

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ISPARTA İLİ ÇEVRESİNDEKİ SU KAYNAKLARINDA *Escherichia coli*  
DÜZEYİNİN VE PATOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ

Ebru Sedef KAPLAN

Danışman  
Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
ISPARTA - 2017



© 2017 [Ebru Sedef KAPLAN]

**TEZ ONAYI**

Ebru Sedef KAPLAN tarafından hazırlanan "Isparta İli Çevresindeki Su Kaynaklarında *E. coli* Düzeyinin ve Patotiplerinin Belirlenmesi " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

**Danışman**                      **Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI**  
Süleyman Demirel Üniversitesi



**Jüri Üyesi**                      **Prof. Dr. Bayram ÇEVİK**  
Süleyman Demirel Üniversitesi



**Jüri Üyesi**                      **Doç. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ**  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



**Enstitü Müdürü**              **Prof. Dr. Yasin TUNCER** .....

**TAAHHÜTNAME**

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

**Ebru Sedef KAPLAN**



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	İ
ÖZET.....	İİİ
ABSTRACT.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	VIII
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	3
2.1. Isparta İli İçme Suyu Kaynakları .....	3
2.2. İçme Sularında Kalite .....	5
2.3. İndikatör Mikroorganizmaların Aranmasında Kullanılan Yöntemler .....	6
2.3.1. En muhtemel sayı yöntemi.....	7
2.3.2. Membran filtrasyon yöntemi.....	7
2.3.3. Moleküler yöntemler.....	8
2.3.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu.....	9
2.4. <i>Escherichia coli</i> ve Su Kalitesi.....	9
2.5. <i>Escherichia coli</i> Patotipleri.....	10
2.5.1. Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.5.2. Enterohemorajik ve diğer shiga toksin üreten <i>Escherichia coli</i> .....	13
2.5.3. Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i> .....	14
2.5.4. Enteroinvazif <i>Escherichia coli</i> ve <i>Shigella</i> .....	16
2.5.5. Enteroaggregatif <i>Escherichia coli</i> .....	19
2.5.6. Üropatojenik <i>Escherichia coli</i> .....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	22
3.1. Materyal .....	22
3.1.1. Bakteri kültürleri .....	22
3.1.2. Primer dizaynı .....	22
3.1.3. DNA izolasyonu.....	23
3.1.4. Gerçek zamanlı PZR .....	23
3.1.5. RFLP analizi .....	23
3.1.6. Jel elektroforez .....	23
3.2. Yöntem .....	23
3.2.1. Su örneklerinin toplanması .....	23
3.2.2. Su örneklerinin mikrobiyolojik sayımları .....	25
3.2.3. Doğrulama testleri.....	25
3.2.3.1. Oksidaz testi.....	25
3.2.3.2. $\beta$ -Glukuronidaz ve indol testi.....	26
3.2.4. Mikrobiyolojik değerlendirme .....	26
3.2.5. İzolatların muhafazası .....	26
3.2.6. DNA izolasyonu.....	27
3.2.7. Gerçek zamanlı PZR .....	28
3.2.8. RFLP analizi .....	28

3.2.9. Jel elektroforez analizi .....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	30
4.1. Fekal ve Toplam Koliform Sayım Sonuçları .....	30
4.2. Doğrulama Testlerinin Sonuçları .....	45
4.3. Gerçek Zamanlı PZR Bulguları .....	52
4.3.1. ETEC (Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i> ) tespiti .....	53
4.3.2. EPEC (Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i> ) tespiti .....	55
4.3.3. EIEC (Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i> ) tespiti .....	58
4.3.4. VTEC (Verotoksijenik <i>Escherichia coli</i> ) tespiti .....	59
4.3.5. Referans suşların gerçek zamanlı PZR sonuçları .....	65
4.4. RFLP ve jel elektroforez bulguları .....	66
4.5. RFLP sonucu oluşan bantların molekül ağırlıkları .....	68
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	72
KAYNAKLAR .....	74
EKLER .....	84
EK A. Haritalar .....	85
EK B. Çizelgeler .....	86
EK C. Fotoğraflar .....	100
ÖZGEÇMİŞ .....	103

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ISPARTA İLİ ÇEVRESİNDEKİ SU KAYNAKLARINDA *Escherichia coli* DÜZEYİNİN VE PATOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ

Ebru Sedef KAPLAN

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI

Bu tez çalışmasında Isparta ili çevresinde bulunan su kaynaklarından farklı aylarda toplam 57 adet su örneği alınmıştır. Alınan su örneklerinin toplam ve fekal koliform düzeyleri belirlenmiştir. Analiz sonucuna göre numune alınan su kaynaklarının tamamının toplam koliform sayısına göre 2. sınıf su kalitesine sahip oldukları belirlenmiştir. Yine aynı su kaynaklarının fekal koliform sayısına göre 2. ve 3. sınıf su kaynakları oldukları belirlenmiştir.

Toplam ve fekal koliform sayımından sonra seçilen tipik *Escherichia coli* kolonileri ile doğrulama testleri yapılmıştır. Alınan su örneklerinden izole edilen 397 adet tipik koloninin 55 adedi *E. coli* olarak doğrulanmıştır. Bunların 151 adedi ise koliform grubu bakteri olarak belirlenmiştir.

*E. coli* olduğu saptanan suşlara gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu yapılarak patojenik genleri belirlenmiştir. Yapılan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu analizi çalışmalarının sonucunda izole edilen *E. coli* suşların %29,2'sinin enteropatojenik *E. coli* patotipi olduğu, %14,5'inin verotoksijenik *E. coli* patotipi olduğu, %1,8'inin enteroinvazif *E. coli* patotipi olduğu belirlenmiştir. Analizi yapılan suşlardan %54,5'inde incelenen gen bölgelerinden hiçbirine rastlanmamıştır. *E. coli* suşlarının patotipleri belirlendikten sonra sınırlayıcı enzim parça uzunluk çeşitliliği (RFLP) yöntemi ile suşlar arasındaki moleküler farklılıklar belirlenmiştir.

Gerçek zamanlı PZR analizi sonrası yapılan RFLP analizi sonucunda izolatların suş düzeyinde karşılaştırılmaları yapılmıştır. Buna göre patotipler arasında suş düzeyinde benzerlik gösteren izolatların oranı %7,4 olarak bulunmuştur. Patotip olmayan diğer suşlar arasında ise suş düzeyindeki benzerlik oranı %53,6 olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Isparta, *E. coli*, koliform grup, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

2017, 103 sayfa

## ABSTRACT

M.Sc. Thesis

### DETERMINATION OF *Escherichia coli* LEVELS AND PATHOTYPES IN WATER SOURCES AROUND ISPARTA PROVINCE

Ebru Sedef KAPLAN

Süleyman Demirel University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI

In this thesis totally 57 water samples around Isparta region were collected in different months. Levels of total and fecal coliform in these water samples were determined. According to analysis results, water resources were determined as 2nd class quality depending on total coliform counts and 2nd or 3rd class quality depending on fecal coliform counts.

After total and fecal coliform counts were determined, typical *Escherichia coli* colonies were chosen and confirmation tests were performed. Totally 397 typical colonies were isolated from water samples and 55 strains out of them were confirmed as *E. coli* strain. Also 151 strains were determined as coliform group.

