyü Semt Pazarı; B: Esenyurt/Bahkyolu Semt Pazarı; C: Avcılar/Firüzköy Semt Pazarı; D: Karagümruk Semt Pazarı; E: Ulus Etiler Semt Pazarı; F: Yeşilpınar Semt Pazarı.



Şekil 4.4: Havuç örneklerinde üreyen *E. coli*' nin yüzdesel dağılımı



A: Esenler/Habiblerköyü Semt Pazarı; B: Esenyurt/Balıkyolu Semt Pazarı; C: Avcılar/Firüzköy Semt Pazarı; D: Karagömrük Semt Pazarı; E: Ulus Etiler Semt Pazarı; F: Yeşilpınar Semt Pazarı.

Şekil 4.5: *E. coli* üreyen havuç örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı

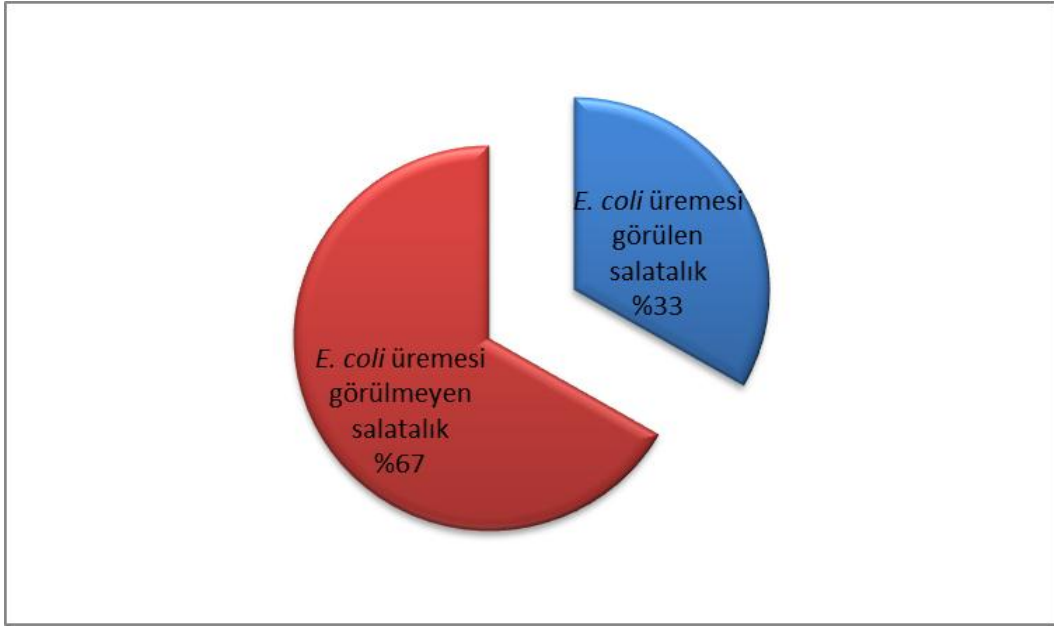
Tablo 4.3: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan salatalık örneklerinde (n=30) kültürel olarak *E. coli* ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve *eae*) tespiti

Sıra No.	Örnek No.	Yer	Mikrobiyolojik ekim sonucu <i>E. coli</i> varlığı (var/yok)	Virülans Gen Profili					
				Eurofins Manuel Prosedürüne Göre (ct-değeri)			Kolonilerin Sulandırılması Yöntemine Göre(ct-değeri)		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx 2</i>	<i>eae</i>
1	X1	A	+	-	-	-	-	-	-
2	X2	A	-	*					
3	X3	A	-	*					
4	X4	A	-	*					
5	X5	A	+	-	-	-	-	-	-
6	X6	B	-	*					
7	X7	B	-	*					
8	X8	B	-	*					
9	X9	B	+	-	-	-	-	-	-
10	X10	B	-	*					
11	X11	C	-	*					
12	X12	C	-	*					
13	X13	C	-	*					
14	X14	C	-	*					
15	X15	C	+	-	-	-	-	-	-
16	X16	G	+	-	-	-	-	-	-
17	X17	G	-	*					
18	X18	G	-	*					
19	X19	G	-	*					
20	X20	G	-	*					
21	X21	H	-	*					
22	X22	H	+	-	-	-	-	-	-
23	X23	H	-	*					
24	X24	H	+	-	-	-	-	-	-
25	X25	H	+	-	-	-	-	-	-
26	X26	I	-	*					
27	X27	I	-	*					
28	X28	I	+	-	-	-	-	-	-
29	X29	I	+	-	+(39,09)	-	-	-	-
30	X30	I	-	*					

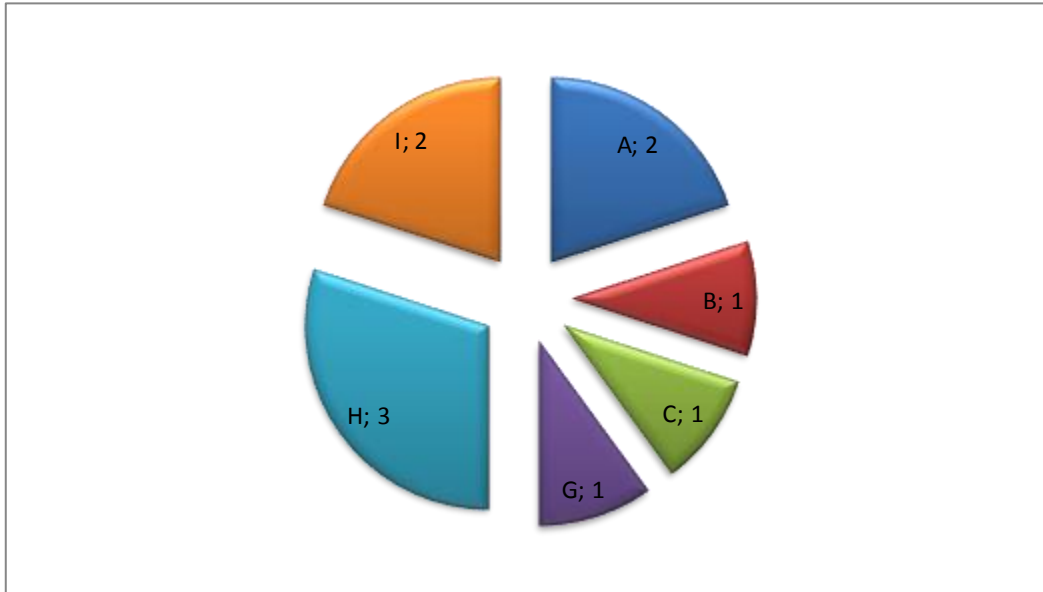
-: negatif; +: pozitif; *: yapılmadı

stx1: shiga lik toxin 1 gen; *stx2*: shiga lik e toxin 2 gen; *eae*: intimin gen

Yer: A: Esenler/Habiblerköyü Semt Pazarı; B: Esenyurt/Balıkyolu Semt Pazarı; C: Avcılar/Firuzköy Semt Pazarı; G: Zeytinburnu/Telsiz Mahallesi Semt Pazarı; H: Sultangazi/Sultançiftliği Semt Pazarı; I: Bayrampaşa/Bereç Semt Pazarı.



Şekil 4.6: Salatalık örneklerinde üreyen *E. coli*' nin yüzdesel dağılımı



A: Esenler/Habiblerköyü Semt Pazarı; B: Esenyurt/Balıkyolu Semt Pazarı; C: Avcılar/Firuzköy Semt Pazarı; G: Zeytinburnu/Telsiz Mahallesi Semt Pazarı; H: Sultangazi/Sultançiftliği Semt Pazarı; I: Bayrampaşa/Bereç Semt Pazarı

Şekil 4.7: *E. coli* üreyen salatalık örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı

