

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
(VETERİNER) ANABİLİM DALI

**SİĞİR KARKASLARINDA *Escherichia coli* O157 VE
O157:H7 PREVELANSI İLE *stx1* ve *stx2* GENLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Gökhan İNAT

Samsun
Ocak -2009

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
(VETERİNER) ANABİLİM DALI

**SİĞİR KARKASLARINDA *Escherichia coli* O157 VE
O157:H7 PREVELANSI İLE *stx1* ve *stx2* GENLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Gökhan İNAT

Danışman : Doç. Dr. Belgin SIRIKEN

Samsun
Ocak -2009

TEŐEKKÜR (*)

Doktora tez alıőmamım her anında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen, maddi ve manevi çok büyük fedakarlıklar gösteren Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı BaŐkanı ve tez danıőmanım sevgili hocam sayın Doç.Dr. Belgin SIRIKEN'e, doktora tezimin yürütülmesinde en baŐından itibaren ilgi ve alakalarını esirgemeyen Hastalık ve Klinikler Bölüm BaŐkanı sevgili hocam ve ağabeyim sayın Prof.Dr. M. Yavuz GÜLBAHAR'a , tez çalıőmamda özverili yardımlarıyla en az benim kadar çaba sarf eden her zaman yanımda olan Anabilim Dalı ğretim yesi sevgili arkadaőım sayın Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI ve çalışma arkadaőım ve kardeőim sayın AraÇ. Gör. T. Onur KEVENK'e, doktora tezimin yürütülmesinde bilgi ve yardımlarını daima paylaŐan Anabilim Dalı ğretim yeleri sevgili arkadaőlarım sayın Yrd.Doç Dr. Göknur TERZİ ve sayın Yrd.Doç. Dr. Ali GüCüKOğLU'na sevgi , saygı ve sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, başta sayın Prof. Dr. . Hakan MUğLALI, sayın Doç.Dr. Ahmet ÖZAK ve sayın Yrd. Doç. Dr. Duygu AKIROğLU olmak üzere tüm fakülte ğretim yeleri ve çalıőanlarına destek ve yardımları için teŐekkür ederim.

*Bu tez Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon BaŐkanlıėı tarafından Vet-049 sayı ile Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

ÖZET

SİĞİR KARKASLARINDA *Escherichia coli* O157 ve O157:H7 PREVELANSI ile *Stx1* ve *Stx2* GENLERİNİN BELİRLENMESİ**Gökhan İNAT, Doktora Tezi****Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Ocak- 2009**

Bu çalışmada Samsun ilinde yer alan iki mezbahada Aralık 2006-Mart 2007 tarihleri arasında 100 sığır karkası ve aynı karkasa ait 100 rektal svap örneği olmak üzere toplam 200 örnek *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izolasyonu amacıyla analiz edildi. İzolasyon amacıyla novobiosin içeren mTSB ve IMS yöntemi, katı agar olarak ise CT-SMAC agar kullanıldı. İzolatlarda *stx1* ve *stx2* gen varlıkları multiplex PCR'la belirlendi. Analiz bulguları çerçevesinde, *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 toplam 200 örneğin 52 (%26)'sinden izole edildi. Bu izolatların 49 (% 24,5)'ü *E. coli* O157, 3 (%1,5)'ü ise *E. coli* O157:H7 olarak tanımlandı. *E. coli* O157 sığır karkaslarının 24'ünden, rektal svap örneklerinin ise 25'inden izole edildi. *E. coli* O157:H7 ise 2 sığır karkası ile bir rektal svap örneğinden tanımlandı. İzole edilen toplam 49 (% 24,5) *E. coli* O157 izolatlarının alınan örneklere göre dağılımı ise; 8'i sadece sığır karkasından, 9'u sadece rektal svap örneğinden ve 16'sar izolat ise aynı sığırın hem karkas hem de rektal svap örneklerinden izole edildi. *E. coli* O157:H7 ise bir sığırın hem karkas hem de rektal svap örneğinden toplam iki izolat ile bir sığır karkasından tanımlandı. Uygulanan PCR işlemi sonucu, 49 *E. coli* O157 izolatının 2 (% 4,08)'sinde yalnızca *stx2*, 35 (%71,42)'inde *stx1* ve *stx2* genlerin her ikisi de saptanırken, 12 (%24,48) izolatta bu iki gen saptanamadı. Üç (3) *E. coli* O157:H7 izolatının ise sadece karkastan izole edilen 1 (%0.5) *E. coli* O157:H7 izolatında *stx1* ve *stx2* genlerinin ikisi de saptandı.

Sığır karkasından izole edilen 8 *E. coli* O157 izolatının 2'sinde *stx2*, 3'ünde *stx1* ve *stx2* genlerinin her ikisi de saptanırken, 9 rektal svap örneklerinden izole edilen *E. coli* O157 izolatının 3'ünde *stx1* ve *stx2* genlerinin her ikisi de saptandı. Diğer 6 izolatta bu iki gen saptanamadı. Aynı sığıra ait 16'sar karkas ve rektal olmak üzere toplam 32 *E. coli* O157 izolatında bu iki gen varlığının dağılımı ise, aynı sığıra ait 13'er karkas ve rektal örneklerinde bu iki genin her ikisi de saptanırken, diğer 3 sığıra (6 izolat) ait karkas ve rektal örneklerinden

sadece 1 sığır karkasından, diğer iki sığırın ise sadece rektal örneklerinden izole edilen *E. coli* O157 izolatlarında bu iki gen saptandı.

Bu çalışma sonuçları ile Türkiye’de ve Dünya’da yapılan diğer çalışma bulguları sonucu sığır karkaslarının ve dışkılarının *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği, izolatlarda hastalıkta önemli role sahip virulens genleri taşıdığı görülmektedir. Bu çalışma bulguları sonucu kesimhanede çapraz kontaminasyonun meydana gelebileceğini de göstermektedir. Bu nedenle karkasların ve dolayısıyla karkastan elde edilecek etlerin *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 bulaşma riskini minimize etmek amacıyla HACCP sisteminin uygulanması gerekir.

ABSTRACT

THE PREVALANCE OF *Escherichia coli* O157 AND O157:H7 IN CATTLE CARCASS WITH DETERMINATION OF *Stx1* AND *Stx2* GENES

Gökhan INAT, Ph.D. Thesis

University of Ondokuz Mayıs Samsun, January -2009

In this study, a total 200 swap samples obtained from 100 cattle (100 carcasses and 100 rectal swaps belonged to same cattle) were investigated for the presence of *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7 and determined in *stx1* and *stx2* genes of the isolates. The swap samples of each cattle carcass and rectum were taken from two commercial abattoirs in Samsun province, between December-March 2007. For the isolation, mTSB with novobiocine, IMS procedures and TC-SMAC agar were used. Multiplex PCR was performed for detection of *stx1* and *stx2* genes from *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7 isolates. According to analysis results, *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7 were detected in 52 (26%) out of 200 samples. *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7 were 49 (24.5%) and 3 (1.5%) isolates, respectively. *E. coli* O157 strains were isolated from 24 (24.0%) carcass and 25 (25.0%) rectal swap samples, respectively. *E. coli* O157:H7 were also isolated from 2 carcass and 1 rectal swap samples. Distribution of 49 *E. coli* O157 isolates according to samples, they were isolated from 8/49 isolates from alone carcass, 9/49 isolates from alone rectal and 32/49 isolates from both of rectal and carcass samples of the same cattle. Two *E. coli* O157:H7 isolates were obtained from one carcass and rectal swap samples of the same cattle and, one only carcass sample. While both *stx1* and *stx2* genes were detected in 35 (71.42%) *E. coli* O157 and 1 (0.5%) *E. coli* O157:H7 strains (isolated from alone carcass), they were not detected in 12 (24.48%) *E. coli* O157.

From 8 *E. coli* O157 strains isolated from alone carcasses, *stx2* and both *stx1* and *stx2* genes were detected in 2/8 and 3/8 of *E. coli* O157 strains, respectively, and they were not detected from 3/8 *E. coli* O157 isolates. While both *stx1* and *stx2* genes were detected in 3/9 *E. coli* O157 isolates belonged to alone rectal swap samples. They were not detected in other 6 *E. coli* O157 isolates. For 32 *E. coli* O157 isolates obtained from 16 each carcass and rectal swap samples, both *stx1* and *stx2* were detected in 13 each carcass and rectal samples. For the other 3 each carcass and rectal samples (n=6); they were detected in only 1 carcass and two rectal samples.

VII

According to this study and other study results reported from Turkey and other parts of the world, it is clear that cattle carcass and feces have potential risk for *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7. In addition, these isolates carry also some virulens factor. During to slaughtering and other steps in abattoir, cross contamination may occur. For these reason, HACCP system have to be applied at abattoir to prevent cross contamination source of *E. coli* O157 and *E. coli* O157:H7.

VIII

SİMGELER VE KISALTMALAR

kob/g	koloni oluşturan birim /gram
kob/ml	koloni oluşturan birim/mililitre
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points
aw	Su aktivitesi değeri (Water Activity)
pH	Hidrojen iyon Konsantrasyonu
CDC	Center for Disease Control and Prevention
D-değeri	Desimal İndirgeme Zamanı
FDA	Food and Drug Administration
GMP	Good Manufacturing Practise
HC	Hemorajik Kolitis
MİD	Minimal İnfeksiyon Dozu
Mda	Mili dalton
Stx	Shiga-like toksin
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Healty Organization

IX
İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
İNGİLİZCE ÖZET	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	6
2.1. <i>Escherichia coli</i> İle İlgili Genel Bilgiler	6
2.1.1. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	10
2.1.2. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	11
2.1.3. Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAggEC, EAEC)	12
2.1.4. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	13
2.1.5. Diffüz Adeziv <i>E. coli</i> (DAEC)	14
2.1.6. Enterohemorajik <i>E.coli</i> (EHEC)	14
2.2.EHEC'in Virülens Faktörleri	17
2.2.1.Kromozomda lokalize olan virulans faktörleri	18
2.2.2. Plazmidin aracılık ettiği virulans faktörleri	26
2.2.3. Diğer kromozomal ve plazmidal virulans faktörleri	27
2.3. Non-O157 <i>E.coli</i> Serotipleri	28
2.4. <i>E. coli</i> O157:H7	30

2.4.1. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Biyokimyasal ve Antijenik Özellikleri	31
2.4.2. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Patojenezi	34
2.4.3. <i>E. coli</i> O157:H7 'nin Gelişmesi ve Canlı Kalması	36
2.4.4. <i>E. coli</i> O157:H7' nin Kaynağı ve Yayılması	40
2.4.5. <i>E. coli</i> O157:H7 Enfeksiyonu Bakımından Riskli Gıdalar	46
2.4.6. <i>E. coli</i> O157:H7' nin Yaptığı Hastalıklar	48
2.4.7. <i>E. coli</i> O157:H7 'nin Kontrolü	55
2.4.8. İzolasyon ve İdentifikasyonu	58
3. MATERYAL VE METOT	67
3.1. Zenginleştirme İşlemi	67
3.2. Immuno Magnetik Separasyon İşlemi (IMS)	67
3.3. <i>E. coli</i> O157 ve <i>E. coli</i> O157:H7'nin İzolasyonu	68
3.4. Doğrulama Testleri	68
3.5. <i>E. coli</i> O157 ve <i>E. coli</i> O157:H7 İzolatlarında Shiga toksin 1 (<i>Stx1</i>) ve Shiga toksin 2 (<i>Stx2</i>) genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR, PCR) ile belirlenmesi	69
3.5.1. Saf Template DNA'nın Elde Edilmesi	69

3.5.2. Amplifikasyon İşlemi	69
3.5.3. Elektroforez İşlemi	70
3.5.6. Bantların Değerlendirilmesi	70
4. BULGULAR	71
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	87
KAYNAKLAR	90
ÖZGEÇMİŞ	113

1.GİRİŞ

İlk olarak Alman bakteriyolog Dr. Theodor Escherich tarafından 1885 yılında diyareli bir çocuğun dışkılarından izole edilen ve o dönemde *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilen etkene (Levine, 1987; Padhye ve Doyle, 1992), *Escherichia coli* (*E.coli*) adı 1919 yılında Castelani ve Chalmers tarafından Escherich'in adına atfen verilmiştir (Ørskov ve ark, 1987).

E. coli, 1950'li yılların sonuna kadar sadece fekal kontaminasyon indeksi olarak kabul edilmiş, fakat insan ve hayvanlarda ölüme yol açabilen patojen tiplerinin bulunması ile birlikte *E. coli*'ye bakış açısı değişmiştir (Nataro ve Kaper, 1998; Coia ve ark, 2001). Etken; insan ve sıcak kanlı hayvanların gastrointestinal sisteminin normal florasının bir üyesidir ve bir çok suşu, bağırsak mukozasına penetre olmadığı ve kan dolaşımına karışmadığı sürece zararsız kommensal mikroorganizmalar olarak görülmektedir (Anon, 1984; Bisping ve Amtsberg, 1988; Anon, 1991).

E. coli O157:H7 serotipi; ilk olarak 1975 yılında California'da kanlı diyare belirtisi gösteren bir kadın hastadan izole edilmiştir (Padhye ve Doyle, 1992). Fakat etkenin bireysel vakalar dışında hemorajik kolitis (HC) ve hemolitik üremik sendroma (HUS) neden olan önemli bir insan patojeni olarak kesin identifikasyonu, 1982 yılında ABD'nin Oregon ve Michigan eyaletlerindeki salgınlarda gerçekleştirilmiştir (Whittam ve Wilson, 1988; Griffin ve Tauxe, 1991; Dorn ve Angrick, 1991; Ansay ve Kaspar, 1997; Mead ve Griffin, 1998; Karch ve ark., 1999; Park ve ark., 1999). 1983'de O'Brien ve ark., Kuzey Amerika'da gelişen bir HC salgınında şigatoksin üreten *E. coli* O157:H7'yi salgından sorumlu etken olarak bildirmişlerdir. 1985'de Karmali ve ark., şigatoksin üreten *E. coli* türlerinin epidemiyolojik olarak HUS ile ilişkili olduğunu öne sürmüş, Scotland ve ark. (1987) ise, *E. coli*'lerdeki şigatoksin 1 (Stx 1) ve şigatoksin 2 (Stx 2) sentezini kontrol eden genlerin varlığını göstermiştir. Bu gelişmelerden sonra salgınlarda elde edilen izolatların, EIEC (Enteroinvazif *E.coli*) türleri gibi invazif özellikte olmadıkları, ETEC (Enterotoksijenik *E.coli*) türleri gibi enterotoksinler sentezlemedikleri ve EPEC (Enteropatogenik *E.coli*) türlerinin neden olduğu klinik belirtilerle benzerlik göstermedikleri belirlenmiştir (Sack, 1987). Levine, (1987), bu yeni gastrointestinal *E. coli* grubunun EHEC olarak isimlendirilmesini önermiş ve yeni grup EHEC (Enterohemorajik *E.coli*) adını almıştır.

Escherichia coli O157 ilk kez 1982'de insanlar için patojen olduğu identifiye edilmiş olup, *E.coli* O157:H7 adı verilmesinin nedeni ise 157'nci somatik (O) antijeni ve 7'nci flagellar antijene sahip olması nedeniyledir. *E.coli* O157 genetik olarak *E.coli* O55:H7 ile benzer özellikler göstermekte olup, enteropatojenik suşları dünyada yeni doğanlar ve bebekler arasında diyareye neden olmaktadır (Whittam ve ark., 1993). Enteropatojenik suşlar gibi *E. coli* O157 epitelyal hücrelere adhere olabilir ve karakteristik bağlanma ve silinme (attaching and effacing) lezyonları üretebilir.

E.coli O157:H7'nin kesin identifikasyonunun yapıldığı 1982 yılından günümüze kadar olan süreçte ABD, Kanada, İngiltere, Almanya, İskoçya, İspanya, Tayland, Kore, Meksika, Arjantin, Çin, Belçika, Avustralya, İsveç, Norveç, Hollanda ve dünyanın pek çok bölgesinde *E. coli* O157:H7'ye bağlı çok sayıda gıda kaynaklı infeksiyonun olduğu bildirilmiş, 1996 yaz aylarında ise Japonya'da 16 kişinin ölümüne neden olan salgında temel etken olarak *E.coli* O157:H7 gösterilmiştir (Griffin ve Tauxe, 1991; Armstrong ve ark., 1996; Wall ve ark., 1996; Michel ve ark., 1999; Jo ve ark., 2004). 2000 yılı Haziran ayında Kanada'da klorlama ünitesindeki bir arıza nedeniyle kullanma sularına karışmış olan *E.coli* O157:H7 serotipi, salgına ve ölümlere neden olmuştur. Epidemiyolojik verilere göre, her yıl sadece ABD'nde *E.coli* O157:H7'ye bağlı 20.000'in üzerinde infeksiyon ve 250 ölüm olgusu olduğunu bildirmektedir (Finelli ve ark., 1995; Armstrong ve ark., 1996; Kuntz ve Kuntz, 1999).

İnsanlarda *E.coli* O157:H7 infeksiyonlarında; oldukça tipik ve sert geçen hemorajik kolitis, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere üç temel klinik bulgu görülmektedir (Park ve ark., 1999). HC; her yaşta insanlarda ani olarak ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ve bunu izleyen 24-48 saat içerisinde gelişen sulu diyare ile karakterizedir. Diyarenin şiddeti arttıkça dışkıdaki kan miktarı artar ve dışkı zamanla tümüyle kanlı hale gelir. HUS; özellikle küçük yaştaki çocuklarda ve gençlerde akut renal yetmezlik, mikroanjyopatik hemolitik anemi ve trombositopeni ile karakterize edilen üçlü bir sendrom olarak ortaya çıkmakta, ayrıca hastalarda ölümlerle sonuçlanabilen kalp yetmezliği, koma, hipertansif ensefalopati gibi kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi bozuklukları gelişebilmektedir. TTP ise; klinik bulgular açısından HUS'a benzemekte, ancak, burada merkezi sinir sistemi bozuklukları daha temel bir özellik olup mikroanjyopatik hemolitik anemi, trombositopeni, ateş ve azotemi gibi klinik bulgular gözlemlenmektedir (Padhye ve Doyle, 1992; Park ve ark., 1999). Bu temel klinik bulgular dışında *E.coli* O157:H7 ile infekte

insanlarda gözlenen diğer komplikasyonlar ise hemorajik sistitis, konvülziyonlar, sepsis ve anemi şeklindedir (Padhye ve Doyle, 1992).

E.coli O157:H7 ve diğer EHEC serotiplerinin sahip olduğu virulens faktörler HC ve HUS'un oluşmasında büyük rol oynarlar. *E. coli* O157:H7 serotipide; infeksiyonların patogenezinde önemli role sahip şigatoksinler (Stx1 ve Stx2), enterohemolizin, intimin bağlanma faktörü, pO157 plazmidi, tip III sekresyon sistemi aracılığıyla salınan proteinler ve lipopolisakkarit gibi bazı virulens faktörlerine sahiptir (Paton ve Paton, 1998; Park ve ark., 1999). Epidemiyolojik çalışmalar, HUS'un gelişmesinde Stx2'nin Stx1'den daha önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır (Griffin, 1995). Yalnızca Stx2 salgılayan O157:H7 suşlarının yalnız Stx1 veya hem Stx1 ve Stx2 salgılayan suşlara oranla daha fazla progresif HUS'a neden olduğu bildirilmiştir (Pickering ve ark., 1994). Bu ilişki istatistiksel açıdan da doğrulanmıştır (Cimolai ve ark., 1994). Hem böbrek endotel hücre kültürlerinde (Louise ve Obrig, 1995) hem de farelerde yapılan deneysel çalışmalarda (Wadolowski ve ark., 1990) Stx2'nin Stx1'e oranla daha sitotoksik olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca, Stx2'in homojen bir toksin olmadığı, B alt üniteleri arasında farklılıkların (Stx2'in Stx2e şeklinde varyantı gibi) bulunduğu ve farklı alt ünitelerinin fare letalitesi için farklı olduğu ortaya konulmuştur (Melton-Celsa ve ark, 1996; Paton ve Paton, 1996).

E. coli O157:H7 infeksiyonları için ruminantlar, özellikle de sığırlar ve süt inekleri primer rezervuarlar olarak kabul edilmekte ve sığır populasyonlarında yapılan çalışmalarda *E. coli* O157:H7 prevalansının ABD'nde % 2 - % 45 (Wells ve ark., 1991), İngiltere'de % 4 - %15,7 arasında değiştiği (Chapman ve ark., 1993b), çeşitli Avrupa ülkelerinde ise oranın % 1- %13 arasında olduğu bildirilmektedir (Chapman ve ark., 1993e; Blanco ve ark., 2003).

E. coli O157:H7 serotipi sığır ve süt inekleri dışında sağlıklı koyun, keçi (Renter ve Sargeant, 2002; Reinstein ve ark., 2007), manda (Galiero ve ark., 2005), domuz, kedi, köpek ve kanatlı hayvanlar gibi evcil hayvanlar (Beutin, 1999) ile bizonlar, rengelikleri, ayılar, yavru foklar ve penguenler gibi doğal hayata uyum sağlamış diğer hayvanlardan da izole edildiği ve bu hayvanlar ile yakın temasta bulunan evcil hayvanlara bulaşmanın olabileceği bildirilmiştir (Kudva ve ark., 1997; Mainil, 1999; Li ve ark., 2004; Wasteson ve ark., 2005).

İnsanlarda infeksiyon nedeni olarak ilk sırayı kesim sırasında sığır dışkılarıyla kontamine olmuş etlerin yeterince pişirilmeden (Russell ve ark, 2000) veya kontamine etlerin

tüketilmesi sonucu meydana gelmektedir. Nitekim *E.coli* O157:H7'den kaynaklanan en büyük iki toplu zehirlenme 1992 ile 1993 arasında Kuzey Amerika'da fast-food restoran zincirinden bildirilmiştir. Bu toplu zehirlenmede Washington, Idaho, Nevada ve California'dan toplam 732 olgu bildirilmiş ve bu olguların 195'i tedavi edilmiş ve 4'ü ise ölümlerle sonuçlanmıştır. Bu iki toplu zehirlenme modern gıda üretim teknolojisi ile üretilen hamburgerlerin kontaminasyonu sonucu meydana gelmiştir. Yüzlerce çiftlikte yetiştirilen binlerce sığırdan elde edilen sığır etleri tek bir hamburger makinesinden birlikte kıyma haline getirilmekte, daha sonra donmuş halde birçok eyaletteki binlerce restoranta dağıtılmaktadır. Kanada'da (Le Saux ve ark., 1993) ve ABD'de (O'Brien ve ark., 1983) sığır kıyması *E. coli* O157:H7 ile sporadik infeksiyon için en önemli risk faktörüdür. ABD'de yapılan bir çalışmada (O'Brien ve ark., 1983), evde hazırlanmış hamburgerlerin O157:H7 yönünden en önemli bir infeksiyon kaynağı olduğu, fakat bu kaynağın az pişmiş hamburgerlerin direkt tüketiminden ziyade, çiğ kıymayı hazırlayan kişilerin ellerini yıkamadan gıda hazırlama işine devam etmeleri sonucu yani çapraz kontaminasyona maruz kalmalarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Ayrıca, biftek ve çiğ süt gibi sığır kaynaklı gıdalar, domuz, kanatlı ve koyun kaynaklı gıdalar da direkt olarak toplu zehirlenmelerden sorumludur (Griffin ve Tauxe, 1991; Griffin, 1995).

Sığır orijinli fekal örneklerde *E.coli* O157:H7 tespiti, bakteri sayısının çok düşük olmasından dolayı oldukça güçtür. Örneklerden petrilere direkt ekim yönteminin sensitivite açısından yetersiz bulunması, farklı zenginleştirme kültürleri ve izolasyon tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur (Chapman ve Siddons, 1996; Tutenel ve ark., 2003a). *E.coli* O157:H7'nin teşhis ve izolasyonuna yönelik çok çeşitli teknikler olmasına rağmen, önerilen standart bir yöntem bulunmamaktadır. Ayrıca izolasyon amaçlı uygulanan kombine yöntemlerin hiç birisinin % 100 duyarlı olmadığı bildirilmektedir (Tutenel ve ark., 2003a). Yapılan çalışmalarda izolasyon şansını artırabilmek için incelenecek örneklerin taze olması ve laboratuvara zaman geçirilmeden soğuk zincirde ulaştırılması gerektiği önerilmektedir (Chapman ve ark., 2001).

Günümüzde etkenin minimal infeksiyon dozunun çok düşük oluşu ve izolasyondaki güçlükler nedeniyle *E.coli* O157:H7 analizlerinde kültürel tekniklerden daha ziyade Enzyme Immuno Assay (EIA), ELISA, PCR, multipleks PCR ve immunomanyetik separasyon (IMS) gibi çok daha hassas ve güvenilir teknikleri kullanılmaktadır (Park ve ark., 1999; Osek ve Gallien, 2002; Fode-Vaughan ve ark., 2003).

Escherichia coli (*E.coli*) O157 ve *E.coli* O157:H7, morbidite ve mortalite oranı oldukça yüksek *E. coli* serotipleri olup, dünyadaki en önemli gıda patojenleri arasında yer alır (Oporto ve ark., 2008). *E.coli* O157 genetik olarak *E.coli* O55:H7 ile benzer özellikler göstermekte olup, enteropatojenik suşları dünyada yeni doğanlar ile bebekler arasında diyareye neden olmaktadır. İnsanlarda *E.coli* O157:H7 infeksiyonlarında HC, HUS ve TTP bulguları görülmektedir. *E.coli* O157:H7 serotipinin sahip olduğu virulens faktörler HC ve HUS'un oluşmasında büyük rol oynarlar. Bu virulens faktörlerden biri de Şigatoksin (Stx) olup, bağırsak ve renal endotelial hücreleri için sitotoksik özelliğindedir ve *stx* geni tarafından kodlanır. Özellikle *stx2* geni tarafından kodlanan Stx2, hemorajik kolitis ve kanlı diyarenin şekillenmesinden sorumlu tutulmaktadır (Chapman ve Daly, 1989; Beutin ve ark., 1994; Bidet ve ark., 2005).

İnsanlarda bu infeksiyonun birincil nedenini kesim sırasında sığır dışkıyla kontamine olmuş sığır karkasları oluşturur. Etin parçalanması, kıyılması sırasında etken yüzeyden iç kısımlara geçmektedir. Sığır karkaslarında *E.coli* O157 ve *E.coli* O157:H7 varlığı bir çok çalışmayla ortaya konulmuştur. Yapılan literatür taramaları sonucu mezbahalarda aynı sığırın karkas ve rektal örneklerinde *E.coli* O157 ve *E.coli* O157:H7 ile ilgili bir literatür bilgisine rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmaların dışkı örneklerine ait çalışmalar olduğu görülmektedir. Dünyada ise *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Bu nedenle, bu doktora tez çalışması, Samsun ili'nde faaliyet gösteren iki ayrı mezbahada kesilen sığır karkas yüzeyleri ile aynı karkasların rektal bölgelerinde *E.coli* O157 ve *E.coli* O157:H7'nin prevalansı ile elde edilen izolatlarda virulens faktörlerden *stx1* ve *stx2*'in varlığının ortaya konulması amacıyla yapılmıştır. Böylece, sığır karkaslarının *E.coli* O157 ve O157:H7 yönünden halk sağlığı açısından oluşturabileceği olası riskler somut olarak ortaya konulmuştur. Ayrıca, bu çalışma bulguları ışığında mezbaha yetkileri uyarılarak olası kontaminasyonun önlenmesine yönelik somut tedbirler alınması yönünde yol gösterici olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli* İle İlgili Genel Bilgiler

E.coli, Enterobacteriaceae familyasında yer alan, 1-2 mm çapında S tipi koloniler yapan, boyu 2 µm ve eni 1-1,5 µm, aerob ve fakültatif anaerob, Gram negatif, çubukçuk formunda, spor oluşturmeyen, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve 35 °C' de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturabilen bir bakteridir. Etken mezofil özellikte olup, 7- 45 °C'ler arasında ürer. Optimal üreme sıcaklığı ise 37 °C'dir. Buna karşın, bazı suşların 4 °C'de de üreyebildiği bildirilmiştir. Dezenfektanlara, bazı boya maddelerine (malaşit yeşili, fuksin vb.), safra ve safra tuzlarına ve % 7 NaCl're ve ısıya duyarlı olup, D₆₀ değeri 0,2-2 dakikadır. Etken, uzun süreli soğuk ve donmuş muhafaza ortamında da canlılığını koruyabilir (LeJeune ve Wetzel, 2007). *E. coli*'nin optimal pH-değeri nötre yakın olmakla birlikte, diğer koşulların uygun olması halinde pH 4,4 gibi oldukça asidik değerlerde de üreyebilir. Minimal a_w değeri 0,95'tir. *E.coli*' nin üreme koşulları tablo 2.1.1'de gösterilmiştir (Desmarcheiler, 1997).

Tablo 2.1.1. *E.coli*'nin Üreme Koşulları (Desmarcheiler, 1997)

	Minimum-Maksimum	Optimal
Sıcaklık (°C)	7-45	37
pH	4,4-9,0	6-7
a _w	0,95-	0.99

E. coli, kısa peritrik flagellaları ile tipik harekete sahip olmasına karşın, bazıları flagellalarının olmaması nedeniyle hareketsizdir. Suşların yaklaşık %95'ini içeren *E.coli* biyotip I, indol ve metil red pozitif, voges proskauer ve sitrat negatiftir. Buna karşın suşların yaklaşık % 5'ini içeren biyotip II'de bu reaksiyonlardan (IMViC) indol negatiftir (Erol, 2007).

E. coli suşları arasındaki serolojik ilişkiler ilk kez 1921 yılında Dodgeon tarafından belirtilmiş, daha sonra 1937'de Lowel *E.coli*' nin kapsül ve somatik olmak üzere iki çeşit antijeni olduğunu ileri sürmüştü, 1943 yılında ise Kauffmann flagella antijeni olduğunu da bildirmiştir. 1944' te Kauffmann, *E. coli*'lerin serolojik klasifikasyonu için günümüzde de

modifiye edilerek kullanılmakta olan bir şema oluşturmuştur. Modifiye edilen Kauffman şemasına göre, *E. coli* ler somatik “O” antijenlerine, flagellar “H” antijenlerine ve kapsüler “K” antijenlerine göre serotiplendirilmektedir (Nataro ve Kaper, 1998). Somatik antijenine göre yaklaşık 160’dan fazla, kapsüler antijenine göre yaklaşık 100 civarında ve flagellar antijenine göre 60’a yakın serogrup olduğu tespit edilmiştir (Bilge ve ark., 1989; Dorn, 1991).

E.coli’nin somatik “O” antijenleri lipopolisakkarit yapıda olup, makroaglutinasyon ve mikroaglutinasyon testleri ile ortaya konulabilen, ısıya dirençli yüzey antijenleridir. Kapsüler ve fimbrial antijenlere sahip *E.coli*’lerde, somatik antijenlerin ortaya konulması güçlük yarattığından, bu suşların 120 °C’de 2 saat ısıtıldıktan sonra aglutinasyona tabi tutulması önerilmektedir (Black ve ark., 1981; Bilge ve ark.,1993).

Kapsüler antijenleri polisakkarit özellikte olup, kapsül taşıyan *E. coli* suşlarında somatik antijenlerinin üzerinde bulunur. Bu nedenle “K” antijeni bulunduran suşlar, “O” antiserumları ile aglutine olmaz. “K” antijenleri, K(A) antijenleri ve K(B) antijenleri olmak üzere iki önemli komponentten oluşur. K(A) antijenleri 120 °C’de 2 saat içerisinde, K(B) antijenleri ise 100 °C’de tahrip olabilen antijenlerdir (Black ve ark., 1981; Bilge ve ark.,1993).

Flagellar antijenleri hareketli *E. coli* suşlarında bulunan, protein yapısında, ısıya dayanıksız, aglutinasyonla ortaya konulabilen antijenlerdir (Black ve ark., 1981; Bilge ve ark.,1993; Burnens ve ark, 1994).

Fimbrial antijenler (pilus antijenleri), önceleri “K” antijeninin L fraksiyonu olarak adlandırılan, sonraları ise fimbrialarda olduğu belirlenen protein yapısında antijenlerdir. Bunlar da “K” antijenlerine benzer şekilde, bir suşun “O” antijenine göre identifiye edilmesini önler. *E. coli*’lerin virulens faktörü olarak kabul edilen pilus antijenlerinin tespiti özellikle enteropatojenik *E.coli*’lerin (EPEC) belirlenmesinde önemlidir (Black ve ark., 1981; Bilge ve ark.,1993; Burnens ve ark, 1994).

Bunun yanı sıra, patojen özellik gösteren bazı *E. coli* suşları insan ve hayvanlarda başta diyare ile karakterize çeşitli intestinal infeksiyonlar yanında üriner sistem infeksiyonları, meningitis, septisemi gibi ekstraintestinal infeksiyonların nedeni olarak bilinmektedir (Whittam ve ark., 1993; Brunton, 1994; Nataro ve Kaper, 1998). Suda canlılığını sürdürebilmesinden dolayı fekal bulaşmanın ve *S. typhi* gibi enterik patojenlerin muhtemel

varlığına işaret (indikatör) eder. Su kaynaklarının fekal kontaminasyonu ile gıda işlerinde çalışan infekte personel *E. coli*'den kaynaklanan olguların en önemli kaynağını oluşturur. *E. coli* suşlarının çoğu normal bağırsak florasın da apatojen olmasına karşın, immun sistemi baskılanmış konaklarda veya bakterinin gastrointestinal bariyeri aşması halinde bu suşlar da enfeksiyona neden olabilirler (Erol, 2007).

E.coli' ler, enfeksiyonların patogeneğinde önemli rolü olan enterotoksin, nörotoksin ve endotoksin gibi çeşitli toksinlere de sahiptir. Enterotoksinler genellikle, genç hayvanlarda görülen bağırsak enfeksiyonlarından sorumlu tutulur. Bu toksinlerin stabil toksin (ST) ve labil toksin (LT) olmak üzere iki fraksiyonu bulunur. Isıya dayanıklı, proteinazlara duyarlı, immunojenik özelliği bulunmayan ve aside dirençli olmayan ST; ST_a ve ST_b olmak üzere iki varyanta sahiptir (Balows ve ark, 1991; Wells ve ark., 1991; Tzipori ve ark., 1995). İyi bir antijeniteye sahip, yapısı ve etki tarzı bakımından ısıya duyarlı *Vibrio cholerae* toksinine benzerlik gösteren, ısıya duyarlı olan LT ise; antijenik ve biyolojik özellikleri bakımından farklı, yapısal olarak benzerlik gösteren LT-I ve LT-II olmak üzere iki varyanta sahiptir (Okrend ve ark., 1992; Beutin ve ark., 1993). Nörotoksinler, domuzlarda enterotoksemiye (ödem hastalığı) neden olan, lipoprotein yapısında, ısıya duyarlı toksinlerdir. Endotoksinler ise bütün *E.coli* suşlarında bulunan, kimyasal olarak protein- fosfolipid-polisakkarit kompleksinden oluşan toksinlerdir (Doyle, 1991; Donnenberg ve ark., 1993a; Beutin ve ark.,1994).

Günümüzde insan ve hayvanlarda özellikle diyarejenik enfeksiyonlara neden olan *E. coli* suşları; virulens özellikleri, patojenite mekanizmaları, ürettikleri toksin tipleri, neden oldukları klinik belirtiler, epidemiyolojik farklılıkları ile O ve H antijenlerine göre; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvaziv (EIEC), enteroagregatif (EAggEC), enterohemorajik (EHEC) ve diffuzadeziv *E. coli* (DAEC) olmak üzere 6 ana grup altında sınıflandırılmaktadır (Padhye ve Doyle, 1992; Nataro ve Kaper, 1998). Fakat bu gruplara ilave olarak bazı araştırmacılar tarafından kabul gören ve verotoksijenik (VTEC) ve şigatoksijenik (STEC) olarak tanımlanan suşların, başka gruplar ile de ifade edilebilmesi, bu konudaki terminolojiyi karışık bir hale getirmektedir (Griffin, 1995; Heuvelink ve ark., 1999).

Diyarejenik *E. coli* gruplarının neden olduğu salgınlardaki karakteristik özellikler, kaynak ve araçlar tablo 2.1.2' de gösterilmiştir (Eklund, 2005).

Tablo 2.1.2. Diyarejenik *E.coli* Gruplarının Neden Olduğu Salgınlardaki Karakteristik Özellikler ve Kaynaklar veya Aracılar (Eklund, 2005)

Grup	Diyare ile ilişkilendirildiği yıl	Salgınları etkileyen araçlar, kaynakları ve faktörler	Temel virulans faktörleri: kromozomal/plazmidal	Virulans faktörün biyolojik etkisi
EPEC	1945	İşlem görmemiş su, gıda, süttten yapılmış gıdalar, toz ve aerosoller	Tutunma ve bağlanma yeteneği(A/E) EPEC Yapışma Plazmidi (EAF) Demet oluşturan pilus (BFP) LifA/Efa	Yapışma, mikrovillusların yıkımı, iyon salınımı Yapışma Yapışma Yapışma
ETEC	1961	İşlem görmemiş su, gıda, süttten yapılmış gıdalar	Isıya- duyarlı/ dirençli enterotoksin (LT, ST) Isıya- dirençli enterotoksin (EAST) Fimbrial kolonizasyon faktörleri (CFs)	İyon salınımı İyon salınım Kolonizasyon
EIEC	1971	Su, gıda, İnsandan insana Restoran yemekleri	Vir/Ics gen bölgesi IpaA, IpaB, IpaC, IpaD, IpaH Shigella enterotoksin 1 (ShET1)	Membran kırılmaları, hücre içi hareket İnvazyon, olası inflamasyon(yangı) İyon salınımı
EAggEC	1987	Su, gıda, İnsandan insana Restoran yemekleri	Isıya- dirençli enterotoksin (EAST) Kümeler halinde Yapışma Fimriyası (AAF) Plazmidal enterotoksin	İyon salınımı Yapışma Serin proteaz, iyon salınımı, sitotoksisite
EHEC	1982	Kasaplarda satılan etler, hamburgerler, sığır eti, fermente edilmiş sosisler, beyaz turp filizi, pastörize edilmemiş gıdalar, klorlanmamış su, salatalar	Shiga toksini (Stx) Tutunma ve Silme yeteneği (A/E) Enterohemolisin (Ehly) <i>E.coli</i> salgı proteini (EspP) Katalaz Peroksidaz (KatP) ToxB Efa-1/LifA	Protein sentezini inhibe eden rRNA, apoptosis Yapışma, mikrovillusların yıkımı, iyon salınımı Eritrositlerin lizizi Serin proteaz, koagulasyon faktör V'in yıkımı immün yanıt peroksidazlarının indirgenmesi Yapışma Yapışma
DAEC	1993	Çevre, nemli mevsim	Fimbrial adezin F1845 Yaygın yapışmadaki adezin (AIDA-I)	Yapışma Yapışma

2.1.1. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC ilk olarak 1944 yılında parakolon basil olarak, daha sonra ise *E. coli* O124 olarak tanımlanmıştır. 1971’de EIEC suşlarının tipik EIEC infeksiyonlu kişilerde kanlı ishale neden olduğu bildirilmiştir. Etken, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda diyare etkeni olarak önem taşımaktadır. Erişkin insanlarda ise epidemik seyirli gıda infeksiyonlarına neden olur. EIEC suşları diğer enterovirulent suşlarından invaziv bir karakter göstermesi ile ayrılmaktadır (Albert ve ark., 1995; Banatvala ve ark., 1996; Calderwood ve ark., 1996). İnfeksiyona sıcak yaz aylarında daha sık rastlanmaktadır. İnkübasyon süresi 8-24, ortalama 11 saat olup, hastalık birkaç gün devam eder. EIEC infeksiyonlarında hastalığın seyri *Shigella dysenteriae*’ nin yumuşak seyirli formu ile büyük benzerlik gösterir. Kolitis, dizanteri, ateş, abdominal kramp ve kanlı diyare hastalık belirtileri arasında yer almaktadır (Griffin ve ark., 1990; Chart ve Rowe, 1993; Dupont ve Ericson, 1993).

EIEC suşları genel olarak hareketsizdir ve O28ac, O29, O112ac, O121, O124, O135, O136, O143, O144, O152, O159, O164, O167’i içeren az sayıda O grubu bulunmuştur. Bu türler, kolon epitel hücrelerini istila ederek, bu epitel hücreleri içerisinde çoğalmakta ve epitel dokunun nekrozuna yol açarak, kanlı diyareye neden olmaktadır. EIEC suşları, enterositleri kaplamakta ve onların şeklini değiştirerek bu hücrelerin ölümüne neden olmaktadır. EIEC’ nin invaziv karakteri 140 MDa’ luk bir invazyon plazmidi tarafından yönetilmektedir (Levine, 1987; Milon ve ark.,1992; Padhye ve Doyle, 1992; Nataro ve Kaper, 1998). Bu plazmid Tip III Sekresyon Sistemini (Type III Secretion System=TTSS) ve kendi TTSS efektör proteinlerini kodlar. TTSS aynı zamanda *Salmonella* ve *Yersinia*’ daki sisteme benzerlik göstermektedir. Ayrıca, *Shigella* spp. ile EIEC suşları arasında fenotipik ve genotipik benzerlikler bulunmaktadır (Sandvig ve vanDeurs, 2000; Eklund, 2005).

İnsandan insana temas yoluyla bulaşma olsa da, açıklığa kavuşturulmuş EIEC infeksiyonlarının genellikle gıda ve su kaynaklı olduğu bildirilmektedir. Bunun dışında EIEC’den kaynaklanan gıda infeksiyonu olguları yumuşak peynir, çiğ süt ve kıymadan kaynaklanmaktadır. Bu çerçevede Fransa’dan ithal edilen peynirler, ABD’de 387 kişiyi kapsayan büyük bir gıda infeksiyonuna neden olmuştur. Korunmada, sütün patörizasyonu, tüketime hazır gıdaların soğuk muhafazası, uygun sanitasyonu ve portörlerin eliminasyonu önemlidir (Erol, 2007).

2.1.2. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

İlk olarak 1945 yılında John Bray tarafından “*Bacillus coli nepolitanum*” ismiyle yaz ishaline neden olan etken olarak rapor edilmesine rağmen EPEC suşları, ilk olarak 1955 yılında Neter tarafından tiplendirilmiştir (O’Brien ve ark., 1983; Mead ve Griffin, 1998). Bu suşlar, neonatal ve infantil diyarelerle ilişkilendirilmektedir. Pek çok yetişkinin, EPEC türleri için taşıyıcı oldukları, fakat belirgin infeksiyon belirtileri göstermedikleri bilinmektedir. Bunun nedeninin yetişkinler arasındaki kazanılmış bağışıklığa bağlı olduğu düşünülmektedir. Patogenezi tam olarak açıklanamamakla birlikte, EPEC türlerinin toksinlerinden farklı ve epitel hücrelerini istila eden bir veya daha fazla verositotoksin ürettiği bilinmektedir (Padhye ve Doyle, 1992; Whipp ve ark., 1994; Nataro ve Kaper, 1998; Beutin, 1999).