*E. coli* strains were studied by real-time PCR method to determine some virulence genes. Analyse results showed that 29,2% of *E. coli* strains contained enteropathogenic *E. coli* virulence genes. 14,5% of isolated *E. coli* strains contained verotoxigenic *E. coli* virulence factors. 1,8% of *E. coli* strains contained enteroinvasive *E. coli* virulence genes. 54,5% of isolated *E. coli* strains were determined that they contained none of the investigated gene regions. After pathotypes of *E. coli* strains were determined, restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyse were performed to study molecular differences between isolated *E. coli* strains.

After RFLP analysis, it was found out that 7,4% of pathotypes showed resemblance on molecular level. It was also found out that 53,6% of non-pathogenic strains showed resemblance on molecular level.

**Keywords:** Isparta, *E. coli*, coliform group, real time polymerase chain reaction

**2017, 103 pages**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI'ya,

Çalışmam sırasında benden yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Zübeyde ÖNER'e, Doç. Dr. Hakan KULEAŞAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN'a,

4313-YL2-15 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na,

Çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma,

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Ebru Sedef KAPLAN  
ISPARTA, 2017

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.1. TTC agardaki tipik koloni görüntüleri.....	30
Şekil 4.2. Toplam koliform sayılarının aylara göre değişimi.....	33
Şekil 4.3. Fekal koliform sayılarının aylara göre değişimi.....	39
Şekil 4.4. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü .....	66
Şekil 4.5. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü .....	67
Şekil 4.6. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü .....	67
Şekil 4.7. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü .....	68
Şekil 4.8. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü .....	68
Şekil A.1. Su örneklerinin alındığı noktalar.....	85
Şekil C.1. EPEC patotiplerinin <i>eaeA</i> gen bölgesine ait çoğalma eğrisi.....	100
Şekil C.2. EPEC patotiplerinin <i>eaeA</i> gen bölgesine ait erime eğrisi.....	100
Şekil C.3. VTEC patotiplerinin VT2 gen bölgesine ait çoğalma eğrisi.....	101
Şekil C.4. VTEC patotiplerinin VT2 gen bölgesine ait erime eğrisi .....	101
Şekil C.5. VTEC patotiplerinin VT1 gen bölgesine ait çoğalma eğrisi.....	102
Şekil C.6. VTEC patotiplerinin VT1 gen bölgesine ait erime eğrisi .....	102

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1. PZR reaksiyonunda kullanılan oligoların baz dizisi .....	22
Çizelge 3.2. Su numunelerinin alım noktaları.....	24
Çizelge 3.3. Numune alınan su kaynaklarının kodu, adı ve numune alma tarihi.....	24
Çizelge 3.4. Gerçek zamanlı PZR bileşenleri .....	28
Çizelge 3.5. Gerçek zamanlı PZR cihazı döngü sayıları.....	28
Çizelge 3.6. RFLP analiz bileşenleri.....	29
Çizelge 4.1. Su örneklerinin toplam koliform sayım sonuçları .....	31
Çizelge 4.2. Su örneklerinin fekal koliform sayım sonuçları .....	37
Çizelge 4.3. Kıtaıçi Yerüstü Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri.....	43
Çizelge 4.4. Bakteriyolojik parametreler bakımından örneklerin su kalite kriterlerine göre sınıflandırılması. ....	44
Çizelge 4.5. İzole edilen suşların koliform ve <i>E. coli</i> sayıları .....	50
Çizelge 4.6. Su örneklerinde <i>E. coli</i> sayıları .....	50
Çizelge 4.7. İzolatların ST primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları .....	53
Çizelge 4.8. İzolatların LT primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları .....	54
Çizelge 4.9. İzolatların <i>eaeA</i> primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları .....	55
Çizelge 4.10. İzolatların pCVD432 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları .....	57
Çizelge 4.11. İzolatların <i>ipaH</i> primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları.....	58
Çizelge 4.12. İzolatların VT2 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları.....	59
Çizelge 4.13. İzolatların VT1 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları.....	60
Çizelge 4.14. İzolatlarda bulunan gen bölgeleri.....	62
Çizelge 4.15. Referans suşların içerdığı gen bölgeleri.....	65
Çizelge 4.16. Patotiplere ait DNA parçacıklarının moleköl ağırlıkları.....	69
Çizelge 4.17. Patojen olmayan <i>E. coli</i> suşları DNA'larının moleköl ağırlıkları.....	70
Çizelge B.1. Nisan ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri.....	86
Çizelge B.2. Mayıs ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri .....	88
Çizelge B.3. Haziran ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri .....	90
Çizelge B.4. Temmuz ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri.....	92
Çizelge B.5. Ağustos ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri.....	93
Çizelge B.6. Eylül ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri .....	94
Çizelge B.7. Ekim ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri .....	95
Çizelge B.8. Kasım ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri.....	96
Çizelge B.9. Aralık ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri.....	97
Çizelge B.10. Ocak ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri.....	98
Çizelge B.11. Şubat ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri .....	99

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- EAEC : Enteroagregatif *E. coli*  
EHEC : Enterohemorajik *E. coli*  
EIEC : Enteroinvazif *E. coli*  
EPEC : Enteropatojenik *E. coli*  
ETEC : enterotoksijenik *E. coli*  
kDa : Kilodalton  
KOB : koloni oluşturan birim  
MDa : Megadalton  
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu  
RFLP : Sınırlayıcı enzim parça uzunluğu çeşitliliği  
STEC : Shiga toksin üreten *E. coli*  
T3SS : Tip III Salgılama Sistemi  
ÜPEC : üropatojenik *E. coli*  
V : Volt  
VTEC : Verotoksijenik *E. coli*

## 1. GİRİŞ

*Escherichia coli*, Enterobacteriaceae familyasına ait, Gram negatif, çubuk şekilli, sporsuz, fakültatif anaerobik bir bakteri türüdür. İnsanların ve diğer sıcakkanlı canlıların bağırsaklarında bulunan en yaygın mikroorganizmalardan biridir. *E. coli*'nin doğumdan itibaren insan bağırsağında birkaç saat içinde koloni oluşturduğu belirtilmektedir. Bu *E. coli* suşlarının birçoğu konukçuları ile simbiyotik yaşamaktadır. Bu birliktelikte *E. coli*, çeşitli besin öğelerinin bağırsaklardan emilimi sırasında bu besinlerden faydalanarak konukçu üzerinden yarar sağlarken, konukçu için gerekli olan K vitamini gibi kofaktörlerin sentezini yaparak ve patojen mikroorganizmaların bağırsak üzerinde koloni oluşturmasını engelleyerek konakçıya yarar sağlamaktadır. Ancak tüm bu yararlarına rağmen bazı *E. coli* suşları patojen özellik göstermektedir. Gastrointestinal sistem, beyin zarı ve böbrekler patojen *E. coli* suşları için hedef organlardır. Patojen *E. coli* suşları tarafından oluşturulan enfeksiyonlar sunucunda, ishal, dizanteri, böbrek iltihabı ve hemolitik üremik sendrom gibi hastalıklar meydana gelmektedir. Bu hastalıkların sonucu olarak sepsis, böbrek yetmezliği ve ölüm görülebilmektedir.

