

1. GİRİŞ

Bu bölümde, önce peynir, *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 hakkında genel bilgiler, ardından da peynirlerde *E.coli* ve *E. coli* O157:H7 üzerine daha önce yapılmış olan araştırmalar hakkında bilgiler verilecektir.

1.1. Peynir

Peynir; kaynaklarına göre "çeşitli hayvanlardan (inek, koyun, keçi vb.) elde edilen sütlerin maya veya organik asitler yardımı ile ekşitilmesiyle oluşturulan pıhtının doğrudan ya da çeşitli tat ve koku verici katkıları katılarak; değişik şekillerde işlenmesi sonucu olgunlaştırılan veya olgunlaştırılmadan elde edilen ürün" (Kamber 2005) veya "yağlı süt, krema, kısmen ya da tamamen yağı alınmış süt, yayıkaltı veya bunların birkaçının veya tümünün karışımının peynir mayası denilen uygun proteolitik enzimlerle veya zararsız organik asitlerle pıhtılaştırıldıktan sonra, peyniraltı suyunun ayrılması, pıhtının şekillendirilmesi ve tuzlanmasıyla elde edilen, taze veya olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen bir süt ürünü" (Tekinşen ve ark 2002) olarak tanımlanmaktadır. Peynir kelimesi modern Türkçeye Farsça sütün yapılmış manasına gelen panir kelimesinden geçmiştir. İngilizceye ise Latince *caseus*' dan gelmiştir. Bu kelimenin kökeninin Hint-Avrupa dillerinde yeralan mayalanmak veya ekşimək manasına gelen kwat-kökünden geçtiği düşünülmektedir. Bu kelime diğer Germen dillerinde de muhafaza edilmiştir (Kamber 2005, Wikipedia 2007).

Türk Standartları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardı'nda peynirlerde rutubet oranının en çok % 60, kuru maddede tuz oranının en çok % 10, asitliğin en çok % 3 Laktik Asit, koliform grubu bakteri ve maya-küf sayısının 1g'da en çok 100 olabileceği ve *E. coli* ile *S. aureus*'un bulunmaması gerektiği belirtilmiştir (Anonim 1995).

1.1.1. Peynirin İnsan Beslenmesinde Önemi

Yeterli ve dengeli beslenme; toplum ve toplumu oluşturan bireylerin sağlıklı yaşaması, ekonomik ve sosyal yönden gelişmesi, refah düzeyinin artması, huzur içinde

varlığını sürdürebilmesi bakımından temel koşullardan birisi, belki de en önemlisidir. Büyüme, gelişme, yaşamın sürdürülmesi, sağlığın korunması ve geliştirilmesi için belirli bir düzeyde hayvansal gıdaların tüketilmesi gerekir. Hayvansal bir gıda olan süt de her zaman ve her yerde bulunabilen ve içerdiği çeşitli besin maddeleriyle, her yaştaki insanın beslenmesinde önemli bir yer tutar. Kaldı ki süt, gıda endüstrisinin de temel maddelerinden birisidir (İnal 1990).

Dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacının önemli bir kısmı sığır, manda, koyun ve keçi gibi evcil hayvanların sütünden sağlanır. Süt hayvanlarının dünyadaki dağılımı ve verimi büyük farklılıklar göstermektedir. Dünya ülkelerindeki tüketim alışkanlıkları arasında da büyük farklılıklar vardır (Özalp ve Kaymaz 1992).

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

Bir süt ürünü olan peynir de insan beslenmesinde önemli bir yer tutar. Peynirin günlük beslenmemizdeki önemi; kolay sindirilebilme özelliğinin yanı sıra, yapısında üretimde kullanılan sütteki yağ, çözünmeyen tuzları, koloidal maddelerin tümüne yakın miktarını bulundurması ve süt serumundaki çözünen tuzlar, vitaminler, serum proteinleri ve diğer besin unsurlarının da bir ölçüde peynirin yapısına girmesinden ileri gelir. Peynir, özellikle yüksek kalitede protein, yağ, A ve B₂ vitaminleri yönünden oldukça zengindir. Türkiye’de yüksek teknolojiye sahip süt işleme tesislerinde yabancı kökenli bir çok peynir de üretilmektedir. Sahip olunan geleneksel peynir çeşitlerinin kendine has özellikleri korunarak iç pazara sunulabileceği gibi, dış piyasalarda da yeni ihracat imkanları oluşturması açısından son derece önemlidir. Küçük ölçekli veya mandıra tipi teknolojisi düşük olan işletmelerde satılan peynirler halk sağlığı açısından risk taşımakta, hijyenik şartlara önem verilmemesi nedeniyle risk oranı artmaktadır (Tan ve Ertürk 2002).

1.1.2. Peynir Üretim ve Tüketimi

Dünya ülkelerinde 2000 yılı rakamlarıyla toplam peynir üretimi 18-19 milyon ton civarındadır. Dünya peynir üretiminin yarısından fazlası AB ülkeleri ve ABD'de üretilirken, Hollanda, Brezilya, Arjantin, Avustralya, Mısır, Yeni Zelanda ve Kanada gibi ülkeler de dünya peynir üretiminde adı geçen ülkelerdir. Dünya peynir üretimi yıllara göre incelendiğinde, 1995-2000 yılları arasında AB ülkelerinde toplam peynir üretiminin yaklaşık % 30 oranında azaldığı görülmektedir. Bunun en önemli sebebi AB'de özellikle süt ürünlerinde ortaya çıkan aşırı stoklar karşısında uygulanan üretimi azaltma politikalarıdır. Dünya peynir ithalatında ilk üç sırayı Japonya, ABD ve AB alırken ihracatta ilk üç ülke AB, Y. Zelanda ve Avustralya'dır. Dünya ülkeleri arasında toplam tüketimi en yüksek olan ülkeler AB, ABD ve Brezilya olup, bu ülkelerde kişi başına yıllık peynir tüketimi AB'de 15,5 kg, ABD'de 14,2 kg, Brezilya'da ise 10,9 kg'dır. Japonya, Rusya, Meksika ve Ukrayna gibi ülkeler ise kişi başına yıllık peynir tüketiminin düşük olduğu ülkelerdir (Tan ve Ertürk 2002).

Türkiye'de ise; toplam 11 milyon ton civarında olan toplam çiğ sütün yaklaşık olarak % 40'ı yani 4-5 milyon tonu peynir üretimi için ayrılmaktadır. Bu rakam peynirin süt eşdeğeri cinsinden ifadesi olup toplam peynir üretimi 700-800 bin ton civarında gerçekleşmektedir. Çeşitli kaynaklarda beyaz peynir için süt eşdeğeri 6,5 kg, kaşar peynir için 11 kg olarak belirlenmiştir (DPT, 2001). Devlet Planlama teşkilatı, Temel Ekonomik Göstergelerinden gıda imalat sanayi rakamları incelendiğinde, toplam gıda sanayi üretiminin (değer olarak) % 9'unu, talebinin ise % 10'unu süt ve süt mamülleri oluşturmaktadır. Yine imalat sanayi rakamlarına göre imalat sanayine konu olan süt ve süt ürünleri üretim miktarı incelendiğinde, ilk sırayı % 51 ile yoğurt alırken, işlenmiş içme sütü (% 22), beyaz peynir (% 13), tereyağı (% 8), kaşar peynir (% 3), diğer peynirler (% 3) ve çok düşük miktarda (% 0,4) süt tozu üretimi de süt ve süt mamülleri imalat sanayinde pay alan ürünlerdir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gıda Envanter Çalışmaları (1999)'na göre Türkiye'de toplam 1 milyon 200 bin civarında beyaz peynir ve kaşar peynir üretim birimi olduğu bilinmektedir. Bu değer, sadece 1000 ton/yıl üzerinde kapasiteye sahip olan işletmeler olup daha düşük kapasiteli mandıraların sayısı oldukça yüksektir. Ayrıca peynir üretimi aile işletmelerinde de yapılmaktadır.

Peynir, geleneksel bir gıda maddesi olup farklı çeşitleri ile hemen hemen bütün tüketim gruplarına hitap etmektedir. DPT (2001)'na göre, temel ekonomik göstergelerine göre süt ve süt ürünleri imalat sanayi talebi incelendiğinde, peynir talebinin toplam süt ürünleri talebi içerisindeki payı miktar olarak % 19, değer olarak ise % 34 civarındadır. Türkiye'de kişi başına yıllık peynir tüketimi ise bölgeler itibariyle değişiklik göstermesine rağmen 7-10 kg arasında değişmektedir. Bu değer, gelişmiş ülkelerin peynir tüketim seviyesine yakın bir seviyedir. Bu tüketim miktarı yüksek görülse dahi yapılan bazı çalışmalarda diğer hayvansal ürünlerde olduğu gibi peynirin de gelir esnekliğinin yüksek olduğu, yani gelir seviyesi yükseldikçe peynir tüketiminin arttığı tespit edilmiştir.

1.1.3. Dış Ticaretimizdeki Yeri ve Genel Değerlendirme

Türkiye'de peynir talebinin % 87'si yurt içi tüketime sunulurken, % 12'si bitiş stoku olarak bir sonraki yıla devreder, % 1'i ise ihraç edilir (Çizelge 1.1.). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gıda Envanter Çalışmaları (2003)'na göre Türkiye'nin peynir ithalatı 2002 yılı itibariyle süt eşdeğeri cinsinden 30 bin ton olarak gerçekleşmiştir. 2002 yılı itibariyle gerçekleşen peynir ihracatı miktarı ise süt eşdeğeri cinsinden 38 bin ton civarındadır. İhracata konu olan peynir çeşitlerimiz başta klasik beyaz peynir ve kaşar peynir gelmektedir. Eritme peynir, çedar peynir, tulum peynir ve emmanteler peynir de az miktarda ihraç edilen peynir çeşitleridir. Peynir ihracatı yaptığımız ülkeler S.Arabistan, Azerbaycan, Kazakistan, K.K.T.C gibi ülkelerdir. İthalat yaptığımız ülkeler ise genellikle Almanya, Danimarka, Fransa, Hollanda ve İtalya gibi AB ülkeleridir.

Çizelge 1.1. Türkiye Peynir Üretimi, Tüketimi ve Dış Ticareti (1000 ton)

	1999	2000	2001	2002
Başlangıç Stokları	782	751	782	734
Üretim	3920	4310	4085	4075
İthalat	25	11	22	30
Toplam üretim	4727	5072	4889	4839
Bitiş stokları	756	792	734	576
Toplam yurt içi tüketim	3936	4231	4119	4225
İhracat	35	49	36	38
Toplam talep	4727	5072	4889	4839

Türkiye’de süt hayvancılığı sektöründe son 30 yılda çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, hala sektörün yapısal özelliklerinden kaynaklanan bir çok problem vardır. Bu sektörde karşılaşılan en yaygın problemler sütün işlenmesi ve pazarlanması ile ilgili problemlerdir. Türkiye’de üretilen çiğ sütün yarıya yakın bir kısmı işlenmeden çiğ süt olarak tüketiciye sunulurken, geriye kalan sütün önemli bir kısmı düşük kalite ve standartlardaki mandıralarda işlenmekte, çok az bir kısmı ise modern teknolojiye sahip birimlerde işlenmektedir. Dolayısıyla diğer süt ürünlerinde olduğu gibi peynir de modern işletmelerin yanı sıra küçük mandıralarda ve hatta evlerde üretilmekte olup ülkemizde çok değişik kalite ve çeşitlerde peynirler bulunmaktadır. Bu üretim şekli, bir taraftan tüketici sağlığı açısından bazı riskler oluştururken, diğer taraftan da değişik zevk ve tercihlere hitap edebilecek geleneksel ürün çeşitlerinin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Yetişemeyen 1995).

1.1.4. Peynir Çeşitleri

Peynirler, farklı özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bunlar ortak özelliklerine göre aşağıda sıralanmıştır.

a) Genel Yaklaşımla

1. Sert peynirler
2. Dilimlik peynirler
3. Yarı sert dilimlik peynirler
4. Ekşitilmiş sütlerden yapılan peynirler
5. Yumuşak peynirler
6. Taze peynirler
7. Pişirilmiş peynirler
8. Beyaz peynirler
9. Koyun sütünden yapılmış peynirler
10. Keçi sütünden yapılmış peynirler
11. Manda sütünden yapılmış peynirler
12. Peyniraltı suyundan yapılmış peynirler (Özalp ve Kaymaz 1992).

b) Yağsız Peynir Kütlesindeki Su Oranlarına Göre

1. Ektra sert (yağsız peynir kütlesindeki su oranı <51%)
2. Sert (yağsız peynir kütlesindeki su oranı % 49-56)
3. Yarı sert (yağsız peynir kütlesindeki su oranı % 54-63)
4. Yarı yumuşak (yağsız peynir kütlesindeki su oranı % 61-69)
5. Yumuşak (yağsız peynir kütlesindeki su oranı <67%) (Anonim 1995)

c) Peynirin Tekstürüne Göre

1. Yuvarlak gözli
2. Granüler
3. Kapalı tekstür

Peynirdeki bu çeşitlilik özellikle uluslararası ticarete bazı sorunlara yol açmıştır. Bu nedenle, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü (FAO)' nün çalışmaları sonucunda peynirler 3 ana grupta toplanmıştır (Anonim 2004).

Bunlar;

- a) Üretildikten hemen sonra tüketilemeyen; belirli sıcaklık ve bağıl nem koşullarında belirli bir süre “olgunlaşmış” peynirler,
- b)Yüzeylerinde ya da tüm kitlede geliştirilen özel küfler yardımıyla olgunlaşmaları sağlanan “küflü” peynirler ve
- c) Yapıldıktan hemen sonra tüketime hazır olan “taze ya da olgunlaşmamış” peynirlerdir.

Ülkemizde değişik yörelerde mahalli olarak 260 çeşit peynir yapıldığı tahmin edilmektedir. Bu peynir çeşitleri ve üretildiği yöreler şunlardır : Abaza peyniri (Düzce, Adapazarı, Bursa, Bilecik, Kayseri, Sinop), Acı Peyniri (Trabzon), Çanak peyniri (Yozgat), Çeçil peyniri (Kars), Çerkez peyniri (Sinop, Düzce, Adapazarı, Samsun, Bursa, Kayseri ve civarı), Cıvık peyniri (Aydın), Çimi peyniri (Antalya), Çayır peyniri (İstanbul ve çevresi), Çökelek peyniri (Akdeniz ve Güney Anadolu Bölgesi), Dil peyniri (Bursa), Divle tulum peyniri (Dİvle), Golot peyniri (Trabzon ve Rize civarı), Hatay Cara testi peyniri (Hatay ve civarı), Hellim peyniri (Kıbrıs), Islak peyniri (Çorum), İmamsız peyniri

(Artvin), İvrindi kelle peyniri (Ayvalık), İvriz tulum peyniri (Konya Ereğlisi), İzmir tulum peyniri (İzmir ve çevresi), Karın kaymağı peyniri (Gümüşhane, Sarıkamış), Kaşar örgüsü (Kars), Kaynatma peyniri (Adana), Kazıklı peyniri (Milas), Kirli hanım peyniri (Ayvalık), Kopanisti peyniri (İzmir İli ve civarında), Kurukeş peyniri (Ordu), Kuzubaşı peyniri (Urfa), Külek peyniri (Doğu Karadeniz Bölgesi ve civarında), Küp peyniri (Artvin), Küpecik peyniri (Çankırı), Lokumlu lüks kaşar (Trakya), Lor peyniri (Doğu Anadolu ve Marmara Bölgesi), Minci peyniri (Trabzon), Otlı peyniri (Van), Otlı tulumu (Trakya), Örgü peyniri (Gaziantep), Parmak peyniri (Kahramanmaraş), Pişmiş peyniri (Antalya), Selçuklu tulum peyniri (Konya), Sepet peyniri (İzmir), Sıkma peyniri (Şanlıurfa ve civarı), Surki (Hatay); Süne peyniri (Erzurum), Şavak peyniri (Erzincan Elazığ)), Tepti peyniri (Çanakkale), Tel peyniri (Erzurum), Tire çamur peyniri (İzmir İli ve civarında), Urfa peyniri (Şanlıurfa ve civarında), Uzayan peyniri (Giresun), Yufa peyniri (Diyarbakır) (Kamber 2005, Özalp ve Kaymaz 1992, Tekinşen ve ark 2002).

Adı ve yöresi ne olursa olsun, bu çeşit peynirlerde aranan ideal nitelikler aşağıda sıralanmıştır :

1. 7-8 cm boyutlarında prizma şeklinde olmalı.
2. Titrasyon asitliği laktik asit cinsinden kütlece en çok % 3 olmalı.
3. Rutubet miktarı kütlece en çok % 60 olmalı.
4. Tuz miktarı katı maddede en çok % 10 olmalı.
5. *E. coli*, *S. aureus* bulunmamalı.
6. Koliform bakteri, küf ve mantar gramda 100 adetten fazla bulunmamalı.
7. Katı maddede sütlü yağ ağırlığı:
 - a. Tam yağlı beyaz peynirde kütlece en az % 45.
 - b. Yağlı beyaz peynirde kütlece en az % 30.
 - c. Yarım yağlı beyaz peynirde kütlece en az % 20.
 - d. Az yağlı beyaz peynirde kütlece en az % 10.
 - e. Yağsız peynirde kütlece en az % 10'dan az olmalıdır (Tekinşen ve ark 2002, Özalp ve Kaymaz 1992, Anonim1995).