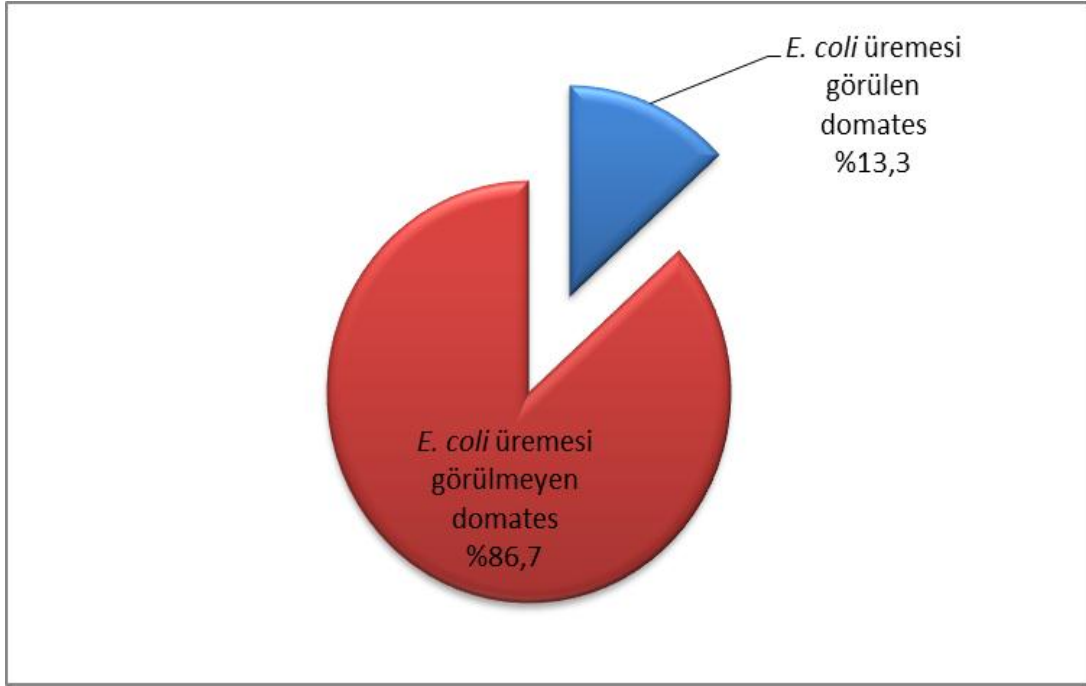
Tablo 4.4: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan domates örneklerinde (n=30) kültürel olarak *E. coli* ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve *eae*) tespiti

Sıra No.	Örnek No.	Yer	Mikrobiyolojik ekim sonucu <i>E. coli</i> varlığı (var/yok)	Virulenz Gen Profili					
				Eurofins Manuel Prosedürüne Göre (ct-degeri)			Kolonilerin Sulandırılması Yöntemine Göre (ct-degeri)		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx 2</i>	<i>eae</i>
1	Q1	G	-	*					
2	Q2	G	-	*					
3	Q3	G	-	*					
4	Q4	G	-	*					
5	Q5	G	-	*					
6	Q6	H	-	*					
7	Q7	H	-	*					
8	Q8	H	-	*					
9	Q9	H	-	*					
10	Q10	H	-	*					
11	Q11	I	-	*					
12	Q12	I	+	-	-	-	-	-	-
13	Q13	I	+	-	-	-	-	-	-
14	Q14	I	-	*					
15	Q15	I	+	-	-	-	-	-	-
16	Q16	D	-	*					
17	Q17	D	-	*					
18	Q18	D	-	*					
19	Q19	D	-	*					
20	Q20	D	-	*					
21	Q21	E	-	*					
22	Q22	E	-	*					
23	Q23	E	-	*					
24	Q24	E	-	*					
25	Q25	E	-	*					
26	Q26	F	-	*					
27	Q27	F	+	-	-	-	-	-	-
28	Q28	F	-	*					
29	Q29	F	-	*					
30	Q30	F	-	*					

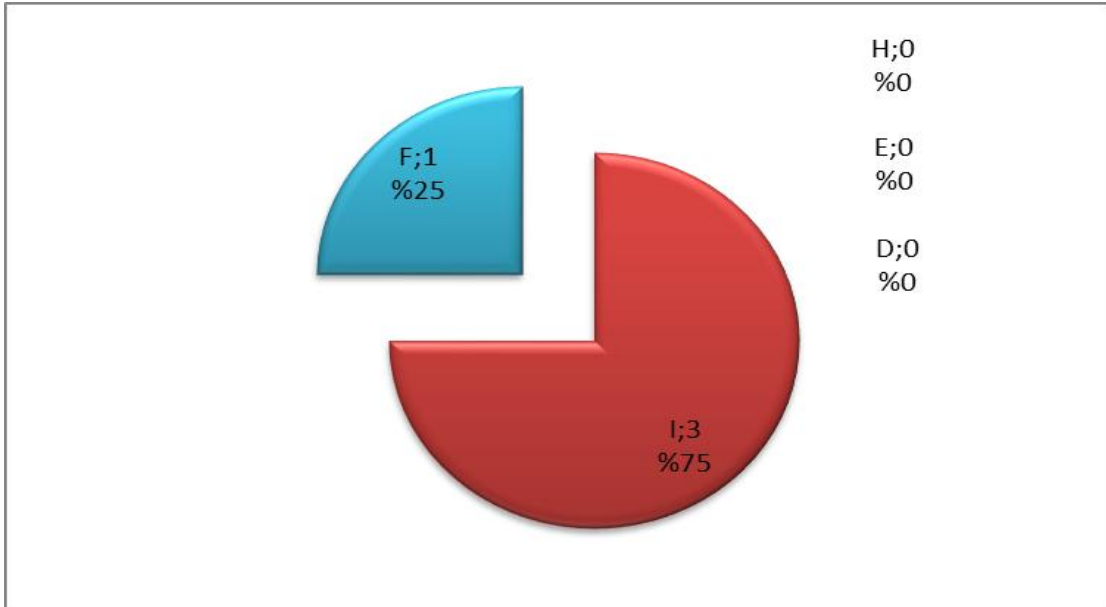
-: negatif; +: pozitif; *: yapılmadı

stx1: shiga lik toxin 1 gen; *stx2*: shiga lik e toxin 2 gen; *eae*: intimin gen

Yer: G: Zeytinburnu/Telsiz Mahallesi Semt Pazarı; H: Sultangazi/Sultançiftliği Semt Pazarı; I: Bayrampaşa/Bereç Semt Pazarı; D: Karagümrük Semt Pazarı; E: Ulus Etiler Semt Pazarı; F: Yeşilpınar Semt Pazarı



Şekil 4.8: Domates örneklerinde üreyen *E. coli*' nin yüzdesel dağılımı



G: Zeytinburnu/Telsiz Mahallesi Semt Pazarı; H: Sultangazi/Sultançiftliği Semt Pazarı; I: Bayrampaşa/Bereç Semt Pazarı; D: Karagömrük Semt Pazarı; E: Ulus Etiler Semt Pazarı; F: Yeşilpınar Semt Pazarı.

Şekil 4.9: *E. coli* üreyen domates örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı

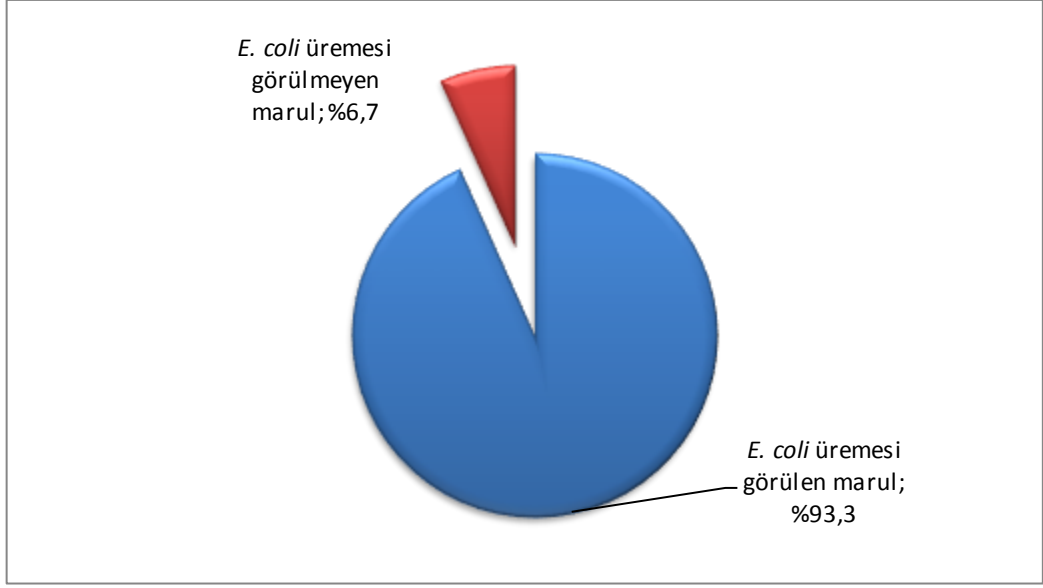
Tablo 4.5: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan marul örneklerinde (n=30) kültürel olarak *E. coli* ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve *eae*) tespiti

