



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-D-2015-0001

AYDIN İLİNDE TÜKETİME SUNULAN MARULLARDA *E. COLI* O157-H7 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Doktora Tezi

Nalan TURGUT

DANIŞMAN

Prof. Dr. Osman KAYA

AYDIN-2015

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-D-2015-0001**

**AYDIN İLİNDE TÜKETİME SUNULAN MARULLARDA *E.*
COLI O157-H7 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Nalan TURGUT

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman KAYA**

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Nalan TURGUT tarafından hazırlanan “AYDIN İLİNDE TÜKETİME SUNULAN MARULLARDA *E. COLI* O157-H7 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez, 25/06/2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

<u>Ünvanı, Adı ve Soyadı :</u>	<u>Üniversitesi :</u>	<u>İmzası:</u>
1- Prof. Dr. Osman KAYA	ADÜ, Veteriner Fakültesi	
2- Prof. Dr. Şükrü KIRKAN	ADÜ, Veteriner Fakültesi	
3- Prof. Dr. H. İbrahim ATABAY	Şifa Ü., Tıp Fakültesi	
4- Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ	ADÜ, Veteriner Fakültesi	
5- Yrd. Doç. Dr. Fulya OCAK	CBÜ, Fen Edebiyat Fakültesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun
..... Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 09100- AYDIN
Santral : (256) 218 20 00 Direkt Telefon : 218 20 44 Fax : (256) 218 20 44

ÖNSÖZ

Escherichia coli O157:H7, insanlara bulaşan ve çeşitli hastalıklara neden olan gıda kaynaklı patojenlerin en önemlilerinden biridir. Bu bakteri insanlarda hastalığa neden olan en yaygın tür olup insanlarda ciddi bağırsak enfeksiyonlarına sebep olur. Güçlü bir toksin üreterek bağırsak duvarı zarına zarar verir ve kanlı ishale neden olmasıyla diğer *E. coli* bakterilerinden ayırt edilebilir. Enterohemorajik *E. coli* enfeksiyonu olarak da bilinmektedir. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) bilinen *E. coli* tipleri içerisinde en önemlisi olup, ölümlü sonuçlanan çoğu gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu tutulan O157:H7 serotipini içermektedir. Özellikle yaprağı tüketilen sebzelerde yaygın olarak görülmesi ve marulun en önemli enfeksiyon kaynağı olduğu bilinmektedir.

Escherichia coli sağlıklı insan ve çoğu sıcak kanlı hayvanların bağırsakları içinde yaşayan bir çok grup bakteriden sadece biridir. *E. coli* bakterisi zararlı bakterilere karşı normal bağırsak florasının dengesini korumak ve bazı vitaminleri üretmek ve sentezlemekle görevlidir. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) bilinen *E. coli* tipleri içerisinde en önemlisi olup, ölümlü sonuçlanan çoğu gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu tutulan O157:H7 serotipini içermektedir. Hemorajik kolitis (HC) ve hemolitik üremik sendrom (HUS) nedeni olarak dünyanın hemen her bölgesinde, başta küçük çocuklar ve yaşlılar olmak üzere tüm yaş gruplarını etkileyen *E. coli* O157:H7, 1982 yılında ABD’de kanlı bir ishal salgınında ilk defa tanımlanmıştır. 1996-1997 yıllarında İskoçya’da bu bakteri yüzünden 21 kişinin hayatını kaybettiği kayıtlara geçmiştir. Bu serotipli bakteri yüzünden ABD’de yılda ortalama 73.000 vaka 60 dolayında ölüm olayı meydana gelmektedir. Hastalık başta ABD, Kanada, Japonya, Avrupa ve Afrika’da görülmüş ve birçok insan yaşamını kaybetmiştir.

Taze yapraklı sebzelerden kaynaklanan bakteriyel bulaşıklıkta birçok ülke ve sanayi kuruluşları mikrobiyolojik kaliteyi artırmak için yoğun çaba göstermektedir. *E. coli* O157:H7’nin varlığı hakkında dünyada çok az çalışmada Türkiye’de ise hemen hemen hiçbir çalışmada incelenmemiştir. Çalışmamızda Aydın İlinde *E. coli* O157:H7 patojenin marullardaki yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Buradan elde edilecek sonuçlar ayrıca bize bu patojenin benzer iklimlerdeki Türkiye’nin diğer bölgelerindeki durumlar hakkında da bilgi vererek durumun daha geniş boyutta anlaşılması ve ileriki çalışmalara ışık tutulması sağlanacaktır.

Bu çalışma, “Aydın İlinde Tüketime Sunulan Marullarda *E. coli* O157-H7 Varlığının Araştırılması” adlı ve VTF-14011 kodlu proje olarak Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	1
1.2. Biyokimyasal Özellikler	3
1.3. Virulans Faktörleri	3
1.4. Klinik Belirtiler	11
1.5. Tanı	12
1.6. Patogenezis	12
1.7. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Gıdalarda Yayılması, Taşınma Yolları ve Çoğalması	13
1.8. Tedavi	23
1.9. Koruma ve Kontrol	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	26
2.1. Gereç	26
2.1.1. Örneklerin Toplanması	26
2.1.2. Besiyerleri	26
2.1.2.1. İzolasyon Besiyeri	26
2.1.2.2. İdentifikasyon Besiyerleri	27
2.1.3. Antiserum Test Kitleri	28
2.1.4. Referans Suşlar	30
2.1.5. Ayıraçlar	30
2.1.6. Boyalar	30
2.2. Yöntem	30
2.2.1. Örneklerin Alınması ve Kültür	30
2.2.2. İzole Edilen Suşların İdentifikasyonu	31
2.2.2.1. Sefiksim-Tellürit Katkılı Sorbitol MacConkey Agarda Üreme	31
2.2.2.2. Fluorocult <i>E. coli</i> O157:H7 Agarda Üreme	31
2.2.2.3. <i>E. coli</i> O157 Lam Aglutinasyon Testi	31
2.2.2.4. <i>E. coli</i> O157 Lateks Aglutinasyon Testi	32
2.2.2.5. H7 Antiserum Tüp Aglutinasyon Testi	33
3. BULGULAR	34
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ	40
ÖZET	41
SUMMARY	42
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	52
TEŞEKKÜR	53

ÇİZELGELER

		Sayfa
Çizelge 3.1.	Örnekleme yerleri ve örneklerdeki <i>E. coli</i> O157:H7 identifikasyon sayıları	35

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Sorbitol MacConkey agar üzerinde büyüyen renksiz *E. coli* O157:H7 kolonileri ve pembe renkli diğer *E. coli* suşları 12

SİMGELER VE KISALTMALAR

CFU:	Koloni oluşturan ünite (Colony-forming Unit)
CT:	Sefiksim-Tellürit (Cefixime-Tellurite)
CT-SMAC:	Sefiksim ve tellürit katkılı sorbitol MacConkey agar (Cefixime-Tellurite-Sorbitol MacConkey Agar)
EAEC:	Enteroagregatif <i>E. coli</i>
EAST:	Isıya dayanıklı enteroagregatif toksin (Enteraggregative Heat Stable Toxin)
EHEC:	Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC:	Enteroinvazif <i>E. coli</i>
EPEC:	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC:	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
HACCP:	Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (Hazard Analysis and Critical Control Points)
HC:	Hemorajik kolitis (Hemorrhagic Colitis)
HUS:	Hemolitik üremik sendrom
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PAI:	Patojenisite adası (Pathogenicity island)
SLT:	Shiga benzeri toksin (Shiga Like Toxin)
SMAC:	Sorbitol MacConkey Agar
SSOP:	Hijyen Standardı İşletim Prosedürleri (Sanitation Standard Operating Procedures)
STEC:	Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>
Stx:	Shiga toksin
TTP:	Trombotik trombositopenik purpura
VT:	Verositotoksin
VTEC:	Verositotoksin üreten <i>E. coli</i>

1.GİRİŞ

Taze meyve ve sebzeler insan beslenmesinin önemli bileşenlerindedir. Vitamin ve mineraller açısından zengin olduğundan diyetin kalitesini yükseltmekte ve besleyici değerini arttırmaktadır (Yücel ve ark 2009). Bu nedenden dolayı minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler gelişmiş ülkelerde oldukça yaygındır ve gelişmekte olan ülkelerde ise tazelik ve kolay bulunabilirliğinden dolayı popülaritesi artmaktadır (Chaudry ve ark 2004). Meyve ve sebze tüketimi miktarındaki artışa bağlı olarak bu gıda maddelerinden kaynaklanan salgınlarda artış gözlenmektedir (Gündüz 2008). Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler genellikle çiğ olarak tüketilirler ve eğer patojen mikroorganizma ile kontamine olmuşlarsa halk sağlığını tehdit edebilmektedirler (Johannessen ve ark 2002).

Aynı zamanda günümüzde kontamine gıdalar ve içme sularından kaynaklanan salgınlara sayısı da gittikçe artmaktadır. Gıda kaynaklı olduğu kabul edilen hastalık ve patojenlerin spektrumu önemli ölçüde artmıştır. Yapılan araştırmalara göre tüketime hazır sunulan gıdalarda *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu gibi gıdalarda patojenlerin bulunması, gıda hammaddelerinde mikroorganizma yükünün fazla olması, yetersiz ısı işlem, kontamine malzeme, uygun olmayan ortamda muhafaza, yetersiz işletme hijyeni, çapraz kontaminasyon ve bilinçsiz personelden kaynaklanmaktadır (Öğüt ve ark 2009). ABD'nin çeşitli eyaletlerinde marul ve ıspanak tüketiminden kaynaklanan gastroenterit salgınlara meydana gelmiştir ve ajan olarak da *E.coli* O157:H7 gösterilmiştir. Taze tüketilen gıdalardan *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S.s aureus* ve *B. cereus* izole edilmiştir. Tüm dünyada taze ürünlerin tüketimi ile meydana gelen salgınlara kaygı verici boyutlara ulaşmıştır (Seow ve ark 2012).

1.1 *Escherichia coli*

E. coli, insanlar için önemli olan fırsatçı bir patojendir. *E. coli* genel olarak bakteri biyolojisinin anlaşılması amacıyla üzerinde en fazla çalışılan model organizma durumuna gelmiştir. Hakkında en fazla şey bilinen organizma olduğu da söylenebilir. Enterobacteriaceae familyasına ait olan bu tür normal bağırsak florasına ait olup patojen mikroorganizmaların bağırsaklarda kolonizasyonunu önler. *E. coli* kalın bağırsak florası içinde bulunan en yaygın türdür. Aynı zamanda pek çok bakteriyel enfeksiyonunun da sorumlusudur. Üriner yol

enfeksiyonu, bağırsak enfeksiyonları ve bağırsak dışı enfeksiyonlar (pnömoni, menenjit, bakteriyemi) oluşturmaktadır (Ustaçelebi 1999).

E. coli ilk olarak 1885 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır. Önceleri *Bacterium coli commune* olarak bilinen bu mikroorganizma daha sonra *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır. Bu bakteri, uzun yıllar insanlar ve sıcakkanlı hayvanlar ile kuşların normal bağırsak florasında bulunan ve patojen olmayan fakültatif bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir (Walker 2008), ancak 1920'li yıllarda üriner sistem enfeksiyonlarına ve 1940'lı yıllarda da çocuklarda gastroenteritise neden olduğu belirlenmiştir. Daha sonraları araştırmaların artmasıyla, enteritis, ürogenital enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları, mastitis, sepsis ve meningitis gibi hastalıkların patojenik etkenleri arasında da bulunduğu anlaşılmıştır (Wasteson 2002).

Söz konusu bakteri insanlarda hastalığa neden olan en yaygın tür olup insanlarda ciddi bağırsak enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Güçlü bir toksin olan verotoksin üreterek bağırsak duvarı zarına zarar verir ve kanlı ishale neden olmasıyla da diğer *E. coli* bakterilerinden ayırt edilebilir. Enterohemorajik *E. coli* enfeksiyonu olarak da bilinmektedir. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) bilinen *E. coli* tipleri içerisinde en önemlisi olup, ölümlü sonuçlanan çoğu gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu tutulan O157:H7 serotipini içermektedir. *E. coli* O157:H7 formu en zararlısı olup ve hemolitik üremik sendrom (HUS) adı verilen yaşamı ciddi anlamda tehdit eden etkide bulunur. HUS hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliğinden oluşmaktadır (Levinson 2008).

E. coli O157:H7 Kuzey Amerika'da ve Avrupa ülkelerinde sık görülerek salgınlar meydana getirmektedir. Türkiye'de ise yapılan araştırmalarda bu suşun epidemiyolojik ve mikrobiyolojik olarak varlığı tespit edilememiştir (Ustaçelebi 1999). *E. coli* O157:H7'nin sebep olduğu salgınlar arasında en önemlileri 1992-1993 yıllarında 700'den fazla kişinin etkilendiği Amerika Birleşik Devletleri'nin batısında görülen salgın ile 1996 yılında Japonya'da 8000'den fazla kişiyi etkileyen salgınlardır (Meng ve ark 1998).

Son olarak Mayıs 2011 sonunda Almanya'da etkenle bulaşık salatalık tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan ve yaklaşık 1000 kişinin etkilendiği olayda, 28 Mayıs itibarıyla 10 kişinin hayatını kaybettiği kayıtlara geçmiştir. *E. coli* O157:H7'nin en önemli özelliklerinden birisi de asidik koşullara dirençli olmasıdır. Etken bu özelliğinden dolayı bir çok patojen bakterinin yıkımlandığı ve gıda kaynaklı patojenlere karşı vücudun en önemli savunma

mekanizmasından biri olan midenin asidik ortamından çoğunlukla etkilenmeden bağırsaklara geçmektedir. *E. coli* O157:H7'nin diğer önemli bir özelliği de ağız yoluyla yaklaşık 100 bakterinin alınması durumunda insanlarda hastalık oluşturabilmesi, yani minimal enfeksiyon dozunun çok düşük olmasıdır. *E. coli* O157:H7 ısıya duyarlı olup pastörizasyon ve pişirme gibi ısı işlemleriyle etkisiz hale gelebilir. Fakat soğuk ve donmuş muhafaza koşullarında etken uzun süre canlılığını koruyabilmektedir (Özkuyumcu 2009).

1.2. Biyokimyasal Özellikler

E. coli normal bağırsak florasına aittir. Biyolojik sınıflandırmada bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler içerisinde yer alır. *E. coli* 1.0-1.5 µm eninde, 2-6 µm boyunda, düz, uçları yuvarlak, basil şeklindedir. Peritrik kamçıları ile hareket eder ancak hareketleri yavaştır ve hareketsiz suşları da bulunmaktadır. Gram negatiftir ve bakteriyolojik boyalarla iyi boyanır. Bazı suşları kapsüllüdür (Ustaçelebi 1999). Gram negatif bakteri olduğundan endospor oluşturmaz dolayısıyla pastörizasyon ya da kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında adapte olduklarından en iyi vücut sıcaklığında çoğalırlar. *E. coli* suşlarının çoğunluğu fimbria oluşturur. Bu fimbrialar hücre duvarında bulunan somatik O antijenleri, hareketli suşlarda bulunan K antijenlerinden bazıları meydana gelen enfeksiyonların patogeneğinde rol oynamaktadır (Özkuyumcu 2009).

E. coli O157:H7 serotipi, Shiga benzeri toksin salgılayan, çubuk şekilli, gram negatif bakterilerdir. *E. coli* bakterisinin yüzlerce serotipinden biridir. Çoğu suş zararsız olup sağlıklı insan ve hayvanların bağırsaklarında yaşamasına rağmen bu serotipi oluşturan suşlar güçlü bir toksin salgılar ve ağır hastalığa sebep olur. Bu serotip, patojenik *E. coli*'lerin "Enterohemorajik *E. coli*" ya da EHEC olarak adlandırılan grubuna dahildir. EHEC suşları *E. coli* suşları ya da Shiga toksin oluşturan *E. coli* suşları diye adlandırılmaktadır. Enfeksiyonun meydana gelmesinde rol alan verotoksin *Shigella dysenteriae* tip 1'in oluşturduğu toksin ile benzerlik gösterdiğinden şiga benzeri toksinler denilmektedir (Özkuyumcu 2009).

1.3. Virulans Faktörleri

E. coli türü içinde farklı özelliklere sahip suş olarak belirtilen çeşitli tipleri vardır. Bunları birbirinden ayıran küçük mutasyonlar olabildiği gibi bütün bir genin, hatta çoğu genin, varlığı veya yokluğu da olabilir. EHEC suşları lizojen bir bakteriyofaj tarafından

kodlanan, vero hücrelerine toksik etki yapan, protein sentezini inhibe eden Şigatoksin benzeri verotoksin salgılamaktadır (Ustaçelebi 1999).

E. coli O157:H7'ye özgü bakteriyofajlar ile yapılan araştırmalarda bakteriyofajın yalnızca *E. coli* O157:H7 serotiplerine özgü olduğu, bakteriyofajın *E. coli* O157:H7 olmayan bakterileri lize etmediği ve buna bağlı olarak da bakteriyofaj uygulaması ile bu bakterinin hayvanlarda ve gıdalarda diğer mikrofloraya zarar vermeden kontrol altına alınabileceği bildirilmiştir (Kudva ve ark 1999).

Gıdalarda *E. coli* O157:H7'nin biyokontrolünde fajların kullanımı ile ilgili yapılan çalışma sayısı çok az olmsına rağmen yapılan araştırmalar daha çok canlı hayvanlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. *E. coli* O157:H7'nin sığır etlerinde gelişimini engellemede fajların etkinliği ile ilgili yürütölen bu çalışmada, 2.0×10^8 fob /ml konsantrasyonunda üç farklı litik faj karışımı (e11/2, e4/1c ve pp01) daha önceden 10^3 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 (P1432) suşu ile bulaşık biftek yüzeyine uygulanmış, 37 °C'de 1 saat inkübasyon periyodundan sonra 9 adet örnekten 7'sinde faj karışımının bakteri sayısını tamamen yok ettiği, diğer 2 örnekte ise 10 kob/ml'den daha düşük düzeye indirdiği belirtilmiştir (Leverentz ve ark 2001).