1.2. Gıdaların Mikrobiyel Ekolojisi

Gıdalarda bulunan mikroorganizmaların büyük çoğunluğu heteretrof nitelikte olup kendileri için gerekli olan organik maddeleri sentezleyemezler. Bu nedenle, gelişmeleri için kullanılabilir biçimde karbon ve azot kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Özellikle hayvansal gıdalar sahip oldukları temel besin maddeleri ile çoğu mikroorganizmaların üreyip gelişebileceği bir ortam niteliğindedir. Gıdalarda bulunabilecek mikroorganizmalar başlıca dört grup altında toplanabilir (Erol 2007).

a) Yararlı Mikroorganizmalar

Gıdalarda bazı mikroorganizmaların bulunması istenir. Bunların teknolojik kullanımı, gıda mikrobiyolojisinin önemli bir dalını oluşturur ve bu çerçevede starter kültürler büyük önem taşırlar. Çünkü, bazı gıdalar spesifik bakteri ve fungusların gelişmesi ve metabolik etkileri sonucu kendilerine özgü organoleptik ve teknolojik özelliklerini kazanırlar. Kaldı ki patojen veya bozulmaya neden olan diğer mikroorganizmaların gelişimlerini de baskırlar. Starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu homofermentatif laktik asit bakterileri, bazı mikrokok ve stafilokoklar ile maya ve küfler oluşturur. Bunlar arasında *Lactobacillus lactis*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium camemberti* ve *P. nalgiovensıs* gibi bakteri ve küfler sayılabilir (Erol 2007).

b) Bozulmaya Neden Olan Mikroorganizmalar

Bu grupta bulunan mikroorganizmalar doğrudan hastalık yapıcı nitelikte olmayıp metabolik etkinlikleri sonucu gıdaların bozulmasında rol oynar ve saprofit mikroorganizmalar olarak adlandırılırlar. Bunların çoğu, buldukları gıdalarda iyi rekabet edebilme özelliğine sahip olup uygun koşullarda hızla üreyerek enzimatik reaksiyonlara ve bozulmalara yol açarlar. Söz konusu mikroorganizmalardan proteolitik etkili mikroorganizmalar proteinleri parçalayarak kokuşmaya, karbonhidratları parçalayanlar asitleşmeye, lipolitik olanlar da ransiditeye neden olurlar (Erol 2007).

c) İndikatör Mikroorganizmalar

Bunlar, bir ürünün işlenmesi sırasında veya sonrasındaki hata ve kontaminasyonlar ile üretim ve saklama koşullarına ilişkin genel hijyenik durum hakkında bilgi veren mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmaları özellikleri, gıdaların patojen mikroorganizmalar ile kontaminasyon riskini göstermeleridir. İndikatör mikroorganizmalar; (a) kolay ve hızlı saptanabilmeli, (b) mikrofloradaki diğer mikroorganizmalardan kolay ayırt edilebilmeli, (c) varlığı patojenlerin varlığına işaret etmeli ve (d) sayıları ilgili patojen mikroorganizmalar ile korelasyon içinde olmalıdır.

Olası bir hijyenik tehlikenin boyutlarını tahmin edebilmek için, gıdalardaki belirli bulaşmaları işaret eden mikroorganizmaların varlığına dikkat edilmelidir. Söz gelişi, zorunlu bağırsak sakini olan koliform grubu bakterilerin gıdalarda bulunması fekal bir kirlenmeyi işaret ettiğinden indikatör mikroorganizmalar olarak değerlendirilirler. İndikatör mikroorganizmalar genellikle koliform, fekal koliform, *E. coli*, *Enterobacteriaceae* ve enterokoklar kullanılır (Erol 2007).

d) Patojen Mikroorganizmalar

Gıdalarda patojen mikroorganizmalar aslında düşük düzeyde bulunurlar. Gıda ve su ile canlıya geçerek belli koşullarda bakteriyel, viral, fungal ve paraziter gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarının oluşumuna neden olurlar. Çeşitli türlerden mikroorganizmalar bu grupta yer alabilirler : *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella*, *Brucella*, *Vibrionaceae*, *Vibrio cholera*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *Aeromona hydrophila*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus* vs.

1.3. *Escherichia coli* ve *Escherichia coli* O157 : H7

1.3.1. Tarihçe

E. coli, 1885 yılından Esherich tarafından *Bacterium coli commune* adıyla tarif edilmiş, daha sonra bağırsak dışı enfeksiyonlardaki patojenliği tanınmış, 1919 yılında Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cins adı önerilene kadar *Bacterium coli* adı

kullanılmıştır (Feng 1995). 1945 yılında serogrup 011 suşlarının bir bakımevindeki çocuklarda ishal salgınlarına yol açtığı gösterilmesiyle bağırsak patojeni *E. coli* (EPEC) suşlarının tanımı başlamıştır. 1969 yılında Ortadoğu'daki İngiliz askerlerindeki ishal olgularından ETEC suşları, yine aynı yıllarda Japonya ve Brezilya'da basilli dizanteriden ayırt edilemeyen bağırsak infeksiyonlarına yol açan EIEC suşları izole edilmiştir (Riordan ve ark 2000).

1.3.2. Sınıflandırılması

Alem : *Eubacteria*

Şube : *Proteobacteria*

Sınıf : *Gamma proteobacteria*

Takım : *Enterobacteriales*

Familya : *Enterobacteriaceae*

Cins : *Escherichia*

Tür : *Escherichia coli*

Binominal adı : "*Escherichia coli*" T. Escherich, 1885

1.3.3. Genel Özellikleri

Escherichia coli, *Enterobacteriaceae* familyasında *Escherichia* genusuna bağlı gram negatif, 0,4-0,7 µm eninde ve 2-6 µm boyunda, uçları yuvarlak çomak şeklinde, çoğunlukla hareketli, sporsuz, bazı suşları kapsüllü, asidorezistans özellikte olmayan bir bakteri olup insan ve çoğu sıcak kanlı hayvanların doğal bağırsak florasında bulunmaktadır. Toplam fekal foloranın küçük bir bölümünü oluşturmasına rağmen, insan bağırsağında baskın fakültatif anaerobtür ve normalde simbiotik olarak bulunur (Duffy ve ark 1999, Erol 2007). Tek iplikçikli sirküler yapıda olan DNA'dan başka stoplazma içerisinde yer alan ve hücre DNA'sı ile eş zamanlı olarak replike olabilen ekstra kromozomal özelliklere sahiptir. *E. coli*' lerin çoğu hareketli olup hareket, protein yapısında ve antijenik özelliği olan peritrik flagellalar ile sağlanır. *E. coli*' lerin flagelladan başka pilus veya pimbria adı verilen organelleri de bulunur. Piluslar, bakteriyal konjugasyon ve konakçı hücrelere yapışmayı sağlar (Michino ve ark 1999).

E. coli, aerobik ve fakültatif anaerobik bir mikroorganizma olup genel besiyerlerinden kolaylıkla ürer. Bu mikroorganizma 5-46 °C arasındaki sıcaklık derecelerinde üreme özelliğine sahipken optimal üreme sıcaklığı 37 °C'dir. Besiyerlerinde etkenin üreyebilmesi için en uygun pH 7,0-7,2'dir (Erol 2007). *E. coli*'lerin agarda oluşturdukları S tipi kolonileri hafif yuvarlak, düzgün, bombeli ve 1-2 mm çapındadır. Kapsüllü *E. coli*'lerin kolonileri mukoid karakterde olup, çapları daha büyüktür. Sıvı besiyerlerinde 12-18 saat sonra homojen bir bulanıklık meydana gelirken dipte hafif bir çökelti oluşur ve tüp çalkalanınca kolaylıkla dağılır. Daha sonra sıvının üst düzeyinde tüpe yapışık ince bir zar şekillenir. *E. coli*'lerin izolasyon ve identifikasyonunda çeşitli selektif besi yerleri kullanılır. Macconkey agarda yuvarlak pembe kırmızı koloniler oluştururken, Eosine Methylene Blue (EMB) agarda metalik renkte röfle veren koloniler meydana getirirler. *E. coli* sporsuz bir bakteri olduğu halde, dış tesirlere oldukça dayanıklıdır. 60 °C'de 30 dakika, 55 °C'de bir saate, oda derecesindeki süblime, oksijenli su, fenol, klor gibi dezenfektanlarla bir kaç dakikada ölürler (Muray ve ark 1994, Temiz 1998).

1.3.4. Antijenleri

E. coli karışık bir antijenik yapıya ve değişik antijen tiplerine sahip bir mikroorganizmadır. Suşlar arasında ilk kez 1921'de Dodgeon ve arkadaşları tarafından serolojik bir bağlantı olduğu saptanmış, 1937'de Lowel *E. coli*'nin kapsül ve somatik olmak üzere 2 çeşit antijeni olduğunu belirtmiş, 1943'te ise Kaufmann flagella antijenini de tespit etmiştir. Buna göre, *E. coli*'de 01-0171 arasında gösterilen 165 somatik O antijeni, K1-K90 arasında gösterilen 90 kapsül K antijeni ve H1-H56 arasında gösterilen 56 flagella H antijeni saptanmıştır. Günümüzde 174 O, 56 H ve 80 K antijeni olduğu saptanmıştır (Erdem 1999, Doyle 1991).

Somatik O antijenleri: Lipopolisakkarit tabiatında, ısıya (100 °C'ye), kaynatmaya ve alkole dayanıklı, formole dayanıksızdır. *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 (Bilgehan1996, Erdem1999).

H antijenleri: Protein tabiatında, ısıya dayanıksız ve monofazik olan H antijenleri sadece hareketli türlerde bulunur. Flagellar H antijenleri birbirleri ve diğer bakterilerin H

antijenleri ile çapraz reaksiyon vermezler. Alkol ve proteolitik fermentler ile inaktive olur. Formole dayanıklıdır. H antijeni *Escherichia coli*'de az miktarda olduğundan bunları çoğaltmak için bakterinin yumuşak agarda pasajlarının yapılması gerekir (Bilgehan1996, Erdem1999, Doyle 1991).

K antijenleri: 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, B, F antijenleri de vardır. K Antijenleri, polisakkarit yapısında ve ısıya dayanıklıdır. 100-120 °C'de bir iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilir. Bu antijene sahip bakteriler somatik antiserumları ile aglütinasyon oluşturmaz. Bu antijenler O antijenlerinin aglütinasyonunun meydana gelmesine mani olurlar (Bilgehan 1996, Halkman ve ark 1998).

Somatik L antijeni: Isıya dayanıksızdır. 100 °C'de bir saat ısıtılmakla antijenik özelliğini kaybeder. L antijeni yüzlek bir somatik antijeni veya bir zarf antijeni olup termolabildir. L antijenleri genellikle hemolitik ve insanlar için patojendir. Kendisinde L antijeni bulunan bakterilerin kolonileri bulanıktır. L antijeni bulunan bakteriler canlı iken O serumu ile aglütine olmazlar. Ancak 100 °C'de 1-1.5 saat kaynatılırsa aglütine olurlar. Kendisinde L antijeni bulunmayan ya da çok az bulunan bakterilerin kolonileri ise berrak ve şeffaftır. Bu bakteriler canlı iken O serumu ile aglütine olurlar. Bu antijen bütün O gruplarına ait *E. coli*'lerde bulunur. L aglütinasyonu tüplerde yapılır. Tüpler 2 saat 37 °C'de ve sonra 20 saat oda sıcaklığında ve buzdolabında bırakılır. Aglütinasyon granüler tarzdadır. Şimdiye kadar 32 tip L antijeni tespit edilmiştir (Bilgehan 1996, Halkman ve ark 1998).

Somatik B antijeni: Termolabil yüzlek bir O antijenidir ve canlı bakterilerin O serumu aglütine olmasına mani olur. Bu bakterileri O serumu ile aglütine olabilmeleri için 100 °C'de bir saat ısıtılması gerekir. *E. coli*'lerde B antijeni nadirdir. Ancak çocuklarda görülen gastroenterit olaylarında hastalık etkeni *E. coli*'lerde sabit olarak bulunurlar. B serumu ile aglütinasyon lam üzerinde veya tüpte yapılır. Aglütinasyonda bakteri kümeleri bir zara benzemektedir (Bilgehan1996, Erdem1999).

A antijeni: Kapsüllü *E. coli*' lerde rastlanmıştır. Isıya dayanıklıdır ve termostabil bir kapsül antijenidir. Ancak 120 °C'de yaklaşık 2 saat ısıtmakla inaktive olur. A antijeni içeren suşların oluşturdukları koloniler beyaz ve büyüktür. Mukoid kolonilere benzerler. A antijeni içermeyen bakteriler ise yassı ve mukoid olmayan koloniler oluştururlar. A antijeni ile aglütinasyon lamda veya tüpte yapılabilir. Bir *E. coli* suşunda her zaman kapsül antijenlerinin hepsi birlikte bulunmaz. Bunlardan yalnız bir tanesi, L, B veya A antijeni bulunabilir (Bilgehan 1996, Halkman ve ark 1998).

Vi antijeni: Isıya dayanıksızdır. 100 °C'de ısıtmakla, dilüe asitlerle ve özellikle asit fenikle muamele edilmekle inaktive olur. Bunlar O serumlarıyla aglütinasyon vermezler, yalnız anti Vi serumlarıyla aglütine olurlar (Doyle 1991).

Fimbria antijenleri: Fimbria antijenleri etkenin hemaglütinasyon özelliğini belirler ve enteropatojenik *Escherichia coli*'lerde (EPEC) bulunur (Halkman ve ark 1998).

1.3.5. Serotipleri

Günümüzde *E. coli* suşlarının serotiplendirilmesi, Kauffman tarafından geliştirilen şemaya göre yapılmaktadır. Serotiplendirmede öncelikle O ve H antiserumları kullanılmakta, K antijeni nadiren değerlendirilmektedir. Serotiplendirme sonucunda bakterinin sahip olduğu antijenler yanyana yazılarak *E. coli*'nin hangi suşu olduğu tespit edilir. *E. coli* suşlarının antijen yapılarının belirlenmesi, özellikle epidemiyolojik çalışmalar açısından önemli bir yer tutmaktadır. *E. coli*'nin oluşturduğu çeşitli hastalık tabloları ile özel antijen tipleri arasında ilişkiler bulunmaktadır (Muray ve ark 1994). *E. coli*'lerin tiplendirilmesinde bakteriyofajlardan da faydalanılmakta ve muayyen kolifajlarla bilhassa gastroenterit enfeksiyonlarına sebep olan özel suşlar identifiye edilmektedir (Muray ve ark 1994).

İnsanlarda diyareye neden olan *E. coli* suşları 2. Dünya Savaşı 'ndan sonra ortaya çıkarılmıştır. Bu tarihe kadar düşük virülansa sahip olduğu ve idrar yolları enfeksiyonlarına neden olabildiği kabul edilen *E. coli* 'nin diyare etmeni olarak tanımlanması ile bu bakteriye bakış değişmiştir. Bugün insanlarda diyareye neden olan *E. coli* serotipleri patojenik, enteropatojenik, enterovirulent, diyarejenik serotipler olarak adlandırılmaktadır. Bu serotipler virülans özellikleri, patojenite mekanizması, klinik sendromlar ve O:H serotiplerine göre;

(a) enteropatojenik (EPEC), (b) enterotoksijenik (ETEC), (c) enteroinvaziv (EIEC), (d) enterohemorajik (EHEC), (e) difuz-adhering (DAEC) ve (f) entero-agregativ (EA_ggEC) olmak üzere 6 ana grup altında toplanmaktadırlar. Bununla birlikte, diyareye neden olan serotiplerin bu şekilde kesin bir ayrımı yoktur. Bu gruplara ilaveten fakültatif enteropatojenik (FE_ggEC), verotoksin oluşturanlar (VTEC), önceleri shiga benzeri toksin oluşturanlar (=shiga like toxin ; SLTEC) olarak adlandırılmış olmakla beraber son zamanlarda doğrudan shiga toksin (Stx ; çoğul formda Stxs) oluşturanlar (STEC) şeklinde tanımlanmış olması, diyare oluşturanlar (DEC) gibi grupların başka gruplar ile de tarif edilebilmesi, diyareye neden olan *E. coli*'lerin enfeksiyon veya intoksikasyon etmeni olarak gruplandırılması bu konudaki terminolojiyi zorlamaktadır (Hudson ve ark 2000).

Adı geçen grupların genel özellikleri kısaca aşağıya çıkarılmıştır.

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) : Patojenitesi toksinlerle ilgili değildir. Hijyen standartlarının yüksek olduğu yerlerde yaygın değildir. Gelişmekte olan ülkelerde sık rastlanır. Başlıca rezervuarı insandır. Gıda alanında çalışanlar ve kanalizasyon suları gıda kontaminasyon kaynakları olarak rol oynar. İnsanlara gıdalardan bulaşır. Et ve su sorumlu gıdalardır. Yetişkinler arasında taşıyıcıların yüksek olmasına rağmen bağışıklık kazanıldığından hastalık nadir görülür. Bazı EPEC suşları bir ya da daha çok verositotoksin üretirler. Sulu ve kanlı bir dışkı ile görülen ishallerle neden olurlar. Hastalık sırasında ateş yüksektir. Daha çok bebeklerde görülür. EPEC'nin patojenite mekanizması tam olarak belirlenmemiştir. Bununla birlikte, etken barsak mukozasına yapışarak burada kolonize olur. Başka bir invazyon oluşturmaksızın mikrovilleri tahrip eder ve daireye neden olur (Bilgehan 1996, Hudson ve ark 2000).