Sıra No.	Örnek No.	Yer	Mikrobiyolojik ekim sonucu <i>E. coli</i> varlığı (var/yok)	Virülans Gen Profili					
				Eurofins Manuel Prosedürüne Göre (ct-değeri)			Kolonilerin Sulandırılması Yöntemine Göre (ct-değeri)		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx 2</i>	<i>eae</i>
1	T1	J	+	-	-	-	-	-	-
2	T2	J	+	-	+(39,97)	-	-	-	-
3	T3	J	+	-	-	-	-	-	-
4	T4	J	+	-	-	-	-	-	-
5	T5	J	+	-	+(35,75)	+(33,87)	-	-	-
6	T6	K	+	-	-	-	-	-	-
7	T7	K	+	-	-	-	-	-	-
8	T8	K	+	-	-	-	-	-	-
9	T9	K	+	-	-	-	-	-	-
10	T10	K	+	-	-	-	-	-	-
11	T11	L	-	*					
12	T12	L	+	-	-	-	-	-	-
13	T13	L	+	-	-	-	-	-	-
14	T14	L	+	-	+(36,12)	-	-	-	-
15	T15	L	-	*					
16	T16	M	+	-	-	-	-	-	-
17	T17	M	+	-	-	-	-	-	-
18	T18	M	+	-	-	-	-	-	-
19	T19	M	+	-	-	-	-	-	-
20	T20	M	+	-	-	-	-	-	-
21	T21	N	+	-	-	-	-	-	-
22	T22	N	+	-	-	-	-	-	-
23	T23	N	+	-	-	-	-	-	-
24	T24	N	+	-	-	-	-	-	-
25	T25	N	+	-	-	-	-	-	-
26	T26	O	+	-	-	-	-	-	-
27	T27	O	+	-	-	-	-	-	-
28	T28	O	+	-	-	-	-	-	-
29	T29	O	+	-	-	-	-	-	-
30	T30	O	+	-	-	-	-	-	-

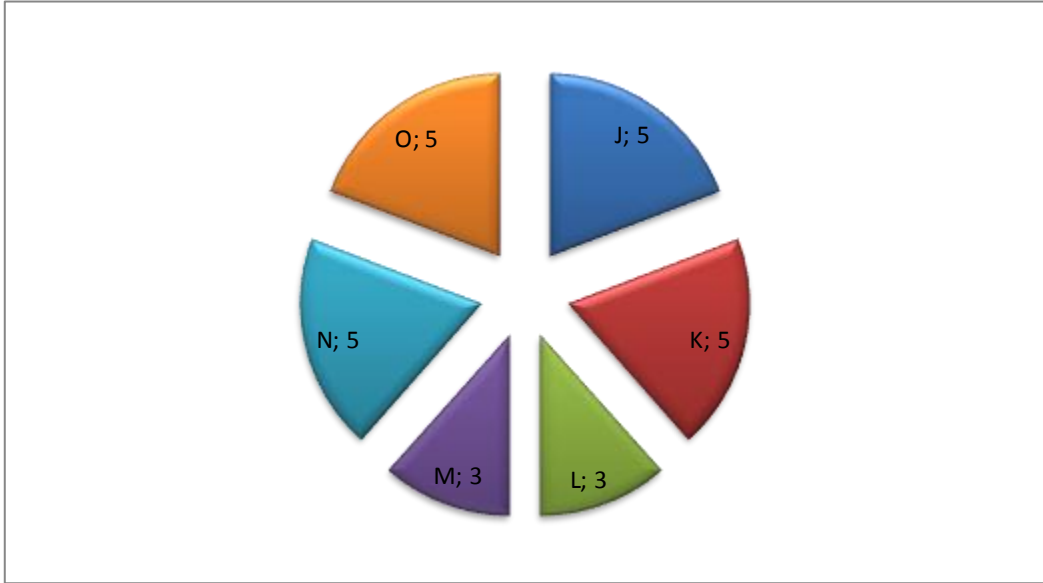
-: negatif; +: pozitif; *: yapılmadı

stx1: shiga lik toxin 1 gen; *stx2*: shiga lik e toxin 2 gen; *eae*: intimin gen

Yer: J: Küçükçekmece/Kanarya Mahallesi Semt Pazarı; K: Bağcılar/Çınar Mahallesi Semt Pazarı; L: Güngören/Haznedar Semt Pazarı; M: Eyüp Semt Pazarı; N: Fatih Semt Pazarı; O: Bakırköy/Yenimahalle Semt Pazarı.



Şekil 4.10: Marul örneklerinde üreyen *E. coli*' nin yüzdesel dağılımı



J: Küçükçekmece/Kanarya Mahallesi Semt Pazarı; K: Bağcılar/Çınar Mahallesi Semt Pazarı; L: Güngören/Haznedar Semt Pazarı; M: Eyüp Semt Pazarı; N: Fatih Semt Pazarı; O: Bakırköy/Yenimahalle Semt Pazarı.

Şekil 4.11: *E. coli* üreyen marul örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı

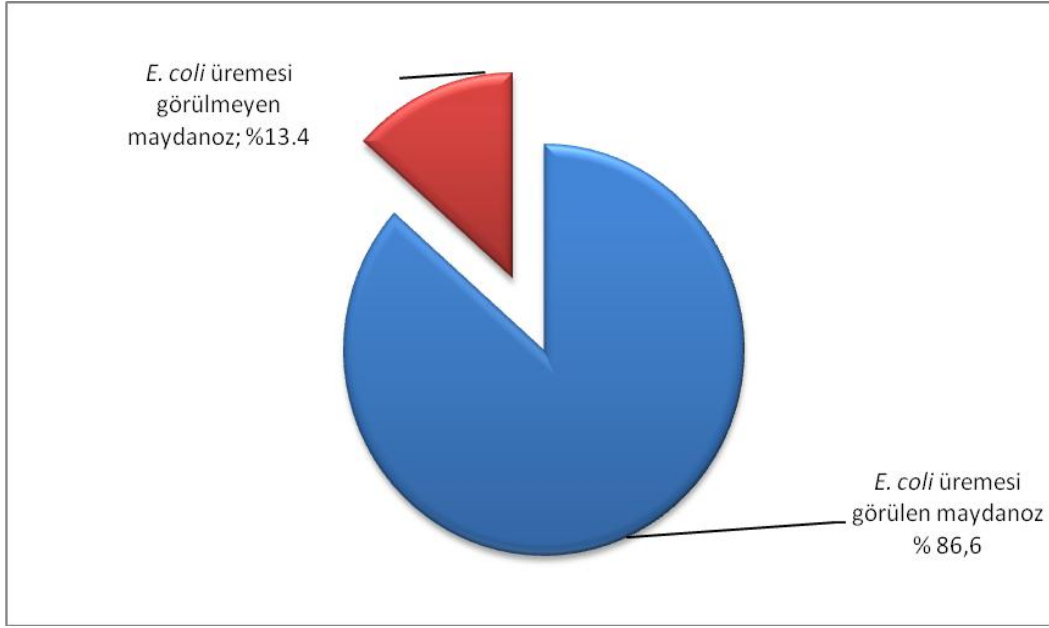
Tablo 4.6: İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan maydanoz örneklerinde (n=30) kültürel olarak *E. coli* ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve *eae*) tespiti

Sıra No.	Örnek No.	Yer	Mikrobiyolojik ekim sonucu <i>E. coli</i> varlığı (var/yok)	Virülans Gen Profili					
				Eurofins Manuel Prosedürüne Göre (ct-degeri)			Kolonilerin Sulandırılması Yöntemine Göre (ct-degeri)		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx 2</i>	<i>eae</i>
1	Z1	J	+	-	-	-	-	-	-
2	Z2	J	-	*					
3	Z3	J	+	-	-	-	-	-	-
4	Z4	J	+	-	-	-	-	+	-
								(37,63)	
5	Z5	J	+	-	-	-	-	-	-
6	Z6	K	+	-	+	-	-	-	-
					(36,29)				
7	Z7	K	+	-	-	-	-	-	-
8	Z8	K	+	-	-	-	-	+	-
								(35,35)	
9	Z9	K	+	-	-	-	-	+	-
								(39,38)	
10	Z10	K	+	-	-	-	-	+	-
								(38,72)	
11	Z11	L	+	-	+	-	-	+	+
					(36,26)			(35,72)	(24,90)
12	Z12	L	-	*					
13	Z13	L	+	-	-	-	-	-	-
14	Z14	L	-	*					
15	Z15	L	-	*					
16	Z16	P	+	-	-	-	-	-	-
17	Z17	P	+	-	-	-	-	-	-
18	Z18	P	+	-	-	-	-	-	-
19	Z19	P	+	-	-	-	-	-	-
20	Z20	P	+	-	-	-	-	-	-
21	Z21	R	+	-	-	-	-	-	-
22	Z22	R	+	-	-	-	-	-	-
23	Z23	R	+	-	-	-	-	-	-
24	Z24	R	+	-	-	-	-	-	-
25	Z25	R	+	-	-	-	-	-	-
26	Z26	S	+	-	-	-	-	-	-
27	Z27	S	+	-	-	-	-	-	-
28	Z28	S	+	-	-	-	-	-	-
29	Z29	S	+	-	-	-	-	-	-
30	Z30	S	+	-	-	-	-	-	-