Nataro ve arkadaşları (1998) *E. coli* bakterisinin önemli bir transformasyona uğradığını ve bunun süreceğini bildirmiştir. Bu çerçevede, başlangıçta bağırsaklarda zararsız bir bakteri olarak görölen *E. coli*'nin bazı suşlarının artık insan ve hayvanlarda hastalığa neden olan patojenler olduğu anlaşılmıştır. *E. coli* nedeniyle oluşan hastalık salgınları binlerce kişiyi etkileyebilmekte ve milli ve uluslararası manşetlerde yer tutabilmektedir. Hastalığa neden olan *E. coli* suşlarının ayırt edilmesinde serotiplendirmeden faydalanılmaktadır. *E. coli* temel olarak Kauffman serotipleme şemasına göre ayrıştırılmaktadır. Çok sayıda O (somatik), H (flagellar) ve K (kapsöler) yüzey antijenleri tanımlanmıştır. Bu antijenlere göre *E. coli*'nin 700'den fazla serotipi tespit edilmiştir, ayrıca *E. coli*'nin patojenik suşları veya klonları vardır ya da insanlarda değişik hastalıklar oluşturma kabiliyeti gelişmiştir. (Nataro ve ark 1998).

Son yirmi yıldır *E. coli*'nin virulans faktör donanımı bulunan klonal bir grubu oluşmuştur ve insanlarda önemli morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (Dunn 2003).

Bazı *E. coli* suşları mobil virulans genleri vasıtasıyla farklı patojenite tiplerine neden olmaktadır (Kaper ve ark 2008). Patojenik suşların tanımlanması için protein sentezi, hücre

bölünmesi, iyon sekresyonu ve transkripsiyon gibi çok sayıda ökaryotik hücre işlemlerini olumsuz olarak etkileyebilen patojen-spesifik virulans faktörleri kullanılmaktadır (Nataro ve ark 1998). Bu faktörler plazmid, entegre bakteriyofaj, transpozon ve patojenisite adaları gibi değişik mobil genetik elementler üzerinde kodlanmaktadır (Kaper ve ark 2008). Çok sayıda virulans faktörlerinin tanımlanmasını takiben bu virülans faktörlerini taşıyan *E. coli* suşları patojenite mekanizmaları bazında enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enteroinvazif *E. coli* (EIEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) olmak üzere beş temel kategoride sınıflandırılmaktadır (Wasteson 2002).

E. coli'nin Shiga toksini (Stx) üretimi, yapışma faktörü intimin şekillenmesi, EHEC hemolizin mevcudiyeti, serin proteaz üretimi, ısıya dayanıklı enteroagregatif toksin (EAST) üretimi ve özel bir katalaz sistemi mevcudiyeti dahil en az altı virulans faktörünün bulunduğu tespit edilmiştir. Bunlar arasında Shiga toksini, intimin ve hemolizin üretimi en önemli virulans faktörleri olarak belirlenmiştir. Bu faktörlerden bazıları mobil genetik elementler üzerinde kodlanmıştır. Farklı klinik vakalardan veya klinik vaka oluşturmamış kaynaklardan elde edilen izolatlarda bu faktörlerin değişik kombinasyonlarının bulunduğu belirlenmiştir (ILSI 2001).

Stx, *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından üretilen Shiga toksinine benzerliğinden dolayı bu adla adlandırılmıştır. Stx, shiga benzeri toksin (SLT) veya verositotoksin (VT) olarak da bilinmektedir (Dunn 2003).

E. coli sitotoksin üretimine göre tanımlamada, Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC), Verositotoksin üreten *E. coli* (VTEC) ve EHEC terimleri birlikte kullanılmaktadır. Bazı araştırmacılar EHEC terimini kanlı ishal veya hemolitik üremik sendromla (HUS) karakterize daha şiddetli hastalıklara neden olan *E. coli* için kullanırken, orta şiddetle kansız ishale neden olan *E. coli* için ise VTEC veya STEC terimlerini kullanmayı tercih etmektedirler. Klinik semptomların şiddeti temelindeki bu ayrıştırma, hayvanlar, gıdalar ve çevreden kaynaklanan izolatların insanlar için teşkil ettiği potansiyel riskin değerlendirilmesinde kullanılabilen fenotipik veya genotipik özelliklerin mevcudiyetinin araştırılmasıyla paralelik arz etmemektedir (ILSI 2001). Spesifik klinik belirtiler taşıyan insanlardan izole edilen STEC'ler bazı araştırmacılar tarafından da EHEC olarak adlandırılmaktadır. Bu nedenle EHEC'lerin STEC'lerin patojenik bir alt kümesi olduğu kabul edilmektedir (Karch ve ark 2005). Dunn (2003), EHEC ve STEC arasındaki farkların virulans faktör donanımındaki değişkenlikten kaynaklanmış olabileceğini bildirmiştir.

STEC insanlarda gıda kaynaklı enfeksiyonlara ve hemorajik kolitis (HC) ve HUS gibi şiddetli ve potansiyel olarak öldürücü hastalıklara neden olabilen patojen bir mikroorganizmadır (Mora ve ark 2007). STEC, VTEC olarak da adlandırılmaktadır, ancak zoonotik bakış açısından değerlendirildiğinde sadece STEC'in önem taşıdığı anlaşılmaktadır. Çünkü yalnızca Stx üreten suşlar hayvan rezervuarlarından gıda zinciri vasıtasıyla insanlara bulaşmakta ve şiddetli bir hastalık oluşturmaktadır (Wasteson 2002, Fairbrother ve ark 2006). VTEC (STEC) in vitro olarak Vero hücreleri üzerinde etkin bir toksin üretmektedir (Mainil 2005). Bu toksin, Shigella bakterilerinin Shiga toksini ile yakın bir ilgisi bulunan bir toksindir ve STEC'in temel virulans özelliğini oluşturmaktadır. *E. coli* Shiga toksinlerinin Stx1 ve Stx2 olmak üzere iki ayrı türü bulunmaktadır (Mainil 1999, Cleary 2004).

STEC çok sayıda gıda üreten hayvanda kolonize olsa bile bu hayvanlarda hastalık daha az görülmektedir. STEC normal ve sağlıklı insanlarda çoğunlukla kolonize olmamaktadır ancak nadiren de olsa bu insanların dışkılarında bulunmaktadır (Wilson ve ark 1996). Zoonotik STEC hem O157:H7 suşlarını hem de O157 olmayan suşları ihtiva etmektedir (Fairbrother ve ark 2006). STEC, insanlarda şiddetli karın ağrısı ile beraber ishal, HC, HUS ve trombotik trombositopenik purpuraya (TTP) neden olabildiği için tüm dünyada önemli bir halk sağlığı problemi olarak ortaya çıkmaktadır (Hussein ve ark 2005).

VTEC bir veya daha fazla Stx olarak da bilinen VT üreten bir *E. coli* grubudur. Bu gruptaki bakteriler farklı adlarla adlandırılmaktadır. ABD ve Avrupa'nın bazı ülkelerinde STEC terimi kullanılmaktadır. EHEC ise insanlarda HUS'a neden olan VTEC'i belirtmek için kullanılmıştır. Daha sonra bazı Avrupa ülkelerinde tıp sahasında EHEC terimi VTEC terimi ile eşanlamlı olarak kullanılmaya başlanmıştır (EC 2003).

Gıda üretim ve işleme sisteminde, tüketim alışkanlıklarında, mikrobiyel uyumda ve VTEC bulaşma yollarındaki değişiklikler, son yıllarda salgınların sayısını artırmıştır. İnsan hastalığı mutedil ishalden ölüme neden olabilen HUS'a kadar değişik belirtilere neden olmaktadır (Hussein ve ark 2003).

VTEC ile ilgili araştırmaların büyük kısmı O157:H7 serotipi üzerine odaklanmıştır. O157:H7 serotipi, sorbitolü fermente etme kabiliyeti ve bu serotip için hızlı ve basit bir testin mevcudiyeti nedeniyle diğer *E. coli* suşlarından kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (EC 2003).

VTEC tarafından oluşturulan hastalık, predominant olan O157 somatik grubundaki (O grubu) serogrupların bir alt grubu ile ilgili olarak ortaya çıkmaktadır. Diğer bazı O grupları da insanlarda benzer hastalıklara neden olabilen VT üreten suşlar içermektedir. Bunlardan en yaygın olanları O26, O103, O111 ve O145 suşlarıdır (Hussein ve ark 2003, Bolton ve ark 2009). Gıda zincirinde çok sayıdaki VTEC suşlarından Avrupa'da insan hastalığına en çok neden olanlar arasında O157, O111, O26, O103 ve O145 bulunmaktadır (EC 2003, Burgess ve ark 2009, Thomas ve ark 2009). VTEC salgınları *E. coli* O157:H7 ve O157:H7 olmayan *E. coli*'ye atfedilmektedir. Bu *E. coli* serotipleri arasında hareketli (örneğin, O26:H11 ve O104:H21) ve hareketsiz (örneğin, O111:H-, O145:H- ve O157:H-) suşlar bulunmaktadır. *E. coli* O157:H7 ABD'deki VTEC salgınlarının temel nedeni olarak bulunmuştur. Bununla beraber, son on yılda dünya çapındaki HUS vakalarının yaklaşık % 30'una O157 olmayan VTEC (örneğin, O26, O103, O111, O118, O145 üyeleri ve O166 serogrupları) neden olmuştur (Hussein ve ark 2003).

VTEC suşları genomik içerikleri ve özellikle de virulans gen profilleri yönünden değişkenlik gösterebilmektedir. Bu sayede çiftlikten çatala kadar olan gıda zincirinde canlı kalabilmekte ve insanlara bulaşarak hastalık oluşturabilmektedir (EC 2003, Burgess ve ark 2009, Thomas ve ark 2009). Hastalık, verositotoksinlerin (VT1 ve VT2) üretimini kodlayan özel virulans faktörlerine ve kalın bağırsağa yapışmayı ve lezyon oluşturmayı kodlayan *eae* genine bağlıdır (Thomas ve ark 2009). İnsanlardaki VTEC enfeksiyonlarının patogeneğinde verositotoksinlerin dışında intimin (yapışma molekülü) ve hemolizin gibi virulans faktörleri de rol almaktadır (EC 2003). Bununla beraber, tüm VTEC suşları insanlar için virulent değildir (Thomas ve ark 2009).

VTEC sadece serotipleri temelinde tanımlanamamaktadır. VT üretme yeteneği her zaman mevcut olmayan bir bakteriyofaj üzerinde taşınan bir gen tarafından kodlandığı için VTEC'le ilgili bir serotipe ait tüm suşlar VT üretmemektedirler. Bu nedenle herhangi bir VTEC'in tanımlanabilmesi ancak ya VT üretiminin kanıtlanması ya da bu VT'yi kodlayan genin (*vtx*) mevcudiyetinin tespiti ile mümkündür (EC 2003).

Patojenik VTEC dünya çapında önemli halk sağlığı problemlerine neden olan tehlikeli bir patojendir. Enfeksiyon çoğunlukla HC sonucu meydana gelen kanlı ishale karakterize olmakta ve verositotoksinlerin neden olduğu HUS sebebiyle hayati tehlike oluşturabilmektedir. VTEC, vakaların en fazla % 10 kadarında HUS veya TTP gibi akut böbrek yetmezliği, merkezi sinir sistemi bozuklukları ve kan pıhtılaşma rahatsızlıklarına

neden olmaktadır. Bu komplikasyonlar daha çok çocuklarda ve çok yaşlılarda gözlenmekte ve yüksek bir oranda ölüme neden olmaktadır. VTEC suşları nedeniyle oluşan sporadik vakalar ve hastalık salgınları dünyanın her tarafında görülmektedir (Mead ve ark 1998, Hussein ve ark 2003, Burgess ve ark 2009).

EHEC, Stx üreten *E. coli*'nin patojenik bir alt grubunda bulunmaktadır (Caprioli ve ark 2005, Karch ve ark 2005). Bu bakteriler zaman zaman VTEC veya STEC olarak da adlandırılmaktadır (Karch ve ark 2005, Bertin ve ark 2009). Stx üretimi EHEC virulansı için önemlidir ancak tek başına kafi değildir (Caprioli ve ark 2005). EHEC, enterohemolizin (normalde VT olarak bahsedilmekte ve VTEC pozitif suşlar olarak adlandırılmaktadır) kodlayan bir virulans plazmidi dahil benzer virulans faktörleri içermektedir (Schlundt ve ark 2004). EHEC suşlarının en az iki virulans faktörü bulunmaktadır. Bunlar bir yapışma mekanizmasının yanı sıra HC ve sistemik etkilere neden olan iki verositotoksindir (Karch ve ark 2005).

EHEC'in hastalık tanımlayan semptomu kanlı ishal oluşturan HC'dir. Tüm EHEC suşları dışkıda kan oluşturmamaktadır. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarında yüksek bir oranda kanlı dışkı bulunurken diğer EHEC suşları böyle bir bulgu oluşturmamaktadır. Tüm EHEC suşları verositotoksin 1 (VT1) ve verositotoksin 2 (VT2) olarak da adlandırılan Shiga benzeri toksin 1 (Stx1) ve/veya Shiga benzeri toksin 2 (Stx2) üretmektedirler. Stx üretme kabiliyetinin muhtemelen doğrudan veya dolaylı olarak bir bakteriyofaj vasıtasıyla *Shigella*'dan kazanıldığı düşünülmektedir. Toksin, tek bir A alt ünitesinden (32 kDal) ve 5 B alt ünitesinden (7.7 kDal) oluşan 70,000 daltonluk bir proteindir. B üniteleri, ökaryotik hücre yüzeylerindeki globotriaosylceramide (Gb₃) reseptörlerini bağlamak suretiyle doku spesifitesi sağlamaktadır. A alt ünitesi bulundurduğu 28S ribozom inaktive edici bir N-glikosidaz vasıtasıyla protein sentezini bloke etmektedir. Temel hedef Gb₃ reseptörlerinde bulunan endoteliyal hücrelerdir ve HC ile HUS vakalarında sırasıyla kolon ve böbrek glomeruluslarına karşı toksin affinitesi oluşmaktadır. Toksin ayrıca dolaylı olarak tümör nekroz faktörü gibi serbest kalan sitokinler vasıtasıyla hücreleri tahrip etmektedir. Bununla beraber, toksin *E. coli*'yi tek başına patojenik hale getirmemektedir, zira insanlardan sıklıkla Stx pozitif ancak patojenik olmayan izolatlar izole edilmektedir. EHEC'in tam olarak patojenik olabilmesi için diğer virulans faktörlerinin de bulunması gerekmektedir. Örneğin, EHEC suşları arasında yapışmayı sağlayan bir dış membran proteinini kodlayan *eae* kromozomal geni yaygın olarak bulunmaktadır. Rolü tam olarak bilinmese de bir plazmid tarafından kodlanan

enterohemolizin de EHEC'e özgüdür (Buchanan ve ark 1997). Suşların büyük bir çoğunluğu genetik olarak geniş bir patojenisite adası (PAI) tarafından yönetilen "yapışma ve yok etme" mekanizması sayesinde konakçının bağırsak mukozasında kolonize olabilmektedir. PAI ve plazmidler gibi mobil genetik elementler tarafından taşınan diğer virulans faktörleri de belirlenmiştir ancak bunların patojenik işlemlerdeki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır (Caprioli ve ark 2005).

EHEC alt grubunda yer alan bakteriler zoonotik patojenlerdir. Hayvanlarda nadiren hastalığa neden olmaktadır. Sığırlar ve diğer ruminantlar EHEC suşlarının temel rezervuarlarıdır ve et, çiğ süt ve süt ürünleri, su ve ruminant gübreleri ile bulaşık meyve veya sebzelerin tüketimi ile salgınlar oluşmaktadır (Caprioli ve ark 2005, Bertin ve ark 2009). EHEC suşları gıda kaynaklı şiddetli hastalıklara neden olabilmektedir. EHEC'in bir halk sağlığı problemi oluşturduğu ilk kez ABD'deki bir salgını takiben 1982 yılında anlaşılmıştır (Schlundt ve ark 2004).

EHEC, insanlarda HUS ve kanlı ishal salgınlarına neden olmaktadır (Reilly 1998, Erdoğan ve ark 2008). EHEC'in HUS'a neden olan predominant serotipi *E. coli* O157:H7'dir (Karch ve ark 2005). Vakaların çoğunluğu sporadik vakalardır veya küçük gruplarda oluşmaktadır. EHEC enfeksiyonlarının en tehlikeli komplikasyonu akut böbrek yetmezliği, mikroanjyopatik hemolitik anemi ve trombositopeni üçlüsüyle karakterize olan HUS'dur ve mortalite oranı % 2-7 arasında değişmektedir. EHEC enfeksiyonlarının yıllık insidansı, 100000 kişide 1 ila 12 vaka arasında değişmektedir (Reilly 1998).

Türkiye'de EHEC enfeksiyonlarının gerçek insidansı bilinmemektedir. Vakalar hem uygun teşhis metotlarının olmaması hem de bunun epidemiyolojik önemi konusundaki bilinç noksanlığı nedeniyle hastalık muhtemelen doğru teşhis edilememektedir. Sağlık Bakanlığı Milli Bulaşıcı Hastalık Survey ve Bildirim Sistemi'ne bildirilen EHEC suşlarının toplam sayısı 2005 yılında 21 ve 2006 yılında 46 olarak tespit edilmiştir (Erdoğan ve ark 2008). EHEC enfeksiyonlarının teşhisinde daima çok şüpheli davranmak ve ihtiyatlı olmak gerekmektedir. Türkiye'de laboratuvarların çoğunda günlük pratikte *E. coli* O157:H7 patojeni aranmamaktadır. EHEC enfeksiyonundan şüphelenildiğinde, hastadan alınacak dışkı örnekleri sorbitol-MacConkey agarda kültürlenmeli ve verositol toksin aranmalıdır (Erdoğan ve ark 2008).

STEC O157 mikroorganizmaları HC ve HUS salgınlarına neden olan önemli enteropatojenlerdir. Diğer serotiplere ait *E. coli* suşları da Stx üretmektedir ancak *E. coli* O157'nin virulansı bunlardan daha fazladır (Law 2000).

E. coli O157'nin bir insan patojeni olduğu ilk kez 1982 yılında belirlenmiştir. İnsan hastalığına neden olduğu bilinen muhtelif Stx üreten serotiplerden biri olan mikroorganizma, muhtemelen Stx ve diğer virulens faktörlerini belirleyen genlerin yatay olarak kazanımı ile gelişmiştir (Mead ve ark 1998).