John Bray vd. (1945) bebeklerde ishal salgınlarına neden olan *E. coli* patotipini izole ederek “enteropatojenik *E. coli*” (EPEC) terimini kullanmışlardır. Daha sonra yapılan çalışmalarda insanlarda hastalığa sebebiyet veren *E. coli* patotipleri “patojenik *E. coli*” olarak tanımlanmışlardır. *E. coli* suşlarının hastalık yapma kabiliyetlerindeki farklılıklar, çeşitli virülans faktörlerin kodlandığı özel genlere sahip olmalarıyla ilişkili bulunmuştur. Bütün *E. coli* suşlarının kromozomal genomunda bulunan genlerin ortalama %20'si ortaktır (Donnenberg, 2013).

Belirli *E. coli* suşlarının patojenik özellikleri, sahip oldukları virülans genlerin varlığına bağlıdır. Belirli virülans genlerin bir arada bulunmasına göre *E. coli* patotipleri tanımlanarak, her patotipin sebep olduğu hastalık türlerine göre sınıflandırılması sağlanmaktadır. Patojenik suşlar kabaca iki gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar; mide ve bağırsak sisteminde hastalık yapan ile bağırsak dışı sistemde hastalığa neden olan patojenik suşlar olarak belirlenmişlerdir. Mide ve bağırsak sisteminde hastalık yapan suşlar ishal, kanlı ishal, karın krampları gibi hastalıklara

yol açarken bağırsak dışı sistemde hastalık yapan suşlar, yenidoğan menenjit ve idrar yolları enfeksiyonlarına yol açmaktadır.

*E. coli*'nin insanların ve sıcakkanlı memelilerin bağırsak florasında doğal olarak bulunmasından dolayı, besinsel ve çevresel örneklerde rastlanması dışkı kökenli kirlenmenin belirtisi olarak kabul edilmektedir. *E. coli* miktarının tespitiyle kirlenme düzeyi hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Bulaşan kaynaklardan izole edilen *E. coli* suşlarının patotiplerinin belirlenmesi ile gıdalardan ve su kaynaklarından köken alabilecek hastalık etmenleri tespit edilip çözüm yolları önerilebilecektir. Bu bilgilere göre yapılan çalışmada, Isparta ili çevresinde bulunan sulama ve içme suyu kaynaklarından alınan su örneklerinde toplam ve termotoleran koliform sayıları tespit edilip *E. coli* suşları izole edilmiştir. Biyokimyasal testlerle *E. coli* olduğu belirlenen suşların gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesiyle patotipleri belirlenmiş ve aynı patotipe ait suşların genetik farklılıklarını ortaya koymak amacıyla sınırlayıcı enzim parça uzunluğu çeşitliliği analizleri yapılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Isparta İli İçme Suyu Kaynakları

Isparta, Göller Yöresi'nde bulunmasından dolayı içme suyu kaynağı açısından zengin bir ildir. İl etrafında büyüklü küçüklü pek çok su kaynakları bulunmaktadır. Bu kaynaklardan bazıları Andık Kaynağı, Aktaş (Akpınar) Kaynağı, Akyokuş Kaynağı, Beldibi (Yarıkpınar) Kaynağı, Naneli Kaynağı; Bezirgan Çayı; çeşitli Keson kuyuları; Darıderesi Baraj Gölü, Gölcük ve Eğirdir Gölleridir. Isparta Belediyesi Su ve Kanalizasyon Müdürlüğü'nün çalışmalarına göre şehrin içme suyu ihtiyacını karşılayabilmek için son yıllarda kullanılan ve verimli olduğu belirlenen içme suyu kaynakları Andık Kaynağı, Darıderesi Baraj Göleti ve Eğirdir Gölü'dür. Bunların yanında son zamanlarda Bezirgan Çayı'nın içme suyu olarak kullanımına olanak sağlayacak projeler de yapılmaktadır. Bu kaynaklardan alınan su ile içme ve kullanma suyu sağlanan nüfus 213.000 kişi olarak belirlenmiştir (Anonim, 2015).

Andık Kaynağı Dere Mahallesi mevkiinden Ağlasun/Burdur yolu üzerinde tel örgü ile kapatılmış sahada bulunmaktadır. Heyelan bölgesi olması nedeniyle Andık Kaynağı sularının su gözü belli değildir. Su eski tarihlerde 8-10 ayrı yerden kiremit borularla getirilmiştir. Su kaybını gidermek amacıyla kiremit borular içine PVC borular yerleştirilmiş ve su önce 5-6 maslağa, daha sonra da toplanarak tek maslağa alınmıştır. Buradan Hediye Un Fabrikası tarafından Gökçay havuzlarına, oradan da az bir kısmı arıtma tesislerine ulaşmaktadır. Andık Kaynağı'ndan gelen suyun debisi en çok 30-40 L/saniyedir. Suyun azaldığı yaz aylarında ise bu miktar 20 L/saniyeye kadar düşmektedir. Zemin kodu 1228 metredir. Andık Kaynağı suları florür oranı yüksek sulardır. Florür miktarı 3,38 mg/L'dir (Anonim, 2011).

Bezirgan Çayı, Dere Mahallesi mevkiinde, Isparta Belediyesi tarafından içme suyu olarak kullanılması planlanan bir su kaynağıdır. Daha önce baraj olarak kullanıldığı belirtilmiştir. DSİ tarafından suyun debisi ile ilgili ölçümler düzenli olarak yapılmaktadır. Bezirgan Çayı'ndan Hediye Un Fabrikası temizleme suyu ve hidroenerji ile elektrik üretimi amacıyla yararlanılmaktadır (Anonim, 2015).

Darıderesi Baraj Göleti, Isparta'nın merkezinde bulunan Darıderesi Köyü yakınında, 13 milyon m<sup>3</sup> su tutma kapasitesi olan bir gölettir. Barajın etrafında, özellikle deri atölyelerinin olduğu bir sanayi bölgesi bulunmaktadır. DSİ ve Isparta Belediyesi tarafından kullanılan göletten, hem sulama hem de içme suyu temin edilmektedir. Isparta Belediyesi Su ve Kanalizasyon Müdürlüğü tarafından göletten içme suyu olarak kullanılmak üzere yıllık 4 milyon m<sup>3</sup> su alınmaktadır. Darıderesi Baraj Göleti'nin en yüksek debisi 600 L/saniyedir. Zemin kodu ise 1060 metre olarak belirtilmiştir (Anonim, 2011).

Eğirdir Gölü'nden diğer bir içme suyu kaynağı olarak yararlanılmaktadır. Göl, Isparta'nın Eğirdir ilçesi sınırları içinde bulunan, Türkiye'nin en büyük 4. gölüdür. Tatlı su kaynağı olması açısından ise Türkiye'nin en büyük 2. gölüdür. Yüz ölçümü yaklaşık 457 km<sup>2</sup>'dir. Eğirdir Gölü'nün suları, DSİ Bedre, Eğirdir tesislerinde bulunan TM1 terfi istasyonu ile TM2 terfi istasyonuna basılmakta, oradan Isparta merkezde bulunan Isparta Belediyesi Su ve Kanalizasyon Müdürlüğü'ne bağlı Gökçay Arıtma Tesisleri'ne ulaşmaktadır. Tesisin yıllık 32 milyon m<sup>3</sup> su alım kapasitesi mevcuttur. Bunun yaklaşık 10 milyon m<sup>3</sup>'lük kısmı kullanılmaktadır. Gölden gelen suyun debisi 1015 L/saniyedir. Zemin kodu 910 metredir. Florür miktarı ise 0,08 mg/L olarak belirtilmiştir (Anonim, 2011).