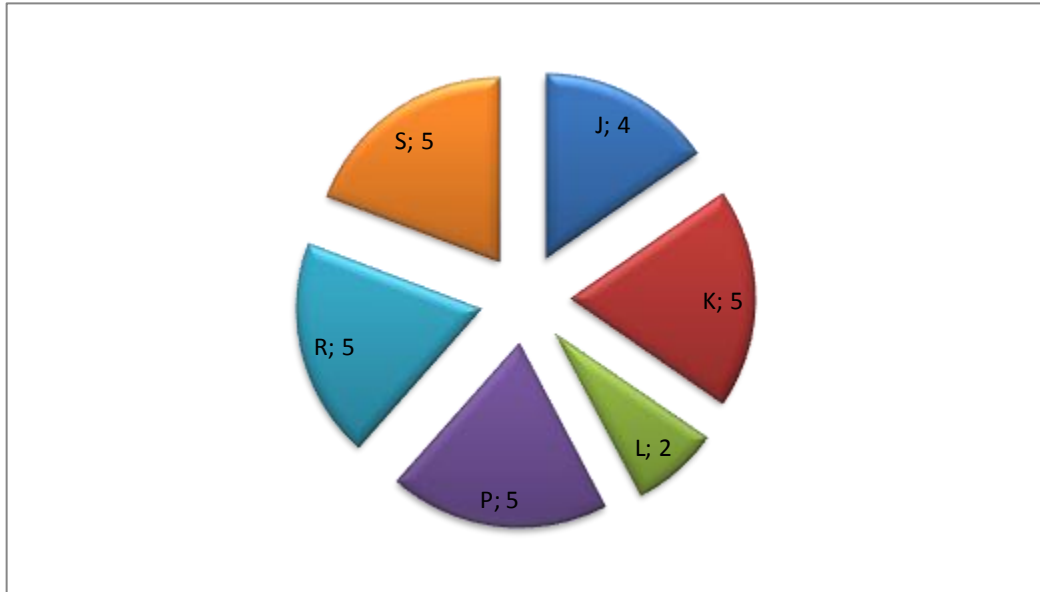
-: negatif; +: pozitif; *: yapılmadı

sxt1: shiga lik toxin 1 gen; *sxt2*: shiga lik e toxin 2 gen; *eae*: intimin gen

Yer: J: Küçükçekmece/Kanarya Mahallesi Semt Pazarı; K: Bağcılar/Çınar Mahallesi Semt Pazarı; L: Güngören/Haznedar Semt Pazarı; P: Bahçelievler/Yayla Semt Pazarı; R: Çağlayan Semt Pazarı; S: Beyoğlu Semt Pazarı.



Şekil 4.12: Maydanoz örneklerinde üreyen *E. coli*' nin yüzdesel dağılımı



J: Küçükçekmece/Kanarya Mahallesi Semt Pazarı; K: Bağcılar/Çınar Mahallesi Semt Pazarı; L: Güngören/Haznedar Semt Pazarı; P: Bahçelievler/Yayla Semt Pazarı; R: Çağlayan Semt Pazarı; S: Beyoğlu Semt Pazarı

Şekil 4.13: *E. coli* üreyen maydanoz örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı

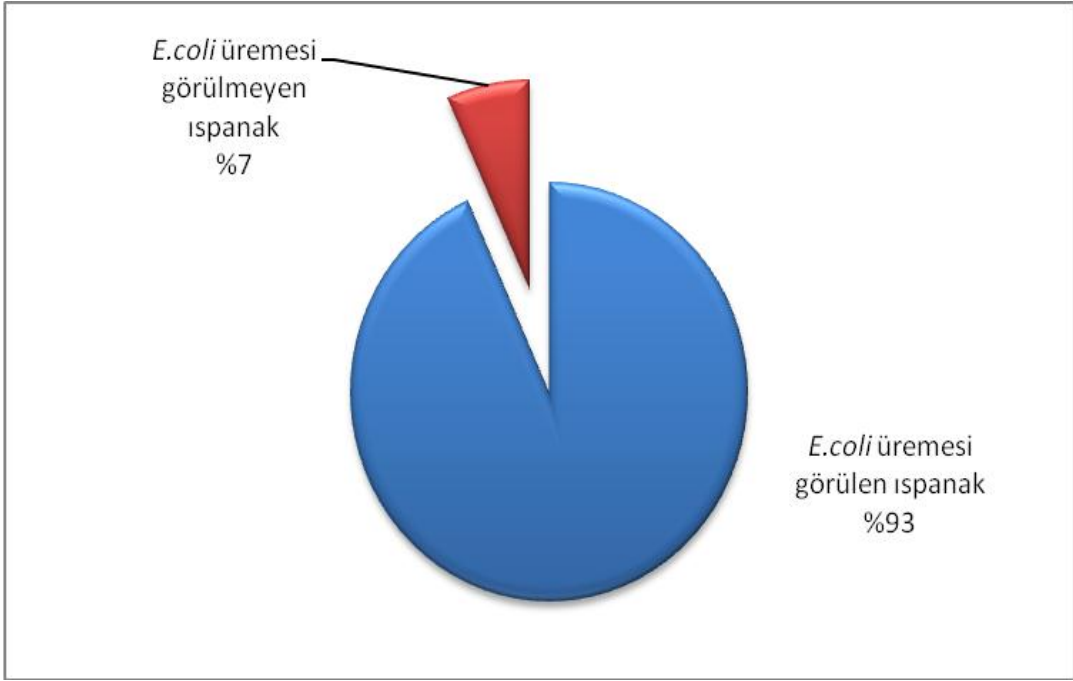
Tablo 4.7:İstanbul ilinin çeşitli semt pazarlarından (n=6) toplanan ıspanak örneklerinde (n=30) kültürel olarak *E. coli* ve Real-Time PCR yöntemi ile virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve *eae*) tespiti

Sıra No.	Örnek No.	Yer	Mikrobiyolojik ekim sonucu <i>E. coli</i> varlığı (var/yok)	Virülans Gen Profili					
				Eurofins Manuel Prosedürüne Göre (ct-degeri)			Kolonilerin Sulandırılması Yöntemine Göre(ct-degeri)		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx 2</i>	<i>eae</i>
1	P1	M	+	-	-	-	-	-	-
2	P2	M	+	-	-	-	-	-	-
3	P3	M	+	-	-	-	-	-	-
4	P4	M	+	-	-	-	-	-	-
5	P5	M	+	-	-	-	-	-	-
6	P6	N	+	-	-	-	-	-	-
7	P7	N	+	-	-	-	-	-	-
8	P8	N	+	-	-	-	-	-	-
9	P9	N	+	-	-	-	-	-	-
10	P10	N	+	-	-	-	-	-	-
11	P11	O	-	*					
12	P12	O	+	-	-	-	-	-	-
13	P13	O	+	-	-	-	-	-	-
14	P14	O	+	-	-	-	-	-	-
15	P15	O	+	-	-	-	-	-	-
16	P16	P	+	-	-	-	-	-	-
17	P17	P	+	-	-	-	-	-	-
18	P18	P	+	-	-	-	-	-	-
19	P19	P	+	-	-	-	-	-	-
20	P20	P	+	-	-	-	-	-	-
21	P21	R	+	-	-	-	-	-	-
22	P22	R	+	-	-	-	-	-	-
23	P23	R	+	-	-	-	-	-	-
24	P24	R	+	-	-	-	-	-	-
25	P25	R	+	-	-	-	-	-	-
26	P26	S	+	-	-	-	-	-	-
27	P27	S	+	-	-	-	-	-	-
28	P28	S	+	-	-	-	-	-	-
29	P29	S	+	-	-	-	-	-	-
30	P30	S	-	*					

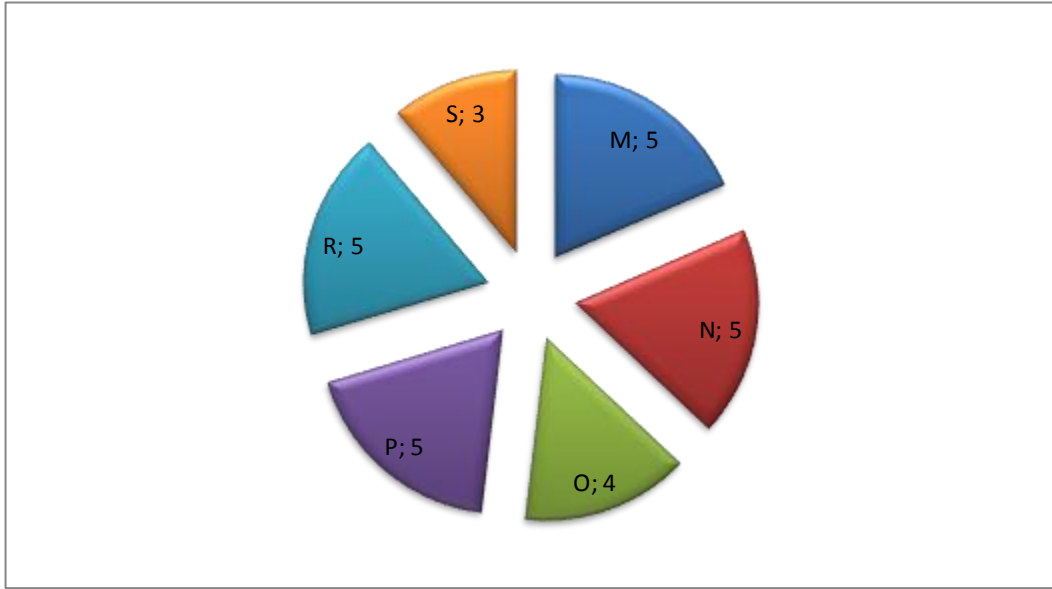
-: negatif; +: pozitif; *: yapılmadı

stx1: shiga lik toxin 1 gen; *stx2*: shiga lik e toxin 2 gen; *eae*: intimin gen

Yer: M: Eyüp Semt Pazarı; N: Fatih Semt Pazarı; O: Bakırköy/Yenimahalle Semt Pazarı; P: Bahçelievler/Yayla Semt Pazarı; R: Çağlayan Semt Pazarı; S: Beyoğlu Semt Pazarı.