E. coli O157 sağlıklı sığırların dışkılarında normal olarak bulunmaktadır ve kontamine gıda ve su vasıtasıyla ya da enfekte insan veya hayvanlarla doğrudan temasla insanlara bulaşmaktadır (Mead ve ark 1998). Çevrenin *E. coli* O157 ile kontamine olması bir halk sağlığı problemine neden olabilmektedir. Bu bakteri, hava yoluyla dağılarak da kontaminasyon oluşturabilmektedir. *E. coli* O157, çevrede 10 aydan fazla canlı kalabilmekte ve insanlar için uzun bir süre enfeksiyon riski oluşturabilmektedir (Varma ve ark 2003). Gıda kaynaklı VTEC O157 enfeksiyonları insan veya ruminant dışkı materyalleri ile bulaşık gıdaların tüketilmesi sonucu oluşmaktadır. Çapraz bulaşma da oluşabilmektedir. VTEC O157 bakterisinin enfeksiyöz dozu çok düşüktür. Bulaşık gıdalarda canlı kalabilen bakteriler hastalığa neden olabilmektedir (EC 2003).

E. coli O157 insan enfeksiyonu asemptomatik döküntü, kansız ishal, HC ve HUS gibi belirtilere ve ölüme neden olabilmektedir (Varma ve ark 2003). Diğer taraftan *E. coli* O157:H7, özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada insanlarda ve bazı hayvanlarda hastalığa neden olan gıda kaynaklı bir patojen olarak bilinmektedir. *E. coli* O157:H7 diğer gıda patojenlerinden daha patojen değildir, ancak ısıtma işlemine karşı oldukça dirençsiz olmasına rağmen özellikle yeterli şekilde pişirilmemiş gıda ürünleri ile insanlara bulaşarak hastalık salgınlarına neden olabildiği için önemli bir patojen olarak değerlendirilmektedir (Halkman ve ark 2001). *E. coli* O157:H7 dünyanın her yanındaki insanlarda gıda kaynaklı ölümcül hastalık salgınlarına neden olmuştur. Bu patojen, insanlarda şiddetli ishal ve ciddi komplikasyonlara, hatta bazı vakalarda ölüme sebep olabilmektedir (Bertin ve ark 2009, Bolton ve ark 2009).

E. coli O157:H7 suşları kısa, düzgün ve gram-negatif basillerdir. Bu patojen, bünyesinde bulunan ve somatik lipopolisakkaritlerden oluşan O-tipi ve flagellasının bileşeni olan H-tipi spesifik antijenleri nedeniyle serolojik temelde *E. coli* suşlarının O ve H

antijenlerinin 10000'den fazla muhtemel kombinasyonlarından biri olarak *E. coli* O157:H7 serotipi terimiyle adlandırılmıştır (Hussein ve ark 2003, Kaper ve ark 2008).

E. coli O157:H7 serotipi yapısı ve işlevi yönünden Stx'e benzer bir veya daha fazla toksin kodlayan genleri bulunan çok sayıda *E. coli* serotiplerinden biridir (Tarr ve ark 2005). Yapışma ve tahrip etme şeklinde karakteristik bir histopatolojisi bulunmaktadır. Virulans plazmidi olarak pO157 taşımaktadır (Yoon ve ark 2008). EHEC O157:H7'nin önemli pili operonları bulundurduğu kabul edilmekle beraber bunların sığırlarda tabii olarak veya insanlarda tesadüfî olarak kolonizasyon oluşmasındaki rolleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu serotip, sorbitolü yavaş yavaş fermente ettiği için diğer *E. coli* serotiplerinden biyokimyasal olarak kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Schlundt ve ark 2004).

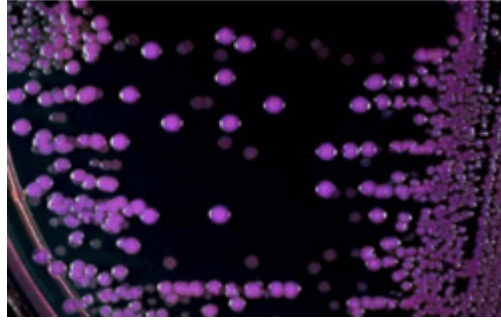
Bugüne kadar belirlenen en güçlü toksinlerden biri olan ve bakteriyofaj kodlu Stx, HUS için önemli bir virulans faktörüdür. *E. coli* O157:H7 patojeninde Stx1, Stx2 ve Stx2c gibi farklı Stx varyantları bulunmaktadır. Stx, böbrek endotel hücreleri ve diğer hücrelerde protein sentezini durdurmaktadır. Wick ve ark (2005) *E. coli* O157:H7'nin, kansız ishale neden olan EPEC O55:H7 serotipindeki O55 somatik O antijeninin O157'ye değişimi sonucu oluştuğunu bildirmiştir.

1.4. Klinik Belirtiler

E. coli O157:H7 1982 yılında kontamine olmuş iyi pişirilmemiş hamburger etinden kaynaklanan kanlı ishal nedeni olarak tespit edilmiştir. O tarihlerden bugüne *E. coli* O157:H7 salgını pastörize edilmemiş süt, elma suyu, marul, ıspanak, kuyu suları ve hayvanların bir şekilde temasta bulunduğu yüzey suları ile ilişkilendirilmiştir. Bağırsak enfeksiyonlarına karşı özellikle altı yaşına kadar olan küçük çocuklar, yaşlılar ve immun sistemi zayıf insanlar duyarlıdır. Bu grup risk grubu olarak nitelendirilmektedir. Hemorajik kolitiste semptomlar kramplı karın ağrıları ile birden bire başlar ve bunu 24 saat içinde başlangıçta sulu daha sonra kanlı ishalin izlediği 2-9 gün sürebilmektedir. 6-10 gün süreyle iyileşme görülmezse enfeksiyon ekstraintestinal komplikasyonlardan hemolitik üremik sendroma neden olur. Bazı durumlarda hasta hayatta kalsa bile kronik böbrek yetmezliği ortaya çıkabilir ve yaşamı boyunca diyaliz makinesine bağımlı kalabilmektedir (Bolton ve ark 2009).

1.5. Tanı

Dışkı kültürü ile bakteri tanılanabilir fakat bu rutin bir test değildir, özel olarak istenir. Örnek sorbitol-MacConkey Agar'da (SMAC) ekimi yapılır ya da onun bir çeşidi olan sefiksim potasyum tellurit sorbitol MacConkey Agar'da kültüre alınır. *E. coli* O157:H7 suşlarının hemen hepsi D-sorbitoluyu fermente edemezler ya da yavaş edebilirler buna rağmen diğer suşların % 80'i bu şekeri fermente edebilirler. Bu nedenle sorbitol MacConkey Agar'da gelişen kolonilerin rengi O157:H7'yi tanımaya yarar ancak gelişen renksiz koloniler O 157 antiserumu lam aglutinasyonunda incelenmelidir. Fakat diğer kültür yöntemleri gibi bu yöntemde yavaştır. PCR teknikleri ile hızlı tanı mümkündür. Geliştirilmekte olan yeni tekniklerde floresan işaretli antikorlar kullanılır (Koneman ve ark 1997).



Şekil 1.1. Sorbitol MacConkey agar üzerinde büyüyen renksiz *E. coli* O157:H7 kolonileri ve pembe renkli diğer *E. coli* suşları (Ustaçelebi 1999).

1.6. Patogenezis

E. coli O157:H7'nin 2001 yılında okunan genom dizisinin zararsız *E. coli* K 12 suşu ile karşılaştırılması sayesinde O157:H7'yi patojen yapan özellikleri ortaya çıkmıştır. Her iki organizmanın genomları aynı uzunlukta olmakla birlikte ikisinin de kendine özgü genleri bulunmaktadır. Patojen suşun genomunun çeşitli yerlerinde var olan “patojelik adalarında” ona hastalık yapma yeteneğini veren 1387 yeni gen bulunmuştur. Bulunan bu genlerin bir kısmı önceden keşfedilmiş olan Shiga toksinleri ve adezyon faktörleri (fimbriumlar) gibi hastalık faktörlerini kodlamaktadır. Farklı genlerin bir kısmının hastalık yapmasının yanı sıra iki suşun farklı ortamlarında büyüebilmelerine imkan veren proteinleri kodladığı tahmin edilmektedir. Ayrıca pek çok gende de K 12 suşuna kıyasla en az bir amino asidin farklı olmasına sebep olacak farklılıklar bulunmuştur. Bu farklılıkların bazıları *E. coli* O157:H7'nin konak organizmasının hastalanmasına neden olabilir. İki genom arasındaki farklılıklar *E. coli* O157:H7'nin daha hızlı evrimleştiğini ayrıca patojen adalarında bulunan viral ve bakteriyel

konjugasyon genlerinin varlığı K 12'de olmayan pek çok genin başka bakteriyofaj ve plazmidler aracılığı ile yatay transferlerle geçmiş olabileceğine işaret etmektedir. O157:H7'nin yeni genler edinebildiğine ait veriler bu organizmanın hızlı genetik değişikliğe uğrayabilmesi yeni salgınlarda kendini göstermesinin açıklaması olabilmektedir. Kuzey Amerika'da yapılan bir çalışmada EHEC'in neden olduğu bazı salgınlarda O157:H7 serotipi bulunmuştur. Buna rağmen EHEC tarafından meydana gelen pek çok salgın O157:H7 dışındaki serotiplerle ilişkili olduğu belirlenmiştir. İtalya'da EHEC serotipleri tarafından meydana gelen salgınlar *E.coli* O111:NM ve O26 bulunmuştur. Fransa'da HUS'tan tedavi gören bir hastada *E.coli* O103:H2 Japonya'da O111:NM, O145:NM ve O118:H2 gibi EHEC serotiplerinin pekçok vakada bulunduğu tespit edilmiştir. Avustralya'da *E.coli* O157 H:7 serotipinin pek yaygın olmadığı buna rağmen daha az bilinen O11:NM, O06:H31 ve O48:H7 gibi diğer serotiplerin HUS'un nedeni olduğu bildirilmiştir. *E.coli* O157 H:7 enfeksiyonlarının daha çok et ve et ürünleri, pastörize edilmemiş süt ve ürünlerinden kaynaklandığı yapılan araştırmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Ayrıca taze sıkılmış elma suyu ve sebze salataları da hastalığın insanlara bulaşmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Meng ve ark 1998).

1.7. *E. coli* O157:H7'nin Gıdalarda Yayılması, Taşınma Yolları ve Çoğalması

Bu bakterinin en önemli kaynağı, sığırlar başta olmak üzere ruminantların (geviş getirenler) sindirim kanalıdır. *E. coli* O157:H7 genelde sığırların mide bağırsak kanalında bulunan mutant bir bakteri türüdür. Sığırların et olarak tüketilen kaslarında bu bakteri türü bulunmaz fakat enfekte bir sığır dışkılarıyla ya da bağırsaklarıyla temasta bulunan ette bulaşma riski oluşmaktadır. Dünyada görülen enfeksiyonların çoğunluğu başta iyi pişirilmemiş et ve et ürünleri, pastörize edilmemiş süt olmak üzere sığır kaynaklı gıdalardır. Diğer hayvanlar ise *E. coli* O157:H7 kaynağı veya vektörüdür (Chapman ve ark 1993). İyi pişirilmemiş hamburger etleri genellikle *E. coli* ile enfekte olmuş etlerdir. Nedeni de hem karma etlerin seçilmesi hem de süt vermeyen yaşlı hayvanların etlerinin tercih edilmesidir. Bu bakterinin bulaşmış olduğu etin görünüşü ve kokusu normaldir. Yeterince iyi pişirilmediği durumlarda enfeksiyona yol açabilmektedir. Yapılan bir çok araştırma gıda kaynaklı insan patojenlerinin hayvan dışkılarından gıdalara bulaştığı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu durumda sebzeler ve meyveler pek çok hastalığın kaynağını oluşturmaktadır. Shiga toksinlerinden *E. coli* O 157:H7'nin bulaşık dana eti ile ilişkili olduğu bulunmuş bunun yanında daha çok bulaşık olarak paketlenmiş ıspanak, turp ve bunların yapraklarının enfeksiyon kaynağı olduğu görülmüştür (Berger ve ark 2010).

Batı Afrika'nın Benin şehrinde yürütülen bir çalışmada amaç et ve sebzelerde *E.coli* O157 H:7'nin varlığını tespit etmektir. Buna göre domuz çiftliklerinden 6 adet gübre örneği, büyükbaş hayvan çiftliklerinden 8 adet çiftlik gübresi örneği alınmış bunun yanında 20 adet karkas örneği, 20 adet mide dahil iç organlardan örnek ve 20 adet de mezbaha ekipmanlarının yüzeyinden örnek almışlardır. Ayrıca bunların yanında çeşitli bahçelerden 84 adet sebze ve sulama suyu örnekleri de alınmıştır. Domuz gübresinin %50'si, büyükbaş hayvan gübresinin %25'i ve tüm et örneklerinin bulaşık olduğu, sebzelerin ise %14.6'sının bakteriyel olarak bulaşık olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre acil olarak güvenlik kontrolü yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Bankole ve ark 2014).

Ayrıca meyve suları ve çiğ sebze tüketimi de bulaşıklık kaynağıdır. Yapılan bir çalışmayla taze sıkılmış elma suyu ve salatalardan da etmenin insanlara bulaştığı bildirilmiştir (Meng ve ark 1998).

Patojen *E.coli* O 157:H7'nin aynı zamanda patojen olmayan ATCC 11775 ve ATCC 23716 olmak üzere suşları bulunmaktadır ve bu suşlar özellikle "golden delicious" elmasının yara yerlerinde gelişmektedir. Bu gelişim bakterinin çok düşük bir konsantrasyonuyla uzun sürede gerçekleşmektedir. *E.coli* O 157:H7'nin popülasyonu sterilize edilmiş elma suyunda ve sterilize edilmemiş elma püresinde zaman içerisinde düşmektedir. Sterilize edilmemiş pürede düşüş daha hızlı olmaktadır bunun da nedeni oradaki doğal popülasyonun *E. coli*'yi baskı altına almasıdır. Yapılan denemelerde etmenin taşınımının aynı zamanda elma sinekleri aracılığı ile olduğu da görülmüştür. Burada meyve sineklerinin meyvenin *E.coli* ile kontamine olan kısmıyla teması sonucunda etmeni rahatlıkla başka meyvelere hem içsel hem dışsal olarak taşımaktadır. Özellikle sineklerin taşımasından 48 saat sonra bakteri popülasyonunun arttığı gözlenmiştir (Janisiewicz ve ark 1998).

Hastalığın bulaşmasında böcekler de önemli bir kaynaktır. Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda meyve sineklerinin (böcekler) bakteriyi direk olarak yaprak ve meyveye taşıdığı gözlenmiştir (Iwasa ve ark 1999). Ayrıca tarımsal üretim yapılan tarlalara yakın çiftliklerde bulunan sineklerinin *E. coli* O 157:H7'yi hayvan dışkıları aracılığı ile bitkilere taşıdığı da görülmüştür (Talley ve ark 2009).

Kontamine olmuş göl veya havuzlarda yüzmek ve yeterince klorlanmamış su içmek yoluyla da iletim olabilir. Bakteri normalde bağırsakta yaşadığından *E. coli*'nin çevresel sularda varlığı dışkı kirlenmesinin belirtilerinden biridir. 1991 yılında Oregon'da gölde oluşan

fekal kontaminasyon sebebiyle 21 çocuk enfekte olmuş, aynı yıl Missouri’de kaynak sularının dezenfekte edilmemesi nedeniyle 243 kişi bu durumdan etkilenmiş ve 4 kişi hayatını kaybetmiştir. Ayrıca Güney Afrika’da da içme ve sulama sularının kontaminasyonu sonucu 2000 adet *E.coli* O157:H7 vakası kaydedilmiştir (Wang ve ark 1998). Ayrıca Almanya’da ortaya çıkan epidemide muhtemelen hayvan gübresiyle bulaşık bazı bitkisel gıdalardan enfeksiyonun insanlara bulaştığı tahmin edilmektedir. Enfeksiyonun hayvanlardan insanlara veya insanlardan insanlara bulaştığı da bildirilmiştir. Bu organizma kolaylıkla kişiden kişiye bulaşabildiği için çocuk bakım merkezlerinde kontrol altına alınmasında güçlük çekilmektedir. Hasat öncesi bakteriyel bulaşma kaynakları toprak, sulama suyu, çiftlik gübresi, evcil ve yabani hayvanlar, hasat yapan işçiler ve hasat makineleridir (Dallaire ve ark 2006).

Çiftlik gübresi ve süzölmüş idrarda *Escherichia coli* O 157:H7 ve *Salmonella*’nın canlılığını incelemek amacıyla toprağın farklı derinliklerine 4 farklı uygulama yapılmıştır. Birinci uygulamada inokule edilmiş çiftlik gübresi toprağın yüzeyine verilmiş, ikinci uygulamada inokule edilmiş çiftlik gübresi toprağın 10 cm yüzeyine karıştırılmış, üçüncü uygulamada inokule edilmiş idrar toprak yüzeyine verilmiş, dördüncü ve son uygulamada ise inokule edilmiş idrar toprağın 10 cm yüzeyine karıştırılmıştır tüm bu uygulamalarda su homojen olarak toprak profiline düzenli olarak verilmiştir. Daha sonra bunların canlılık zamanları hesaplanmıştır. İkinci deneme deseninde çiftlik gübresi ve idrar uygulanmış toprağa 1 aylık marul fideleri dikilmiştir. Buna göre idrar uygulaması yapılan derinliklerden daha fazla patojen hücre elde edilmiştir. *E.coli* O 157:H7 çiftlik gübresi uygulamasına göre idrarlı uygulamada daha uzun süre canlılığını korurken *Salmonella enterica* çiftlik gübresi ve idrarda aynı ölçüde canlı kalmışlardır. Elde edilen sonuçlarda marul köklerindeki gelişim değerlendirildiğinde çiftlik gübresinin yüzey uygulaması yer altı sularındaki kontaminasyon riskini azaltabilmektedir kanısına varılmıştır (Semenov ve ark 2009).

Havuç ve soğan tarlalarında bulaşık çiftlik gübresi ve sulamada bulaşık sulama suyu kullanılmış ve 4 farklı kompost tipi uygulanmıştır.