Bulut vd. (2016) yaptığı bir çalışmada, Eğirdir Gölü, toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayılarının mevsimsel değişimi bakımından incelenmiştir. Çalışma sonucunda Eğirdir Gölü'nde toplam koliform sayısının 0-34 EMS/100 ml arasında değiştiği belirlenmiştir. Fekal koliform varlığı yaz aylarında 1 noktada, sonbahar aylarında ise 2 noktada tespit edilmiştir. *E. coli* ise hiçbir noktada tespit edilememiştir. Bu sonuçlara göre Eğirdir Gölü'nün, Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği Kıta içi Su Kaynakları Kalite Kriterleri açısından değerlendirildiğinde kabul edilebilir değerlerin (100 EMS/100 ml) altında olduğu belirlenmiştir.

Yapılan kaynak taramasında Andık Kaynağı, Bezirgan Çayı ve Darıderesi Baraj Göleti içme suyu kaynaklarının mikrobiyolojik kalitesine yönelik olarak yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## 2.2.İçme Sularında Kalite

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre su kalitesi, suyun çeşitli amaçlarla kullanım uygunluğunun belirlenmesi olarak tanımlanmıştır. Her kullanım amacının kendine özgü fiziksel, kimyasal ve biyolojik açıdan sınırları çeşitli standartlarla belirlenmiştir. İçme suyu olarak kullanılacak su kaynaklarının da toksik madde içeriği, pH aralığı, mineral madde içeriği gibi belirli ölçütlerde sınırları bulunmaktadır. İçme sularının sınıflandırılmasında kullanılan bu ölçütlerden biri de bakteriyolojik parametrelerdir (Anonim, 1996).

İçme suları doğal florasında az miktarda mikroorganizma içerirler. Ekolojik döngüde insan, hayvan ve bitki atıkları ile havadan ve topraktan bulaşma da içme sularının mikrobiyel yükünü arttırmaktadır. Bütün bunlara göre içme sularının sahip olduğu mikroflorayı üç gruba ayırmak mümkündür. Birinci grup *Spirillum*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Chromobacterium* ve bazı *Micrococcus* ve *Sarcina* türleri gibi suyun doğal yapısında bulunan mikroorganizmalardır. İkinci grup *Bacillus*, *Streptomyces*, *Aerobacter* ve *Enterobacteriaceae* familyasının saprofit cinsleri gibi toprak kökenli mikroorganizmalardır. Üçüncü grup ise *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Clostridium welchii*, *Salmonella* spp., *Vibrio cholera*, *Shigella* spp. gibi insanların ve sıcakkanlı memelilerin bağırsak florasında doğal olarak gelişen mikroorganizmalardır (Özgür, 2013).

İçme sularında bulunan tüm patojenik mikroorganizmaların tespit edilmesi hem çok zaman almaktadır, hem de bu konuda iyi yetişmiş çalışanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu işlemler aynı zamanda pahalıdır. Bunlar göz önünde bulundurulduğunda tüm patojenlerin tespitinin yerine indikatör mikroorganizmalar seçilerek bunların varlığının araştırılması büyük bir avantaj sağlamaktadır. 1914 yılının başlarında ABD Toplum Sağlığı Servisi içme sularında dışkı kökenli bulaşının varlığını tespit etmek için koliform grup bakterileri indikatör mikroorganizma olarak belirlemiştir. Koliform grubun ideal bir indikatör olması aşağıdaki şartlara göre belirlenmiştir:

- 1) Seçilen indikatör sıcakkanlı hayvanların doğal bağırsak florasının bir parçası olmalıdır.

- 2) Patojenlerin varlığında bulunmalı, patojenler ortama bulaşmamışsa ortamda bulunmamalıdır.
- 3) Patojenlerden daha fazla sayıda bulunmalıdır.
- 4) Çevre şartlarına en az patojenler kadar dayanıklı olmalıdır.
- 5) Buldukları ortamda çoğalmamalıdır.
- 6) Tespit edilmesi kolay, hızlı ve ucuz olmalıdır.
- 7) Patojenik olmamalı ve bulaşı olması durumunda analizi yapan kişiye herhangi bir zararı dokunmamalıdır (Özgür, 2013).

Toplam koliform grup Enterobacteriaceae familyasına ait, aerobik ve fakültatif anaerobik, Gram negatif, spor oluşturmeyen, çubuk şekilli bakterilerdir. Laktozu fermente ederek gaz oluşturabilirler. Bu gruba *E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Citrobacter* türleri dahildir. Bu mikroorganizmalar insan vücudundan günlük olarak oldukça yüksek miktarlarda atılmaktadır. Ancak bu mikroorganizmaların hepsi dışkı kökenli değildir. Örneğin *Klebsiella* türleri çevresel şartların dışında da yaşayabilmekte, hatta endüstriyel ve tarımsal atıklarda üreyebilmektedir. Ancak toplam koliform grup bakteriler içme sularının kalitesini belirlemede etkili bir ölçüttür (Bitton, 2010).

Fekal koliform ya da termotoleran koliform grup laktozu 44,5°C'de fermente edebilen tüm koliformları içermektedir. Bu grup bakterileri içinde *E. coli*, *klebsiella pneumoniae* gibi mikroorganizmalar da bulunmaktadır. Fekal koliformların varlığı, dışkı bulaşmasını gösteren en önemli işaretlerden biridir. Bazı araştırmalar göstermiştir ki *E. coli*'nin tek başına indikatör olarak kullanılması dışkı kirlenmesini belirlemede yeterli olmaktadır. Bunun nedeni *E. coli*'nin fekal koliform grubun diğer üyelerinden üreaz enziminin olmaması ve  $\beta$ -Glukuronidaz enziminin bulunması gibi belirteçlerle kolaylıkla ayırt edilebilmesidir (Bitton, 2010).

### **2.3. İndikatör Mikroorganizmaların Aranmasında Kullanılan Yöntemler**

Su örneklerinde indikatör mikroorganizmaların aranmasında bir çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları standartlaştırılmış ve yönetmeliklerde belirtilmiştir. Bu nedenle rutin kontrollerde kullanılmaktadır. Bunlar En Muhtemel Sayı Yöntemi ve Membran Filtrasyon Yöntemi olmak üzere iki adettir.

### **2.3.1. En muhtemel sayı yöntemi**

En muhtemel sayı yönteminde sıvı besiyeri konmuş ve Durham tüpü bulunan bir seri tüpe, belirli ve ardışık dilüsyonlarda su örneği eklenerek üreme ve gaz oluşturma özellikleri incelenir. Gaz oluşturanlar seçilerek koliform gruba özgü bir besiyerinde tekrar değerlendirilir. Tekrar gaz oluşturuyorlarsa “koliform bakteri var” olarak kabul edilir. Fekal koliform olduklarını doğrulamak içinse 44 °C’de tekrar inkübe edilir. 44°C’de gaz oluşumu gözlenirse fekal koliform oldukları sonucuna varılır. Bütün bu verilerin değerlendirilmesinde EMS tablolarından yararlanılır. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar en muhtemel sayı olarak ifade edilir (Topçu vd. 1996).