Şekil 4.14:İspanak örneklerinde üreyen *E. coli*' nin yüzdesel dağılımı



M: Eyüp Semt Pazarı; N: Fatih Semt Pazarı; O: Bakırköy/Yenimahalle Semt Pazarı; P: Bahçelievler/Yayla Semt Pazarı; R: Çağlayan Semt Pazarı; S: Beyoğlu Semt Pazarı.

Şekil 4.15:*E. coli* üreyen ıspanak örneklerinin (n=30) semt pazarlarına göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Çiğ ve pişmiş olarak tüketilen sebzeler, insan beslenmesinde önemlidir ve temel besin kaynağımızdır. Ancak, üretimden tüketime kadar geçen aşamalarda gıda güvenliğinin sağlanmaması durumunda patojen mikroorganizmalar ile kontamine olan sebzeler insan sağlığını tehdit edebilmektedir. Bu çalışmada; beslenmede önemli olan ve çoğunlukla çiğ olarak tüketilen bazı sebzelerin gıda hijyeni açısından hızlı ve gelişmiş yeni bir teknikle incelenmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada İstanbul ilinin semt pazarlarından temin edilen; havuç, domates, salatalık, marul, maydanoz ve ıspanak örneklerinin her birinden 30' ar adet olmak üzere toplam 180 sebze örneğinde patojen *E. coli* suşunun mevcudiyeti araştırılmıştır. Çalışmada kültür yöntemiyle yapılan mikrobiyolojik incelemede; marulda %93.3, ıspanakta %93.3, maydanozda %86.6, havuçta %43.3, salatalıkta %33.3 ve domateste %13.3 oranında *E. coli* bulaştığı saptanmıştır. Sebzelerde, toplam *E. coli* üremesi ortalama olarak %60.5 dolayındadır.

Ülkemizde *E. coli*' nin sebzelerde bulaşması konusunda bizim çalışmamıza benzer çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Ancak bu araştırmalarda kültür yöntemi kullanılmış, moleküler teknikleri baz alan Real-Time PCR ile *E. coli*' nin hangi patojen suşa ait olduğu belirlenememiştir.

Doğan ve arkadaşları (2001); 84 salata örneğinde %78.6, Çıtak ve arkadaşları (2009); 60 sebze örneğinde %33.3 oranında *E. coli*' ye rastlamışlardır. Bu çalışmada bulunan değerler Doğan ve arkadaşlarının (2001) yaptıkları çalışmadan daha düşük, buna karşın Çıtak ve arkadaşlarının (2009) sonuçlarından daha yüksektir.

Arıcı ve arkadaşları (2003); çalışmamıza benzer bir sonuç olarak yarı hazır ve hazır salata örneklerinde %88.8 oranında *E. coli* saptamışlardır. Bunun nedeni olarak sebzelerin temizlenmesinde ve hazırlanması sırasında kullanılan su, alet ve personel kontaminasyonunun önemli olduğu tahmin edilmiştir.

Ayçiçek ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada; marul, kıvırcık, iceberg, maydanoz, dereotu ve havuçta *E. coli* taraması yapmışlar, *E. coli* kontaminasyonun en yüksek olduğu sebzenin %70 oranında maydanoz ve %40 oranında dereotu olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada Iceberg marul örneklerinde %3.3 oranında en düşük *E. coli* bulaşması tespit etmişlerdir. Araştırmamızda bulunan değerler maydanoz örneğinde benzerlik gösterirken, marul örneğinde daha yüksek bulunmuştur.

Gülmez ve arkadaşları (2005); çiğ sebzelerden hazırlanan salatalarda %20 oranında *E. coli* bulmuştur. Bu çalışmadaki veriler, araştırmamızdaki sonuçlara göre daha düşük orandadır.

Doğan ve arkadaşlarının (2001), Arıcı ve arkadaşlarının (2003), Gülmez ve arkadaşlarının (2005), Çıtak ve arkadaşlarının (2009) *E. coli* hakkında yaptıkları çalışmalarda kültür yöntemlerle *E. coli* bulaşmasının olup olmadığını saptamışlar, ancak *E. coli*'nin patojen suşlarını araştırmamışlardır. Araştırmalarda önemli olan gıdaların *E. coli* ile bulaşması yanında hangi patojen suşunun olduğunu belirlemesidir. Günümüzde mikroorganizmaların tespitinde; fenotipik, biyokimyasal, immünolojik ve moleküler teknikler olmak üzere birçok yöntem kullanılmaktadır. Kültür bazlı yöntemlerin; zaman alıcı, zahmetli ve patojen mikrobiyal türlerin tanınması için belirli bir laboratuvar tecrübesi gerektirmesi gibi nedenlerden dolayı dezavantajları bulunmaktadır. Moleküler bazlı teknikler ise hassas, hızlı ve güvenilirdir. Bu tekniklerden biri olan multipleks Real-Time PCR eş zamanlı olarak birden fazla gen bölgesinin varlığını ortaya çıkarmakta, bakterinin genotipik özelliklerine göre hangi serotipe ait olduğunu belirlemektedir (Settanni ve Corsetti, 2007).

Yurtdışında sebzelerde kültür yöntemleriyle *E. coli* üremesi konusunda çok sayıda araştırmalar yürütülmüştür. Brezilya' da Oliveira ve arkadaşları (2012) sebze örneklerinin %53.1'inde *E. coli* saptamışlar, bulunan bu sonuçlar araştırmamız ile benzerlik göstermektedir. Portekiz' de karışık salatada *E. coli* analizi yapılmış, %3.96 oranında bulaşma bulunmuştur (Santos ve ark. 2012). Zambiya' da taze kesilmiş sebzelerde yapılan *E. coli* çalışmasında ise %6.25 oranında *E. coli* saptanmıştır (Nguz ve ark. 2005). İspanya' da hazır sebze salatalarında yapılan bir çalışmada hazır salatada %10.94 oranında *E. coli* tespit edilmiştir (Abadias ve ark. 2008). Yukarıdaki

arařtırmalarda bulunan deęerler, bu çalıřmadaki deęerlerden daha dūřuktur. Bunun nedeni, salataların fazla kontaminasyona maruz kalmadan paketlenerek tūketime sunulmasından kaynaklanabilir.

E. coli' lerin patojenitesini belirlemede salgıladıkları shiga toksin önemlidir. Çalışmamızda Shiga toksinin belirlenmesinde gerekli olan *stx1*, *stx2* ve *E. coli*' nin bağırsak epiteline tutunmasını sağlayan intimin genlerinin mevcudiyeti araştırılmıştır. Bu genlerin bulunması *E. coli*' nin patojen suşlarının belirlenmesini sağlamaktadır. (Chassagne ve ark. 2009).

Bu araştırmada Real-Time PCR sonuçlarına gore; 3 havuç, 1salatalık, 3 marul ve 6 maydanoz örneğinde *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerinin olduğu saptanmıştır. Domates ve ıspanak rneklelerinde ise bu genlere rastlanmamıştır.

Eurofins manuel prosedūri ile yapılan DNA izolasyonu ve kolonilerin sulandırılması yöntemi karşılaştırıldığında; 1 havuç örneğinde, hazır kitte *stx1* ve bir başka örnekte *stx2* ve *eae* genleri pozitif görülürken, kolonilerin sulandırılması yönteminde negatif görülmüştür. Kolonilerin sulandırılması yönteminde; bir havuç örneğinde *stx2* pozitifken diğer yöntemde negatif görülmüştür.

Salatalık rneğinde hazır kit ile yapılan DNA izolasyonunda *stx2* pozitif görülürken, kolonilerin sulandırılması yönteminde negatif görülmüştür.

Marul rneğinde hazır kit ile yapılan DNA izolasyonunda bir örnekte *stx2*, bir başka örnekte *stx2* ve *eae*, diğer bir örnekte *stx2* genleri pozitif görülürken, kolonilerin sulandırılması yönteminde negatif görülmüştür.