Enteroinvasiv *E. coli* (EIEC): Başlıca belirtisi dizanteri tablosudur. Shigella'lar tarafından oluşturulan dizanteriye benzerlik gösterir. İnkübasyon periyodu 8-44 saat olup ortalama 26 saattir. Kolonlarda epitelyum hücrelerde çoğalarak mukozanın yangısına ülserleşmesine neden olur. Hastalık süresi 24-30 saattir. Başlıca semptomlar olarak üşüme, titreme, ateş, abdominal kramplar ve dizanteri görülür. Hastalıklı kişiler ve kontamine sular başlıca bulaşma kaynaklarıdır (Doyle 1991).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): Hijyenik standartları yüksek ve ılıman iklimli bölgelerden, daha düşük hijyenik standartlı ve daha sıcak iklimli bölgelere seyahat eden

kişilerde görülen turist ishalinin en yaygın sebebidir. Turist ishalinin % 60-70 oranında sorumlusudur. Gıda kontaminasyon kaynakları enfekte kişiler ve atık sulardır. Etken vücuda alındıktan sonra ince bağırsaktaki mukozal hücrelere yerleşerek ısıya dayanıklı ve ısıya dayanıksız iki enterotoksin üretir. Sindirim yoluyla alımından sonra ETEC hücreleri ince bağırsakların mukoza tabakasına yerleşir ve kolonize olur. Burada mukozal hücrelere yapışır; ısıya dayanıklı (ST) ve ısıya dayanıksız (LT) iki enterotoksin üretir. LT, bağırsak hücresinin adenylate cysclose, ST, guanylate cylose'ını stimüle ederek AMP (adenosine monophosphate) ve GMP (guanosine monophosphate) birikimine neden olur. Sonuçta, bu cyclic nükleotidler, sulu daire ile sonuçlanan sıvı reaksiyonuna neden olur. Etkenin zehirlenme yapabilmesi için gıdanın gramında 10^6 oranında bulunması gerekir. Mayonez, hazır gıdalar, fekal materyalle bulaşmış sular, peynir gibi gıdalarda bulunur (Abdullah ve Davies 1999, Hudson ve ark 2000).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombolik trombositopenik purpura olmak üzere üç temel hastalık tablosu oluşturması sebebiyle, *E. coli*'nin diğer tiplerinden daha tehlikelidir. Bağırsaklarda kan, çok seyrek karın ağrısı, bazen kusma görülür. Hastalık başlangıcı 3-4 gündür. 2-9 gün sürer, ortalama 4 gündür. Etkenin başlıca kaynağı süt sığırlarıdır. Hastalık az pişmiş etlerin ve pastörize edilmemiş sütlerin tüketimi ile insanlara geçer (Abdullah ve Davies 1999).

Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC) : Sulu diyareye yol açar. Diyare süresi bazen 14 gün bile sürebilir. Patojenite mekanizması ısıya dirençli EAST-1 toksini ile gerçekleşir (Erol 2007).

Enteroadeziv *E. coli* (DAEC) : Sulu diyareye neden olur. Patojenite mekanizması yaygın aderenz yolu ile olur (Erol 2007).

1.3.6. Etiyoloji

İnsan ve hayvanlar, enterohemorajik bakterinin en önemli iki kaynağını oluşturur. Bu iki kaynağa ait dışkı veya lağım suları yoluyla çevresel kirlenme ve bu yolla su ve gıda kaynaklarının kontaminasyonu olabileceği gibi enfekte hayvanların hayvansal gıdalarda kullanılması sonucu etkenin alınması da mümkündür. Bu grupta 50' den fazla suşu olduğu tespit edilen EHEC'in insanlarda hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS)

ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) meydana getiren en yaygın suşu O157:H7, *Shigella dysantheria* tip 1 tarafından üretilen SLT olarak da bilinen vero sitotoksin veya verotoksin üretebilme yeteneğine sahiptir. Bu yüzden *Shigella* benzeri toksin üreten *E. coli* (STEC) olarak da tanımlanmaktadır. Başlıca 3 tip sendroma neden olur:

Hemorajik Kolitis (HC): Aniden ve kramplı karın ağrıları ile başlar. Buna 24-48 saat içinde başlangıçta sulu daha sonra büyük kanlı ishalin başladığı tablo eşlik eder. Kan miktarı giderek artar ve dışkı zamanla tümüyle kan olur. Etken alındıktan sonra semptomlar 3-9 gün (ortalama 4 gün) içinde ortaya çıkar. Hastalık süresi ise 2-9 gündür. Hastalığın ortalama 8 gün sürdüğü şeklinde kaynaklara da rastlanmaktadır. Ateş ya yoktur ya da çok azdır. Bu hastalık shigellozis'de tanımlanan dizanteri ve invaziv *E. coli*'nin neden olduğu gastroenteritisten ateş olmaması ve kanlı dışkı ile ayrılmaktadır. Kusma nadirdir. Kramplı karın ağrılarının doğum sonrasına benzer yoğunlukta olduğu ve apandisit ağrısından daha şiddetli olduğu bildirilmektedir (Doyle 1991, Erol 1999).

Hemolitik Üremik Sendrom (HUS): Belirtiler kanlı ishalle başlar, kan pıhtıları böbrekteki helozoni tüplerini tıkar ve ürenin kanda birikmesi sonucu diyaliz tedavisini ve kan naklini gerektirecek böbrek yetmezliği oluşur. Çocuklar ve yaşlılar risk grubuna girer. Ateş ya çok azdır ya da hiç görülmez. Bazı hastalarda ve özellikle çok gençlerde böbrek yetersizliği, mikroangiopatik hemolitik anemi ve trombositopeni ile karakterize edilen ve üçlü bir sendrom olarak tanımlanan HUS gelişir. HC vakalarında ortalama % 0-15 arasında HUS geliştiği tahmin edilmekte, bu oran çocuklarda % 10 olarak verilmektedir. HUS, kalıcı böbrek fonksiyon kaybına neden olabilir. Yaşlılarda ise HUS, ateş ve TTP olmak üzere ilave iki semptom ile görülür. Bu durumda yaşlılarda ölüm oranı ortalama % 50'ye çıkmaktadır. Çoğu kez hastalara diyaliz ve kan nakli gerekir, nöbet ve koma ile karakterize edilen merkezi sinir sistemi hastalıkları gelişir ve ölüm görülebilir. HUS'un prodromal kanlı diyare ile başlayan tipik ve diyareli fazı içeren atipik alt grupları vardır. Hastalarda sarılık, sıklıkla yüksek tansiyon ve kalp yetmezliği de görülebilmektedir. *S. dysenteriae* serotip-1 ile oluşan enfeksiyon HUS' a neden olurken bazı mikroorganizmalar HUS gibi hastalıklar yapmaktadırlar (Erol 1999).

Trombotik Trombositopenikpurpura (TTP): HUS ' a benzer klinik belirtiler gösterir. Erişkin insanlarda daha sık görülür. HUS'tan farklı olarak nörolojik belirtiler ve beyinde oluşan kan pıhtıları nedeniyle ölüm oranı yüksektir. Bununla beraber *E. coli*

O157:H7 enfeksiyonlarında TTP'nin nadir olduğu da bildirilmektedir (Doyle 1991).

1.3.7. Biyokimyasal Özellikleri

E. coli O157:H7' i, diğer *E. coli* suşlarından ayıran 3 temel özellik, (a) sorbitolü fermente edememesi, (b) 4-methy lumbelliferone glucuronide 'i (MUG) hidrolize eden B-glukorinadaz enzim aktivitesine sahip olmaması ve (c) 44-45 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda gelişememesidir. *E. coli* O157:H7 'yi ayıran diğer bir özellik ise 60 Md (pO157) plazmid taşıması ve hemolizine neden olmasıdır. *E. coli*'lerin % 97'si B-glucuronidase enzimi içerirken *E. coli* 0157:H7 susu B-glucuronidase negatiftir. *E. coli* dışında *S. sonnei*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. enteritidis*, *Staphylococcus* spp. içinde P-glucuronidase enzimine sahip suşlara nadiren rastlanmaktadır (Leyer ve ark 1995).

Çizelge 1.2. *Escherichia coli*' nin Biyokimyasal Özellikleri (Koreman ve ark 1997)

Biyokimyasal Testler	<i>Escherichia coli</i>
İndol	+
Metil Red	+
Voges Proskauer	-
Sitrat	-
Lizin dekarboksilaz	+
Arjinin dihidrolaz	V
ONPG	V
Fermantasyon	
Laktoz	+
Sorbitol	+*
Mannitol	+
Adonitol	-
Sellobioz	-
Sarı Pigment	-

* *E.coli* O157 suşları sorbitol negatiftir. V:Suşların % 11-89'unda pozitifdir. (Koreman ve ark 1997)

Ayrıca *E. coli* O157:H7 serotipi için glikozdan gaz oluşturma yeteneği pozitif, üreaz aktivitesi ve H₂S oluşturma yeteneği negatiftir (Leyer ve ark 1995).

E. coli O157:H7 optimal üreme ısısı 37 °C olmasına rağmen 20-40 °C'de, optimal pH'sı 7-7,2 olmasına rağmen pH 5-8 de de üreyebilmektedir (Leyer ve ark 1995).

E. coli O157:H7 serotipinin yüksek tuz konsantrasyonlarına da direnç gösterdiği belirtilmektedir (Kehl 2002). Glass ve ark.(1992) tarafından yapılan bir araştırmada *E. coli* O157:H7'nin 200 ppm nitrit ve % 4 NaCl içeren ve pH'sı 5,6 olan sıvı besiyerinde gelişebildiği bildirilmiştir.

E. coli 'nin fluorojenik MUG belirteci özelliği *uidK* geni tarafından kodlanan fl-glucuronidase enziminin aktivitesine bağlıdır. EHEC *E. coli* O157:H7 'de 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 suşunda diğer *E. coli*'lerde tipik olan MUG reaksiyonu negatiftir (Kehl 2002).

E. coli dışında B- glucuronidase pozitif suşların *E. coli* analizlerinde sahte pozitif reaksiyon vermesi indol testi ile önlenir. B- glucuronidase pozitif bakteriler içinde indol pozitif olan tek bakteri *E. coli*'dir. MUG içeren Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSTB) gibi bazı besiyerleri triptofan içerirler. İnkübasyondan sonra UV ışını ile floresan veren tüplere Kovacs ayırıcı damlatılarak indol testi yapılır, floresan pozitif ve indol pozitif tüpler *E. coli* olarak değerlendirilir. Bu yöntemde toplam analiz süresi 37 °C' de 24 (gerekirse 48) saat inkübasyon süresi ile floresan ve indol testleri için gereken birkaç dakikalık süre toplamıdır. Sıvı besiyerlerinde genel olarak 18-24 saat sonunda gelişme olduğu dikkate alınırsa analiz süresi oldukça kısadır. Floresan kontrolü için mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunan uzun dalga boylu UV lambaları ile her zaman tatmin edici sonuç alınamamaktadır. Bu nedenle MUG reaksiyonunun belirlenmesi için geliştirilmiş özel 366 nm dalga boyundaki UV el lambası kullanılması önerilmektedir. Bazı *E. coli* suşları yoğun üremeye bağlı olarak aşırı miktarda asit oluşturabilirler ve bu asitlik floresan ışımaya maskeler. Bu gibi durumlarda besiyerine 1 ml 1 N NaOH ilavesi ile floresan reaksiyon keskinleştirilir. *E. coli* O157:H7 suşunda MUG, H₂S oluşturma, Voges-Proskauer, sorbitol testleri negatif, laktoz ve glikozdan gaz oluşturma, indol, Metil Red, hareket ve lizin dekarboksilaz (LD) testleri ise pozitifdir (Leyer ve ark 1995, Kehl 2002).

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

Klasik yöntemlerle *E. coli* O157:H7 izolasyonunda yoğun refakatçi flora varlığına bağlı olarak sıklıkla sahte negatif sonuçlar alınabilmektedir. Benzer şekilde analiz edilen diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi, selektif zenginleştirme ortamı olarak kullanılan besiyerinde *E. coli* O157:H7 suşu ile aynı düzeyde gelişebilen *E. coli* tip 1, *C. freundii*, *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei* gibi yakın akraba türler selektif katı besiyerinde de rahatlıkla gelişebilmekte ve eğer başlangıçta *E. coli* O157:H7 sayısı bu flora içinde yeterli bir oranda değil ise bu bakterilerin baskılaması nedeni ile analiz sonucu hatalı olarak negatif alınmaktadır. Burada hedef bakterinin selektif sıvı ve katı besiyerlerinde gelişebilen refakatçi flora içindeki oranı en düşük % 1 olmalıdır. Bu şekilde standart boy bir petri kutusunda bulunan selektif bir katı besiyerine selektif zenginleştirme kültüründen yapılan ekim ve inkübasyon sonucunda oluşacak 100 koloni içinden hedef bakterinin diğerlerinden farklı olan koloni morfolojisine göre ayırt edilmesi ve izolasyonu mümkündür. Burada, petri kutusunda 100 koloni oluşacak şekilde selektif zenginleştirme kültüründen seyreltme yapılması esastır. Bu orandan daha düşük konsantrasyonlarda bulunacak hedef bakterinin petri kutusunda görülmesi ve izolasyonu mümkün değildir. Gıda maddesinde başlangıçta bu oranın % 0.1 olduğu varsayılır ise de selektif zenginleştirme sonunda bu oran korunacak, petri kutusunda 100 koloni oluşması sağlanacak şekilde yapılan seyreltmede petri kutusunda hedef bakteriden 1 adedinin koloni oluşturma olasılığı % 10 olacak, bir diğer deyiş ile % 90 olasılıkla petri kutusunda hedef bakteri koloni oluşturmayacaktır. Bu koşulda, *E. coli* O157:H7' nin koloni oluşturması için petri kutusunda 1000 koloni oluşacak şekilde seyreltme yapılması gerekmektedir. Ancak, bu koşulda da refakatçi bakteri kolonileri hedef bakteriyi maskeleyecek ve 1000 koloni içinden *E. coli* O157:H7'nin seçilip izolasyonu mümkün olmayacaktır. Klasik yöntemlerle yapılan analizlerde yakın akraba refakatçi floranın inhibisyonu üzerinde pek çok çalışma yapılmaktadır. Bunların inhibisyonu için yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığı, düşük pH, çeşitli antibiyotiklerin kullanılması, kısa inkübasyon süresi gibi faktörler araştırılmaktadır (Doyle 1991, Halkman ve ark 1998, Janes ve ark 2002).

Çeşitli araştırmalar gıda kaynaklı HC vakalarında anahtar rol oynayan *E. coli* O157:H7'nin aside dirençli olduğunu ve bu toleransının midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesini sağladığını göstermiştir. Bu bakterinin aside direnci insanlarda enfeksiyon dozunun çok düşük olmasını etkileyen bir faktör olarak kabul edilmektedir. *Salmonella* 'nın tersine olarak 1-2 pH olan insan midesinde yaklaşık 3 saat süren sindirim sırasında canlı kalabilmesi ve buradan bağırsağa geçmesi bu ilişkiyi açıklamaktadır (Doyle 1991, Conner ve Kostrola 1995). Ayrıca, *E. coli*'nin sahip olduğu rpoS geninin bakterinin asitli ortamlardan etkilenmemesinde önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir. 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. Sığırların sindirim ve boşaltım sistemlerindeki düşük pH ve organik asitler varlığının daha sonra karkasa bulaşma potansiyeli olan *E. coli* O157:117 suşu ve diğer patojenlerin aside dirençliğini artırabileceği düşünülmektedir. Asit cinsinin ve suş farklılıklarının aside dirençlikte önemli bir faktör olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Mustapha ve ark 2002).

E. coli O157:H7'nin üremesi üzerine sıcaklığın da etkisi bulunmaktadır. Minimum üreme sıcaklığı 8-10 °C'dir. Optimal olarak 30-42 °C'de iyi ürerler. Bakteri ısıya duyarlıdır ve pastörizasyon ısısında inaktive olur ki 10⁴ kob/ml etken için 72 °C 16-20 saniye yeterli bulunmaktadır. Soğuğa dirençlidir, -20 °C'de dondurulmuş gıdalarda (kıymalarda) canlılığını korur. pH değeri 5,7-7,5 arasında iyi ürer. Bununla beraber pH 3,6' da buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen gıdalarda canlılığını korumakta ve pH değeri 4 olan sıvı kültürlerde üreyebilmektedir. Etken asitli gıdalarda canlılığını korumakta, fermente sucuk ve elma suyu gibi gıdalar uygun vasat olmaktadır. 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 agarda belirlenebilir. Bu şekilde 33 adet verotoksik *E. coli* O157:H7 ya da *E. coli* O157:H7 izolattan 32 adedinin enterohemolizin ürettiği gösterilmiştir (Wang ve ark 2000).

Yapılan çalışmada (Akkuş 1996), *E. coli* O157:H7'nin etli konserve besinlerinin kullanılmasında korunmasında kullanılan asitlere (sitrik, asetik, laktik asitlere) diğer bağırsak patojenlerinden daha dayanıklı olduğu belirtilmiştir. pH 1,5-2,5 değerlerinde bile

E.coli O157:H7 'nin 3-4 saat canlı kalabildiği belirtilmiştir. Bu da *E.coli* O157:H7 ' nin düşük dozlarda bile mide asidinden geçerek infeksiyona neden olmasını açıklamaktadır.

1.3.8. Toksikitesi

Tüm EHEC suşları, Shiga toksin oluşturduğundan STEC ve VTEC olarak da adlandırılır. Virulens faktör olarak Shiga toksin 1, 2 ve bunların varyantları bulunmaktadır. Diğer virulens faktörler arasında STEC hemolizin, barsak epitel hücrelerine yığılmayı sağlayan STEC intimin bulunur. Ayrıca ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1) ve seroproteinazlar diğer virulens faktörlerdendir (Abdullah ve Davies 1999).

50' den fazla serotipi bulunan EHEC'in en yaygın tipi olan *E. coli* O157:H7; *Shigella dysenteriae* tip I tarafından oluşturulan toksine benzerliğinden dolayı şigatoksinler olarak adlandırılan (Stx 1 ve Stx 2) toksinler üretmektedir. Şigatoksinler Vero hücre kültürlerine sitotoksik etkili olduğundan verotoksinler (V_t 1 ve V_t 2) olarak da adlandırılmaktadırlar. Bu toksinlerin EHEC suşlarının insanlardaki virulensi açısından önemli roller üstlendiği düşünülmektedir (Cosansu ve Ayhan 2000).

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

Stx'lerin patojenik mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat daire, HC, HUS ve TTP gelişimine katkıda buldukları düşünülmektedir. HC'nin Stx'lerin intestinal sisteme bırakıldıktan sonra oraya çıktığı ve HUS/TTP'nin de yine Stx'lerin kana karışımından sonra ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. HUS hastalarının kanlarında da Stx'lere rastlanmıştır. Stx 2 ve Stx 2c insan klinik izotlarında en sık rastlanılan toksinler

olduğu belirtilmektedir. Stx 1 ve Stx 2'nin hayvanlarda ve in vitro da değişik patojeniteleri görülmüştür (Abdullah ve Davies 1999) .