### **2.3.2. Membran filtrasyon yöntemi**

Membran filtrasyon yöntemi, en muhtemel sayı yönteminin eksikliklerinin anlaşılmasından sonra 1950’lerde geliştirilmiştir. Günümüzde su kalitesinin ölçümünde yapılan rutin kontrollerde kullanılan ve yönetmeliklerde bulunan yöntemlerden biridir.

Membran filtrasyon yönteminin genel uygulaması şu şekildedir:

- Membran filtrasyon sistemi sterilize edilir. Sterilizasyonun otoklavda yapılması kimyasal dezenfeksiyona göre daha avantajlıdır. Kimyasal dezenfeksiyon yapılacaksa sistemde kalan dezenfektanın analizi yapılacak mikroorganizma üzerinde etkili olmaması için etkin şekilde uzaklaştırılması gerekmektedir.
- Steril sisteme aseptik koşullarda 0,20 µm veya 0,45 µm çapında steril membran filtre takılır. Membran sisteme konmadan önce yerleştirileceği taban steril damıtık suyla ıslatılmalıdır.
- Analiz edilecek miktarda örnek veya örneğin belli orandaki seyreltmesi filtreden geçirilir.
- Örnek filtreden geçtikten sonra bir miktar steril suyla sistemin çeperleri yıkanarak kalan mikroorganizmaların da alınması sağlanır.
- Filtre, örnek geçirilen yüzeyi üstte olacak şekilde ve altta hava kabarcığı oluşmadan uygun besiyerine aseptik koşullarda yerleştirilir. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılır.

- İnkübasyon sonunda örnek miktarı veya seyreltme oranları göz önünde bulundurularak sonuçlar KOB/ml veya KOB/g olarak hesaplanır (Özgür, 2013).

### 2.3.3. Moleküler yöntemler

Son yıllarda moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler neticesinde, indikatör mikroorganizmaların tanısında spesifik gen bölgelerinin belirlenmesine dayalı yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve mikroorganizmaların suş düzeyinde tanısını yapmada daha uygun yöntemler olmuştur. Bu nedenle son 20 yıldır içme sularının kalite yönetiminde moleküler yöntemlerin uygulanması planlanmaktadır. Yeni moleküler yöntemlerin, içme sularından kaynaklanan salgın hastalıkların araştırılmasında rutin testlerin yerine geçmesi düşünülmektedir (Dünya Sağlık Örgütü, 2016).

Moleküler tanı teknikleri, sularda, gıdalarda, klinik ve çevresel örneklerde mikrobiyal floranın gözlemlenmesi ve miktarlarının belirlenebilmesi gibi alanlarda uygulanabilirliğe sahiptir. Moleküler teknikler, uzun süren kültürel yöntemlerin aksine hızlı bir şekilde patojen tanısına imkân vermektedir. rRNA'ya dayalı sistemlerin ortaya çıkışıyla, mikroorganizmaların sınıflandırılmasında kolaylık sağlamıştır. Ribozomal RNA genleri evrimsel olarak korunarak organizmalar arasındaki filogenetik ilişkinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. rRNA baz dizilerinin çoğaltılması ve karşılaştırmasına dayalı çoğu farklı yöntemler, içme suyu ve atık sular gibi çevresel örneklerde uygulanmaktadır (Gilbride vd, 2006).

Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında moleküler yöntemlerin üstünlükleri ve kısıtlamaları vardır. Önemli üstünlüklerinden bazıları; kısa sürede sonuç vermesi, doğruluk oranlarının yüksek olması, hasar görmüş hücrelerin de tespit edilebilmesi ve canlı hücrelere gereksinim olmamasıdır. Kısıtlamaları ise; canlı ve ölü hücrelerin birbirinden ayırt edilememesi, gıda ve çevresel örneklerden DNA izolasyonunda karşılaşılabilecek zorluklar, her bir örnek için farklı protokol gereksinimi, gıdalardan bulaşabilecek ve moleküler çalışmaları bozabilecek enzim, mineral madde geçişi vs. ve moleküler yöntemlerde kullanılan özel cihazların yatırım maliyetlerinin yüksek olması şeklinde gösterilebilir (Çakır ve Çakmakçı, 2005).

### **2.3.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu**

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) moleküler biyolojide kullanılan, DNA'nın tek ya da birkaç kopyasını çoğaltmaya yönelik kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle belirli bir DNA dizisinin milyonlarca kopyası çoğaltılabilmektedir. PZR tekniğinde denatürasyon, bağlanma ve uzama olmak üzere üç temel basamak vardır (Joshi ve Deshpande, 2011). Denatürasyon aşamasında çift sarmallı DNA molekülü ilk olarak yüksek sıcaklıkta çözülerek tek sarmal haline gelmektedir. Bağlanma aşamasında primer olarak kullanılan iki oligonükleotit hedef DNA'ya bağlanmaktadır. Uzama aşamasında ise magnezyum iyonlarının varlığında DNA polimeraz enzimi ile primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzaması gerçekleşmektedir.

PZR yöntemi çeşitli hastalıkların araştırılmasında ve tanısında yararlanılan bir yöntemdir. Kalitatif PZR yöntemi sadece insan genlerinin değil, bakteri ve virüs genlerinin araştırılmasında da kullanılmaktadır. PZR yöntemi aynı zamanda az miktarlarda DNA ile çalışabilme açısından da avantajlıdır. Moleküler klonlama, kanser araştırmaları, gen tanısı gibi geniş bir alandan PZR tekniğinden yararlanılmaktadır (Joshi ve Deshpande, 2011).

### **2.4. *Escherichia coli* ve Su Kalitesi**

Halk ve çevre sağlığını korumanın gerekliliklerinden biri de, güvenli içme sularının temininden geçmektedir. Bunun sağlanması, patojen mikroorganizmaları içermeyen kaynakların kullanımıyla mümkündür (Rompré vd., 2001). Özellikle bağırsak kökenli patojenler sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Bu nedenle sularda insan ve hayvan kaynaklı dışkı kökenli kirlenme tam olarak kontrol edilmelidir. *E. coli*, insanların ve hayvanların mide ve bağırsak sistemlerinde yerleşik halde bulunan ve bazı suşlarının bağırsak ve bağırsak dışı enfeksiyonlara yol açtığı, önemli çevresel patojenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Patojenik suşların, normal bağırsak florasında bulunan suşlardan ayrılması, patotiplerin virülans niteliklerinin tanımlanmasıyla sağlanabilmektedir. *E. coli* suşlarında bulunan virülans faktörler pilus ve fimbriyumlar, ekzotoksinler, hücre duvarı yapısı, kapsül üretimi, sideroforlar, antijenler ve endotoksinler olarak sıralanabilir (Güler ve Gündüz, 2007).

1986 yılında *E. coli*, içme sularının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesinde dışkı kökenli kirlenmeyi gösteren belirteç mikroorganizma olarak kabul edilmiştir (Maheux vd., 2009). Kültüre dayalı yöntemlerle yapılan su kalitesi testlerinde *E. coli* varlığı,  $\beta$ -glukuronidaz aktivitesine göre belirlenmektedir. Sularda patojenik *E. coli* tespit etmek amacıyla çeşitli polimeraz zincir tepkimesine dayalı yöntemler, kültüre dayalı yöntemleri destekleyici olarak geliştirilmektedir. Bu yöntemler, kültüre dayalı yöntemlere göre daha hızlı bir şekilde sonuç vermektedir.