Maydanoz rneęinde kolonilerin sulandırılması yöntemine göre; 4 örnekte *stx2* pozitif görülürken diğer yöntemde negatif görülmüştür. Eurofins manuel prosedūri göre 1 örnekte *stx2* pozitif görülürken diğer yöntemde negatif; bir başka örnekte *stx2* pozitif görülürken kolonilerin sulandırılması yönteminde *stx2* ve *eae* pozitif görülmüştür.

Gıdalarda PCR yöntemleriyle *E. coli*' nin tespiti ya da hangi serotipe ait olduğunu belirleyen araştırmalarda mevcuttur:

Koseki ve arkadaşları (2011); Japonya’ da zincir marketlerden topladıkları marul örneklerinde multipleks PCR yöntemiyle *E. coli* O157:H7 suşunu taramıştır ve tüm örneklerde bu patojen mikroorganizmaya rastlamadıklarını bildirmiştir.

Meksika’ da mikrobiyolojik kalitenin ve prevelansın belirlenmesi amacıyla restoranlarda satılan hazır salata ve çiğ sebzelerde *E. coli* taraması yapılmıştır. Bunun için, ulusal zincir, yerel ve küçük restoranlardan örnekler alınmıştır. Metot olarak en muhtemel sayı yöntemi kullanılmış olup, daha sonra serotip belirlemek amacıyla multipleks Real-time PCR yapılmıştır. 129 salata örneğinin 110’ unda *E. coli* bulunurken, multipleks Real-Time PCR’ da bu *E. coli*’ lerin 8’ inin Diyarjenik *E. coli*, 5 tanesinin non-O157 STEC, 2 tanesinin EIEC ve 1 tanesinin ETEC olduğu bildirilmiştir (Castro-Rosas ve ark. 2012).

Arjantin’ de süpermarketlerde satışa sunulan hazır gıdalarda *E. coli* taraması yapılmıştır. 500 gıda örneğinin 10 tanesinde (süzme peynir ve sebzeli, mayonezli tavuk) Shiga toksin genleri olan *stx1* ve *stx2* bulunmuştur. Bulunan bu genlerin *E. coli*’ nin O18, O8, O57w, O79, O44, ve O128 serotipinin olabileceğini bildirmişlerdir (Balague ve ark. 2006).

Türkiye’ de ise sebzelerle ilgili *E. coli* serotipinin tespiti için gen taraması çalışmasına rastlanılmamıştır. Buna karşın Yılmaz ve arkadaşları (2006); İstanbul’ da bulunan mezbahalarda büyükbaş hayvan ve sığırların karkaslarında bulunan *E. coli* O157 ve O157:H7 suşlarında *stx1*, *stx2* ve *eae* gen taraması yapmışlardır. Aynı çalışmada 26 *E. coli* O157:H7 ve 6 *E. coli* O157 suşlarının hepsinde *eae* geninin, 5 *E. coli* O157 suşunun 4 tanesinde *stx2* ve *eae* genlerinin, 27 *E. coli* O157:H7 suşunun 5 tanesinde *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerinin, 19 tanesinde *stx2* ve *eae* genlerinin, 3 tanesinde sadece *eae* geninin bulunduğunu bildirmişlerdir. Hiçbir suşta *stx1* ve *stx2* tek başına bulmamalarına rağmen, 2 suşta *eae* genine rastlamışlardır.

Güler ve arkadaşları (2008); buzağı dışkılarında önce *E. coli* kontaminasyonun olup olmadığına bakmışlar, daha sonra *E. coli* ile bulaşan dışkı örneklerinde *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerini taramışlardır. *E. coli* ile bulaşan 120 dışkı örneğinin 16’ sında *eae*, 8’ inde *stx1* ve 5’ inde *stx2* genlerini saptamışlardır. Ancak sadece *eae* ve *stx* genlerinin

bulunduğu dışkı örneklerinin hiçbirinde O157:H7 suşunun olmadığını bildirilmiştir. Güler ve arkadaşlarının (2008), dışkı örneklerinde yaptıkları araştırmanın benzeribir Şekilde *E. coli* ile bulaşmış sebzelerde bu genler taranmış, STEC O157:H7, STEC O26:H11, STEC O111:H2, STEC O119:H6 veya STEC O157:NM' nin olabileceği tahmin edilmiştir. Bu değerlendirmede Ibekwe ve arkadaşlarının (2002) alışması temel kaynak olarak kullanılmıştır.

Bu alışmada, İstanbul ilinde satılan havuç, salatalık, maydanoz ve marul örneklerinde patojen *E. coli*' nin bulunduğu *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerinin belirlenmesi ile saptanmıştır. Buna karşın domates ve ıspanak örneklerinde patojen *E. coli* olmadığı belirlenmiştir. Sonuçta pazarlarda satılan sebzelerde patojen *E. coli* bulunabilmektedir.

Ülkemizde birçok kabın, tahtanın ve terazinin, onlarca elin temas ettiği manavlarda ve pazarlarda açık olarak satılan bu sebzelerin mikroorganizmalarla kontamine olmaması mümkün değildir. Ancak HACCP kuralları uygulanarak sebzelerin paket halinde tüketicilere sunulması durumunda bu mikrobiyal bulaşmalar kontrol altına alınabilir.

Gıdalarda mikroorganizmaların üreyip remediğinin belirlenmesinin halk sağlığının korunmasında yani gıda güvenliğinde yeterli olmadığı, daha ileri safhalara gidilerek patojen suşlarının belirlenmesi gerekmektedir. Günümüzde teknolojinin gelişmesiyle beraber genetik çalışmalarla bu patojen suşların hızla belirlenmesi mümkündür. Bu alışmada *E. coli*' nin patojen suşları belirlenmeye çalışılmıştır. Bulduğumuz bu sonuçlara göre tüm gıdalarda mikroorganizmaların patojen suşlarını belirleyen bu tür çalışmaların yapılmasına ve yaygınlaşmasının gerektiğini inanmaktayız.

6. KAYNAKLAR

- Abadias M., Usall J., Anguera M., Solsona C., Vinas I.** (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*. Vol **123**, Issues 1-2, Pages 121-129.
- Adak G. K., Long S. M., O'Brien S. J.** (2002). Trends in indigenous foodborne disease and deaths England and Wales: 1992 to 2000. *Gut*. **51**(6):832-841.
- Alemdar S., Kahraman T., Ağaoğlu S., Alisharlı M.** (2009). Bitlis İli İçme Sularının Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri. *Ekoloji*.**19**(73): 29-38.
- Alisharlı M., Akman H. N.** (2004). Perakende Satılan Kıymaların *Escherichia coli* O157 Yönünden İncelenmesi. *YYÜ Vet. Fak. Derg.* **15**(1-2):65-69.
- Arıcı M., Gümüş T., Şimşek O.** (2003). Hazır Salataların Hijyenik Durumu. *Gıda Derneği Dergisi*. **28**(6):571-577.
- Ayçiçek H., Oğuz U., Karci K.** (2006). Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. Volume **209**, Issue 2, Pages 197-201.
- Balague C., Khan A. A., Fernandez L., Redolfi A. L., Aquili V., Voltattorni P., Hofer C., Ebner G., Duenas S., Cerniglia C. E.** (2006). Occurrence of non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ready-to-eat food from supermarkets in Argentina. *Food Microbiology*. Volume **23**, Issue 3, Pages 307-313.
- Bardiau M., Labruzzo, S. and Mainil J.G.**(2011). Study of polymorphisms in *tir*, *eae* and *tccP2* genes in enterohaemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli* of serogroup O26. *BMC Microbiol.* 11: 124.
- Bertin Y., Boukhors K., Pradel N., Livrelli V., Martin C.** (2001). *Stx2* suptyping of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle in France:detection of a new *stx2* subtype and correlation with additional virulence factors. *J. Clin.Microbiol.* **39**(9): 3060-3065.
- Bell C.** (2002). Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *International Journal of Food Microbiology*. Vol **78**, No. 3, Page:197-216.
- Beuchat L. R.** (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*. Vol **4**, Issue 4, Pages 413-423.
- Black J. G.** Microbiology Principles and Explorations. Virginia, John Wiley & Sons, Inc. 7th Edition, 2008, p:66.
- Bülte M., Goll M.** (2006). Pathogene Mikroorganismen-*Escherichia coli* und Shigellen. *Behr's Verlag*, 1. Auflage.

Bürk, C., Dietrich R., Açar G., Moravek M., Bülte M., Martlbauer E. (2003). Identification and characterisation of a new variant of shiga toxin 1 in *Escherichia coli* ONT:H19 of bovine origin. *J. Clin. Microbiol.* **41**(5):2106-2112.

Cabral J. P. S. (2010). Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* **7**(10):3657-3703.

Castro-Rosas J., Cerna-Cortes J. F., Mendez-Reyes E., Lopez-Hernandez D., Gomez-Aldapa C. A., Estrada-Garcia T. (2012). Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. *International Journal of Food Microbiology.* Vol **156**, Issue 2, Pages:176-180.