- Tavuk gübresi
- Süt ineği gübresi
- NVIRO-4 alkali stabil süt ineği gübresi
- Bulaşık sulama suyu (*E.coli* O157 H:7 107 cfu g/l)

E.coli O157 H:7 toprakta 154-196 gün yaşamış ve 74’üncü gün ve 168’inci gün soğan ve havuçta bitkilerinde varlığını göstermiştir. En yüksek O157 H:7 popülasyonu tavuk gübresi

uygulamasında en düşük ise NVIRO-4 alkali stabil süt ineği gübresinde bulunmuştur. Daha sonra etmenin yaşam profili hem toprakta hem de havuç ve soğan bitkilerinde devam etmiştir (Islam ve ark 2005).

Minnesota'da yapılan bir çalışmada bahçe topraklarında *E.coli* O157 H:7'nin canlılığına bakılmıştır. *E.coli* O157 H:7 seviyesi iki aylık periyotta yavaş yavaş düşmüştür ve 69. Günde 4 parselden yalnızca bir tanesinde patojen tespit edilebilir seviyede bulunmuştur. 92. Günde tüm parsellerin negatif olduğu bulunmuştur. +4 °C'de tutulan bahçe topraklarında *E.coli* popülasyonunun çok hızlı düştüğü ve 10.günden sonra patojen tespit edilmediği bildirilmiştir (Mukherjee ve ark 2006).

Kuzeybatı Nijerya'da marketlerden ve çiftliklerden 826 adet domates meyvesi ve 36 adet sulama suyu örnekleri alınarak indikatör organizmaların varlığına bakılmıştır. Alınan 420 adet tarla örneklerinin 73 tanesinde (%17) *E.coli*, marketlerden alınan 406 adet domates örneklerinin 231 tanesinde (% 51) 100 MPN/g üzerinde *E.coli*'nin varlığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmayla çiftçilerin ve market sahiplerinin genelde gıda güvenliği ile mikrobiyal kontaminasyon arasındaki ilginin varlığının farkında olmadıkları kanısına varılmıştır (Shenge ve ark 2015).

A.B.D'nin Connecticut ve Illinois eyaletlerinde yürütülen bir çalışmada 1996 yılında 28 Mayıs-27 Haziran tarihleri arasında *E. coli* O157 H:7 enfeksiyonunun kaynağı araştırılmıştır. Enfeksiyonun her iki eyalette de % 95 oranla marul tüketilmesiyle bulaştığı ve tek bulaşıklılık kaynağının marul tarlalarının yakınındaki büyükbaş hayvan çiftliklerinin varlığı olarak belirtilmiştir. Bunun ise PFGE suştip olduğu bulunmuştur (Hilborn ve ark 1999).

1995-2006 yılları arasında California'da 22 adet *E.coli* O157 H:7 vakası meydana gelmiştir. Yapılan bir çalışmada, 19 aylık takip edilen periyotta 22 su birikintisinden 15 tanesinin bulaşık olduğu tespit edilmiştir. *E.coli* O157 H:7'nin yoğunluğu kuvvetli yağmurlardan sonra artmaktadır. *E.coli* O157 H:7 bir çok lokasyonda sularda bulunmuş suyun aktığı kaynaktan 135 metre uzaklığa kadar taşındığı da bildirilmiştir. Özellikle su baskını olduğu zaman 32 km uzaklığa kadar taşındığı gözlenmiştir (Cooley ve ark 2007).

Sebzelerin yıkanması sırasında eğer suyu dezenfekte etmek için herhangi bir metod kullanılmıyorsa yıkama suyu vektör olabilmektedir. İçerisinde *E.coli* O157 H:7 bulunan

elektrolize edilmiş su içerisine 0.15,0.5 ve 1 g/L NaCl ilave edilerek patojenin inaktivasyonu sağlanmaya çalışılmıştır. 0,5 g/L uygulamasında *E.coli* O157 H:7'nin kontrol altına alındığı gözlenmiştir (Gomez-Lopez ve ark 2015).

Hasat sonrasında yıkama suyu, çalışanlar, paketleme materyalleri, işleme ve taşıma makineleri etmen için potansiyel bulaştırma kaynaklarıdır (Abdul-Raouf 1993, Aruscavage ve ark 2006, Cooley ve ark 2006).

Sıcaklık faktörünün *E.coli* O157 H:7'nin gelişimine olan etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada, yeşil yapraklı sebzelerin nakliyesi ve depolanması sırasında mikrobiyal güvenlik ve ürün kalitesini negatif etkilediği gözlemlenmiştir. *E. coli* O157 H7 4 coğrafik bölgede 5 farklı noktada 16 ay boyunca taşıma, depolama ve satış sırasında izlenmiş olup çalışmayla ilgili olarak yapılan hesaplamalar sonucunda *E.coli* O157 H7 yoğunluğunun genelde depolama, taşıma ve satış sırasında $<2 \log$ CFU/g arttığı ve özellikle depolamanın patojenin artışında en önemli rolü oynadığı bulunmuştur (Zeng ve ark 2014).

Vibrio cholerae O1, *Salmonella typhi* ve *Escherichia coli* O 157:H7'nin canlılığı ve gelişimi alfalfa (şark yoncası, kaba yonca) yoncasında incelenmiş, tüm patojenlerin yoğunluğu çimlenme ve filizlenme sırasında $6.0 \log_{10}$ cfu/g seviyesine 24 saat sonra ulaşmıştır. Yeşil kısımlara yapılan inokulasyonda ise 24 saat içerisinde herhangi bir bakteri gelişimi gözlenmemiştir. Yeşil aksama inokule edilen bakteri sayısının dondurulduktan sonra $1.0 \log_{10}$ cfu/g seviyesine düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca yeşil aksamın yaprakları Meksika'da tifo ve kolera hastalıklarının önemli kaynağını oluşturmaktadır (Rosas ve ark 2000).

E. coli O 157:H7'nin gelişimi $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ve $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolama sırasında paketlenmiş marul, soya fasulyesi filizi ve şalgam bitkilerinde incelenmiştir. Sebzeler satışa sunulduğu gibi polietilen poşetlerde paketlenmiş ve 12 gün boyunca depolanmıştır. $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de soya filizlerinde *E. coli* O 157:H7 \log 1,5-2,5 kadar artmıştır. Şalgam bitkisinde *E. coli* O 157:H7'nin ATCC 43888 suşu yaklaşık \log 1 kadar artmıştır. Marul bitkisinde ise *E. coli* O 157:H7' ye rastlanmamıştır. Suş 12900 ise 2. ve 5. günlerde tüm bitkilerde artış göstermiş daha sonra değişmemiştir. Sıcaklığın $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye indirilmesi durumunda *E.coli* O 157:H7 popülasyonu sabit kalmıştır (Francis ve ark 2001).

2005-2006 yıllarında İspanya'nın Catalonia şehrinde 4 farklı süpermarketten taze veya çok az işlenmiş meyve ve sebzelerden örnekler alınmıştır. Toplanan 300 örnekten 21 tanesi

yemeğe hazır meyveler, 28 tanesi taze sebzeler, 15 tanesi yaprakları tüketilen sebzeler, 236 tanesi ise 1-6 arasında çeşit içeren salatası yapılan sebzeleri içermektedir. Bu çalışmaya göre özellikle sebze yapraklarının % 40'ının *E. coli* ile bulaşık olduğu gözlenmiş fakat *E. coli* O157:H7'ye rastlanmamıştır (Abadias ve ark 2012).

Farklı markaların paketlenmiş marul örnekleri hem büyük marketlerden hem de dağıtım yapan şirketlerden alınmıştır. Bu paketler bir kenarından açılarak *E. coli* O157 H:7 ile spreyleme yaparak bulaştırılmış ve azotlu ve azotsuz olarak paketlenmiştir. Ürünler +5 °C ve +12 °C'de depolanmıştır. +5 ° C sıcaklık *E. coli*'nin yaşamasına imkan vermiş fakat gelişmesini sınırlamıştır. +12 °C ise ise 3. Günde *E. coli*'nin 2.0 log cfu/g artışına sebep olmuştur. Fakat marul yapraklarının sonuna kadar tüketilmesine engel olmamıştır (Luo ve ark 2010).

Ispanakta yüzey cevap metodu (RSM) kullanılarak 15-35 °C sıcaklık ve % 60-80 arasındaki nem oranlarının *E.coli* O157 H:7'nin gelişime olan etkisi incelenmiştir. Buna göre farklı koşullar altında maksimum üreme oranı (GR), duraklama dönemi(LT) ve maksimum populasyon (MPD) yoğunluğu ve sonuca olan etkileri araştırılmıştır. Üstelik ikincil modeller GR, LT ve MPD değerleri için birincil model (RSM) kullanılarak ikinci dereceden polinom denklemleri de geliştirilmiştir. Modellerin karşılaştırılması yapılarak sıcaklık ve nem faktörlerinin ileride risk tahmini yapmaya yardımcı olması ile ıspanakta *E.coli* O157 H:7'nin gelişimi konusunda yardımcı olacaktır (Wang ve ark 2012).

Kaliforniya'da 2006 yılı Eylül ayında *E.coli* O157:H7 ile kontamine olan çuvallanmış ıspanaklar sebebiyle meydana gelen salgında, ıspanak örnekleri 4 farklı bölgeden toplanmış ancak ıspanak tarlalarından birinin sığır çiftliğinin yakınında bulunduğu ve bu çiftlikte bulunan sığırların dışkılarından elde edilen ve salgına neden olan etkenin özelliklerinin benzer olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu bölge, serbest olarak gezen vahşi yaban domuzlarının bulunduğu, ineklerin otlatıldığı, ıspanağın kendiliğinden yetiştiği ve su kanallarının da olduğu bir yerdir. *E.coli* O157:H7 bölgedeki sığır ve yaban domuzu dışkılarından, su kaynaklarından ve topraklardan izole edilmiştir. Sonuç olarak, yaban domuzlarının direk olarak tarlaları kontamine etmesi veya dolaylı olarak dışkılarının su kaynaklarına bulaşması sebebiyle böyle bir salgının ortaya çıktığı savunulmuştur (Cooley ve ark 2007).

Doğal olarak *E. coli* O157 H:7 ile bulaşık roka ve salatalık örneklerindeki bakteri varlığı ve seviyesi deterministik (belirleyici) ve stokastik (rastgele) yaklaşımla belirlenmeye

çalışılmış buna göre rokada % 7 oranında, salatalıkta ise % 3 olarak *E. coli* O157 H:7 varlığı hesaplanmış ve bu durum ELISA tekniği ile teyit edilmiştir (Hadjilouka ve ark 2015).

Konvensiyonel ve organik olarak üretilen marulların doğrandıktan sonra 10 ± 1 °C'de 8 ve gün süreyle saklanması *E. coli* O157 H:7'ye olan etkisi araştırılmış, deneme süresi boyunca az, orta ve çok yoğunlukta olan *E. coli*'nin deneme süresince gelişimi ve canlılığında bir değişme olmadığı gözlenmiştir (Oliveira ve ark 2012).

Çevresel faktörlerden iklim ve toprak kimyasının *E. coli* O157 H:7 üzerine doğadaki etkisi az bilinen konulardandır. Kanada'da bu amaçla farklı toprak yapılarında ve iklimlerde tarla denemeleri yapılarak marul yapraklarında ve toprakta *E. coli* O157 H:7 popülasyonları takip edilmiştir. *E. coli* O157 H:7 popülasyonu marul yapraklarında 10^5 den $< 10^2$ CFU/g ve toprakta $< 10^3$ CFU/g düzeylerine inkübasyondan 7 gün sonra düşmüştür (Bezanson ve ark 2012).

Kanada'da paketlenmiş marulların dağıtım ve depolama zincirindeki sıcaklık durumları izlenmiştir. Buna göre sıcaklıklar kış mevsiminde 27 durum için 3 farklı depoda ve 3 tekerrürlü olarak takip edilmiştir. Bu sistemde sıcaklığın *E. coli* O157 H:7 gelişimine etkisi bir modelle simüle edilmiş olup bu modele göre çok az bir gelişme 5 °C sıcaklığın üzerine çıktığında tahmin edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan bu sıcaklık derecesine göre çok az veya hiç bir şekilde *E. coli* O157 H:7 artışının olmadığı gözlenmiştir. Bunun yanında tüketim öncesi tahmini patojen sayısında hücre düşüşü, yalnızca 5 °C veya daha düşük sıcaklıklarda tutulursa görülebileceği tahmin edilmiştir (McKellar ve ark 2012).

Kanada'da marullarda kış ve yaz aylarında dağıtım zincirlerinde sıcaklığın patojen üzerine olan etkilerini belirlemek için taşıma paletlerinin alt, orta ve üst kısımlarının sıcaklıkları takip edilmiş ve ölçümler yapılmıştır. Ölçüm sonuçları göstermiştir ki her iki sezonda da az bir sıcaklık artışı olmuştur. Uzun süren yaz sezonunda sıcaklık 5°C ve üzerine çıkmıştır. Simülasyon modeline göre sıcaklığın ne kadar yükseldiği ve ne kadar süre bu sıcaklıkta kaldığı ve *E. coli* O157 H:7'nin kalıcılığı gözlenmiştir. Model yardımıyla sıcaklığın artışı veya durumuna göre patojenin çok az artış gösterdiği ya da yok olduğu tahmin edilmiştir (McKellar ve ark 2014).

İki yıl süren tarla demelerinde çilek bitkileri *E. coli* ile bulaşık sulama suyuyla sulanmış ve bulaşma oranlarına bakılmıştır. Sulamadan önce bitkilerde herhangi bir bulaşıklık

söz konusu değildir. Çalışmada ayrıca iki farklı sulama yöntemi (damla sulama ve salma sulama) ve iki farklı malç tipi (straw-saman, plastik) kullanılmıştır. Malçlamanın *E. coli*'ye olan etkisine bakıldığında straw malçta *E.coli* yoğunluğu % 6,4 iken plastik malçta bu oran % 4,3 çıkmasına rağmen istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Sulama tiplerinin patojenin varlığına olan etkisi ise % 8,6 salma sulamada, % 2,1 damla sulamada *E.coli* yoğunluğu mevcut olup salma sulamada bu oran 4,5 kat daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmayla sulamayla ilişkili patojen bulaşmasının sınırlı olduğu kaydedilmiştir (Genereux ve ark 2015).

Organik ürünlerdeki bakteri kontaminasyonu ile ilgili yapılan araştırmalar sonucunda birbirleriyle çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bazı araştırmacılar (Couzin 1998, Diez-Gonzalez ve ark 1998) organik üretim yapan işletmelerdeki ruminantlarda (örneğin koyun, inek) *E. coli* O157 H:7 enfeksiyonunun riskinin düşük olduğunu belirtmişlerdir. Ortaya çıkan bu sonucun organik tarım işletmelerinde konvansiyonel üretimde hayvan beslemede kullanılan nişastaca zengin hububat yerine saman, ot, silaj kullanımına bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Malezya'da bazı organik gıdalarda *E. coli* O157 H:7'nin varlığı araştırılmış ve konuyla ilgili olarak toplam ve 230 örnek çeşitli manav ve süpermarketlerden alınmıştır. Bu örnekler fasulye, domates, turp, kırmızı kabak, çin kabağı, marul, salatalık ve tavuk örnekleridir. Organik sebzeler ve tavuklarda patojenin varlığı düşük bulunmuştur. Organik manavlardan alınan örneklerde *E. coli* O157 H:7 varlığı süpermarketlerden alınan örneklere oranla daha yüksek oranda bulunmuştur. PCR ile tüm organik ürünlerin % 5.2'sinde *E. coli* O157 H:7 varlığı tespit edilirken aynı şekilde organik ürün satan manavlarda % 8.8 süpermarketlerde ise % 1 olarak kaydedilmiştir. *E.coli* O157 H:7 % 40'la en yüksek oranda organik tavuklarda görülmüş bunu % 10 fasulye ve % 3.3 oranla beyaz turp izlemiştir (Chang ve ark 2013).

Tohum filizleri genellikle çiğ yada minimal düzeyde işlenerek tüketilen ürünlerdir. Filizler bünyesinde büyük ölçüde tohum kaynaklı oldukça fazla sayıda patojen mikroorganizma bulundurmakta ve bunların sayıları çimlendirme esnasında oldukça yüksek düzeylere ulaşmaktadır. Filizlerin yüksek oranda protein, su, vitamin ve mineral madde içermeleri bunları mikrobiyal gelişim açısından elverişli ortam durumuna getirmektedir. Ayrıca çimlendirme koşulları da patojen mikroorganizmaların gelişmesinde önemli bir etkiye sahiptir (Rosas ve ark 2000).

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde evlerde tüketilen yenilebilir filizler minimal seviyede işlem görmüş gıdalar sınıfında yer almakta ve herhangi bir dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmamaktadır. Tohum yüzeyinde bulunan bakteriler çimlenme esnasında tohumun iç kısmına girmektedirler ve bunları tüketenlerin filizleri yemeden önce pişirmemeleri ve yıkasalar dahi yıkama işleminin patojenleri uzaklaştırmasına yetersiz olması filizleri mikrobiyolojik açıdan riskli grubuna almaktadır (Alonzo ve ark 2007).

Tohumlardan patojenlerin uzaklaştırmasına yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır ve bunların bazıları iyonize radyasyon, yüksek basınç, ısı işlem, klorlu bileşikler, etanol, hidrojen peroksit ve ozon gibi kimyasal bileşiklerle muameledir. Yapılan bu çalışmalarda amaç bir taraftan patojen mikroorganizmaları yok ederken diğer taraftan da tohumun çimlenme yeteneğinin muhafazasıdır. Ozon uygulaması bakterinin hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakasına, stoplazmadaki nükleik asit ve enzimlere, hücre zarında bulunan protein, doymamış yağ ve enzimlere, spor yapısındaki peptidoglikan ve proteinlere etkilidir (Khadre ve ark 2001). *E. coli* O157 H:7 patojeninin azaltılmasında klorlama (ClO_2), ozon ve kekik yağı uygulaması yapılan bir çalışmayla etkili olarak bulunmuştur. Uygulamada marul ve küçük havuçlarda 10 dakika steril suyla yıkama bakteride 1 log azalma sağlamış, gaz uygulaması da sıvı uygulamasına göre daha yüksek etki göstermiştir. Suyun 9.7 mg/L ozon konsantrasyonunda 10 mg/L ClO_2 ile 10 dakika muamelesi sonucunda veya 1 ml/L kekik yağının 5 dakika uygulamasında ardışık olarak önce kekik yağı uygulamasının ardından ClO_2 /ozon veya ozon/ ClO_2 uygulaması 3.75 ile 4.34 log arasında marul ve havuçta etki sağlamıştır (Singh ve ark 2002).