## **2.5. *Escherichia coli* Patotipleri**

*E. coli* suşları arasında fenotipik özellikleri açısından büyük bir çeşitlilik mevcuttur. Bu özellik, suşların görünüm, davranış, metabolizma şekli ve insanlarda hastalık oluşturma kabiliyetlerinde farklılıklara yol açmaktadır. *E. coli* popülasyonunun büyük çoğunluğunu oluşturan kommensal suşlar, konakçıda herhangi bir hastalığa yol açmadan koloni oluşturma özelliğindedir. Patojenik suşların kolonizasyonu ise klinik açıdan önemli hastalıklara yol açmaktadır. Bunu bir örnekle açıklamak gerekirse; ticari bir probiyotik olan MutaFlor'un tavsiye edilen kullanımında milyarlarca canlı *E. coli* Nissle-1917 suşunun vücuda alınmasının sağlığa katkısının olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında yalnız 100 adet patojen *E. coli* O157 suşunun vücuda alınması ölümcül rahatsızlıklara yol açabilmektedir (Donnenberg, 2013).

Aynı tür içinde olmalarına rağmen farklı *E. coli* suşları genetik olarak çok fazla farklılık göstermektedir. Herhangi bir *E. coli* suşu, türün diğer suşlarıyla çok az miktarda ortak genlere sahiptir (Rasko vd., 2008). Bu çeşitlilik, özellikle klon düzeyinde ilişkisi bulunmayan suşlarda belirgin şekilde görülebilmektedir. Örneğin bu şekilde farklı genotip profiline sahip *E. coli* suşları "Multilocus sequence typing: Multilokus dizi tiplendirme (MLST)" yöntemi ile nükleotid dizi analizi yapılarak birkaç temel metabolik fonksiyonu kodlayan genlerin (housekeeping gene) allelleri araştırılabilmektedir. Ochman (1984)'ın yaptığı bir çalışmada ise 22 *E. coli* izolatının tüm genomunun baz dizisi belirlenip filogenetik ağacı çizilmiştir. İncelenen 22 suşun her birinde, diğer suşlardan bağımsız olduğu belirlenen gen bölgesi oranının %49 ile 67 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda incelenen 16148 genin sadece 1996'sının tüm suşlarda ortak olduğu bulunmuştur (Donnenberg, 2013).

*E. coli* kaynaklı hastalıklar diyareden menenjitte, belirtisiz bakteriüriden ölümcül idrar zehirlenmesine kadar geniş bir spektrumda değişmektedir. Bu hastalıklara birkaç ana *E. coli* patotipi yol açmaktadır. Bu patotiplerden bazıları enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvazif *E. coli* (EIEC) ve enteroaggregatif *E. coli* (EAEC) olarak tanımlanabilmektedir (Donnenberg, 2013). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarla diffüz adherent *E. coli* (DAEC) ile Üropatojenik *E. coli* (UPEC) patotiplerinin de olduğu belirlenmiştir.

### **2.5.1. Enteropatojenik *Escherichia coli***

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) suşları, ishale neden olan, shiga toksin üretmeyen *E. coli* suşlarıdır. Sağlıklı bireylerde  $10^8$  ila  $10^{10}$  KOB'luk doz ishale neden olabilmektedir. Çocuklarda ise bu oran daha düşüktür (Donnenberg vd., 1998). Suşların, konakçının bağırsak sistemine bulaşmasını takiben mikrovillusları yok ederek, kendine özgü olarak bilinen histopatolojik “yapışma ve bozma etkisi” (Y/B) göstermektedir. EPEC suşları bu şekilde Y/B göstermeyen diyarejenik EAEC, EIEC, ETEC gibi patotiplerden kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Nataro ve Kaper, 1998). Y/B patolojisinin üretiminden sorumlu genetik unsurlar, enterosit bozma bölgesi (locus of enterocyte effacement: LEE) olarak bilinen büyük bir patojenite adası kısmında bulunmaktadır. Bununla birlikte EPEC suşları, enteropatojenik *E. coli* tutunma faktörü (EPEC adherence factor: EAF) plazmitinde kodlanan demet oluşturan pilusların (bundle forming pilus: BFP) olup olmamasına göre tipik ve atipik olarak da sınıflandırılmaktadır (McDaniel ve Kaper, 1997).

EPEC suşlarının tanısında, bu sınıfa ait potansiyel virülans faktörlerin olup olmamasından yararlanılmıştır. Bu virülans faktörler EAF plazmitinde ve LEE patojenite adasında kodlanan unsurlar tarafından düzenlenmektedir. 50-70 MDa büyüklüğündeki EAF plazmiti EPEC suşlarında bölgesel bağlanma için gerekli gen bölgelerini içermektedir. Baldini vd. (1983)'nin yaptığı çalışmada diyareye yol açan, 50-70 MDa büyüklüğünde plazmite sahip enteropatojenik *E. coli* O127:H6 E2348 suşunun HEp-2 hücrelerine tutunma özelliği incelenmiştir. *E. coli* E2348'de bulunan 55MDa büyüklüğünde bir plazmid olan pMAR2'nin uzaklaştırılmasıyla bu suşların HEp-2 hücrelerine bağlanma özelliğini kaybettiği belirtilmiştir. Aynı zamanda

pMAR2 plazmitinin kazandırılmasıyla, tutunma özelliği bulunmayan *E. coli* K12'ye, HEp-2 hücrelerine tutunma özelliği kazandırıldığı bildirilmiştir.

EAF plazmitinde bulunan tip IV BFP gen kümesi (*bfp*) ve transkripsiyonel aktivatörleri içeren *per* bölgesi, patojenite için iki önemli bölgedir. EAF plazmitinin aynı zamanda kromozomal patojenite adasında bulunan *eae* geninin ekspresyonunu da düzenlediği bildirilmiştir (Jerse ve Kaper, 1991). Nunes vd. (2003)'nin yaptığı çalışmada, diyare olan 125 ile olmayan 98 çocuktan izole edilen 919 *E. coli* suşunda, EAF, *bfp*, *eae*, ve *stx* varlığı PZR ile incelenmiş ve izolatların 34 tanesinin *eae* genine sahip olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte tipik EPEC özelliği gösteren *eae*, *bfp* ve EAF bölgeleri sadece diyareli çocuklardan izole edilen suşlarda bulunmuştur. *stx* geni ise hiçbir suшта bulunmamıştır.

BFP'ler bazı patojenik Gram negatif bakteriler tarafından üretilen Tip IV-B sınıfının üyesi fimbriyalardır. BFP'ler tipik EPEC hücrelerinin hücre yüzeyinden uzayarak iplikçik şeklini alır. Bu piluslar EPEC suşlarının epitel hücrelere tutunabilmesi ve hücrelerin otoagregasyonu için gereklidir (Donnenberg vd., 1992; Bieber vd., 1998; Knutton vd., 1999). BPF bölgesi, demetlenme ve pilus monomerlerin kodlandığı operondaki ilk gen olan *bfpA* bölgesi ile tekrarlanan alt birimlerden oluşmaktadır. Yine bu bölgede *bfpA* gen bölgesi ilk demetlenmeyi başlattıktan sonra, bunu olgun piluslara dönüştüren pre-pilin peptidaz enzimini üreten *bfpP* gen bölgesi kodlanmıştır. *bfpA* geninin mutasyonu EPEC suşlarının bölgesel tutunma yetisini kaybetmesine yol açmaktadır (Donnenberg, 2013).