Günümüzde EPEC, gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda görülen ishalin yaygın etkenidir. Bu ishale ölüm oranı %30 civarındadır. Sporadik EPEC infeksiyonları ise endüstriyel ülkelerde görülmektedir. Bununla birlikte endüstriyelleşmiş ülkelerde EPEC’ in neden olduğu salgınlar çok seyrek. Hastalığın seyri 1-6 gün arasında değişmekte, bazı durumlarda 2 hafta sürmektedir. Akut sulu diyare, bulantı ve düşük dereceli ateş EPEC infeksiyonlarında görülen en yaygın belirtilerdir (Albert ve ark., 1991; Bouzari ve ark., 1994; Pell, 1997; Bokete ve ark., 1997).

EPEC, epitel hücrelerin yüzeyinde “lokalize aderenz (LA)” ile karakterize yapılar oluşturmaktadır. Bu özellik EPEC-aderenz faktör (EAF)-plazmidi ile ilişkilidir. 3-faz-modeline göre, bakteriler 1. fazda bağırsak epitel hücre villilerine tutunmakta (adare olmakta), 2. fazda sıvı sekresyonu ile hücre yapısı ve mikroviller zarar görürken, 3. fazda bakterilerin hedef konak hücrelerine tutunması yoğunlaşmaktadır (Erol, 2007). Bu patojenin tanımlanması O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128 ve O142’yi içeren serotipik “O” gruplarına dayanmaktadır. Günümüzde EPEC’ in belirlenmesi konakçı hücrelerdeki tutunma-silinme lezyonlarını kodlayan *eae* geninin kromozomda bulunması ve Stx üretiminin olmaması ile gerçekleşir. Buna ilave olarak demet oluşturan pilusların (bundleforming pili= BFP) aracılık ettiği plazmidal EPEC yapışma faktörünü ifade eden suşlar tipik EPEC suşları olarak tanımlanırken, EAF-plazmidinden yoksun olan suşlar ise “atipik EPEC” suşları olarak tanımlanmaktadır (Sandvig ve vanDeurs, 2000; Eklund, 2005).

Diğer *E.coli*'lerde olduğu gibi EPEC'de de bulaşma, kontamine el, kontamine bebek maması veya servis araçları ile fekal-oral yolla olmaktadır. Minimal infeksiyon dozunun çok düşük olduğu sanılmaktadır. EPEC rezervuarlarını semptomatik ve asemptomatik çocuklar ile anneler ve bebek mamasını hazırlayanların dahil olduğu asemptomatik yetişkinler oluşturmaktadır (Erol, 2007).

2.1.3. Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC, EAEC)

EAEC suşları hayvanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucu ortaya çıkarılmış ve gelişen dünyamızda özellikle çocuklarda görülen akut ve uzun süreli ishalin en önemli etkenidir. Ayrıca turist ishalinin en yaygın nedenidir. Özellikle 1987' den beri gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkan salgınlarda etkinliği artmıştır. İnfeksiyon mekanizması tam olarak anlaşılammakla birlikte, ST'e benzeyen ve enteroagregatif stabil toksin (EAST) olarak isimlendirilen bir toksin sentezlediği bildirilmektedir (Milon ve ark., 1992). EAEC suşlarına ilişkin mukus sekresyonunda artma, bağırsak mukozasında sitotoksik etkiler ve hemorajik nekroz gibi çeşitli karakteristik histopatolojik lezyonlar tanımlanabilmiştir (Nataro ve Kaper, 1998).

EAEC suşları, yaklaşık 90 tane tanımlanmış serotipi içeren oldukça heterojen bir gruptur. Bu serotipler içinde en yaygın olanlar O15:H18, O44:H18, O77:H18, O111:H12, O125 ve O126' dır. EAEC bağırsak epitel hücrelerine karakteristik olarak ot yığınlarına benzeyen kümeler halinde yapışmalarıyla tanınmaktadır (Acheson ve ark., 1996; Paton ve Paton; 1998).

Patogenez sırasında, EAEC, bağırsak mukozasına plazmid tarafından kodlanan agregatif (kümeler halinde) yapışma fimbriyası (AAF/I-AAF/III) tarafından tutunur. Bu yapışma mukus biyofilmi oluşumunu, yangıya bağlı olarak mukozal toksisiteyi ve sitokin salınımını arttırmaktadır (Alastair ve Sebastian, 2004). EAEC'nin diğer virulans faktörleri; plazmidal enterotoksin (PET) ve enteroagregatif ısıya dirençli toksin 1 (EAST- 1)'dir. Bazı EHEC suşlarının da EAST- 1 oluşturduğu saptanmıştır (Sandvig ve vanDeurs, 2000).

2.1.4. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

ETEC suşlarının insanlardaki ishalleri hastalıklarla olan ilişkisi 1960' larda ortaya çıkarılmıştır. O zamandan beri ETEC infeksiyonlarının gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkma oranı artmıştır. Isıya duyarlı (LT) veya ısıya dirençli (ST) toksin oluşturan ETEC, gelişmekte olan ülkelerde biri çocuk ishali, diğeri turist ishali olmak üzere iki önemli klinik belirti ile ilişkilendirilmektedir (Banatvala ve ark., 1996; Attenborough ve Matthews, 2000). ETEC, tropik ve subtropik ülkelerde çocuk diyarelerinin temel nedenlerinden biri olarak bilinmektedir (Erol, 2007). Patojenez sırasında, ETEC, fimbrial kolonizasyon faktörlerini (CFs) ve ilgili kolonizasyon faktör antijenlerini kullanarak bağırsak epitel hücrelerine kolonize olmaktadır. Buna ilave olarak ETEC suşları, plazmid tarafından kodlanan ısıya dirençli (Heat Stable Toxin=ST) ve/veya ısıya duyarlı (Heat Labile Toxin= LT) toksinler üretirler. ST ve LT toksinleri STa, STb ve LT-I, LT-II olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır. Isıya duyarlı (labile toxin: LT:LT1, LT2) toksin 60 °C'de 30 dakikada inaktive olur. Bu toksin *V. cholerae* tarafından üretilen enterotoksinle (Cholera toxin:CT) büyük benzerlik göstermektedir ve aynı antitoksine immunolojik benzerliği nedeniyle nötralize edilebilmektedir. ETEC'in diğeri önemli bir yapısal özelliği de kolonizasyon faktörüdür. Kolonizasyon faktörü, çok spesifik bir fimbria olup, hücre duvarı yüzeyi protein yapısında ve filamentöz formda (flagellar değildir ancak basit filamentöz yapıda) olup, ETEC'in bağırsak epitel hücrelerine tutunmasını sağlar (Eklund, 2005; Erol, 2007). Morfolojik lezyonlar oluşturmaksızın ince bağırsak epitel hücrelerindeki mikrovilluslara tutunmakta ve sentezledikleri enterotoksinlerle enterositleri lokal olarak etkileyerek buzağılarda, kuzularda ve domuz yavrularında neonatal diyareye ve ileitise, özellikle sıcak mevsimlerde de bebeklerde diyarelere neden olmaktadır (Barret ve ark., 1989; Whipp ve ark., 1994; Nataro ve Kaper, 1998; Beutin, 1999; Nagy ve Fekete, 1999).

ETEC'in oluşturduğu infeksiyonlarda inkübasyon süresi 8-44 (ortalama 26) saat olup, hastalığın seyri 24-30 saattir. ETEC'de belirtiler, kolerada olduğu gibi sulu diyare, dehidratasyon, abdominal kramp, muhtemel şok ve bazen kusmadır. Diyare kanlı değildir ve lökosit içermez. Hastalıkta minimal infeksiyon dozu 10^8 - 10^{10} kob gibi oldukça yüksek düzeydedir. Bir ETEC suşunun diyare oluşturabilmesi için 3 koşul gerekmektedir. Bunlardan birincisi, etken toksijenik olmalı; bunun için de bir veya birden fazla toksini kodlayacak plazmid bulunmalıdır. İkincisi, yeterli sayıda organizmanın konağa alınması gerekli olup, bu sayı 10^6 kob veya üzerinde olmalıdır. Üçüncü koşul ise, etken ince bağırsak mukozası ile

temas etmelidir. Bu da kolonizasyon faktörü ile sağlanır. Epidemiyolojik çalışmalar hastalık etkenlerinin insanlara bulaşmasında kontamine gıda ve suyun en önemli araç olduğunu ortaya koymuştur (Beser ve ark., 1993; Bell ve ark., 1994; Bell, 2002 ; Erol, 2007).

2.1.5. Diffüz Adeziv *E. coli* (DAEC)

Hücre çözen *E. coli* olarak bilinmektedir. Oniki aylık çocuklarda ishale neden olan ve gelişmiş ülkelerdeki önemli patojenlerden birisidir. Kesin patojenezi hakkında çok az şey bilinmektedir. Fakat DAEC suşları; epitel hücreleri üzerindeki yaygın yapışma şekilleri, α -hemolizin üretimi ve sitotoksik nekroz faktör 1 ile karakterize edilmektedir (Chart ve ark., 1991). Buna ilave olarak bütün kromozom ve plazmitlerin aracılık ettiği fimbrial adhezin F1845 ve plazmitten kodlanan adhezin (AIDA- 1) yaygın yapışma fenotipi ile ilgilidir (Eklund, 2005).

2.1.6. Enterohemorajik *E.coli* (EHEC)

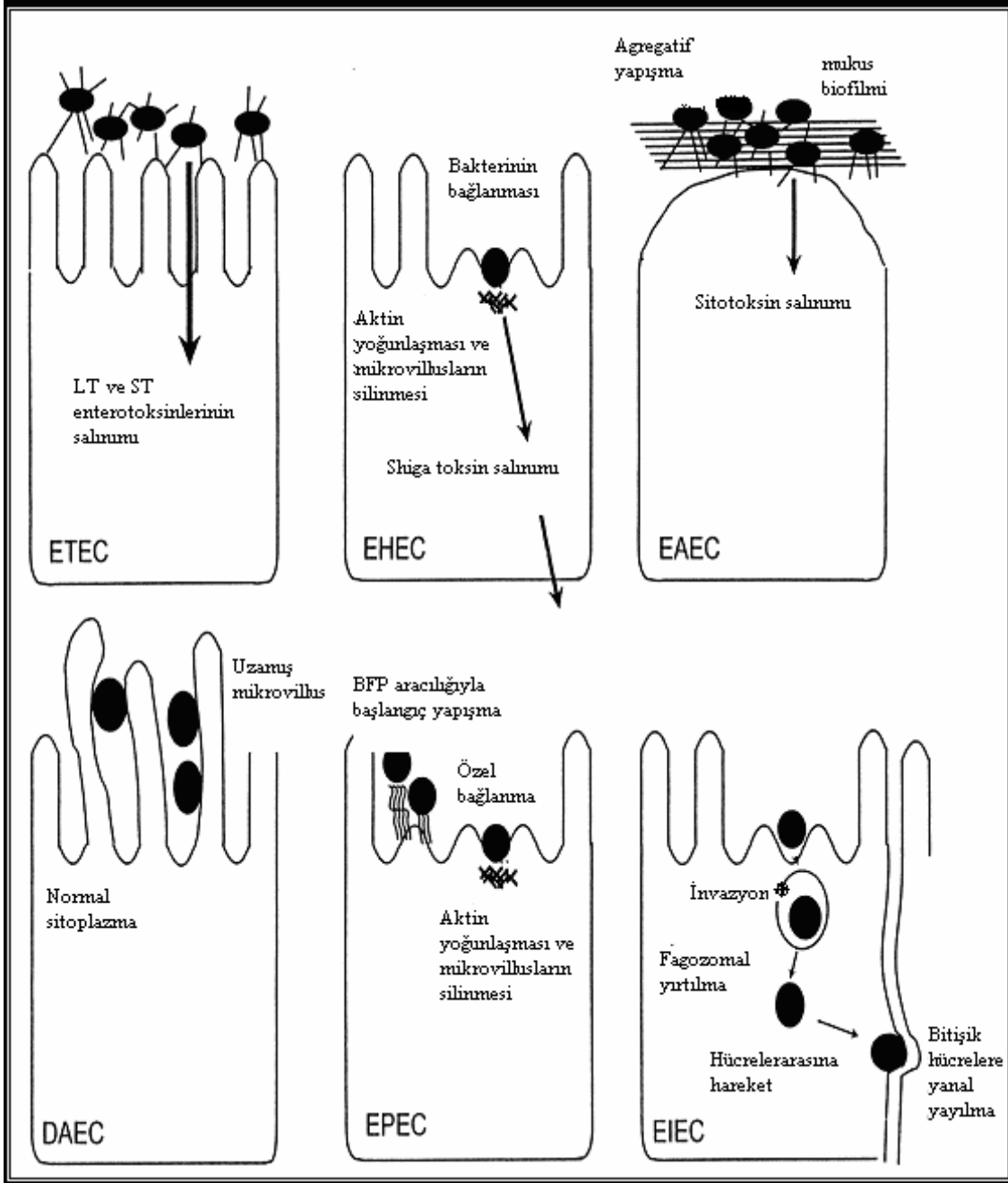
EHEC suşları enterohemolizin üreten, çok azı tanımlanabilmiş çeşitli sitotoksinler (verositotoksin ya da şigatoksin) sentezleyen ve bu sitotoksinlerle mikrovilluslarda bağlanma ve silinme (A/E) lezyonları olarak adlandırılan lezyonlara sebep olan suşlardır (Milon ve ark., 1992). Virülensi çok yüksek ve minimal infeksiyon dozu çok düşük olan EHEC, başta asit olmak üzere çoğu ekstrinsik ve intrinsik faktörlere dirençlidir (Erol, 2007). EHEC grubunda yer alan bazı serotipler tablo 2.1.3' de gösterilmiştir (Johnson, 1996).

Tablo 2.1.3. Kanlı İshal veya Hemolitik Üremik Sendromuna Neden Olan *E. coli* Serotipleri (Johnson, 1996).

O2:H5; H6	O48:H21	O112:H2	O145:H25; H-
O4:H10; H-	O50:H7*	O113:H2; H21*	O146: H8
O5:H-	O55:H6; H7; H10; H-	O114:H4	O153:H25
O6:H2; H-	O86:H40	O115:H10	O157:H7; H-*
O18:H70	O91:H10; H21; H-	O117:H4*	O163:H19
O22:H8	O98:H-	O118:H12	O165:H25; H-
O26:H11; H-*	O103:H2	O119:H6	O168:H-
O38:H21	O104:H; H21	O121:H19	O?:H2; H7; H19; H21
O45:H2	O105:H18	O125:H-	
O46:H31	O111:H2; H8; H-*	O128:H2; H25; H-	

* EHEC grubu

Şekil 2.1.1' de ETEC, EHEC, EAEC, DAEC, EPEC ve EIEC gruplarının patojenezisi gösterilmiştir (Nataro ve Kaper, 1998).



Şekil 2.1.1. Patojenik *E. coli* Gruplarının Patogenezi (Nataro ve Kaper, 1998).

Bu grupta yer alan *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O157:H⁻ (hareketsiz) serotipleri, tüm dünyada verositotoksinleri ile gıda kaynaklı infeksiyonlara neden olan en önemli patojenler olarak kabul edilmektedir (Padhye ve Doyle, 1992; Armstrong ve ark., 1996; Park ve ark., 1999; Bidet ve ark., 2005). HC ve HUS nedeni olarak dünyanın hemen her bölgesinde başta küçük çocuklar olmak üzere tüm yaş gruplarını etkileyen *E. coli* O157:H7, gıdadan ilk kez tanımlanmış olduğu 1982 yılından itibaren büyük önem kazanmıştır.

EHEC, ilk olarak 1977 yılında Vero (Afrika yeşil maymununun böbrek hücresi) hücrelerine sitotoksik etki gösterdiği ve bu hücrelerin ölümüne neden olduğu için verotoksin (VT) adı verilen bir toksin ürettiği saptanmıştır. O nedenle bu patojenlere verositotoksijenik *E. coli* (VTEC) adı verilmiştir. Verotoksinin saflaştırılması ve karakterizasyonu çalışmalarında O'Brien ve ark. (1983) verotoksinin yapı ve biyolojik aktivite bakımından *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından üretilen Stx toksini ile büyük benzerlik gösterdiğini saptamışlardır. Bu yeni toksin aynı zamanda anti-Stx ile nötralize olabilmiş ve bu nedenle Shiga benzeri toksin (Shiga-like toxin=SLT) olarak adlandırılmıştır. SLT toksinlerinin 2 ana grubu olduğu saptanmıştır. Bunlar SLT-I ve SLT-II veya bilinen adıyla VT1 ve VT2' dir. Günümüzde bu toksinler Stx1 ve Stx2 olarak ayrılmış ve çeşitli varyantları içerdiği saptanmıştır (Renter ve Sargeant, 2002; Eklund, 2005).

İlk çalışmalarda ishaller hastalardan izole edilen *E. coli* suşları Stx üretmiştir. Fakat ishaller hastalıklarda EHEC' in etiyolojik veya Stx' in varlığının olası patolojik önemi hakkında önemli bir kanıt yoktur. 1982'de ABD' de iki HC salgınına şigatoksijenik *E. coli* O157:H7 serotipinin neden olduğu saptandıktan sonra EHEC'in insanlardaki infeksiyon hastalıklarıyla olan bağı da açıkça ortaya konmuştur. Aşağı yukarı aynı zamanlarda HUS adı verilen ve hastalarda şiddetli klinik sonuçlara neden olan bir hastalığın dışkıda bulunan fekal sitotoksin ve sitotoksin üreten *E. coli* ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Bundan başka, Kanada' da Johnson ve ark. (1983) HC'li hastalardan izole ettikleri *E.coli* O157:H7 suşlarının vero hücreleri üzerinde aktif olan bir sitotoksin ürettiklerini rapor etmişlerdir. O zamandan beri EHEC, sadece neden olduğu şiddetli hastalıklarla değil, aynı zamanda düşük infeksiyon dozu ve insidansının dünya çapında artmasıyla da önem kazanmış ve şigatoksijenik *E. coli*' nin yaklaşık 450 tane O: H serotipi bulunmuştur (Meng ve Doyle,1998; Nataro ve Kaper, 1998; Eklund, 2005).

2.2.EHEC'in Virülens Faktörleri

E. coli O157:H7 serotipi; infeksiyonların patojenezinde önemli role sahip şigatoksin, enterohemolizin, intimin bağlanma faktörü, pO157 plazmidi, tip III sekresyon sistemi aracılığıyla salınan proteinler ve lipopolisakkarit gibi bazı virülens faktörlere sahiptir ve kromozomda ve plazmitte lokalize olanlar olmak üzere 2 ana gruba ayrılmaktadır (Sandvig ve van Deurs, 2000).

2.2.1.Kromozomda Lokalize Olan Virulans Faktörleri

EHEC'in en önemli bakteriyel virulans faktörünün lizogenik, lambdoid bakteriyofajlar tarafından kodlanan Stx1, Stx2 veya bunların varyantlarının üretimi olduğu bildirilmiştir. *E. coli* O157:H7; *Shigella dysenteriae* serotip-1 tarafından oluşturulan şigatoksinlere benzerliğinden dolayı eski terminolojiye göre “şiga benzeri toksinler (SLT)” olarak adlandırılan, bugün ise “şigatoksinler (Stx 1 ve Stx 2)” teriminin kullanıldığı sitotoksinler oluşturmaktadır. Her iki toksin de Vero doku kültürü hücrelerine toksik etkili olduğundan “verositotoksinler (VT-1 ve VT-2)” olarak da adlandırılmaktadır (Paton ve Paton, 1998; Mainil, 1999). Bu toksinlerin, EHEC suşlarının insanlardaki virulensi açısından önemli olduğu düşünülmeyle birlikte, memeliler üzerindeki etki mekanizması moleküler düzeyde tam olarak anlaşılamamıştır (Dorn, 1995).

Diğer önemli virulans faktörü ise kromozomda lokalize olan ve intimini (*E. coli* bağlanma ve tutunma proteini) kodlayan *eae* geninin kullanımınıdır. Bu proteinler EHEC' nin bağırsak epitel hücrelerinin yüzeyine bağlanmalarını sağlamaktadır (Beutin ve ark., 1993; Sonnenberg ve ark., 1993b; Debroy ve ark., 1995; Albert ve ark., 1996; Eklund, 2005).

Shiga toksin (Stx) ve Stx çeşitleri

EHEC suşlarının en önemli özelliği, Stx toksinlerinin ana grupları olan ve antijenik olarak birbirlerinden ayrılan Stx1 ve Stx2' i üretmeleridir. EHEC bakterilerinin Stx1' i *Shigella dysenteriae* serotip 1 tarafından üretilen Şiga toksinine çok benzemektedir. Stx1' ler arasında ve özellikle Stx2 de birçok varyant tanımlanmıştır. Ana varyant grupları; Stx1c, Stx1d, Stx2c, Stx2dac, Stx2e, Stx2f veya Stx2g' dir (Albert ve ark., 1993; Beutin ve ark.,1993; Debroy ve ark., 1995). Amino asit sequens seviyeleri karşılaştırıldığında Stx1 ve Stx2 toksinleri birbirlerine yaklaşık % 59 oranda benzerdir. Buna karşın Stx2 varyantları ile Stx2, % 84-99 gibi bir benzerliği paylaşmaktadır. *Stx* grup genleri ya lambdoid bakteriyofajları yada kromozom üzerinde lokalize olmuştur. Ek olarak, EHEC birden daha fazla Stx kodlayan bakteriyofaj taşıyorsa, birden fazla Stx'i ifade edebilmektedir (Sandvig ve van Deurs, 2000).

Stx toksinleri bir A alt birimi ve pentamerik bir B alt birimini içeren holotoksinlerdir. A alt birimi, 28S ribozomal RNA'daki (rRNA) protein sentezini inhibe eden bir

aminoglikosidazdır. B alt birimi ise, konakçı böbrek korteksinde bolca bulunan ve şigatoksin reseptörü olan glikolipid globotriasileramid (Gb₃), toksinin bağlanmasından sorumludur (Donnenberg ve Welch, 1996; Paton ve Paton, 1998; Park ve ark., 1999). 5' li B alt birimi kalın halka şeklinde bir yapı oluşturur ve A-alt biriminin C-ucu bu halkaya kovalent olmayan bir şekilde bağlanmaktadır. Ökaryotik hücre membranlarındaki Stx aile üyeleri için olan reseptör globotriasileramit'tir (Gb₃) (Erol, 2007). Sadece domuz ödem hastalık toksini olan Stx_{2e} uzun glikolipit olan globotetraosileramit'e (Gb₄) bağlanır. Hedef hücreye bir kere bağlandıktan sonra, Stx toksin molekülleri bağırsak epitel hücrelerinin endositik mekanizması tarafından veziküller ile birleştirilir, taşıyıcı Golgi ağı ve Golgi cisimciğinden endoplazmik retikulum ve nüklear membrana transfer edilmektedir. Daha sonra, Stx A alt birimi proteaz tarafından parçalanır ve katalitik olarak aktif A1 ve A2 fragmentleri oluşur (Calderwood ve ark., 1996). Toksinin salınan A1 alt birimi, protein sentezinin peptid zinciri uzama basamağını etkiler ve bu olay hücrenin ölümüyle sonuçlanır. Bununla birlikte, bazı hücrelerde toksin vezikülleri lizozomlar tarafından etkisiz hale getirilebilmektedir. Kan akışı ile birlikte Stx toksini spesifik Gb₃ reseptörlerince zengin organlara (örneğin böbrekler) taşınmaktadır. Her ne kadar Stx₁ ve Stx₂ benzer etki tarzına sahiplerse de toksisitelerinin ortaya çıkışı farklı olabilmektedir. Stx₁ ile karşılaştırıldığında, Stx₂ insan renal mikrovasküler endotelial hücrelerine 1000 kat daha toksiktir (Sandvig ve van Deurs, 2000; Eklund, 2005).

1983'de, kromozomlarında entegre halde lambda bakteriyofajı taşıyan *E. coli* O26:H11 ve *E. coli* O157:H7 salgın suşlarında Stx üretimi için gerekli olan genetik bilgi bulunmuştur. Son 10 yılda, 60 Kb boyutundaki (*stxA*; A alt birimini, *stxB*, B alt birimini kodlar) bazı lambda bakteriyofajları tarafından kodlanan Stx toksinleri bulunmuştur (Eklund, 2005). Bu bakteriyofajlar, *E. coli* dahil bir çok enterik bakterinin konakçı hücrelerinin lizogenizasyonuna neden olabilmektedir. *Stx* genleri, lambda bakteriyofajının spesifik bir gen bölgesinde (geç faz bölgesi) yer almaktadır. Lambda faj DNA' sı bakteriyel konakçı hücrenin kromozomal genomuna entegre olduğunda, *stx* genleri genetik kontrol altında sessiz kalmaktadır. Fakat faj, replikatif veya litik döngüyü başlattığı zaman oldukça fazla bir şekilde eksprese olurlar ve bunun sonucunda faj üretimi ve bakteriyel liziz gerçekleşmektedir. Litik döngünün başlaması ultraviyole (UV) ışığı veya antibiyotikler gibi DNA' ya zarar verici ajanlarla bakterilerin karşı karşıya kalmasından sonra ortaya çıkmaktadır. Litik döngü sonucunda, bakteriyofaj partiküllerinin yeni jenerasyonu ve Stx çevreye salınmaktadır (Eklund, 2005).

Stx1 ve *stx2*'nin çeşitli varyantları tanımlanmıştır. Bu varyantlar A veya B alt birimlerindeki bir veya iki amino asit farklılıklarına göre ayrılmaktadırlar. Bununla birlikte, bu ayrımların bazı farklı tipleri nomenklatürde bu toksinleri ayırt etmek için kullanılmakta ve bu da resmi olmayan bir nomenklatür yaratmaktadır. Bununla birlikte, genomik restrüksiyon profillerine dayanarak bazı *stx* ayrımları yapılabilmektedir. Örneğin; *stx1/stx1vO111* (bundan sonra *stx1*), *stx2*, *stx2c/stx2vha/stx2vOX393* (bundan sonra *stx2c*), *stx2vhb*, *stx2vO111/stx2OX392* (bundan sonra *stx2vO111* ve *stx2vOX392*), *stx2e* ve *stx2ev* genleridir. Ek olarak, Stx ve VT toksinlerinin sinonimlerine dayanarak, Paton ve Paton (1998) tarafından bulunan yeni toksinler VT2-Ount (bundan sonra *stx2d-ount*) ve VT2d-OX3a (bundan sonra *stx2d-OX3a*) olarak ayrılmıştır. HUS hastaları veya önemli belirtilere sahip hastalarla ilişkilendirilen en geçerli toksinler Stx2, Stx2c ve Stx2dac toksinleridir. Buna karşın, Stx toksininin B alt biriminin Stx2d-Ount varyantı insanlarda daha ılımlı belirtiler gösteren bir hastalığa neden olmaktadır (Whittam ve Wilson, 1988; Willshaw ve ark., 1993).

Stx2e tipik olarak domuzlarda ödem hastalığına neden olmaktadır. Stx2f temel olarak güvercin ölümleri ile ilişkilidir ve Stx2g ise bir toksin olarak tanımlanmış ve sığırlarda bulunmuştur (Rangel ve ark., 2005). Bununla birlikte, her ne kadar Stx üretiminin EHEC' in ana virulans faktörü olduğu düşünülse de, HUS veya diyareli hastalardan izole edilen suşlar arasında shiga toksini üretmeyen O157:H- *E.coli* suşları bulunmuştur. Nitekim duyarlı hastalarda önemli belirtilere neden olan ve Stx olmayan virulans özellikleri daha bilinmemektedir. Bununla birlikte, *stx* genlerinin kaybı bazı suşlar arasında çok hızlı bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Suşların izolasyonu veya depolanması sırasında STEC suşlarında *stx* genlerinin kaybı, bu suşların virulansının çalışılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir. Bu suşlar tanıda *stx* negatif varyantlar olarak görünür fakat klinik ve epidemiyolojik olarak *stx* pozitif suşlardır (Whittam ve Wilson, 1988; Willshaw ve ark., 1993; Eklund, 2005).

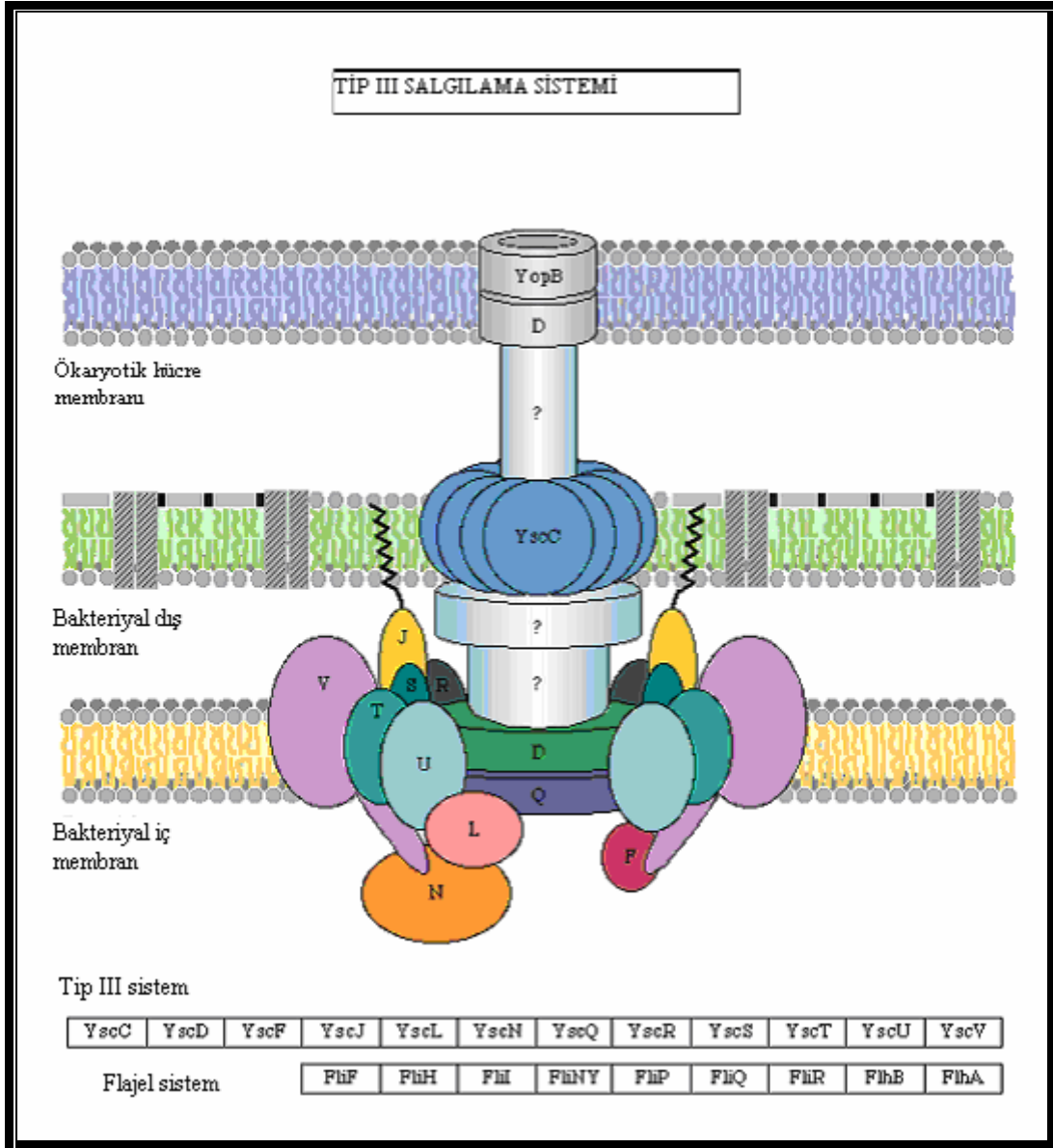
Enterosit Silme Lokusu (Locus of Enterocyte Effacement = LEE)

İntimin; enterosit silinme lokusu (LEE) olarak adlandırılan 43-kb'lık patojenite adasında yer alan *eae* (*E. coli* bağlanma ve silinme) geni tarafından kodlanan, 94-97 kDa'luk bir dış membran proteinidir (Park ve ark., 1999; Judge ve ark., 2004).

Birçok EHEC suşu enterosit silme lokusunun (LEE) patojenite adasına (PAI) sahiptir. Bu lokus, tip III sekresyon sistemini (TTSS) kodlar (Şekil 2.2.1.1). Bu sistem virulans

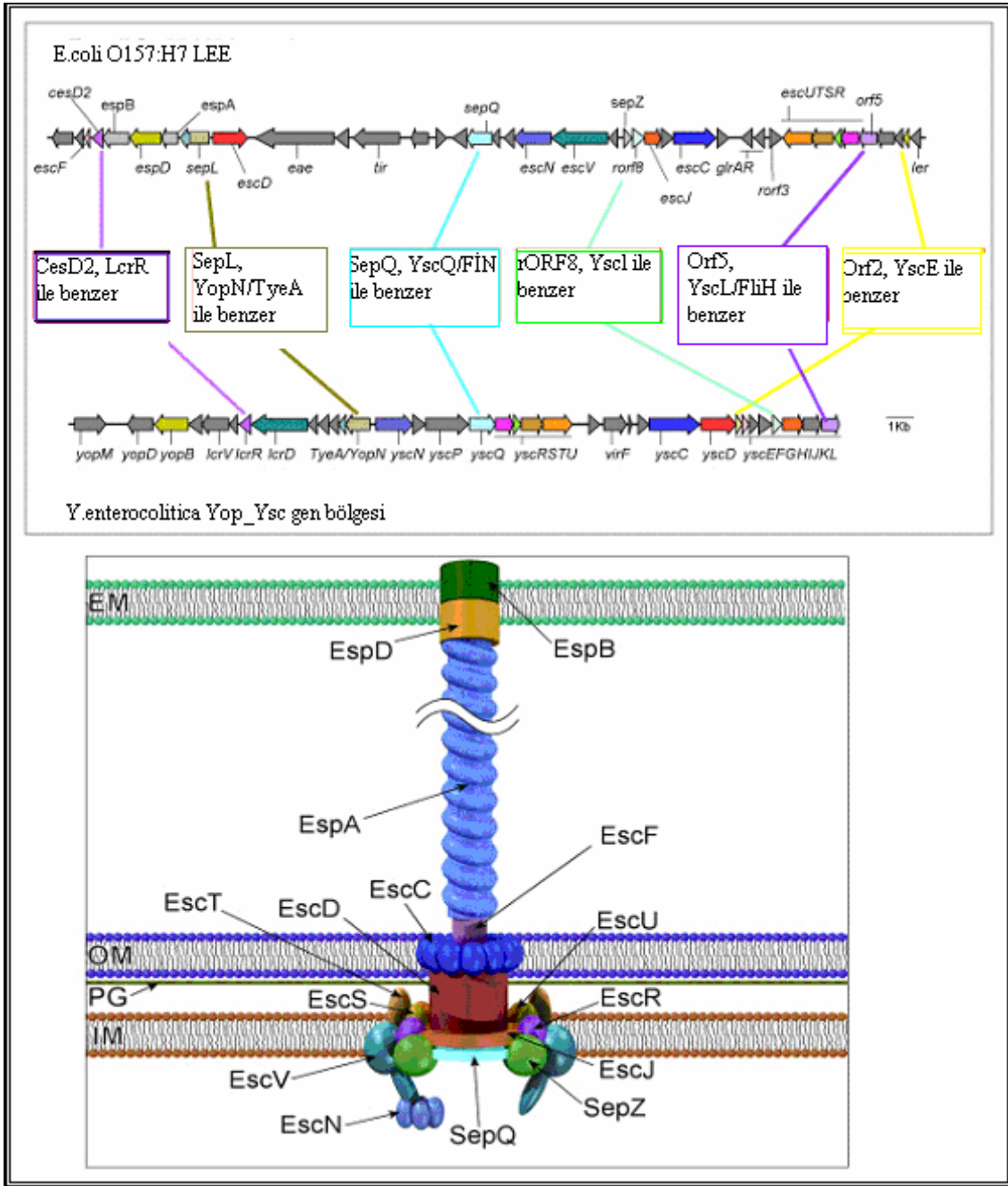
determinantlarının salgılanması ve taşınımı ile EPEC tarafından üretilenlere benzer olan efektör proteinleri ile bağlantılıdır. *E. coli* O157:H7; konakçı bağırsağında enterositlerin membranlarına yapışmakta ve mikrovilluslar ile sitoplazma kayıplarına neden olmaktadır. *E. coli* O157:H7 ile infekte hastalarda görülen bu lezyonlar “bağlanma ve silinme (A/E) lezyonları” olarak adlandırılmaktadır. İntestinal kolonizasyon ve bu lezyonların şekillenmesinde intiminin önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Mainil ve ark., 1987; Judge ve ark., 2004).

Her ne kadar *E. coli* tarafından salgılanan EspA, EspB, EspD, intimin, transfer intimin reseptörü (Tir) gibi proteinlerin benzerliği %67’ den %88’ e çıkmışsa da, EHEC ve EPEC’ in LEE lokuslarından kodlanan proteinlerin sequensleri %94 oranında tanımlanmıştır (Sandvig ve VanDeurs, 2000). TTSS’ in bileşikleri (Esc/Sep proteinleri), EspB, Tir ve olası diğer proteinlerin ökaryotik hücreye taşınması için bir yapı meydana getirir. Bundan başka “*E.coli* tip II sekresyon sistemi” adı verilen ikinci bir TTSS bulunmuştur. Bu yeni sistem potansiyel olarak *E.coli* O157:H7 ve non-O157’ nin LEE lokusu içindeki genlerin ifade edilmesini etkileyebilmektedir (Mead ve Griffin, 1998; Eklund, 2005).



Şekil 2.2.1.1. TTSS (Type III Secretion System = Tip Üç Salgılama Sistemi) (Anon, 2008a).

Pek çok Gram negatif bakteride bulunan, hayvanlarda infeksiyon nedeni olarak tanımlanan ve Tip III sekresyon sistemi aracılığıyla salınan Esps (*E. coli*-secreted proteins) gibi bazı immunreaktif proteinlerin *E. coli* O157:H7 tarafından da salındığı bildirilmiştir. Bu immunreaktif proteinlerin tipik A/E lezyonlarının şekillenmesi için gerekli sinyal transdüksiyonunda rol aldığı belirtilmektedir. Tip III sekresyon sistemi bu proteinlerin sitoplazmadan direkt olarak hücre yüzeyine taşınmasında görev almaktadır (Park ve ark., 1999).

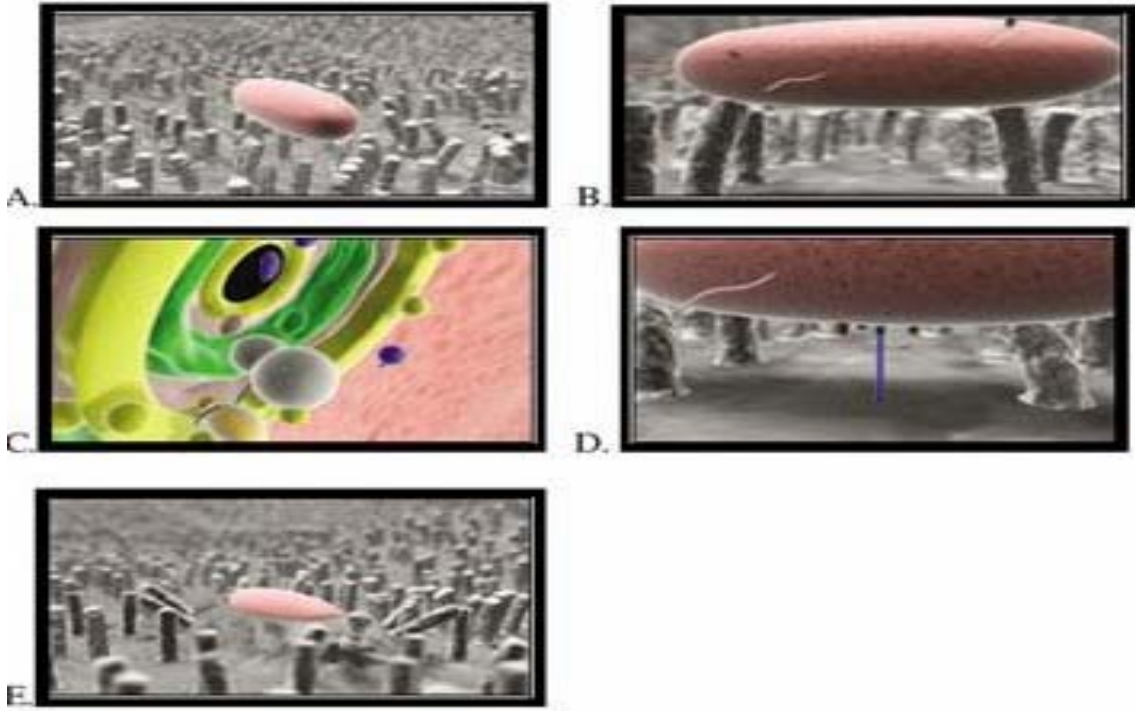


Şekil 2.2.1.2. LEE lokusu ve bu lokusta kodlanan proteinler (Anon, 2008b).

Patojenез sırasında, *E. coli* tarafından salgılanan *EspA* tüp benzeri bir yapı (translocon) oluşturur ve *EspB*, *EspD*, ve *Tir* gibi diğer proteinlerin konakçı membranına geçmesini sağlar (Aubel ve ark., 1992). Bu transferden sonra, *Tir* (Trans intimin Reseptörü) membrana bağlanır ve ilmik şeklinde bir yapı oluşturur (Şekil 2.2.1.2). Bu yapının N ve C uçları konakçı hücrenin sitoplazmasında iken orta kısmına *eae* geni tarafından kodlanan dış membran proteini olan intimin bağlanır (Şekil 2.2.1.3). Bu bağlanma konakçı hücrenin sinyal yol izlerini uyarır, uyarma sonucunda hücrenin sitoskeletinde değişiklikler meydana gelir.

Bunlar, aktinin depolimerizasyonu, mikrovillusların kaybolması, pedestal bir yapı oluşması ve konakçı hücrenin ölümüdür (Eklund, 2005).

EHEC suşlarında, LEE tarafından kodlanan proteinlerin ekspresyonu için istenen ve yine LEE tarafından kodlanan bir regülatör (Ler) vardır. EPEC ve EHEC' in bir parçası olan Ler, plazmid tarafından kodlanan regülatör (Per) ile ilişkilidir. Ler' in aynı zamanda A/E lezyonu için temel olmayan ilave virulans faktörlerinin ekspresyonunu düzenlediği saptanmıştır (Eklund, 2005). LEE ile ilişkili genleri (yapışma proteinini [intimin] kodlayan *eae* geni ve alt tipleri) tanı ve epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır. LEE lokusu taşıyan *E.coli* soyuna bağlı olarak, LEE bölgesinin büyüklüğü (36'dan 111 kb' a kadar) çeşitlilik göstermektedir ve 17 farklı intimin tipi bulunmuştur. HUS ve HC salgınlarında en çok karşılaşılan O157:H7/H-, O111:H-, O26:H11/H- gibi EHEC serotipleri arasında en tipik intimin alt tipleri $eae-\alpha$, $-\beta$ ve $-\gamma$ ' dır. HUS hastalarından izole edilen O157, O26, O103, O111 ve O145 gibi önemli EHEC serogruplarında *eae* geninin varlığı LEE' nin patojenitesini desteklemektedir. Bununla birlikte, Stx üreten suşların LEE negatif serogruplarının bulunduğu ve bu gruplarında hastalıkla ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır. Örneğin; O grubu içerisinde bulunan O103 ve O174' e ilave olarak, her ne kadar LEE' nin en temel yapışma mekanizmalarından biri olduğu düşünülse de, yeni tanımlanan ve LEE' nin dışında kodlanan yapışma faktörlerinin ve fimbrianın, EHEC' in patojenitesini yönettiğinden şüphe edilmektedir (Eklund, 2005).