Kereviz saplarına 0.5 ve 1.0 kGy ışınlama dozu uygulaması yapılmış, mikrobiyal ve duyuşsal karakteristiklerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda yapılan uygulamanın *L. monocytogenes* ve *E. coli*'yi tamamen yok ettiği, klorlama veya asit uygulama gibi yöntemlerle ışınlama işlemleri karşılaştırıldığında üründe renk, koku, tat ve tekstürde herhangi bir farkın olmadığı belirtilmiştir (Prakash ve ark 2000).

Marullarda *E. coli* O157 H:7 bulaşıklılığının giderilmesinde kekik yağı ve ultrasonik banyo uygulaması yapılmıştır. Kekik yağının marulda *E. coli* O157 H:7'ye karşı uygulamasında marul yüzeyindeki bakteri miktarının 2 log'a kadar düştüğü tespit edilmiştir. Kekik yağının suda çözülmesiyle birlikte ultrasonik titreşim uygulamasının özellikle % 0.018, % 0.022 ve % 0.025(v/v) dozlarında önemli ölçüde bakteriyi azalttığı hesaplanmıştır.

Ultrasonik titreşimle % 0.025 (v/v) dozunun sinerjistik etki yaptığını da belirtmişlerdir (Millan-Sango ve ark 2015).

Marul ve semizotunda *E. coli* O157 H:7'nin canlılığına, nane ve fesleğen yağlarının antimikrobiyal etkilerini belirlemek amacıyla, patojenle bulaşık bitkilere 0.01 ml/L, 0.032 ml/L ve 0.08 ml/L konsantrasyonlarda yağlar uygulanmış olup yapılan işlemde sonra örnekler +4 °C'de 7 gün süreyle muhafaza edilmiştir. Değerlendirme sonuçlarına göre patojene karşı nane yağı, fesleğen yağına göre daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Uygulama yapılan iki farklı bitkide de en etkili konsantrasyon 0.08 ml/L olarak tespit edilmiştir (Karagözlü ve ark 2011).

Antimikrobiyal olarak kullanılan gallotanninin (tanin maddesi) yeşil yapraklı sebzelerde (marul ve ıspanak) gıda kaynaklı patojenlerin (*E. coli* O157 H:7) yapışması, üremesi ve canlılığına olan etkisine bakıldığında 1 g/L gallotannin uygulaması *E. coli* O157 H:7'yi yok etmiş fakat filtre kağıdına yapışma % 94 oranında engellenmiştir (Engels ve ark 2012).

Bazı meyve ve sebzeler çok düşük işlem görerek veya hiç işlenmeden tüketilmektedir. Bunlar genelde modifiye edilmiş atmosferde tüketilinceye kadar buzdolabında saklanmaktadır. Bu meyve ve sebzeler gıda kaynaklı örneğin *E. coli* O157 H:7, *Salmonella* türleri ve *L. monocytogenes* gibi etmenlerle bulaşabilir ve bu etmenlerin endüstriyel yıkamayla elimine edilmesi de garanti edilemez. Burada en önemli nokta saklama esnasında farklı koşullarda patojenlerin gelişmeye devam edip etmediği veya canlılığını sürdürüp sürdürmemesidir. Bu çalışmanın amacı ürünlerde (havuç, kavun, ananas, hindiba) paketlerin içerisindeki gazın bileşimi (hava veya modifiye atmosfer) ve sıcaklığın (5°C veya 25°C) *E. coli* O157 H:7 popülasyon dinamiğine olan etkisini belirlemektir. Havuçlarda 25°C'de 3 gün saklama süresi sonunda *E. coli* O157 H:7 popülasyonu 7.0-8.4 ve 5.2-6.3 log cfu g⁻¹ aralığında popülasyon seviyesine ulaşmıştır. Meyvelerden ise kavunda *E. coli* O157 H:7 paketin içerisindeki atmosferik koşullara aldırılmadan 1 gün modifiye atmosferde saklama koşullarında 8.5-8.9 log cfu g⁻¹ popülasyona ulaşmıştır. Ananasda herhangi bir *E. coli* O157 H:7 gelişimine rastlanmamıştır. 5 °C sıcaklıkta ise *E. coli* O157 H:7 gelişmemiştir fakat olan popülasyon yaşamını sürdürmüştür. Özellikle sıcaklığın taşıma, depolama ve dağıtım esnasında süpermarketlerde ve tüketiciler tarafından ve kontrol edilmesi önemlidir (Abadias ve ark 2012).

Düşük ve yüksek konantrasyonlarda maydanoza inokule edilen *E. coli* O157 H:7'ye karşı adaçayı, biberiye, mercan köşk ve kekik hidrosollerinin etkileri araştırılmıştır. Patojen inokulasyonunu takiben maydanoz örnekleri hidrosollerle ve kontrol için kullanılan steril su ile 0-20-40 ve 60 dakika süreyle yıkanmıştır. Steril su uygulaması tüm uygulamalarda etkisiz olmuştur. 20 dakika uygulamadan sonra kekik ve kimyon hidrosolü *E. coli* O157 H:7'yi önemli ölçüde düşük inokulasyon seviyesine kadar indirirken diğer tüm hidrosoller yüksek inokulasyon seviyesinde önemli düzeye *E. coli* O157 H:7'yi azaltmışlardır. Ayrıca uygulama zamanı arttıkça *E. coli* O157 H:7'nin seviyesinin düştüğü de belirtilmiştir (Törnük ve ark 2014).

Evdeki ekipmanla yaprağı tüketilen sebzelerin kesilmesi ve doğranması çapraz bulaşıklık riskini artırmaktadır. Bıçakla marul yaprakları arasındaki bulaşma riski araştırılmış ve yarı mekanistik bir model geliştirilmiştir. Maruldan bıçağa bulaşmanın daha düşük olduğu buna karşın eğer bıçak *E. coli* O157 H:7 ile bulaşıkça bulaşmanın daha yüksek ve riskli olduğu bildirilmiştir (Zilelidou ve ark 2015).

1.8. Tedavi

Hemolitik üremik sendrom acil servis bakımı gerektiren hayati önem taşıyan bir durumdur. Antibiyotik kullanımının hastalığı iyileştirdiğine ilişkin kesin bir kanıt olmamakla beraber, hastalığın süresinin ve şiddetinin azaltacağı düşüncesine karşı olarak dirençli suşların seçilmesine etki ettiği de düşünülmektedir. Ayrıca bazı durumlarda örneğin antibiyotik kullanımı bağırsakta bulunan bazı bakterilere etki ederek verotoksin üreten EHEC suşlarının seçilmesini sağlayarak hemolitik üremik sendrom oluşumunu artırdığı gözlenmiştir. Enfeksiyonların büyük çoğunluğu iyileşir. Hemolitik üremik sendrom geçirenlerde uzun vadeli etkiler görülebilir. Acil bakımda ölüm oranı %3-5 dolayında olurken hastaların % 30'unda hipertansiyon ve böbrek fonksiyonu bozuklukları da görülebilmekte, bu durumda diyalize gerek duyulmaktadır (Özkuyumcu 2009).

1.9. Koruma ve Kontrol

Enfeksiyonu önlemek amacıyla tarımsal üretimden, gıdaların işlenmesi, hazırlanmasına ve dağıtım zincirine kadar olan süreçte her türlü kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir. Enfeksiyonun asıl kaynağının sığırlar başta olmak üzere ruminantların (geviş getirenler) sindirim kanalı olması sebebiyle kesim işlemi sırasında etin dışkıyla

bulaşmamasına dikkat edilmeli hijyen ve soğuk zincirin sağlanmasına çok önem verilmelidir. Pastörize edilmemiş süt ürünleri, meyve suları ve yeterince pişirilmemiş kıyma, et ürünleri ve hamburgerlerin tüketilmesinden kaçınılmalıdır. Taze sebze, meyve, filizleri ve yaprakları tüketilen ürünlerin potansiyel inokulum kaynağı olması sebebiyle iyice yıkanması ve hijyeni sağlanmalıdır. Çocuk bakım yerlerinde de hijyene son derece dikkat edilmeli, çocuklara el yıkama alışkanlığı kazandırılmalıdır. Meyve ve sebzelerin sulanmasında kullanılan atık suların belli işlemlerden geçirilmesi önerilmektedir. Çiftlik gübresinin kullanımına dikkat edilmeli çevredeki çiftlik ve hayvanların bulunduğu yerlerdeki sularda yüzülmemelidir. Su ve diğer gıdaların dışkı ile bulaşması ve gıdaların hazırlanması sırasındaki çapraz bulaşma da diğer önemli bulaşma yollarındandır. Bu patojen, asitlere karşı dayanıklı olduğu için fermente gıdalar ve taze sebzelerde canlı kalabilmektedir. Kontamine içme suları yanı sıra havuz, göl ve gölet suları vasıtasıyla da bulaşma olduğu bildirilmiştir. Bakım merkezleri ve hastaneler kişiden kişiye bulaşmada oldukça önemlidir. Kuşlardan da doğrudan bulaşma olmaktadır. Salgınlarda klinik belirti göstermeksizin patojen taşıyan gıda çalışanları da bulaşmada rol oynayabilmektedir (Reilly 1998).

E. coli O157:H7 enfeksiyonu genellikle dışkı kültürü veya Stx aranması ya da her iki yöntem vasıtasıyla teşhis edilmektedir. Yüksek oranda bir iyileşme sağlamak için hastalığın başlangıcından itibaren 7 gün içinde dışkı numunesi alınarak kültür uygulanması tavsiye edilmektedir (Chinyu ve ark 1995). Bu enfeksiyona karşı hiçbir spesifik tedavi rejimi geliştirilememiştir (Tarr ve ark 2005). Temel olarak komplikasyonların niteliğine göre destekleyici tedavi uygulanmaktadır. Antibiyotik tedavisinin faydalı olduğu kanıtlanmamıştır HUS'dan korunmanın en iyi yolu Stx üreten bakterilerin primer enfeksiyon oluşturmasının önlenmesidir (Khanna ve ark 2008).

E. coli O157:H7 enfeksiyonu dünyanın her tarafında oluşabilmektedir. Ancak yıllık 100,000'de 8 insidans oranı ile en çok Kuzey Avrupa, Kanada, ABD, Arjantin ve Japonya'da rastlanmaktadır. İtalya'da 1993 yılında *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu bir salgın oluşmuştur. 1997 yılına kadar 196 HUS vakası tespit edilmiştir. İtalya'daki HUS insidans oranı İngiltere, Almanya ve diğer Avrupa ülkelerinden 4-5 kez daha azdır (Rocchi ve ark 1999). İsveç'te 1995 yılı Sonbaharında oluşan ilk EHEC O157:H7 enfeksiyon salgınlarında 100 insanın hastalandığı bildirilmiştir (Albihn ve ark 2003).

E. coli O157:H7'nin neden olduğu gıda kaynaklı hastalık insidansının önemli ölçüde azaltılabilmesi için halk sağlığı ve çevre sağlığı kuruluşları, çiftçiler, hayvan yetiştiricileri, gıda üreticileri ve bilim adamları koordineli olarak beraber çalışmak zorundadırlar. Dünya Sağlık Örgütü *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının önlenmesi ve kontrolü için gıda üretiminde içilebilir su kullanılmasını, gıdaların uygun biçimde işlenmesini ve pişirilmesini ve gıda üretiminde çalışan işçilerin gıda hijyeni konusunda eğitilmesini tavsiye etmektedir (Reilly 1998).

Çalışmamızın amacı, sebze üretimi ve tüketimi çok yaygın olan Aydın İlinde değişik noktalarda tüketime sunulan marullarda *E. coli* O157:H7'nin varlığının saptanması olarak hedeflenmiştir. Taze yapraklı sebzelerden kaynaklanan bakteriyel kontaminasyonda birçok ülke ve sanayi kuruluşları mikrobiyolojik kaliteyi artırmak için yoğun çaba göstermektedir. *E. coli* O157:H7'nin varlığı hakkında ülkemizde tatmin edici çalışmalar bulunmamaktadır. Böylelikle sözkonusu patojenin yaygınlığı ve kontaminasyon durumu ve tayini ile benzer iklime sahip olan Türkiye'nin birçok bölgesi için çok önemli bir veri kaynağı oluşturulması hedeflenmiştir. Ayrıca araştırmamızın, konusu itibariyle bölgedeki ilk çalışmalardan olması özelliğiyle dikkat çekmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada kullanılan taze marul örnekleri Aydın ilinde bulunan semt pazarlarından 50 adet ve marketlerden 50 adet satın alınarak toplanmıştır. Toplam 100 adet marul numunesi en dıştaki yaprakları uzaklaştırıldıktan sonra göbek kısmı steril koşullarda çıkarılarak steril poşetlere konulmuş, daha sonra Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına soğuk zincirde getirilmiştir.

2.1.2. Besiyerleri

2.1.2.1. İzolasyon Besiyeri

Modifiye Tryptic Soy Broth (Merck 1.09205)

Pepton (kazein)	17 g
Pepton (soya unu)	3 g
NaCl	5 g
Safra tuzları No. 3	1.5 g
D(+)-glukoz	2.5 g
Di-potasyumhidrojenfosfat	4 g
Novobiocin	0.02 g
Distile su	1000 ml

STEC zenginleştirilmesi için temel besi yerleri olarak çoğunlukla sorbitol MacConkey agar, tryptic soy broth (TSB), *E. coli* broth, enterohemorajik *E. coli* broth, buffered peptone water (BPW) ve brain heart infusion broth kullanılmaktadır (Hussein ve ark 2005). Araştırmamız için alınan svap örneklerinin taşınmasında ve bakterinin zenginleştirilmesinde modifiye tryptic soy broth (mTSB) kullanılmıştır. Zenginleştirme besiyeri mTSB'de gram-negatif mikroorganizmaların gelişmesini azaltmak için novobiocin veya acriflavin bulunmaktadır (Vernozy-Rozand 1997). mTSB besiyeri 33 g/l konsantrasyonda 1 L distile

suda eritilerek hazırlanmış ve erlenlere 225 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Daha sonra erlenlerdeki besi yerleri otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

2.1.2.2. İdentifikasyon Besiyerleri

Sorbitol MacConkey (SMAC) Agar (Difco 279100) ve CT SMAC Agar Katkısı (Merck 1.09202)

Pepton	20 g
NaCl	5 g
Safra tuzları No. 3	1.5 g
Sorbitol	10 g
Kristal violet	0.001 g
Nötral red	0.03 g
Agar-agar	15 g
Distile su	1000 ml

E. coli O157:H7 serotipi sorbitolü fermente etmez iken diğer *E. coli* serotipleri sorbitolü fermente ettikleri için *E. coli* O157:H7 izolasyonunda çoğunlukla sorbitol MacConkey agar (SMAC) kullanılmaktadır (Vernozy-Rozand 1997). Bu nedenle mezbahalardan alınan svap örneklerinden *E. coli* O157:H7 serotipine ait olabilecek kolonilerin elde edilmesi için SMAC kullanılmıştır. Bazı STEC suşlarının tellürite karşı duyarlı olmaları ve/veya sorbitolü fermente etmeleri nedeniyle sorbitol fermente etmeyen suşların izolasyonu için daha çok sefiksım ve tellürit katkılı sorbitol MacConkey agar (CT-SMAC) kullanılmaktadır (De Boer ve ark 2000). Bu nedenle araştırmamızda SMAC agara daha selektif olmasını sağlamak amacıyla sefiksım (0.05 mg/l) ve potasyum tellürit (2.5 mg/l) (CT) katkısı eklenmiştir. Böylece diğer floranın yanlış negatif sonuçlar vermesi engellenmiştir. Sorbitol MacConkey agardan (Difco 279100) 51.6 g/l oranı ile 25.8 g agar 500 ml distile su içinde ısıtılarak eritilmiş ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. CT-SMAC Agar Katkısı (Merck 1.09202) agara ilave edilmeden önce bir şişe katkı üzerine 1 ml distile su eklenip karıştırılmıştır. Otoklav sonrasında 45 °C'ye kadar soğutulan 500 ml agara aseptik şartlarda CT katkısı eklenerek karıştırılmış ve petri kaplarına 12.5 ml/petri olacak şekilde dökülmüştür (Weagant ve ark 1995).

Fluorocult *E. coli* O157:H7 Agar (Merck 1.04036)

Pepton (kazein)	20 g
Et ekstraktı	2 g
Maya ekstraktı	1 g
Sorbitol	10 g
Amonyum demir(III) sitrat	0.5 g
4-methylumbelliferyl-b- D-glucuronide	0.1 g
Sodyum klorid	5 g
Bromothymol blue	0.025 g
Sodium thiosulfate	2 g
Sodium deoxycholate	1.12 g
Agar-agar	13 g

Bu agar, CT-SMAC negatif olan kolonilerin β -glukuronidaz aktivitesini belirlemek için kullanılmıştır. Besiyeri 55 g/l olacak şekilde ısıtılarak distile su içinde eritilmiş ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilerek petri kaplarına dökülmüştür (Szabo ve ark 1986).

İndol test ortamı

Pepton	4 g
Sodyum klorid	2 g
Distile su	100 ml

Karışımın pH'sı 7.4–7.6'ya ayarlandıktan sonra, tüplere 3-5 ml dağıtılmış ve 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir (Koneman ve ark 1997).

2.1.3. Antiserum Test Kitleri

E. coli O157 Lam Aglutinasyon Testi (DENKA SEIKEN-295347)

E. coli O157 lam aglutinasyon testi O157 somatik antijenine karşı hazırlanmış spesifik somatik (O) antikoları (polivalan antiserum: domuz; monovalan antiserum: tavşan) içeren ve

koruyucu olarak 0.08 w/%v sodyum azid eklenmiş sıvı ürün kullanılan, lam üzerinde antijen ve antikor aglutinasyonuna dayanan bir testtir. Test içeriğinde aynı zamanda alternatif grup O antiserumu da bulunmaktadır.