EPEC suşlarının patojenite adasında kodlanan diğer bir unsur 110 kDa büyüklüğünde salgılanan bir protein olan EspC'dir. EspC'ler hücre iskeletine zarar vererek sitotoksositeye yol açarlar. EspC'ler aynı zamanda enterotoksin görevi görürler (Mellies vd., 2001; Navarro-Garcia vd., 2004).

EPEC suşlarında tanımlanan diğer bir toksin sitoletal şişirici toksin (cytolethal distending toxin: CDT)'dir. CDT'ler, *cdtA*, *cdtB* ve *cdtC* olmak üzere üç adet polipeptit yapısında alt birimden oluşmaktadır. CDT'ler hücre nükleusuna etki ederek DNA hasarlarına yol açarlar (Ohara vd., 2004).

### 2.5.2. Enterohemorajik ve diğer shiga toksin üreten *Escherichia coli*

Shiga toksin üreten *Escherichia coli* (STEC) suşları, tek bir A (enzimatik aktivite) alt birimi ve beş B (bağlanma) alt birimi şeklinde tipik AB<sub>5</sub> toksini üreten, Vero hücreleri üzerine derin ve tek yönlü olarak sitopatik etki gösteren karakteristik suşlardır. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) suşları ise STEC grubuna göre “Tip III Salgılama Sistemi (type III secretion system: T3SS)” gibi birkaç fazladan virülans faktör barındıran STEC grubunun bir alt kümesidir. Bu karakteristik virülans faktörlere ek olarak EHEC suşları konakçı hücrelerde “yapışma ve bozma” etkisi ile doku bozuklukları şeklinde kendini göstererek insanlarda hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendroma sebebiyet vermesiyle tanımlanabilmektedir. Patojen EPEC suşlarındakine benzer şekilde T3SS enterosit bozma bölgesi patojenite adasında kodlanmıştır ve EHEC tarafından uyarılmış yapışma ve bozma doku bozukluklarından sorumludur. *E. coli* O157:H7, dünya çapında insanlarda enfeksiyona yol açan EHEC grubunun en baskın serotiplerindedir.

STEC grubu muazzam bir suş çeşitliliğine sahiptir. Çoklu bölge enzim elektroforez (Multilocus enzyme electrophoresis) yöntemine göre EHEC1, EHEC2, STEC1 ve STEC2 olmak üzere dört grupta incelenmektedirler. STEC O157:H7 ve onun evrimsel atası olan O55:H7 birlikte EHEC1 grubunu oluştururlar. EHEC2 grubu ise stx üretmeyen O:157 suşlarının dahil olmadığı, O:111:H8, O111:H-, O26:H11: ve O111:H11 gibi serotipleri barındıran en yaygın gruptur. STEC1 grubu büyük ölçüde çeşitlilik göstermektedir. Bu grupta bulunan yaygın serotipler O113:H21, OX3:H21 ve O91:H21’dir. Diğer gruplara kıyasla STEC2 grubunun virülans faktörleri daha az bilinmektedir. Bu grup içinde O103:H2, O103:H6 ve O45:H2 serotipleri bulunur (Kudva vd., 1997). Serotip O157:H7 ve altı adet “O157 olmayan” grubun –O26, O111, O103, O121, O45 ve O145- Amerika Birleşik Devletleri’nde insanlarda önemli enfeksiyonlara yol açtığı bildirilmiştir (Brooks vd., 2005).

STEC patotipleri, sayısız virülans faktör içeren genlerini yatay gen transferi yoluyla kazanması veya kaybetmesi ile karakterize edilmektedir. *E. coli* O157:H7’nin, ortak atası olan *E. coli* K-12’den 4,5 milyon yıl önce ayrıldığına inanılmaktadır. Atipik EPEC serotipi olan O55:H7’nin de *E. coli* O157:H7’nin öncüsü olduğu kabul edilmektedir (Whittam, 1998).

EHEC suşları klinik olarak hastalıklarda önemli rolü olmasının yanı sıra bakteriyel enfeksiyonlarda model olması açısından birçok çalışmanın konusu haline gelmiştir. EHEC suşları, bağırsak epiteli ile etkileşime geçerek konakçının hücre fonksiyonlarını etkilemektedir. Bağırsak florasındaki diğer bakterilerin ve memeli hücrelerinin metabolik ürünlerini algılayarak gen ifadelerini düzenlemektedir. Ayrıca konakçının hücreleri tarafından emilen sitotoksinler üreterek hayati açıdan tehlike oluşturabilecek hastalıklara yol açabilmektedir. *E. coli* O157:H7 ve diğer STEC suşları insanlara öncelikli olarak bulaşı olmuş yiyeceklerin tüketimiyle geçmektedir (Donnenberg, 2013). Enfeksiyona sebep olan doz EHEC suşları için oldukça düşüktür. Bu miktar 50 KOB canlı hücreden daha azdır (Tilden vd., 1996). EHEC suşları, asit dirençliliğini düzenleyen en az 3 adet aside karşı dirençlilik sistemine (AR1, AR2 ve AR3) sahiptir. EHEC suşları mideden geçtikten sonra konakçıda etkili bir biçimde koloni oluşturmak ve normal mikrobiyota ile yarışabilmek için kalın bağırsaktaki luminal yüzeye tutunmak zorundadır. Bunu sağlamak için EHEC suşlarında fimbrial ve fimbrial olmayan adezinler ile konakçı mukozasıyla etkileşime girerek koloni oluşturmayı ve hastalıkları teşvik edici birçok yüzey faktörleri kodludur (La Ragione vd., 2000). EHEC'e özgü uzun kutuplu fimbriaların (long polar fimbriae: LPF), bu suşların tavşan yavrularının bağırsaklarında koloni oluşturmadan sorumlu oldukları belirlenmiştir (Lloyd vd., 2012). Buna ek olarak bakterinin, Tip IV pilus olan ve EHEC suşlarının diğer *E. coli* suşlarıyla da ortak olan hemorajik coli pilusu (hemorrhagic coli pilus: HCP) oluşturamaması ineklerde bağırsak epiteline tutunma özelliğinde büyük bir düşüş göstermiştir (Xicohtencatl-Cortes vd., 2009a). Dahası, hemorajik coli pilusu bulunan EHEC suşları hemolitik üremik sendroma yol açan antijen üretmektedir (Xicohtencatl-Cortes vd., 2009b). EHEC patotiplerinin virulans faktörlerinin ekspresyonu çoğunlukla *stx* gen bölgesi, büyük pO157 plazmidi ve LEE bölgesi tarafından düzenlenmektedir (Mellies vd., 2007).

### **2.5.3. Enterotoksijenik *Escherichia coli***

ETEC suşları, çeşitli patotipleri içinde barındıran ve ishale neden olan mikroorganizmalardır. Bu patotiplerin ortak özelliği ısıya dirençli olmayan (heat-labile, LT) ve/veya ısıya dirençli (heat-stable, ST) enterotoksinleri üretme

yeteneklerinin olmasıdır. Bu enterotoksinler, ince bağırsaktaki reseptörleri hedef almaktadırlar.