CDC (2011). Estimates of Foodborne Illness in the United States Report: Findings.

Chassagne L., Pradel N., Robin F., Livrelli V., Bonnet R., Delmas J. (2009). Detection of *stx1*, *stx2*, and *eae* genes of enterohemorrhagic *Escherichia coli* using SYBR Green in a real-time polymerase chain reaction. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **64**(1):98-101.

Cirelli G. L., Consoli S., Licciardello F., Aiello R., Giuffrida F., Leonardi C. (2012). Treated municipal wastewater reuse in vegetable production. *Agricultural Water Management.* Vol **104**, Pages 163-170.

Çıtak S., Gündoğan N., Kala E. (2009). Ankara İlindeki Dondurulmuş Et ve Sebzelelerde Koliform ve Enterokokların Fekal İndikatör Bakteri Olarak Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.* **66**(4):145-151.

Doğan H. B., Çakır İ., Keven F., Coşansu S., Kıral N., Dağar T. İ., Gürsu G. Halkman A. K. (2001). Çeşitli Gıdalarda Koliform, Fekal Koliform ve *E. coli* Varlığı. *Gıda Teknolojisi Derneği.* **26**(2):83-90.

Edey M. M., Mead P. A., Saunders R. E., Strain L., Perkins S. J., Goodship T. H., Kanagasundaram N. S. (2008). Association of a factor H mutation with hemolytic uremic syndrome following a diarrheal illness. *Am. J. Kidney Dis.* **51**(3):487-490.

EFSA (2011). Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Technical Report.

Eklund, M. (2005). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from Humans in Finland. Publications of the National Public Health Institute KTLA, 23/2005.

Ekşi F., Karşlgil T., Bayram A. (2007). Çocukluk Yaş Grubu İshallerinde *Escherichia coli* O157:H7' nin Araştırılması. *Van Tıp Dergisi.* **14**(1):15-18.

Eurofins GENESpin DNA İzolasyon Kiti, Lot No: 1101/006, Katalog No: 5224400605.

European Community. The EU Regulation on Microbiological Criteria. (EC) No. 2073/2005.

FDA (2012). Bad Bug Book - Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins - Second Edition.

Frank C., Werber D., Cramer J. P., Askar M., Faber M., Heiden M. A., Bernard H., Fruth A., Prager R., Spode A., Wadl M., Zoufaly A., Jordan S., Stark K., Krause G. (2011). Epidemic Profile of Shiga-Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak in Germany-Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.* **365**(19):1771-80.

Franz E. and van Bruggen A. H. (2008). Ecology of *E. coli* O157:H7 and Salmonella enterica in the primary vegetable production chain. *Critical Review Microbiology.* **34**(3-4):143-161.

Food Industry Watch (2010). *E. coli* Risks & Management: Fighting a killer bacterium. pp:1-8.

Gannon, V. P., Teerling C., Masri S. A., Gyles C. L. (1990). Molecular cloning and nucleotide sequence of another variant of the *Escherichia coli* shiga-like toxin II family. *J. Gen. Microbiol.* **136**(6):1125-1135.

Gelting R. J., Baloch M. A., Zarate-Bermudez M. A., Selman C. (2011). Irrigation water issues potentially related to the 2006 multistate *E. coli* O157:H7 outbreak associated with spinach. *Agricultural Water Management.* Vol **98**, Issue 9, Pages 1395-1402.

Ghenghesh K. S., Belhaj K., El-Amin W. B., El-Nefathi S. E., Zalmum A. (2005). Microbiological quality of fruit juices sold in Tripoli-Libya. *Food Control.* Vol **16**, Issue 10, Pages 855-858.

Glutz J. (2011). Un answered questions over Europe's deadly *E. coli* crisis. *Grocer.* Vol **234** Issue 8007, p12-13.

Gupta A., Khaira A., Rathi O. P., Mahajan S., Bhowmik D., Agarwal S. K., Tiwari S. C. (2011). Diarrhea-related hemolytic uremic syndrome: unmasking antifactor H antibodies. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* **22**(5):1017-1018.

Gyles C. L. (2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci.* **85**(13 Suppl):E45-62.

Güler L., Gündüz K., Ok U. (2008). Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from calves in Turkey. *Zoonoses Public Health.* **55**(5):249-257.

Gülmez M., Sezer Ç., Duman B., Vatansever L., Oral N., Baz E. (2005). Lokantalarda Tüketilen Bazı Gıdaların ve İçme Sularının Mikrobiyolojik Kaliteleri. (2005). *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* **11**(1):5-10.

Harapas D., Premier R., Tomkins B., Franz P., Ajlouni S. (2010). Persistence of *Escherichia coli* on injured vegetable plants. *International Journal of Food Microbiology*. Vol **138**, Issue 3, Pages 232-237.

Ibekwe A. M., Watt P. M., Grieve C. M., Sharma V. K., Lyons S. R. (2002). Multiplex fluorogenic real-time PCR for detection and quantification of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy wastewater wetlands. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**(10):4853-4862.

ISO/FDIS 6887-1 Microbiology of Food and animal feeding stuffs-Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.

ISO 16649-2:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the β -glucuronidase-positive *Escherichia coli*.

Ito H., Terai A., Kurazono H., Takeda Y., Nishibuchi M. (1990). Cloning and nucleotide sequencing of verotoxin 2 variant genes from *Escherichia coli* O91:H21 isolated from a patient with the haemolytic uraemic syndrome. *Microb. Pathog.* **8**(1):47-60.

Jenkins C., Evans J., Chart H., Willshaw G. A., Frankel G.(2008). *Escherichia coli* serogroup O26-a new look at an old adversary. *J. Appl. Microbiol.* **104**(1):14-25.

Johnson T. J. and Nolan L. K. (2009). Pathogenomics of the Virulence Plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol **73**, Issue 4, Pages: 750-774.

Jokinen C., Edge T. A., Ho S., Koning W., Laing C., Mauro W., Medeiros D., Miller J., Robertson W., Taboada E., Thomas J. E., Topp E., Ziebell K., Gannon V.P.J. (2011). Molecular subtypes of *Campylobacter spp.*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 isolated from faecal and surface water samples in the Oldman River watershed, Alberta, Canada, *Water Research*. Vol **45**, Issue 3, Pages 1247-1257.

Kaper J. B. and O'Brien A. D. (1998). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: yesterday, today, and tomorrow. *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. ASM Press, Washington, DC.

Keer J. T. and Birch L. (2003). Molecular methods for the assessment of bacterial viability. *Journal of Microbiological Methods*. **53**(2):175-183

Kenar B., Altundiş M. (2001). Afyon İl merkezi içme ve kullanma sularında hijyenik kalite araştırması. *Kocatepe Tıp Dergisi*. **2**, 269-274.

Kornacki J. L. Principles Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Processing Environment. Springer Science, Business Media LLC, Edition 2010.

Koseki S., Mizuno Y., Kawasaki S., Yamamoto K. (2011). A survey of iceberg lettuce for the presence of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in Japan. *J. Food Prot.***74**(9):1543-1546.

LAB M, LAB204 Buffered Peptone Water, Lot No: 116502/160 ISO.

LAB M, LAB72 Trypton Bile X-Glukoronid Agar, Lot No: 116795/152 ISO.

Lee M., Cherla R. P., Tesh V. L. (2010). Shiga Toxins: Intracellular Trafficking to the ER Leading to Activation of Host Cell Stress Responses. *Toxins*. **2**(6): 1515–1535.

Leung P. H. M., Peiris J. S. M., NG W. W. S., Robins-Browne R. M., Bettelheim K. A., Yam W. C. (2003). A newly discovered verotoxin variant, VT 2g, produced by bovine verocytotoxigenic *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**(12): 7549-7553.

Manning S. D. *Escherichia coli* infections, Chelsea House Publishers, 2nd Edition. 2010.

Marrs C. F., Zhang L., Foxman B. (2005). *Escherichia coli* mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes? *FEMS Microbiol Lett.* **252**(2):183-190.

Malorny B., Löfström C., Wagner M., Kramer N., Hoorfar J. (2008). Enumeration of *Salmonella* bacteria in food and feed samples by real-time PCR for quantitative microbial risk assessment. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**(5):1299-304.

McMahon M. A. S., Wilson I.G. (2001). The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables. *International Journal of Food Microbiology*. Vol **70**, Issues 1–2, Pages 155-162.

Melton-Celsa A. R., Rogers J. E., Schmitt C. K., Darnell S. C., O'Brien A. D. (1998). Virulence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in orally-infected mice correlates with the type of toxin produced by the infecting strain. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 51 suppl: S 108-114.

Meyer T., Karch H, Hacker J, Bocklage H., Heesemann J. (1992). Cloning and sequencing of a shiga-like toxin II-related gene from *Escherichia coli* O157:H7 strain 7279. *Zentralbl. Bakteriol.* **276**(2):176-188.