E. coli O157:H7 suşlarının tamamında EAST geni bulunmuştur. Bu grubun en önemli özelliği de Vero (Afrika yeşil maymun böbreği) doku kültürlerinde hücrelere sitotoksik etki yapan toksin üretmesidir. Bu yüzden verotoksin oluşturan *E. coli* (VTEC) adıyla anılmaktadır. Bakteride Shiga toksinleri ve verotoksini determine eden spesifik bir gen belirlenmemiştir. STEC grubunun gıda kaynaklı tek susu *E. coli* O157:H7'dir. Etkenin virülensinin yüksek, minimum enfeksiyon dozunun düşük, çevresel faktörlere dayanıklı ve bildirilen gıda kaynaklı salgın enfeksiyonlar içinde önemli bir yere sahip olması ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılır (Coşansu ve Ayhan 2000).

1.3.9. 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 (Gürgün ve Ayhan 1996).

Patojen bakterilerin evrimi üzerinde çalışmalar yoğun şekilde sürmektedir. *Escherichia*, *Salmonella* ve *Shigella* türleri üzerinde yapılan genetik analizler *E. coli* O157:H7 serotipinin bireysel bir patojen olmadığı, bunun enterik bir bakteriden evrimleştiği şeklindeki teori oldukça benimsenmiştir. 16S rRNA ve 5S rRNA dizilişleri ile yapılan filogenetik araştırmalar *Escherichia* spp. ve *Salmonella* spp.'nin memeli hayvanların ilk türeyişi olan 120-160 milyon yıl önce ortak bir atadan ayrıldıkları, *Shigella* spp.'nin erken primatların olduğu 80 milyon yıl kadar önce *E. coli*'den türediği, kommensal *E. coli*'lerin memelilerin bağırsağını tercih ederken, patojen *E. coli*'lerin barsak epitelini aşip 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. Örneğin turist ishalinden izole edilmiş ETEC suşlarında en az 2 adet plazmid bulunmuştur. Bu konudaki bir başka örnek *Sh. sonnei*'nin O antijenini kodlayan bir plazmidde sahip olmasıdır. Önceleri bu genin kromozom üzerinde bulunduğu, zamanla bunun inaktive olduğu ve plazmid üzerinde yer aldığı, bunun nedeninin de plazmidde

kodlanan genlerin yeni bir ortama adaptasyonda avantaj sağladı düşünülmektedir. Bu teori, patojen olmayan *E. coli* gibi kommensal bir bakterinin *Sh. sonnei* gibi bir patojene dönüşmesi için çok sayıda faktöre gerek olmaksızın sadece tek bir plazmidin aktarılmasının yeterli olacağı hakkındaki görüşü kuvvetlendirmektedir. Enterik patojenlerde yapılan kromozomal incelemeler ayrı DNA segmentlerinin fonksiyonel virülens özellikleri kodladığı bulunmuş ve bunlara “Pathojenity Island ; Pais” adı verilmiştir. Daha ilginç olarak bu genler çoğunlukla başka mikroorganizmalardan kazanılmış olarak ortaya çıkmaktadır. Pais, bakteriye kompleks bir virülens özellik kazandırmakta ve genetik transfer ve rekombinasyonları önlemektedir. Pais genellikle hemolisin ve fimbria gibi hücre yüzeyi proteinlerinden sorumlu genler içerir. *E. coli* O157:H7 'de 35 kb olan “Locus of Enterocyte Effacement ; LEE” olan bir Pais bulunmuştur. Pais 'in ortaya konulması ile *E. coli* O157:H7 'nin evrim teorileri yeni bir yön kazanmış, bu evrime en azından belirli patojen *E. coli* klonlarının farklı aşamalarda dahil olduğu şeklinde teoriler geliştirilmiştir. Kommensal bakteri kromozomuna LEE'nin yerleşmesi EPEC benzeri bir klon oluşması için temel bir aşamadır. *E. coli* O157:H7 EPEC benzeri bir atadan önce LEE 'yi elde etmesi, sonra transdüksiyon ile SLT 2 'yi alması, sonra hemolisini kodlayan EHEC plazmidini kazanması, daha sonra SLT 1 'i kazanması ve en son olarak sorbitol fermentasyonu ve β -GUR aktivitesini yitirmesi ile evrimini tamamladığı kabul edilmektedir (Olsvic ve ark 1991, Özbaş ve Aytaç 1995).

E. coli O157:H7 serotipinin genetik çalışmalar sırasında elde edildiği ve bir kaza sonucu doğaya salındığı şeklinde görüşler de bulunmaktadır. Griffin ve Tauxe (2002) 'ye göre bu serotip muhtemelen enteropatojenik bir atadan genetik çalışmalar sonucu oldukça yakın bir dönemde ortaya çıkmıştır.

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 dışkı ile bulaşmış toprak ve suyun dolaylı olarak hastalığın taşınmasında ve yayılmasında önemli bir rol oynadığı da bilinmektedir (Aksu ve ark 1999)

Genç ve sağlıklı sığırlar *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarına oldukça dirençlidir. Deneysel olarak yemlerine 10^7 düzeyinde *E. coli* O157:H7 katılan hayvanlarda her hangi bir klinik bulguya rastlanılmaması, 6-8 haftalık danalar için bu bakterinin patojen etki

göstermemesi, buna karşın rumen ve bağırsaktan geçerken dışkılarındaki bakteri sayısında ciddi bir azalma olmakla beraber halen yoğun ölçüde bu patojene rastlanması sığırların bu bakterinin kaynağı ve çevreye bu bakterinin yayılmasında önemli olduğunu kanıtlamıştır. Benzer şekilde ahırlarda hayvanların su içtiği kanallardaki segmentlerde bu serotip 4 ay süre ile canlılığını koruyup gelişebilmektedir (Aksu ve ark 1999).

Bu bakteri süt ineklerinin dışkılarında diğer sığırlara göre daha fazla bulunmaktadır. Süt sığırlarının dışkısına 10^3 ve 10^5 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 'nin aşılması, dışkının 5; 22 ve 37 °C 'larda depolandığı bir çalışmada *E. coli* O157:H7 'nin 5 °C 'da 70 gün canlılığını koruduğu , 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, sığır dışkısında 5, 15 ve 25 °C 'lardaki depolanmasında sırasıyla 14, 18 ve 12 hafta canlılığını sürdürdüğü 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. 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 (Aksu ve ark 1999, Murinda ve ark 2002).

DeneySEL olarak 25 adet *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 (Aksu ve ark 1999).

Ruminantlarda özel beslenme ile sağlanan gastrointestinal epitel hücre gelişmesinin *E. coli* O157:H7 serotipi üzerinde olumsuz etki yaptığı, buna karşın silaj yapımı sırasında yetersiz fermentasyonun tüm fekal koliformlarda olduğu gibi *E. coli* O157:H7 sayısında da

artışa neden olduğu ve dolayısı ile dışkı ile bulaşmış otların sırlajında yetersiz fermantasyonun bu bakterinin ruminantlar arasında taşınmasında etkili olabileceği kanıtlanmıştır (Halkman ve ark 1998).

Salgınlarda en önemli taşıyıcının insandan insana olduğu, özellikle anaokulu ve düşkünler evi gibi kişisel hijyenin yeterli olmadığı yerlerde salgının hızla yayıldığı bilinmektedir (Bilgehan 1996).

1.3.10. İlgili Gıdalar

Başta sığırların dışkısı olmak üzere doğrudan ve/veya dolaylı olarak hayvanların dışkısının bulaştığı her türlü gıda maddesi *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu 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 (İnal 1990).

Dünya çapındaki enfeksiyonların çok büyük bir bölümü başta yetersiz pişirilmiş et ve pastörize edilmemiş süt olmak üzere sığırların kaynaklı gıdalar ile olmuştur. Diğer hayvanlar ve özellikle ruminantlar da *E. coli* O157:H7 kaynağı ya da vektörüdür (Firstenberg-Eden ve Sullivan 1997).

Yine başta sığırlar olmak üzere domuz, koyun, piliç etleri ve yine başta hamburger ve köfte olmak üzere kıyma ile hazırlanan et ürünlerinden sıklıkla izole edilmektedir (Sarımehmetoğlu ve ark 1998). Farklı hayvanların dışkılarının eti farklı düzeylerde kontamine edebileceği gösterilmiştir. İngiltere 'de yapılan bir seri çalışmada sığırların dışkılarında % 15,7 , koyun dışkılarında % 2,2 düzeyinde pozitif sonuç bulunmuş iken, sığırların 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 enfeksiyonlara neden olmuştur. Suyun potansiyel kontaminasyonuna karşı su kaynaklı enfeksiyonun 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 (Özalp ve Kaymaz 1992).

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. Böylece çiğ yenilen salata türü sebzelerin ne denli tehlikeli olabileceği ortaya konulmuştur (Aksu ve ark 1999).

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

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. 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 (Sarımehmetoğlu ve ark 1998).

1.3.11. Önleme

Enterobacteria (*E. coli* dahil), ısıya duyarlıdır ve 70 °C'nin üstünde ısıtma ile yok edilebilir. Çiğ veya az pişmiş gıdalar, çapraz-bulaşma (pişmiş gıdanın hammadde ile veya kontamine olmuş aletle temasa geçmesi) enfeksiyonun başlıca nedenleridir. Uygun pişirme

ve gıdanın hijyenik işlenmesi enterobakteriyel enfeksiyonları yüksek oranda engelleyecektir (Çakır 2000).

Kıyma ve köftenin tamamen pişirilmesi halinde organizma bertaraf edilebilir. Etin en kalın kısmına saplanan bir termometre en az 72 °C göstermelidir. Et hazırlanırken diğer yiyeceklerden ayrı tutulmalı, çiğ etle temas eden tüm yüzeyler ve aletler tekrar kullanılmadan evvel iyice yıkanmalıdır. Üzerinde çiğ etin bulunmuş olduğu ve yıkanmamış bir tabağa sonradan pişmiş köfteleri koymak enfeksiyonu aktarır. Ellerin yıkanması da benzer şekilde önemlidir (Akkuş 1996).

Pastörize edilmemiş sütten ve meyve suyundan kaçınılmalıdır. Ticari meyve suları hemen her zaman pastörize edilmiştir. Meyve ve sebzeler, özellikle eğer pişirilmeyeceklerse, iyice yıkanmalıdırlar (Çakır 2000).

1.3.12. 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 (Coşkun ve Öztürk 2000). *E. coli* O157:H7 serotipinin gelişmesi üzerine yapılan çalışmaların çoğu bu serotipin izolasyon çalışmalarına yöneliktir.

Gıda kaynaklı hemorajik kolit vakalarında anahtar rol oynayan *E. coli* O157:H7 'nin aside dirençli olduğunu ve bu toleransının midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesini sağladığını göstermiştir. Bu bakterinin aside direnci insanlarda enfeksiyon dozunun çok düşük olmasını etkileyen bir faktör olarak kabul edilmektedir. *Salmonella* 'nın tersine olarak 1-2 pH olan insan midesinde yaklaşık 3 saat süren sindirim sırasında canlı kalabilmesi ve buradan bağırsağa geçmesi bu ilişkiyi açıklamaktadır (Söyletir ve Topçu 1996). 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. pH 'sı 3,6-4,0 olan elma şarabında 8 °C 'da 31 gün canlı kalabilen *E. coli* O157:H7 'nin % 40 'dan fazla mayonez içeren ve pH 'sı 5,40-6,07 olan et salatasında canlılığını uzun süre koruyabildiği, pH 4,2 'de bir kaç hafta canlı kalabildiği, hatta et salatasının karakteristik pH 'sında gelişebildiği, sırasıyla asetik, laktik ve sitrik asitlerin etkili olduğu belirlenmiştir (Tunail 1999).

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 dirençliğini artırabileceği düşünülmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar bu bakterinin aside toleransının artırabileceğini, asit cinsinin aside olan tolerans artırımında etkili olduğu ve suş farklılıklarının aside dirençlikte önemli olduğunu göstermiştir (Akkuş 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 'da 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 pülverizasyon tüm *E. coli* O157:H7 suşları üzerinde en fazla etkiyi gösterdiği saptanmıştır. 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 (Akkuş 1996).

E. coli O157:H7 serotipi yüksek tuz konsantrasyonlarına da direnç göstermektedir. Glass ve ark (1992) tarafından yapılan araştırmada *E. coli* O157:H7 'nin % 6,5 NaCl 'da 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 'da 2 ay süren depolama sırasında kullanılan starter kültüre bağlı olmaksızın tümüyle inhibe olmadığı bulunmuştur. 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 10⁸ 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 'da piliç ekstrakt broth besiyerinde % 8; 10 °C 'da piliç ekstrakt brothda % 6 ve TS brothda % 4 NaCl konsantrasyonunda *E. coli* O157:H7 'nin inhibe olduğu, bakterinin 4 °C 'da 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 (Govaris ve ark 2002).

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 'da 32 saat süre ile 4,63 pH ve 0,90 A_s 'de dahi 10⁴ - 10⁵ kob/g düzeyinde canlılık elde edilmiştir. 1994 yılında işlenmiş kuru salamın ve 1966 yılında Japonya 'da turp filizinin neden olduğu salgınlarda her 2 ürünün de kuru olması yine kuru gıdalarda bu bakterinin canlı kalabileceğini kanıtlamaktadır (Aksu ve ark 1999).

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. 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 'da 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 (Aksu ve ark 1999).

1.3.13. 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 'da 9 ay süre ile sayıda çok az bir azalma ile canlılığını koruyabilmektedir (Gürkün ve Ayhan 1996).

Yapılan bir çalışmada araştırmacılar 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 'da 15 saniyenin yeterli olduğu, köftelerin ızgaraya konulmadan önce bir süre oda sıcaklığında bekletilmesi ile ısıl işleme direncin azaldığı gösterilmiştir (Sarımehmetoğlu ve ark 1998).

Çiğ süte aşıl原因 *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 °C 'da en çok 2 log birimi 63 °C 'da en çok 4 log birimi canlılık azalması olduğu, 64,5 °C 'da ise başlangıçta 10⁵/ml olan canlılığın tümüyle ortadan kaldırıldığı bulunmuştur (Ünlütürk 1998).

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. ⁶⁰Co ya da ¹³⁷Cs 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 enfeksiyonlarını önlemek için kırmızı etlerin de ışınlanmasına izin verilmiştir (Wang ve ark 2000).

E. coli O157:H7 'nin ışınlamada düşük D₁₀ değerine sahip olması özellikle bu bakteriye yönelik olmak üzere ışınlama uygulamalarını yaygınlaştırmaktadır. Yapılan bir çalışmada (Mustapha ve ark 2002) mekanik olarak kemikleri ayrılmış piliç etine *E. coli* O157:H7 aşıl原因 ve bunlara 0 - 2,0 kGy arasında, farklı sıcaklıklarda ve vakumlu ve vakumsuz olmak üzere farklı atmosfer koşullarında ışınlama uygulanmış, sonuçta +4 °C 'da D₁₀ değeri 0,27 kGy olarak bulunmuştur. Bir başka çalışmada ⁶⁰Co 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. Buna karşın *E. coli* O157:H7 'nin logaritmik fazında iken durma fazına oranla gamma ışınlamasına daha fazla duyarlık gösterdiği, -18 °C 'daki ışınlamada 20 °C 'a oranla *E. coli* O157:H7 ' nin daha dirençli olduğu, 1,5 kGy dozundaki ışınlamanın bu patojenin imhası için yeterli olacağı gösterilmiştir.

Aroma kayıplarına neden olduğu için hammaddeye ısıl işlem uygulanamayan elma şaraplarında UV 'nin etkisinin incelendiği bir çalışmada (Cosansu ve Ayhan 2000) 2254 nm

dalga boyunda UV lambası ile sağlanan 9,402-61,005 $\mu\text{w}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ dozundaki ışınlatma ile *E. coli* O157:H7 'de 3,81 log azalma sağlandığını ve UV lambanın bu amaçla kullanılabileceği gösterilmiştir.

Yapılan bir araştırmada (Arocha ve ark 1992) pastörize edilmiş ve çiğ yağlı ve yağsız süte 2 farklı konsantrasyonda *E. coli* O157:H7 aşılanmış, bu sütler farklı sıcaklıklarda 28 güne kadar inkübasyona bırakılmıştır. Deneme sonuçlarında *E. coli* O157:H7 'nin 5 °C 'da gelişmediği hatta 28 gün sonunda 2 log kob azalması olduğu, 8 °C 'da ilk 4 günde yaklaşık 1-2 log kob artma olduğu 22 °C 'da ise 4 gün içinde pH 'nın 4 'ün altına düşmesi sonunda *E. coli* O157:H7 'nin sayısında hızla azalma olduğu, pastörize edilmemiş sütte ise refakatçi floranın varlığına ve bunların antagonistik etkisine bağlı olarak pastörize sütteki göre daha yavaş geliştiği belirlenmiştir. Benzer bir çalışma (Murinda ve ark 2002) labneh peynirleri ile yapılmış, *E. coli* O157:H7 popülasyonunun fermentasyon sırasında arttığı ve 1 gecelik soğuk depoda bekletme sırasında aynı kaldığı, sonra giderek azaldığı ve 2 gün sonra 2-4 logaritma birimi azaldığı ve 4 gün sonra belirlenemeyecek sayıya indiği ve dolayısı ile geleneksel labneh peynirinin bu patojen açısından güvenilir olduğu gösterilmiştir. Bu bulgulara karşı ticari laktik asit starter kültürü ile inoküle edilmiş sütte 4 ve 7 °C 'larda 5 gün süre sonunda starter kültürün bu patojenin canlılığını etkilemediği gösterilmiştir.