Şekil 2.2.1 5. *E. coli* O157:H7 konakçı-hücre etkileşimi (Quantrell ve ark., 2004).

- a) EHEC O157: H7 konakçı çevresel uyarılara karşılık verir ve dış membranına adezin molekülleri eksprese eder.
- b) EHEC O157: H7 konakçı hücre yüzeyinde bulunan mikrovillüslara bağlanır.
- c) LEE4 (EspA, D, B translokon), mRNA (mavi ile gösterilen) TTSS' in iç membranına transfer edilir. Meydana gelen Esp proteinleri iğne benzeri bir kompleksin içerisinde dışarıya gönderilir. Bu yolla taşıma ve salgılama birleşir.
- d) EHEC O157: H7, uzun bir EspA filamenti oluşturur. Bu filament, konakçı hücre içine taşınan intimin reseptörünün (Tir) infeksiyonuna izin vermektedir. Bu reseptör hücreye membran kısmından girmektedir. Daha sonra EHEC O157:H7 Tir-intimin etkileşimi sayesinde konakçı hücreye sıkıca bağlanmaktadır.
- e) Konakçı hücrenin sitoskeleti, EHEC O157: H7' in konakçı hücre membranına bağlanması ve bunun sonucunda A/E lezyonunun oluşması ile yeniden düzenlenmektedir.

2.2.2. Plazmidin Aracılık Ettiği Virulans Faktörleri

EHEC suşları, plazmidin aracılık ettiği birçok protein taşımaktadır. Bunlar; EHEC-*hlyA* tarafından kodlanan enterohemolizin (Ehly), *etpD* tarafından kodlanan Tip II Salgılama Sistemi (ETP), *clyA* tarafından kodlanan hemolitik protein (sitolizin A) ve *stcE* tarafından kodlanan esteraz inhibitör-spesifik metalloproteaz'dır. Bununla birlikte, SF O157:H- suşlarının sadece fimbriyanın ekspresyonu için özel olan bir gen bölgesini taşıdığı gösterilmiştir. EHEC suşlarından farklı olarak SF O157 izolatlarında plazmidin aracılık ettiği katalaz peroksidaz (KatP, *katP*) ve serin proteaz (EspP, *espP*) yoktur (Brown ve ark., 1989; Brunder ve ark., 1996; Eklund, 2005).

Enterohemolizin (Ehly)

EHEC suşları yaygın olarak 60 Mda'luk bir plazmite sahiptir. Bu plazmid enterohemolitik fenotipten sorumlu 4 tane okunan gen bölgesi (open readin frame = ORFs) taşımaktadır. Ehly proteinini kodlayan bu genler EHEC-*hlyC*, EHEC-*hlyA*, EHEC-*hlyB* olarak 3 grupta isimlendirilmiştir. Bu genler *E.coli* α -hemolizin genleri ile oldukça ilişkilidir. *E.coli* α -hemolizin operonundaki genlere olan bu benzerliklerinden dolayı, bu şekilde isimlendirilmişlerdir. Ehly proteini por oluşturucu bir rol oynar, ökaryotik hücrelerde sitolizin olan RTX toksin içinde yeniden yapılır, eritrositleri lize eder ve EHEC bakterilerinin patojenik bir mekanizması olduğu düşünülür. EHEC-*hly* genlerinin okunan gen bölgelerinde meydana gelen mutasyonlar, enterohemolitik fenotipin indirgenmesine veya kaybolmasına neden olmaktadır. EHEC suşları arasında EHEC-*hlyA*'nın bulunması ve Ehly üretimi tipiktir. Buna karşın, SF O157:H- suşlarında, suşlar tipik olarak EHEC-*hlyA*'ya sahiptir fakat bu genlerin enterohemolitik aktivitesi açıkça gösterilmemiştir (Arriaga ve ark., 1995; Eklund, 2005).

Tip II Salgılama Sistemi (ETP)

Tip II salgılama yol izi sistemi, Gram negatif bakterilerde patojenite faktörlerinin bakteriyal hücre dışına taşınmasını sağlar. Yapılan DNA analizleri, EHEC suşlarının plazmitlerindeki ETP sistemine ait 13 tane okunan gen bölgesi bulunduğunu ortaya çıkarmıştır. Buradaki genler sırasıyla *etpC*'den *etpO*'a kadar sıralanmıştır. Bununla birlikte, ETP sisteminin tam fonksiyonu ve spesifitesi tam olarak anlaşılamamıştır (Eklund, 2005).

Katalaz Peroksidaz (KatP)

KatP, bifonksiyonel, bakteriyal bir katalaz peroksidazdır. Bir aminoterminal sinyal peptid içerir. Bu peptidin sitoplazmik membrana transfer edildiği düşünülmektedir. NSF O157 suşlarından farklı olarak KatP, *E.coli* O157' in vahşi tiplerinin periplazmasında temel olarak bulunmaktadır. SF O157 izolatlarında ise tipik olarak *katP* genleri yoktur (Brunner ve ark., 1996; Eklund, 2005).

Serin Proteaz (EspP)

Diğer Esp proteinlerinden (EspA, EspB, EspD) farklı olarak salgılanan serin proteaz EspP' ye plazmid aracılık etmektedir. EspP, in vitro olarak insan koagülasyon faktör V' i parçalayabilmekte ve HC' in şiddetini arttıran yardımcı bir virulans faktör olabilmektedir. Örneğin, EHEC infeksiyonuna yakalanmış 6 çocuktan 5'inin serumu saflaştırılmış EspP proteini ile reaksiyon vermiştir. Bununla birlikte, NSF O157 suşlarından farklı olarak, SF O157 izolatlarında tipik olarak *espP* genleri yoktur (Eklund, 2005).

2.2.3. Diğer Kromozomal ve Plazmidal Virulans Faktörleri

EHEC' in içerdiği virulans faktörlerine diğer bir örnek, endotoksinler gibi yapısal yüzey proteinleridir. Ayrıca, EHEC bakterileri arasında başka birçok virulans faktörleri tanımlanmıştır. Bazı suşlarda, limpostatin üretimi ve *efal* tarafından kodlanan yapışma EHEC faktörü (Efa1) saptanmıştır. Bunun yanı sıra virulans plazmid pO113 tarafından kodlanan yeni STEC kendi kendini aglütine eden adezin Saa' ın patogeneze katılabildiği bulunmuştur. pO113 plazmiti büyük hemolizin plazmiti olarak bilinmekte ve LEE-negatif suş olan O113:H21' den izole edilmektedir. Bu suş, HUS salgınlarından sorumludur. Son yıllarda pO113' ün nükleotid dizilimi saptanmıştır. Bunun sonucunda EspP gibi patojenik transfer bölgeleriyle yüksek oranda benzerlik taşıdığını gösterilmiştir. Bu plazmid, yeni bir tip IV pilus biyosentez lokusu taşımaktadır. Bu lokus, elverişli plazmid transferinde gerekmektedir. Diğer virulans faktörü olarak, EAEC grubunun ısıya dayanıklı enterotoksini (EAST), EHEC suşları arasında da saptanmıştır. Bunun dışında, yeni bir virulans toksinin üretimi, subtilaz veya sitolizin A (ClyA), bazı EHEC suşlarının veya Stx-negatif *E.coli* O157 suşlarının virulansına yardımcı bir faktör olabilmektedir. Ayrıca, SF EHEC O157:H- suşlarında bulunan plazmidal *sfp* gen bölgesinin (*sfpA*, *sfpH*, *sfpC*, *sfpD*, *sfpJ* ve *sfpG*) mannoza dayanıklı

hemaglutinasyonu ve fimbriyanın ekspresyonunu yönettiği belirlenmiştir. Birçok SF O157:H7 suşu, CDT-V ile ayrılan yeni tip bir toksin olan CDT toksinini kodlayan kromozomal gen bölgesine sahiptir. Bu toksin *E.coli* O157:H7' de seyrek olarak bulunmaktadır. Plazmid pO157' in aracılık ettiği yeni tanımlanan toksinler arasında, ToxB' ye ait geniş bir klostridial toksin ailesi tanımlanmıştır. Bu A-B toksinleri hücreye girişte rol oynar. Bu da hücre iskeletinin düzenlenmesi ve diyarenin oluşmasıyla sonuçlanabilmektedir (Eklund, 2005).

2.3. Non-O157 *E. coli* Serotipleri

EHEC serotipleri tarafından ortaya çıkan infeksiyonlardan çoğunlukla *E.coli* O157:H7 serotiplerinin izole edilmesi, bu serotiplerin virulansının daha yüksek olduğu fikrini akla getirmekle birlikte, diğer serotiplerin sorbitolü fermente etmeleri nedeniyle izolasyon ve identifikasyonlarında kullanılabilecek biyokimyasal bir metodun yokluğu, bu serotiplerin tespiti amacıyla doğrudan ürettikleri Stx veya *Stx* genini tespit etmeye yönelik yöntemlerin kullanılması zorunluluğunu doğurmuştur (Tabak, 2000).

Yaklaşık 200 civarı serotipe ait *E.coli* suşları Stx salgılayabilmektedir. Fakat bu serotiplerin çoğunda Stx-pozitif ve Stx-negatif suşlar da bulunabilmektedir. Bu serotiplerin 50' den fazlası insanlarda görülen kanlı ishal veya HUS ile bağlantılıdır. İnsanlardaki hastalıklarla ilişkili olan en yaygın non-O157:H7 serotipleri O26:H11, O103:H2, O111:NM ve O113:H21 serotipleridir. Bu organizmalara bağlı olarak ortaya çıkan son salgınlar Japonya, Almanya, İtalya, Avustralya, Çek Cumhuriyeti ve Amerika Birleşik Devletleri' nde rapor edilmiştir. Bu salgınların ortaya çıkabilmesi için 5 ile 234 arası organizma yeterli olabilmektedir. Bu salgınların çoğunda infeksiyonun kaynağı saptanamamıştır. Kuzey Amerika'da görülen HUS olaylarının %20- 25' nin non-O157:H7 EHEC nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Şili, Arjantin ve Avustralya gibi bazı ülkelerde non-O157:H7 EHEC serotipleri HUS olaylarının büyük bir kısmının nedenidir. Non-O157:H7 EHEC suşları sık sık kansız ishalleri hastalardan izole edilmektedir. Belçika' da yapılan bir çalışmada dışkıdan izole edilen Stx-üreten *E.coli* suşlarının %62' sinin non-O157:H7, buna karşılık sadece %32' sinin O157:H7 olduğu saptanmıştır. Seattle' da non-O157:H7 Stx-üreten *E.coli* suşları rutin dışkı örneklerinin %1.1'inde bulunmaktadır. Bu izolasyon oranı *Shigella* ve *Yersinia* spp.' den yüksek (% 0,2), buna karşın *Campylobacter* (% 2,5) ve *Salmonella* (% 3,4) spp. veya *E.coli* O157:H7 (% 2,9) 'den düşüktür. Boston ve Virjinya' da hastalardan izole edilen Stx-üreten bütün *E.coli* izolatlarının yaklaşık yarısı non-O157:H7 serotipleridir (Nataro ve Kaper, 1998).

İnsanlarda hastalık tablosu yaratabilme yeteneğine sahip non-O157 *E. coli* serotipleri arasında en sık rastlanan serotipler ve ürettikleri toksin tipleri tablo 2.3.1’de gösterilmiştir (Tabak, 2000).

Tablo 2.3.1. Shigatoksin üreten non-O157 *E.coli* serotipleri (Tabak, 2000).

Serotip	Stx Tipi	Serotip	Stx Tipi
<i>E.coli</i> O103:H2	1	<i>E.coli</i> OX3:H21	2
<i>E.coli</i> O113:H21	1,2	<i>E.coli</i> O83:H1	1,2
<i>E.coli</i> O165:H25	1,2	<i>E.coli</i> O171:NM	2
<i>E.coli</i> O111:NM	1,2	<i>E.coli</i> O5:NM	1
<i>E.coli</i> O4:NM	1,2	<i>E.coli</i> O26:H11	1
<i>E.coli</i> O45:H2	1	<i>E.coli</i> O125:NM	1
<i>E.coli</i> O126:H27	1	<i>E.coli</i> O145:NM	2
<i>E.coli</i> O121:H19	1,2	<i>E.coli</i> O50:H7	1
<i>E.coli</i> O91:H21	2	<i>E.coli</i> O111:H8	1,2
<i>E.coli</i> O146:H21	1	<i>E.coli</i> O137:H41	1,2

Bugün patojen ve patojen olmayan EHEC serotiplerinin ayrımında kullanılan en az iki ilave virulans faktörü daha mevcuttur;

1. *eae* geni tarafından kodlanan “A/E fenotipi”
2. EHEC hemolizini ve çeşitli yapışma faktörlerini eksprese edebilen pO157 plazmidini

Bu ilave özellikler sırasıyla “*eae*” ve “pCVD419” problemleri kullanılarak saptanabilirler. Bu çalışmaların ortak sonucu; hayvan ve et ürünlerinden izole edilen non-O157 *E.coli* serotiplerinin çok azında “*eae*” veya “pO157” genleri mevcutken, insanlarda hastalık etkeni olan non-O157 serotiplerininse hemen hepsinin “pO157” genleri taşıdığı şeklindedir. Ancak bu faktörleri taşımayan bazı non-O157 serotiplerinin de hastalık yapma yeteneğine sahip olmasından dolayı başka bilinmeyen virulans faktörlerinin mevcut olabileceği akılda tutulmalıdır (Mckee ve ark., 1995; Martinez ve ark., 2007).

2.4. *E. coli* O157:H7

EHEC grubu içinde yer alan *E.coli* O157:H7 serotipi, son yılların en önemli gıda kaynaklı patojeni olarak kabul edilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipi ilk kez ABD’de 1982 yılında 2 salgında 47 vaka ile görülmüş, bunun hemen arkasından çeşitli ülkelerde de benzeri salgınlar izlenmiştir. Daha önceliklere benzemeyen hastalığın aniden ortaya çıkması ve çeşitli analizler ile bu bakterinin diğer *E. coli* serotiplerinden ayrılığının gösterilmesi O157:H7 serotipinin “muhtemelen laboratuvar kaçkını bir bakteri” olduğunu düşündürmektedir (Noveir ve ark., 2002).

İlk olarak 1975 yılında ve daha sonra da 1978-1982 yılları arasında, diyarenin gözleendiği hastalardan Centers for Disease Control (CDC) tarafından izole ve identifiye edilen (Doyle, 1991) *E.coli* O157:H7’nin tam anlamıyla insan patojeni olarak tanımlanması, 1982 yılında Oregon (26 olgu) ve Michigan’da (21 olgu) yetersiz ısıtılmış kontamine hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan 2 adet gastroenterit salgınında identifiye edilmesiyle ortaya konulmuştur (Griffin ve Tauxe, 1991; Johnson ve ark., 1995). Ancak, 1993’de Washington, Idaho, Nevada ve California eyaletlerindeki, fast food restoranlarda yetersiz pişirilmiş hamburgerlerin tüketiminden kaynaklanan, toplam 732 kişinin etkilendiği, bunlardan 195’inin tedaviye ihtiyaç duyduğu, 4 çocuğun da öldüğü salgından sonra, *E.coli* O157:H7’den kaynaklanan gıda zehirlenmeleri daha büyük bir önem kazanmıştır (Semanchek ve Golden, 1998; Taormina ve Beuchat, 1999). ABD’nde her yıl yaklaşık 20.000 adet infeksiyon olgusu ve 250 adet HUS ve çeşitli komplikasyonlara bağlı ölümlerin görüldüğü bildirilmektedir. Etkenin minimal infeksiyon dozu tam olarak bilinmemekle birlikte, mevcut salgınlardan elde edilen verilere göre bu dozun 10-100 organizma gibi çok düşük düzeylerde olduğu bildirilmektedir (Peacock ve ark., 2001).

E.coli O157:H7 serotipinin bugün gıdalar ile insanlara bulaşan patojenler arasında en önemlilerinden biri olması, sadece diğerlerine göre her bakımdan daha fazla patojeniteye sahip olmasından değil, aynı zamanda ısıtılmasına oldukça dirençsiz olmasına rağmen başta yetersiz pişirilmiş hamburgerler olmak üzere et ürünleri ile salgınlara veya bireysel hastalanmalara neden olabilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu önemi nedeniyle ABD’de kırmızı etlerinde ısıtılmasına izin verilmiştir (Halkman ve ark., 2001).

Bugün için süt ineklerinin bağırsakları *E. coli* O157:H7 serotipinin muhtemel kaynağı kabul edilmektedir. İnek dışkısı ile süte, ete, toprağa, suya ve dolayısıyla her yere bulaşan bu serotip 1996-1997 yıllarında görülen salgında olduğu gibi, bitkisel ürünlerle de insanlara taşınabilmektedir (Noveir ve ark., 2002).

Japonya’ da yaz aylarında ortaya çıkan ve 40.000 kadar kişinin zehirlenmesine neden olan, her yaştan 11 kişinin ölümüne yol açan ve giderek yayılan salgının etkeninin *E.coli* O157:H7 serotipi olduğu saptanmıştır. Japonya’ da alınan önlemler arasında ellerin sabunla yıkanması, suyun kaynatılarak içilmesi, sebzelerin iyi yıkanması ve çiğ et yenilmemesi vardır (Halkman ve ark., 1996).

2.4.1. *E. coli* O157:H7’nin Biyokimyasal ve Antijenik Özellikleri

E. coli O157:H7’nin diğer *E. coli*’ler için geliştirilmiş pek çok biyokimyasal testlere benzer reaksiyonlar verdiği bildirilmektedir. Buna göre; *E. coli* O157:H7 için de *E. coli*’lerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan indol ve metil red testi pozitif; Voges Prausker, sitrat testleri ve üreaz aktivitesi ise negatif olarak değerlendirilmektedir (Noveir ve ark., 2000; Halkman ve ark., 2001; Kehl, 2002). Ayrıca sukroz, arabinoz, trehaloz, mannitol, laktoz, maltoz, ramnoz, ksiloz, rafinoz ve dulsitol fermentasyonları, glukozdan gaz ve asit oluşturma yeteneği ile lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz testleri pozitif; salisin, eskülin, arjinin dihidrolaz, adonitol, inositol, potasyum siyanür (KCN) ve sellobiyoz reaksiyonları ise negatif olarak bildirilmektedir (Ratnam ve ark, 1988). Bunun yanı sıra, özellikle son yıllarda atipik biyokimyasal reaksiyonlar gösteren *E. coli* O157:H7 izolasyonu dikkati çekmektedir. Buna göre; ramnoz, sukroz, laktoz fermentasyonu ile glukozdan gaz oluşturma yeteneği, lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz ve indol testlerinin negatif; üre hidrolizi ve sorbitol fermentasyonunun ise pozitif olduğu belirtilmiştir (Ware ve ark., 2000; Karch ve Bielaszewska, 2001; Bettelheim ve ark., 2002). Ratnam ve ark.’na (1988) göre *E. coli* O157:H7 serotipinin çeşitli biyokimyasal özellikleri Tablo 2.4.1.1’ de gösterilmiştir.

E. coli O157:H7 serotipi diğer *E. coli*’lerden; 44,5 °C ve üzerinde gelişmemesi, sorbitolü fermente edememesi, β - glucuronidase enzimine sahip olmaması, buna karşı *eae* genine sahip olması, 60 mDa plazmid taşıması ve yaygın olarak görülmeyen 5000-8000 Dalton moleküler ağırlıkta OMP ekspresyonu ve enterohemolizin üretimi ile ayrılır (Beutin ve ark., 1993; Donnenberg ve Nataro. 1995; Cobeljic ve ark.,1996). *E. coli* 'lerin %95 'i sorbitolü 24

saat içinde fermente ederken, *E. coli* O157:H7 sorbitolü 48 saat içinde fermente edememektedir. Bununla beraber Birleşmiş Milletler Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 'ne göre (2003), SLTEC O157 suşları arasında sorbitol pozitif olanlara da rastlanılmaktadır. *E. coli* O157:H- suşları sorbitol pozitifdir (Beutin ve ark., 1993). Yine, *E. coli*' lerin %97' si β-glucuronidase enzimi içerirken, *E. coli* O157:H7 serotipi β-glucuronidase negatiftir. Yeni bir tip hemolizin olarak kabul edilen enterohemolizin, verotoksin pozitif *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O157:H⁻ serotipleri tarafından üretilirken, bu özellik diğer *E. coli* 'lerde yoktur. Enterohemolizin sadece eritrositleri yıkanmış kanlı agar petrilinde belirlenebilir. Bu şekilde 33 adet verotoksik *E. coli* O157:H7 ya da *E. coli* O157:H⁻ izolatının 32 adedinin enterohemolizin ürettiği gösterilmiştir. Bunların dışında *E. coli* O157:H7 serotipi diğer *E. coli* 'lere göre safra tuzlarına daha az dayanıklıdır. Antijenik yapısı diğer *E. coli* 'ler ile kesin bir ayırım sağlar (Chart ve ark., 1991; Beutin ve ark., 1993; Chapman ve ark., 1994; Cimolai ve ark., 1994; Chapman ve Siddons, 1996).

E. coli' nin florojenik 4-metilyumbelliferil-β-D-glukuronid'i (MUG) belirteci *uidA* geni tarafından kodlanan β-glucuronidase enziminin aktivitesine bağlıdır. EHEC *E. coli* O157:H7'de bu genin varlığı gösterilmiş olmakla beraber, yapılan sekans analizleri bu serotipte *uidA* geninde bir kaç baz mutasyonu olduğunu göstermiştir. Bu nedenle *E. coli* O157:H7 serotipinde diğer *E. coli* 'lerde tipik olan MUG reaksiyonu negatiftir (Brenner ve ark., 1973).

E. coli O157:H7' nin O157 antijenik determinantı bakterinin selüler lipopolisakaritinun polisakarit kısmında bulunur. Yapısal analizler sonucunda bu determinant D-glukoz, L-fukoz (6-deoksi-L-galaktoz), 2-asetamido-2-deoksi-D-galaktoz, 4-asetamido-4,6-dideoksi-D mannoz (1:1:1:1)' dan oluşan ve tekrarlanan tetrasakkarid ünitelerinin doğrusal polimeri olarak tanımlanmıştır (Cobeljic ve ark., 1996; Cope ve ark., 1997).

MUG negatif *E. coli* O157 izolatlarının verositotoksin pozitif olduğu söylenebilir. Bir çalışmada 188 *E. coli* O157 serotipinin MUG ve verositotoksin testleri yapılmış, bunlardan 155 *E. coli* O157:H7, 10 *E. coli* O157:H⁻ ve 1 *E. coli* O157:H (rough) olmak üzere 166 adedi MUG negatif ve verositotoksin pozitif iken, diğer 22 izolat (2 O157:H⁻ , 1 O157:H , 19 diğer H tipleri ; H6, H16, H19, H25, H42, H45) MUG pozitif ve verositotoksin negatif olarak bulunmuştur (Donnenberg ve ark.,1989).

Tablo 2.4.1.1. *E. coli* O157:H7 serotipinin çeşitli biyokimyasal testler için % pozitiflik oranları
(Ratnam ve ark., 1988)

Testler	% Pozitiflik oranları
β- Glukuronidaz	0
Sorbitol	0
Salisin	0
Eskülin	0
Arjinin dihidrolaz	0
Adonitol	0
İnositol	0
Sellobiyoz	0
Üreaz	0
Sitrat	0
KCN	0
Sukroz	87
Glukoz (asit)	100
Glukoz (gaz)	98
İndol	100
Arabinoz	100
Trehaloz	100
Mannitol	100
Laktoz	100
Maltoz	100
Ramnoz	100
Ksiloz	100
Lizin dekarboksilaz	100
Ornitin dekarboksilaz	100
Rafinoz	100
Dulsitol	100

E. coli suşları arasında serolojik bir bağlantı olduğu ilk kez 1921' de Dodgeon ve ark. tarafından belirtilmiş, sonra 1937' de Lowel *E. coli* 'nin kapsül ve somatik olmak üzere 2 çeşit antijeni olduğunu ileri sürmüş, 1943' de ise Kaufmann flagella antijenini de göstermiştir. Buna göre *E. coli*' de O1-O171 arasında gösterilen 165 somatik O antijeni, K1-K90 arasında gösterilen 90 kapsül K antijeni ve H1-H56 arasında gösterilen 56 flagella H antijeni saptanmıştır. Çeşitli araştırmalar ile 171 O antijeni belirlenmiş ise de bunlardan 31, 47, 67, 72, 94 ve 122 numaralılar listeden çıkarılmış ve 165 O antijeni kalmıştır. En son çalışmalara göre, bugün 174 O, 56 H ve 80 K antijeni olduğu saptanmıştır (Beutin ve ark., 1993). *E. coli* ' nin somatik O antijenleri ile *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* ve *Providencia* cinsi bakteriler arasında önemli ölçüde çapraz reaksiyonlar bulunmaktadır. Termostabil özellik gösteren O antijenlerinden en çok rastlanan 25 kadar antijendir. Hücre zarında, kılıfında ya da kapsülde bulunan kapsül K antijenleri L, B ve A grubundadır. Bunlardan L ve B grubu yüzeysel somatik antijenler, A grubu ise kapsül

antijenleridir. K antijenleri de termostabil özellik gösterir. Kapsül antijenleri içinde ayrıca Vi, a, β, F antijenleri de vardır. Monofazik olan H antijenleri ise sadece hareketli türlerde bulunur ve ısıya duyarlıdır. Flagellar H antijenleri birbirleri ve diğer bakterilerin H antijenleri ile çapraz reaksiyon vermezler (Chapman ve Daly, 1989; Beutin ve ark.,1993). *E. coli* O157 ile *Escherichia* cinsi içindeki diğer 4 sorbitol negatif türün antijenik ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada 24 *E. hermannii*, 12 *E. fergusonii*, 12 *E. vulneris* ve 1 *E. blattae* izolatu poliklonal antiserum ile tüpte aglütinasyon ve lateks lam aglütinasyon testine alınmışlardır. Bunlardan sadece 4 adet *E. hermannii* izolatu serolojik olarak çapraz reaksiyon vermiştir (Cravioto ve ark.1990). Bunlara ilaveten *Citr. freundii* suşlarının da *E. coli* O157 antiserumu ile agglutinasyon verdiği bildirilmektedir (Brian ve ark.,1992).

2.4.2. *E. coli* O157:H7'nin Patojenezi

Neonatal buzağlarda yapılan deneysel patojenite çalışmalarında, *E. coli* O157:H7'nin üç haftalıktan büyük buzağlar için patojen olmadığı, üç haftalıktan küçük neonatal buzağlar içinse patojenik özellik taşıdığı gösterilmiş, tipik A/E lezyonlarının ince bağırsak distal kısmı ile kolonda gözlemlendiği belirtilmiştir (Mainil ve ark., 1987; Dean-Nystrom ve ark., 1997). Dean-Nystrom ve ark.'nın (1997) yaptığı çalışmada ayrıca *E. coli* O157:H7'nin neonatal domuz yavruları için de patojen olduğu belirtilmiştir.

E. coli O157:H7, Gram negatif bakterilerdeki tipik lipopolisakkarit yüzey yapısına sahiptir. "O" antijeni ya da somatik antijen olarak bilinen lipopolisakkarit, lipid A ve O polisakkaritinden oluşmaktadır. Serotipin antijenik determinantı olarak kabul edilen O polisakkariti, *E. coli* O157:H7'nin konak epitel hücrelerine adezyonunda önemli bir role sahiptir (Park ve ark., 1999).

pO157; ilk olarak 1990 yılında varlığı tespit edilen, hemen hemen tüm *E. coli* O157:H7 serotiplerinde taşınan, 90-kb büyüklüğünde, enterohemolizinin kodlanmasından sorumlu bir plazmidir (Park ve ark., 1999). pO157 plazmidinin EHEC infeksiyonlarının patojenezindeki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, yapılan çalışmalarda fimbrianın epitel hücrelerine adezyonu için gerekli olduğu bildirilmiştir (Nataro ve Kaper, 1998). Bu plazmid O26:H11 serotipinde de mevcut olup, insanlardan izole edilen Stx-üreten bütün *E. coli* suşlarının tamamından değil ama büyük çoğunluğundan izole edilmiştir (Beutin ve ark., 1994).

E. coli O157:H7 özel demir transport sistemine sahip olması nedeniyle demir kaynağı olarak hem veya hemoglobini kullanırlar (Law ve Kelly, 1995; Mills ve Payne, 1995). *ChuA* (*E.coli* heme kullanımı) geni tarafından kodlanan 69 kDa'luk dış membrane proteini demir sınırlamasına yanıt olarak sentez edilir ve *E. coli* suşlarının laboratuvar şartlarında bu proteinin ekspresyonu demir kaynağı olarak heme veya hemoglobin kullanımı için yeterlidir. Ortamda heme ve hemoglobin tarafından *E. coli* O157:H7 üremesi uyarılır ve bu patojen için bildirilen bir veya daha fazla hemolizin tarafından eritrositler lize olarak demir ortama verilir (Torres ve Payne, 1997).

E. coli O157:H7 infeksiyonunun klasik bağırsak histopatolojisi karakteristikleri hemoraji ve lamina propriadaki ödemi içerir (Griffin ve ark., 1990). Enine ve boyuna kolondaki ödem ve üst mukozal hemoraji kendini bariyum enema radyoterapide bir başparmak izi şeklinde gösterebilir. Birçok hastadan alınan kolon biopsi örnekleri aynı zamanda fokal nekroz ve nötrofil infiltrasyonunu gösterir. Şekil bütünüyle birçok hastada görülen toksine bağlı *Clostridium difficile* ilişkili kolitis ve sözde zarlara benzeyen işemik ve bulaşıcı yaralanmalara benzer (Riley ve ark., 1983).

Klasik A/E histopatolojisi gnotobiotik domuzlarda, gebe tavşanlarda ve *E.coli* O157:H7 bulaşmış kültürlenmiş epitel hücrelerinde görülmektedir. Ancak A/E lezyonları henüz klinik örneklerde rapor edilmemiştir. A/E lezyonlarının araştırılmasındaki başarısızlığın sebebinin kolon biopsi örneklerinin hastalıkta çok geç alındığı ve A/E lezyonlarının sadece Stx'in kuvvetli sitotoksik etkisi ortaya çıkmadan önceki evrede görülmesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca HUS ve HC esnasındaki gastrointestinal hemoraji olasılığı bağırsak biopsisine olan ihtiyacı artırmaktadır. EHEC' in etkisiyle A/E gibi histopatolojik değişikliklere yol açan hücresel tepkiler henüz EPEC' de olduğu gibi tam olarak çalışılmamıştır. Polimerize aktinin yüksek konsantrasyonları EHEC mukozal lezyonlarda ve artan IP3 ve hücre içi kalsiyum seviyelerine bağlı olarakta gözlemlenmektedir. Ancak EPEC soylarının (türlerinin) aksine, EHEC soyları (türleri) epitelial hücre proteinlerinin sentez artışında başarısız olmaktadır. Bir *eae*- negatif EHEC türü A/E lezyonları görülmediği halde intraselluler kalsiyum seviyelerini çoğaltma gücüne sahiptir. Bu sonuçlar EPEC' e verilen hücresel tepkilerin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (Tzipori ve ark., 1989; Donnenberg ve ark., 1993; McKee ve ark., 1995; Tzipori ve ark., 1995).

2.4.3. *E. coli* O157:H7 'nin Gelişmesi ve Canlı Kalması

E. coli O157:H7 serotipi de diğer *E. coli* 'ler gibi optimum olarak 37 °C 'da ve pH 7,2 'da gelişir (Tablo 2.4.3.1) (Bell, 2002). *E. coli* O157:H7 serotipinin gelişmesi üzerine yapılan çalışmaların çoğu bu serotipin izolasyon çalışmalarına yöneliktir.

Tablo 2.4.3.1. Patojenik *E.coli*' lerin büyüme sınırı parametreleri (Bell, 2002).

	Minimum	Maksimum
Sıcaklık (°C)	7-8 ^a	44-46 ^b
pH	4,4 ^c	9.0
a _w	0,95	-
NaCl	%2.5 NaCl de büyüme hızlı %6.5 NaCl de büyüme yavaş %8.5 NaCl de büyüme yok	

a. Sütte 6,5 °C' de büyüme tespit edilmiştir.

b. EHEC'in bazı suşlarında büyüme için maksimum sıcaklık 44 °C' den daha düşüktür.

c. *E.coli* O157:H7' nin 4,4'ten daha düşük pH' larda da canlı kaldığı saptanmıştır

Çeşitli araştırmalar gıda kaynaklı hemorajik kolit olgularında anahtar rol oynayan *E. coli* O157:H7' nin aside dirençli olduğunu ve bu toleransının midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesini sağladığını göstermiştir (Bettelheim ve ark., 1994). Bu bakterinin aside direnci insanlarda infeksiyon dozunun çok düşük olmasını etkileyen bir faktör olarak kabul edilmektedir. *Salmonella* 'nın tersine olarak 1-2 pH olan insan midesinde yaklaşık 3 saat süren sindirim sırasında canlı kalabilmesi ve buradan bağırsağa geçmesi bu ilişkiyi açıklamaktadır (Cobeljic ve ark., 1996).

Benzer şekilde mayonez, fermente etler, cottage peyniri gibi asitli gıdalarda diğer patojenler inhibe olurken, bunun *E. coli* O157:H7' nin rahatlıkla gelişebilmesi için bir avantaj olduğu gösterilmiştir. Bu özelliği ile elma suyu ve geleneksel olarak güvenli kabul edilen fermente et ürünlerinde canlılığını koruyabilmektedir (Black ve ark., 1981; Barrett ve ark., 1989; Albert ve ark., 1992; Bitzan ve Karch, 1992; Baldwin ve ark., 1993; Bell ve ark., 1994; Douce ve ark., 1995). pH değeri 3,6-4,0 olan elma şarabında 8 °C' de 31 gün canlı kalabilen *E. coli* O157:H7 'nin %40'dan fazla mayonez içeren ve pH değeri 5,40-6,07 olan et salatasında

canlılığını uzun süre koruyabildiği, pH 4,2 değerinde bir kaç hafta canlı kalabildiği, hatta et salatasının karakteristik pH değerlerinde gelişebildiği, sırasıyla asetik, laktik ve sitrik asitlerin etkili olduğu belirlenmiştir (Beutin ve ark., 1993; DuPont ve Ericsson, 1993; Abdul ve ark., 1994; Albert ve ark., 1995; Crane ve Oh, 1997).

Sığırların sindirim-boşaltım sistemlerindeki düşük pH ve organik asitler varlığının daha sonra karkasa bulaşma potansiyeli olan *E. coli* O157:H7 serotipi ve diğer patojenlerin aside dirençliliğini artırabileceği düşünülmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar bu bakterinin aside toleransının artırabileceğini (Allaoui ve ark., 1995), asit cinsinin aside olan tolerans artırımında etkili olduğu ve suş farklılıklarının aside dirençlikte önemli olduğunu göstermiştir (Baldini ve ark., 1986; Benz ve Schmidt, 1992).

Çeşitli araştırmalar, gıda kaynaklı hemorajik kolitis ogularından izole edilen *E. coli* O157:H7'nin, asite oldukça dirençli olduğunu ve bunun da midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesinde rol aldığını göstermektedir. Etkenin pH değeri 1-2 olan insan midesinde yaklaşık üç saat süren sindirim sırasında canlı kalabilmesi ve buradan bağırsaklara geçmesi de bu görüşü desteklemektedir (Park ve ark., 1999; Russell ve ark., 2000; Kehl, 2002).

Ruminantların gastrointestinal sistemlerindeki düşük pH ve organik asitlerin varlığının, sonradan karkasa bulaşma potansiyeli olan *E. coli* O157:H7 serotipinin asite dirençliliğini artırabileceği düşünülmektedir (Dorn, 1995). Yapılan bir çalışmada asite direncin gelişme fazı ile doğrudan ilişkili olup, en yüksek direncin durma fazında olduğu belirlenmiş, asite bir kez direnç kazanıldığında bunun soğuk depo ortamlarında da korunduğu, ruminantların gastrointestinal sistemlerinde asidik ortama direnç kazanan bu patojenin karkasa bulaşması halinde soğuk depo ortamında canlılığını uzun süre koruyacağı ve etten elde edilecek asitli ürünlerde de ortam sıcaklığı gibi diğer koşulların uygun hale gelmesi ile gelişimini rahatlıkla sürdürebileceği gösterilmiştir (Park ve ark., 1999).

E. coli O157:H7 suşlarının aşırı asidik (pH 3) koşullarda canlılıklarını sürdürebilmelerinin araştırıldığı bir çalışmada asitle indüklenmiş oksidatif sistem, asitle indüklenmiş arjinine bağlı sistem ve glutamata bağlı sistem olmak üzere önceden karakterize edilen 3 asit dirençlilik sistemi test edilmiştir. Çeşitli asit direnç sistemlerinin patojen *E. coli* 'nin mide (pH 1-3) ve barsak (pH 4,5-7) ortamlarındaki asit streslerinde canlılığını korumasında etkili olduğu, bir kez indükledikten sonra asit direnç sisteminin 4 °C' deki soğuk depoda aktif halde uzun süre stabil

kaldığı ve bu bulgunun özellikle gıda endüstrisi için önemli olduğu belirtilmiştir (Caprioli ve ark.,1987). Benzer şekilde aside direncin gelişme fazı ile doğrudan ilgili olduğu ve en yüksek direncin durma fazında olduğu belirlenmiş, aside bir kez direnç kazanıldıktan sonra bunun soğuk depo ortamlarında da korunduğu, sığırların sindirim ve boşaltım sistemlerinde asidik ortama direnç kazanan bu patojenin karkasa bulaşması halinde soğuk depo ortamında canlılığını uzun süre koruyacağı ve etten elde edilecek asitli ürünlerde de ortam sıcaklığı gibi diğer koşulların uygun hale gelmesi ile gelişmesini rahatlıkla sürdürebileceği gösterilmiştir (Cobeljic ve ark., 1996).

Etlerde bulunan *E. coli* O157:H7 üzerine organik asitlerin etkisi çeşitli araştırmalara konu olmuştur. Sığır karkasında bulunan *E. coli* O157:H7' nin organik asitler ile kontrolü için pilot ölçekli bir karkas yıkayıcısı kullanılmış ve yağlı ya da yağsız et dokuları *E. coli* O157:H7' nin 3 suşu ile inoküle edilip 24 °C 'da %1; 3 ; 5 laktik asit, asetik asit ya da sitrik asit ile yıkanmış ve 4 °C 'de 24 saat inkübasyondan sonra yapılan sayımların istatistiksel incelenmesinde asit cinsinin önemli olmadığı, ancak asit konsantrasyonu, bakteri suşu ve sığır karkas dokusunun bakteri sayısının azalmasında önemli olduğu, yağsız et dokusu üzerinde %5 konsantrasyonda asit pülverizasyonun tüm *E. coli* O157:H7 suşları üzerinde en fazla etkiyi gösterdiği saptanmıştır (Bender ve ark., 1997).

Benzer şekilde ılık (20 °C) ve sıcak (55 °C) asetik, sitrik ve laktik asidin sığır bifteğine inoküle edilmiş *E. coli* O157:H7 üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada elde edilen bulgular yine *E. coli* O157:H7 'nin aside dirençli olduğunu, asit çeşidinin etkili olmadığını, asit uygulamasının depolama süresi boyunca kayda değer bir canlılık azalması sağlamadığını göstermiştir (Ashkenazi ve ark., 1992).

Asitlik dışında, *E. coli* O157:H7 serotipinin yüksek tuz konsantrasyonlarına da direnç gösterdiği bildirilmiştir (Kehl, 2002). Tarr ve ark. (1990) tarafından yapılan araştırmada *E. coli* O157:H7 'nin %6,5 NaCl 'de gelişebildiği, NaCl 'ün inhibisyon etkisinin %8,5 derişimde başladığı, 200 ppm nitrit ve %4,0 NaCl içeren, pH 'sı 5,6 olan sıvı besiyerinde gelişebildiği, %3,5 NaCl ve 69 ppm sodyum nitritli ve pH 'sı 4,8 olan fermente sucukta indirgendiği ancak 4 °C 'de 2 ay süren depolama sırasında kullanılan starter kültüre bağlı olmaksızın tümüyle inhibe olmadığı bulunmuştur (Chart ve ark., 1991).

Bir başka çalışmada mTSB broth besiyerine ilave edilen %3,5 ve %6,5 NaCl konsantrasyonlarında 30-40 saat inkübasyon süresi sonunda *E. coli* O157:H7 serotipinin 10^8 kob/ml düzeyine eriştiği saptanmıştır. Bir başka araştırmada ise gelişme üzerine düşük sıcaklık ve yüksek tuz konsantrasyonunun etkisi piliç ekstrakt broth ve triptik soya (TS) broth besiyerinde incelenmiş, 37 °C' de piliç ekstrakt broth besiyerinde %8; 10 °C' de piliç ekstrakt brothda %6 ve TS brothda %4 NaCl konsantrasyonunda *E. coli* O157:H7 'nin inhibe olduğu, bakterinin 4 °C' de gelişemediği gösterilmiştir. Buna karşı bir görüş ise *E. coli* O157:H7 'nin aside kayda değer ölçüde yüksek bir direnç göstermediği ve %6,5 NaCl içeren TS broth besiyerinde gelişemediği belirtilmektedir (Cobeljic ve ark., 1996).

Asitlik ve tuza olan direncin aksine *E. coli* O157: H7 serotipinin yüksek sıcaklıklara *Salmonella* spp. türlerinden daha fazla duyarlı olduğu, donma sıcaklıklarına ise kayda değer ölçüde dirençli olduğu bildirilmektedir (Padhye and Doyle, 1992). Buzdolabı sıcaklığında ise haftalarca canlı kalabilmektedir (Weagant ve ark.,1994). Bu patojenin kuru ortamlarda canlılığını önemli ölçüde koruduğu gerek deneysel gerek salgına neden olan gıdalar ile gösterilmiştir. Farklı pH ve su aktivitesindeki işlenmiş salamlara inokülasyondan sonra 4 °C' de 32 saat süre ile 4,63 pH ve 0,90 a_w ' de dahi 10^4 - 10^5 kob/g düzeyinde canlılık elde edilmiştir. 1994 yılında işlenmiş kuru salamın ve 1966 yılında Japonya 'da turp filizinin neden olduğu salgınlarda her iki ürünün de kuru olması yine kuru gıdalarda bu bakterinin canlı kalabileceğini kanıtlamaktadır (Weagant ve ark.,1994).

E. coli O157:H7 serotipinin normal gelişme sıcaklığının bir kaç derece fazlasında inkübasyona bırakıldığı bir çalışmada hücrelerin yeni bir grup protein sentezleyerek daha sonra kendileri için öldürücü olabilecek sıcaklıklara karşı daha iyi direnç gösterdikleri bulunmuştur. Aerobik ve anaerobik koşullarda gelişen *E. coli* O157:H7 'ye ısı şoku uygulamasının ısıl işlemde canlı kalabilen bakteri sayısını artırdığı, bakteriye uygulanan ılımlı bir ısı şokunun bakterinin inhibisyonu için seçilen proses sıcaklığında canlı kalabilme yeteneğini yükselttiği görülmüştür (Chart ve ark., 1991). TS broth ve işlenmiş salama ısıl işlem ile strese sokulmuş *E. coli* O157:H7 'nin inoküle edildiği bir çalışmada ise TS broth besiyerinde pH ve su aktivitesine bağlı olmaksızın 5 °C' de depolamanın *E. coli* O157:H7' nin canlılığını iyi bir şekilde koruduğu, işlenmiş salamda su aktivitesi ve pH 'nın canlılık azalmasında 1- 2 log birimi etkili olduğu gösterilmiştir (Bauer ve Welch, 1996).