Mora A., Leon S. L., Blanco M., Blanco J. E., Lopez C., Dahbi G., Echeita A., Gonzalez E. A., Blanco J. (2007). Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). *International Journal of Food Microbiology*. Vol **114**, Issue 2, Pages 204-210.

Mora A., Herrera A., Lopez C., Dahbi G., Mamani R., Pita J. M., Alonso M. P., Llono J., Bernardez M. I., Blanco J. E., Blanco M., Blanco J. (2011). Characteristics of the Shiga toxin producing enteroaggregative *E. coli* O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain. *Int. Microbiol.* **14**(3):121-141.

- Müller E. E., Ehlers M. M., Grabow W. O. K.** (2001). The occurrence of *E. coli* O157:H7 in South African water sources intended for direct and indirect human consumption. *Water Research*. Vol **35**, Issue 13, Pages 3085-3088.
- Nataro J. P. and Kaper J. B.** (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**(1):142-201.
- Nguz K., Shindano J., Samapundo S., Huyghebaert A.** (2005). Microbiological evaluation of fresh-cut organic vegetables produced in Zambia. *Food Control*. Vol **16**, Issue 7, Pages 623-628.
- Ohmura-Hoshino M., Ho S.-T., Kurazono H., Igarashi K., Yamasaki S., Takeda Y.** (2003). Genetic and immunological analysis of a novel variant of shiga toxin 1 from bovine *Escherichia coli* strains and development of bead-ELISA to detect the variant toxin. *Microbiol. Immunol.* **47**(10):717-725.
- Oliveira A. M., Maciel de Souza V, Bergamini A. M. M., Pereira de Martinis E. C.** (2012). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, Vol **22**. Issue 8, Pages 1400-1403.
- Okafo C. N., Umoh V. J., Galadima M.** (2003). Occurrence of pathogens on vegetables harvested from soils irrigated with contaminated streams. *Science of The Total Environment*. Vol **311**, Issue 1–3, Pages 49-56.
- Okeke I. N.** (2009). Diarrheagenic *Escherichia coli* in sub-Saharan Africa: status, uncertainties and necessities. *J. Infect Dev. Ctries.* **3**(11):817-842.
- Öktem F. ve Kuybulu A. E.** (2011). Hemolitik Üremik Sendrom. *Dicle Tıp Dergisi.* **38**(4):519-525.
- Öngen B.** (2008). *Escherichia coli* İshallerinde Laboratuvar Tanısı. *ANKEM Derg.* **22** (Ek 2):197-210.
- Parry S. and Palmer S.** Environmental Health Issues. Spon Press. First Published. 2002.
- Panos G. Z., Betsi G. I., Falagas M. E.** (2006). Systematic review: Are antibiotics detrimental or beneficial for the treatment of patients with *Escherichia coli* O157:H7 infection? *Aliment Pharmacol Ther.* **24**(5):731-742.
- Paton A. W., Beutin L., Paton J. C.** (1995). Heterogeneity of the amino-acid sequences of *Escherichia coli* Shiga-like toxin type-I operons. *Gene*.**153**(1):71-74.
- Paton J. C. and Paton A. W.** (2006). Shiga toxin ‘goes retro’ in human primary kidney cells. *Kidney International*.**70**(12): 2049–2051.
- Pierard D., Muyldermans G., Moriau L., Stevens D., Lauwers S.** (1998). Identification of new verocytotoxin type 2 variant B-subunit genes in human and animal *Escherichia coli* isolates. *J. Clin. Microbiol.* **36**(11): 3317-3322.

- Polito M. G. and Kirsztajn G. M.** (2010). Thrombotic microangiopathies: thrombotic thrombocytopenic purpura / hemolytic uremic syndrome. *J. Bras. Nefrol.* **32**(3):303-315.
- Santos M. I., Cavaco A., Gouveia J., Novais M. R., Nogueira P.J., Pedroso L., M.A.S.S. F.** (2012). Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. *Food Control.* Vol **23**, Issue 1, Pages 275-281.
- Scheutz F., Moller–Nielsen E., Frimodt-Moller J., Boisen N., Morabito S., Tozzoli R., Nataro J. P., Caprioli A.** (2011). Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany. *Eurosurveillance.* Vol **16**, Issue 24.
- Schmidt H., Scheef J., Morabito S., Caprioli A., Wieler L. H., Karch H.** (2000). A new Shiga toxin 2 variant (Stx2f) from *Escherichia coli* isolated from pigeons. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**(3):1205-1208.
- Schmitt C. K., Mc Kee M. L., O'Brien A. D.**(1991). Two copies of shiga-like toxin II-related genes common in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* strains are responsible for the antigenic heterogeneity of the O157:H- strain E32511. *Infect. Immun.* **59**(3): 1065-1073.
- Scotland, S. M., Smith H. R., Rowe B.** (1985); Two distinct toxins active on vero cells from *Escherichia coli* O157. *The Lancet.* 326(8460):885-886.
- Seow J., Agoston R., Phua L., Yuk H.** (2012). Microbiological quality of fresh vegetables and fruits sold in Singapore. *Food Control.* Vol **25**, Issue 1, Pages 39-44.
- Settanni L. and Corsetti A.** (2007). The use of multiplex PCR to detect and differentiate food- and beverage-associated microorganisms: a review. *J. Microbiol Methods.* **69**(1):1-22.
- Strockbine, N. A., Marques L. R. M., Newland J. W., Smith H. W., Holmes R. K., O'Brien A. D.** (1986); Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. *Infect. Immun.* **53**(1): 135-140.
- Suzuki, M., Kondo F., Itoa Y., Matsumoto M., Hata M., Oka H., Takahashi M., Sakae K.** (2004). Identification of a shiga toxin type I variant containing an IS1203-like element, from shigatoxin producing *Escherichia coli* O157:H7. *FEMS Microbiol. Lett.* **234**(1): 63-67.
- Takeda Y.** (2011). *Vibrio parahaemolyticus*, enterotoxigenic *Escherichia coli*, enterohemorrhagic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* **87**(1):1-12.
- Toroğlu E.** (2006). Aksu Çayı' nda (Kahramanmaraş) Akarsu Kirliliği. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, **4**(1):93-103.

- Torres A. G.** Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America. Bentham Books. 2011.
- Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği**, 29.12.2011-28157 Ek 3 ve Ek 4.
- Walters M. S., Lane M. C., Vigil P. D., Smith S. N., Walk S. T., Mobley H. L.** (2012). Kinetics of uropathogenic *Escherichia coli* metapopulation movement during urinary tract infection. *M. Bio.* **7**;3(1).
- Weinstein D. L., Jackson M. P., Samuel J. E., Holmes R. K., O'Brien A. D.** (1988). Cloning and sequencing of a shiga-like toxin type II variant from an *Escherichia coli* strain responsible for edema disease of swine. *J. Bact.* **170**(9): 4223-4230.
- WHO** (1991). Report of WHO consultation on “shiga-like toxine” producing *Escherichia coli*, with special emphasis on zoonotic aspects.
- WHO** (2007). A Safer Future. Global Public Health Security in the 21st Century.
- WHO** (2011). Outbreaks of E. coli O104:H4 infection: July 22, 2011, Updated.
- Yılmaz A., Gün H., Uğur M., Turan N., Yılmaz H.** (2006). Detection and frequency of *VT1*, *VT2* and *eaeA* genes in *Escherichia coli* O157 and O157:H7 strains isolated from cattle, cattle carcasses and abattoir environment in Istanbul. *International Journal of Food Microbiology*. Vol **106**, Issue 2, Pages 213-217.
- Yoon J. W. and Hovde C. J.** (2008). All blood, no stool: enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection. *J. Vet. Sci.* **9**(3):219-231.
- Zhang, W., Bielaszewska M., Kuczius T., Karch H.** (2002). Identification, characterisation and distribution of a shiga toxin 1 gene variant (*stx1c*) in *Escherichia coli* strains isolated from humans. *J. Clin. Microbiol.* **40**(4): 1441-1446.

7. ÖZGEÇMİŞ



KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Burçin TURAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Üsküdar/06.02.1986
Adresi : M. Kemal Paşa Cad. Fidan Sok. Mert Apt. No:11/6
Bahçelievler/İSTANBUL
e-Posta : bt.burcinturan@gmail.com

EĞİTİM DURUMU

Yüksek Lisans : İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik – Mimarlık
Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mezuniyet yılı
2012
Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen – Edebiyat
Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mezuniyet Yılı: 2009
Lise : Küçükçekmece Fahrettin Kerim Gökay Anadolu Lisesi,
Fen Bölümü, Mezuniyet Yılı: 2004

KATILDIĞI EĞİTİMLER

Real - Time PCR Uygulamalı Eğitimi; SEM A.Ş, 2011
Yabancı Et Tür tayini Chipron Microarray Eğitimi; PERAMED A.Ş, 2011

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce

BİLGİSAYAR BECERİSİ

Microsoft Office Programları