Bir diğer çalışmada starter katılmış ve katılmamış sucuklara farklı düzeylerde *E. coli* O157:H7 aşılanmış ve fermentasyon boyunca sayı incelenmiş, bulgular bu serotipin sucuk olgunlaştırma süresi içinde tümüyle ortadan kalktığını göstermiştir. Sucuklarla yapılan bir çalışmada sucuk hamuruna 10^5 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 ilave edilmiş, olgunlaştırma aşamasında 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 refakatçi floranın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yüksek sayıdaki refakatçi floranın hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında *E. coli* O157:H7 'nin gelişmesini inhibe ettiğini, refakatçi floranın yaklaşık % 80 *Lactobacillus sakei* olmak üzere laktik asit bakterilerinden oluştuğu, kıymaların doğal refakatçi florasının *E. coli* O157:H7 gelişmesi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde *E. coli* O157:H7 'nin yoğurt, ekşi krema ve tereyağında aynı düzeyde asitlendirilmiş süt ortamına göre daha fazla inhibe olduğu, *Pediococcus acidilactici* kullanılarak yapılan laboratuvar ölçekli sosis fermentasyonunda *E. coli* O157 gelişmesinin

nitrit varlığı ile engellenebildiği bulunmuştur. Enterohemorajik *E. coli* 'nin süt ve kıymada gelişmesi üzerine düşük sıcaklık ve refakatçı floranın etkilerinin incelendiği bir çalışmada düşük sayıda refakatçı flora varlığında 8 °C 'da gelişme olduğu, ancak bu sıcaklıkta yüksek sayıda refakatçı flora varlığında gelişmenin olmadığı, yüksek sayıdaki refakatçı floranın *E. coli* 'nin gelişmesini engellediği, yüksek refakatçı flora varlığı veya 5 °C düşük sıcaklıkta gelişme olmasa dahi canlılığın korunduğu, sonuçta 5 °C 'da korumanın gıdalarda riski koruduğu, 8 °C ve üzerindeki sıcaklıkların ise riski artıracığı gösterilmiştir (Cosansu ve Ayhan 2000, Kaya 1999).

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 sığırtleri 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 (Janes ve ark 2002, Palumbo ve ark 1997).

Portakal suyuna ilave edilen *E. coli* O157:H7 'nin çeşitli pH 'larda ve yüksek basınç altında canlılığı araştırılmış ve 550 MPa basınçta 4,5 ve altındaki pH 'larda canlılıkta 6 logaritma birimi azalma olduğu, portakal sularının yüksek basınç altında işlenmeleri sırasında sıcaklık ve sürenin de ürün güvenliği açısından dikkate alınması gereken faktörler olduğu saptanmıştır (Duffy ve ark 1999).

1.4. Peynirlerde *E.coli* ve *E. coli* O157:H7 Kontaminasyonu

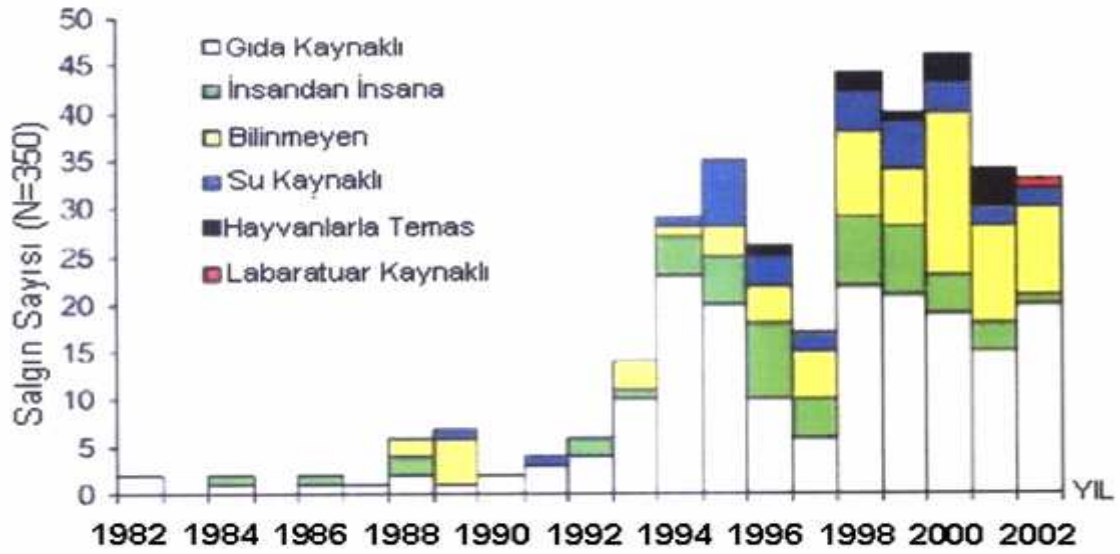
Peynirler, gerek besleyici değeri gerekse kendine özgü lezzet ve aroması ile vazgeçemediğimiz gıda maddeleri arasındadır. Ancak, gerekli itina gösterilmediği hallerde insanlar için zararlı unsurları içerebilir. Bakteriyel kontaminasyon süt endüstrisinde baş edilmesi zor olan bir problemdir. Son on yılda, ciddi hastalıklara ve ölümlere yol açan bakteriyel salgınlar meydana gelmiştir. Protein ve kalsiyum bakımından oldukça zengin bir besin maddesi olan peynirde, farklı kaynaklardan bulaşan birçok mikroorganizma grubu çok hızlı bir çoğalma gösterirler. Bu mikroorganizmalardan bazıları saprofit olup

peynirde bulunan protein, yağ ve karbonhidrat gibi besin kaynaklarını kullanarak kötü tat ve aromaya sebep olan metabolitleri üretirler. Bunun sonucu olarak peynirlerde acılaşıma, kokuşma, ekşime gibi bozulmalar oluşur ve bu durum ekonomik kayıplara yol açar. Peynirlere çeşitli kaynaklardan bulaşan bu mikroorganizmalar içerisinde, en zararlı grubu koliform bakteriler oluşturmaktadır. Bu bakteriler, süt şekerini asit ve gazla çevirmekte ve oluşan gaz, peynirinin iç kısmında toplanarak gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır. Koliform grubu bakteriler peynirin tat ve aromasını da değiştirmektedirler. Peynirde sirke asidi oluşturmaları, *Citrobacter*'in H₂S meydana getirmesi ve *Escherichia coli*'nin proteinlerden pis kokulu indol oluşturması peynirde arzu edilmeyen durumların açığa çıkmasına sebep olmaktadır. Peynirde koliform grubu bakterilerin mevcudiyeti besin kaynağının insan ve sıcak kanlı hayvanlar tarafından kirletilmiş olduğunu göstermektedir (İnal 1990, Tan ve Ertürk 2002).

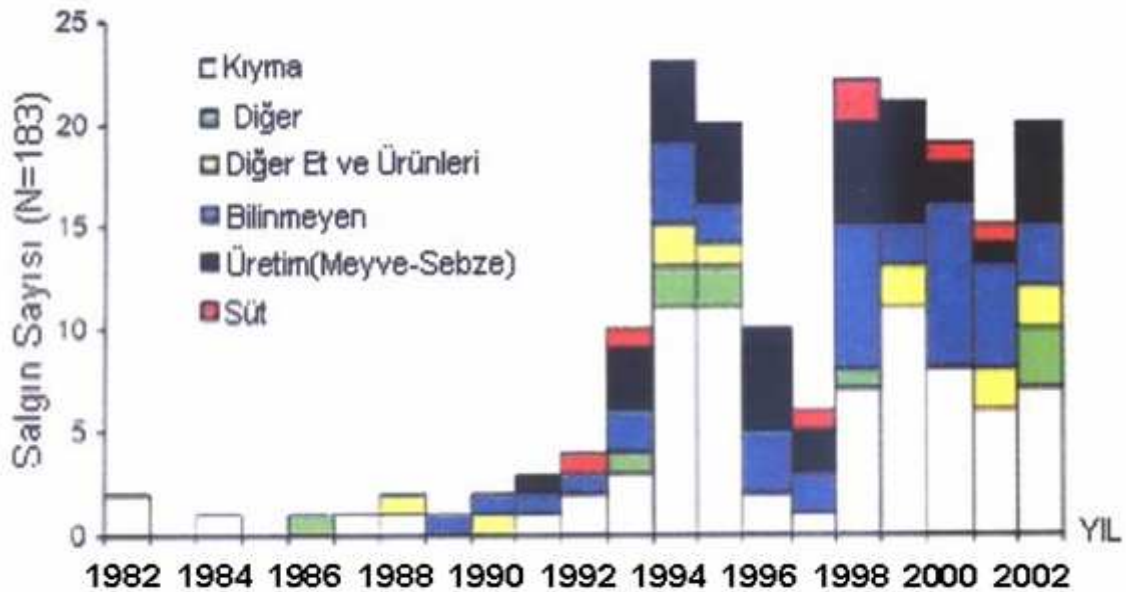
Bakteri salgınlarının insanlara olan zararının yanı sıra, bir de finansal maliyeti bulunmaktadır. Peynirlerde mikrobiyel etkenlerden meydana gelen gıda zehirlenmelerinden ve enfeksiyonlardan daha çok *Brucella spp.* (bruselloz, malta humması), *Salmonella spp.* (gastroenterit, tifo, paratifo), *Shigella spp.* (dizanteri), *Staphylococcus aureus* (emetik intoksikasyon), *Escherichia coli* (gastroenteritis), *Vibrio cholera* (kolera) gibi mikroorganizmalar sorumlu tutulmaktadır. Bu bakteriler ya hasta hayvanların sütlerinden ya da sağım ve taşıma sırasında süte veya ürüne dönüştürülme sırasında çevreden peynire bulaşmaktadırlar (Vatan 1996).

İnsanlarda oldukça şiddetli hastalıklara yol açan Enterohemorajenik *E. coli* (EHEC) son derece önemli gıda kaynaklı bir patojen olarak tanımlanmıştır. EHEC tipi *E. coli*'ler ile yapılan çalışmalarda, söz konusu mikroorganizmalar arasında özellikle *E. coli* O157:H7 suşunun insan sağlığı açısından en riskli tür olduğu ifade edilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin insanlara kontaminasyonu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, kontaminasyonun en önemli kaynaklarından birinin sığırlar olduğu tespit edilmiş ve günümüze kadar saptanan epidemiyolojik vakaların bir çoğunun kontamine et olduğu görülmüştür. Araştırmalarda, et yanında süt ve süt ürünlerinin de oldukça önemli bir yere sahip olduğu, ayrıca süt ve ürünleri ile ilgili olan çok sayıda salgın hastalıklara rastlanıldığı tespit edilmiştir (Tunail 1999, Tekinşen ve ark 2002).

Bulaşma kaynakları açısından ABD ile Avrupa ülkeleri arasında farklılık görülmektedir. ABD ve İngiltere’de *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının asıl kaynağı hamburger ve diğer et ürünleri iken Avrupa ‘da 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 (Tunail 1999).

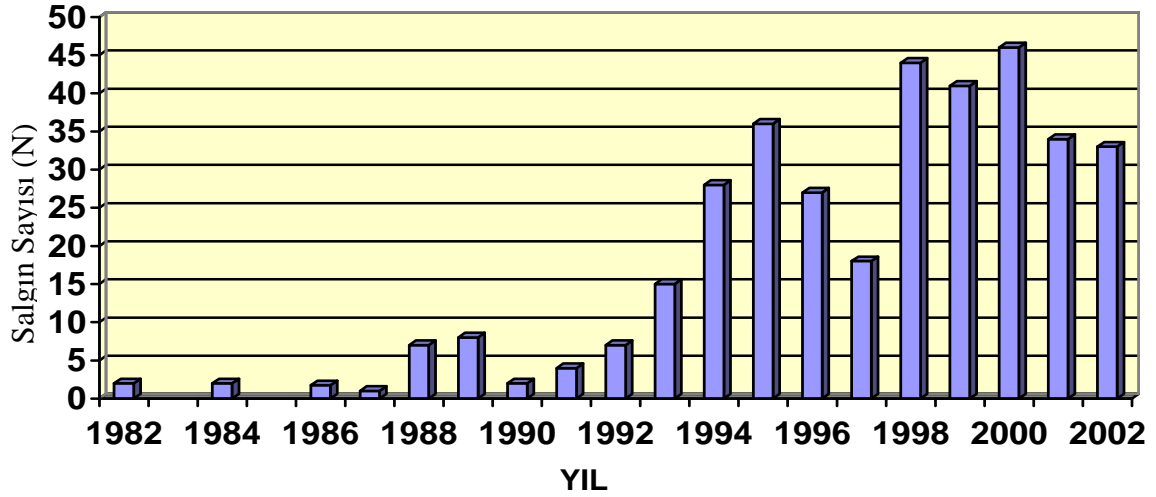


Şekil 1.1. Salgınların ortaya çıkma nedenleri (Rangel ve ark 2005)

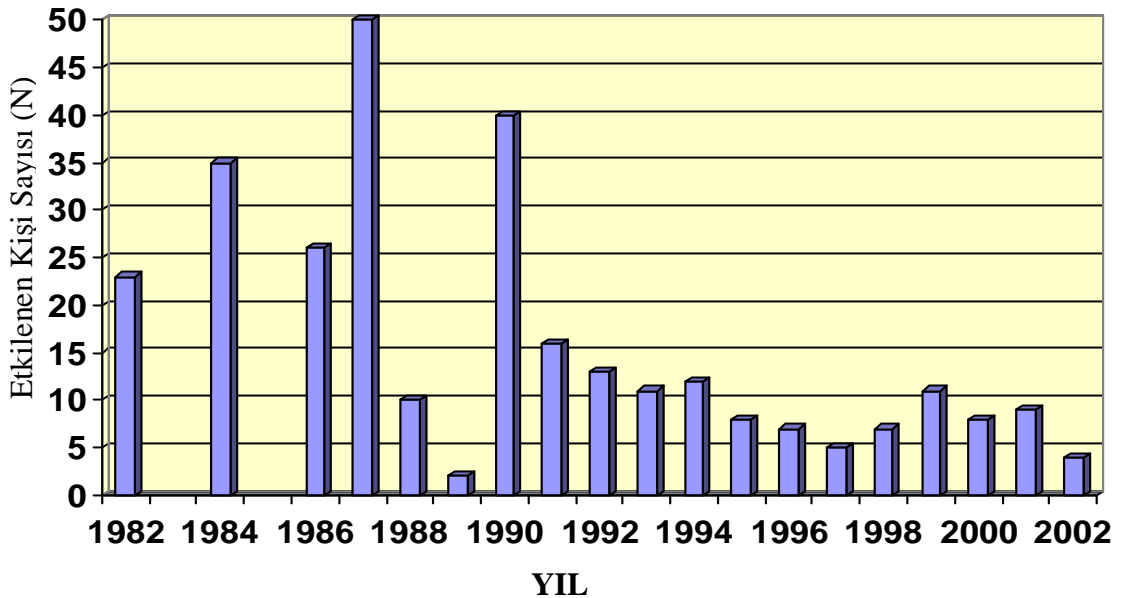


Şekil 1.2. Gıda kaynaklı salgınların nedenleri (Rangel ve ark 2005)

E. coli O157:H7 her yıl A.B.D. 'de yaklaşık 73 000 enfeksiyona neden olmaktadır. 1982-2002 yılları arasında toplam 350 salgın ortaya çıkmış ve bu salgınlar her yıl ortalama 50 ölüme neden olmuştur. 1982-2002 arası A.B.D.'de meydana gelen salgın sayısı ve bir salgında ortalama kaç kişinin etkilendiği Şekil 1.3 ve 1.4'te belirtilmiştir (Rangel ve ark 2005).



Şekil 1.3. 1982-2002 arası *E.coli* O157 salgın sayısı (N) (Rangel ve ark 2005)



Şekil 1.4. 1982-2002 arası bir salgında ortalama kaç kişinin (N) etkilendiği (Rangel ve ark 2005)

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 \$ olduğu tahmin edilmektedir (Abdullah ve Davies 1999). ABD Hastalık Önleme ve Koruma Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention) (1999)'ne göre sadece ABD 'de gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar toplamı olarak yılda 76 milyon vaka olmakta, bunlardan 300.000 'i tedavi görürken 5000 ölüm olmakta, *E. coli* O157:H7 ise 20.000 vaka ve 250 ölümden sorumlu tutulmaktadır. ABD 'de hastalığın sıklığı her 100.000 kişide 2,1 kişi iken, bu değer Kanada 'da 1991-1996 yılları arasında 3 - 5,3 kişi olarak değişmiştir.

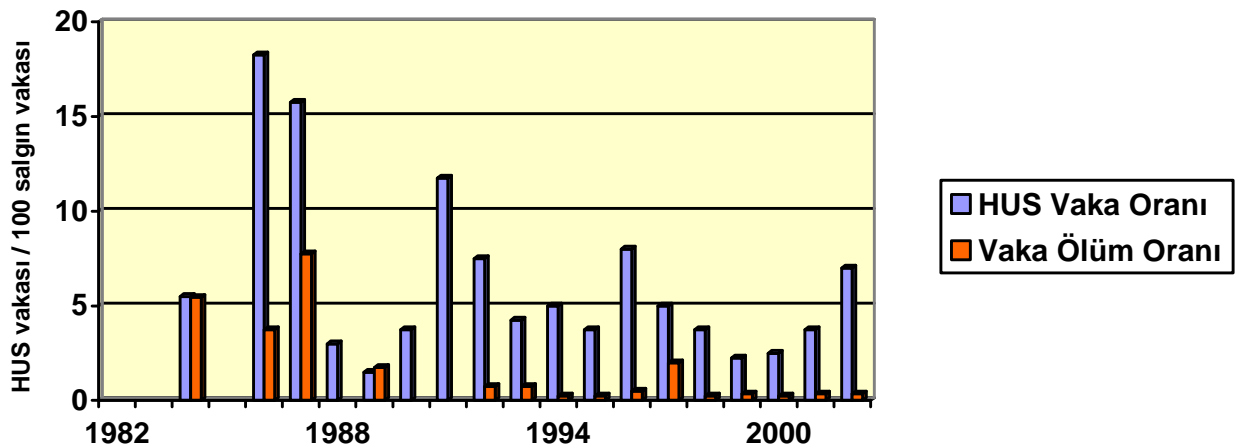
Avrupa 'da görülen enfeksiyonların seyri ABD 'den farklılık göstermektedir. Avrupa 'da HUS vakalarının % 10-30 kadarını O157 olmayan STEC suşları oluşturulmaktadır. İngiltere 'de laboratuvar tarafından doğrulanmış vaka sayısı 1982 'de sadece bir iken bu sayı 1995 yılında 1000 'i geçmiştir. Kıta Avrupa 'sı ile İngiltere 'deki enfeksiyonlar da farklılık göstermektedir. Özellikle Almanya 'da sorbitol pozitif hareketsiz O157 serotipine sıklıkla rastlanmaktadır (Riordan ve ark 2000).