Test kiti içeriğinde olmayan başka materyaller de kullanılmıştır. Bu materyaller küçük test tüpleri, fizyolojik tuzlu su, pipetler, mikropipetler, florasan lamba, agar medyum (nutrient agar medyum, heart infuzyon (HI) agar medyum), otoklav (121°C) veya kaynayan su banyosu, santrifuj, lam ve asetat kalemidir.

***E. coli* O157 Lateks Aglutinasyon Testi (Oxoid DR-620M)**

E. coli O157 lateks aglutinasyon testi O157 somatik antijenine spesifik antikorların *E. coli* O157 şüpheli kolonilerle temas ettiğinde aglutinasyon şekillenmesi esasına dayanan hızlı bir testtir.

Test kitinin içeriğinde test lateksi, kontrol lateksi, pozitif ve negatif kontrol süspansiyonları ile reaksiyon kartları bulunmaktadır.

DR 621 M Test Lateksi : O157 somatik antijeni ile reaktif edilmiş spesifik tavşan antikorlarıyla duyarlılaştırılmış mavi lateks partikülleri içerir.

DR 622 M Kontrol Lateksi : Preimmun tavşan globulinleri ile duyarlı hale getirilmiş mavi lateks partikülleri içerir.

DR 623 M Pozitif Kontrol Süspansiyonu : İnaktif edilmiş *E. coli* O157 hücreleri içeren tampon solüsyondur.

DR 624 M Negatif Kontrol Süspansiyonu : *E. coli* O116 hücreleri içeren tampon solüsyondur.

DR 500G Reaksiyon Kartları : Kit içinde 35 adet tek kullanımlık kart bulunmaktadır.

Test kitinde bulunmayan öze ve % 0.85' lik fizyolojik tuzlu su da gerekli olan materyallerdir.

H7 Antiserum Tüp Aglutinasyon Testi (DENKA SEIKEN-295354)

H7 tüp aglutinasyon testi H7 flagellar antijenine karşı hazırlanmış spesifik flagella (H) antikorları (tavşan) ihtiva eden ve koruyucu olarak 0.08 w/%v sodyum azid eklenmiş sıvı ürün içeren, tüp içinde antijen ve antikor aglutinasyonuna dayanan bir testtir.

Test kiti içeriğinde bulunmayan ancak kullanılması gereken materyaller şunlardır: Yarı sıvı medyum (% 0.3 yarı sıvı medyum (LIM): steril Craigy tüpünün içine konulduğu aerofilik kapaklı bir test tüpüne yerleştirilir), sıvı medyum (brain heart infuzyon (BHI) sıvı medyum, HI sıvı medyum: medyumun miktarı en az 10 ml olmalıdır), % 1 formalin içeren fizyolojik tuzlu su ve su banyosu (50 °C).

2.1.4. Referans Suşlar

Çalışmamızda referans suş olarak *E. coli* O157:H-7 ATCC 35150 suşu kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923 suşu kullanılmıştır.

2.1.5. Ayıraçlar

İndol ayıracı

P-Dimethylaminobenzaldehyde	10 g
Isoamyl alcohol	150 ml
HCl (konsantre)	50 ml

2.1.6. Boyalar

Gram boyama (Merck-111885) yapılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Örneklerin Alınması ve Kültür

Marul örneklerinde *E. coli* O157:H7 bakterisinin var olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla 25 g örnek 225 ml MTSB (O157 Broth) ile homojenize edilerek 37±0,5°C' de 24 saatlik inkübasyon ile ön zenginleştirme yapılmıştır. İnkübasyon sonunda öze vasıtasıyla SMAC Agar (Sorbitol MacConkey Agar,) besiyerine geçilerek 35-37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. CT-SMAC agarda üreyip sorbitol negatif sonuç veren kolonilerden öze ile

Fluorocult *E. coli* O157:H7 agara ekimleri yapılmıştır. Şüpheli görülen koloniler ise, indol içeren besiyerinde 35- 37°C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra üzerine 1 ml kovaks ayracı dökülüp karıştırılarak doğrulama yoluna gidilmiştir. Doğrulama için aynı zamanda lateks aglütinasyon testi ile de yapılmıştır.

2.2.2. İzole Edilen Suşların İdentifikasyonu

İzole edilen suşların koloni morfolojileri, indol testi sonuçları ve identifikasyon besiyerleri ile test sonuçları değerlendirilerek *E. coli* O157:H7 identifikasyonuna gidilmiştir.

2.2.2.1. Sefiksim-Tellürit Katkılı Sorbitol MacConkey Agarda Üreme

mTSB besiyerinde üreyen gram-negatif ve indol pozitif *E. coli* şüpheli kolonilerden CT-SMAC agarlara öze ile ekim yapıldıktan sonra petri kutuları 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda renksiz olan koloniler sorbitol negatif, pembe-kırmızı koloniler ise sorbitol pozitif olarak değerlendirilmiştir (Doyle ve ark 1987).

2.2.2.2. Fluorocult *E. coli* O157:H7 Agarda Üreme

CT-SMAC agarda üreyip sorbitol negatif sonuç veren kolonilerden öze ile Fluorocult *E. coli* O157:H7 agara ekim yapıldıktan sonra petri kutuları 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda sorbitolü kullanamayan bakteriler renksiz, sorbitol pozitif koloniler ise sarı renkte koloniler oluşturmuştur. Sorbitol negatif olan koloniler UV ışını (366 nm) altında incelenerek ışımaya vermeyen koloniler *E. coli* O157:H7 şüpheli olarak belirlenmiştir.

2.2.2.3. *E. coli* O157 Lam Aglutinasyon Testi

E. coli O157:H7 şüpheli olarak belirlenen kolonilere O157 antijeninin varlığının araştırılması amacıyla O157 lam aglutinasyon testi uygulanmıştır (Sakazaki 1992).

E. coli O157:H7 şüpheli kolonilerden üç öze dolusu alınarak 3 ml fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edilmiştir. Süspanسیون 121 °C'de 15 dk ve 100 °C'de 1 saat bekletildikten sonra 900 devirde 20 dk santrifüje edilmiştir. Tüplerdeki süpernatant uzaklaştırılıp çökelti 0.5 ml fizyolojik tuzlu su ile süspanse edilerek antijenik solüsyon olarak kullanılmıştır.

Sonraki aşamada her polivalan antiserumdan bir damla ve 30 µl fizyolojik tuzlu su asetat kalemi ile bölümlere ayrılmış temiz lamlar üzerine damlatılmıştır. Lam üzerindeki her antiserum-fizyolojik tuzlu su karışımının üzerine antijenik süspansiyondan 5-10 µl damlatılmıştır. Lamlar sağa sola 1 dk boyunca eğilerek süspansiyonların karışması sağlandıktan sonra O157 pozitif olan karışımlarda aglutinasyon deseni şekillenmiştir. Aglutinasyon florasan ışığı altında lamalara bakıldığında çok net olarak gözlenmiştir. Aglutinasyon ilk 1 dk sonunda şekillendiği için aglutinasyon oluşmayan veya hafif oluşan örnekler negatif olarak değerlendirilirken tam aglutinasyon şekillenenler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Polivalan serum ile pozitif sonuç veren numuneler polivalan serumun içerdiği monovalan serumlar belirlenerek, yukarıdaki işlemler monovalan serum kullanılarak tekrarlanmış ve aglutinasyon pozitif O antiserumları belirlenmiştir.

2.2.2.4. *E. coli* O157 Lateks Aglutinasyon Testi

E. coli O157 lam aglutinasyon testi ile O157 antijenine sahip olduğu belirlenen kolonileri desteklemek amacıyla *E. coli* O157 lateks aglutinasyon testi yapılmıştır (March ve ark 1989).

Buzdolabında 2-8 °C' de bekletilen lateks belirteçleri oda sıcaklığına getirilmiştir. Lateks süspansiyonları iyice çalkalanıp karıştırılmış, bu esnada süspansiyonların dökülmemesine özellikle dikkat edilmiştir. Reaksiyon kartının üzerindeki dairelerden birine dairenin iç kenarına yakın gelecek şekilde 1 damla test lateksi damlatılmıştır. Dairenin başka bir kenarına da lateks süspansiyonu ile kesinlikle karışmayacak şekilde 1 öze dolusu fizyolojik tuzlu su damlatılmıştır.

Sonraki aşamada test edilecek koloniden 1 öze dolusu alınıp fizyolojik tuzlu su damlası ile dikkatlice pütür kalmayınca kadar karıştırılmıştır. Numune-fizyolojik tuzlu su süspansiyonu test lateksi damlası ile karıştırılıp dairenin içine öze kullanılarak yayıldıktan sonra öze alevden geçirilerek sterilize edilmiştir. Reaksiyon kartı 1 dk kadar dairesel hareketlerle sallanarak aglutinasyonun şekillenmesi beklenmiştir. Bu aşamada kartın 1 dakikadan fazla sallanmamasına özellikle dikkat edilmiştir.

Aglutinasyon deseni veren numunelerin O157 serotipine ait olduğu doğrulanmıştır. Bir dakika içinde aglutinasyon şekillenmeyen izolatların O157 negatif olarak değerlendirilmesi

gerekiyordu ancak yaptığımız O157 lam aglutinasyon testini doğrular Şekilde lateks testte kullanılan tüm izolatlar pozitif sonuç vermiŐtir.

2.2.2.5. H7 Antiserum Tp Aglutinasyon Testi

E. coli O157 olarak belirlenen kolonilerde *E. coli* O157:H7 varlığının incelenmesi amacıyla H7 antiserumuyla tp aglutinasyon testi uygulanmıştır (Sakazaki 1992).

Koloniler Brain Heart infuzyon sıvı besiyerine inokulasyona hazırlanmaları amacıyla Craigy's tüpü içinde bulunan yarı sıvı medyumdan 3-5 defa geçirilmiŐtir. Daha sonra BHI sıvı medyumuyla hücre kültürü hazırlanmış ve 37 °C'de bir gece inkübe edilerek eŐit miktarda % 1 w/v formalin içeren fizyolojik tuzlu su ile karıştırılmıştır.

Test tüplerine üçer damla H antiserumlarından damlattıktan sonra her bir tüpe 0.5 ml hücre süspansiyonundan damlatılmıştır. H antiserumu içermeyen bir tp ise kontrol olarak kullanılmıştır. Tüplerdeki antiserum ve hücre süspansiyonları iyice karıŐtırıldıktan sonra 50 °C'lik su banyosunda 1 saat bekletilmıŐtir. Bundan sonra tüpler aglutinasyonun oluŐup oluŐmadıđını anlamak için çıplak gözle izlenmiştir. Aglutinant kolayca dağılabileceği için gözlem yapılırken tüplerin sarsılmamasına özellikle dikkat edilmiştir. H7 antiserumuyla aglutinasyon deseni Şekillenen tüplerdeki koloniler *E. coli* O157:H7 pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

Araştırmamızda marul örneklerinde *E. coli* O157:H7 bakterisinin var olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla 25 g örnek 225 ml MTSB (O157 Broth) ile homojenize edilerek 37±0,5°C' de 24 saatlik inkübasyon ile ön zenginleştirme yapılmıştır. İnkübasyon sonunda öze vasıtasıyla SMAC Agar (Sorbitol MacConkey Agar,) besiyerine geçilerek 35-37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. CT-SMAC agarda üreyip sorbitol negatif sonuç veren kolonilerden öze ile Fluorocult *E. coli* O157:H7 agara ekimleri yapılmıştır. Şüpheli görülen koloniler ise, indol içeren besiyerinde 35- 37°C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra üzerine 1 ml Kovaks ayracı dökülüp karıştırılarak doğrulama yoluna gidilmiştir.

E. coli O157:H7 identifikasyonu için aynı zamanda lam aglutinasyon, lateks aglutinasyon ve H7 tüp aglutinasyon testi uygulanmıştır. *E. coli* O157:H7 şüpheli olarak belirlenen kolonilere O157 antijeninin varlığının araştırılması amacıyla O157 lam aglutinasyon testi uygulanmıştır. Aglutinasyon ilk 1 dk sonunda şekillendiği için aglutinasyon oluşmayan veya hafif oluşan örnekler negatif olarak değerlendirilirken tam aglutinasyon şekillenenler pozitif olarak değerlendirilmiştir. *E. coli* O157 lam aglutinasyon testi ile O157 antijenine sahip olduğu belirlenen kolonileri desteklemek amacıyla *E. coli* O157 lateks aglutinasyon testi yapılmıştır. Aglutinasyon deseni veren numunelerin O157 serotipine ait olduğu doğrulanmıştır. Daha sonra, *E. coli* O157 olarak belirlenen kolonilerde *E. coli* O157:H7 varlığının incelenmesi amacıyla H7 antiserumuyla tüp aglutinasyon testi uygulanmıştır. H7 antiserumuyla aglutinasyon deseni şekillenen tüplerdeki koloniler *E. coli* O157:H7 pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan izolasyon ve identifikasyon prosedürleri sonucunda örnek alınan marulların tümünden toplam 17 (% 17) adet *E. coli* O157:H7 izole ve identifiye edilmiştir. *E. coli* O157:H7 patojenlerinin 12 (% 12) adedi semt pazarlarından alınan marul numunelerinden, 5 (% 5) adedi ise marketlerden alınmış olan marul numunelerinden elde edilmiştir.

Aydın ili çevresinde bulunan semt pazarlarından 50 adet ve marketlerden 50 adet olmak üzere alınan toplam 100 adet marul örneklerinden izole ve identifiye edilen *E. coli* O157:H7 sayıları dağılım olarak temelinde Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir. Örnek alınan marulların tümünden toplam 17 adet *E. coli* O157:H7 izole ve identifiye edilmiştir. *E. coli*

O157:H7 patojenlerinin 12 adedi semt pazarlarından alınan marul numunelerinden, 5 adedi ise marketlerden alınmış olan marul numunelerinden elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. Örnekleme yerleri ve örneklerdeki *E. coli* O157:H7 identifikasyon sayıları

Örnekleme yapılan yerler	Araştırmadaki marul örnekleri sayısı (adet)	<i>E. coli</i> O157:H7 identifikasyon sayıları	<i>E. coli</i> O157:H7 izolatlarının yüzde oranları (%)
Semt pazarları	100	12	12
Marketler		5	5
TOPLAM	100	17	17

Elde edilen bulgular doğrultusunda Aydın ilindeki semt pazarlarından alınan marul numunelerinde 12 (% 12) adet, marketlerden alınan numunelere 5 (% 5) adet *E. coli* O157:H7 identifikasyonu yapılmıştır. Semt pazarlarından yapılan identifikasyon oranının market identifikasyonlarından daha yüksek olduğu görülmektedir.

4. TARTIŞMA

Toplu tüketim için gerçekleştirilen üretimlerde hazırlama, nakledilme, depolama ve servis edilme aşamalarında çeşitli riskler bulunmakta ve dikkat edilemediği durumlarda kontaminasyona neden olmaktadır (Kaçar 2005). Birçok gıda, mikroorganizmaların üremeleri için çok uygun bir ortam oluşturduğundan dolayı, üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarda çeşitli kaynaklardan mikroorganizmalar bulaşabilmektedir. Risk faktörlerine dikkat edilmemesi sonucunda mikroorganizma bulaşmaları, gıda kaynaklı hastalıklara, zehirlenmelere ve ölümlere neden olmaktadır (Hampikyan ve ark 2008).

Ülkemiz, konumu ve coğrafi karakteri gereği tarıma açık alanlar ve ekilebilir arazilerin elverişli olması nedeniyle sebze ve meyve yetiştiriciliği açısından organik tarıma oldukça açıktır. Organik tarımın önemli dezavantajlarından biri de neden olabileceği sağlık problemleridir. Organik besinlerin insan sağlığına olan faydaları yanında üretimde gerekli dikkat ve kontrol sağlanmazsa çeşitli yollarla gıdalara bulaşan patojenler ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Organik tarımda gübreleme amacı ile hayvan gübresinin kullanımı eğer gübre doğru kompostlanmamış ise potansiyel mikrobiyolojik riskler sunmaktadır. Bunlar gıda maddelerini kontamine edebilmektedir. Konvansiyonel tarımda da hayvan gübresi kullanılmasına rağmen, organik tarımda yapay gübrelerin kullanımı yasaklandığı için hayvan gübresi kullanımı daha yaygındır (Winter ve ark 2006).

Doğal gübre kullanımı, sebzelerin *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* gibi insan patojenleri ile kontamine olmasına neden olabilmektedir. *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* hayvanların bağırsak sisteminde bulunabilmekte ve bu nedenle gübre olarak kullanılan hayvan dışkısında da görülebilmektedir. *L. monocytogenes* ise her yerde bulunabilen bir bakteridir; genellikle bitkilerde, toprakta ve hayvan dışkısında bulunmakta ve bunun bir sonucu olarak da tarla ve seralarda yetişen sebzeleri kontamine edebilmektedir (Loncarevic ve ark 2005).

Taze meyve ve sebzelerin mikroflorası değişken olmakla birlikte ağırlıklı olarak Gram negatif bakterileri içermektedir. Bakteri yükü bitkiden bitkiye değişebildiği gibi aynı bitkinin yaprakları arasında bile farklılık gösterebilmektedir. Bitki dokusunun mikrobiyel kontaminasyonu, büyük ölçüde, meyve veya sebzelerin yüzeyleri ile ilişkilidir. Bu nedenle en geniş yüzey alanına sahip olan yapraklı sebzeler en çok kontamine olanlar olarak kabul edilir

(De Roever 1998). Sebze ve meyvelerin iç dokusu genellikle steril olarak kabul edilir fakat yapılan bir çalışmada *E. coli* O157:H7'nin hayvan gübresi uygulanmış topraktan marula geçebileceği ortaya konmuştur. Aynı çalışmada *E. coli* O157:H7'nin kök sisteminden marula girebildiği ve yenilebilir kısımlara doğru göç edebildiği belirtilmiştir (Solomon ve ark 2002). Mukherjee ve ark (2004) yaptığı çalışmada marulun, taze meyve ve sebzeler arasından bakteriyel kontaminasyona en elverişli sebze olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* O157:H7'nin yol açtığı bir dizi salgının marul tüketimi ile ilişkilendirilmesinin yanı sıra Solomon ve arkadaşlarının (2002) yaptığı çalışma da gıda kaynaklı patojenlerin marul yapraklarının içine işleyebileceğini göstermiştir.