Farklı ortam koşullarında *E.coli* O157:H7' nin canlılığını ne kadar süre ile devam ettireceği konusunda araştırmalar yapılmaktadır. Laboratuvar analizleri ile *E. coli* O157:H7 serotipinin kumlu topraklarda ölüm hızının çok yüksek olduğu, 8 haftalık bir süre içinde 10^5 kob/g olan başlangıç sayısının belirlenemeyecek düzeye indiği, buna karşın killi topraklarda 20 hafta içinde sadece 2 logaritma birimi canlılık azalması olduğu belirlenmiştir (Bilge ve ark., 1993). Bir başka çalışmada ise toprakta 130 günde 10^8 kob/g düzeyinden sadece 10^7 ye azalma olduğu bulunmuştur (Maule, 2000).

2.4.4. *E. coli* O157:H7' nin Kaynağı ve Yayılması

E. coli O157:H7 serotipinin kaynağı üzerinde farklı görüşler bulunmaktadır. Çeşitli araştırma sonuçları bu bakterinin başta süt inekleri olmak üzere sıcak kanlı hayvanlar olarak tanımlanan memeli ve kanatlı hayvanların dışkıları ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısı ile tüm çevreye yayıldığını göstermiştir (Bosworth ve ark., 1996).

Bu patojenin başlıca kaynağının daha çok genç sığırlar olmak üzere koyun, keçi, geyik, kuzu, tavuk, domuz, kedi, köpek ve martılar olduğu bilinmektedir. Genelde dışkıdaki yaygınlığın %0- 10 oranında değişmekle beraber, genç hayvanlarda daha fazla olduğu, sığır dışkısında 5^0C ' de 70 güne kadar canlılığını koruyabildiği ve verotoksin üretme kapasitesini kaybetmediği ortaya konulmuştur. Epidemiyolojik olarak insanlara geçiş, direkt olarak meslek le ilgili hayvanla temas şeklinde, indirekt olarak dışkı ve atıklarla kontamine olmuş gıdaların, içme ve halka açık yüzme havuzu olarak suların alınması durumunda, çiğ ya da yetersiz pişirilmiş gıdaların hazırlanması sırasında temas edilen araçlar veya eller vasıtasıyla oluşabilen kros kontaminasyonlar ile ve en önemlisi kişiden kişiye temas (oral-fekal yolla) aracılığıyla olmaktadır. Ayrıca asemptomik taşıyıcı olan enfekte insanlar da patojenin bulaşmasında rol oynamaktadır (Temelli, 2002).

Patojen bakterilerin evrimi üzerinde çalışmalar yoğun şekilde sürmektedir. *Escherichia*, *Salmonella* ve *Shigella* türleri üzerinde yapılan genetik analizler *E. coli* O157:H7 serotipinin bireysel bir patojen olmadığı, bunun enterik bir bakteriden evrimleştiği şeklindeki teori oldukça benimsenmiştir. 16S rRNA ve ve 5S rRNA dizilişleri ile yapılan filogenetik araştırmalar *Escherichia* spp. ve *Salmonella* spp.' nin memeli hayvanların ilk türeyişi olan 120-160 milyon yıl önce ortak bir atadan ayrıldıkları, *Shigella* spp.' nin erken primatların oluştuğu, 80 milyon yıl kadar önce *E. coli*' den türediği, kommensal *E. coli*' lerin memelilerin bağırsağını tercih ederken,

patojen *E. coli*' lerin bağırsak epitelini aşır dolaşım sistemine ve buradan uygun bulunduğu yerlere lokalize oldukları kabul edilmektedir. Patojenik *E.coli*, *Salmonella* ve *Shigella* suşlarının virülens analizleri bunların en az bir virülens determinantlarının plazmid ya da transpozon olarak ekstrakromozomal elementler üzerinde bulunduğunu göstermiştir (Cobeljic ve ark., 1996).

E. coli O157:H7 serotipinin genetik çalışmalar sırasında elde edildiği ve bir kaza sonucu doğaya salındığı şeklinde görüşler de bulunmaktadır. Griffin ve Tauxe' e göre bu serotip muhtemelen enteropatojenik bir atadan genetik çalışmalar sonucu oldukça yakın bir dönemde ortaya çıkmıştır (Blum ve ark., 1994).

E.coli O157:H7'nin kesin identifikasyonunun yapıldığı 1982 yılından günümüze kadar olan süreçte ABD, Kanada, İngiltere, Almanya, İskoçya, İspanya, Tayland, Kore, Meksika, Arjantin, Çin, Belçika, Avustralya, İsveç, Norveç, Hollanda ve dünyanın pek çok bölgesinde *E.coli* O157:H7'ye bağlı çok sayıda gıda kaynaklı infeksiyonun olduğu bildirilmiştir, 1996 yaz aylarında ise Japonya'da 16 kişinin ölümüne neden olan salgında temel etken olarak *E. coli* O157:H7 gösterilmiştir (Griffin ve Tauxe, 1991; Armstrong ve ark., 1996; Wall ve ark., 1996; Michel ve ark., 1999; Jo ve ark., 2004). 1995 yılı Haziran ayında Kanada'da klorlama ünitesindeki bir arıza nedeniyle kullanma sularına karışmış olan *E. coli* O157:H7 serotipi, salgına ve ölümlere neden olmuştur. Epidemiyolojik veriler, her yıl sadece ABD'nde *E. coli* O157:H7'ye bağlı 20.000'in üzerinde infeksiyon ve 250 ölüm olgusu olduğunu göstermektedir (Finelli ve ark., 1995; Armstrong ve ark., 1996; Kuntz ve Kuntz, 1999).

Yapılan pek çok çalışmada ruminantların, özellikle de sağlıklı sığırların *E.coli* O157:H7 infeksiyonlarına oldukça dirençli olduğu bildirilmiştir (Mainil, 1999; Wray ve ark., 2000; Vold ve ark., 2001). Fakat dışkılarında yoğun ölçüde patojene rastlanması; sığırların bu serotipin kaynağı ve çevreye yayılmasında önemli olduğunu göstermekte ve bu nedenle sığırlar, dünyanın hemen her yerinde *E. coli* O157:H7 infeksiyonları için primer rezervuarlar olarak kabul edilmektedir (Brown ve ark., 1989; Chapman ve ark., 1993b; Whipp ve ark., 1994).

E. coli O157:H7 serotipinin süt ineklerinin dışkılarında, diğer ruminantlara oranla daha fazla bulunduğunu bildiren görüşler de bulunmaktadır (Wells ve ark., 1991; Garber ve ark., 1999). 1266 sağlıklı süt ineği dışkısı ile 23 çiğ süt örneğinde *E.coli* O157:H7 izolasyonuna yönelik yapılan bir çalışmada, 18 dışkı ve 1 çiğ süt örneğinde etken saptanmış ve süt ineklerinin *E.coli* O157:H7 açısından önemli bir kaynak olduğu görüşü desteklenmiştir

(Wells ve ark.,1991). Ancak süt ineklerinin bu bakterinin ana kaynağı olup olmadığı, sütün sağım ya da nakliye sırasında kontamine olup olmadığı kesin olarak bilinmemektedir (Doyle, 1991).

Ruminantlarda saman, kuru ot gibi özel beslenme ile sağlanan gastrointestinal epitel hücre gelişmesinin *E.coli* O157:H7 serotipi üzerinde olumsuz etki yaptđı belirtilmektedir (Magnuson ve ark., 2000). Bunun yanı sıra süt ineklerinde yapılan bir çalışmada beslenmede kullanılan mısır silajının, *E.coli* O157:H7 serotipinin bu hayvanlardaki prevalansının yüksek olmasında etkili olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca mısır silajındaki asidik koşulların aside dirençli olan *E. coli* O157:H7'nin gelişmesini desteklediği belirtilmektedir (Russell ve ark., 2000). Silaj yapımı sırasında yetersiz fermentasyonun, tüm fekal koliformlarda olduğu gibi *E. coli* O157:H7 sayısında da artışa neden olduğu ve dolayısıyla dışkı ile kontamine otların silajında yetersiz fermentasyonun bu patojenin ruminantlar arasında taşınmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (Nou ve ark., 2004).

Doğrudan veya dolaylı olarak sığır dışkısı ile kontamine olmuş her türlü gıda maddesi, *E. coli* O157:H7 infeksiyonu açısından potansiyel bir tehlike taşımaktadır (Besser ve ark., 1993; Meyer-Broseta ve ark., 2001). Dünyanın bir çok bölgesinde görülmüş infeksiyonların büyük çoğunluğu, başta yetersiz pişirilmif etler ve pastörize edilmemiş çiğ sütler olmak üzere sığır kaynaklı gıdalar ile oluşmuştur (Riley ve ark., 1983; Dean-Nystrom ve ark., 1999; Park ve ark., 1999).

İçme suyuna (Swerdlow ve ark., 1992) ve yüzme sularına (Brewster ve ark., 1994; Keene ve ark., 1994) bağlı su orijinli *E. coli* O157:H7 salgınları bildirilmiş bulunmaktadır. Afrika' da da su orijinli *E. coli* O157:H7' nin neden olduğu geniş bir hemorajik kolit epidemisi bildirilmiştir (Isaacson ve ark., 1993). Her ne kadar genellikle gelişmiş ülkelerin bir problemi olduğu düşünülüyorsa da, STEC yakın geçmişte gelişmekte olan ülkelerde de izole edilmiş bulunmaktadır (Dutta ve ark. 2000; Khan ve ark. 2002a, 2002b). Bu izolatlar hem sığırdan hem de ishallerden elde edilmektedir ve her ikisi de su orijinli *E. coli* O157:H7 kaynağıdır. O157 olmayan verotoksin-üreten türler de suyla bulaşmaktadır (Chalmers ve ark., 2000) ve üzerinde daha fazla durulması gerekmektedir (Goldwater ve Bettelheim, 1998). Yakın geçmişte, *E. coli* O157:H7' yi de kapsayan STEC' lerin sudaki varlığını saptamak için, bu organizmanın sudaki prevalansını araştırmada son derecede faydalı etkin yöntemler olduğu bildirilmiştir (DeBoer ve Heuvelink, 2000).

İnsanlarda infeksiyon nedeni olarak ilk sırayı, kesim sırasında sığır dışkısıyla kontamine olmuş etlerin yeterince pişirilmeden tüketilmesi almaktadır (Armstrong ve ark., 1996; Russell ve ark., 2000). Diğer bulaşma kaynakları ise; infekte hayvanlar veya bunların dışkıları ile direkt temas (Griffin ve Tauxe, 1991), dışkıyla kontamine sebze, içme ve kullanma suları (Swerdlow ve ark., 1992), pastörize edilmemiş çiğ süt (Chapman ve ark., 1993a), yoğurt (Morgan ve ark., 1993) ve meyve suları (Cody ve ark., 1999), kanatlı eti, kuzu eti, domuz eti ve deniz ürünleri (Samadpour ve ark., 1994) olarak bilinmektedir. İnsanlar arasındaki bulaşmada ise; infekte insanlarla direkt temasın ve halka açık yüzme havuzları ile anaokulları, bakımevleri gibi kişisel hijyenin yetersiz olduğu yerlerin etkili olduğu bildirilmektedir (Dorn, 1995; Pell, 1997; Mead ve Griffin, 1998).

Primer rezervuar kabul edilen sığır popülasyonlarında yapılan çalışmalarda *E. coli* O157:H7 prevalansının ABD’nde %2 ile %45 arasında (Wells ve ark., 1991), İngiltere’de %4 ile %15,7 arasında (Chapman ve ark., 1993b) değiştiği, çeşitli Avrupa ülkelerinde ise oranın %1-%13 (Blanco ve ark., 2001) arasında olduğu bildirilmektedir.

Yılmaz ve ark. (2002), Türkiye’deki sığırlarda *E. coli* O157:H7’ye rastlanma sıklığını araştırdıkları bir çalışmada, klinik olarak sağlıklı görülen 330 sığırdan 13’ünde (%3,9) pozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir. 231 erkek ve 99 dişi hayvanın incelendiği bu çalışmada 11 erkek ve 2 dişi hayvanda izolasyonun gerçekleştirildiği ve izolasyonun, genellikle, iki yaşlı hayvanlardan yapıldığı bildirilmiştir. Çabalar ve ark. (2001), Van’daki sağlıklı süt ineklerinde yaptıkları bir çalışmada 312 dışkı örneğinden izole edilen 235 *E. coli* suşundan 4’ünde *E. coli* O157:H7 saptadıklarını belirtmişlerdir. Sığır ve koyun dışkılarında *E. coli* O157:H7 prevalansının belirlenmesine yönelik bir başka çalışmada ise 406 sığıra ait rektum mukozasından alınan svap örneğinde, izole edilen 10 izolatin 7’sinin (%1,7) *E. coli* O157:H7, 3’ünün (%0,7) ise *E. coli* O157:H olduğu, ayrıca erkek ve 3 yaşın altındaki hayvanlardan izolasyonun daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Aksoy ve ark., 2004). Akkuş (1996), kontaminasyon kaynağını göstermek amacıyla çalışmasına dahil ettiği 20 genç ve 60 erişkin sığır dışkı örneğinden 4’ünde (%5) *E. coli* O157:H7 saptadığını, bunlardan 1’inin genç sığır, 3’ünün de erişkin sığır dışkı örneklerine ait olduğunu bildirmiştir.

E. coli O157:H7 ile süt inekleri ve çiğ ya da pastörize süt tüketimine bağlı salgınlar arasındaki ilişki, süt endüstrisi için önem taşımaktadır. *E. coli* O157:H7’nin insanlara bulaşmasında, çiğ sütün bir aracı olabileceği ilk kez 1986 yılında belirlenmiştir. Bulaşmanın

Wisconsin'deki süt çiftliklerinden çiğ süt tüketimi sonucu olduğu ve çiğ süt tüketen çocuklarda HC ve HUS'un geliştiği bildirilmiştir (Massa ve ark., 1999). Çiğ sütlerden *E. coli* O157:H7 izolasyonuna yönelik yapılan çeşitli çalışmalarda, çiğ sütlerde prevalansın oldukça düşük olduğu ve % 0 ile % 10 arasında değiştiği belirtilmektedir (Padhye ve Doyle, 1991).

Coia ve ark. (2001), inceledikleri 500 çiğ süt rneğinde *E. coli* O157 varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Massa ve ark.'nın (1999) çeşitli çiftliklerdeki süt tanklarından topladıkları 100 çiğ süt örneğinde yaptıkları bir çalışmada *E. coli* O157:H7 izolasyonunun gerçekleştirilemediği bildirilmiştir. Benzer şekilde, 1011 çiğ süt örneğinin incelendiği bir çalışmada, immunomanyetik separasyon yöntemi kullanıldığı halde, örneklerin hiç birinden VTEC O157 izolasyonu yapılamadığı belirtilmiştir (Heuvelink ve ark., 1998). 23 çiğ süt rneğinde *E. coli* O157:H7 izolasyonuna yönelik yapılan bir başka çalışmada ise, 1 çiğ süt örneğinde etkenin saptandığı bildirilmiştir (Wells ve ark., 1991). İnek ve keçilere ait toplam 144 çiğ süt örneğinin incelendiği bir çalışmada, izole edilen 12 *E. coli* suşunun 1'nin *E. coli* O157:H7 olduğu bildirilmiştir (Picozzi ve ark., 2005). Abdul-Raouf ve ark.'nın (1996) pastörize edilmemiş 50 inek sütünde *E. coli* O157:H7 izolasyonuna yönelik yaptıkları çalışmada, sütlerin 3'ünde izolasyonun gerçekleştirildiği belirtilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada ön zenginleştirme yapılmadan direkt ekim sonrasında izolasyon yapılamazken, modifiye tryptone soy broth'da (mTSB) yapılan ön zenginleştirme sonucu izolasyon yapılabildiği de bildirilmiştir.

Türkiye'de ksz ve ark.'nın (2004) çiğ süt ve çiğ sütten yapılmış peynirlerde *E. coli* O157 insidensine yönelik yaptıkları bir çalışmada 100 çiğ süt örneğinden sadece 1'inde *E. coli* O157 tespit edildiği bildirilmiştir. Çiğ süt ve peynir örneklerinde enterohemorajik *E.coli*' ye rastlanma sıklığının araştırıldığı bir başka çalışmada, incelenen 20 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7'nin saptanamadığı belirtilmiştir (Gönül, 1997).

E. coli O157:H7 serotipi sığırlar dışında sağlıklı koyun, keçi (Wales ve ark., 2005), manda (Galiero ve ark., 2005), domuz, kedi, köpek ve kanatlı hayvanlar gibi evcil hayvanlar (Beutin, 1999b) ile bizonlar, rengineyikleri, ayılar, yavru foklar ve penguenler gibi doğal hayata uyum sağlamış diğer hayvanlardan da izole edilebilmiş ve bu hayvanlar ile yakın temasta bulunan evcil hayvanlara bulaşmanın olabileceği belirtilmiştir (Kudva ve ark., 1996; Mainil, 1999; Wasteson ve ark., 1999; Li ve ark., 2004). Etkenin ruminantlar dışındaki çeşitli

hayvanlardan ya da hayvansal ürünlerden de izole edilmesi, infeksiyonlar için bu hayvanların da rezervuar olabileceğini göstermektedir (Doyle, 1991).

E. coli O157:H7 serotipinin mandalarda bulunma sıklığının araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Sri Lanka'da diyareli manda yavrularında VTEC'lerin varlığını gösteren ilk araştırmacılar olan Mohammad ve ark. (1985), izole ettikleri VTEC'ler arasında *E. coli* O157 serotipinin bulunmadığını bildirmişlerdir. İtalya'da yetiştirilen ve yaşları 6 aylıktan 18 aylığa kadar olan 289 mandaya ait rektal dışkı örneğinin incelendiği bir çalışmada, 42 (%14,5) VT oluşturan *E. coli* O157 serotipi izole edildiği ve mandaların da diğer ruminantlar gibi VTEC'ler için rezervuar olabilecekleri bildirilmiştir (Galiero ve ark., 2005).

Türkiye'de manda ve manda karkaslarında *E. coli* O157:H7 varlığının araştırılmasına dayanan bir çalışmada, 28 mandanın rektum ve karkaslarından alınan svaplarda, sorbitol negatif izolatlardan hiçbirisinin *E. coli* O157 ve H7 antiserumları ile aglutinasyon vermediği bildirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2004).

E. coli O157:H7 serotipi köpek, kuş, koyun, geyik ve insanda görülmekle beraber, sığır temel kaynak olarak ele alınmaktadır. Bunun nedeni, insanlarda bu serotipin neden olduğu kanıtlanmış pek çok vakada yeterince pişirilmemiş sığır etlerinin ve daha az sıklıkta olmak üzere çiğ sütlerin hastalıktan sorumlu olduğunun kanıtlanmasıdır. Bununla beraber, hayvan dışkısı ile bulaşmış toprak ve suyun dolaylı olarak hastalığın taşınmasında ve yayılmasında önemli bir rol oynadığı da bilinmektedir (Beutin ve ark., 1993; Bosworth ve ark., 1996).

Bu bakteri süt ineklerinin dışkılarında diğer sığırlara göre daha fazla bulunmaktadır (Doyle ve Schoeni, 1987; Cebula ve ark., 1995). Süt sığırlarının dışkısına 10^3 ve 10^5 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7'nin inokule edilip, dışkının 5; 22 ve 37 °C 'lerde depolandığı bir çalışmada *E. coli* O157:H7'nin 5 °C' de 70 gün canlılığını koruduğu (Donnenberg ve ark., 1993), sığır dışkısında 50 günden daha fazla süre içinde halen belirlenebilecek düzeyde kaldığı, buna karşın 10^6 /ml düzeyinde inokülasyonlar sonucunda sayının sığır idrarında 10 günde, nehir suyunda 7 günde belirlenemeyecek sayıya düştüğü (CDC, 1993), sığır dışkısında 5, 15 ve 25 °C' lerdeki depolanmasında sırasıyla 14, 18 ve 12 hafta canlılığını sürdürdüğü (Black ve ark., 1982) gösterilmiş ve bu bulgulara göre sığır dışkısının bu patojenin yayılmasında önemli bir taşıyıcı olarak dışkının sığırlara, gıdalara ve çevreye *E. coli* O157:H7'nin yayılmasında

potansiyel bir taşıyıcı olduğu, dolayısıyla ahırlarda dışkının iyi bir şekilde kontrol edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Süt hayvanlarının beslenmesinde kullanılan pamuk tohumu ve mısır silajı gibi yemlerin az sayıda da olsa *E. coli* O157:H7 serotipi içerdiğinin belirlenmesi süt ineklerinin dışkılarında bu bakteriye daha fazla rastlandığı hakkındaki görüşü pekiştirmekle beraber, modern çiftliklerde beslenen süt ineklerinin dışkılarında bu serotipe çok daha az rastlanmaktadır (Beutin ve ark., 1993). Buna bağlı olarak, önceleri bu bakterinin ana kaynağının süt inekleri olduğu ve insanlara asıl geçişin süt ürünleri ile olduğu düşünülmüş ise de süt ve peynirlere ilişkin olarak yapılan tarama çalışmalarından bu varsayımı doğru kılacak bulgular elde edilmemiştir (Doyle ve Schoeni. 1987; Albert ve ark., 1991).

Deneysel olarak *E. coli* O157:H7 verilen civcivlerin inokülasyondan 8 ay sonrasına kadar dışkıları ile bu bakteriyi atıklarının belirlenmesi üzerine önce *E. coli* O157:H7 'nin ana kaynağının kanatlılar olduğu düşünülmüş ancak 50 çiftlikte 500 hayvanın dışkısında bu bakteriye rastlanmaması üzerine kanatlıların bu açıdan potansiyel kaynak olmadığını göstermiştir (Beutin ve ark., 1993).

Salgınlarda en önemli taşıyıcının insandan insana olduğu, özellikle ana okulu ve düşkünler evi gibi kişisel hijyenin yeterli olmadığı yerlerde salgının hızla yayıldığı bilinmektedir (Beutin ve ark., 1993; Bosworth ve ark., 1996).

2.4.5. *E. coli* O157:H7 İnfeksiyonu Bakımından Riskli Gıdalar

Başta sığır dışkısı olmak üzere doğrudan ve/veya dolaylı olarak hayvanların dışkısının bulaştığı her türlü gıda maddesi *E. coli* O157:H7 infeksiyonu bakımından potansiyel tehlike taşımaktadır. Nitekim pek çok gıda maddesinde ve ayrıca içme ve kullanma suları ile yüzülen göllerde *E. coli* O157:H7 varlığı gösterilmiş iken, başka gıdalarda da bu tehlikenin boyutları deneysel olarak kanıtlanmıştır.

Dünya çapındaki infeksiyonların çok büyük bir bölümü başta yetersiz ısı işlemi uygulanmış et ve pastörize edilmemiş süt olmak üzere sığır kaynaklı gıdalar ile olmuştur. Diğer hayvanlar ve özellikle ruminantlar da *E. coli* O157:H7 kaynağı ya da vektörüdür (Barrett ve ark., 1991).

Başta sığır olmak üzere domuz, koyun, piliç etleri ve yine başta hamburger ve köfte olmak üzere kıyma ile hazırlanan et ürünlerinden sıklıkla izole edilmektedir. Farklı hayvanların dışkılarının eti farklı düzeylerde kontamine edebileceği gösterilmiştir. İngiltere 'de yapılan bir seri çalışmada sığır dışkılarında %15,7; koyun dışkılarında %2,2 düzeyinde pozitif sonuç bulunmuş iken, sığır eti ürünlerinde %1,5 buna karşın kuzu eti ürünlerinde %5,9 pozitif sonuç alınmış olması oldukça ilginç bulunmuştur. Et ürünleri dışında da bulunan ve salgınlara yol açan bu patojen en yaygın olarak çeşitli peynirler, çiğ süt ve genel olarak patojenler açısından güvenilir bir gıda olarak tanımlanmasına karşın yoğurt gibi süt ürünleri ; çeşitli su kaynakları, salatalar ve salata sosları, evde yapılan sandviç, turp filizi, pastörize edilmemiş elma şarabı ve taze sıkılmış elma suyu çeşitli infeksiyonlara neden olmuştur (Doyle ve Schoeni, 1987; Benz ve Schmidt 1992; Beutin ve ark.,1993; Bokete ve ark., 1997).

Suyun potansiyel kontaminasyonuna karşı su kaynaklı infeksiyonun diğerlerine göre daha az olduğu ve bunun nedeni olarak *E. coli* O157:H7 serotipinin suyun işlenmesi sırasında kolaylıkla öldürülebilmesi belirtilirken, Afrika ülkelerinde yüzey suyunun içilmesine bağlı olarak binlerce hastalanmanın görüldüğü salgınlar da göz ardı edilememektedir (Balows ve ark., 1991; Barrett ve ark., 1991; Barrett ve ark., 1994; Banatvala ve ark., 1996; Agin ve Wolf. 1997; Barrett ve ark.,1997; Bender ve ark., 1997; Beser ve ark., 1997).

Bu bakterinin iceberg salatalarında canlı kalması ve yapraklara penetrasyonu ve klorun etkisi üzerinde de araştırma yapılmış, hücrelerin kesik dokuların 73,5 µm altına penetre olduğu, 200 ppm klorun 5 dakika içinde 0.7 – 1.0 log birimi indirgeme sağlamakla beraber doku içine nüfuz etmiş *E. coli* O157:H7 hücrelerinin klor etkisinden daha fazla korunduğu bulunmuştur (Takeuchi ve Frank, 2000). Böylece çiğ yenilen salata türü sebzelerin ne denli tehlikeli olabileceği ortaya konulmuştur.

Taze sıkılmış elma suyu ABD 'de ve Batı Avrupa ülkelerinde oldukça yaygın bir tüketim alanına sahiptir. Ağaçtan yere dökülmüş ve dışkı ile bulaşmış elmaların yeterince yıkanmadan ayaküstü büfelerde sıklıkla tüketime sunulması sonunda kayıtlara geçen pek çok infeksiyon görülmüştür. Yine ABD 'de pastörize edilmemiş elma suyundan yapılan elma şarabı (cider) pek çok infeksiyona neden olmuştur. Elma şarabına işlenecek elmaya diğer meyve şaraplarında olduğu gibi ısı işlem uygulanmaması ve elma şarabında alkolün %4-5 düzeyinde olması infeksiyon riskini artırmaktadır (Beutin ve ark.,1993; Cobeljic ve ark., 1996).

Her ne kadar *E. coli* O157:H7 salgınlarında çoğu kez yeterince pişirilmemiş sığır kıyması ve buna bağlı olarak hamburger gösteriliyor ise de oldukça seyrek olan vakalarda risk faktörü hakkında yeterli bilgi yoktur. İlginç olarak ayaküstü (fast food) restoranlarda çalışanların daha büyük bir risk taşımadıkları ve et ürünlerinin tüketimine bağlı olarak riskin artmadığı gösterilmiştir (Beutin ve ark., 1993). Buna tümüyle karşı bir görüş ise bu serotipin hayvan varlığı ve/veya et tüketimi yüksek olan gelişmiş ülkelerde daha yaygın görüldüğü, genel hijyenik kurallara daha az uyulan gelişmemiş ülkelerde görülmemesi nedeniyle ise aynı şekilde hayvan varlığı ve et tüketimindeki yetersizlik olduğu şeklindedir (Cobeljic ve ark., 1996).

İnfekte hastaların dışkıında *E. coli* O157:H7' nin dışkı ile atılma oranı ile yapılan araştırmada, Seattle'da HUS'lu hastaların %66'sında diyarenin başlangıcından 7 gün sonra negatif olduğu saptanmıştır (Tarr ve ark., 1990). Minnesota'da çocuk bölümünde O157:H7 infeksiyonlu çocuklarda yapılan araştırmada, 2-62 gün boyunca dışkılarında etkeni taşıdıkları ve ortalama sürenin ise 17 gün olduğu bildirilmiştir (Belongia ve ark., 1993).

2.4.6. *E. coli* O157:H7' nin Yaptığı Hastalıklar

Diyarejenik *E. coli*' lerin (DEC) neden olduğu gıda kaynaklı hastalıkların klinik, halk sağlığı ve ekonomik önemi vardır. Sadece *E. coli* O157:H7 serotipinin neden olduğu hastalıkların tedavi giderleri ve işgücü kaybı bedelinin yılda 229-610 milyon US\$ olduğu tahmin edilmektedir (Chao ve Dreyfus, 1997). ABD Hastalık Önleme ve Koruma Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention) tahminlerine göre sadece ABD 'de gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar toplamı olarak yılda 76 milyon olgu olmakta, bunlardan 300.000 'i tedavi görürken 5000 ölüm olmakta, *E. coli* O157:H7 ise 20.000 olgu ve 250 ölümden sorumlu tutulmaktadır (Beutin ve ark., 1993). ABD' de hastalığın sıklığı her 100.000 kişide 2,1 kişi iken, bu değer Kanada' da 1991-1996 yılları arasında 3 - 5,3 kişi olarak değişmiştir.

Avrupa' da görülen infeksiyonların seyri ABD' den farklılık göstermektedir. Avrupa' da HUS vakalarının %10-30 kadarını O157 olmayan STEC suşları oluşturulmaktadır. İngiltere' de laboratuvar tarafından doğrulanmış vaka sayısı 1982' de sadece 1 iken bu sayı 1995 yılında 1000' i geçmiştir. Kıta Avrupa' sı ile İngiltere' deki infeksiyonlarda farklılık göstermektedir. Özellikle Almanya' da sorbitol pozitif hareketsiz O157 serotipine sıklıkla rastlanmaktadır. Bulaşma kaynaklarında da ABD ile Avrupa ülkeleri arasında farklılık görülmektedir. ABD ve İngiltere'de *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarının asıl kaynağı

hamburger ve diğer et ürünleri iken Kıta Avrupa' sında keçi sütü, çeşitli peynirler, gölde yüzmek ve kişiden kişiye bulaşmalar daha önemli olarak görülmektedir. Avustralya' da ise O157 olmayan ve özellikle O111:H serotipi sıklıkla ciddi hastalıklara neden olmaktadır (Cobeljic ve ark., 1996).

ABD' de Philadelphia eyaletinde 1971 yılında 5 erişkin hastada izlenen klinik seyir bilinen barsak hastalıkları ile açıklanamamış ve hiç bir etiyolojik etken saptanamayan benzer hastalıkların ABD' nin diğer eyaletleri ile Avrupa ve Japonya' da ihbar edilmesi üzerine ABD Hastalık Denetim ve Önleme Merkezi 1973-1982 arasında geriye dönük olarak 300 *E. coli* suşunu serotiplendirmiş ve kanamalı ağır diyare geçiren California' lı 50 yaşında bir kadından 1975 yılında izole edilen suş *E. coli* O157:H7 olarak saptanmıştır (Chart ve ark., 1991; Acheson ve ark., 1996).

Bireysel vakalar dışında *E. coli* O157:H7 ilk olarak 1982 yılında ABD' de Oregon' da 26 ve Michigan' da 21 olmak üzere 47 olgu ile ve her ikisi de yine daha öncekilere benzemeyen kanlı diyare şeklinde 2 salgın ile görülmüştür. Her iki salgında da köfteli sandviçlerin yenilmesinin hastalığa neden olduğu belirlenirken salgınların birinde aynı partiye ait donmuş köftelerde *E. coli* O157:H7' ye rastlanmıştır. Aynı yıl Kanada Ottawa' da evde yapılan sandviçlerin de salgına neden olduğu bildirilmiştir (Agin ve Wolf, 1997). Bundan hemen sonra benzer vakalar ABD, Kanada ve İngiltere' de görülmüş, daha sonra Meksika, Çin, Arjantin, Belçika gibi ülkelerde de aynı hastalığa rastlanmıştır, 1996 yaz aylarında ise Japonya' da 16 kişinin ölümüne neden olan salgının etmeni *E. coli* O157:H7 olarak gösterilmiştir (Beutin ve ark., 1993).

E. coli O157:H7 infeksiyonları gençlerde daha etkilidir. Japonya' da yapılan araştırmalarda gençlerin ve çocukların *E. coli* O157:H7 serotipinin yapmış oldukları hastalıklara duyarlılığı açık bir şekilde gösterilmiştir. Dışkılarında bu bakteriye rastlanan 20 yaş altındaki kişilerin %80' den fazlası tipik semptomları gösterirken, yine dışkılarında *E. coli* O157:H7 serotipi bulunan 30-46 yaş arasındaki kişilerin %70' i tipik semptomları göstermemiştir (Donnenberg ve ark., 1993).

E. coli O157:H7 'nin neden olduğu hastalıkların yoğunluğunun 100.000' de 10' dan daha az olduğu kabul edilmektedir. Buna karşı hastalar hastalığın ortaya çıkmasından itibaren 10 gün süre ile *E. coli* O157:H7 yayarlar, ortalama %5 kadarı HUS' a yakalanırken, %50 'den daha

azında dışkıda kan görülür (Tserenpuntsag ve ark., 2005). Bununla birlikte, başka kaynaklar *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarında dışkıda kan görülme olasılığını %90 olarak vermektedir (Beutin ve ark., 1993).

E. coli O157:H7 antibiyotiklere dirençlidir ve/veya giderek direnç kazanmaktadır. Bu nedenle hastalıkta antibiyotik ve antikoagulant kullanılması tartışılmaktadır. İskoçya’ da yapılan çalışmalar mide asitliğini düşürücü ilaç ve tesadüfen antibiyotik kullanan hastaların HUS / TPP’ ye yakalanma risklerinin arttığını ortaya koymuştur (Beutin ve ark., 1993). Japonya ‘da 1996 yılında görülen ve çoğu okul çocuğu olan 6000 kişinin etkilendiği salgında ise özellikle infeksiyonun 7. gününde alınan antidiyarejenik ilaçların infeksiyonu daha da şiddetlendirdiği belirlenmiştir (Cobeljic ve ark., 1996).

Japonya’ da 1996 yılı ile başlayan salgınlarda ve sporadik vakalarda moleküler analizler hastalıktan tek bir suşun değil, tüm Japonya’ ya yayılmış farklı genotiplerdeki suşların sorumlu olduğunu göstermiştir. Yapılan analizler hastalardan izole edilen EHEC suşlarının %80 'den fazlasının O157:H7 serotipi olduğunu, bununla birlikte O26 ve O111 serotiplerinin sayısında giderek bir artış olduğunu göstermiştir (Donta ve ark.,1974). Benzer şekilde *E. coli* O157:H7 olmayan VTEC suşlarının giderek HUS ve diyareli hastalardan daha fazla izole edildiği, çeşitli ülkelerde sığır popülasyonu üzerinde yapılan çalışmalarda temel kaynak konumunda olan sığırlardan 100’ den daha fazla serotip izole edildiği belirtilmektedir (Brown ve ark., 1989).

Patojenik grupların gıdalarda bulunma sıklığı üzerinde yapılan araştırmalar farklı sonuçları göstermektedir. Eylül 1983’ de ABD Washington D.C.’ de 45 kişinin Fransa’ dan ithal edilen brie peynirinden kaynaklanan benzer semptomlar taşıyan sulu diyare (%91) ve karın krampları (%80) göstermesi üzerine yapılan çalışmalarda hastalık etkeninin ısıya dayanıklı enterotoksin üreten *E. coli* O27:H20 olduğu saptanmıştır. Benzer hastalıklar kısa bir süre sonra ve yine peynirden kaynaklanmak üzere ABD’ nin 4 eyaletinde daha görülmüştür. Brezilya’ da sığır eti, hamburger ve sosislerden yapılan analizlerde sırasıyla %5; %7,5 ve %10 ETEC suşlarına rastlanmıştır. Buna karşın ABD’ de 78 peynir örneğinde ETEC suşları bulunamamıştır. Domuz etinden 274, sığır etinden 248 ve tavuk etinden 278 *E. coli* suşu izole edilmiş ancak bunların hiç birinin ısıya duyarlı toksin ya da bunları oluşturan genleri içermediği görülmüştür. EIEC ve EPEC suşlarına nadir olarak gıdalarda rastlanılmıştır. EHEC suşlarına ise sığır kıymasında rastlanılmaktadır. Bir başka çalışmada ise toplam 18 örnekten izole edilen 159 *E. coli* suşununun 84 adedinin farklı suş olduğu gösterilmiştir (Chart ve ark., 1991).

İnsanlarda ise *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarında; oldukça tipik ve sert geçen HC, HUS ve TTP olmak üzere üç temel klinik bulgu görülmektedir (Coia, 1998; Park ve ark., 1999).

Hemorajik Kolitis

1982' de Oregon ve Michigan' da çeşitli kanlı ishal sendromları olan iki olay spesifik restoran zincirlerindeki hamburger tüketimi sonucunda gözlenmiştir. Hemorajik Kolitis' in sendromları çeşitli abdominal kramplar, kanlı dışkı ve çok az ateştir. Olguların yarısında dışkıdan *E.coli* O157:H7 izole edilmiş ve bu vakaların hiç birinde sağlık kontrolünün olmadığı görülmüştür. Sonradan bu serotipin Stx ürettiği gösterilmiştir. Stx çok çeşitli çalışmalar sonucu HC önemli bir sebebi olarak gösterilmiştir (Nataro ve Kapper, 1998).

HC; her yaştaki insanlarda ani olarak ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ve bunu izleyen 24-48 saat içerisinde gelişen sulu diyare ile karakterizedir. Diyarenin şiddeti arttıkça dışkıdaki kan miktarı artar ve dışkı zamanla tümüyle kanlı hale gelir. Hastalarda kusma şekillenebilir, fakat ateş ya çok belirsizdir ya da hiç yoktur. İnkübasyon periyodu genel olarak 3-9 gün arasında değişir. İnfeksiyonun süresi ise 2-9 gün arasında olup ortalama 4 gündür. HC, şigelloziste ve EIEC'lerin neden olduğu gastroenteritlerde tanımlanan belirtilerden ateş görülmemesi ve dışkıda fazla miktarda kan bulunması ile ayrılmaktadır (Padhye ve Doyle, 1992; Park ve ark., 1999).

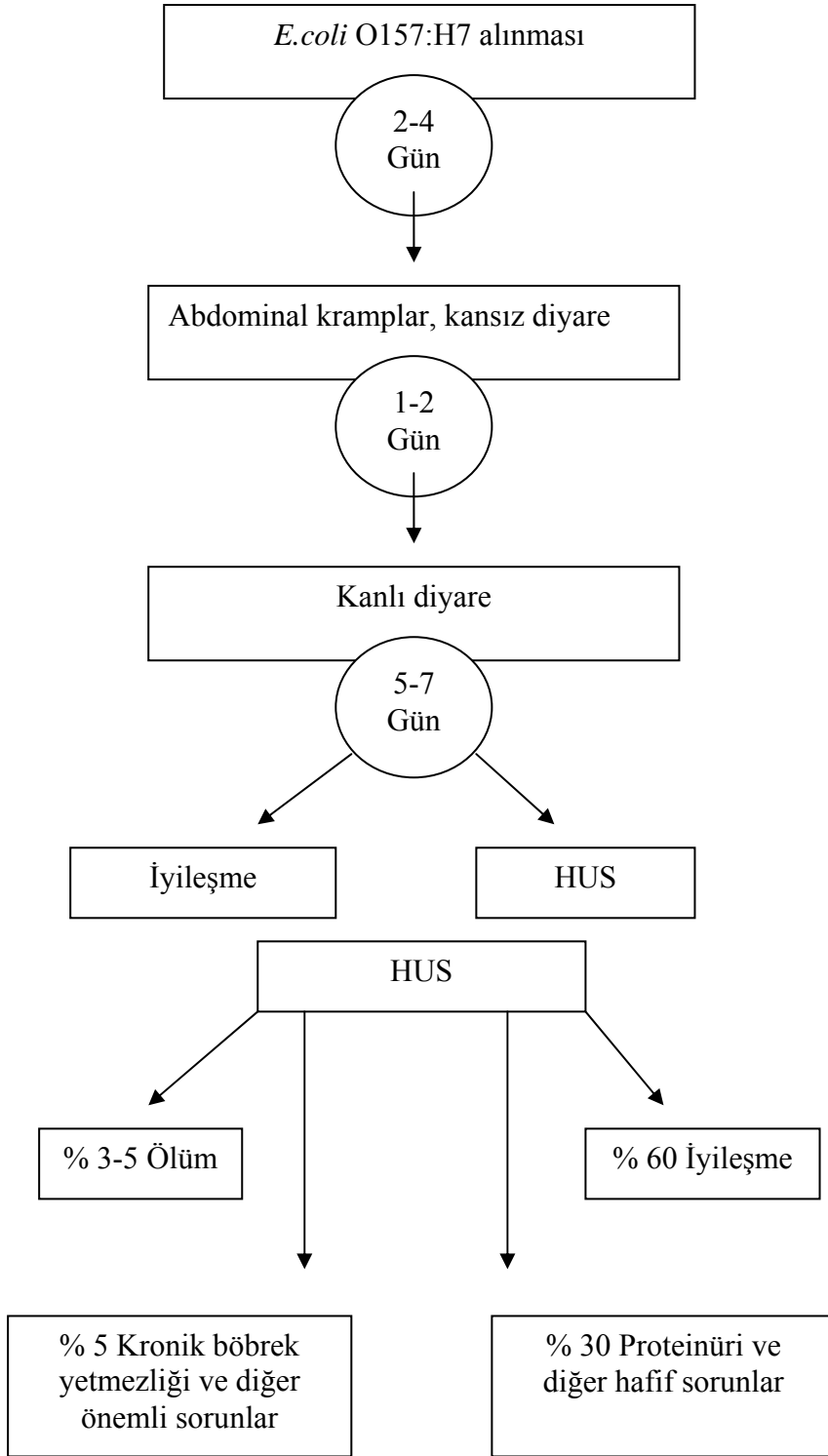
Hemolitik Üremik Sendrom

İlk olarak 1955' de tanımlanmıştır. HUS; özellikle küçük yaştaki çocuklarda ve gençlerde akut renal yetmezlik, mikroanjiyopatik hemolitik anemi ve trombositopeni ile karakterize edilen üçlü bir sendrom olarak ortaya çıkar (Coia, 1998). Ayrıca hastalarda ölümle sonuçlanabilen kalp yetmezliği, koma, hipertansif ensefalopati gibi kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi bozuklukları gelişebilir. *E. coli* O157:H7'nin şigatoksinlerinin endotel hücrelerine zarar vererek böbrek ve diğer organlardaki kapillarlarda mikrotrombuslara yol açtığı ve bu şekilde HUS'un patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir (Şekil 2.4.6.1) (Padhye ve Doyle, 1992; Park ve ark., 1999).

Sıklıkla yaz aylarındaki sporadik olgular ve küçük epidemiler halinde görülür. Epidemilerin çıktığı bölgelerdeki hastalarda bu komplikasyonların gelişme oranı etkilenen popülasyona göre değişiklik gösterir. Yayılım hızı toplum arasında çok düşüktür. Genellikle çocuklarda ve yaşlı insanlarda yüksektir (Arslantürk, 1996).