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 (Riordan ve ark 2000).

Bireysel vakalar dışında *E. coli* O157:H7 ilk olarak 1982 yılında ABD 'de Oregon 'da 26 ve Michigan 'da 21 olmak üzere 47 vaka ile ve her ikisi de yine daha önceliklere 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. 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 (Riordan ve ark 2000).

E. coli O157:H7 'nin yapmış olduğu hastalıklar tipik ve oldukça sert geçen hemorajik kolitis, HUS ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere 3 şekilde görülür. Kusma nadirdir. Bunlardan hemorajik kolit aniden ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ile başlar ve 24 - 48 saat içinde sulu diyare ile devam eder. Diyare sırasında görülen kan artar ve dışkı zamanla tümüyle kan olur. Hastalığın ortaya çıkması genellikle 3-9 gün (ortalama 4 gün), hastalık süresi ise 2-9 gündür. Hastalığın ortalama 8 gün sürdüğü şeklinde kaynaklara da rastlanmaktadır (Erdem 1999). Kramplı karın ağrılarının doğum sonrasına benzer yoğunlukta olduğu ve apandisit ağrısından daha şiddetli olduğu bildirilmektedir. Bu hastalık, shigellosiste tanımlanan dizanteri ve invaziv *E. coli* 'nin neden olduğu gastroenteritisten ateş olmaması ve kanlı dışkı ile ayrılmaktadır (Doğancı ve ark 1997).

Bazı hastalarda ve özellikle çok gençlerde böbrek yetersizliği, mikroangiopatik hemolitik anemi ve trombositopeni ile karakterize edilen ve üçlü bir sendrom olarak tanımlanan HUS gelişir. Hemorajik kolitis vakalarında ortalama % 0-15 arasında HUS geliştiği tahmin edilmekte, bu oran çocuklarda % 10 olarak verilmektedir. HUS, kalıcı böbrek fonksiyon kaybına neden olabilir. Yaşlılarda ise HUS, ateş ve TTP olmak üzere ilave iki semptom ile görülür. Bu durumda yaşlılarda ölüm oranı ortalama % 50 'ye çıkmaktadır. Kuzey Amerika ülkelerinde ise ölüm oranı % 5 olarak tahmin edilmektedir (Erdem 1999).



Şekil 1.5. 100 vakada HUS ve ölüm oranı (Rangel ve ark 2005)

Çoğu kez hastalara diyaliz ve kan nakli gerekir, nöbet ve koma ile karakterize edilen merkezi sinir sistemi hastalıkları gelişir ve ölüm görülebilir . HUS 'un prodromal kanlı diyare ile başlayan tipik ve diyareli fazı içeren atipik alt grupları vardır. Hastalarda sarılık, sıklıkla yüksek tansiyon ve kalp yetmezliği de görülebilmektedir. *Sh. dysenteriae* serotip-1 ile oluşan enfeksiyon HUS 'a neden olmaktadır (Erdem 1999).

TTP 'da ise klinik ve patolojik özellikler HUS 'a benzer; ancak merkezi sinir sistemi bozukluğu genellikle temel özelliktir. Hastalıkta beyinde kan pıhtısı oluşur ve ölüm genellikle görülür. Bununla beraber *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarında TTP 'nin nadir olduğu da bildirilmektedir (Karapınar ve Gönül 1998).

Japonya'da yapılan araştırmalarda (Lin ve ark 2000) *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının gençlerde daha etkili olduğu 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.

E. coli O157:H7 'nin neden olduğu hastalıkların yoğunluğunun 100.000 'de 10 'dan daha az olduğu kabul edilmektedir. Hastalığın ortaya çıkmasından itibaren 10 gün süre ile hastalar *E. coli* O157:H7 yayarlar. Ortalama % 5 kadarı HUS 'a yakalanırken, *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarında dışkıda kan görülme olasılığını % 90 olduğu bilinmektedir (Bilgehan 1996).

Bakteri, antibiyotiklere dirençlidir 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 koymuş, benzer sonuçlar ABD 'de de alınmıştır. Japonya 'da 1996 yılında görülen ve çoğu okul çocuğu olan 6000 kişinin etkilendiği salgında ise özellikle enfeksiyonun 7. gününde alınan antidiyarejenik ilaçların enfeksiyonu daha da şiddetlendirdiği belirlenmiştir (Lin ve ark 2000).

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. 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 tespit edilmiştir (Lin ve ark 2000).

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* suşunun 84 adedinin farklı suş olduğu gösterilmiştir (Bauer ve Welch 1996).

Aydın ilinde her kesimden insanın sofrasında ağırlıklı bir yeri olan beyaz peynirlerde enterohemorajik *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığı üzerine eğilen bir çalışmaya rastlanamamıştır. İşte bu görüşten yola çıkarak, Aydın ilinde tüketime sunulan beyaz peynirlerde enterohemorajik *E. coli* O157:H7 suşunun izolasyon ve identifikasyonunu ele almak amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Gereç

2.1.1. Numuneler

Aydın ili pazarlarından, mandıra ve marketlerden toplanan 100 adet beyaz peynir numunesi araştırmanın materyalini oluşturdu. Beyaz peynir numunesi, satın alındığı tenekenin orta kesiminden bir kalıp (200-300 g) olacak şekilde ayrı steril torbalar içine konularak analizlere tabi tutulmak üzere soğuk zincirde laboratuvara getirildi. Toplanan numunelerin farklı satış noktalarından alınmasına dikkat edildi.

2.1.2. Besiyerleri

2.1.2.1. İzolasyon Besiyerleri

2.1.2.1.1. Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) (Oxoid CM509)

Peptone	10 g
Sodium chloride	5 g
Disodium phosphate	3.5 g
Potassium dihydrogen phosphate	1.5 g

Karışımın pH'sı 7.2-7.4'e ayarlanıp her bir deney tüpüne 9 ml ilave edildi. Tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 °C'de saklandı (Bridson 1988).

2.1.2.1.2. MUG içeren Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSTB) (Oxoid

CM967)

Tryptose	20 g
Lactose	5 g
Dipotassium hydrogen phosphate	2.75 g
Potassium dihydrogen phosphate	2.75 g
Sodium chloride	5 g
Sodium lauryl sulphate	0.1 g
4-methylumbelliferyl-p-D-glucuronide (MUG)	0.1 g
Tryptophan	1 g

Besiyeri çift güçlü olarak hazırlandı. Karışım pH' sı 6.8-7.0 ye ayarlanıp durham tüplü her bir deney tüpüne 9 ml ilave edildi. Tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 °Cde saklandı (Bridson 1988).

2.1.2.1.3. Nutrient Broth (NB) (Oxoid CM1)

'Lab-Lemco' powder	1 g
Yeast extract	2 g
Peptone	5 g
Sodium chloride	5 g

Karışımın pH' sı 7.4-7.6' ya ayarlanıp her bir deney tüpüne 5 ml ilave edildi. Tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 °C'de saklandı (Bridson 1988).

2.1.2.2. İdentifikasyon Besiyerleri

2.1.2.2.1. Sorbitol MacConkey Ağar (SMAC) (Oxoid CM813)

Peptone	20 g
Sorbitol	LOg
Bile salts No. 3	1-5g
Sodium chloride	5g
Neutral red	0.03 g
Crystal violet	0.001 g
Ağar	15g

Karışımın pH' sı 7.1-7.3' e ayarlanıp 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra 10 cm çapındaki petri kutularına döküldü ve kullanılıncaya kadar + 4 °C'de saklandı (Bridson 1988).

2.1.2.2.2. Nutrient Broth (NB) (Oxoid CM1)

Bu besiyeri 2.1.2.1.3.'deki gibi hazırlandı.

2.1.2.2.3. Metil Red-Voges Proskauer Broth (MRVP) (Oxoid CM359)

Peptone	5 g
Glucose	5 g
Phosphate buffer	5 g

Karışımın pH' sı 7.5-7.7' ye ayarlanıp her bir deney tüpüne 5 ml ilave edildi. Tüpler 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 °C'de saklandı (Bridson 1988).

2.1.2.2.4. Simmons Citrate Ağar (Oxoid CM155)

Magnesium sulphate	0.2 g
Ammonium dihydrogen phosphate	0.2 g
Sodium ammonium phosphate	0.8 g
Sodium eitate, tribasic	2.0 g
Sodium chloride	5 g
Bromothymol blue	0.08 g
Agar	15 g

Karışımın pH' sı 7.0-7.2' ye ayarlanıp ağzı vida kapaklı tüplere 10 ml ilave edildi. Tüpler 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra yatık durumda tutularak besiyeri katılaştırıldı ve kullanılıncaya kadar + 4 °C'de saklandı (Bridson 1988).

2.1.3. Ayıraçlar

2.1.3.1. İndol Test Ayıracı (Kovacs)

p-dimethylaminobenzaldehyde	10 g
Isoamyl alcohol	150 ml
HCl (konsantre)	50 ml

2.1.3.2. Metil Red Test Ayıracı

Metil kırmızısı	0.050 g
Ethyl alcohol (% 95'lik)	150 ml
Distile su	100 ml

2.1.3.3. Voges Proskauer Test Ayıracı

Alpha naphthol	5 g
Absolut ethyl alcohol	100 ml
Potassium hydroxyde	10 g
Distilesu	100 ml

2.1.4. Solüsyonlar

2.1.4.1. Peptonlu Fizyolojik Su

Pepton	1 g
NaCl	85 g
Distilesu	1000 ml

Karışımın pH' sı 6.8-7.0' ye ayarlanıp deney tüplerine 9 ml ilave edildi. Şişeler 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 °C' de saklandı (Bilgehan 1996).

2.1.4.2. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)

NaCl

Distile su

2.1.5. Kitler

2.1.5.1. *E. coli* O157:H7 Latex Test Kiti (Oxoid DR620M)

DR621MTestLatex

DR 622M Kontrol Latex

DR 623M Pozitif kontrol süspansiyon

DR 624M Negatif kontrol süspansiyon

DR 500G Reaksiyon kartları

2.1.6. Boyalar

2.1.6.1. Gram Boyama Seti (GBL 5026/01, 02, 03, 04)

Hucker Kristal moru çözeltisi	(5026/01)
Crystal violet Distile su Burke iyot	1g çözeltisi (5026/02) İyot
Potasyum iyodür Distile su	100
Denatüre alkol aseton çözeltisi	ml (5026/3)
Aseton	1g ii
Alkol (% 96)	2g ii
Safranin çözeltisi (5026/4)	
Safranin	1 g
Distile su	100 ml

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Analiz Örneklerinin Alınması

E. coli 'nin izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla her bir kalıp peynirin (200-300 g) iç kısmından aseptik koşullarda 25'er gram olacak şekilde ikişer örnek alındı. Örnekler A ve B harfleri ile adlandırıldı. Mikrobiyolojik analizlerin güvenilirliğini artırmak ve hata payını minimuma düşürmek amacıyla her bir örnek için çift analiz yapıldı (Vanderzant ve Splittstoesser 1992).

2.2.2. *E. coli* İzolasyonu

E. coli izolasyonu için aynı peynirden alınan iki örneği de ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla, 25 g peynir örneği içerisinde 225 ml TPS (Oxoid CM509) bulunan stomacher torbasına konuldu. Numuneye ait bilgi torba üzerine kayıt edildi. Peynir numunesinin parçalanıp homojen hale gelmesi için stomacher'de 2 dakika homojenize edildi. Homojenize olan numune 37 °C'de 1-3 saat etüvde inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda ön zenginleştirme besiyerinden 1 ml alınıp 9 ml peptonlu fizyolojik su çözeltisi içeren tüpe aktarılarak ana dilüsyon hazırlandı. Daha sonra 10⁻³ basamağına kadar numunelerin diğer dilüsyonları yapıldı. Dilüsyonların yapılması esnasında her aktarımda yeni pipet kullanıldı (Vanderzant ve Splittstoesser 1992).

Yapılan her dilüsyondan 1 ml olacak şekilde, MUG içeren LSTB'un (Oxoid CM967) bulunduğu 3 tüpe ekim yapıldı. Tüpler 37 °C' de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda bulanıklık ve durham tüplerinde gaz oluşumu saptanan her dilüsyona ait tüp uzun dalga boyunda UV lamba (Vilber Lourmat, 6 w-365 nm tube 12 watt, V02 9309, France) altında floresan oluşumu (mavi röfle) yönünden incelendi (Vanderzant ve Splittstoesser 1992).

2.2.3. *E. coli* İdentifikasyonu

E. coli identifikasyonu amacıyla MUG içeren LSTB tüplerinin her bir dilüsyonundan (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³) bir öze dolusu alınarak SMAC agar (Oxoid CM155)' a

yayma plak metodu ile paralel ekimler yapıldı. Petriler 37 °C' de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda sorbitol (-) renksiz kolonilerden NB (Oxoid CMI)' a geçilerek 44 °C' de 18 saat inkübe edildi. NB' da görülen üremelerden, mikroskopik muayene yapıldı (Vanderzant ve Splittstoesser 1992).

2.2.3.1. Mikroskopik Muayene

E. coli'nin morfolojik yapısının ve sahip olduğu hareket özelliğinin ortaya konulması amacıyla NB'daki üremelerden hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendi. Bu amaçla, etkenin morfolojik yapısı Gram boyama yöntemi ile saptanırken; hareketli olup olmadığı hareket muayenesi yapılarak tespit edildi (Vanderzant ve Splittstoesser 1992).

2.2.3.1.1. Gram Boyama Yöntemi

NB' dan bir öze dolusu kültür alınarak temiz bir lam üzerinde belirli bir alana yayıldı. Preparat havada kurutulduktan sonra üç kez alevden geçirilerek tespit işlemi gerçekleştirildi. Preparat kristal moru çözültüsü (GBL 5026/01) ile 2-3 dakika boyandı. Boya dökülerek distile su ile yıkandı. Daha sonra iyot çözültüsü (GBL 5026/02) ile 1-2 dakika boyandı. Boya dökülerek distile su ile yıkandı. Preparatın üzerine damla damla aseton alkol çözültüsü (GBL 5026/03) damlatılarak dekolere edildi. Distile su ile yıkandı ve safranin çözültüsü (GBL 5026/03) ile 30 saniye boyandı. Preparat distile su ile yıkandı ve kurutuldu. İmmersiyon objektifinde incelendi (Bilgehan 1996).

2.2.3.1.2. Hareket Muayenesi

Lam-lamel arası muayene yönteminden yararlanıldı. NB' dan bir öze dolusu kültür alınıp temiz bir lam üzerine konuldu. Lamın üzerine lamel kapatıldı. Preparat immersiyon objektifinde incelendi (Bilgehan 1996).

2.2.3.2.Biyokimyasal testler

2.2.3.2.1. İndol Testi

İncelenecek saf kültürden, içerisinde 5 ml NB bulunan tüpe 0,1 ml ekim yapıldı. Tüp 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüp kenarından 0,5 ml kovacs ayıracı akıtılarak besiyeri üzerinde tabakalandırıldı. Birkaç saniye içerisinde besiyeri ile ayıraç arasında kırmızı bir halka oluşumu gözlenen örnekler pozitif olarak değerlendirildi (Bekar 1995).

2.2.3.2.2. Metil Red-Voges Proskauer (MRVP) Testi

İncelenecek saf kültürden içerisinde 5 ml MRVP Broth (Oxoid CM359) bulunan tüpe 0,1 ml ekim yapıldı. Tüp 37 °C' de 2-7 gün inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüp içerisine MR test ayıracından 4-5 damla damlatılarak iyice karıştırıldı. Tüpte kırmızı rengin oluşması testin pozitif olduğunu gösterdi. VP testi içinde saf kültürden MRVP Broth'a ekim yapılarak inkübasyona bırakılan tüpten 24. saatte 1 ml kültür alınarak steril bir tüpe aktarıldı. Bu tüpe önce VP test ayraçlarından 0.6 ml alpha naphtol ayıracından ve hemen arkasından 0.2 ml KOH ayıracından ilave edilerek çalkalandı. Tüp dik olarak 10-15 dakika bekletildi. Tüpte bir saatlik süre içinde meydana gelebilecek pembeden parlak kırmızıya kadar değişen reng ile test pozitif olarak değerlendirildi (Bekar 1995).

2.2.3.2.3. Sitrat Kullanım Testi

İncelenecek saf kültürden yatık Simmons Citrate Ağar (Oxoid CM155)' a öze yardımıyla ekim yapıldı. Tüpler 37 °C' de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda ekim hattı boyunca üremeye bağlı olarak oluşankoyu mavi reng ile test pozitif olarak değerlendirildi (Bekar 1995).

2.2.3.3. *E.coli* O157:H7 İdendifikasyonu

2.2.3.3.1. Latex Aglütinasyon Testi

İndol testi pozitif olan kültürlerle *E. coli* O157 Latex aglütinasyon testi (Oxoid DR620M) uygulandı. Reaksiyon kartında (DR 500G) yer alan dairelerinden biri test diğeri kontrol dairesi olarak belirlendi. Bu dairelere birer damla FTS damlatıldı. Steril öze yardımıyla SMAC'da tespit edilen şüpheli renksiz kolonilerden 2-5 adet alındı. Test ve kontrol halkasındaki FTS içinde partikül kalmayacak şekilde süspanse edildi. Her iki dairedeki kültür ayrı bir öze ile karıştırıldı. Test halkasının bulunduğu kısma bir damla Test Latex (DR 621M)' inden, kontrol halkasının bulunduğu kısma ise bir damla Kontrol Latex (DR 622M)' inden damlatıldı. Her iki halka içinde yer alan karışım öze yardımıyla 60 saniye boyunca dairesel olarak karıştırıldı. Süre içinde test halkasında aglütinasyonun görülmesi susun *E. coli* O157:H7 olduğunu gösterdi (Bridson 1988).