Üretim ortamında bitki ile temasa geçen her şey bir patojen kaynağı olma potansiyeline sahiptir. Patojenler, meyve ve sebzelere hasat öncesi ve sonrası çeşitli yollarla, çeşitli noktalarda bulaşabilmektedir. Hasat öncesi mikroorganizmaların potansiyel bulaşma yolları; toprak, dışkı, sulama suyu, mantar ve böcek ilacı uygulamasında kullanılan sular, toz, böcekler, yeterli kompostlanmamış hayvan gübreleri, vahşi ve evcil hayvanlar ve insanlardır. Hasat sonrası bulaşma yolları ise; dışkı, insanlar, hasat ekipmanları, taşıma konteynerleri, taşıma araçları ve işleme ekipmanlarıdır (Beuchat 2002). Dışkı ile kontamine olmamış toprak genellikle enterik mikroorganizmaların birincil kaynağı değildir. Ancak, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens* ve *B. cereus* fekal kontaminasyona uğramamış topraklardan izole edilebilmekte ve bu da taze sebzeler ile ilişkilendirilebilmektedir. Aynı şekilde, *L. monocytogenes*'in de çevrede her yerde bulunduğu kabul edilmektedir ve çürüyen bitki örtüsü ve toprak ile ilişkilendirilebilmektedir. Çoğu enterik patojen için nihai bulaşma kaynağı, hayvan veya insan dışkılarıdır. *Enterobacter* spp. ve *Klebsiella* spp. gibi fekal olmayan koliformlar ise toprak ve çürüyen bitki örtüsü ile bağlantılı olarak tespit edilebilmektedir (De Roever 1998).

Son yıllarda gıda kaynaklı salgınların artması; tüketicilerin, üretiminde hayvansal gübre kullanılan, doğal ve organik olarak yetiştirilen ürünleri tercih etmeleri ile ilişkilendirilmektedir. Örneğin, Mayıs 2011 tarihinde Almanya, WHO'ya ülkede bir Shiga-toxin üreten bir *E. coli* (STEC) suşu olan O104:H4 salgını olduğunu bildirmiştir. Salgında, 838 Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) vakası ve 3091 diyareli STEC vakası bildirilmiş ve hastalardan 47 tanesi hayatını yitirmiştir. *E. coli* O104:H4 suşunun en büyük bulaşma kaynağı inek, koyun, keçi, deve gibi çift tırnaklı hayvanların dışkıları ile bulaşmış gıdalardır. Yapılan araştırmalarda *E. coli* O104:H4'ün taze sebze filizlerinin tüketilmesi ile vücuda alındığı

ortaya çıkarılmıştır. Almanya'daki salgının Avrupa'da görülen en büyük, dünyada ise görülen ikinci büyük salgın olduğu bildirilmiştir. Yine Haziran 2011'de Fransa'da daha küçük çaplı bir salgın yaşanmış ve yapılan araştırmalar sonucunda bu salgına Almanya'dan ithal edilen *E. coli* O104:H4 ile kontamine olmuş bu otu filizlerinin neden olduğu açığa çıkmıştır (WHO 2010).

Kontaminasyonun yayılması hem sulamanın hem de ürünün türüne bağlıdır. Azami kontaminasyon genellikle mikroorganizmaların tutunmasını kolaylaştıran geniş yüzey alanına ve topografik özelliklere sahip yapraklı sebzelerle ilişkilidir. Yüksek bağıl nem, bakterilerin bitki yüzeyi üzerinde hayatta kalmasını ve yayılmasını desteklemektedir. Bakteriler yüzeye oldukça kuvvetli bir şekilde yapışmakta ve hassas yıkama ile kolayca ortadan kalkmamaktadırlar. Bitkiler ve kontamine olmuş suyun doğrudan teması olduğu sulama teknikleri kontaminasyon riskini artırmaktadır. Buna göre, sprey sulamanın, damla sulama veya tava taşıma ile sulama yöntemine göre kontaminasyonu artırması beklenebilmektedir. Sulama suyu, doğrudan lağım suyu ya da yeraltı akış suyu gibi kirlilik kaynakları ile kirlenebilmektedir. Örneğin, yağmurdan sonra hayvan ağıllarından gelen drenaj ve akış suları, sulama kaynaklarının kirlenmesine yol açabilmektedir (De Roever 1998).

Çiftliklerde kullanılan işlem görmemiş veya yetersiz işlem görmüş hayvan gübrelere ve hayvan gübresi karışmış yüzey suları patojenleri içerebilmekte ve ürünleri kontamine edebilmektedir. Yapılan çalışmalar, sığır dışkısında bulunan *E. coli* O157:H7'nin hayvan gübresinde 37°C'de 42-49 gün, 22°C'de 49-56 gün boyunca canlı kalabildiğini göstermiştir (Beuchat 2002).

Johannessen ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları çalışmada inorganik gübre, kompost, işlenmemiş gübre ve bulamaç ile gübreleme denemeleri yapılan organik marulların bakteriyolojik kalitesinde herhangi bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Farklı gübreler ile gübrelenmiş topraklarda ısıya dayanıklı koliform bakteri sayılarında önemli farklılıklar gözlemlenmiş, fakat bu farklılık organik marulların bakteriyolojik kalitesine yansımamıştır. Yine Johannessen ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada da *E. coli* O157:H7 hayvansal gübre uygulanmış toprak örneklerinin hepsinde görülürken, aynı toprakta organik olarak yetiştirilen marullarda ise tespit edilmemiştir. Bu marul örneklerinde fekal indikatör bakteri sayısı düşük bulunmuş ve hayvansal gübre uygulanmış toprak örneklerinin hepsinde de *E. coli* tespit edilmiştir. Çalışmamızda da semt pazarlarından alınan

numunelerden daha fazla miktarda (% 70) *E. coli* O157:H7 elde edilmesi, hayvansal gübreye maruz kalma hipotezini desteklemektedir.

Mukherjee ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan bir araştırmada organik örneklerin % 9.7'sinde ve konvansiyonel örneklerin % 1.6'sında *E. coli* tespit edilmiştir. Organik marullarda örneklerin yaklaşık % 22,4'ü *E. coli* pozitif bulunmuştur ve bu seviye, araştırmada kullanılan diğer örneklerden (yeşil yapraklı sebzelerden, kabaktan, domatesten, yeşil biberden, salatalıktan ve brokoliden) oldukça yüksektir. Beuchat (2002) ise yaptığı araştırmada hayvan gübresi ile kontamine olmuş marulda, 4°C'de 15 gün depolama sonunda *E. coli* O157:H7 varlığını tespit etmiştir. Çalışmamızda *E. coli* O157:H7 etkeni marullardan toplam % 17 oranında izole edilmiştir.

E. coli O157:H7'nin yol açtığı bir dizi salgının marul tüketimi ile ilişkilendirilmesinin yanı sıra son zamanlarda yapılan bir çalışmada gıda kaynaklı patojenlerin marul yapraklarının içine işleyebileceğini göstermiştir (Solomon ve ark 2002). Bu çalışmada *E. coli* O157:H7'nin kontamine olmuş hayvan gübresi ve sulama suyu uygulanmış topraktan marul yapraklarının alt dokularına geçebileceği tespit edilmiştir. Araştırmamızda marul örnekleri toplam % 17 oranında *E. coli* O157:H7 bakımından pozitifdir.

5. SONUÇ

Bu çalışma ile Aydın ilinde bulunan semt pazarları ve marketlerden alınan marul numunelerinde ilk kez *E. coli* O157:H7 varlığı araştırılmış ve etkenin izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır.

Araştırmamızda semt pazarlarından ve marketlerden alınan marul numunelerinde toplamda 100 adet numuneden 17 (% 17) adet *E. coli* O157:H7 suşu izole ve identifiye edilmiştir. İdentifiye edilen *E. coli* O157:H7 suşlarından 12 (% 12) adedi semt pazarlarından alınan numunelerden, 5 (% 5) adedi ise marketlerden alınan numunelerden elde edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre *E. coli* O157:H7 prevalansının semt pazarlarından alınan sebzelerde daha yüksek oluşu, ürünlerin fekal kontaminasyona daha müsait olduğu fikrini destekler niteliktedir. Araştırmamıza konu olan çiğ marullara bulaşabilecek *E. coli* O157:H7 patojenlerinin bulaşma riskini azaltmak için; gübrede bulaşma seviyelerini düşürmek amacıyla hayvancılık uygulamalarında iyileştirmeler yapılması önerilebilir. Örnek olarak hayvanların beslenme rejimleri (yüksek diyetli yem alımı), yetiştirme sistemleri (yatak yeri, stoklama yoğunluğu), cins seçimi (örneğin sağlam ve adapte ırklar), sağlık yönetimi (en stratejik antibiyotik kullanımı) değiştirilebilir. Sulama suyunun fekal materyalle bulaşma riskini ortadan kaldırmak için dış alan hayvancılığı optimize edilebilir. Hayvanları, marulların dikiminden en az 9 ay önce üretim alanlarından uzaklaştırılması sağlanabilir. Bulaşma riski yüksek olan sebzeler için hayvan gübrelere kontrollü kompostlama yapılması bu riski büyük ölçüde azaltmaktadır. Toprakta yüksek biyolojik aktivite ve yapısal kararlılık elde etmek için düzenli organik madde ve yeşil gübre girdisi sağlanabilir; uzun rotasyon uygulamaları tercih edilebilir. Hayvansal gübrelere marulların dikiminden 6 ay önce uygulanması da bulaşma riskinde önemli bir azalma sağlamaktadır. Yabancı ot ayıklama ve hasatta kullanılan ekipmanların dışkı ile kontamine olmamasına ve lağım veya hayvan gübresi ile bulaşma riski olan suların sulama suyu olarak kullanılmamasına dikkat edilmelidir. Sulama suyu olarak kullanılan suların mikrobiyolojik kalitesi düzenli olarak kontrol edilerek de sudan kaynaklanabilecek bulaşmaların önüne geçilebilir.

ÖZET

Escherichia coli O157:H7 halk sağlığı için önem taşıyan gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalardan biridir. Bu çalışma ile Aydın ilinde bulunan semt pazarları ve marketlerden alınan marul numunelerinde ilk kez *E. coli* O157:H7 varlığı araştırılmış ve etkenin izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır. Böylelikle sözkonusu patojenin yaygınlığı ve kontaminasyon durumu ve tayini ile benzer iklime sahip olan Türkiye'nin birçok bölgesi için çok önemli bir veri kaynağı oluşturulması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan taze marul örnekleri Aydın ilinde bulunan semt pazarlarından ve marketlerden 100 adet satın alınarak toplanmıştır. Toplanan numuneler, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına soğuk zincirde getirilmiştir.

Marul örneklerinde *E. coli* O157:H7 bakterisinin var olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla 25 g örnek 225 ml MTSB (O157 Broth) ile homojenize edilerek $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ' de 24 saatlik inkübasyon ile ön zenginleştirme yapılmıştır. Inkübasyon sonunda öze vasıtasıyla SMAC Agar (Sorbitol MacConkey Agar,) besiyerine geçilerek $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. CT-SMAC agarda üreyip sorbitol negatif sonuç veren kolonilerden öze ile Fluorocult *E. coli* O157:H7 agara ekimleri yapılmıştır. Şüpheli görülen koloniler ise, indol içeren besiyerinde $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübasyondan sonra üzerine 1 ml Kovaks ayracı dökülüp karıştırılarak doğrulama yoluna gidilmiştir. Doğrulama için aynı zamanda lateks aglütinasyon testi ile de yapılmıştır.

Yapılan izolasyon ve identifikasyon prosedürleri sonucunda örnek alınan marulların tümünden toplam 17 (% 17) adet *E. coli* O157:H7 izole ve identifiye edilmiştir. *E. coli* O157:H7 patojenlerinin 12 (% 12) adedi semt pazarlarından alınan marul numunelerinden, 5 (% 5) adedi ise marketlerden alınmış olan marul numunelerinden elde edilmiştir. Alınan sonuçlara göre semt pazarlarından ve marketlerden temin edilen marulların *E. coli* O157:H7 varlığı açısından risk teşkil ettiği ve bu konu çerçevesinde gübreleme, yetiştirme, sulama ve depolama noktalarında kontaminasyonu önleyici tedbirlerin alınması gerektiği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *E. coli* O157:H7, marul, identifikasyon, kontaminasyon

SUMMARY

Escherichia coli O157:H7 is one of important foodborne pathogens for public health. In this study, the presence of *E. coli* O157:H7 in the lettuce samples taken from neighborhood markets and supermarkets were investigated, isolation and identification of the agent were made. Hence, data of the prevalence and contamination status of the subjected pathogen for other regions of Turkey which have similar climate conditions was also aimed.

The fresh lettuce samples investigated in this study were collected 100 pieces from neighborhood markets and supermarkets. The collected samples were brought to Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Department of Microbiology Laboratory in cold chain.

25 g of lettuce was homogenized in 225 ml of mTSB and incubated for pre-enrichment at $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ for 24 h in order to detect *E. coli* O157:H7 bacteria. At the end of incubation period, the samples were inoculated to SMAC Agar (Sorbitol MacConkey Agar,) medium and incubated at $35-37^{\circ}\text{C}$ for 18-24 h. The colonies that grew on CT-SMAC agar and sorbitol negative ones were inoculated to Fluorocult *E. coli* O157:H7 agar. The susceptible colonies were examined with pouring 1 ml of Kovacs reagent for confirmation. Latex agglutination tests were made for confirmation also.

As a result of isolation and identification procedures, 17 (17 %) *E. coli* O157:H7 strains were identified from collected lettuce samples. 12 (12 %) of the samples were detected from the samples of neighborhood markets and 5 (5 %) of the samples were detected from the samples of supermarkets. According to results, it is pointed that the lettuce obtained from neighborhood markets and supermarkets carry a risk for presence of *E. coli* O157:H7, and it is seen that preventive precautions have to be performed for fertilizing, harvesting, watering and storing points.

Keywords: *E. coli* O157:H7, lettuce, identification, contamination

KAYNAKLAR

Abadias M, Alegre I, Oliveira M, Altisent R, Vinas I. Growth potential of *Escherichia coli* O157 H7 on fresh-cut fruits (melon and pineapple) and (carrot and escarole) stored under different conditions. *Food Control* 2012; 27: 37-44.

Abdul-Raouf UM, Beuchat LR, Ammar MS. Survival and growth of *Escherichia coli* O157 H7 on salad vegetables. *Applied and Environmental Microbiology* 1993; 59:1999-2006.

Albihn A, Eriksson E, Wallen C, Aspán A. Verotoxinogenic *Escherichia coli* (VTEC) O157:H7 – A Nationwide Swedish Survey of Bovine Faeces. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2003; 44: 43-52

Alonzo AG, Mirasol CB, Estrada AMP, Lopez GAA, Nery JGB, Villafior EJB. Microbiology of retail mung bean sprouts vended in public markets of national capital region, Philippines. *Food Control* 2007; 18: 107-1313.

Aruscavage D, Lee K, Miller S, Lejeune JT. Interactions affecting the proliferation and control of human pathogens on edible plants. *Journal of Food Science* 2006;71: 89-99.

Bankole HS, Dougnon VT, Johnson RC, Dougnon TJ, Yehouenou B, Koungblenou S, Agonsa M, Legonou M, Dadie T, Moussa LB. Assesment of the Contamination of Some Foodstuffs by *Escherichia coli* O157 H7 in Benin. *West Africa International Journal of Microbiology* 2014; 1-8.

Berger CN, Sodha SM, Shaw RK, Griffin PM, Pink D, Hand P, Frankel G. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology* 2010; 12(9): 2385-2397.

Bertin Y, Girardeau JP, Harel J, Martin V. Analysis of physiology of *Escherichia coli* O157:H7 in bovine digestive content by transcriptomic profiling. An international conference organised by ProSafeBeef, March 25th to 26th 2009, Dublin, Advancing Beef Safety through Research and Innovation, p: 31-34.

Beuchat L. Ecological Factors Influencing Survival And Growth Of Human Pathogens On Raw Fruits And Vegetables. *Microbes and Infection* 2002; 4:413–423.

Bezanson G, Delaquis P, Bach S, Mc Kellar R, Topp E, Gill A, Blais B, Gilmour M. Comparative Examination of *Escherichia coli* O157 H7 survival on romaine lettuce and in soil at two independent experimental sites. *Journal of Protection* 2012; 75(3): 480-487.

Bolton DJ, Ennis C, Brain Byrne, Monaghan A. Serogroups and virulence genes in verocytotoxigenic *Escherichia coli* on beef farms and in the beef abattoir. An international conference organised by ProSafeBeef, March 25th to 26th 2009, Dublin, Advancing Beef Safety through Research and Innovation, p: 59.

Burgess CM, Parker C, Huynh S, Mandrell R, Duffy G. Prophage gene deletion identified in verocytotoxigenic *E. coli* isolated from the Irish beef chain. An international conference organised by ProSafeBeef, March 25th to 26th 2009, Dublin, Advancing Beef Safety through Research and Innovation, p: 75.

Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research* 2005; 36 (3): 289-311.

Chang WS, Afsah-Hejri L, Rukayadi Y, Khatib A, Lye Y, Loo YY, Mohd Shahril N, Puspanadan S, Kuan CH, Goh CG, John YHT, Nakaguchi Y, Nishibuchi M, Son R. Quantification of *Escherichia coli* O157 H7 in organic vegetables and chicken. *International Food Research Journal* 2013; 20(2): 1023-1029.

Chapman PA, Siddons A, Wright DJ, Norman P, Fox J, Crick E. Cattle as a possible source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 H7 infections in man. *Epidemiology of Infection* 1993; 111: 439-447.

Chaudry MA, Bibi N, Khan M, Khan M, Badshah A, Qureshi MJ. Irradiation treatment of minimally processed carrots for ensuring microbiological safety. *Radiation Physics and Chemistry* 2004; 71: 169–173.

Chinyu S, Brandt LJ. *Escherichia coli* O157: H7 infection in humans. *Annals of Internal Medicine* 1995; 123 (9): 698-707.

Cleary TG. The role of Shiga-toxin-producing in hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases* 2004; 15 (4): 260-265.

Cooley MB, Chao D, Mandrell RE. *Escherichia coli* O157 H7 survival and growth on lettuce is altered by the presence of epiphytic bacteria. *Journal of Food Protection* 2006; 69: 2329-2335.