Yaşlılarda HUS; ateş ve TTP olmak üzere iki ilave semptom ile görülür. Bu durumda yaşlılarda ölüm oranı ortalama %50' ye çıkmaktadır (Halkman ve ark., 2001). Klinik olarak HUS gösteren hastalarda, ciddi bir hastalık seyri veya bazen sarılık ve sıklıkla yüksek tansiyon oluşmaktadır. Hastaların sıklıkla diyaliz ve kan nakline gereksinim duydukları ve kalp yetmezliği, koma, kalp krizi gibi kardiovasküler ve merkezi sinir sistemi hastalıklarının gelişebildiği bildirilmektedir (Özbas ve Aytacı, 1995).

HUS insandan insana bulaşan ve küçük epidemiler oluşturan mevsimsel dağılım gösteren bir sendrom olup, toksinlerle oluşmaktadır. İngiltere' de ve Amerika' da birkaç çalışmada ve Kanada' da yapılan bir çalışmada klasik HUS' lu hastaların %90' ında verotoksin üreten *E.coli* saptanmıştır. Bu sendrom yüksek oranda verotoksin üreten iki patojenle (*E. coli* ve *S. dysenteriae*) ilişkilidir. HUS' lu hastaların dışkılarından verotoksin saptanabilmektedir. Yine bu hastalarda toksini nötralize eden antikorlar vardır (Arslantürk, 1996).



Şekil 2.4.6.1. *E. coli* O157:H7' nin seyri (Erol, 2007).

Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)

TTP, birçok yönüyle HUS' a benzer. Ancak burada merkezi sinir sistemi bozuklukları daha temel bir özelliktir. Mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni, ateş ve azotemi gibi klinik bulgularla karakterizedir ve genellikle yetişkinlerde gözlenir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşur ve beyin kanaması sonucu çoğunlukla ölüm görülür (Padhye ve Doyle, 1992; Park ve ark.,1999). Çoğu zaman ateşle birliktelik gösterir ve hastalığın öncesinde HUS' un bir belirtisi olan diyare gibi bulgular görülmez. Yapılan çalışmalarda hastaların %14' ünde karın ağrısı olduğu saptanmıştır (Arslantürk, 1996). Bununla beraber *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarında TTP 'nin nadir olduğu da bildirilmektedir (Beutin ve ark., 1993; Chapman ve Siddons, 1996)

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

E.coli O157:H7 infeksiyonlarının çoğu sulu diyareyle başlayıp daha sonra kanlı diyare ile seyreder. Sporadik vakaların büyük kısmında *E.coli* O157:H7 infeksiyonlu hastaların %95' den fazlası kanlı diyarelidir. Benzer çalışmalarda, epidemiler sırasında enfekte kişilerin %17-30' unda ve sporadik vakaların %4- 5' inde kan görülmez. Bu infeksiyonlarda kanlı diyarenin daha yüksek oranda bulunmasının nedeni; kanlı diyarenin tıbbi olarak daha çok önem arz etmesi ve doktorların bu gibi vakaları daha çok dikkate alıp kültür isteminde bulunmalarından kaynaklanmaktadır.

Kansız diyareli kişilerde, kanlı diyareli kişilere oranla daha az sıklıkta HUS ve TTP gibi komplikasyonlar görülür. Kansız diyare, *E.coli* O157:H7 dışındaki diğer EHEC serotiplerinde daha fazla gözlenir. Bununla birlikte kansız diyare *E.coli* O157:H7' nin neden olduğu hastalıkların hem sporadik hem epidemik olanlarında görülmektedir (Arslantürk, 1996).

***E.coli* O157'nin Asemptomatik İnfeksiyonları**

E.coli O157:H7 genellikle semptomu olmayan kişilerden izole edilmez. Bununla beraber, epidemiler sırasında bazen semptomsuz kişilere rastlanılmaktadır. Bir araştırmada üç anaokulunda iyi pişirilmemiş sütlerin içilmesi sonucu oluşan *E.coli* O157:H7 epidemisi sırasında semptomsuz çocukların dışkılarında *E.coli* O157:H7 izole edilmiş ve benzer şekilde

bakım evlerindeki epidemilerde de semptomsuz kişilerde *E.coli* O157:H7 serotipi saptanmıştır. Diğer bakım evlerindeki epidemilerde enfekte hamburger yiyen asemptomatik kişilerin dışkılarından *E.coli* O157:H7 izole edilmiştir. Asemptomatik infeksiyonların sık tekrarlanması çok az bir olasılıktır (Arslantürk, 1996).

SLT- 1 ve SLT- 2' ye karşı oluşan antikorların sağlıklı kontrol grubunda %14-20 oranında mevcut olması, EHEC' in tüm dünyada yayılmış olmasının serolojik göstergesidir. Asemptomatik infeksiyonlar EHEC' e karşı önceden oluşan bağışıklıktan salgınlar EHEC'in geçici olarak intestinal mukozaya kolonize olmasıyla ortaya çıkar (Arslantürk, 1996).

Bu temel klinik bulgular dışında *E. coli* O157:H7 ile enfekte insanlarda gözlenen diğer komplikasyonlar ise hemorajik sistitis, konvülziyonlar, sepsis ve anemi şeklindedir (Padhye ve Doyle, 1992).

2.4.7. *E. coli* O157:H7 'nin Kontrolü

Asitlik ve tuza olan direncin tersine olarak *E. coli* O157:H7 serotipi yüksek sıcaklığa *Salmonella* 'dan daha fazla duyarlıdır ancak, donma sıcaklıklarına kayda değer ölçüde dirençlidir ve -20 °C 'de 9 ay süre ile sayıda çok az bir azalma ile canlılığını koruyabilmektedir (Doyle ve Schoeni, 1984; Park ve ark., 1999; Anon, 2000).

Yapılan termal inaktivasyon çalışmalarında sığır etinde *E. coli* O157:H7' nin D değerinin 54,4 °C' de 2390 saniye, 60 °C' de 50 saniye ve 64,3 °C' de 9,6 saniye olduğu, D değerinin *Salmonella* ' dan daha düşük olduğu belirlenmiştir. %10 yağlı sığır etinde yapılan termal inaktivasyon çalışmaları ile D₁₀ değerinin 55 °C' de 21,13 dakika, 57,5 °C' de 4,95 dakika, 60 °C' de 3,17 dakika, 62,5 °C' de 0,93 dakika ve 65 °C' de 0,39 dakika olduğu, etteki yağ oranı arttıkça D₁₀ değerinin de arttığı ve ısıl işleme direncin durma fazının sonunda iken logaritmik gelişme fazına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bakterinin ısıl işleme çok duyarlı olduğu, 70 °C' de 2 dakikalık ısıl işlem uygulaması ile 6 logaritma birimi canlılık azalması olduğu bir diğer deyiş ile ısıl işlem ile yeterli bir indirgeme sağlanabileceği benzer araştırmalar ile de gösterilmiştir (Abdul ve ark., 1994; Peck ve ark., 1999; Riordan ve ark., 2000).

Bir başka çalışmada araştırıcılar hamburgerlerin merkezine *E. coli* O157:H7 inoküle etmişler, hamburgerleri üretici firmanın önerisine göre pişirmişler ve sonuçta bu pişirme sonunda *E. coli* O157:H7' nin hamburgerlerde belirlenemediğini, ancak üretici önerisinin altında pişirme sonucunda *E. coli* O157:H7' nin canlı kalabileceğini göstermişlerdir. Pişirme için 68,3 °C' de 15 saniyenin yeterli olduğu, köftelerin ızgaraya konulmadan önce bir süre oda sıcaklığında bekletilmesi ile ısıl işleme direncin azaldığı gösterilmiştir (Phillips ve Roscoe, 1996).

Çiğ süte inoküle edilen *E. coli* O157:H7 serotipi ve diğer bakterilerin HTST yöntemi kullanılarak pastörizasyon ile termal inaktivasyonunun araştırıldığı bir çalışmada 16,2 saniye sürede *E. coli* O157:H7' de 60,0 °C' de en çok 2 log birimi 63,0 °C' de en çok 4 log birimi canlılık azalması olduğu, 64,5 °C' de ise başlangıçta 10⁵/ml olan canlılığın tümüyle ortadan kaldırıldığı bulunmuştur (D'Aoust ve ark., 1988).

Bu bakterinin ışınlama uygulamalarına dirençsiz olduğu ve dolayısı ile başta et ürünleri olmak üzere ışınlamanın gıdalar için kayda değer bir hijyen güvencesi sağlayacağı çeşitli araştırmalar ile gösterilmiştir. Co⁶⁰ ya da Cs¹³⁷ kaynağından elde edilen ışınlar ile gıdaların korunması oldukça yaygın bir uygulama olup, başta *E. coli* O157:H7 olmak üzere pek çok patojenin özellikle katı gıdalardaki eliminasyonu için kullanılmaktadır. Genel olarak donma sıcaklığı altında olan gıdaların ışınlanması daha az etkili iken, ABD' de *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarını önlemek için kırmızı etlerin de ışınlanmasına izin verilmiştir (Harewood ve ark., 1994; Farkas, 1998).

E. coli O157:H7' nin ışınlamada düşük D₁₀ değerine sahip olması özellikle bu bakteriye yönelik olmak üzere ışınlama uygulamalarını yaygınlaştırmaktadır. Bir çalışmada mekanik olarak kemikleri ayrılmış piliç etine *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş ve bunlara 0 - 2,0 kGy arasında, farklı sıcaklıklarda ve vakumlu ve vakumsuz olmak üzere farklı atmosfer koşullarında ışınlama uygulanmış, sonuçta +4 °C' de D₁₀ değeri 0,27 kGy olarak bulunmuştur (Thayer ve Boyd, 1993). Bir başka çalışmada Co⁶⁰ kaynağından elde edilen 0.78 ; 2.6 ve 22 kGy/h dozlardaki ışınlamanın *E. coli* O157:H7' nin D₁₀ değeri üzerine etkisi araştırılmış ve bakterinin duyarlılığının doz gücü ile ve logaritmik gelişme ya da durma fazında olması ile değişmediği belirlenmiştir (Dion ve ark., 1994). Buna karşın *E. coli* O157:H7 'nin logaritmik fazında iken durma fazına oranla gamma ışınlamasına daha fazla duyarlık gösterdiği, -18 °C' deki ışınlamada 20 °C' ye oranla *E. coli* O157:H7' nin daha dirençli olduğu, 1.5 kGy dozundaki ışınlamanın bu patojenin imhası için yeterli olacağı gösterilmiştir (Byun ve ark., 1998).

Bir araştırmada ise *E. coli* tip 1' e göre ($D_{10} = 0,45$) *E. coli* O157:H7' nin ($D_{10} = 0,35$) daha düşük D_{10} değerine sahip olması nedeni ile kıymaların ışınlanmasında indikatör olarak *E. coli* tip 1 kullanılması önerilmiş, deneysel olarak *E. coli* tip 1 ve *E. coli* O157:H7 ilave edilmiş kıymalar ışınlanmış ve sonuçta *E. coli* tip 1' in geri alınabildiği dozlarda *E. coli* O157:H7' nin geri alınamadığı belirlenmiştir (Halkman ve ark., 2001). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada sığır kıymasından yapılan köfte *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilmiş ve Co^{60} ile 0-2.52 kGy arasında değişen dozlarda radyasyon verilmiş, *E. coli* O157:H7 suşları için D_{10} değeri 0.241-0.307 kGy arasında değiştiği, radyasyonun uygulandığı sıcaklığın $-17^{\circ}C$ olmasının $3^{\circ}C$ olmasına göre istatistik açıdan önemli ölçüde ($p<0,05$) daha yüksek D_{10} değeri sağladığı, köftelerin yağ oranının etkili olmadığı, bu patojenin radyasyona çok duyarlı olduğu ve 2.5 kGy radyasyon uygulamasının 10^8 sayıdaki *E. coli* O157:H7' yi inaktive edeceği, bu inaktivasyonun ise köftelerde bulunabilecek daha az sayıdaki bakteri için tümüyle inaktivasyon anlamına geleceği belirtilmiştir (Clavero ve ark., 1994).

E. coli O157:H7 suşlarının aside dirençliliği ışınlamaya dirençliliğini etkilemektedir. pH değerine bağlı durma fazı asit dirençliliğinin ışınlama dirençliliği ile kıyaslandığı bir çalışmada suş farklılıklarının önemli olduğu, aside direnç kazanmanın ışınlamaya da direnç kazandırdığı, bu durumun D_{10} değerleri hesaplanırken göz önüne alınması gerektiği uyarılmıştır (Buchanan ve ark.,1999). Benzer şekilde elma sularının ışınlanmasında ise *E. coli* O157:H7' nin D_{10} değerinin aside direnç kazandırılmamış suşlarda 0,12-0,21 kGy arasında değiştiği, buna karşı aside direnç kazandırılmış suşlarda bu değerin 0,26-0,35 kGy arasında olduğu, ayrıca elma sularındaki kuru madde miktarı arttıkça ışınlamaya direncin arttığı belirtilmiştir (Buchanan ve ark.,1998).

Laktik asit bakterilerinin fermentasyon boyunca *E. coli* O157:H7 zerindeki antagonistik etkisi pek çok çalışma ile araştırılmaktadır. Laktik asit bakterileri psikrotrof ve patojenleri buzdolabı sıcaklığında dahi inhibe edebilen metabolitleri salgılama özellikleri ile tanınmaktadır. Örneğin *Lactobacillus lactis*' in ürettiği H_2O_2 ' in pek çok patojen üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (Park ve ark., 1999).

Sucuklarla yapılan bir çalışmada sucuk hamuruna 10^5 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 ilave edilmiş, olgunlaştırma sonrasında sadece 3 log indirgeme olduğu saptanmış, vakumla korunan ambalajlarda 2 ay, vakumsuz olanlarda ise 1 ay süre ile bakteri geri alınabilmiştir. Bu konu üzerindeki farklı bulgular laktik asit bakterilerinin farklı düzeylerde inhibitör etki gösteren metabolitler üretmeleri ile açıklanabilir. Nitekim *E. coli* O157:H7 ilave edilmiş kıymalarda

refakatçı floranın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yüksek sayıdaki refakatçı floranın hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında *E. coli* O157:H7' nin gelişmesini inhibe ettiğini, refakatçı floranın yaklaşık %80 *Lactobacillus sakei* olmak üzere laktik asit bakterilerinden oluştuğu, kıymaların doğal refakatçı florasının *E. coli* O157:H7 gelişmesi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. *E.coli* O157:H7 inhibisyonu için çeşitli kimyasallar denenmektedir. Bunlar arasında klor özellikle içme ve kullanma suları için başarılı olarak tanımlanırken, çeşitli dezenfektanların organik asitlere göre daha etkili olduğu belirtilmektedir. Yağlı ve yağsız sığır etleri için klor heksidin, bağ doku için hidrojen peroksit, elma şaraplarında %0,1 sodyum benzoat çözeltisi etkili dezenfektanlar olarak değerlendirilmiş ayrıca et endüstrisinde kullanılan gıda katkılarından emülsifer olarak kullanılan monolaurin ve baharat ekstraktı olan eugenol de yine etkili bileşikler olarak belirlenmiştir (Palumbo ve ark., 1997).

2.4.8. İzolasyon ve İdentifikasyonu

Sığır orijinli fekal örneklerde *E. coli* O157:H7 tespiti, bakteri sayısının çok düşük olmasından dolayı oldukça güçtür. Örneklerden petrilere direkt ekim yönteminin sensitivite açısından yetersiz bulunması, farklı zenginleştirme kültürleri ve izolasyon tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur (Chapman, 2000; Tutnel ve ark., 2003b). *E. coli* O157:H7'nin teşhis ve izolasyonuna yönelik çok çeşitli teknikler olmasına rağmen, önerilen standart bir yöntem bulunmamaktadır. Ayrıca izolasyon amaçlı uygulanan kombine yöntemlerin hiç birisinin % 100 duyarlı olmadığı bildirilmektedir (Tutnel ve ark., 2003b). Yapılan çalışmalarda izolasyon şansını artırabilmek için incelenecek örneklerin taze olması ve laboratuvara zaman geçirilmeden soğuk zincirde ulaştırılması gerektiği önerilmektedir (Chapman, 2000).

E. coli O157:H7 serotipinin çeşitli gıdalar, fekal örnekler ve diğer klinik ve çevre örneklerinde aranması ve teşhisine yönelik çeşitli kategorilere ayrılmış farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler; serotipin biyokimyasal özelliklerine dayanan kültürel yöntemler ve şigatoksinlerin neden olduğu sitotoksik etkilere dayanan biyolojik testler, şigatoksine, O157 ve H7 antijenlerine karşı monoklonal ve poliklonal antikorların kullanıldığı immunokimyasal yöntemler ve nükleik asitler üzerine dayanan yöntemleri içeren gelişmiş teknikler şeklinde iki ana başlık altında toplanabilir (Park ve ark., 1999).

Biyokimyasal Özelliklere Dayanan Kültürel Yöntemler

E. coli O157:H7'nin çeşitli biyokimyasal özellikleri, kültüre dayalı yöntemlerin geliştirilmesine neden olmuştur. Buna göre materyallerde *E. coli* O157:H7'nin varlığının gösterilmesi sırasıyla; selektif bir sıvı besiyerinde ön zenginleştirme, selektif-diferansiyel katı besiyerine ekim, şüpheli kolonilerin biyokimyasal testler ve O157 antiserumu ile lam ya da tüp aglutinasyon testi yapılarak veya lateks aglutinasyon testi ile *E. coli* O157 olarak belirlenmesi ve son olarak da izolatu H7 antijeni içerip içermediğinin belirlenmesi şeklindedir (Smith ve Scotland, 1988; Park ve ark., 1999).

E. coli O157:H7 serotipinin kültürel yöntemlerle belirlenmesi amacıyla ön zenginleştirme besiyeri olarak en fazla modifiye tryptone soy broth (mTSB) ve modifiye *E.coli* broth (mECB) kullanılmaktadır (Okrend ve ark., 1990). Genel olarak, örnekler homojenize edildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmakta bu sürenin sonunda selektif-diferansiyel bir katı besiyerine ekilmektedir. Tutenel ve ark. (2003b), doğal infekte sığır dışkılarından *E. coli* O157 izolasyonunda kullandıkları farklı yöntemler arasında 6 saatlik ön zenginleştirmenin 24 saatlik zenginleştirmeden daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir. mTSB besiyerine 0,05 mg/l cefixime, 10 mg/l cefsuladin ve 80 mg/l vancomycine ilavesi ile ön zenginleştirme besiyeri daha da selektif hale getirilebilmektedir. Son yıllarda ise mTSB besiyerine 20 mg/l olacak şekilde novobiocin katılımının selektivite açısından daha yararlı olduğu bildirilmektedir (Tutenel ve ark., 2003b).

Selektif-diferansiyel katı besiyeri olarak bugün en yaygın kullanılan sorbitollü MacConkey (SMAC) agardır. Bu besiyerinin standart MC agardan farkı; bileşiminde laktoz yerine sorbitol bulunmasıdır. *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitol negatif olduğu için bu besiyerinde renksiz koloniler oluşturmakta, buna karşın sorbitolü kullanan bakterilerin oluşturduğu asitlik, bir pH indikatörü yardımı ile kolonilerin kırmızı renkte görülmesine neden olmakta, böylece *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitol pozitif bakterilerden ayırt edilebilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin tespiti için SMAC agarın, % 100 sensitivite, % 85 spesifite ve % 86 doğruluk payına sahip olduğu bildirilmiştir (March ve Ratnam, 1986).

Standart MC agar ve SMAC agarlar, sırası ile laktoz ve sorbitol reaksiyonlarına dayalı yeterli düzeyde bir ayırt edici özellik sağlamakla birlikte, her iki besiyeri de oldukça zayıf bir selektiviteye sahiptir ve *E. coli* O157:H7 yanında pek çok bakterinin de gelişmesine neden

olabilmektedir. Bu nedenle SMAC agar çeşitli selektif katkıları ile desteklenmekte ve besiyerine daha fazla bir selektivite kazandırılmaya çalışılmaktadır. Bu amaçla en çok cefixime ve potassium tellurite kullanılmaktadır. Sefalosporin grubu bir antibiyotik olan cefixime, özellikle sorbitol negatif olan *Proteus* spp.'nin inhibisyonu için önem taşımakta (Chapman ve ark., 1991), potassium tellurite ile desteklendiğinde ise *E. coli* O157:H7 dışında kalan ve çeşitli yöntemlerle baskılanamayan *E. coli*'leri de önemli ölçüde etkilemektedir. Cefixime-Tellurite katkılı sorbitol MacConkey (CT-SMAC) agarın, VT oluşturmayan diğer *E. coli*'lerin üremesini % 67 oranında, *Proteus* spp., *Aeromonas* spp., *Morganella* spp. ve *Providencia* spp.'nin üremesini % 97 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir (Zadik ve ark., 1993). Ayrıca, özellikle, *E. coli* O157 dışındaki sorbitol fermentasyonu negatif pek çok bakteri tarafından fermente edilen ramnozun bu ayırt edici özelliğinden yararlanılarak cefixime-rhamnose katkılı sorbitol MacConkey (CR-SMAC) agar geliştirilmiştir (Chapman ve ark., 1991). CT-SMAC agarın, özellikle sığır dışkılarından *E. coli* O157:H7 izolasyonunda CR-SMAC agara göre daha uygun ve daha duyarlı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca dışkı örneklerinden izolasyon için en duyarlı selektif besiyeri olarak CT-SMAC agar önerilmektedir (Zadik ve ark., 1993; Tutenel ve ark., 2003b; Mülner ve Ehlers, 2005).

E. coli O157:H7 izolasyonunda Fluorocult *E. coli* O157:H7 agar gibi florojenik özellikteki besiyerlerinden de yararlanılmaktadır. Besiyeri, bakterinin β -glukuronidaz özelliğinin tespitinde kullanılmaktadır. Besiyerinin içerisinde florojenik bir substrat olarak bulunan MUG, UV ışığı altında floresans ışık vermekte, β -glukuronidaz özelliği bulunmayan *E. coli* O157:H7 ise floresans ışık göstermemektedir (Manafı ve Kremsmaier, 2001). Noveir ve Halkman (2000) yaptıkları bir çalışmada SMAC agarın, Fluorocult *E. coli* O157:H7 agara göre daha iyi sonuç verdiğini ve Fluorocult *E. coli* O157:H7 agarda hatalı pozitif sonuçlar alınabileceğini bildirmiştir.

E. coli O157:H7'nin negatif olan β -glukuronidaz özelliğinden yararlanılarak SMAC agara kromojenik bir substrat olan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (BCIG) eklenerek SMAC-BCIG adıyla bir kromojenik agar daha geliştirilmiştir (Okrend ve ark., 1990). *E. coli*'lerin %96-98'i β -glukuronidaz enzim aktivitesine sahiptir ve bu enzim, besiyerinde bulunan BCIG ile reaksiyona girerek, mavi-mor renkli koloniler oluşturur. *E. coli* O157:H7 ise β -glukuronidaz enzim aktivitesine sahip olmadığı için besiyerinde renksiz şeffaf görünümlü koloniler oluşturur (Okrend ve ark., 1990; Manafı ve Kremsmaier, 2001). Okrend

ve ark. (1990), SMAC-BCIG agarın, sadece SMAC agarla karşılaştırıldığında hatalı sonuç oranını % 36 oranında azalttığını bildirmiştir.

Kültürel yöntemlerle *E. coli* O157:H7 aranmasında diğer bir aşama, katı besiyerinden izole edilen şüpheli kolonilerin biyokimyasal testler ile tanımlanmasıdır (March ve Ratnam, 1989; Park ve ark., 1999). Biyokimyasal testler açısından *E. coli* O157:H7; H₂S; VP, sitrat testleri, üreaz aktivitesi ile sorbitol ve sellobiyoz fermentasyonu negatif; indol, MR, lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz testleri, glukozdan asit ve gaz oluşturma yeteneği ile laktoz fermentasyonu pozitifdir (Chapman ve ark., 1997). Ayrıca sukroz, arabinoz, trehaloz, mannitol, maltoz, ramnoz, ksiloz, rafinoz ve dulsitol fermentasyonları pozitif; salisin, eskülin, arjinin dihidrolaz, adonitol, inositol ve potasyum siyanür (KCN) reaksiyonları ise negatif olarak bildirilmektedir (Ratnam ve ark, 1988).

Fekal örnekler ve gıda örneklerinden, özellikle de çiğ sütlerden sıkça izole edilen *Escherichia hermannii*; biyokimyasal ve serolojik özellikleri bakımından *E. coli* O157:H7'ye benzemekte ve sorbitol negatif olup, *E. coli* O157 antiserumu ile aglutine olabilmekte, böylece *E. coli* O157:H7 ile karıştırılabilmektedir. Aralarında ayırım yapılabilmesi ise *E. hermannii*'nin pozitif olan sellobiyoz fermentasyonu ile sağlanabilmektedir. Bu amaçla sellobiyozlu MacConkey (CMAC) agar kullanılarak selektivite artırılmakta ya da izolatlarla sellobiyoz şeker testi yapılarak fermentasyon sonucu değerlendirilmektedir (March ve Ratnam, 1989).

Genellikle, VT üreten *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O157:H serotipleri, Beutin ve ark. (1988) tarafından bazı EPEC suşlarında rastlanan β -hemolizin ve α -hemolizinden morfolojik, genetik ve immunolojik olarak farklı olduğu saptanan enterohemolizin oluşturmaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalarda enterohemolizinin sadece yıkanmış koyun kanlı agarda 37 °C'de 18-24 saatlik inkubasyon sonrası saptanabildiği ve hemoliz zonunun koloninin altında veya etrafında bulanık görünüşte, dar çaplı olduğunu bildirilmiştir. Buna karşılık α -hemolizinin 37 °C'de 3 saatlik inkubasyon sonrasında yıkanmamış koyun kanlı agarda kolaylıkla saptanabildiğini belirtilmiştir (Beutin ve ark., 1993).

Lateks aglutinasyon testi, *E. coli* O157 suşlarının serolojik olarak belirlenmesinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bu test iki adet lateks solüsyonu içermektedir. Test solüsyonu; *E. coli* O157 antijenine spesifik tavşan antikoları ile sensitize edilmiş lateks

partiküllerinden oluşmakta, kontrol solüsyonu ise pre-immun tavşan globulinleri ile sensitize edilmiş lateks partikülleri içermektedir. Test edilecek kültürler, SMAC agarda üretildikten sonra sorbitol negatif koloniler lateks testine tabi tutularak test sonucu bir dakika içerisinde tespit edilebilmektedir (March ve Ratnam, 1989).

E. coli O157:H7 aranmasındaki son aşama ise *E. coli* O157 olarak saptanan izolatın H7 antijeni içerip içermediğinin belirlenmesidir. Bu amaçla H7 antiserumu çeşitli besiyerlerine eklenerek immobilizasyon testi (Farmer ve Davis, 1985; Murinda ve ark., 2002) uygulanmakta ya da H7 antiserumu ile lam ya da tüp aglutinasyon testi yapılmaktadır (Park ve ark., 1999).

Gelişmiş Teknikler

E. coli O157:H7'nin teşhisine yönelik giderek gelişen analiz teknikleri içerisinde başta immunoenzimatik yöntemler olmak üzere çeşitli analiz yöntemleri üzerinde çalışılmakta, bunların bir kısmı ticari olarak üretilip pazarlanmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

E. coli O157:H7'nin şigatoksinleri, Vero hücreleri üzerinde karakteristik sitopatik etkiler oluşturmaktadır. Bu özellikten yararlanılarak toksinlere spesifik antikorların kullanıldığı nötralizasyon tesleri uygulanmaktadır (Park ve ark., 1999). Ayrıca verositotoksinlerin tespiti amacıyla sitotoksitite testlerinin yanı sıra pasif aglutinasyon, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), immunblot teknikleri, Polymerase Chain Reaction (PCR) ve DNA hibridizasyon tekniklerinden de yararlanılmaktadır (Chapman, 2000; Bettelheim ve Beutin, 2003).

Günümüzde *E. coli* O157:H7 analizlerinde Enzyme Immuno Assay (EIA), ELISA, PCR, multipleks PCR ve immunomanyetik separasyon (IMS) teknikleri kullanılmaktadır (Park ve ark., 1999; Fode-Vaughan ve ark., 2003; Osek, 2003).

İmmunokimyasal yöntemlerin çoğunda, *E. coli* O157:H7'nin "O" antijeni ya da tüm antijenlerine karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılmaktadır. Fakat çoğunlukla hatalı pozitif sonuçlar alınabildiği ve teşhis için bu yöntemlerin sensitivitesinin yeterli olmadığı

belirtilmektedir. ELISA'nın, kullanılan monoklonal ya da poliklonal antikorlar ile bu hatalı pozitiflik oranını düşürdüğü bildirilmektedir (Padhye ve Doyle, 1992; Park ve ark., 1999).

Nükleik asit esaslı analizler, ağırlıklı olarak DNA *stx* geni ya da *eae* genine spesifik DNA probu kullanılan yöntemler ve PCR analizleri olarak iki grupta incelenmektedir. *Stx* genine özel nükleik asit esaslı testler, sadece Stx üreten patojenlere spesifik olmakla birlikte, *E. coli*'nin 60 kadar farklı serotipi ve *Citrobacter freundii*'nin de Stx II varyantlarını üretebilmesi nedeniyle *E. coli* O157:H7'nin doğrudan belirlenmesinde kullanılamamaktadır. Benzer şekilde *eae* genine spesifik yöntemlerde de sadece *E. coli* O157:H7 değil, EPEC suşları da pozitif sonuç vermektedir (Park ve ark., 1999; Martinez ve ark., 2007).

Gıda numuneleri ve fekal örneklerde *E. coli* O157:H7'nin belirlenmesinde PCR (Fode-Vaughan ve ark., 2003) ve multipleks PCR (Osek, 2003) teknikleri de kullanılmaktadır. Özellikle, multipleks PCR'in, sensitivite ve spesifitesi yüksek bulunurken, gıda ve çevresel örneklerin rutin analizleri için oldukça kompleks ve pahalı olduğu belirtilmektedir (Park ve ark., 1999; Kehl, 2002).

Son yıllarda IMS yöntemi ile çalışan sistemler üzerinde yoğun bir ilgi vardır. IMS yöntemi *E. coli* O157'ye spesifik antikorlarla kaplanmış manyetik boncuklardan oluşan selektif bir zenginleştirme yöntemi olarak kabul edilmektedir (Tomayasu, 1998). Sığır fekal örneklerinde *E. coli* O157:H7'nin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada enzim immunoassay ve immunomanyetik separasyon tekniklerinin duyarlı ve güvenilir bulunduğu belirtilmiştir (Chapman ve ark., 1997). Bunun yanı sıra Japonya'daki çoğu salgında, infeksiyöz etkeni IMS ile tanımlanabilmesinin oldukça güç olduğu ve bu nedenle şüpheli gıdalardaki az sayıda mikroorganizmayı izole etmek için daha duyarlı yöntemlere gereksinim duyulduğu belirtilmiştir (Tomayasu, 1998).

İmmunomanyetik ayırım (Immunomagnetic separation) tekniği gıda maddelerinde ve diğer örneklerde mikroorganizmaların aranmasında kullanılan hızlı, yüksek spesifikliğe sahip ve uygulaması basit bir yöntemdir. Bu yöntemin prensibi spesifik immünokimyasal ajanlar (monoklonal, poliklonal ve rekombinant antikorlar) ile kaplanmış manyetize olabilir boncuklar kullanılarak istenen mikroorganizmanın belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Bu boncuklar karışık bir süspansiyon içinde bile spesifik olarak aranan mikroorganizmayı

yakalayabilmektedir. Bu yöntemle göre geliştirilmiş, *E. coli* O157 aranmasında kullanılan Dynabeads anti *E. coli* O157 kitleri bulunmaktadır (Fu ve ark., 2005).

Zenginleştirme

E. coli O157:H7' nin zenginleştirilmesinde kullanılan besiyerlerinden bazıları modifiye Tryptic Soy Broth (mTSB), EHEC Enrichment Broth (EEB), Trypticase Novobiocin (TN) Broth veya Lauryl Sulphate Triptose Broth besiyerlerinden biri veya birkaçı birlikte kullanılmaktadır. Buna göre 10-25 g gıda maddesi 90-225 ml sıvı besiyerinde homojenize edilmekte ve 37 °C' de 6-24 saat inkübasyona bırakılmaktadır. Zenginleştirme besiyerinde antibiyotik kullanımından başka inkübasyon sıcaklığının 43-44 °C' ye çıkarılması ile de refakatçi flora baskılanabilmektedir. mTSB besiyerinin bileşimine filtre ile sterilize edilmek üzere cefixime 0,05 mg/l ; cefsulodin 10,0 mg/l ve vancomycin 8,0 mg/l ilavesi ile besiyerinin seçiciliği artırılmaktadır (Tutenel ve ark., 2003b, Omisakin ve ark., 2003).

İzolasyon

Katı besiyerleri kullanılarak *E. coli* O157:H7 izolasyonunda, bu serotipin sorbitol negatif, β-D-glukuronidaz negatif olma özelliğinden yararlanılmaktadır. Standart yöntemle göre *E. coli* O157:H7 izolasyonunda Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), HC (HC; hemorrhagic colitis) Agar ve Cefixime-Tellurite SMAC (CT SMAC) Agar besiyerleri kullanılması önerilmektedir. SMAC Agar besiyerinde 35 °C' de 18 saat inkübasyon sonunda sorbitol negatif koloniler soluk pembe veya renksiz, pozitif *E. coli* türleri ve diğer enterikler ise parlak pembe renkte koloni oluşturmaktadırlar. SMAC Agar besiyerinin bileşimine MUG katılarak glukuronidaz aktivitesi de tespit edilebileceği gibi, bileşiminde MUG bulunan Fluorocult *E. coli* O157 Agar gibi bir besiyerine sorbitol negatif kolonilerden sürme yapılarak da fluoressan negatif koloniler izole edilebilmektedir (March ve Ratnam, 1986).

E. coli O157:H7 aranmasında kullanılan diğer besiyeri, sorbitol ve MUG içeren HC Agar besiyeridir. HC Agar besiyerinin bileşiminde MUG yerine 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronide (BCGI) de kullanılabilir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta inkübasyon süresi uzar ise fluoressansın tüm besiyerinin yüzeyine yayılacağıdır. Son zamanlarda *E. coli* O157:H7 izolasyonunda CT-SMAC besiyerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Besiyerinin bileşiminde bulunan antibiyotikler diğer mikroorganizmaların

gelişmesini etkili bir şekilde önlemektedir. Bu besiyerinin bileşimi SMAC agar ile aynı olup, sterilizasyon işleminden sonra filtre ile sterilize edilmiş potasyum tellürit (2,50 mg/l) ve sefiksim (0,05 mg/l) katılarak hazırlanmaktadır (Zadik ve ark., 1993; Tutenel ve ark., 2003b) .

CT-SMAC agar besiyeri kullanılması durumunda standart yöntemle göre önce 25 g gıda örneği 225 ml EEB içerisinde homojenize edildikten sonra 37 °C' de çalkalamalı inkübatörde 6 saat inkübe edilir. Buradan 0,1 ml örnek alınıp CT-SMAC agar üzerine ekim yapılarak 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda sorbitol pozitif koloniler pembe veya kırmızı renkte, tipik O157:H7 kolonileri ise renksiz veya dumanımsı gri renkte 1-2 mm çapında koloniler oluşturmaktadır. Eğer CT-SMAC agar üzerinde tipik koloniler yoksa zenginleştirme aşaması 24 saate çıkarılarak analiz tekrarlanır (Okrend ve ark., 1990).

Doğrulama

Selektif besiyerinde gelişen tipik kolonilerden birkaç tane alınarak içerisinde % 0,6 oranında maya ekstraktı bulunan yatık Tryptic Soy Agar (TSAYE; Tryptic Soy Agar Yeast Extract) besiyerine ekim yapılır. 37 °C' de bir gece inkübasyonun ardından gelişen mikroorganizmalara nokta indol testi uygulanır. Bunun için yatık agardan bir öze örnek alınarak Kovac's ayırıcı ile ıslatılmış filtre kâğıdı üzerine konular ve renk değişimi gözlenir. Enterohemorajik *E. coli* türleri reaksiyona pozitif sonuç vermektedir. Doğrulama amacıyla kullanılan diğer testler; Lateks aglütinasyon testleri, Shiga-like toksin (SLT I ve SLT) I ve II testleri, koloni hibridizasyonu ve çeşitli ticari testlerdir.

Zenginleştirme aşamasında kullanılan mTSB besiyerinde, izolasyonda kullanılan SMAC Agar ve HC Agar besiyerlerinde eğer örnekte koliform sayısı çok fazla ise O157 'nin gelişimi maskelenebilmektedir. Ayrıca *Escherichia hermani* ve *Citrobacter freundii* gibi bazı enterik bakteriler benzer biyokimyasal özelliklerinden dolayı izolasyonda yanlış negatif sonuçların alınmasına neden olabilmektedir (Sayah ve ark., 2005). *E. coli* türlerinin büyük çoğunluğu sorbitolü fermente edebilmelerine karşın izolatların %6'sının sorbitolü fermente edemedikleri bilinmektedir. Gıda örneğinde böyle atipik suşların bulunması durumunda CT-SMAC Agar besiyerinde O157:H7' ye benzer koloniler oluşturmaktadırlar. Bu durumda yapılması gereken glukuronidaz aktivitelerine göre yanlış negatif sonuç veren kolonilerin ayırt edilmesidir. *E. coli* O157:H7 aranmasında kullanılan diğer bazı besiyerleri arasında

Phenol Red Sorbitol (PRS) agar, modifiye Eosine Methylen Blue (mEMB) agar sayılabilir (Riley ve ark., 1983).

Tanımlama

Selektif zenginleştirme ve katı besiyerinde inkübasyon aşamalarından sonra izolasyonu yapılan kültürlerin *E. coli* O157:H7 serotipi olduklarının, *E. coli* O157:H7 lateks test kitleri (Oxoid), *E. coli* O157 ve *E. coli* H7 antiserumları ve biyokimyasal testler uygulanarak doğrulanması gerekmektedir (Ratnam ve ark., 1988; Chapman ve ark., 1997).

Lateks aglütinasyon doğrulama testi *E. coli* O157:H7'nin hızlı identifikasyonu için kullanılan bir test kitidir. *E. coli* O157:H7 lateks testi gıda sanayinin kullanımına sunulan, yüksek duyarlığa sahip bir yöntemdir. Kit, iki adet lateks solüsyonu içermektedir. Test solüsyonu, *E. coli* O157 antijenine özel, tavşandan elde edilen antikorlarla kaplanmış lateks partiküllerinden oluşmaktadır. Kontrol solüsyonu ise pre-immun halde tavşan globulinleri içermektedir. Test edilen kültürler SMAC Agar üzerinde geliştirildikten sonra sorbitol negatif olan kolonilere lateks testi uygulanmakta ve test sonucu bir dakika içinde tespit edilebilmektedir. Ancak bu testte dikkat edilmesi gereken bir nokta; çiğ süt ve dana eti gibi gıdalardan izole edilen *E. hermannii* 'nin de sorbitol negatif olup, *E. coli* O157 antiserumu ile aglütine olabilmesi ve böylece *E. coli* O157:H7 ile karıştırılabilmesidir. Bunu önlemek için, özellikle gıdalarda bulunan *E. hermannii* 'nin izolasyonunda, SMAC Agar besiyeri ile birlikte Sellobiyoz-MacConkey Agar besiyerinin de kullanılması gerekmektedir. Ayrıca mutlaka H7 antiserumu ile kontrol edilmesi ve KCN 'de üreme testlerinin yapılması gerekmektedir. *E. coli* O157:H7 sellobiyoz ve KCN 'de üreme negatif, H7 antiserum kontrolünde ise pozitif sonuç vermektedir (March ve Ratnam, 1989).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada Samsun ilinde yer alan biri özel diğeri belediye mezbahası olmak üzere toplam iki mezbahada Aralık 2006 – Mart 2007 tarihleri arasında kesilen toplam 100 sığır karkası ve aynı karkasa ait 100 rektal svap örneği materyal olarak kullanıldı. Sığırlar kesildikten ve derisi yüzüldükten hemen sonra rektal svap örnekleri alındı. Her bir sığır karkasından yine svap yöntemiyle toplam 200 cm²'lik alandan örnek alındı. Bu amaçla her bir sığır karkasınının 100'er cm²'lik (10 x10 cm) boyun ve arka bacak (but) bölgelerinden svap yöntemiyle örnekler alındı (Anon, 1997). Boyun ve bacak bölgelerinden alınan svap örnekleri birleştirildi ve bir örnek olarak değerlendirmeye alındı. Bu şekilde toplam 200 örnek *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla analiz edildi. Elde edilen izolatlar daha sonra *stx1* ve *stx2* genlerinin varlığı yönünden multipleks PCR ile analiz edildi.

3.1. Zenginleştirme işlemi

Bu amaçla novobiocine (20 mg/l⁻¹) (Sigma) içeren modifiye Tryptone soy broth (mTSB-Oxoid-CM 989, Basingstoke, England) kullanıldı. Alınan svapların her biri içlerinde 10 ml mTSB ihtiva eden tüplere konuldu ve tüpler 41,5 °C'de 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı (Sheng ve ark., 2006).

3.2. Immuno Magnetik Separasyon İşlemi (IMS)

İşlemler üretici firmanın prosedüründe belirttiği şekilde yapıldı (Dyneabeads- anti-*E. coli* O157-710.04, Dynal). Kısaca; 1,5 ml'lik ependorf tüpler magnetik aksamı çıkarılmış Dynal Magnetic Particle Concentrator (MPC)-S aletine yerleştirildi. Daha sonra 20 µl Dynabeads-anti *E. coli* O157 ve bunu takiben 1 ml zenginleştirme sıvısı ilave edildi ve ependorf tüplerininin ağzı kapatıldı. Karışım bir kaç kez alt üst yapıldıktan sonra, Dynal Mixer'e (Dynal-MX4) yerleştirildi ve oda ısısında 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra Dynal MPC-S'in magnetik aksamı takıldı ve 3 dakika oda ısısında bekletildi ve ependorf tüplerininin ağzı açıldı ve süpernatant kısmı tüplerden uzaklaştırıldı. Daha sonra magnetik aksam çıkarıldı ve her bir tüpe 1 ml yıkama solüsyonu PBS (Phosphate Buffered Saline ile Tween 20, Sigma, P3563-10PAK) ilave edildi. Tüplerin kapakları kapatılarak, pelet ile yıkama solüsyonlarının resüpsansiyonu gerçekleştirildi ve tekrar magnetik kısım MPC-S'a takılarak mixerda 3 dakika daha oda ısısında bekletildi. Devam eden süreçte magnetik aksam tekrar çıkarıldı ve her bir

tüpe 1 ml yıkama solüsyonu (tween20 PBS) ilave edildi ve ependorf tüplerinin ağzı açıldı ve süpernatant kısmı tüplerden uzaklaştırıldı. Aynı işlem bir kez daha tekrarlandı. Magnetik kısım MPC-S'dan uzaklaştırıldı ve tüplerin her birine 100 µl yıkama solusyonu PBS (Phosphate Buffered Saline ile Tween 20, Sigma, P3563-10PAK) ilave edildi ve vortekste karıştırıldı (Tomayasu, 1998; Ogden ve ark., 2001; O'Brein ve ark., 2005; Nou ve ark., 2006).