2.2.4. Fekal *E. coli* Sayımı

Peynir numunelerinin her birinden MUG içeren LSTB tüplerine ekim yapılarak 37 °C' de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüplerde meydana gelen gaz oluşumu ile birlikte, UV lamba altında yapılan muayenede mavi röfle veren tüplerde fekal *E. coli*'nin varlığı tespit edildi (Dayıcı 2000).

3.BULGULAR

3.1. Analiz Örneklerinin Alındığı Yerler ve Sayıları

E. coli O157:H7 suşunun izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla Aydın İli merkezinden 100 adet numune alındı.

3.2. *E. coli* İzolasyonu

Herbir peynir numunesi iki örnek olacak şekilde ön zenginleştirmeleri yapılarak MUG içeren LSTB'a yapılan ekimlerinden 10^{-1} de 23 adet, 10^{-2} 'de 35 adet ve 10^{-3} 'deki sulandırmalarından 24 adet tüpte bulanıklık ve gaz oluşumu saptandı. Geriye kalan 18 adet numunenin bulunduğu tüplerde ise herhangi bir üreme meydana gelmedi (Çizelge 2.1.).

Üremenin görüldüğü (bulanıklık ve gaz oluşumu) 82 adet numuneye ait MUG içeren LSTB'un UV lamba altında yapılan muayenesinde, 62 adet numunede mavi röfle görülürken diğer 20 adet numunede ise mavi röfle görülmedi (Çizelge 2.2.).

MUG içeren LSTBTu tüplerden SMAC agar'a yayma plak metodu ile yapılan paralel ekimler sonucu 16 adet numuneden renksiz ve orta büyüklükte koloniler izole edildi. Bu koloniler *E. coli* O157:H7 yönünden şüpheli olarak değerlendirildi. Diğer 66 adet numuneden ise SMAC ağarda pembe renkli koloniler izole edildi (Çizelge 2.2.).

3.3.*E. coli* Susunun İdentifikasyonu

SMAC ağarda sorbitolün fermente edilememesine bağlı olarak meydana gelen renksiz koloniler *E. coli* O157:H7 susu açısından identifikasyona tabi tutuldu. Bu amaçla 16 adet peynir numunesinden izole edilen renksiz kolonilerin mikroskopik muayeneleri, biyokimyasal testleri ve doğrulama testleri yapıldı.

3.3.1. Mikroskopik Muayene Sonuçları

SMAC agarda izole edilerek NB' da üretilen 16 adet numuneden hazırlanan preparatların Gram boyama yöntemi ile boyanması sonucu numunelerin hepsinde pembe renkli ve omak tarzında morfolojiye sahip Gram negatif bakteriler gözlendi. Yapılan hareket muayenesinde ise 11 adet numunede hareketli etkenler tespit edilirken 5 adet numunede ise hareketsiz etkenler gözlendi (izelge 2.3.).

Çizelge 2.1. Peynir numunelerinin MUG içeren LSTB'daki ekim sonuçları

N	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20				
SO	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B			
10 ⁻¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻³	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	

N	21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31		32		33		34		35		36		37		38		39		40					
SO	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B				
10 ⁻¹	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻²	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
10 ⁻³	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

N	41		42		43		44		45		46		47		48		49		50		51		52		53		54		55		56		57		58		59		60						
SO	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B					
10 ⁻¹	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻²	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻³	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N	61		62		63		64		65		66		67		68		69		70		71		72		73		74		75		76		77		78		79		80						
SO	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B					
10 ⁻¹	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
10 ⁻²	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

N	81		82		83		84		85		86		87		88		89		90		91		92		93		94		95		96		97		98		99		100						
SO	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B					
10 ⁻¹	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻²	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
10 ⁻³	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N: Numuneler, SO: Sulandırma oranı, A,B: Aynı peynir numunesi, +: Bulanıklık ve gaz oluşumu pozitif, -: Üreme ve gaz oluşumu negatif.

Çizelge 2.2. Peynir numunelerinin MUG içeren SMAC agar'daki ekim sonuçları.

Numune No	MUG Reaksiyonu	SMAC	Numune No	MUG Reaksiyonu	SMAC
1	+	Prk	52	+	Prk
2	+	Prk	53	+	Prk
3	-	Rk	55	+	Prk
4	-	Rk	56	-	Rk
5	+	Prk	57	+	Prk
6	+	Prk	58	-	Rk
7	+	Prk	59	+	Prk
9	+	Prk	60	+	Prk
10	+	Prk	61	+	Prk
12	-	Rk	62	+	Prk
15	+	Prk	64	+	Prk
16	+	Prk	65	-	Rk
17	+	Prk	66	+	Prk
18	-	Rk	68	+	Prk
19	+	Prk	69	-	Rk
20	+	Prk	71	+	Prk
22	+	Prk	72	+	Prk
23	+	Prk	73	+	Prk
24	+	Prk	74	+	Prk
25	+	Prk	75	+	Prk
26	+	Prk	76	+	Prk
29	-	Rk	78	+	Prk
30	+	Prk	79	-	Rk
31	+	Prk	80	+	Prk
32	+	Prk	81	+	Prk
33	+	Prk	82	+	Prk
34	-	Rk	83	-	Prk
35	+	Prk	85	-	Rk
36	+	Prk	86	+	Prk
37	+	Prk	87	+	Prk
39	+	Prk	88	+	Prk
40	-	Rk	89	+	Prk
41	+	Prk	92	+	Prk
42	+	Prk	93	-	Rk
43	-	Prk	94	+	Prk
45	-	Prk	95	+	Prk
46	+	Prk	96	+	Prk
47	+	Prk	97	-	Rk
48	+	Prk	98	-	Prk
49	-	Prk	99	+	Prk
50	+	Prk	100	+	Prk

+: Pozitif, -: Negatif, **Rk**: Renksiz koloni, **Prk**: Pembe renkli koloni.

Çizelge 2.3. Peynir numunelerinin mikroskopik muayene sonuçları

Numune No	Gram Boyama	Hareket Muayinesi
3	Gr(-), çomak	+
4	Gr(-), çomak	+
12	Gr(-), çomak	-
18	Gr(-), çomak	+
29	Gr(-), çomak	+
34	Gr(-), çomak	+
40	Gr(-), çomak	-
45	Gr(-), çomak	+
56	Gr(-), çomak	+
58	Gr(-), çomak	-
65	Gr(-), çomak	+
69	Gr(-), çomak	+
79	Gr(-), çomak	-
85	Gr(-), çomak	-
93	Gr(-), çomak	+
97	Gr(-), çomak	+

Gr(-): Gram negatif, +: Hareketli, -: Hareketsiz

3.3.2. Biyokimyasal Test Sonuçları

Mikroskopik muayene sonucu hareket özelliğine sahip 11 adet numunenin bulunduğu tüp içerisindeki şüpheli etkenin, identifikasyon amacıyla yapılan biyokimyasal testlere ait sonuçlar çizelge 2.4. gösterildi.

Çizelge 2.4. Peynir numunelerinin biyokimyasal test sonuçları.

Numune No	İN	MR	VP	ST
3	-	-	+	-
4	-	+	-	-
18	+	+	-	-
29	+	+	-	-
34	-	-	+	-
45	+	+	-	-
56	+	+	-	-
65	-	-	+	-
69	-	-	+	-
93	-	-	+	-
97	+	+	-	-

İN: indol, MR: metil red, VP: voges proskauer, ST: sitrat, +: pozitif, -: negatif.

3.3.3. *E.coli* O157:H7 İdentifikasyonu

İndol testinde pozitif sonuç veren 5 adet peynir numunesinin *E. coli* O157:H7 suşu içerip içermediğinin saptanması amacıyla SMAC'da üreyen kolonilerden latex aglütinasyon testi yapıldı. Bu test sonucuna göre hiçbir numunenin aglütinasyon meydana getirmediği tespit edildi.

3.3.4. Fekal *E. coli* Sayım Sonuçları

MUG içeren LSTB'a yapılan ekimler sonucu, gaz oluşması ve UV lamba altına tutulan tüplerde mavi röflenin görülmesine bağlı olarak toplam 62 adet peynir numunesinde fekal orijinli *E. coli*'nin varlığı tespit edildi.

4. TARTIŞMA

Bu araştırma, Aydın ilinde tüketime sunulan beyaz peynirlerde *E. coli* O157:H7 suşunun varlığının saptanması amacıyla yürütülmüştür.

Çalışmada, 100 adet beyaz peynir örneği toplanarak mikrobiyolojik açıdan incelenmiştir. Örneklerde koliform bakteriler ve fekal *E. coli* ile *E. coli* O157H7' nin varlığı araştırılmıştır.

Yapılan analizlerin sonucunda 100 adet peynir numunesinden 82 numunede koliform grubu bakteriler, 62 örnekte *E. coli* bulunmuş, buna karşılık *E. coli* O157:H7 izole edilememiştir.

Çeşitli peynirler üzerinde benzer yaklaşımla yapılan mikrobiyolojik araştırmalara göz atıldığında, çalışmaların büyük bir kısmında, bu çalışmada olduğu gibi, koliform bakteriler ve *E. coli* izole edildiği görülmektedir :

Sert ve Özdemir (1989) taze beyaz peynirler üzerine yaptıkları bir çalışmada, ortalama koliform grubu bakteri, 2.8×10^6 kob/g olarak tespit etmişlerdir. Yalçın ve ark (1993), incelediği beyaz peynir örneklerinde koliform grubu bakteri -3.6×10^7 kob/g olarak belirlemiştir. Kalkan ve ark (1991), marketlerde satılan 50 adet beyaz peynir numunesinin % 64' ünde 1.3×10^5 /g koliform bakteri ve % 22' sinde 2.5×10^3 /g *E. coli* bulunduğunu belirlemiştir. Beyaz peynirler üzerine yapılan bir diğer çalışmada, ortalama koliform grubu bakteri sayısı 3.8×10^2 kob/g ve *E. coli* sayısı 2.5×10^2 kob/g olarak tespit edilmiştir.

Vatan (1996), Bursa ili merkezinde satışa sunulan kaşar peynirlerindeki koliform bakteri sayısını 272 adet/g düzeyinde saptamıştır. Kurt ve Akyüz (1984) otlu peynirlerde, koliform grubu bakteri, 15.1×10^2 , kob/g olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Sancak ve ark (1996), Van piyasasında tüketime sunulan otlu peynirler üzerine yaptıkları çalışmada, koliform grubu bakterileri 8.2×10^5 kob/g olarak belirlemiştir. Coşkun ve Öztürk (2000),

otlu peynirlerde ortalama toplam aerob mezofil bakteri, koliform grubu bakteri, *S. aureus* ve maya-küf sayısını sırasıyla 7.14, 3.96, 3.29 ve 3.48 log₁₀ kob/g; Ayrıca örneklerin %36.7'sinde *E. coli* saptamışlardır. İncelenen otlu peynir örneklerinin 2'sinde *E. coli* ve 3'ünde *S. aureus* belirlenmiştir. Gönül (1997), 20 adet beyaz peynir ve teneke tulum örneğinin 14'ünde koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları 2.4x10³ gr'ın üzerinde saptamıştır. Van'da tüketime sunulan beyaz peynirler üzerine yapılan bir çalışmada, koliform grubu bakteri 6.58x10³ kob/g, *E. coli* 1.23x10⁵ kob/g olarak belirlenmiştir. Soyutemiz ve ark (2000), satışa hazır hale gelen kaşar peynirlerindeki koliform bakteri sayısının 5.1 x 10 kob/g düzeyinde olduğunu, ayrıca peynir yapılacak.çiğ süt örneklerinin tamamında *E. coli*'yi saptadıklarını ve 70°C'deki haşlama sonrasında *E. coli*'nin sadece bir örnekte (% 20) yıkımlandığını bildirmişlerdir.

E. coli O157:H7 izolasyonu konusunda ise farklı sonuçlara rastlanmaktadır. Nitekim, bunların bir kısmında, çalışmamızda olduğu gibi, söz konusu bakteri izole edilememiştir :

Ansay ve Kapsar (1997), yumuşak ve yarı yumuşak 19 adet peynir numunesinden, Bowen ve Henning'de, 50 adet ticari peynir numunesinden *E. coli* O157:H7 susunu izole edememişlerdir. Dayıcı (2000), inek, koyun ve keçi sütlerinin karışımıyla pastörize edilmeden hazırlanan 4 çeşit mihaliç peynirinin 7., 30., 60. ve 90. günlerinde mikrobiyolojik analizini yapmıştır. Analizler sonucunda tüm peynir çeşitlerinin *E. coli* O157.H7 içermediklerini tespit etmiştir.

Yapılan çalışmaların bir kısmında ise, *E. coli* O157.H7 suşunun izole edildiği bildirilmektedir :

Aksu ve ark (1999), 50 adet beyaz peynir numunesi üzerinde yaptıkları çalışmada bir numuneden *E. coli* O157:H7 suşunu izole etmişlerdir. Araştırmacılar, bu peynir numunesinde mikroorganizmanın bulunmasını, üretimde kullanılan sütün pastörize edilmeden kullanılmasına ve/veya hijyen kurallarına yeterince dikkat edilmemesine bağlı olarak sonradan şekillenen bir kontaminasyona bağlamışlardır. Govaris ve ark (2002), feta ve teleme peynirleri üzerinde yaptıkları çalışmada her iki peynir türünde de *E. coli* O157:H7 susuna rastlamışlardır. Feta peynirlerinde teleme peynirlerine oranla daha yüksek bir bakteri miktarı tespit etmişlerdir. Peynirlerin 1-1.5 ay olgunlaşma ve 4 °C'de depolama

şartlarında etkenin canlılığını koruduğunu ve bu peynirlerin ilk 30-44 günler arasında tüketilmesi durumunda bu bakteriden ileri gelen hastalık olgularının ortaya çıkabileceğini bildirmişlerdir. Günşen ve Büyükyörük (2003), taze kaşar peynirlerin bakteriyolojik kaliteleri üzerine yapmış oldukları çalışmada 125 adet taze kaşar peynirinin 18 adedinde (% 14,4) ortalama 3.9×10^6 kob/g düzeyinde koliform bakteri tespit ederken, 5 adedinde (% 27.8) *E. coli* tespit etmişlerdir. Alınan peynir örneklerinde bu bakterinin yüksek sayılarda bulunması, peynir yapımında çiğ süt kullanımının yaygın olduğunu veya üretiminde hijyenik koşullara uyulmadığını düşündürmektedir. Benzer bulgular, benzer yaklaşımlı çalışmalarda da göze çarpmaktadır.

E. coli O157:H7 serotipi ve diğer koliformlar sıcağa dirençli olmayıp çiğ sütlerde uygulanan standart ısısal işlemler ile inaktive olmaktadır. Peynir örneklerinde ise bu bakterinin yüksek sayılarda bulunması, peynir yapımında çiğ süt kullanımının yaygın olduğunu veya üretiminde hijyenik koşullara uyulmadığını düşündürmektedir (Günşen ve Büyükyörük 2003).

Elde edilen bu sonuçlara göre, bu peynirlerin Türk Standartlarına uymadığı görülmektedir. Yapılan bu çalışma ve diğer araştırma sonuçları dikkate alındığında, uygun koşullarda üretilmeyen peynirlerin mikrobiyal yüklerinin yüksek olduğu ve diğer süt kaynaklı patojenler gibi *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları açısından da riskli gıda grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

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

Araştırmacı çiğ süt örneklerinin hiçbirinden *E. coli* O157:H7 susunu saptayamazken 1 adet teneke tulum peynir numunesinden *E. coli* O157:H7 susunu izole etmiştir.

Bu çalışmada, peynir numunelerinden izole edilen suşların *E. coli* O157:H7 susu olup olmadığını tespit etmek amacıyla araştırmacıların bildirdikleri MUG içeren LSTB ve SMAC ağardan yararlanılmıştır. SMAC ağarda üreyen renksiz kolonilere yapılan indol testi sonucunda 11 adet peynir numunesinden 5 adedinin indol test sonucu pozitif bulunmuştur. Bu 5 adet şüpheli koloniye uygulanan Latex aglütinasyon testi sonucunda hiçbirinin *E. coli* O157:H7 susu olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan birisi de *E. coli* O157:H7 susunun kesin teşhisinde elde edilen biyokimyasal test sonuçlarının mutlaka doğrulama testleri ile teyit edilerek bir sonuca varılmasıdır. Böylelikle elde edilecek sonuçların daha güvenilir olacağı bir gerçektir.

Bu araştırma; Aydın ilindeki satılan peynirlerde *E. coli* O157:H7 susu üzerine yapılan ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır. Aynı zamanda ileriki dönemlerde süt ve süt ürünlerinde *E. coli* O157:H7 susu ile yapılacak çalışmalara da ışık tutması bakımından temel oluşturma niteliğindedir. Peynir numunelerinin hiçbirinden fekal orijinli bir etken olan *E. coli* O157:H7 susu izole edilememiştir. Bu numunelerin değişik kaynaklardan toplanmış olması ve peynir yapımında kullanılacak süte pastörizasyon ısısı uygulanıp uygulanmadığının bilinmemesi çalışmada izolasyon oranını etkileyen faktörler arasında düşünülmektedir.

Aydın'daki mandıra, pazar yeri ve marketlerden alınan örneklerin hijyenik kalitesi yetersiz ve önemli bir kısmı ilgili tüzük ve standartlara uymamakla birlikte, bu araştırmada elde edilen analiz sonuçları diğer araştırmacıların sonuçları ile büyük benzerlik göstermektedir. Hijyenik kalitenin yetersiz olması; üretimde hijyenik ve kimyasal nitelikleri uygun olmayan hammadde kullanılmasından, bununla birlikte üretim, muhafaza ve pazarlama işlemlerinin uygun şekilde yapılmamasından kaynaklanmaktadır.