Cooley M, Caryhao D, Crawford-Miksza L, Jay MT, Myers C, Rose C, Keys C, Farrar J, Mandrell RE. Incidence and Tracking of *Escherichia coli* O157 H7 in a Major Production Region in California 2007; 11:1159.

Couzin J. Cattle diet linked to bacterial growth. *Science* 1998; 281: 1578-1579.

Dallaire R, Vasseur L, Leblanc DI, Tranchant CC, Delaguis P. A methodological approach for assessing the microbial contamination of fresh produce from harvest to retail. *Food Protection Trends* 2006; 2: 218-225.

De Boer E, Heuvelink AE. Methods for the detection and isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Society For Applied Microbiology Symposium Series* 2000; 29:133-143.

De Roever C. Microbiological Safety Evaluations And Recommendations On Fresh Produce. *Food Control* 1998; 9(6):321-347.

Diez-Gonzalez F, Callaway TR, Kizoulis M.G, Russell JB. Grain feeding and the dissemination of acid-resistant *Escherichia coli* from cattle. *Science* 1998; 281: 1666–1668.

Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied Environmental Microbiology* 1987; 53 (10): 2394-2396.

Dunn JR. The epidemiology of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Louisiana dairy cattle, beef cattle, and white-tailed deer. Ph.D. Thesis, Louisiana State University, Baton Rouge, 2003.

EC (European Commission) Health and Consumer Protection Directorate-General. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health on Verotoxigenic *E. coli* (VTEC) in foodstuffs 2003; Erişim: [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out58_en.pdf], Erişim Tarihi: 09.03.2015.

Engels C, Weiss A, Carle R, Schmidt H, Schieber A, Ganzle MG. Effect gallotannin treatment, growth and survival of *Escherichia coli* O157 H7 and *Listeria monocytogenes* on spinach and lettuce. *European Food Research Technology* 2012; 234: 1081-1090.

Erdoğan H, Erdoğan A, Levent B, Kayalı R, Arslan H. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7: case report. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2008; 50 (5): 488-491.

Fairbrother JM, Nadeau É. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals, *Revue scientifique et technique-Office International des Epizooties* 2006; 25 (2): 571-580.

Francis GA, O'Beirne D. Effects of vegetable type, package atmosphere and storage temperature on growth survival of *Escherichia coli* O157 H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Microbiology and Biotechnology* 2001; 27:111-116.

Genereux M, Grenier M, Cote C. Persistence of *Escherichia coli* following irrigation of strawberry grown under four production systems: Field experiment. *Food Control* 2015; 47: 103-107.

Gomez-Lopez V, Gil MI, Pupunat L, Allende A. Cross- contamination of *Escherichia coli* O157 H7 is inhibited by electrolyzed water combined with salt under dynamic conditions of increasing organic matter. *Food Microbiology* 2015; 46: 471-478.

Gündüz TG. Engelleme Teknolojisinin Sebzelede Patojen İnaktivasyonu ve Raf Ömrü Açısından Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, 2008.

Hadjilouka A, Mantzourani KS, Katsarou A, Cavaiuolo M, Ferrante A, Paramithiotis S, Matarages M, Drosinos EH. Estimation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 H7 prevalence and levels naturally contaminated rocket and cucumber samples by deterministic and stochastic approaches. *Journal of Food Protection* 2015; 2: 311-322.

Halkman AK, Noveir MR, Doğan HB. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sim Matbaacılık Ltd. şti., Ankara, 2001.

Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H, Akhan M. Determination of microbiological quality of some grilled food, salad and appetizers. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2008; 38 (2): 87-94.

Hilborn ED, Jonathan H, Mermin H, Patricia A, Mshar PA, James L, Hadler JL, Voetsch A, Wojtkunski C, Swartz M, Mshar R, Lambert-Fair MA, Farrar JA, Glynn MK, Slutsker L. A Multistate Outbreak *Escherichia coli* O157 H7 Infections Associated with Consumption of Mesculun Lettuce. *Archives of Internal Medicine* 1999; 59: 1758-1764.

Hussein HS, Omaye ST. Introduction to the Food Safety Concerns of Verotoxin-Producing *Escherichia coli*, *Experimental Biology and Medicine* 2003; 228: 331-332.

Hussein HS, Bollinger LM. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef, *Meat Science* 2005; 71 (4):676-689.

ILSI (International Life Sciences Institute). Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). 2001, Erişim: [http://www.ilsa.org/Europe/Publications/R2001App_Con.pdf], Erişim Tarihi: 20.04.2015

Islam M, Doyle MP, Phatak SC, Milner P, Jiang X. Survival of *Escherichia coli* O157 H7 in soil and carrots and onions grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Food Microbiology* 2005; 22:63-70.

Iwasa M, Makino S, Asakura H, Kobori H, Morimoto Y. Detection of *Escherichia coli* O157 H7 from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) at a cattle farm in Japan. *J. Med. Entomol.* 1999; 36:108-112.

Janisiewicz WJ, Conway WS, Brown MW, Sapers GM, Fratamico P, Buchanan RL. Fate of *Escherichia coli* O157 H7 on Fresh-Cut Apple Tissue and Its Potential for Transmission by Fruit Flies. *Applied and Environmental Microbiology* 1998; 1-5.

Johannessen GS, Loncarevic S, Kruse H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *International Journal of Food Microbiology* 2002; 77: 199– 204.

Johannessen G, Frøseth R, Solemdal L, Jarp J, Wasteson Y, Rørvik L. Influence of Bovine Manure as Fertilizer on The Bacteriological Quality of Organic Iceberg Lettuce. *Journal of Applied Microbiology* 2004; 96:787–794.

Johannessen G, Bengtsson G, Heier B, Bredholt S, Wasteson Y, Rørvik L. Potential Uptake of *Escherichia coli* O157:H7 from Organic Manure into Crisphead Lettuce. *Applied and Environmental Microbiology* 2005; 2221–2225.

Kaçar O. Çeşitli Hazır Gıdalarda Bulunan Patojenik Mikroorganizmaların Belirlenmesi. Y.Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2005.

Kaper JB, Karmali MA. *The continuing evolution of a bacterial pathogen*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008; 105 (12): 4535-4536.

Karagözlü N, Ergönül B, Özcan D. Determination of antimicrobial effect of mint and basil essential oils on survival of *Escherichia coli* O157 H7 and *S. typhimurinum* in fresh-cut lettuce and purslane. *Food Control* 2011; 22: 1851-1855.

- Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine, *International Journal of Medical Microbiology* 2005; 295 (6-7): 405-418.
- Khadre MA, Yousef AE, Kim JG. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food. *Journal of Food Science* 2001; 66(9): 1242-1252.
- Khanna R, Waechter L, Sargeant J, Clark WF, Garg AX. Environmental prevention of human disease from verocytotoxin-producing *Escherichia coli*, *Nephrology Dialysis Transplantation* 2008; 23 (6): 1819-1822.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology (fifth edition), Eds Andrew Allen, 1307-1371, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997.
- Kudva IT, Fry NK, Jelacic S, Tarr PI, Yoderian P, Hovde CJ. Biocontrol of *Escherichia coli* O157 H7 with O 157 Specific Bacteriophages. *Appl. Envr. Mic.* 1999; 65(9):3767-3773.
- Law D. Virulence factors of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. *Journal of Applied Microbiology* 2000; 88 (5): 729-745 .
- Leverentz B, Conway, WS, Alavidze Z, Jan-isiewicz WJ, Fuchs Y, Camp MJ, Chigh-ladze E, Sulakvelidze A. Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh-cut fruit: a model study. *Journal of Food Protection* 2001; 64:1116–1121.
- Levinson W. *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*. Ankara: Öncü Basımevi, 2008; 136-140.
- Loncarevic S, Johannessen G, Rørvik L. Bacteriological Quality Of Organically Grown Leaf Lettuce in Norway. *Letters in Applied Microbiology* 2005; 41: 186–189.
- Luo Y, He Q, McEvoy JL. Effects of Storage Temperature and Duration on the Behavior of *Escherichia coli* O157 H7 on Packaged Fresh-Cut Salad Containing Romaine and Iceberg Lettuce. *Journal of Food Science* 2010; 75(7): 390-397.
- Mainil J. Shiga/Verocytotoxins and Shiga/Verotoxigenic *Escherichia coli* in Animals, *Veterinary Research* 1999; 30(2-3): 235-257.
- Mainil J. Verotoxigenic *Escherichia coli* from animals, humans and foods: who's who? *Journal of Applied Microbiology* 2005; 98 (6): 1332-1344.
- March SB, Ratnam SJ. Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157. *Journal of Clinical Microbiology* 1989; 27 (7): 1675–1677.
- McKellar RC, LeBlanc DI, Lu J, Delaquis P. Simulation of *Escherichia coli* O157 H7 in fresh-cut lettuce under dynamic temperature conditions during distribution from processing to retail. *Foodborne Pathogens and Disease* 2012; 9(3): 239-244.
- McKellar RC, LeBlanc DI, Rodriguez FP, Delaquis P. Comparative simulation of *Escherichia coli* O157 H7 behaviour in packed fresh-cut lettuce distributed in a typical Canadian supply chain in the summer and winter. *Food Control* 2014; 35:192-199.

- Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7 The Lancet 1998; 352 (9135):1207-1212.
- Meng J, Doyle MP. Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. Bulletin Institute of Pasteur 1998; 96: 151-154.
- Millan-Sango D, McElhatton A, Valmadris VP. Determination of the efficacy of ultrasound in combination with essential oil oregano for the decontamination of *Escherichia coli* on inoculated lettuce leaves. Food Research International 2015; 67: 145-154.
- Mora A, Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, López C, Justel P, Alonso MP, Echeita A, Bernárdez MI, González EA, Blanco J. Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from minced beef in Lugo (Spain) from 1995 through 2003, BMC Microbiology 2007; 7: 13.
- Mukherjee A, Speh D, Dyck E, Diez-Gonzales F. Preharvest Evaluation Of Coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella* And *Escherichia coli* O157:H7 In Organic And Conventional Produce Grown By Minnesota Farmers. Journal of Food Protection 2004; 67:894–900.
- Mukherjee A, Cho S, Scheftel J, Jawahir S, Smith and Diez-Gonzalez F. Soil survival of *Escherichia coli* O157 H7 acquired by a child from garden soil recently with cattle manure. Journal of Applied Microbiology 2006;101:429-436.
- Nataro JP, Kaper JB. *Diarrheagenic Escherichia coli*, Clinical Microbiology Reviews 1998; 11 (1): 142–201.
- Öğüt S, Polat M. Bazı Beş Yıldızlı Otellerde Hazırlanan Gıdaların Mikrobiyolojik Açından Değerlendirilmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yaşam Dergisi 2009; (2): 12-16.
- Oliveira M, Vinas I, Anguera M, Abadias M. Fate of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 H7 in the presence of natural background microbiota on conventional and organic lettuce. Food Control 2012; 25: 678-683.
- Özkuyumcu C. Mikrobiyoloji Serisi-1 Klinik Bakteriyoloji El Kitabı. Ankara: Ayrıntı Basımevi sayfa:112-121, 2009.
- Prakash A, Inthajak P, Huibregtse H, Caporaso F, Foley DM. Effects of low-dose gamma irradiation and conventional treatments on shelf life and quality characteristics of diced celery. Journal of Food Science 2000; 65(6): 1070-1075
- Reilly A. Prevention and control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections: memorandum from a WHO meeting. WHO Consultation on Prevention and Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Infections, Bulletin of the World Health Organization 1998; 76 (3): 245–255.
- Rocchi G, Capozzi M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection, Recenti Prog Med 1999; 90 (11): 613-618.
- Rosas CJ, Escartin EF. Survival and growth of *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* O157 H7 in alfalfa sprouts. Journal of Food Science 2000; 65: 162-165.

Sakazaki R. Serotyping of diarrheagenic *E. coli*. Media Circle 1992; 34: 117.

Schlundt J, Toyofuku H, Jansen J, Herbst SA. Emerging food-borne zoonoses, Revue Scientifique et Technique - Office International des Épizooties 2004; 23 (2): 513-533.

Semenov AV, Overbeek L, Bruggen AHC. Percolation and Survival of *Escherichia coli* O157 H7 and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurinum in Soil Amended with Contaminated Dairy Manure or Slurry. Applied and Environmental Microbiology 2009; 75(10):3206- 3215.

Seow J, Agoston R, Phus L, Yuk H. Microbiological quality of fresh vegetables and fruits sold in Singapore. Food Control 2012; 25: 39-44.

Shenge KC, Whong CMZ, Yakubu LL, Omelehin RA, Erbaugh JM, Miller SA, Lejeune JT. Contamination of Tomatoes with Coliforms and *Escherichia coli* on Farms and Markets of Northwest Nigeria. Journal of Food Production 2015; 8: 57-64.

Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Stroshine RL. Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli* O157 H7 on Lettuce and Baby Carrots. Food Science and Technology 2002; 35: 720-729.

Solomon E, Yaron S, Matthews K. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 From Contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue And Its Subsequent Internalization. Applied Environmental Microbiology 2002; 68:397– 400.

Szabo RA, Todd ECD, Jean A. A method to isolate *Escherichia coli* O157:H7 from food, Journal of Food Protection 1986; 49: 768-772.

Talley JL, Wayadande AC, Wasala LP, Gerry AC, Fletscher J, DeSilva U, Gilliland SE. Association of *Escherichia coli* O157 H7 with filth flies (Muscidae and Calliphoridae) captured in leafy greens fields and experimental transmission of *Escherichia coli* O157 H7 to spinach leaves by house flies (Diptera: Muscidae). Journal of Food Protection 2009; 72: 1547-1552.

Tarr PI, Gordon C, Chandler W. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome, The Lancet 2005; 365 (9464): 1073-1086.

Thomas KM, McCann MS, Logan A, Whyte P, McDowell DA, Duffy G. Tracking verocytotoxigenic *Escherichia coli* (O157, O111, O26, O103 and O145) in the beef chain, An international conference organised by ProSafeBeef, March 25th to 26th 2009, Dublin, Advancing Beef Safety through Research and Innovation, p: 91.

Törnük F, Dertli E. Decontamination of *Escherichia coli* O157 H7 and *Staphylococcus aureus* from fresh-cut parsley with natural plant hydrosols. Journal of Food Processing and Preservation 2014; 1-8.

Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Öncü Basımevi; Sayfa:470-485, 1999.

Varma JK, Greene KD, Reller ME, DeLong SM, Trottier J, Nowicki SF, DiOrion M, Koch EM, Bannerman TL, York ST, Lambert-Fair MA, Wells JG, Mead PS. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building, *The Journal of the American Medical Association* 2003; 290 (20): 2709-2712.

Vernozy-Rozand C. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and other Verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC) in food. *Journal of Applied Microbiology* 1997; 82: 537-551.

Walker CE. *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle: prevalence in gut contents at slaughter and the effect of neomycin supplementation in feed on fecal shedding in experimentally inoculated cattle. Master's Thesis, Kansas State University, Kansas 2008.

Wang G, Doyle MP. Survival of Enterohemorrhagic *E.coli* O157 H7 in Water. *Journal of Food Protection* 1998; 61(6): 662-667.

Wang J, Oh DH. Effect of temperature and relative humidity on growth behaviour of *Escherichia coli* O157 H7 on spanish using response surface methodology. *Journal of Food Safety* 2012; 32: 296-304.

Wasteson Y. Zoonotic *Escherichia coli*. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2002; 43 (1): 79-84.

Weagant SD, Bryant JL, Jinneman KG. *An improved rapid technique for isolation of Escherichia coli O157:H7 from foods*, *Journal of Food Protection* 1995; 58 (1): 7-12.

WHO (World Health Organization). Public Health Review of the Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* Outbreak in Germany, 10.06.2011. World Health Organization, Danimarka. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0009/144981/EHEC_outbreak_10_June_2010.pdf Erişim Tarihi: 28.05.2015.

Wick LM, Qi W, Lacher DW, Whittam TS. Evolution of genomic content in the stepwise emergence of *Escherichia coli* O157:H7, *Journal of Bacteriology* 2005; 187 (5): 1783-1791.

Wilson JB, Clarke RC, Renwick SA, Rahn K, Johnson RP, Karmali MA, Lior H, Alves D, Gyles CL, Sandhu KS, McEwen SA, Spika JS. Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* infection in dairy farm families. *The Journal of Infectious Diseases* 1996; 174 (5):1021-1027.

Winter C, Davis S. Organic Foods. *Journal Of Food Science* 2006; 71(9):117-124.

Yoon JW, Hovde CJ. All blood, No stool: enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection, *Journal of Veterinary Science* 2008; 9 (3): 219-231.

Yücel PK, Halkman HBD. Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzelerin Işınlama ile Kalitesinin Arttırılması, X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi 2009; 291-301.

Zeng W, Vorst K, Brown W, Marks B, Sanghyup J, Perez-Rodríguez F, Ryser ET. Growth *Escherichia coli* O157 H7 and *Listeria monocytogenes* in packaged fresh-cut romaine mix at fluctuating temperatures during commercial transport retail storage and display. *Journal of Food Protection* 2014; 77(2): 197-206.

Zilelidou EA, Tsourou V, Poimenidou S, Loukou A. Modeling transfer of *Escherichia coli* O157 H7 and *Listeria monocytogenes* during preparation of fresh-cut salads: Impact of cutting and shredding practices. *Food Microbiology* 2015; 45: 254-265.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Gümüşhane’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 1997 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nü kazandı. 2001 yılında aynı bölümden mezun oldu. 2003 yılında Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı, Bakteriyoloji Alanında Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve 2007 yılında öğrenimini tamamladı. 2007-2015 yılları arasında Türkiye Tarım Kredi Kooperatifleri İzmir Bölge Birliği’ne bağlı birim kooperatiflerde Ziraat Mühendisi olarak görev yaptı. 2011-2012 Bahar yarıyılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora öğrenimine başladı. İngilizce bilmektedir. Evli ve iki çocuk annesidir.

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim, tez konusunun seçimi ve tez çalışmalarımın yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Osman KAYA'ya, tez çalışmalarımın önemli destek, katkı ve yardımları olan Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyeleri ve Araştırma görevlilerine, tez çalışmalarım süresince manevi desteklerini esirgemeyen ailemin tüm bireyelerine teşekkür ederim.