3. 3. *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7'nin İzolasyonu

IMS işlemini takiben, 50 µl beads-bakteri resüspansiyonu Tellürite (2,5 mg/l⁻¹) Cefixime(0,05 mg/l⁻¹)-Sorbitol Mac Conkey (CT-SMAC) agara (Oxoid-CM 813, Supl. SR 172 E, Basingstoke, England) yayma plak yöntemiyle geçildi ve plaklar 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben, plaklarda üreyen sorbitolü fermente etmeyen şüpheli 5 koloni seçildi ve bu şüpheli koloniler Yeast Ekstract-Tripticase Soy Agara (YE-TSA) (Oxoid-CM 131-L21, Basingstoke, England) çizme yöntemiyle geçilerek subkültüre edildi ve plaklar 37 °C'de 24-48 saat süreyle inkübe edildi (Terrance ve ark., 2007a; Sanderson ve ark., 2007).

3. 4. Doğrulama testleri

YE-TSA agar plaklarda üreyen kolonilere nokta indol testi yapıldı ve indol pozitif koloniler değerlendirmeye alındı ve Motility Test Agar'da (Acumedia 7247) hareketlilik testi yapıldı. Aynı zamanda YE-TSA agardan MUG reaksiyonu için direkt olarak 4-methylumbelliferly -B-D-Glucuronide (MUG) içeren Sorbitol Mac Conkey agara (SMAC-MUG Supl. Oxoid-BR 071 E, Basingstoke, England) çizme yöntemi ile geçildi ve plaklar 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. UV ışığı altında (366 nm dalga boyunda) yeşil veya mavi floresans ışık veren koloniler MUG pozitif olarak değerlendirildi. *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotiplerinin MUG reaksiyonu negatif olması nedeniyle MUG-negatif koloniler *E. coli* O157 ve/veya *E. coli* O157:H7 yönünden şüpheli kabul edildi. Bu şüpheli kolonilere daha sonra sellobiyoz (Fluka- 22150) fermentasyon testi uygulandı. Bu amaçla sellobiyoz içeren Purple Broth Base (Difco-0227-01-6) kullanıldı. Şüpheli koloniler sellobiyoz içeren purple broth base tüplerine inoküle edilerek 37 °C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Sellobiyoz fermentasyon negatif koloniler değerlendirmeye alındı. Sonuçta, sorbitolü fermente etmeyen, indol pozitif, hareketlilik pozitif, MUG negatif, sellobiyoz fermentasyonu negatif koloniler seçildi ve bu kolonilere O157 antiserumu (Denka Seiken,210753, Tokyo,

Japan) ile lamda aglütinasyon testi yapıldı. Aglütinasyon pozitif koloniler *E. coli* O157 olarak değerlendirildi. *E. coli* O157 pozitif kolonilere daha sonra H7 (Denka Seiken, 211057, Tokyo, Japan) antiserumu ile lamda aglütinasyon testi yapıldı ve aglütinasyon pozitif koloniler *E. coli* O157:H7 olarak değerlendirildi (Paton ve Paton, 2005; Pao ve ark., 2005; Oporto ve ark., 2008).

3.5. *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izolatlarında Shiga toksin üretiminden sorumlu *stx1* ve *stx2* genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerase chain reaction= PCR) ile belirlenmesi

Bu amaçla Paton ve Paton (1998), Osek ve Gallien (2002) ile Fitzmaurice ve ark. (2004)' nin geliştirdikleri PCR metodları referans olarak alınmıştır. Pozitif kontrol suşu olarak *E.coli* O157:H7 ATCC 43895 suşu referans olarak kullanılmıştır.

3.5.1. Saf Template DNA'nın Elde Edilmesi

Saf template DNA elde edilmesi amacıyla kaynatma yöntemi kullanıldı. Elde edilen izolatlar TSA'da 37 °C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Üreyen saf koloniler, 500 µl steril distile su içeren mikrosantrifüj tüplerinde süspanse edildi. Elde edilen süspanسیون 95 °C'lik su banyosunda (Mommert) 10 dk süreyle tutuldu. Bu süre sonunda, mikrosantrifüj tüpleri 10 000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj (Hettich- Universal- 320R) edildi. Santrifügasyonu takiben, DNA içeren süpernatant kısım, Dnase/Rnase free mikrosantrifüj tüplerine alındı ve PCR'da template DNA olarak kullanılmak üzere -20 °C'ye kaldırıldı.

3.5.2. Amplifikasyon işlemi

İlgili genlerin amplifikasyonu amacıyla toplam 50 mikrolitrelik PCR karışımı hazırlandı. Hazırlanan karışım 200 mM dNTP, her bir primerden 250 nM, 1U Taq polimeraz, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 0.1% jelatin, 0.1% Tween 20 ve 10 mikrolitre template DNA içerdi. Thermalcyler 94 °C'de 10 dk ön denatürasyonu takiben, 94 °C'de 1 dk, 60 °C'de 1 dk, 72 °C' de 1 dk olmak üzere 30 siklus amplifikasyon ve 72 °C'de 7 dk son uzama aşaması olacak şekilde programlandı. PCR karışımı, amplifikasyon amacıyla thermalcyler'a (Biorad- MJMini) kondu.

PCR'da kullanılan primerlerin gen dizisi aşağıda verilmiştir (Paton ve Paton, 1998; modified by Fitzmaurice, 2003).

<i>stx1</i> F	ATA AAT CGC CAT TCG TTG ACT AC	
<i>stx1</i> R	AGA ACG CCC ACT GAG ATC ATC	(180 bp)
<i>stx2</i> F	GGC ACT GTC TGA AAC TGC TCC	
<i>stx2</i> R	TCG CCA GTT ATC TGA CAT TCT G	(255 bp)

3.5.3. Elektroforez işlemi

Amlifiye edilen PCR ürünleri %1,5 ethidium bromide içeren, %2'lik agaroz jel'de 90V'ta 90 dak elektroforez (Biorad- Powerpac basic) işlemine tabi tutuldu. Elektroforez işleminde 100 bp'lik marker kullanıldı.

3.5.6. Bantların değerlendirilmesi

Elektroforez sonucu oluşan bantlar UV illuminatöründe (WUV-L50) ile incelendi ve 180 bp'lik bantlar *stx1* için, 255 bp'lik bantlar *stx2* için pozitif kabul edildi.

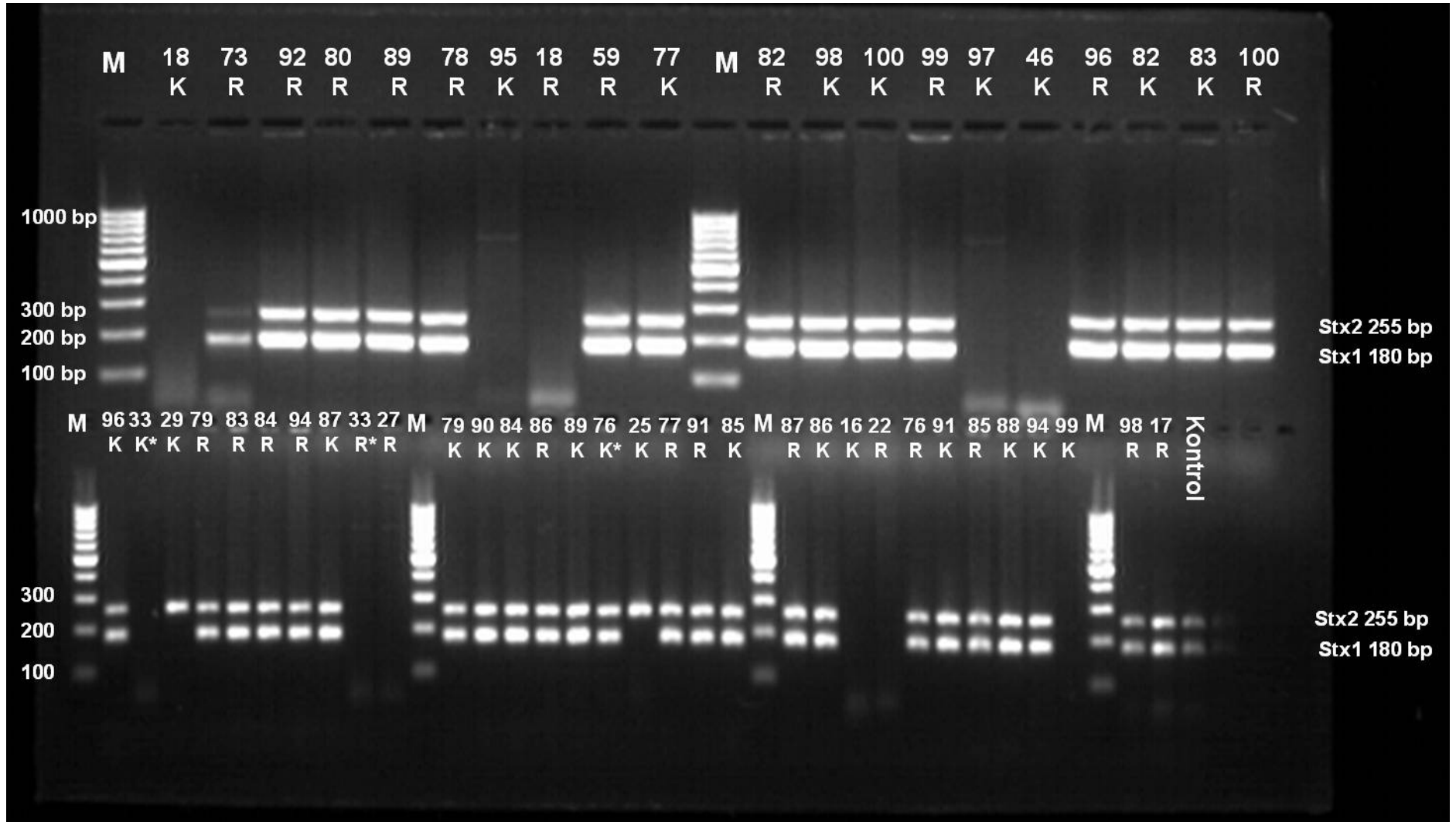
4. BULGULAR

Samsun ilinde yeralan biri özel diğeri belediye mezbahası olmak üzere toplam iki mezbahada, Aralık 2006 – Mart 2007 tarihleri arasında kesilen sığır karkaslarından alınan toplam 200 svap örneği *E. coli* O157 ve *E. coli* O157 varlığı yönünden analiz edildi. Analiz sonuçları Tablo 4.1. ve Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. İzolatlara aynı zamanda *stx1* ve *stx2* gen varlığını belirlemek amacıyla multipleks PCR uygulandı. Sonuçlar şekil 4.2'de gösterildi.

Tablo 4.1: Sığır karkas ve rektal svap örneklerinde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157: H7 izolasyon oranları ile izolatlardaki *stx1* ve *stx2* genlerinin dağılımı

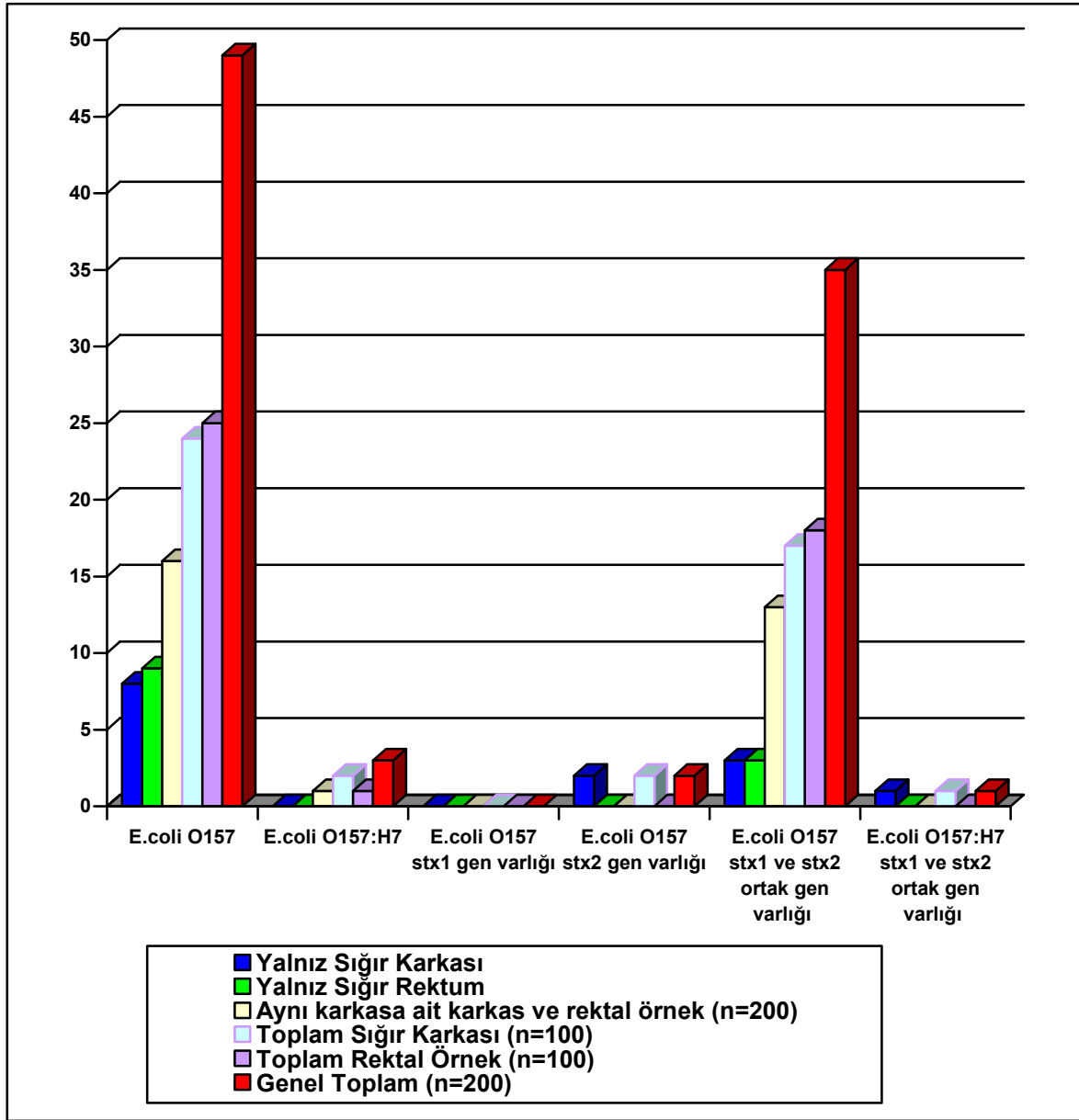
	<i>E. coli</i> O157	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i> O157 <i>stx1</i> gen varlığı	<i>E. coli</i> O157 <i>stx2</i> gen varlığı	<i>E. coli</i> O157 <i>stx1</i> ve <i>stx2</i> ortak gen varlığı	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>stx1</i> ve <i>stx2</i> ortak gen varlığı
Yalnız sığır karkası (n=100)	8 (8,0)	1 (1,0)	0 (0,0)	2 (2,0)	3 (3,0)	1 (1,0)
Yalnız Sığır rektum (n=100)	9 (9,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (3,0)	0 (0,0)
Aynı Sığıra ait karkas ve rektal örneğinin her ikisinden (n=200)	16 (8,0)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	13 (7,5) *1 karkas, **2 rektum (14 karkas, 15 rektum)	0 (0,0)
Toplam sığır karkasından (n=100)	24 (24,0)	2 (2,0)	0 (0,0)	2 (2,0)	17 (17,0)	1 (1,0)
Toplam rektal örnek (n=100)	25 (25,0)	1 (1,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	18 (18,0)	0 (0,0)
Genel Toplam (n=200)	49 (24,5)	3 (1,5)	0(0,0)	2 (1,0)	35 (17,5)	1 (0,5)

*Sadece karkas orijinli *E. coli* O157 izolatında belirlendi, **sadece rektal orijinli *E. coli* O157izolatında belirlendi



Şekil 4.2. Çalışmada elde edilen izolatların Shiga toksin 1 (*Stx1*) ve Shiga toksin 2 (*Stx2*) genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR, PCR) ile gösterilmesi. M: Marker(100-1031 bp); Kontrol: Referans suş. *E.coli* O157:H7 ATCC 43895, K: Karkas izolatu; R: Rektum izolatu

*: *E.coli* O157:H7 pozitif numuneler.



Şekil 4.1. Sığır karkas ve rektumlarından alınan svap örneklerinden izole edilen *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 ile *stx1* ve *stx2* gen varlıklarının dağılımı (karkas örneği için n= 100, rektal örneği için n=100, toplam n=200).

Analiz bulguları çerçevesinde, analiz edilen toplam 100 sığırdan alınan 200 örneğin (100 karkas ve 100 rektum) 49'unda (% 24,5) *E. coli* O157, 3'ünde (%1,5) ise *E. coli* O157:H7 saptanmıştır. İzole edilen 49 *E. coli* O157 izolatının 2 (% 4,08)'sinde yalnızca *stx2*, 35 (%71,42)'inde *stx1* ve *stx2* genlerin her ikisinde saptanırken, 12 (%24,48) izolatta ise bu iki genlerin varlığı saptanamadı. 3 *E. coli* O157:H7 izolatının ise yalnızca karkastan izole edilen 1 (%0,5) *E. coli* O157:H7 izolatında *stx1* ve *stx2* genlerin ikisine de sahip olduğu saptanırken,

diğer iki izolatta bu genlerin varlığı saptanamadı. *E. coli* O157 analiz edilen 100 sığır karkasının 24 (%24)'ünden, 100 rektal svap örneğinin ise 25 (%25)'inden izole edildi. *E. coli* O157:H7 ise sığır karkasının 2' sinden (%2) ve rektal svap örneğinin ise 1 (%1)'inden identifiye edildi. İzolatlarda *stx1* ve *stx2* gen varlıklarını belirlemek amacıyla yapılan multipleks PCR sonuçları Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

İzole edilen 49 (% 24,5) *E. coli* O157 izolatlarının alınan örneklere göre dağılımı ise şöyledir: 8'i sadece sığır karkasından, 9'u sadece rektal svap örneğinden ve 16'şar izolat ise aynı sığırın hem karkas hem de rektal svap örneklerinden izole edildi. *E. coli* O157:H7 ise bir sığırın hem karkas hem de rektal svap örneğinden toplam iki izolat ile bir sığır karkasından identifiye edildi. Sonuç olarak sığır karkasından %2 ve rektal örneklerden %1 oranında identifiye edildi. *stx1* ve *stx2* gen varlığı dağılımı ise, 8 sığır karkasından izole edilen *E. coli* O157 izolatının 2'sinde *stx2*, 3'ünde *stx1* ve *stx2* genlerinin her ikisi de saptanırken, 3 izolatta bu iki genin varlığı saptanamadı. Rektal svap örneklerinden izole edilen 9 *E. coli* O157 izolatının 3 (%3,0)'ünde *stx1* ve *stx2* genlerinin her ikiside saptanırken, 6 izolatta bu iki genin hiçbirisi saptanamadı. Aynı sığıra ait 16'şar karkas ve rektal olmak üzere toplam 32 *E. coli* O157 izolatındaki bu iki gen varlığının dağılımı ise, 14 karkas ve 15 rektal örneğinden izole edilen *E. coli* O157 izolatında *stx1* ve *stx2* genin her ikiside saptanırken, 3'ünde bu iki genin varlığı saptanamadı. Bir başka deyişle, aynı sığıra ait 13'er karkas ve rektal örneğinde bu iki genin her ikiside saptandı. Diğer 3 sığıra ait karkas ve rektal örneklerden izole edilen *E. coli* O157 izolatında ise, 1 sığıra ait karkas ve rektal örneklerden sadece karkastan izole edilen *E. coli* O157 izolatında bu iki gen saptanırken, rektal svap örneğinden izole edilen *E. coli* O157 izolatında saptanamadı. İki sığır karkas ve rektumundan izole edilen *E. coli* O157 izolatlarının sadece rektumlardan izole edilen izolatlarda bu iki gen varlığı saptanırken, karkaslara ait *E. coli* O157 izolatında ise bu iki gen varlığı saptanamadı (Tablo 4.1.).

5. TARTIŞMA

E. coli O157:H7 infeksiyonları için ruminantlar, özellikle de sığırlar ve süt inekleri primer rezervuarlar olarak kabul edilmekte ve sığır populasyonlarında yapılan çalışmalarda *E. coli* O157:H7 prevalansının ABD’nde % 2 - % 45 arasında (Wells ve ark., 1991), İngiltere’de % 4,0 - % 15,7 arasında değiştiği (Chapman ve ark., 1993), çeşitli Avrupa ülkelerinde ise oranın % 1,0-% 13,0 arasında olduğu (Blanco ve ark., 2001) bildirilmektedir.

E. coli O157:H7 serotipi sığır ve süt inekleri dışında sağlıklı koyun, keçi (Wales ve ark., 2005), manda (Galiero ve ark., 2005), domuz, kedi, köpek ve kanatlı hayvanlar gibi evcil hayvanlar (Beutin, 1999b) ile bizonlar, rengineyikleri, ayılar, yavru foklar ve penguenler gibi doğal hayata uyum sağlamış diğer hayvanlardan da izole edilebilmiş ve bu hayvanlar ile yakın temasta bulunan evcil hayvanlara bulaşmanın olabileceği belirtilmiştir (Kudva ve ark., 1996; Mainil, 1999; Wasteson ve ark., 1999; Li ve ark., 2004). Sri Lanka’da diyareli manda yavrularında VTEC’lerin varlığını gösteren ilk araştırmacılar olan Mohammad ve ark. (1985), izole ettikleri VTEC’ler arasında *E. coli* O157 serotipinin bulunmadığını bildirmişlerdir. İtalya’da yetiştirilen ve yaşları 6 aylıktan 18 aya kadar olan 289 mandaya ait rektal dışkı örneğinin incelendiği bir çalışmada, 42 (% 14,5) VT oluşturan *E. coli* O157 serotipi izole edildiği ve mandaların da diğer ruminantlar gibi VTEC’ler için rezervuar olabileceği bildirilmiştir (Galiero ve ark., 2005). Feder ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada 305 domuzdan aldıkları dışkı numunelerini incelemişler ve 18 (%5,9) örnekte *E.coli* O157 bulmuşlardır. Bu örneklerden 6’sı (%2,0) *E.coli* O157:H7 olarak izole edilmiş ve bu 6 örneğinde *stx1* ve *stx2* genlerini içerdiğini saptamışlardır.

Türkiye’de sığır karkaslarında *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 varlığı bir çok çalışmayla ortaya konulmuştur. Yapılan literatür taramaları sonucu mezbahalarda aynı sığırın karkas ve rektal örneklerinde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 ile ilgili bir literatür bilgisine rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmaların dışkı örneklerine ait çalışmalar olduğu görülmektedir. Dünyada ise *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 ile ilgili bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde Nastasijevic ve ark. (2008) kesimhanede sığır karkas, dışkı ve taze etlerde yaptıkları çalışma sonucunda *E. coli* O157:H7’yi sığır dışkısında %2,6, karkasda ise %2,8 oranında izole ettiklerini ve dışkı ve karkasda izole ettikleri izolatların aynı hayvana ait olmadığını bildirmişlerdir. Varela-Hernández ve ark. (2007), Meksika’da bir kesimhanede toplam 258 sığır karkasını zenginleştirme/IMS yöntemiyle şiga toksin üreten *E.coli* O157: H7

ve non-O157 *E. coli* varlığı yönünden analiz etmişler ve sonuçta STEC'i iki (%0,8) karkasda saptadıklarını, bu iki izolatin birinde *stx2*, *eaeA* ve *hly₉₃₃* genlerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 13 karkasın (%5,0) non-motil *E. coli* O157'yi ve 7 (%2,7) karkasın ise *E.coli* O157:H7 ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Carney ve ark. (2006), İrlanda'da bir kesimhanede 132 sığır karkasında zenginleştirme/IMS yöntemini uygulayarak *E.coli* O157'yi 4 (%3,0) sığır karkasında saptadıklarını ve bu izolatların *eaeA*, *hlyA* ve *fliC_{H7}* genlerini içerdiğini bildirmişlerdir. Tutenel ve ark. (2003b), Belçika'da 549 sığır karkası, 71 tavuk karkası ve 85 domuz karkasında *E. coli* O157 varlığının saptanması amacıyla yaptıkları çalışmada bu etkeni 25 (%1,02) sığır karkasından ve bir (% 1,17) domuz karkasından izole ettiklerini tavuk karkasından ise izole edemediklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, sığır karkaslarında izole ettikleri *E. coli* O157 izolatlarının bağlanma ve silinme genine, enterohemorrhagic plazmid ve verotoksine sahip olduğunu da bildirmişlerdir. McEvoy ve ark. (2003) İngiltere'de bir mezbahada yaptıkları çalışmalarında *E.coli* O157:H7'yi 36 karkasın dördünden izole ettiklerini ve tüm izolatlarda *eaeA* ve *hlyA* genin var olduğu, VT1 ve VT2 genlerinin ise negatif olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar izolasyon oranını yaz sonu ve sonbahar aylarında arttığını da bildirmişlerdir. Chapman ve ark. (2001), 1500 sığır karkasının 21'inden (%1,4), 1500 koyun karkasının 10'undan (%0,7) ve 4983 çiğ sığır eti ürünlerinin 22'sinden (%0,44) *E.coli* O157 izole ettiklerini bildirmişlerdir. İzole ettikleri izolatların büyük çoğunluğunun verotoksijenik olduğunu ve *eaeA* geni ile ve 92 kb plazmid yönünden pozitif olduklarını bildirmişlerdir. Guyon ve ark. (2001), Fransa'da bir kesimhanede 255 sığır karkasında IMS yöntemiyle *E.coli* O157:H7' yi sadece bir karkastan izole ettiklerini ve bu izolatta *eae* ve EHEC-*hlyA* patojenite genlerini saptadıklarını, şiga toksin genlerini ise saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Elder ve ark. (2000a), ABD'de bir kesimhanede sığır kesim salonunda kesim prosesindeki üç noktadan aldıkları karkas örneklerinde, iç organlarının çıkarılması öncesi karkasların %87,0'sinin EHEC-0157 pozitif, iç organların çıkarılması sonrasında (antimikrobiyel madde uygulanması öncesi) ise karkasların % 57,0'sinin EHEC O157 pozitif ve proses sonrası karkasta ise %17,0 oranında EHEC-0157 pozitif bulmuşlardır. Araştırmacılar aynı prosesde aynı zamanda fekal örneklerin %72'sinin ve deri örneklerinin de %38,0'inin EHEC O157'yi saptadıklarını ve sonuç olarak, fekal ve derideki prevelansın karkas kontaminasyon derecesi ile direkt ilişkili olduğu ve bu nedenle bu etkenin kontrolünün canlı sığırlarda yapılması gerektiğini vurgulamışlardır. Elder ve ark. (2000b) ile Genevieve ve ark. (2001) tarafından sığır dışkı, deri ve karkaslarından izole edilen *E.coli* O157 izolatlarında sığır infeksiyonu ile karkas kontaminasyonu ve içorganlar çıkarılmadan önce ve proses sonraki (postprocessig) aşamalardaki karkas

kontaminasyonu arasındaki ilişkileri ortaya koyabilmek ve doğrulayabilmek amacıyla izolatlarla PFGE (pulsed-field gel electrophoresis) uygulamışlardır. Sonuç olarak *E.coli* O157 karkas kontaminasyonunun büyük çoğunluğunun aynı grup içindeki hayvanlardan köken aldığını ve aralarında somut ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Barckocy-Gallagher ark. (2003) ise kesimhanede soğutma (chilling) basamağında örneklenen karkasların %1,2' sinde *E. coli* O157:H7'yi izole ettiklerini bildirmişlerdir. ABD'de ticari sığır işleme işletmelerinde antimikrobiyel müdahale uygulamasından sonra, Elder ve ark. (2000c) 330 sığır karkasının %2'sinde O157 STEC belirlerken, Terrance ve ark. (2007a), 326 sığır karkasının %8,3' ünde non-O157 STEC izole etmişlerdir. Kanada'da, Power ve ark. (2000), 125 sığır karkasının %1,6 sında *E. coli* O157:H7'yi izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Türkiye ve dünyada sığırların hemen kesim sonrası rektal svap örneği veya direk dışkı örneği ile yapılmış çalışmalar mevcuttur. Türkiye'de yapılan çalışmaların birinde Akkuş (1996), kontaminasyon kaynağını göstermek amacıyla çalışmasına dahil ettiği 80 sığır dışkı örneğinden 4'ünde (% 5,0) *E. coli* O157:H7 saptadığını bildirmiştir. Çabalar ve ark. (2001), Van'daki sağlıklı süt ineklerinde yaptıkları bir çalışmada 312 dışkı örneğinden izole edilen 235 *E. coli* suşundan sadece 4'ünün *E. coli* O157:H7 olduğunu belirtmişlerdir. Sığır ve koyun dışkılarında *E. coli* O157:H7 prevalansının belirlenmesine yönelik bir başka çalışmada ise 406 sığıra ait rektum mukozasından alınan svap örneğinde, elde edilen 10 izolatin 7'sinin (% 1,7) *E. coli* O157:H7, 3'ünün (% 0,7) ise *E.coli* O157:H' olduğu bildirilmişlerdir. Yılmaz ve ark. (2002), klinik olarak sağlıklı görülen 330 sığır dışkısının 13'ünde (%3,9) *E. coli* O157:H7 'yi izole ettiklerini bildirmişlerdir. Aksoy ve ark. (2005) Kırıkkale'de yaptıkları çalışmalarında toplam 502 hayvanın (406 sığır, 82 koyun ve 14 kuzu) rektum mukozasından svap ile alınan örneklerde; sığırlarda 406 örneğin 10'undan (%2,5), 82 koyun örneğinin ise 1'inden *E.coli* O157 izole ettiklerini ve toplam 10 örneğin 7'sini (%1,7) ise O157:H7 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. *E.coli* O157 suşlarının %63,6'sında shiga toksin (tip I ve II) ürettiklerini saptamışlardır. Aslantaş ve ark. (2006), sığırlarda *E.coli* O157 izolasyon ve karakterizasyonu amacıyla bir yıl süresince Hatay bölgesindeki mezbahalardan kesim sonrası sığır karkaslarından rektal svap örnekleri almışlardır. IMS yöntemi ile analiz edilen örneklerden 77 (%13,6) sinde *E.coli* O157 izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bunlardan 66 tanesinin *E.coli* O157:H7 serotipi ve 11 tanesinde *E.coli* O157:NM olduğunu bildirmişlerdir. Pozitif örneklerde yapılan PCR analizi sonucunda 62 örneğin VT2 genini ve 3 örneğinin VT1 genini içerdiğini saptamışlardır.

Dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilen çalışmaların birinde Davis ve ark. (2006) süt ineklerinde bir yıl boyunca fekal kültürlerinde *E.coli* O157:H7 varlığını saptamak amacıyla incelemişlerdir. Bu amaçla IMS yöntemini kullanmışlar ve örnekleri karşılaştırmalı olarak rektal svap olarak ve direk dışkıdan toplamışlardır. Rektal svap örneğinin (84 pozitif), dışkı örneği (87) kadar hassas olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar IMS yöntemi ile direkt kültür yöntemini de karşılaştırmışlar ve sonuçta IMS yönteminin çok daha hassas olduğu sonucuna varmışlardır. Greequist ve ark. (2005)'da, *E.coli* O157:H7'yi izole etmek amacıyla karşılaştırmalı olarak rektal svap örneği ve dışkı örneğini analiz etmek amacıyla 747 sığırdan rektal svap ve dışkı örnekleri almışlardır. Etkeni rektal mukoza svap örneklerinde %9,5 (n=71), dışkı örneklerinin %4,7 (n=35) oranında saptadıklarını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, *E.coli* O157:H7'nin izolasyonunda mukozal svap örneğinin fekal örneklerle kıyasla çok daha hassas olduğunu bildirmişlerdir. Sheng ve ark., (2004)'da sığırlarda *E.coli* O157:H7 kolonizasyonu için en uygun bölgenin rektum mukozası olduğu ve rektal svap uygulamalarının geleneksel metotlardan daha üstün izolasyon sağladığını bildirmişlerdir. Fegan ve ark (2004) Avustralya'da yaptıkları çalışmada doğada bulunan ve kesimhanede kesim öncesi padoklarda bulunan sığır dışkılarında (n=155) *E.coli* O157'yi belirlemek amacıyla otomatik IMS yöntemini kullanmışlar ve sonuçta doğadaki dışkıların %10'unda ve padoklardakilerin ise %15'inde bu etkeni saptamışlardır. Johnsen ve ark. (2001) Norveç'te 1998-1999 yılları arasında toplam iki yıl boyunca 1541 sığır, 665 koyun ve 1976 domuz bağırsak içeriğini *E.coli* O157:H7 varlığını IMS yöntemini kullanarak incelemişler ve sonuçta 3 sığır, 3 domuz bağırsak içeriğinde saptadıklarını, koyun bağırsak içeriğinde ise saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Bu 6 izolatta Shiga toksin 2 (*stx2*), intimin protein (*eae*) ve H7 flagellum (*fliC-H7*) varlığı saptanmıştır. Ayrıca bir sığır izolatında aynı zamanda *stx1* gen tarafından kodlanan şiga toksin 1'i de saptadıklarını bildirmişlerdir. Bryne ve ark. (2003) ise ABD'de sağlıklı ve mastitis gibi hasta (downer) sütçü sığırların fekal ve doku örneklerini *E.coli* O157:H7 varlığı yönünden incelemişler ve sonuçta hastalıklı hayvanların (10/203, %4,9) sağlıklı hayvanlara (3/201, %1,5) göre daha yüksek oranda izole ettiklerini bildirmişlerdir. Omisakin ve ark. (2003), İngiltere'de kesim sırasında 589 sığır rektumundan aldıkları dışkı örneklerinin 44'ünde *E.coli* O157'yi saptadıklarını, bu izolatlardan 32' sinde *vt2* geni, 39'unda *eaeA* gen ve 5 izolatta da *vt1* geni saptadıklarını bildirmişlerdir. McEvoy ve ark. (2003), İngiltere'de bir mezbahada yaptıkları çalışmalarında *E.coli* O157:H7'yi fekal örneklerde %2,4, rumende %0,8 ve yıkama işlemi sonrası karkaslarda ise % 3,2 oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir. Tüm izolatlarda *eaeA* ve *ehlyA* genlerinin var olduğu, VT1 ve VT2 genlerini ise saptanamadığını bildirmişlerdir. Hussein ve ark. (2003), Nevada'da Eylül –

Ocak ayları arasında 8 çiftlikten kesimhaneye sevk edilmek üzere toplanan sığırların 82'sinde dışkı örneğinde *E.coli* (VTEC) yönünden analiz etmişler ve sonuçta 4 çiftlikten 154 potansiyel VTEC izolatı elde ettiklerini ve bu izolatların 17'sinin VTEC olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir. Bu 17 izolatın 4'ünde *Vtx1* gen, 5'in de *Vtx2* genin var olduğu, ancak her iki gene sahip izolatı saptayamadıklarını bildirmişlerdir.

Ruminantlarda *E. coli* O157:H7'nin kolonizasyonunu izleyen fekal saçılım periyodunun, aralıklı ve kısa süreli olduğu bildirilmektedir. Özellikle, sığırlarda bu periyodun yaşa bağlı olarak değişkenlik gösterdiği, çoğunlukla da genç hayvanlarda yetişkinlere oranla daha uzun süre devam ettiği belirtilmiştir (Cray ve Moon, 1995). Bu görüşe bağlı olarak da *E. coli* O157:H7'nin dışkı aracılığıyla saçılımını etkileyen faktörlere yönelik yapılan çalışmalarda hayvanların yaşının önemi üzerinde durulmuştur. Genellikle, fekal saçılımın ve fekal örneklerden izolasyonun gençler ve yavrularda yetişkinlere oranla daha fazla olduğu belirtilmektedir (Griffin ve Tauxe, 1991; Wells ve ark., 1991). Lahti ve ark. (2003), tarafından yapılan çalışma bulguları da bu görüşü doğrulamaktadır. Yaptıkları çalışmada 604 buzağı ve düve dışkı örneğinin 17'sinden (% 2,8), 662 yetişkin dışkı örneğinin ise sadece 1'inden (% 0,15) *E. coli* O157:H7 izolasyonunu gerçekleştirdiğini bildirmiştir. Aynı bulgu sonuçları Galiero ve ark.'nın (2005) yaptıkları çalışma ile de desteklenmiştir. Araştırmacılar, yaşları 6 aylıktan 18 aylığa kadar olan 289 mandaya ait rektal dışkı örneklerini incelediklerini ve izolasyonun genellikle küçük yaşta hayvanlardan yapıldığını bildirmişlerdir.

E. coli O157:H7 nin patogenezi Shiga-benzeri toksinler Stx1 ve Stx2, intimin ve enterohemolizin gibi farklı virülens faktörlerine bağlıdır (Nataro ve Kaper, 1998). Türkiye'de de bu konu ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların birinde, Yılmaz ve ark. (2006), İstanbul'daki beş ayrı mezbahada yaptıkları çalışmada, sığır dışkı, sığır derisi ve kesim çevresinden (işçi elleri, bıçaklar, sığır bekleme odaları ve zemin) izole ettikleri *E.coli* O157 ve *E.coli* O157:H7 örneklerinde VT1, VT2 ve *eaeA* genlerinin bulunma sıklığını araştırmışlardır. Çalışma çerçevesinde aldıkları örneklerde sırasıyla; dışkı numunelerinin 13'ünde, sığır derisindeki dışkının 8'inde ve kesim çevresi numunelerinin 6'sında olmak üzere toplam 27 örnekte *E.coli* O157:H7 ve dışkı numunelerinin 1'inde ve derinin 4'ünde olmak üzere 5 örnekte *E.coli* O157'yi, toplamda ise 32 örnekte O157:H7 ve O157 izole ettiklerini bildirmişlerdir. Multiplex-PCR ile incelenen *E.coli* O157:H7 pozitif örneklerden tamamında *eaeA* geni bulunurken, 24'ünde VT2 ve sadece 5'inde VT1 saptamışlardır. Yine multiplex PCR ile incelenen *E.coli* O157 pozitif örneklerden tamamında *eaeA* geni

saptanırken, 4'ünde VT2 saptanmış, VT1 ise saptanamamıştır. VT1 ve VT2 genlerinin ikisinde bulunduğu izolat bulunamazken, her üç genin bir arada bulunduğu 5 *E. coli* O157:H7 örnek olduğu bildirilmiştir. Varela-Hernandez ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada 258 karkastan toplam 146 *E. coli* O157:H7 (n=11), *E. coli* O157:NM (n=16) ve *E. coli* non-O157 (n=119) izolatı toplamış ve multiplex PCR işlemi ile virulans faktörleri açısından test edilmiştir. Bu 146 izolattan, sadece ikisinde virulans faktörlerine rastlanmıştır. Bu izolatların biri serotip O157:H7'ye karşılık gelmiş ve *stx2*, *eaeA* ve *hly933* genleri göstermiştir. Diğer izolat *E. coli* non-O157ye karşılık gelmiş ve yalnızca *stx1* geni göstermiştir. Bu izolatların her biri farklı bir karkastan alınmıştır. Diğer çalışmalarda, sığır karkaslarından elde edilen *E. coli* O157 izolatlarının çoğunun *stx1*, *stx2* ve *eae* pozitif olduğu ortaya konmuştur (Elder ve ark., 2000; Barckocy-Gallagher ve ark., 2003; McEvoy ve ark., 2003). Fakat aynı zamanda dışkı ve sığır karkaslarından virülens faktöre sahip olmayan *E. coli* O157:H7 suşları da izole edilmiştir (Cerqueira ve ark., 1999; Genevieve ve ark., 2000; Guyon ve ark., 2001; Rogerie ve ark., 2001). Bu ana virulens faktörlerine sahip olmayan izolatlar patojenik olarak kabul edilmemekle birlikte (Melton-Celsa ve ark., 1995), ne *eaeA* ne de pO157 plazmid içermeyen non-O157 *E. coli* izolatlarının insan hastalıklarıyla alakalı olduğu belirlenmiştir (Willshaw ve ark., 1993; Johnson ve ark., 1996; Paton ve Paton, 1998). Bu çalışmada ise *E. coli* 157 ve *E. coli* 157:H7 izolatlarında virulens faktörlerden şigatoksin üretiminden sorumlu *stx1* ve *stx2* gen varlıkları yönünden de araştırılmış ve sonuçta *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izolatların hiçbirinden yalnız *stx1* genine sahip olmadığı, 3 *E. coli* O157:H7 izolatından sadece 1 (karkastan izole edilen) izolatın *stx1* ve *stx2* olmak üzere her iki gene sahip olduğu görülmektedir. *E. coli* O157 izolatlarında ise yalnız *stx2* genine sahip olan toplam 2 *E. coli* O157 izolatın var olduğu ve bu iki izolatında karkastan izole edilen izolatlar olduğu, diğer 35 izolatta ise ortak iki gene (*stx1* ve *stx2*) sahip olduğu, 12 *E. coli* O157 izolatta ise bu iki genin hiçbirine sahip olmadığı görülmektedir. Bu çalışma sonuçları ile Türkiye'den ve dünyada yapılan diğer çalışma bulguları sonucu sığır karkaslarının ve dışkılarının *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği, izolatlarda hastalıkta önemli role sahip virulens genleri taşıdığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda yalnız *stx2* genine sahip izolatların *stx1* ve *stx2* ortak genlere sahip olanlardan daha virulans olduğu çok daha kötü prognozla sonuçlandığını göstermektedir (Eklund, 2005). Epidemiyolojik çalışmalar HUS'un gelişmesinde Stx2'nin Stx1'den daha önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır (Griffin, 1995). Bu çalışmada da yalnız *stx2* genine sahip 2 *E. coli* O157 izolatı saptanmıştır.

Türkiye’den bildirilen çalışmalarda sığır karkasına ait herhangi bir veri bulunamamıştır. Bu çalışmada ise analiz edilen toplam 100 sığır karkasından *E.coli* O157 ve *E.coli* O157:H7 olarak toplam 26 (%26) karkastan izole edilirken, bu izolatların 24’ü (%24) *E.coli* O157, 2’si ise (%2) *E.coli* O157:H7 olarak identifiye edilmiştir. Dünya’da yapılan çalışmalar sonucunda ise sığır karkaslarından *E. coli* O157 %1,4 ila %17 arasında, non-motil *E.coli* O157 %5, *E.coli* O157:H7 ise %0,39 ila %11,11 oranında izole edildiği bildirilmiştir (Elder ve ark., 2000; Power ve ark., 2000; Chapman ve ark., 2001; Guyon ve ark., 2001; Genevieve ve ark., 2001; Barckocy-Gallagher ark., 2003; Tutenel ve ark., 2003a; McEvoy ve ark., 2003; Carney ve ark., 2006; Varela-Hernández ve ark., 2007; Terrance ve ark., 2007b). Dışkı örneklerinde yapılan çalışmalarda ise bu çalışma bulgularının sonucu izole edilen *E. coli* O157 izolasyon oranı dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilen izolasyon oranından daha yüksek oranda olduğu görülmektedir. Bu çalışmalardan Türkiye’de yapılanlarında *E.coli* O157 %2,5 ila %13,6 oranlarında, *E.coli* O157:H7 ise %1,28 ila %5 arasında izole edildiği (Akkuş, 1996; Çabalar ve ark., 2001; Aksoy ve ark., 2004 ; Aslantaş ve ark., 2006) dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilen çalışmalarda ise *E.coli* O157 %1.5 ila %15 oranında, *E.coli* O157:H7’yi ise % 0,19 ila %9,5 oranında izole ve identifiye edildiği bildirilmiştir (Johnsen ve ark., 2001; Bryne ve ark., 2003; Sheng ve ark., 2004; Fegan ve ark., 2004; Greequist ve ark., 2005). Yapılan bu çalışmada ise %25 oranında *E.coli* O157, %1 oranında ise *E.coli* O157:H7 izole edilmiştir. *E. coli* O157 izolasyon oranı sığır karkaslarında olduğu gibi bildirilen değerlerden oldukça yüksek bulunmuştur.