İnsan ve hayvan dışkılarında oldukça fazla miktarda bulunan koliform grubu bakterilerin gıdalara bulaşması o gıdanın fekal kaynaklı bir bulaşmaya maruz kaldığını ve bu ortamda patojen mikroorganizmalar bulanabileceğini göstermektedir. Ayrıca, koliform grubu bakteriler peynirin tadını ve aromasını bozarak kaliteyi de olumsuz yönde etkilemektedir.

Bu nedenle, peynir için işlenecek sütün mutlaka pastörize edilmesi ve olgunlaştıktan sonra tüketime sunulması gerekmektedir.

5. SONUÇ

Araştırmadan elde edilen bulgulara göre, peynir örneklerinde insan sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek etkenlerin bulunduğu anlaşılmaktadır. İleride konuya ilişkin daha ayrıntılı çalışmalar yapılarak, tüm peynir ürünlerinde mikrobiyolojik analizler sonucu bir standardizasyona gidilmesinde yarar görülmektedir. Böylece, ülkemiz peynir üretimine hem ekonomik, hem de sağlık yönünden büyük katkı sağlanabilir. Ayrıca, insan sağlığı açısından ilaç masraflarının oldukça arttığı günümüzde iş gücü kaybı ve ekonomik kayıplarla birlikte, enfeksiyona yakalanmış insanlarda uzun süre antibiyotik kullanımına bağlı olarak dirençli suşların gelişmesi de bir ölçüde önlenmiş olacaktır.

ÖZET

Beyaz Peynirlerde *Escherichia coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması.

Bu araştırma, Aydın ilinin farklı yerlerinden (köy pazarları, mandıralar ve marketler) alınan 100 beyaz peynir örneğinden enterohemarajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun izolasyonu amacıyla yürütüldü. Çalışmada, ön zenginleştirmeye tabi tutulan peynir örneklerinden 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) içeren lauryl sulphate tryptose broht (LSTB)'a ekimler yapıldı ve 82 adet peynir örneğinden üreme tespit edildi. Üreme görülen örneklerden sorbitol mconkey agar (SMAC)'a yapılan ekimler sonucu 16 adet peynir numunesinde renksiz ve orta büyüklükte koloniler gözlemlendi. Kolonilerin mikroskopik muayenesi sonucu 11 adet peynir örneğinde hareketli etkenler tespit edildi. Bu 11 adet peynir örneğinin 5'i indol pozitif bulundu. *E. coli* O157:H7'nin varlığını teyit edilebilmesi amacıyla 5 adet indol pozitif numunenin latex aglütinasyon testi yapıldı ve hiçbir numunenin aglütinasyon meydana getirmediği gözlemlendi. Peynir numunelerinde 82 koliform bakteri bulunduğu tespit edildi. Ayrıca, 62 adet peynir numunesinde fekal orijinli *E. coli* saptandı.

Alınan peynir örneklerinin hiç birinde fekal orijinli bir etken olan *E. coli* O157:H7 suşu izole edilemedi. Ancak, satılan peynirlerin koliform ve fekal *E. coli* gibi hijyen indikatörü mikroorganizmalarla kontaminasyon düzeylerinin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler tebliğinde bildirilen düzeylerin üzerinde olduğu ve peynirin tüketici sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler : Peynir, koliform bakteriler, *E. coli*, *E. coli* O157 : H7

SUMMARY

The Investigation of *Escherichia coli* O157:H7 Serotype in White Cheeses.

This research has been carried out for the purpose of insulating enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 strains in 100 white cheese samples obtained from different places (village market places, milking barns and stores) of Aydın province. Culture is applied to lauryl sulphate tryptose broth (LSTB) which contained 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide of the cheese samples which are subjected to fortification during the study and fertility is determined in 82 of the cheese samples. As a result of culture application to the sorbitol mcconkey agar (SMAC), of the samples in which the fertilization is determined, colorless and medium size colonies observed in 16 cheese sample. As a result of the microscopic examination of the colonies, active factors are determined in 11 cheese sample. 5 of these 11 samples found to be indole positive. Latex agglutination test applied to these 5 indole positive samples in order to confirm the existence of *E. coli* O157:H7 and it has been observed that none of the samples produced agglutination. It has been determined that cheese samples contained 82 coliform bacteria. Furthermore, fecal origin *E. coli* is detected in 62 cheese samples.

No *E. coli* O157:H7 strain, which is a fecal origin factor, in any of the cheese samples can be insulated. However, it has been determined that contamination levels, of the cheese being sold, with the hygiene indicator microorganisms such as coliform and fecal *E. coli* are exceeding the levels set forth by the communiqué of the Turkish Food Codex Microbiological Criteria and may create risks for the customer health.

Key Words: Cheese, Coliform Bacteria, *E. coli*, *E. coli* O157 : H7

KAYNAKLAR

Abdullah N, Davies R (1999) *Growth and Toxin Production of Enterotoxigenic E. coli (ETEC) in the Presence of Sodium chloride*. Suppl to J Appl Micr 87(1) P15.

Akkuş F (1996) *Hazır Sığır Kıymalarında Verotoksin Oluşturan Escherichia coli O157:H7 İzolasyonu*. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 68 s.

Aksu H, Özgen-Arun Ö, Aydın A, Uğur M (1999) *E. coli O157:H7'nin Hayvansal Kökenli Çeşitli Gıda Maddelerinde Varlığı*. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi ; 30(2):77-81

Ansary SE, Kaspar CW (1997) *Survey of Cetail Cheeses, Dairy Processing Environments and Raw Milk for E. coli O/57:H7*. Lett Appl Micr; 25:131-134

Anonim (2004) *Süt Ürünlerine Ait Mikrobiyolojik Değerler*. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Resmi Gazete, Sayı: 24511, 02 Eylül 2004:43.2.

Anonim (1995) *Beyaz Peynir*. Türk Standartları Enstitüsü, TS 591, Ankara.

Arocha MM, Mcvey M, Loders SD, Rupnow JH (1992) *Behaviour of Hemorrhagic Escherichia coli O157:H7 During the Manufacture of Cottage Cheese*. J Food Prot 55:379-381.

Bauer ME, Welch RA (1996) *Characterisation of A RTX Toxin From Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7*. Infection and Immunity 64(1)167-175.

Bekar M. (1995) *Enterobacteriaceae Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri*. Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ankara, 8-85

Bilgehan H (1996) *Klinik Mikrobiyoloji* (9. Baskı), Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir: 5-15

Bridson EY. (1988) *The Oxoid Manual* (8 th ed), Oxoid Ltd., Hamshire, 32-230

Conner DE, Kostrola JS (1995) *Growth and survival of Escherichia coli O157:H7 under acidic conditions.* Appl Environ Micr; 61:382-385

Cosansu S, Ayhan K (2000) *Survival of Eenterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7 Strains in Turkish Soudjouck During Fermentation, Drying and Storage Periods.* Meat Sci 54:407-411.

Coşkun H, Öztürk B (2000) *Otlu Peynir Adı Altında Üretilen Peynirlerin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri.* Gıda Teknolojisi Dergisi, 6(8): 44-48.

Çakır I (2000) *Escherichia coli O157:H7.* Alınmıştır, "Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd. 522 s. Ankara" pp 403-411.

Dayıcı R (2000) *İnek, koyun ve keçi sütü kullanılarak yapılan mihaliç peynirlerinin özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma,* Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Demirbaş N (2000) *Dünya ve Türkiyede süt ve süt ürünleri sanayiinde gelişmeler.* İstanbul Ticaret Odası Yayınları No. 7, İstanbul:100-140

Devlet Planlama Teşkilatı (DPT) (2001) Erişim:(www.dpt.gov.tr/-43k), Erişim Tarihi 08.10.2007

Doğancı L, Baylan O, Albay A, Gün H (1997) *Bacterial patogens in childhood diarrhea in Turkey.* Pediatr infect Dis J; 16(11): 1096-1097

Doyle P (1991) *Escherichia coli O157:H7 and its Significance in Foods.* Int J Food Micr 12: 289-302.

Duffy G, Whiting R, Sheridan J (1999) The Effect of Competitive Microflora, pH and Temperature on the Growth Kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. Food Micr 16:299-307.

Erdem B (1999) *Enterobacteriaceae*. in: Ustaçelebi Ş, Mutlu G, Cengiz T, Tümbay E, İmir T ve ark. (eds), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi Ltd Şti, Ankara: 471-498

Erol İ (1999) Besin Hijyeni. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, Ankara:82-93.

Erol, İ (2007) Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti. Çamlıca Mah. 12. Sk. No: 10/16, Yenimahalle/Ankara.

Feng P (1995) *Escherichia coli* serotype 0157:H7 novel vehicles of infection and emergence of phenotypic variants. Emerging Infect Dis; 1: 47-52

Firstenberg-Eden R, Sullivan N (1997) *E. Coli Rapid Detection System. A Rapid Method for the Detection of Escherichia coli O157 in Meat and Other Foods.* J Food Prot 60(3)219-25.

Glass R, Bowen DA, Henning D (1992) *Coliform bacteria in retail cheeses.* Food Protect:57

Govaris A, Papageorgiou DK (2002). *Behavior of Escherichia coli O157:H7 during the manufacture and ripening of feta and telemes cheese.* J Food Protect; 65(1): 609-615

Gönül ŞA (1997) *Çiğ süt ve peynir örneklerinin enterohemorajik E .coli'ye (O157:H7) raslanma sıklığı.* Kükem Dergisi; 20(2): 69-73

Griffin ve Tauxe (2002) Behavior of *Escherichia coli* O157.H7 in sour milk, cows' milk yoğurt and ewes' milk yoğurt. J Dairy Res; 69: 655-660

Günşen U, Büyükyörük İ (2003) *Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile aflatoksin Mİ düzeylerinin belirlenmesi.* Türk Vet J Anim Sci ; 27:821-825

Gürgün V, Ayhan K (1996) Gıdalar ve Mikrobiyolojik Riskler I. Gıda 21(1)23-29.

Halkman, AK, Noveir MR, Doğan HB (1998) *Çeşitli Hayvansal Gıda Ürünlerinde E. coli O157:H7 Aranması*. TÜBİTAK-VHAG-1192 Nolu Proje. Ankara Basılmamış 75 s.

Hudson JA, Nicol C, Capill J, Bennett J (2000) *Isolation of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) from Foods Using EHEC Agar*. Lett Appl Micr 30(2)109-113.

İnal T (1990) Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset, İstanbul, 1108s.

Janes ME, Cobbs T, Kooshesh S, Johnson MG(2002) Survival differences of *Escherichia coli O15:H7* strains in apples of three varieties stored at various temperatures. J Food Protect; 65: 1075-1080

Kalkan A, Aktan HT, Kamber U, Ülgen MT, Mutluer B. (1991) *Beyaz peynirlerde koliform bakteriler, {E. coli ve K. pneumoniae}'in bulunuşu üzerinde araştırma*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi; 38(1-2): 108-113

Kamber, U (2005) Geleneksel Anadolu Peynirleri. Miki Matbaacılık San. Ve Tic. Ltd. Şti. Matbaacılar Sitesi 560. Sk. No. 27 İvedik/ANKARA.

Karapınar M, Gönül ŞA (1998) Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar."Gıda Mikrobiyolojisi, Eds A. Ünlütürk ve F. Turantaş. Mengi Tan Basım Evi İzmir 605 s". pp 109-164.

Kaya M (1999) *Sucuk Üretim Prosesinde Escherichia coli O157:H7 'nin Gelişme Durumu*. Biyoteknoloji (KÜKEM) Dergisi 23(2) 41-46.

Kehl T (2002) *A microbiological study of chesee*. Milchwissenschaft 53: 565-568

Koreman E., Allen S.,Shchreckerberger P. (1997) Color Atlas and Teret Book of

Diagnostik Microbiology, Enteric Gram Negative Rods, Chapter 4, Fifth Edition ,Lippincott, Philadelphia, Newyork, 196-199.

Kurt A, Akyüz N (1984) *Van Otlu Peynirinin Yapılışı ve Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri*. Gıda, 9(3): 141-146.

Leyer GJ, Wang LL, Johnson EA (1995) Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 Increases Survival in Acidic Foods. Appl Envr Micr 61(10)3752-3755.

Lin CM, Preston JF, Wei CI (2000) Antibacterial Mechanism of Allyl Isothiocyanate. J Food Prot 63(6)727-734.

Murray RGE, Brenner DJ, Bryant MP (1994) *Enterobacteriaceae*. in: Krieg NR, Holt JG (eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1, Williams&Wilkins Co, Baltimore: 420-423

Murinda SE, Nguyen LT, Ivey J, Gillespie BE (2002) *Almeida RA et al. Prevalence and molecular characterization of E. coli O157:H7 in bulk tank milk and samples from cull cows: a 12-month survey of dairy farms in east Tennessee*. J Food Prot; 65(5):752-759

Mustapha A, Ariyapitipun T, Clarke AD (2002) *Survival of E. coli O157:H7 on vacuum-packaged raw beef treated vwith polylactic acid, lactic acid, and niacin*. J Food Sci; 67(1): 262-267

Michino H, Araki K, Minami S, Takaya S, Sakai N, Miyazaki M, Ono A, Yanagawa H (1999) Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. Am J Epidemiol; 150(8):787-796

Olsvic O, Wasteson Y, Lund A, Hornes E (1991) Pathogenic *Escherichia coli* Found in Food. Int J Food Micr 12:103-114.

Özalp E, Kaymaz Ş (1992) Süt Ürünleri Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara:184-232

Özbaş Y, Aytaç A (1995) *Escherichia coli O157:H7. Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri.* Türk Hiyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 52(1)47-53.

Palumbo SA, Pickard A, Call JE (1997) Population Changes and Verotoxin Production of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains Inoculated in Milk and Ground Beef Held at Low Temperatures. J Food Prot 60(7)47-50.

Rangel J., Sparling P., Crowe C., Griffin P., Swerdlow D. (2005) Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States, 1982-2002, Emerging Infectious Diseases, 11(4):603-609

Riordan DC, Duffy G, Sheridan JJ, Whiting RC, Blair IS, McDowell DA (2000) Effect of Acid Adaptation, Product pH and Heating on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Pepperoni. Appl Envr Micr 66(4)1726-1729.

Sancak YC, Kayaardı S, Saęun E, Ekici K (1996) *Otlu Peynirlerin Kimyasal Kompozisyonu, Su Aktivitesi Değeri ve Mikroorganizmalar Arasındaki İlişki.* Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2(1-2): 75-79.

Sarımehmetoğlu, B, Küplülü Ö, Kaymaz Ş (1998) *Hamburger ve İnegöl Köftelerinden Escherichia coli O157:H7 İzolasyonu.* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 45: 221-227.

Soyutemiz E, Anar Ş, Çetinkaya F.(2000) *Kaşar peyniri üretim aşamalarında görülen mikrobiyolojik ve kimyasal değişiklikler.* Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi; 19: 87-92

Sert S, Özdemir S (1989) *Erzurum'da Kış Aylarında Tüketime Sunulan Taze Beyaz Peynir ve Kahvaltılık Tereyağları Üzerinde Mikrobiyolojik Çalışmalar.* Doęa Dergisi,13(3b): 1142-1153.

Söyletir G, Topçu AW (1996) Akut Bakteriyel İshaller, Enfeksiyon Hastalıkları, Nobel Tıp Kitapevleri: 605-608

Tan S, Ertürk YE (2002) Peynir. TEAE Bakış Dergisi; 1(11): 1-4

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gıda Envanter Çalışmaları (1999) Erişim: (www.tarim.gov.tr), Erişim Tarihi:23.08.2007

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gıda Envanter Çalışmaları (2003) Erişim: (www.tarim.gov.tr), Erişim Tarihi:23.08.2007

Tekinşen OC, Atasever M, Keleş A, Tekinşen KK (2002) Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir (I. Baskı), Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya: 39-63

Temiz A (1998) Gıdalarda İndikatör Mikroorganizmalar. Alınmıştır, "Gıda Mikrobiyolojisi", Eds A. Ünlütürk ve F. Turantaş. Mengi Tan Basım Evi İzmir 605 s. pp 87-107.

Tunail N (1999) Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. in: Akçelik M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB ve ark., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbaacılık Ltd Şti, Ankara: 59-90

Ünlütürk A (1998) Süt ve Süt Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri. "Gıda Mikrobiyolojisi", Mengi Tan Basım Evi İzmir 605 s". pp 289-307.

Vanderzant C, Splittstoesser DF. (1992) Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods (3 th ed), American Public Health Association, NW Washington, DC,;112-360

Vatan T (1996) *Bursa il merkezinde satışı sunulan kaşar peynirlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

Wikipedia (2007) <http://tr.wikipedia.org/wiki/Peynir>. Erişim : 11.11.2007.

Wang G, Zhao T, Doyle MP (2000) Survival and Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in Unpasteurized and Pasteurised Milk. J Food Prot 60(6)610-613.

Yalçın S, Tekinşen OC, Doğruer Y, Gürbüz Ü (1993) Konya'da Tüketime Sunulan Tereyağlarının Kalitesi. Selçuk Üniversitesi. Veteriner. Fakültesi. Dergisi, 9(2): 20-21.

Yetişmeyen A (1995) Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1420, Ankara, 229s.

ÖZGEÇMİŞ

Malatya`da 1977 yılında doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Afyon`da tamamladıktan sonra 1995 yılında Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliğini kazandı ve 2000 yılında mezun oldu. Gıda Mühendisi olarak 2000 yılında özel sektörde göreve başladı ve 2004 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Eraydın Tarım Ürünleri ve Pazarlama İhracat İthalat ve Ticaret Limited Şirketinde Üretim Müdürü olarak göreve devam etmektedir. Aynı zamanda Açıköğretim Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme Bölümünde 4. sınıf öğrencisidir.

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince yakın ilgi ve önerilerini esirgemeyen danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Tolga TAN ile Sayın Prof. Dr. Osman KAYA ve Yrd. Doç. Dr. Filiz KÖK'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, VTF-07007 nolu projeye sağladıkları destekten dolayı Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve laboratuvar olanaklarını sunan Aydın Ticaret Borsası değerli yetkililerine teşekkürü de bir borç bilirim.

Bana her zaman sabır ve anlayış gösteren ve desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.