Çalışma bulguları arasındaki farklılıkların kullanılan izolasyon yönteminden, coğrafik farklılıktan, kesimhane koşullarından, kesimhanede kesim hattı boyunca antimikrobiyel maddelerin kullanılıp kullanılmadığından, kesilen hayvanların yaşından, cinsiyetinden ve mevsimsel farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Varela-Hernández ve ark. (2007)’de çalışmalar arasında gözlenen prevalans farklılıklarını farklı örnekleme ve izolasyon prosedürleri ve örneklenen popülasyonların çeşitliliğine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

E. coli O157 ve *E. coli* O157:H7 prevalansına etkili faktörlerden biriside iklim faktörü olabilir. Nitekim Varela-Hernández ve ark. (2007) yaptıkları çalışma sonucunda sığır karkaslarında *E. coli* O157:H7, *E. coli* O157:NM veya *E. coli* non-O157 saptanma frekansında mevsim etkisini gösterdiğini ve ılık aylarda (Mart- Eylül arası) bu organizmalar açısından 15 karkas (%5,8) pozitif bulunurken, 6 karkas (%2,3) soğuk aylarda (Ekim-Şubat arası) *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O157:NM için pozitif bulunduğunu bildirmişlerdir (p0.05).

Bu bulgular, bahar ve yaz aylarında iç organlar çıkarılmadan önceki karkaslarda daha yüksek *E. coli* O157:H7 prevalansı bulan Barckocy-Gallagher ve ark. (2003)'nin yaptığı çalışma bulgularıyla benzeşmektedir. Yapılan bu çalışmada da örnekler Aralık, Ocak, Şubat ve Mart olmak üzere toplam 4 ay süresince toplanmış olup, izolasyon oranının özellikle Mart döneminde pik yaptığı saptanmıştır. Bu bulgu Barckocy-Gallagher ve ark. (2003) ve Varela-Hernández ve ark. (2007)'nin bildirdiği sonuçlarla benzerlik göstermektedir. McEvoy ve ark. (2003) ise *E. coli* O157:H7 izolasyon oranını yaz sonu ve sonbahar aylarında arttığını bildirmişlerdir. Chapman ve ark. (2001) ise yukarıdaki görüşlerin aksine hayvanlardan, karkaslardan ve et örneklerinden en yüksek *E. coli* O157 izolasyon oranının yaz aylarında ortaya çıktığını rapor etmişlerdir. CDC (1997) ise *E. coli* O157:H7 ve non-O157 STEC hastalığının insan olguları çoğunlukla daha ılık aylarda pik yapmaya eğilimli olduğunu bildirmişlerdir .

E. coli O157 ve *E. coli* O157:H7 izolasyonunda etkili faktörlerden bir diğeri de izolasyonda kullanılan yöntemdir. Bu çalışmada yöntem olarak zenginleştirme-IMS yöntemi, zenginleştirme işlemi 41,5 °C agar olarak da CT-SMAC kullanılmıştır. Okrend ve ark. (1992) ile Weagant ve ark. (1995), IMS tekniğinin daha hassas, spesifik ve hızlı tarama ile sonuçlanan tekniklerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Bu metodun March ve Ratman (1989) tarafından geliştirilen sorbitol MacConkey agar (SMAC) ile ilişkili olarak kullanılması ve cefixime ve potassium tellurite (CT-SMAC) içeren bu agarın modifikasyonun kullanılmasıyla *E. coli* O157 kolonilerin tanımlanmasının kolaylaştığı ve hassasiyetin çok daha arttığı bildirilmektedir (Zadik ve ark., 1993). Yapılan çalışmalarda zenginleştirme-IMS kombinasyonunun *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izolasyonunda zenginleştirme-plağa ekim yöntemine kıyasla çok daha hassas olduğu bildirilmiştir (Chapman ve ark., 1994; Bennett ve ark., 1996; Fratamico ve ark., 2000; Tutenel ve ark., 2003a). Bu çalışma bulguları da bu sonucu doğrulamaktadır. Nitekim Tutenel ve ark. (2003a), yaptığı metot karşılaştırmasında, yalnız IMS metodu ile *E. coli* O157 12 karkasdan izole edilirken, zenginleştirme-plağa ekim yöntemiyle ise 8 karkasdan *E. coli* O157 ve non-O157 STEC izole edildiği, yalnızca bir karkastan her iki metodla *E. coli* O157'yi izole edildiğini bildirmişlerdir. IMS prosedürü için etkinlik oranı 0,62 iken, zenginleştirme-plak prosedürü için bu oran 0,43 olarak bulunmuştur. Bu bulgu sığır karkaslarına inoküle edilen *E. coli* O157:H7'yi elde ederken bu iki metodu kıyaslayan Sanderson ve ark. (1999) 'un raporuyla da uyumludur.

E. coli O157:H7 serotipinin çeşitli gıdalar, fekal numuneler ve diğer klinik ve çevre örneklerinde aranması ve teşhisine yönelik çeşitli kategorilere ayrılmış farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler; serotipin biyokimyasal özelliklerine dayanan kültürel uygulamalar ile gelişmiş tekniklerin kullanıldığı uygulamaları içermektedir (Park ve ark., 1999). Sığır orijinli fekal örneklerde *E. coli* O157:H7 tespiti, bakteri sayısının çok düşük olmasından dolayı oldukça güçtür. Örneklerden petrilere direkt ekim yönteminin sensitivite açısından yetersiz bulunması, farklı zenginleştirme kültürleri ve izolasyon tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur (Chapman, 2000; Tutenel ve ark., 2003a). *E. coli* O157:H7'nin teşhis ve izolasyonuna yönelik çok çeşitli teknikler olmasına rağmen, önerilen herhangi bir standart prosedür bulunmamaktadır (Tutenel ve ark., 2003a). Yapılan çalışmalarda izolasyon şansını artırabilmek için incelenecek örneklerin taze olması ve laboratuvara zaman geçirilmeden soğuk zincirde ulaştırılması gerektiği önerilmektedir (Chapman, 2000). Harrigan (1998), düşük miktarlardaki *E. coli* O157:H7 saptanmasında zenginleştirme işlemi yapılmasının gerekli olduğunu belirtmiştir. Zenginleştirme işleminden sonra izolasyon işlemi için katı besiyerine ekim gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada katı besiyeri olarak içerisine Cefixime-Potasyum Tellurit ilave edilmiş Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC) kullanılmıştır. Nataro ve Kaper (1998), *E. coli* O157:H7'nin izolasyonunda yaygın olarak kullanılan agar ortamının SMAC Agar olduğunu ve MacConkey ile aradaki farkın MacConkey'deki laktozun yerine %1 sorbitol içermesi olduğunu bildirmiştir. *E. coli* O157:H7 gibi sorbitolü fermente edemeyen koloniler bu ortam üzerinde renksiz olarak ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, SMAC çok seçici olmayıp, gıda testleri için daha az etkili olduğu saptanmıştır. Çünkü normal flora bakterileri var olan O157:H7 suşlarını kolaylıkla baskılayabilmektedir. SMAC'a Potasyum Tellurit ve Cefixime ilavesi sayesinde, *E. coli* O157:H7 izolasyonu için oldukça seçici CT-SMAC agar geliştirilmiştir (Tomayasu, 1998). Cefixime ve Potasyum Tellurit içeren SMAC (CT-SMAC), Stx-üreten *E. coli* O157:H7 ve *Shigella sonnei* suşlarının büyümesine fırsat verirken, diğer *E. coli* suşlarının çoğunun büyümesini inhibe etmektedir (Nataro ve Kaper, 1998). *Morganella* ve *Hafnia* gibi sorbitolü fermente edemeyen suşlar CT-SMAC üzerinde *E. coli* O157:H7 kolonilerine benzer bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bir sonraki aşama seçici katı besiyerinden izole edilen süpheli kolonilerin doğrulanmasıdır. Tutenel ve ark.'nın (2003b) doğal infekte sığır dışkılarından *E. coli* O157:H7 izolasyonu için kullanılan yöntemlerin duyarlılığını araştırdıkları bir çalışmada, ön zenginleştirme amaçlı kullanılan novobiocin katkılı mTSB'de 6 saatlik bir inkübasyonun, 24 saatlik inkübasyondan çok daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, kullanılan çeşitli selektif-diferansiyel besiyerleri içerisinde en uygun ve en

duyarlı olanının CT-SMAC agar olduğu vurgulanmıştır. Zadik ve ark.'nın (1993) besiyerlerine yönelik yaptığı bir çalışmada, CT-SMAC agarın, VT oluşturmayan diğer *E. coli*'lerin üremesini % 67 oranında, *Proteus spp.*, *Aeromonas spp.*, *Morganella spp.* ve *Providencia spp.*'nin üremesini % 97 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir. Wells ve ark. (1991), 1266 sağlıklı süt ineği dışkısında *E. coli* O157:H7 izolasyonuna yönelik mTSB ve SMAC agar kullandıkları ve mTSB'de 24 saatlik bir ön zenginleştirme uyguladıkları bir çalışmada, 18 (% 1,4) örnekte izolasyon yaptıklarını bildirmişlerdir. Yunanistan'da koyun, keçi ve sığırları kapsayan 351 çiftlik hayvanına ait rektal svap örneğinde, novobiocin katkılı mTSB ve CT-SMAC agar gibi standart kültürel yöntem kullanılarak yapılan *E. coli* O157:H7'ye yönelik izolasyon çalışmasında sadece 1 (% 0,2) örnekte izolasyon yapılabildiği belirtilmiştir (Dontorou ve ark., 2004). Galiero ve ark.'nın (2005), İtalya'da manda dışkı örneklerinde verotoksijenik *E. coli* O157 izolasyonuna yönelik yaptıkları çalışmada, TPS'de 6 saatlik ön zenginleştirme sonrası uygulanan IMS yöntemi ile 289 örnekte 42'sinde (% 14,5) izolasyon gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Türkiye'de Yılmaz ve ark., (2004) 28 mandanın rektum ve karkaslarından aldıkları svap örneklerini modifiye *E. coli* broth (mEC broth) içerisinde $41,5 \pm 0,5$ °C'de 18-24 saat inkübe etmiş, sonrasında IMS yöntemi uygulamış, fakat şüpheli izolatların hiçbirinin *E. coli* O157:H7 olmadığını belirtmiştir.

İzolasyonda etkili faktörlerden bir yaş, bir diğeri ise cinsiyet faktörleri olabilir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda yaşa bağlı izolasyon oranları çoğunlukla birbiriyle uyum göstermektedir. Yılmaz ve ark. (2002), sığırlarda yaptıkları çalışmada, izolasyonun genellikle 2 yaşlı hayvanlardan yapıldığını bildirmiştir. Aksoy ve ark.'nın (2004), sığırlarda yaptıkları bir çalışmada, 3 yaşın altındaki hayvanlardan izolasyonun daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Akkuş (1996), 20 genç ve 60 erişkin sığır dışkı örneğinden 4'ünde (% 5) *E. coli* O157:H7 saptadığını, bunlardan 1'inin genç sığır, 3'ünün de erişkin sığır dışkı örneklerine ait olduğunu bildirmiştir. Cinsiyetin *E. coli* O157:H7 izolasyonu üzerine etkisine ilişkin yapılan çalışmaların birinde Yılmaz ve ark. (2002), 231 erkek ve 99 dişi hayvanda *E. coli* O157:H7'ye rastlanma sıklığını araştırdıklarını ve sonuçta 11 erkek ve 2 dişi hayvanda izolasyon gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir. Aksoy ve ark. (2004) da yaptıkları bir çalışmada benzer şekilde erkek hayvanlardan izolasyonun daha yüksek olduğunu belirtmiştir.

Çalışmalarında *E. coli* O157 için belirlenen daha yüksek izolasyon frekansı antimikrobiyel müdahalenin olmamasına ve suyla yıkamanın karkas yüzeyinden

kontaminasyonu uzaklaştırmaya yetmemesinden de kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. *E. coli* O157:H7 ve diğer STEC suşları doğal olarak karkaslarda bulunmaz fakat kesim işlemi sırasında çapraz-kontaminasyon sonucu ortaya çıkarlar. Deri ve dışkıda patojenin varlığının karkas kontaminasyonu ile doğrudan alakalı olduğu ortaya konmuştur (Elder ve ark., 2000; Gün ve ark., 2003).

Sığır karkaslarının kesim sırasında en önemli kontaminasyon kaynaklarından birisini deri oluşturmaktadır. Bu nedenle kesimhanelerde deri yüzülmesi aşaması kritik kontrol noktası olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada deri üzerindeki dışkı analiz edilmemekle beraber, *E. coli* 157:H7 iki sığır karkası ile bir sığır rektumundan izole edilmiş olması kesimhanede kesim prosesi boyunca çapraz kontaminasyonun meydana geldiğinin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Aynı şekilde Nastasijevic ve ark. (2008)'da kesimhanede *E. coli* O157:H7'yi sığır dışkısında %2,6, karkasda ise %2,8 oranında izole ettiklerini ve dışkı ve karkasda izole ettikleri izolatların aynı hayvana ait olmadığını bildirmişlerdir. Bu konu ile yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi sığırların çiftlikte iken, transport esnasında veya kesim öncesi dışkı ile derileri kirlenmiş sığırların çapraz kontaminasyon ile kesim sırasında karkası *E.coli* O157 veya H7 ile kontamine ettiği bilinmektedir. Bu konu ile yapılmış çalışmaların birinde Arthur ve ark. (2007) sığır karkaslarının kesim sırasında kontamine etmede en önemli kontaminasyon kaynağının deri olduğunu, bu nedenle karkaslarda *E.coli* O157:H7'yi minimize etmek amacıyla kesim öncesi derideki miktarının azaltılması gerektiğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalarında sığırların nakil öncesinde 9'unun derilerinde *E.coli* O157:H7 ile >0,4 cfu/g düzeylerinde var olduğunu, kesimhanede hemen kesim öncesi ise 70'inin oldukça yüksek sayıda bu etkeni saptadıklarını ve sonuç olarak hayvanların çiftlikte ve kesimhaneye nakil sırasında dışkının deriye bulaşması ile *E.coli* O157:H7 izolasyon oranının arttığı ve bu nedenle de kesim işlemleri sırasında karkasları kontamine etmede en önemli kaynağı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Nastasijevic ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, kesim sonrası 71 sığır derisinde 5 ayrı bölgeden 355 svap örnekleri almışlar ve bu örneklerin 20 (%28,2)'sinde *E.coli* O157'yi izole etmişlerdir. Sonuçta sığır derisinin *E.coli* O157 ile karkası kontamine etmede en önemli kaynağı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu etkenin izolasyon oranının derinin kirlilik derecesine, sığırın yaşına, hayvanların köken aldığı bölgeye ve mevsime bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini de bildirmişlerdir. Gün ve ark. (2003), toplam 330 sığır karkasının karın ve bacak bölgelerindeki deri üzerinde bulunan dışkıdan svap yöntemiyle alınan örneklerde *E.coli* O157'yi 12 (%3,6) ve *E.coli* O157:H7'yi ise 8 (%2,4) oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çeşitli araştırmalar ve klinik bulgular hastalıkların giderek arttığını, HIV/AIDS, Ebola hemorajik ateş, Hepatit B ve *E. coli* O157:H7 infeksiyonları gibi yeni hastalıkların ortaya çıkarken, halk sağlığı uygulamasındaki ihmaller sonucunda tüberkülozun yeniden yayılmaya başlaması gibi olumsuzlukları da ortaya koymaktadır. Bu hastalıkların ortaya çıkışında ve yayılmasında ekolojik değişimler, demografik hareketler, insanların ve ticari malların dünya yüzeyinde daha fazla dolaşması, antibiyotiklerde hatalı uygulamalar sonunda mikroorganizmaların direnç kazanması gibi bir çok faktör etkin rol oynamaktadır.

Genel hijyenik kurallara uyulması da infeksiyonlardan korunmada önem taşımaktadır. Bu amaçla başta kesimhaneler olmak üzere tüm gıda üretimi ve işlenmesi ile ilgili yerlerin, fekal kontaminasyon ve bir gıdadan diğerine çapraz kontaminasyon riskinin azaltılması amacıyla sanitize edilmeleri önerilmektedir. Karkasların su veya uygun solüsyonlarla yıkanmasının da fekal materyallerin uzaklaştırılmasında bir dereceye kadar da etkili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, özellikle, çiftlik hayvanları yetiştiriciliği yapılan yerlerde periyodik olarak hayvanlardan dışkı örneği alınarak, *E. coli* O157:H7'ye yönelik izolasyon ve fekal saçılım taramaları yapılması önerilmektedir .

Karkaslarda potansiyel patojenleri azaltmak için antimikrobiyel gelişmelerinin araştırılması, uygulaması ve günümüze uyarlanması çok önemlidir. Bu gelişmelerin GMPs yerine kullanılmayarak, GMPs uygulamasına rağmen varolan patojenlerin azaltılması için kullanılması da çok önemli bir noktadır. Bu alandaki ileri çalışmalar, enfekte hayvanlardan karkas kontaminasyonu ile ilgili riskler hakkında bilgi sağlayacaktır. Ek olarak, beslenmenin, transport ve ahırların yetişkin sığırlarda *E. coli* O157 sayı ve prevalansı üzerindeki etkisini ortaya koymak için ve *E. coli* O157 riskine zincir olarak yaklaşımda değerlendirilmesine yardımcı olması açısından ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Ek olarak, Türkiye'de sığırlarda EHEC varlığı, dağılımı ve özellikleri hakkında daha ileri çalışmalar yapılmalı ve işlem sırasında çapraz kontaminasyonu önlemek için stratejiler geliştirilmelidir.

İnfeksiyonu önlemek için, tarımsal üretimden, gıdaların islenmesi ve hazırlanmasına kadar olan prosesin, her basamağında kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir. Hijyenik kesim uygulamaları ile karkasın dışkı ile kontaminasyon riski azaltılmaktadır. Çiftliklerde, gıda işlek yerlerinde ve kreşlerde çalışan personelin, güvenli gıda sağlama teknikleri, çiğ ve

pişmiş gıdalardan kaynaklanabilen direkt ve indirekt çapraz kontaminasyonlar ve personel hijyeni konularında eğitilmesi, bakterinin insanlara geçişini minimuma indirmede önem taşımaktadır.

İnfeksiyonun yayılmasını engellemek için, özellikle çocukların tuvalet sonrasında, yemek öncesinde, çiftlik hayvanları ve çiğ gıdalarla temastan sonra ellerini sabunla uygun bir şekilde yıkaması sağlanmalıdır

Gıdalarda bulunan EHEC' i elimine etmek için uygulanan en etkili metodun ısıtma (pişirme veya pastörizasyon) olduğu bildirilmektedir. Pastörize edilmemiş süt ürünleri ve meyve suları ile yetersiz pişirilmiş kıyma, et ürünleri ve hamburgerlerin tüketiminden kaçınılmalıdır. Özellikle bu tip gıdalara uygulanan ısı işleminin ürünün her yerinde (merkezi dahil) 70 °C ve üzerinde olması, etin pembe renginin kaybolup gri-kahverengiye dönüşmesi ve et suyunun tamamen uzaklaşması ile yeterli pişirme sağlanabilmektedir

Klorlanmamış suların, içilmemesi veya gıda işlek yerlerindeki ekipmanların yüzey temizliğinde kullanılmaması, klor veya diğer etkili dezenfektanların uygulandığı suların tüketilmesi gerekmektedir. Tahıl, meyve ve sebzelerin sulanmasında kullanılan atık suların belli işlemlerden geçirilmesi önerilmektedir. Şüpheli suların tüketilmeden önce mutlaka kaynatılması sağlanmalı, bunun yanında işlem görmemiş havuz veya göl sularında yüzmenin patojen geçişi için bir risk olduğu öğretilmelidir

Kros kontaminasyon riski yanı sıra, minimal enfektif dozu düşük olduğundan hastalık oluşturma yeteneği yüksek bir mikroorganizma olan *E. coli* O157, hızla artan bir zehirlenme trendi göstermiştir. Bu nedenle, araştırmacılar bu mikroorganizmayı mercek altına almışlar ve çiftlikten sofraya güvenli gıda temini içinde; hijyenik açıdan temiz suyun sağlanması, kros kontaminasyona karşı önlemlerin alınması, işletmenin kurumsal anlayışının geliştirilmesi ve en önemlisi de işletme ve devlet yönetimi arasında multidisipliner bir anlayışı yerleştirerek, veteriner hekim, klinisyen, mikrobiyolog ve gıda teknoloğunun birlikte koordineli çalışmalarının sağlanması önerilmiştir. Sonuç olarak; gıdalardaki kontaminasyon oranı düşük olsa bile hastalık oluşturma yeteneği ve kros kontaminasyon riski yüksek olan *E. coli* O157'den korunmada, ülkemizde de gelişmiş ülkelerde geniş uygulama alanı bulan HACCP yaklaşımının devreye girmesinin ve gıda kodeksinin AB normlarına göre hızla tamamlanarak uygulamaya sokulmasının, toptan, kalıcı ve sağlam bir çözüm getireceği düşünülmektedir.

Geçici önlem olarak; kıymaların önceden büyük miktarda hazırlanmaması ve mümkün olduğunca kısa süre muhafaza edilerek yeterli bir ısıl işleminden sonra tüketilmesi önerilmektedir

E. coli O157:H7 infeksiyonlarına ilişkin teröpatik stratejiler; gastrointestinal sistemdeki ciddi semptomları sınırlandırmak, HUS gibi yaşamı tehdit eden sistemik komplikasyonları önlemek ve infeksiyonun yakın temasla yayılmasını engellemek üzerine kuruludur .

E. coli O157:H7 serotipi antibiyotiklere oldukça dirençlidir ve bu nedenle infeksiyonlarda antibiyotik kullanılması tartışılmaktadır. İskoçya’da yapılan çalışmalar; mide asitliğini düşürücü ilaç ve tesadüfen antibiyotik kullanan bireylerin HUS ve TTP’ye yakalanma risklerinin arttığını ortaya koymuş, ABD’nde de benzer sonuçlar alınmıştır (Wong ve ark.,2000). Japonya’da 1996 yılında görülen ve çoğu okul çocuğu olan 6000 kişinin etkilendiği salgında ise; özellikle, infeksiyonun 7. gününde alınan antidiyarejenik ilaçların infeksiyonu daha da şiddetlendirdiği belirlenmiştir. Bu nedenlerle antibiyotik kullanımı tavsiye edilmemektedir (Park ve ark., 1999).

İnsanlarda Stx oluşturan *E. coli* infeksiyonlarının insidensini ve etkilerini sınırlandırmak amaçlı immunizasyon çalışmaları da bulunmaktadır. Genel olarak, immunizasyona ilişkin iki çeşit yaklaşım üzerinde durulmaktadır. Bunlardan ilki, özellikle, infeksiyonlarda önemli rol oynayan çiftlik hayvanlarının aşılansdır. Fakat hayvan sayısının çok fazla olması bu uygulamayı çoğunlukla geçersiz kılmaktadır. Diğer bir yaklaşım ise, insanların aşılansması yönündedir ve Stx’e dayanan aşılar üzerinde çalışılmaktadır. *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarından korunma amaçlı etkenin inhibisyonu için çeşitli kimyasallar denenmektedir. Bunlardan klor, özellikle içme ve kullanma suları için uygun bulunurken, çeşitli dezenfektanların organik asitlere göre daha etkili olduğu belirtilmektedir .

KAYNAKLAR

- Abdul, A. A., Faruque S. M., Ahmad Q. S., Hossain K. M., Mahalanabis D., and Albert. M. J. (1994). Evaluation of a non-radioactive chemiluminescent method for using oligonucleotide and polynucleotide probes to identify enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Diarrhoeal Disaeses Research*. **12**:113-116.
- Abdul-Raouf, U.M., Ammar, M.S., Beuchat, L.R., (1996). Isolation of *E.coli* O157:H7 from some Egyptian foods. *International Journal of Food Microbiology* . **29**: 423-426
- Acheson, D. W. K., Levine M. M., Kaper J. B., and Keusch, G. T. (1996). Protective immunity to Shiga-like toxin I following oral immunization with Shiga-like toxin I B-subunit-producing *Vibrio cholerae* CVD 103-HgR. *Infection and Immunity*. **64**:355-357
- Agin, T. S., and Wolf, M. K.. (1997). Identification of a family of intimins common to *Escherichia coli* causing attaching-effacing lesions in rabbits, humans, and swine. *Infection and Immunity*. **65**:320-326
- Aksoy, A., İstanbulluoğlu, E., Apan, T.Z., Yıldırım, M., B. Özarslan. (2005). Kırıkkale İli'nde sığır ve koyun dışkılarında *Escherichia coli* O157: H7 prevalansının belirlenmesi. *Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi*. **5**: 3-8.
- Alastair W. S., and Sebastian A. G. B.. (2004). High-Level Genotypic Variation and Antibiotic Sensitivity among *Escherichia coli* O157 Strains Isolated from Two Scottish Beef Cattle Farms. *Applied And Environmental Microbiology*. **70(10)**: 5947–5954
- Albert, M. J., Qadri, F., Haque, A., and Bhuiyan, N. A.. (1993). Bacterial clump formation at the surface of liquid culture as a rapid test for identification of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*. **31**:1397-1399
- Albert, M. J., Ansaruzzaman, M., Faruque, S. M., Neogi, P. K. B., Haider, K., and. Tzipori, S. (1991). An ELISA for the detection of localized adherent classical enteropathogenic *Escherichia coli* serogroups. *Jornal of Infections and Diseases*. **164**: 986-989
- Albert, M. J., Faruque S. M., Faruque A. S., Neogi P. K., Ansaruzzaman M., Bhuiyan N. A., Alam K., and Akbar M. S.. (1995). Controlled study of *Escherichia coli* diarrheal infections in Bangladeshi children. *Journal of Clinical Microbiology*. **33**:973-977
- Albert, M. J., Faruque S. M., Faruque A. S. G., Bettelheim K. A., Neogi P. K. B., Bhuiyan N. A., and Kaper J. B.. (1996). Controlled study of cytolethal distending toxin-producing *Escherichia coli* infections in Bangladeshi children. *Journal of Clinical Microbiology*. **34**: 717-719
- Albert, M. J., Faruque S. M., Ansaruzzaman M., Islam M. M., Haider K., Alam K., Kabir I., and Robins-Browne R.. (1992). Sharing of virulence-associated properties at the phenotypic and genetic levels between enteropathogenic *Escherichia coli* and *Hafnia alvei*. *Journal of Medical Microbiology*. **37**: 310-314

- Allaoui, A., P. J. Sansonetti, R. Ménard, S. Barzu, J. Mounier, A. Phalipon, and C. Parsot. (1995). MxiG, a membrane protein required for secretion of *Shigella* spp. Ipa invasins: involvement in entry into epithelial cells and in intercellular dissemination. *Molecular Microbiology*. **17**: 461-470
- Anderson W., McDowell D.A., Blair I.S., Bishop R.H. (2004). Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. *International Journal of Food Microbiology* **21**: 203–212
- Anon (1984). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology **9th Edition**. Eds. J.G. Holt, N.R. Kreig, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams. Williams&Wilkins, Baltimore, 787 p.
- Anon (1991). Report of WHO Consultation on "Shiga Like Toxin" Producing *Escherichia coli*, With special Emphasis on Zoonotic Aspects. WHO/ CDS/ VHP/ 92. 103 WHO Report, Giessen, Germany, 26 p.
- Anon (1997). Australian Standard for Hygienic Production of meat for Human Consumption (AS 4461: 1997), PO Box 1139, Victoria 3066, Australia.
- Anon (2008) . erişim. http://www.genome.jp/dbget-bin/show_pathway?ko03090
- Anon (2008) erişim. [http:// www. bmc. ub. uni- potsdam. de](http://www.bmc.ub.uni-potsdam.de)
- Ansary, S.E., Kaspar, C.W. (1997). Survey of Retail Cheeses. Dairy Processing Environments and Raw Milk For *Escherichia coli* O157:H7. *Letters In Applied Microbiology*. **25**: 131-134.
- Armstrong, G.L., Hollingsworth, J. and Morris Jr., J.G., (1996). Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiologic Reviews*. **18**: 29–51
- Arriaga, Y. L., Harville B. A., and Dreyfus L. A.. (1995). Contribution of individual disulfide bonds to biological action of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin B. *Infection and Immunity*. **63**: 4715-4720
- Arthur TM, Bosilevac JM, Brichta-Harhay DM, Guerini MN, Kalchayanand N, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. (2007). Transportation and lairage environment effects on prevalence, numbers, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 on hides and carcasses of beef cattle at processing. *Journal of Food Protection*. **70(2)**: 280-6
- Ashkenazi, S., M. Larocco, B. E. Murray, and T. G. Cleary. (1992). The adherence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* to rabbit intestinal cells. *Journal of Medical Microbiology*. **37**:304-309
- Aslantas O., Erdogan S, Cantekin Z., Gulactı I., Evrendilek G. A. (2006). Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from turkish cattle. *International Journal of Food Microbiology*. **106**: 338-342

- Attenborough, M. and Matthews, K.R., (2000). Food Safety through the Meat Supply Chain. *Journal of Applied Microbiology*. **88** : 144S–148S.
- Aubel, D. A., Darfeuille-Michaud A., Martin C., and Joly B. (1992). Nucleotide sequence of the *nfaA* gene encoding the antigen 8786 adhesive factor of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*. **77**: 277-284
- Baldini, M. M., J. P. Nataro, and J. B. Kaper. (1986). Localization of a determinant for HEp-2 adherence by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. **52**: 334-336
- Baldwin, T. J., M. B. Lee-Delaunay, S. Knutton, and P. H. Williams. (1993). Calcium-calmodulin dependence of actin accretion and lethality in cultured HEp-2 cells infected with enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. **61**: 760-76
- Balows, A., W. J. Hausler, K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy. 1991. Manual of clinical microbiology, **5th ed.** American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Banatvala, N., A. R. Magnano, M. L. Cartter, T. J. Barrett, W. F. Bibb, L. L. Vasile, P. Msher, M. A. Lambert-Fair, J. H. Green, N. H. Bean, and R. V. Tauxe. 1996. Meat grinders and molecular epidemiology: two supermarket outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Journal of Infection Diseases*. **173**: 480-483.
- Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, Nou X, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M.(2003). Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and Salmonella in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection*. **66(11)**: 1978-86.
- Barrett, T. J., H. Lior, J. H. Green, R. Khakhria, J. G. Wells, B. P. Bell, K. D. Greene, J. Lewis, and P. M. Griffin. 1994. Laboratory investigation of a multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. *Journal of Clinical Microbiology*. **32**: 3013-3017
- Barrett, T. J., J. H. Green, P. M. Griffin, A. T. Pavia, S. M. Ostroff, and I. K. Wachsmuth. 1991. Enzyme-linked immunosorbent assays for detecting antibodies to Shiga-like toxin I, Shiga-like toxin II, and *Escherichia coli* O157:H7 lipopolysaccharide in human serum. *Current Microbiology*. **23**: 189-195.
- Barrett, T. J., M. E. Potter, and I. K. Wachsmuth. 1989. Continuous peritoneal infusion of Shiga-like toxin II (SLT II) as a model for SLT II-induced diseases. *Journal of Infections and Diseases*. **159**: 774-777
- Barrett, T. J., S. B. Hunter, and B. Swaminathan. 1997. A national network for molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, p. 111. In Abstracts of the 3rd International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* Infections.
- Bauer, M. E., and R. A. Welch. 1996. Characterization of an RTX toxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Infection and Immunity*. **64**:167-175

- Bell, B. P., M. Goldoft, P. M. Griffin, M. A. Davis, D. C. Gordon, P. I. Tarr, C. A. Bartleson, J. H. Lewis, T. J. Barrett, J. G. Wells, R. Baron, and J. Kobayashi. (1994). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the Washington experience. *JAMA*. **272**:1349-1353
- Bell, C., 2002. Approach to the control of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *International Journal of Biology* . **78**: 197-216
- Belongia, E. A., M. T. Osterholm, J. T. Soler, D. A. Ammend, J. E. Braun, and K. L. Macdonald. 1993. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Minnesota child day-care facilities. *JAMA*. **269**: 883-888
- Bender, J. B., C. W. Hedberg, J. M. Besser, D. J. Boxrud, K. L. Macdonald, and M. T. Osterholm. 1997. Surveillance for *Escherichia coli* O157:H7 infections in Minnesota by molecular subtyping. *The New England Journal of Medicine*. **337**: 388-394
- Bennet AR, Macphee S, Betts RP. (1996). The isolation and detection of *Escherichia coli* O157 by use of immunomagnetic separation and immunoassay procedures. *Letters in Applied Microbiology*. **22**: 237-43.
- Benz, I., and M. A. Schmidt. (1992). Isolation and serologic characterization of AIDA-I, the adhesin mediating the diffuse adherence phenotype of the diarrhea-associated *Escherichia coli* strain 2787 (O126:H27). *Infection and Immunity*. **60**:13-18
- Besser, R. E., S. M. Lett, J. T. Weber, M. P. Doyle, T. J. Barrett, J. G. Wells, and P. M. Griffin. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA*. **269**: 2217-2220
- Bettelheim, K. A. 1994. Biochemical characteristics of *Escherichia coli*, p. 3-30. In C. L. Gyles (ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, United Kingdom
- Bettelheim, K. A., Hornitzky, M. A., Djordjevic, S. P., Kuzevski, A. (2003). Antibiotic resistance among verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and non-VTEC isolated from domestic animals and humans. *Journal of Medical Microbiology* . **52**: 155-162
- Beutin L, Geier D, Zimmermann S, Karch H. (1995). Virulence markers of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* strains originating from healthy domestic animals of different species. *Journal of Clinical Microbiology*. **33(3)**: 631-35.
- Beutin, L. (1999). *Escherichia coli* O157 and other types of verocytotoxigenic *E. coli* (VTEC) isolated from humans, animals and food in Germany. 121-145. In: C.S. Stewart, H.J. Flint. *Escherichia coli* O157 in Farm animals. Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Beutin, L., D. Geier, H. Steinrück, S. Zimmermann, and F. Scheutz. (1993a). Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *Journal of Clinical Microbiology*. **31**: 2483-2488

- Beutin, L., S. Aleksic, S. Zimmermann, and K. Gleier. 1994. Virulence factors and phenotypic traits of verotoxigenic strains of *Escherichia coli* isolated from human patients in Germany. *Medical Microbiology and Immunology*. **183**:13-21
- Beutin, L., U. H. Stroehrer, and P. A. Manning. (1993b). Isolation of enterohemolysin (Ehly2)-associated sequences encoded on temperate phages of *Escherichia coli*. *Gene*. **132**: 95-99
- Bidet P., Mariani-Kurkdjian P., Francine Grimont, Naïma Brahimi, Céline Courroux, Patrick Grimont and Edouard Bingen. 2005. Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 isolates causing haemolytic uraemic syndrome in France. *Journal of Medical Microbiology*. **54**: 71–75
- Bilge, S. S., C. R. Clausen, W. Lau, and S. L. Moseley. 1989. Molecular characterization of a fimbrial adhesin, F1845, mediating diffuse adherence of diarrhea-associated *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *Journal of Bacteriology*. **171**: 4281-4289
- Bilge, S. S., J. M. Apostol, Jr., K. J. Fullner, and S. L. Moseley. 1993. Transcriptional organization of the F1845 fimbrial adhesin determinant of *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*. **7**: 993-1006
- Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Rey J., Alonso J.M., Hermoso M., Hermoso J., Alonso M.P., Dahbi G., Gonzalez E.A., Bernardez M.I. and Blanco J.(2003). Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*. **41**: 1351– 1356
- Bisping, W., Amtsberg, G., (1988). Mycobacteria. In: Colour atlas for the diagnosis of bacterial pathogens in animals. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg, p.108-120.
- Bitzan, M., and H. Karch. 1992. Indirect hemagglutination assay for diagnosis of *Escherichia coli* O157 infection in patients with hemolytic-uremic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*. **30**: 1174-1178
- Black, R. E., M. H. Merson, B. Rowe, P. R. Taylor, A. R. M. Abdul Alim, R. J. Gross, and D. A. Sack. 1981. Enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: acquired immunity and transmission in an endemic area. *Bull. W. H. O.* **59**: 263-268
- Black, R. E., M. M. Levine, M. L. Clements, L. Cisneros, and V. Daya. 1982. Treatment of experimentally induced enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhea with trimethoprim, trimethoprim-sulfamethoxazole, or placebo. *Reviews of Infectious Diseases*. **4**: 540-545
- Blum, G., M. Ott, A. Lischewski, A. Ritter, H. Imrich, H. Tschäpe, and J. Hacker. 1994. Excision of large DNA regions termed pathogenicity islands from tRNA-specific loci in the chromosome of an *Escherichia coli* wild-type pathogen. *Infection and Immunity*. **62**: 606-614

- Bokete, T. N., T. S. Whittam, R. A. Wilson, C. R. Clausen, C. M. O'Callahan, S. L. Moseley, T. R. Fritsche, and P. I. Tarr. 1997. Genetic and phenotypic analysis of *Escherichia coli* with enteropathogenic characteristics isolated from Seattle children. *Journal of Infections and Diseases*. **175**:1382-1389
- Bosworth, B. T., Samuel J. E., Moon H. W., O'Brien A. D., Gordon V. M., and Whipp S. C.. (1996). Vaccination with genetically modified Shiga-like toxin IIe prevents edema disease in swine. *Infection and Immunity*. **64**: 55-60
- Bouzari, S., A. Jafari, A. A. Farhoudi-Moghaddam, F. Shokouhi, and M. Parsi. (1994). Adherence of non-enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Journal of Medical Microbiology*. **40**: 95-97
- Brenner, D.J., Fanning, G.R., Miklos, G.V. and Steigerwalt, A.G. (1973). Polynucleotide sequence relatedness among *Shigella* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*. **23**: 1-7
- Brian, M. J., M. Frosolono, B. E. Murray, A. Miranda, E. L. Lopez, H. F. Gomez, and T. G. Cleary. (1992). Polymerase chain reaction for diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection and hemolytic-uremic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*. **30**:1801-1806
- Brown, J. E., Sethabutr O., Jackson M. P., Lolekha S., and Echeverria P.. (1989). Hybridization of *Escherichia coli* producing Shiga-like toxin I, Shiga-like toxin II, and a variant of Shiga-like toxin II with synthetic oligonucleotide probes. *Infection and Immunity*. **57**: 2811-2814
- Brunder, W., Schmidt H., and Karch H.. (1996). KatP, a novel catalase-peroxidase encoded by the large plasmid of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Microbiology* **142**: 3305-3315
- Brunton, J. (1994). Molecular biology and role in disease of the verotoxins (Shiga-like) toxins of *Escherichia coli*, p. 391-404. In V. L. Miller, J. B. Kaper, D. A. Portnoy, and R. R. Isberg (ed.), *Molecular genetics of bacterial pathogenesis*. ASM Press, Washington, D.C.
- Buchanan, R.L., Edelson, S.G., Snipes, K., Boyd, G. (1998). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice by Irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*. **64(11)**: 4533-4535.
- Buchanan, R.L., Edelson, S.G., Boyd, G. (1999). Effects of pH and Acid Resistance on the Radiation Resistance of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection* **762(3)**: 219-228.
- Burnens, A. P., Zbinden R., Kaempf L., Heinzer I., and Nicolet J.. (1994). A case of laboratory acquired infection with *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Medical Microbiology, Virology and Parasitology Infectious Diseases*. **279**: 512-517.

- Byun, M.W., Kwon, O.J., Yook, H.S., Kim, K.S. (1998). Gamma Irradiation and Ozone Treatment for Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Culture Media. *Journal of Food Protection*. **61(6)**: 728-730.
- Byrne, C.M., Erol, I., Call, J.E., Kaspar, C.W., Buege, D.R., Hiemke, C.J., Fedorka-Cray, P.J., Benson, A.K., Wallace, F.M., Luchansky, J.B. (2003). Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from Downer and Healthy Dairy Cattle in the Upper Midwest Region of the United States. *Applied and Environmental Microbiology*. **69(8)**: 4683-4688
- Cabalar M, Boynukara B, Gulhan T, Ekin IH (2001). Van yöresinde sağlıklı görülen süt sığırcılığı işletmelerinde Rotavirus, *E.coli* K99 ve O157:H7'nin varlığı üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*. **25(2)**:191-6.
- Calderwood, S. B., Acheson D. W. K., Keusch G. T., Barrett T. J., Griffin P. M., Strockbine N. A., Swaminathan B., Kaper J. B., Levine M. M., Kaplan B. S., Karch, H., O'Brien A. D., Obrig T. G., Takeda Y., Tarr P. I., and Wachsmuth I. K.. (1996). Proposed new nomenclature for SLT (VT) family. *ASM News*. **62**:118-119.
- Caprioli, A., V. Falbo, F. M. Ruggeri, L. Baldassarri, R. Bisicchia, G. Ippolito, E. Romoli, and G. Donelli. 1987. Cytotoxic necrotizing factor production by hemolytic strains of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. *Journal of Clinical Microbiology*. **25**: 146-149
- Carney E., S.B. O'Brien, J.J. Sheridan, D.A. McDowell, I.S. Blair, G. Duffy. (2006). Prevalence and level of *Escherichia coli* O157 on beef trimmings, carcasses and boned head meat at a beef slaughter plant. *International Journal of Food Microbiology*. **23**: 52-59
- Cebula, T. A., W. L. Payne, and P. Feng. (1995). Simultaneous identification of strains of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and their shiga-like toxin type by mismatch amplification mutation assay-multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. **33**: 248-250
- Centers for Disease Control and Prevention. (1997). Foodborne diseases active surveillance network, 1996. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. **46**:258-261
- Centers for Disease Control. (1993). Update. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers-western United States, 1993. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. **42**: 258-263
- Cerqueira A.M.F., Guth B.E.C., Joaquim R.M. and Andrade J.R.C. (1999). High occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle in Rio de Janeiro State. *Brazil Veterinary Microbiology*. **70**: 111-121
- Chao, K. L., and L. A. Dreyfus. (1997). Interaction of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin B with cultured human intestinal epithelial cells. *Infection and Immunity*. **65**: 3209-3217

- Chapman PA, Wright DJ, Higgins R. (1993e) Untreated milk as a source of verotoxigenic *E. coli* O157:H7. *The Veterinary Record*. **133**: 171-2.
- Chapman, P. A., and C. A. Siddons. (1996). A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from cases of bloody diarrhoea, non-bloody diarrhoea and asymptomatic contacts. *Journal of Medical Microbiology*. **44**: 267-271
- Chapman, P. A., and C. M. Daly. (1989). Comparison of Y1 adrenal cell and coagglutination assays for detection of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Journal of Clinical Pathology*. **42**: 755-758
- Chapman, P. A., and C. M. Daly. (1993a). Evaluation of non-radioactive trivalent DNA probe (LT, ST1a, ST1b) for detecting enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Pathology*. **46**: 309-312
- Chapman, P. A., D. J. Wright, and C. A. Siddons. (1994). A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from bovine faeces. *Journal of Medical Microbiology*. **40**: 424-427
- Chapman, P.A., Cerdan Malo, A.T., Ellin, M., Ashton, R., Harkin, M.A., (2001). *E.coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *International Journal of Food Microbiology*. **64**: 139-150
- Chapman, P.A., Siddons, C.A., Cerdan Malo, A.T., Harkin, M.A., (1996). Lamb products as a potential source of *E.coli* O157. *The Veterinary Record*. **26**: 427-428
- Chapman, P.A., Siddons, C.A., Wright, D.J., Norman, P., Fox, J., Crick, E. (1993b). Cattle as a possible source of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 infections in man. *Epidemiology and Infection*. **111**: 439-447.
- Chart, H., and B. Rowe. (1993). Antibody cross-reactions with lipopolysaccharide from *E. coli* O157 after cholera vaccination. *Lancet*. **341**:1282
- Chart, H., H. R. Smith, S. M. Scotland, B. Rowe, D. V. Milford, and C. M. Taylor. (1991). Serological identification of *Escherichia coli* O157:H7 infection in haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. **337**:138-140
- Clavero, M.R.S., Monk, J.D., Beuchat, L.R., Doyle, M.P. (1994). Inactivation of *E. coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *C. jejuni* in Raw Ground Beef by Gamma Irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*. **60(6)** : 2069-2075.
- Cimolai, N., S. Basalyga, D. G. Mah, B. J. Morrison, and J. E. Carter. 1994. A continuing assessment of risk factors for the development of *Escherichia coli* O157:H7-associated hemolytic uremic syndrome. *Clinical Nephrology*. **42**: 85-89.
- Cobeljic, M., B. Miljkovic-Selimovic, D. Paunovic-Todosijevic, Z. Velickovic, Z. Lepsanovic, D. Savic, R. Ilic, S. Konstantinovic, B. Jovanovic, and V. Kostic. (1996).

- Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with an outbreak of diarrhoea in a neonatal nursery ward. *Epidemiology and Infection*. **117**:11-16
- Cody, S.H., Glynn M.K., Farrar, J.A., Cairns, K.L., Griffin, P.M., Kobayashi, J, Fyfe, M, Hoffman, R, King, A.S., Lewis, J.H., Swaminathan, B, Bryant, R.G., Vugia, D.J.. (1999). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Annals International Medicine*. **130(3)**: 202-9.
- Coia, J.E., Johnstan, Y., Steers, N.J., Hanson, M.F., (2001). A survey of the prevalence of *E.coli* O157 in raw meats, raw cow' milk and raw-milk cheeses in South-east Scotland. *International Journal of Food Microbiology*. **66**: 63-69
- Cope, L. D., S. Lumbley, J. L. Latimer, J. Klesney-Tait, M. K. Stevens, L. S. Johnson, M. Purven, R. S. Munson, Jr., T. Lagergard, J. D. Radolf, and E. J. Hansen. (1997). A diffusible cytotoxin of *Haemophilus ducreyi*. *Proceedings of the National Academic of Science* . **94**: 4056-4061
- Crane, J. K., and Oh J. S.. (1997). Activation of host cell protein kinase C by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. **65**: 3277-3285
- Cravioto, A., R. E. Reyes, F. Trujillo, F. Uribe, A. Navarro, J. M. de la Roca, J. M. Hernandez, G. Perez, and V. Vazquez. (1990). Risk of diarrhea during the first year of life associated with initial and subsequent colonization by specific enteropathogens. *American Journal of Epidemiology*. **131**: 886-904
- Cray, W.C. and Moon, H.W., (1995): Experimental infection of calves and adult cattle with *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology* . **61**:1586-1590.
- D'Aoust J.-Y., Park C. E., Szabo R. A. and Todd E.C.D.. (1988). Thermal Inactivation of *Campylobacter* Species, *Yersinia enterocolitica*, and Hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Fluid Milk. *Journal of Dairy Science*. **71(12)**: 3230-3236
- Davis M. A., Daniel H. Rice, Haiqing Sheng, Dale D. Hancock, Thomas E. Besser, Rowland Cobbold and Carolyn J. Hovde. (2006). Comparison of Cultures from Rectoanal-Junction Mucosal Swabs and Feces for Detection of *Escherichia coli* O157 in Dairy Heifers . *Applied And Environmental Microbiology*. **72(5)**: 3766–3770
- Debroy, C., J. Yealy, R. A. Wilson, M. K. Bhan, and R. Kumar. (1995). Antibodies raised against the outer membrane protein interrupt adherence of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. **63**: 2873-2879
- Desmarcheiler, P.M. (1997). *Escherichia coli*. In: A.D. Hocking, G. Arnold, I Jenson, K. Newton, P. Sutherland (eds) *Foodborne Microorganisms of Public Healty Significance*, **5th ed.**, AIFST Microbiology Group, 233-264
- Dion, P., Charbonneau, R., Thibault, C. (1994). Effect of Ionising Dose Rate on the Radioresistance on some Food Pathogenic Bacteria. *Canada Journal of Microbiology* **40(5)**: 369-374.

- Donnenberg, M. S., A. Donohue-Rolfe, and G. T. Keusch. (1989). Epithelial cell invasion: an overlooked property of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) associated with the EPEC adherence factor. *Journal of Infection and Diseases*. **160**: 452-459
- Donnenberg, M. S., and J. P. Nataro. (1995). Methods for studying adhesion of diarrheagenic *Escherichia coli*. *Methods Enzymology*. **253**: 324-336
- Donnenberg, M. S., and R. A. Welch. (1996). Virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli*, p. 135-174. In H. L. T. Mobley, and J. W. Warren (ed.), Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management. *American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
- Donnenberg, M. S., J. Yu, and J. B. Kaper. (1993a). A second chromosomal gene necessary for intimate attachment of enteropathogenic *Escherichia coli* to epithelial cells. *Journal of Bacteriology*. **175**: 4670-4680.
- Donnenberg, M. S., S. B. Calderwood, A. Donohue-Rolfe, G. T. Keusch, and J. B. Kaper. (1990). Construction and analysis of TnphoA mutants of enteropathogenic *Escherichia coli* unable to invade HEP-2 cells. *Infection and Immunity*. **58**:1565-1571
- Donnenberg, M. S., S. Tzipori, M. L. McKee, A. D. O'Brien, J. Alroy, and J. B. Kaper. (1993b). The role of the eae gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in intimate attachment in vitro and in a porcine model. *The Journal of Clinical Investigation*. **92**: 1418-1424
- Donta, S. T., H. W. Moon, and S. C. Whipp. (1974). Detection of heat-labile *Escherichia coli* enterotoxin with the use of adrenal cells in tissue culture. *Science*. **183**: 334-336
- Dontorou A., Papadopoulou C., Filioussis G., Apostolou I., Economou V., Kansouzidou A. and Levidiotou S. (2004). Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. **27**: 201– 207.
- Dorn CR, Angrick EJ. (1991). Serotype O157:H7 *Escherichia coli* from bovine and meat sources. *Journal of Clinical Microbiology*. **29(6)**:1225-31.
- Dorn, C.R. 1995. *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **206**:1583-1585.
- Douce, G., C. Turcotte, I. Cropley, M. Roberts, M. Pizza, M. Domenghini, R. Rappuoli, and G. Dougan. (1995). Mutants of *Escherichia coli* heat-labile toxin lacking ADP-ribosyltransferase activity act as nontoxic, mucosal adjuvants. *Proceedings of the National Academic Science*. **92**:1644-1648
- Doyle, M. P., and J. L. Schoeni. (1984). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied and Environmental Microbiology*. **53**: 2394-2396
- Doyle, M.P. (1991). *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *International Journal of Food Microbiology* . **12**: 289-302.

- Doyle, M.P., Schoeni, J.L., (1987). Isolation of *E.coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied and Environmental Microbiology*. **53(10)**: 2394-2396
- DuPont, H. L., and Ericsson C. D.. (1993). Prevention and treatment of traveler's diarrhea. *The New England Journal of Medicine*. **328**:1821-1827
- Dutta, S.C., Deb, A., Chattopadhyay, U.K. and Tsukamoto, T. (2000) Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* including O157:H7 strains from dairy cattle and beef samples marketed in Calcutta, India. *Journal of Medical Microbiology*. **49**: 765–767.
- Eklund, M., (2005). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from Humans in Finland. *Publications of the National Public Health Institute*. 97 p
- Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallagher GA, Koohmaraie M, Laegreid WW. (2000a) Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proceedings of the National Academic Science* . **97(7)**: 2999-3003.
- Elder, R. O., Keen J. E., Siragusa G. R., Barkocy-Gallagher G. A., Koohmaraie M., and Laegreid W. W.. (2000b). Role of *Escherichia coli* O157:H7 Virulence Factors in Colonization at the Bovine Terminal Rectal Mucosa . *Infection and Immunity*. **74(8)**: 4685–4693
- Elder, R.O., Keen J.E., Siragusa G. R., Barkocy-Gallagher G. A., Koohmaraie M., and Laegreid W. W.. (2000c). Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology*. **70**: 63–69
- Erol, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. ISBN: 978-975-00131-0-9. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara.
- Farkas, J. (1998). Irradiation as a Method for Decontamination Food. A Review. *International Journal of Food Microbiology* . **44(3)**: 189-204.
- Farmer III, J.J., Davis, B.R. (1985). H7 Antiserum-Sorbitol Fermentation Medium: A Single Tube Screening Medium for Detecting *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic colitis. *Journal of Clinical Microbiology*. **22(4)** : 620-625.
- Feder I, F. Morgan Wallace, Jeffrey T. Gray, Pina Fratamico, Paula J. Fedorka-Cray, Rachel A. Pearce, Jeffrey E. Call, Richard Perrine, and John B. Luchansky. (2003). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from the gall bladder of inoculated and naturally-infected cattle. *Veterinary Microbiology*. **119**: 339–345
- Fegan N., P. Vanderlinde, G. Higgs and P. Desmarchelier. (2004). The prevalence and concentration of *Escherichia coli* O157 in faeces of cattle from different production systems at slaughter. *Journal of Applied Microbiology*. **97**: 362–370
- Finelli, L., Crayne, E., Dalley, E., Pilot, K. And Spitalny, K.C. (1995). Enhanced detection of

- sporadic *Escherichia coli* O157H7 infection . *MMWR*. **44**: 417-418.
- Fitzmaurice J., M. Glennona, G. Duffy, J.J. Sheridan, C. Carroll, M. Maher .(2004). Application of real-time PCR and RT-PCR assays for the detection and quantitation of VT 1 and VT 2 toxin genes in *E. coli* O157:H7. *Molecular and Cellular Probes*. **18**: 123–132
- Fitzmaurice, J. (2003). Molecular diagnostic assay for *Escherichia coli* O157:H7. Ph.D. Thesis Department of Microbiology, National University of Ireland, University College Galway, Ireland.
- Fode-Vaughan K.A., J.S. Maki–, J.A. Benson and M.L.P. Collins. (2003). Direct PCR detection of *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. **37**: 239–243
- Fratamico P. M., Schultz F. J. and Buchanan R. L. (1992) Rapid isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from enrichment cultures of foods using an immunomagnetic separation method. *International Journal of Food Microbiology*. **12**: 105-113
- Fu Z., Rogelj S., Kieft T.L. (2005). Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 by immunomagnetic separation and real-time PCR. *International Journal of Food Microbiology* . **99**: 47– 57
- Galiero G., Conedera G., Alfano D., Caprioli A. (2005). Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. *Veterinary Record*. **156**: 382-383.
- Genevieve A. B.G, Terrance M. A., Gregory, R. S., James E. K., Elder, R. O., Laegreid, W W and Koohmaraie, M. (2001). Genotypic Analyses of *Escherichia coli* O157:H7 and O157 Nonmotile Isolates Recovered from Beef Cattle and Carcasses at Processing Plants in the Midwestern States of the United States. *Applied And Environmental Microbiology*. **67(9)**: 3810– 3818
- Genevieve A. Barkocy-Gallagher, Terrance M. Arthur, Mildred Rivera-Betancourt, Gill CO, Jones T. (2000). Microbiological sampling of carcasses by excision or swab. *Journal of Food Protection*. **63(2)**: 167-173.
- Gönül A.(1997). Çiğ süt ve peynir örneklerinde enterohemorajik *E. coli*'ye (O157:H7) rastlanma sıklığı. *KÜKEM Dergisi*. **20(2)**: 69–73.
- Greenquist M. A., J. S. Drouillard, J. M. Sargeant, B. E. Depenbusch, Xiaorong Shi, K. F. Lechtenberg and T. G. Nagaraja . (2005). Comparison of Rectoanal Mucosal Swab Cultures and Fecal Cultures for Determining Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Feedlot Cattle. *Applied And Environmental Microbiology*. **71(10)**: 6431–6433
- Griffin, P. M. (1995). *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*, p. 739-761. In M. J. Blaser, P. D. Smith, J. I. Ravdin, H. B. Greenberg, and R. L. Guerrant (ed.), *Infections of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York, N.Y.

- Griffin, P. M., and R. V. Tauxe. (1991). The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiology Reviews*. **13**: 60-98
- Griffin, P. M., L. C. Olmstead, and R. E. Petras. (1990). *Escherichia coli* O157:H7-associated colitis: a clinical and histological study of 11 cases. *Gastroenterology*. **99**:142-149
- Gun, H., Yilmaz,A., Turker,S., Tanlasi,A., H, Yilmaz. (2003). Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157:H7 in Istanbul. *International Journal of Food Microbiology*. **84**: 339-344.
- Guyon R., Dorey F., Malas J.P., Grimont F., Foret J., Rovuire B., Collobert J.F.. (2001). Süperfical Contamination of Bovine carcasses by *Escherichia coli* O157:H7 in a slaughterhouse in Normandy (France). *Meat Science*. **58**: 329-331
- Halkman, A. K., Noveir, M. R., Dogan, H. B., (2001). *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi, Ankara Üniv. Gıda Müh. Bölümü, Ankara, 44 s
- Halkman, A. K., Yılmaz, I., Noveir, M. R., Erdal, N., (1996). Koli Basili O157:H7, *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*. **29 (10)**: 96-99
- Harewood, P., Rippey, S., Montesalvo, M. (1994). Effect of Gamma Irradiation on shelf Life and Bacterial and Viral Loads in Hard-Shelled Clams (*Mercenaria mercenaria*). *Applied and Enviromental Microbiology*. **60(7)** : 2666-2670.
- Harrigan, W.F., (1998). “Laboratory Methods in Food Microbiology” Academic Press, San Diego
- Heuvelink AE, Roessink GL, Bosboom K, de Boer E. (2001). Zero-tolerance for faecal contamination of carcasses as a tool in the control of O157 VTEC infections. *International Journal of Food Microbiology* . **66(1-2)**:13-20.
- Heuvelink, A.E., Zwartkruis-Nahuis, J.T.M., Beumer,R.R., De Boer,E. (1999). Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in meats obtained from retail outlets in the Netherlands. *Journal of Food Protection*. **62**: 1115-1122.
- Hussein H. S., Brandolyn H. Thran, Mark R. Hall, William G. Kvasnicka, And Rodney C. Torell. (2003). Verotoxin-Producing *Escherichia coli* in Culled Beef Cows Grazing Rangeland Forages. *Experimental Biology and Medicine*. **228**: 352–357, 2003
- Jo C., Lee N.Y., Hong S.P., Kim Y.H. and. Byun M.W (2004). Microbial contamination of the food materials for manufacturing Korean laver rolls (Kimbab) and the effect of gamma irradiation. *Journal of Food Science and Nutritions*. **9**: 236–239.
- Johnsen G, Wasteson Y, Heir E, Berget OI, Herikstad H. (2001). *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *International Journal of Food Microbiology* . **65(3)**: 193-200.
- Johnson, W. M., H. Lior, and G. S. Bezanson. (1996). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i: 76. (Letter.)

- Johnson J.L., Rose B.E., Sharar A.K., Ransom G.M., Lattuada C.P. and McNamara A.M. (1995). Methods used for detection and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 associated with a food-borne disease outbreak. *Journal of Food Protection*. **58**: 597–603.
- Johnson,R.P., Cray Jr,W.C. and Johnson,S.T. (1996). Serum antibody responses of cattle following experimental infection with *Escherichia coli* O157:H7. *Infection and Immunity*. **64**: 1879-1883
- Johnson, R.P., Clarke, R.C., Wilson, J.B., Read, S.C., Rahn, K., Renwick, S.A., Sandhu, K.A., Alves, D., Karmali, M.A., Lior, H., McEwen, S.A., Spika, J.S., and Gyles, C.L. (1996). Growing concerns and recent outbreaks involving non-O157:H7 serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*. **59(10)**: 1112-1122.
- Karch H, Bielaszewska M, Bitzan M, Schmidt H. (1999)Epidemiology and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. **34**: 229-43.
- Karmali, M. A., B. T. Steele, M. Petric, and C. Lim. (1985). Sporadic cases of haemolytic uremic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* i: 619-620
- Keene, W. E., J. M. McAnulty, F. C. Hoesly, L. P. Williams, K. Hedberg, G. L. Oxman, T. J. Barrett, M. A. Pfaller, and D. W. Fleming. (1994). A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella sonnei*. *The New England Journal of Medicine*. **331**: 579-584
- Kehl, S. C. (2002). Role of the laboratory in the diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections. *Journal of Clinical Microbiology*. **40(8)**: 2711-2715.
- Khan, A., Yamasaki, S., Sato, T., Ramamurthy, T., Pal, A., Datta, S., Chowdhury, N.R., Das, S.C. et al. (2002a) Prevalence and genetic profiling of virulence determinants of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, beef, and human cases in Calcutta, India. *Emerging Infectious Diseases*. **8**: 54–62.
- Khan, A., Das, S.C., Ramamurthy, T., Sikdar, A., Khanam, J., Yamasaki, S., Takeda, Y. and Balakrish Nair, G. (2002b) Antibiotic resistance, virulence gene, and molecular profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from diverse sources in Calcutta, India. *Journal of Clinical Microbiology*. **40**: 2009–2015.
- Kudva I.T., Patrick G. Hatfield, And Carolyn J. Hovde. (1997). Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* Serotypes Isolated from Sheep. *Journal Of Clinical Microbiology*. **35(4)**: 892–899
- Kuntz, T. B. and Kuntz, S. T. (1999). Enterohemorrhagic *E. coli* infection. Primary Care Update Ob/Gyn. **6**: 192–196

- Lahti E., Ruoho O., Rantala L., Hänninen M., and Honkanen-Buzalski T. (2003). Longitudinal Study of *Escherichia coli* O157 in a Cattle Finishing Unit. *Applied and environmental Microbiology*. **69(1)**:554-561
- Law, D., and J. Kelly. (1995). Use of heme and hemoglobin by *Escherichia coli* O157 and other Shiga-like-toxin-producing *E. coli* serogroups . *Infection and Immunity*. **63**:700-702
- Le Saux, N., J. S. Spika, B. Friesen, I. Johnson, D. Melnychuk, C. Anderson, R. Dion, M. Rahman, and W. Tostowarky. (1993). Ground beef consumption in non-commercial settings is a risk factor for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection in Canada. *Journal of Infections and Diseases*. **167**:500-502
- LeJeune J. T. and Wetzel, A. N. (2007). Preharvest control of *Escherichia coli* O157 in cattle. *Journal of Animal Science*. **85**: E73-E80
- Levine, M. M. (1987) *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of Infections and Diseases*. **155**: 377-389
- Li, Q., Sherwood, J.S. and Logue, C.M. (2004) The prevalence of Listeria, Salmonella, *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 on bison carcasses during processing. *International Journal of Food Microbiology* . **21**: 791–799.
- Louise, C. B., and T. G. Obrig. (1995). Specific interaction of *Escherichia coli* O157:H7-derived Shiga-like toxin II with human renal endothelial cells. *Journal of Infections Diseases*. **172**: 1397-1401.
- Magnuson B.A., Davis M., Hubele S., Austin P.R., Kudva I.T., Williams C.J., Hunt C.W. and Hovde C.J. (2000). Ruminant gastrointestinal cell proliferation and clearance of *Escherichia coli* O157:H7. *Infection and Immunity*. **68**: 3808–3814.
- Mainil, J. (1999). Shiga/verocytotoxins and shiga/verotoxigenic *Escherichia coli* in animals. *Veterinary Research*. **30**: 235-257.
- Manafi M. and Kremsmaier B.(2001) Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting *Escherichia coli* O157:H7 in food. *International Journal of Food Microbiology*. **71**: 257–262
- Massa S., Goffredo E., Altieri C. and Natola K. (1999). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurised milk stored at 8 °C. *Letters in Applied Microbiology* . **28**: 89–92.
- March, S.B. and Ratnam, S. (1989) Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157. *Journal of Clinical Microbiology*. **27**: 1675-1677.
- Martínez AJ, Bossio CP, Durango AC, Vanegas MC. (2007). Characterization of Shiga toxinogenic *Escherichia coli* isolated from foods. *Journal of Food Protection*. **12**: 2843-6.

- Maule, A. (2000). Survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in soil, water and on surfaces. *Proceedings of the Society for Applied Microbiology Symposium*. **29**: 71S–78S.
- McEvoy J.M., A.M. Doherty, J.J. Sheridan, F.M. Thomson-Carter, P. Garvey, L. McGuire, I.S. Blair and D.A. McDowell. (2003). The prevalence and spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a commercial beef abattoir. *Journal of Applied Microbiology*. **95**: 256–266
- Mead PS and Griffin PM. (1998). *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet*. **352**: 1207-12.
- Melton-Celsa A. R , R. A. Moxley, D. H. Francis, and A. D. O'Brien. (1995). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 requires intimin to colonize the gnotobiotic pig intestine and to adhere to HEp-2 cells. *Infection and Immunity*. **63**: 3739-3744.
- Melton-Celsa, A. R., S. C. Darnell, and A. D. O'Brien. (1996). Activation of Shiga-like toxins by mouse and human intestinal mucus correlates with virulence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O91:H21 isolates in orally infected, streptomycin-treated mice. *Infection and Immunity*. **64**: 1569-1576.
- Meng, J. and M. P. Doyle. 1998. Microbiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. In: *E. coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-producing *E. coli*. (J. B. Kaper and A. D. O'Brien, eds.). ASM Press, Washington, DC. Chapter **11**: 92-108.
- Michel P, Wilson J.B, Martin S.W, Clarke R.C, McEwan S.A and Gyles C.L. (1999). Temporal and geographical distribution of reported cases of *E. coli* O157: H7 infection in Ontario. *Epidemiology and Infection*. **122**: 193–200
- Mills, M., and S. M. Payne. (1995). Genetics and regulation of heme iron transport in *Shigella dysenteriae* and detection of an analogous system in *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Bacteriology*. **177**: 3004-3009
- Milon A., Esslinger J. and Camguilhem R. (1992). Oral vaccination of weaned rabbits against enteropathogenic *Escherichia coli*-like *E. coli* O103 infection: use of heterologous strains harboring lipopolysaccharide or adhesin of pathogenic strains, *Infection and Immunity*. **60**: 2702–2709.
- Mohammad, A., Peiris, J.S.M., Wijewanta, E.A., Mahalingam, S. and Gunasekara, G., (1985). Role of verocytogenic *Escherichia coli* in cattle and buffalo calf diarrhoea. *FEMS Microbiology Letters*. **26**: 281–283
- Morgan D, Newman CP, Hiutchinson DN, Walker AM, Rowe B, Majid F (1993). Verotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiology and Infection*. **111**: 181-7.
- Murinda, S.E., Roberts, R.F., Wilson, R.A. (1996). Evaluation of colicins For Inhibitory Activity Against Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains, Including Serotype O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*. **62(9)** : 3196-3202.

- Müller EE and Ehlers MM. (2005). Biolog identification of non-sorbitol fermenting bacteria isolated on *E. coli* O157 selective CT-SMAC agar. *ISSN 0378-4738 = Water SA*. **31**: 247-251
- Nastasijevic I., R. Mitrovic and S. Buncic.(2008). Occurrence of *Escherichia coli* O157 on hides of slaughtered Cattle. *Letters in Applied Microbiology*. **46**: 126–131
- Nataro, J. P. and Kaper, J. B., (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. **11**: 142–201
- Nou X, Shackelford S. D., Wheeler T.L., And Koohmaraie M. (2004). Characterization of O157:H7 and Other *Escherichia coli* Isolates Recovered from Cattle Hides, Feces, and Carcasses. *Journal of Food Protection*. **67(5)**: 993–998
- Nou X., Arthur T. M., Bosilevac J. M., Brichta-Harhay D.M., Guerin M.N., Kalchayanand N., And Koohmaraie M. (2006). Improvement of Immunomagnetic Separation for *Escherichia coli* O157:H7 Detection by the PickPen Magnetic Particle Separation Device *Journal of Food Protection*. **69(12)**: 2870–2874
- Noveir, M. R., Dogan, H. B., Halkman, A. K., (2002). Çesitli Hayvansal Gıdalarda Enterobacteriaceae Üyelerinin Varlığı, *Gıda Dergisi*. **25(6)**: 423-428
- O'Brien S.B., Duffy G., Daly D., Sheridan J.J., Blair I.S. and McDowell D.A..(2005). Detection And Recovery Rates Achieved Using Direct Plate And Enrichment/Immunomagnetic Separation Methods For *Escherichia Coli* O157:H7 In Minced Beef And On Bovine Hide. *Letters in Applied Microbiology*. **41**: 88-93
- O'Brien, A. D., T. A. Lively, M. E. Chen, S. W. Rothman, and S. B. Formal. (1983). *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) like cytotoxin. *Lancet i*: 702
- Ogden ID, Hepburn NF, MacRae M. (2001) The optimization of isolation media used in immunomagnetic separation methods for the detection of *Escherichia coli* O157 in foods. *Journal of Applied Microbiology*. **91(2)**: 373-279.
- Okrend, A. J.G., Rose, B.E., C.P. Lattuada. (1992). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 using O157 specific antibody coated magnetic beads. *Journal of Food Protection*. **55**: 214-217.
- Omisakin, F., MacRae, M., Ogden, I. D., Strachan, N.J.C. (2003). Concentration an prevalance of *Escherichia coli* O157 in cattle feces at slaughter. *Applied and Envirometal Microbiology*. **69(5)**: 2444-2447
- Oporto B., J. I. Esteban, G. Aduriz, R. A. Juste and A. Hurtado. (2008). *Escherichia coli* O157:H7 and Non-O157 Shiga Toxin-producing *E. coli* in Healthy Cattle, Sheep and Swine Herds in Northern Spain. *Zoonoses Public Health*. **55**: 73–81
- Orskov F, Orskov I, Villar JA (1987). Cattle as reservoir of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet*; **2**: 276.

- Osek J. and Gallien P.. (2002). Molecular analysis of *Escherichia coli* O157 strains isolated from cattle and pigs by the use of PCR and pulsed-field gel electrophoresis methods. *Veterinary Medicine. Czech*, **47 (6)**: 149–158
- Öksüz, Ö., Arici M., Kurultay S. and Gümüs T., (2004). Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control*. 15(6): 453-456
- Özbaş, Y., Aytaç, A., (1995). *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiyolojisi, Gıdalarla ilişkisi, Patojenitesi ve izolasyon Yöntemleri, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. **52(1)**: 47-53
- Padhye, N.V. and Doyle, M.P. (1992). *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *Journal of Food Protection*. **55**: 555- 565.
- Palumbo, S.A., Pickard, A., Call, J.E. (1997). Population Changes and Verotoxin Production of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains Inoculated in Milk and Ground Beef Held at Low Temperatures. *Journal of Food Protection* .**60(7)**: 47-50.
- Pao, S., Dhartika Patel, Aref Kalantari, Joseph P. Tritschler, Stephan Wildeus, Brain L. Sayre. (2005). Detection of *Salmonella* Strains and *Escherichia coli* O157:H7 in feces of small ruminants and their isolation with various media. *Applied and Environmental Microbiology*. **71 (4)**; 2158-2161
- Park, S., Worobo, R.B., Durst, M.P. (1999). *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: a literature review. *The objective of Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **39**: 481-502.
- Paton James C. And Paton Adrienne W.. (1998a). Pathogenesis and Diagnosis of Shiga Toxin- Producing *Escherichia coli* Infections. *Clinical Microbiology Reviews*. **11(3)**: 450–479
- Paton Adrienne W. And Paton James C.. (1998b). Detection and Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* by Using Multiplex PCR Assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, Enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. *Journal Of Clinical Microbiology*. **36(2)**: 598–602
- Paton Adrienne W. And Paton James C.. (1999). Direct Detection of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* Strains Belonging to Serogroups O111, O157, and O113 by Multiplex PCR. *Journal Of Clinical Microbiology*. **37(10)**: 3362–3365
- Paton Adrienne W. and James C. Paton . (2005). Multiplex PCR for Direct Detection of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* Strains Producing the Novel Subtilase Cytotoxin. *Journal Of Clinical Microbiology*. **43(6)**: 2944–2947
- Paton, A.W. and Paton,J.C. (1998c). Detection and characterisation of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*,*stx2*, *eaea*, enterohaemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111* , and *rfbO157*. *Journal of Clinical microbiology*. **36**: 598-602.

- Paton, Adrienne W. James C. Paton, Paul N. Goldwater, And Paul A. Manning. (1993). Direct Detection of *Escherichia coli* Shiga-Like Toxin Genes in Primary Fecal Cultures by Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. **31(11)**: 3063-3067
- Paton, J. C., and A. W. Paton. (1996). Survival rate of mice after transient colonization with *Escherichia coli* clones carrying variant Shiga-like toxin type II operons. *Microbiological Pathology*. **20**: 377-383
- Peacock, E., Jacob, V.W., Fallone, S.M. (2001). *Escherichia coli* O157:H7: etiology, clinical features, complications, and treatment. *Nephrology nursing journal*. **28**: 547–50; 553–555
- Peck, M.W., Stringer, S.C., George, S.M. (1999). Thermal Inactivation of *Escherichia coli* O157:92)H7. *Supplied to Journal of Applied Microbiology*. **87(1)**: 11.
- Pell, A.N. (1997). Manure and Microbes: Public and animal health problem. *Journal of Dairy Science*. **11**: 450-479.
- Phillips, C.A., Roscoe, N. (1996). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Beef During Normal Cooking Procedures. *Nutrition and Food Science*. **(2)**: 23-26.
- Pickering, L. K., T. G. Obrig, and F. B. Stapleton. (1994). Hemolytic-uremic syndrome and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. **13**: 459-476.
- Picozzi, C., Foschino, R., Heuvelink, A. and Beumer, R. (2005). Phenotypic and genotypic characterization of sorbitol-negative or slow-fermenting (suspected O157) *Escherichia coli* isolated from milk samples in Lombardy region. *Letters Applied Microbiology*. **40**: 491–496.
- Quantrell, R. J. O., Naylor, S. W., Roe, A. J., Spears, K., Gally, D. L., (2004). EHEC O157:H7 – getting to the bottom of the burger bug. *Society for General Microbiology*. **31**: 126- 128
- Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. (2005). Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerging Infectious Diseases*. **11(4)**: 603-9.
- Reinstein S, Fox JT, Shi X, Alam MJ, Nagaraja TG . (2007). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in the American bison (*Bison bison*). *Journal of Food Protection*. **70(11)**: 2555-60
- Renter, D.G. and Sargeant, J.M. (2002). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:epidemiology and ecology in bovine production environments. *Animal Health Research Reviews*. **3(2)**: 83-94
- Riley, L. W., R. S. Remis, S. D. Helgerson, H. B. McGee, J. G. Wells, B. R. Davis, R. J. Hebert, E. S. Olcott, L. M. Johnson, N. T. Hargrett, P. A. Blake, and M. L. Cohen.

- (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine*. **308**: 681-685
- Riordan, D.C., Duffy, G., Sheridan, J.J., Whiting, R.C., Blair, I.S., McDowell, D.A. (2000). Effect of Acid Adaptation, Product pH and Heating on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Pepperoni. *Applied and Environmental Microbiology*. **66(4)** : 1726-1729.
- Rogerie F., Marecat A., Gambade S., Dupont F., Beaubois P. and Lange M. (2001). Characterization of Shiga toxin producing *E. coli* O157 serotype isolated in France from healthy domestic cattle. *International Journal of Food Microbiology*. **63**:217–223.
- Russell, J.B., Diez-gonzales,F., G.N. Jarvis. (2000). Invited review: Effects of diet shifts on *Escherichia coli* in cattle. *Journal of Dairy Science*. **83**: 863-873.
- Sack RB. (1987) Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *New England Journal of Medicine*. **317(24)**:1535-7.
- Samadpour M, Ongert JE, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam TS, Wilson RA, Tarr PI. (1994) Occurrence of Shiga-like toxin producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Applied and Environmental Microbiology*. **60**: 1038-40.
- Sanderson M. W., S. Sreerama, T. G. Nagaraja. (2007). Sensitivity of Direct Plating for Detection of High Levels of *E. coli* O157:H7 in Bovine Fecal Samples. *Current Microbiology*. **55**: 158-161
- Sanderson M.W., T.E. Besserb, J.M. Gaya, C.C. Gaya, D.D. Hancocka. (1999). Fecal *Escherichia coli* O157:H7 shedding patterns of orally inoculated calves. *Veterinary Microbiology*. **69**: 199-205
- Sandvig, K. and van Deurs, B. (2000). Entry of ricin and Shiga toxin into cells: molecular mechanisms and medical perspectives. *EMBO Journal*. **19(22)**: 5943–5950
- Sayah R. S., Kaneene John B, Johnson Y. and Miller R. (2005). Patterns of Antimicrobial Resistance Observed in *Escherichia coli* Isolates Obtained from Domestic- and Wild-Animal Fecal Samples, Human Septage, and Surface Water. *Applied and Environmental Microbiology*. **71(3)**: 1394–1404
- Scotland, S.M., Willshaw, G.A., Smith, H.R. and Rowe, B. (1987). Properties of strains of *Escherichia coli* belonging to serotype O157 with special reference to production of vero cytotoxins VT1 and VT2. *Epidemiology and Infection* . **99**: 613–624.
- Semanchek, J.J. and Golden, D.A. (1998). Influence of growth temperature on inactivation and injury *Escherichia coli* O157:H7 by heat, acid, and freezing. *Journal of Food Protection*. **61**: 395–401
- Sheng H., Margaret A. Davis, Hannah J. Knecht, and Carolyn J. Hovde (2004). Rectal Administration of *Escherichia coli* O157:H7: Novel Model for Colonization of Ruminants. *Applied And Environmental Microbiology*. **70(8)**: 4588–4595

- Sheng H., Ji Youn Lim, Hannah J. Knecht, Jie Li, and Carolyn J. Hovde. (2006). Role of *Escherichia coli* O157:H7 Virulence Factors in Colonization at the Bovine Terminal Rectal Mucosa. *Infection and Immunity*. **74(8)**: 4685–4693
- Smith, H.R., Scotland, S.M. (1988). Verocytotoxin Producing strains of *E. coli*. *Journal of Medical Microbiology*. **26**:77-85.
- Swerdlow, D. L., B. A. Woodruff, R. C. Brady, P. M. Griffin, S. Tippen, H. D. Donnell, E. Geldreich, B. J. Payne, A. Meyer, and J. G. Wells. (1992). A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. *Annals of Internal Medicine*. **117**: 812-819.
- Tabak, S., (2000). Akut Gastroenterit olgularında Enterohemorajik ve Enterotoksijenik *E. coli* Toksinlerinin Arastırılması, Ankara Üniv. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü Uzmanlık Tezi
- Takeuchi K. and Frank, J.F. (2000). Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *Journal of Food Protection*. **63**: 434–440.
- Taormina P.J. and Beuchat L.R., (1999). Behavior of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa sprouts during the sprouting process as influenced by treatments with various chemicals. *Journal of Food Protection*. **62**: 850–856.
- Tarr, P. I., M. A. Neill, C. R. Clausen, S. L. Watkins, D. L. Christie, and R. O. Hickman. (1990). *Escherichia coli* O157:H7 and the hemolytic uremic syndrome: importance of early cultures in establishing the etiology. *Journal of Infectious Diseases*. **162**: 553-556.
- Temelli S. (2002). Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *E.coli* O157:H7 ve Önemi. Uludag Univ. *Journal of Faculty Veterinary Medicine*. **21**: 133-138
- Terrance M. A, Bosilevac J. M., Dayna M. Brichta-Harhay, Norasak Kalchayanand, Steven D. Shackelford, Tommy L. Wheeler, And Mohammad Koohmaraie (2007a). Effects of a Minimal Hide Wash Cabinet on the Levels and Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on the Hides of Beef Cattle at Slaughter. *Journal of Food Protection*. **70(5)**: 1076–1079
- Terrance M. A., Bosilevac Joseph M., Brichta-Harhay Dayna M., Guerini Michael N., Kalchayanand Norasak, Shackelford Steven D., Wheeler Tommy L., And Koohmaraie Mohammad (2007b) . Transportation and Lairage Environment Effects on Prevalence, Numbers, and Diversity of *Escherichia coli* O157:H7 on Hides and Carcasses of Beef Cattle at rocessing. *Journal of Food Protection*. **70(2)**: 280–286
- Thayer, D.W. and Boyd, G. (1993). Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in Meats by Gamma Irradiation. *Applied and Enviromental Microbiology*. **59(4)** :1030-1034.
- Tomoyasu, T. (1998). Improvement of the Immunomagnetic Separation Method Selective for *Escherichia coli* O157 Strains. *Applied And Environmental Microbiology*. **64 (1)**: 376-382

- Torres, A. G., and S. M. Payne. (1997). Haem iron-transport system in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Molecular Microbiology*. **23**: 825-833
- Tserenpuntsag, B., Chang, H., Smith, P.F. and Morse D.L. (2005). Hemolytic Uremic Syndrome Risk and *Escherichia coli* O157:H7. *Emerging Infectious Diseases*. **11**: 12
- Tutenel A.V., D. Pierard, J. Van Hoof, M. Cornelis, L. De Zutter. (2003a). Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. *International Journal of Food Microbiology*. **84**: 63–69
- Tutenel A.V., Pierard, D., Vandekerchove D., Van Hoof J. and De Zutter L. (2003b), Sensitivity of methods for the isolation of *Escherichia coli* O157 from maturely infected bovine faeces. *Veterinary Microbiology*. **94**: 341–346.
- Tzipori, S., F. Gunzer, M. S. Donnenberg, L. deMontigny, J. B. Kaper, and A. Donohue-Rolfe. (1995). The role of the *eaeA* gene in diarrhea and neurological complications in a gnotobiotic piglet model of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. *Infection and Immunity*. **63**: 3621-3627.
- Varela-Hernández J.J., E. Cabrera-Díaz, M.A. Cardona-López, L.M. Ibarra-Velázquez, H. Rangel-Villalobos, A. Castillo, M.R. Torres-Vitela, A. Ramírez-Álvarez. (2007). Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. *International Journal of Food Microbiology*. **113**: 237–241
- Vernozy-Rozand, C., Ray-Gueniot, S., Ragot, C., Bavai, C., Mazuy, C., Montet, M.P., Bouvet, J., Y. Richard. (2002). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in industrial minced beef. *Letters in Applied Microbiology*. **35**: 7-11.
- Wall PG, McDonnell RJ, Adak GK, Cheasty T, Smith HR, Rowe B. (1996). General outbreaks of Verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in England and Wales from 1992 to 1994. *Communicable Disease Review*. **6**: R26-R33.
- Wadolkowski, E. A., L. M. Sung, J. A. Burris, J. E. Samuel, and A. D. O'Brien. (1990). Acute renal tubular necrosis and death of mice orally infected with *Escherichia coli* strains that produce Shiga-like toxin type II. *Infection and Immunity*. **58**: 3959-3965
- Ware, J.M., Abbott, S.L. and Janda, J.M. (2000) A new diagnostic problem: isolation of *Escherichia coli* O157:H7 strains with aberrant biochemical properties. *Diagnosis Infectious Diseases*. **38**: 185–187.
- Wasteson, Y., Johannessen, G.S., Bruheim, T., Urdahl, A.M., O'Sullivan, K. and Rorvik, L.M. (2005) Fluctuations in the occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 on a Norwegian farm. *Letters in Applied Microbiology*. **40**: 373–377.
- Weagant, S.D., Bryant, J.L., Jnneman, K.G. (1995). An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods. *Journal of Food Protection*. **58**: 7-12.

- Wells J. G., L. D. Shipman, K. D. Greene, E. G. Sowers, J. H. Green, D. N. Cameron, F. P. Downes, M. L. Martin, M. Griffin, S. M. Ostroff, M. E. Potter, R. V. Tauxe, and I. K. Wachsmuth. (1991). Isolation of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 and Other Shiga-Like-Toxin-Producing *E. coli* from Dairy Cattle. *Journal Of Clinical Microbiology*. **15**: 985-989
- Whittam, T. S., and R. A. Wilson. (1988). Genetic relationships among pathogenic *Escherichia coli* of serogroup O157. *Infection and Immunity*. **56**: 2467-2473
- Whittam, T. S., M. L. Wolfe, I. K. Wachsmuth, F. Orskov, I. Orskov, and R. A. Wilson. (1993). Clonal relationships among *Escherichia coli* strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhea. *Infection and Immunity*. **61**:1619-1629.
- Willshaw, G.A., Smith, H.R., Roberts, D., Thirlwell, J., Cheasty, T., B, Rowe. (1993). Examination of raw beef products for the presence of verotoxin producing *Escherichia coli*, particularly those of serogroup O157. *Journal of Applied Bacteriology*. **75**: 420- 426.
- Willshaw, G.A., Thirlwell, J., Jones A.P., Parry, S., Salmon, R.L., Hickey, M., (1994) Verotoxin-producing *E.coli* O157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic uremic syndrome in Britain. *Letters in Applied Microbiology*. **19**: 304-307
- Wong C.S., Jelacic S., Habeeb R.L., Watkins S.L. and Tarr P.I. (2000). The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *New England Journal of Medicine*. **342**: 1930–1936.
- Wray, C., McLauren, I.M., Randall, L.P., Pearson, G.R. (2000). Natural and experimental infection of normal cattle with *Escherichia coli* O157. *Veterinary Recovery*, **147**: 65-68.
- Yılmaz, A., Gün, H., H. Yılmaz (2002). Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish cattle. *Journal of Food Protection*. **65 (10)**: 1637-1640.
- 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 İstanbul. *International Journal of Food Microbiology*. **106**: 213 – 217
- Zadik, P.M., Chapman, P.A. and Siddons, C.A. (1993) Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *Journal of Medical Microbiology*. **39**: 155-158.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılı Ağustos ayında Adana'da doğdum. İlk orta ve lise eğitimini Adana'da tamamladım. Yüksek öğrenime başladığım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1994 yılında mezun oldum. 1995 yılında Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım. Aynı yıl Sağlık Bilimleri Enstitüsü araştırma görevlisi olarak atandım. 1999 yılında yüksek lisans (uzmanlık) tezimi verdim. 1999 ve 2000 yılları arasında Amasya 15. er eğitim tugayında teğmen rütbesi ile gıda müfreze komutanı olarak askerlik hizmetinde bulundum. 2004 yılında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında uzman araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı bölümde görevime devam etmekteyim.