ETEC suşlarının varlığı ilk olarak 1950'lerde ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda sulu ishal olan hastalardan alınan dışkı örneklerinde *Vibrio cholerae*'nin neden olduğu koleraya benzeyen belirtiler tespit edilmiş, fakat dışkı örnekleri *V. cholerae* negatif bulunmuştur. Bu dışkı örneklerinde kolera toksinine benzer toksinler tespit edilmiş fakat izole edilen saf kültürler *E. coli* varlığını göstermiştir. Böylece bu suşlar ETEC olarak tanımlanmıştır (Sack, 2011). ETEC suşları, fenotipik ve genotipik olarak çeşitlilik göstermektedir. Bu özelliklerinin ST ve LT gen bölgelerine sahip olmalarıyla ilgili olduğu belirtilmiştir (So, 1976).

1992-2000 yılları arasında yapılan bir araştırmada, gelişmekte olan ülkelerde, özellikle 5 yaş altı çocuklarda, görülen ölüme yol açan ishal vakalarının yılda 1,2 ile 2,6 milyon arasında olduğu belirtilmiştir (Kosek vd., 2003). ETEC suşlarından kaynaklanan ishal nedeniyle ölümlerin ise bu ölümler içerisinde %14'lük payla ilk sırada geldiği bildirilmiştir (Petri vd., 2008). Seyahat sırasında görülen ishallerin de ETEC suşlarından kaynaklandığı görülmüştür. Bunun önlenmesi amacıyla ETEC suşlarına karşı antimikrobiyal preparatlar ve aşılarda geliştirilmiştir (Sack, 1990).

Diğer patojenlerde olduğu gibi ETEC suşları da virülans gen ekspresyonunu çevre koşullarına göre düzenlemektedir. Siklik adenozin monofosfat (cAMP) moleküllerinin ETEC suşlarının virülans genlerinin ifadesinde önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. cAMP reseptör proteinleri (CRP) cAMP ile bileşik oluşturarak etkinleşmekte ve LT gibi genlerin ifadesini baskılamaktadır. Genellikle glikoz moleküllerinin varlığına bağlı olarak bu düzenlemeleri yapmaktadır. LT gen kodları, ortamda glikoz varsa ifade edilirken, pili gibi yapıları ifade eden genler glikoz varlığında baskılanmaktadır. Yüksek glikoz konsantrasyonu bakteriyel adenilat siklaz enzimini inhibe ederek cAMP miktarını, dolayısıyla CRP miktarını düşürmektedir. Bu düşüş LT genlerinin kodlandığı *eltA* gen bölgesinin ekspresyonunu sağlamaktadır (Bodero ve Munson, 2009; McDonough ve Rodriguez, 2012).

ETEC suşlarının tanımlanmasını sağlayan asıl efektör moleküller, bu suşlar tarafından salgılanan spesifik LT ve ST enterotoksinleridir. ETEC suşları bunlardan birini veya ikisini birden üretebilmektedir. LT enterotoksini, tek bir A alt birimi ve bir pentamer olan B alt biriminden oluşan hetero hegzamerik bir moleküldür. Toksin aktivitesinden A alt birimi sorumluyken, B alt birimi ise büyük oranda konakçı hücreye tutunmadan sorumludur. A alt birimi A1 ve A2 olmak üzere iki ana bölgeden oluşmaktadır. A1 bölgesi toksisiteden sorumluyken, A2 bölgesi A alt birimini kovalent olmayan bağlarla B pentamerin merkezine bağlamaktadır (Sixma vd. 1991).

ETEC suşları LT enterotoksini salgılayabilmek için *Vibrio cholerae*'daki salgı sistemi CT (Cholera toxin)'ye benzeyen fonksiyonel tip II salgılama sistemine sahiptir (Tauschek vd. 2002). Fleckenstein (2000)'ın yaptığı bir çalışmada ETEC H10407 suşunda LT salgılama sisteminin *leoA* patojenite adasında bulunan bir veya daha fazla gen tarafından düzenlendiği bildirilmiştir.

ETEC suşları tarafından salgılanan ST enterotoksini, bir veya daha fazla plazmitte kodlanmış, sistein içeriği bakımından zengin, küçük peptitlerdir. Guanilil siklaz C (GC-C) bölgesinden bağırsak epitel hücresinin yüzeyine bağlanmaktadır (Potter, 2011).

#### **2.5.4. Enteroinvazif *Escherichia coli* ve *Shigella***

Basil kaynaklı dizanteri ya da şigellozun kaynağının *Shigella* cinsi bakterilerin ve bir grup enteroinvazif *E. coli* (EIEC) olarak adlandırılan patojenik *E. coli* suşlarının olduğu bilinmektedir. Dizanteri terimi ilk olarak Hipokrat tarafından, sancılı karın ağrılarıyla kendini gösteren, kanlı ve mukuslu dışkıyı tarif etmek için kullanılmıştır. Dizanteri gelişmekte olan ülkelerin yanı sıra gelişmiş ülkelerde de önemli bir hastalıktır. 1966 ile 1997 yılları arasında Kotloff (1999) tarafından yapılan bir araştırmada, dünyada yılda 163 milyondan fazla kişiye şigelloz teşhisi konulduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada yılda, büyük çoğunluğunu 5 yaş altı çocukların oluşturduğu, bir milyona yakın insanın bu hastalıktan öldüğü belirtilmiştir.

Dizanteriye sebep olan *Shigella* cinslerinin ve EIEC suşlarından ayırt edilmesi klinik olarak mümkündür. Özellikle Brenner (1969)'ın başlattığı DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarının ardından Pupo (1997)'nin çoklu bölge enzim elektroforezi ile yaptığı çalışmalar ve son olarak Sims ve Kim (2011)'in yaptığı tüm genom dizileme çalışmaları ile *Shigella* cinslerinin kökeninin *E. coli* türünden geldiğini ortaya koymuştur.

*Shigella* türü olan *Shigella dysenteriae* ilk olarak 1898 yılında Japon mikrobiyolog Dr. Kiyoshi Shiga tarafından dizanteri hastasının dışkılarından izole edilerek keşfedilmiştir (Trofa vd. 1999). *S. boydii*, *S. flexneri* ve *S. sonnei* olmak üzere üç *Shigella* türü daha sonradan tanımlanmış, metabolik aktivitelerine ve serotiplerine göre gruplandırılmıştır. *S. dysenteriae* grup A, *S. flexneri* grup B, *S. boydii* grup C ve *S. sonnei* grup D olarak belirlenmiştir. Bu dört grup *Shigella* türü somatik O antijenine göre 41 serotipe ayrılmıştır.

Dizanteriye yol açan EIEC suşları, 1970'lerde tanımlanmıştır. İnsan mikrobiyotasında bulunan *E. coli* suşlarının aksine EIEC suşları hareketsizdir. İzolatların %70'i laktozu fermente edememektedir (Silva vd. 1980). Yine invazif olmayan *E. coli* suşlarının %90'ı lizin dekarboksilaz (LDC) aktivitesi gösterirken, EIEC suşlarının LDC aktivitesinin negatif olduğu bildirilmiştir. Bu özellikleri dolayısıyla EIEC suşları *Shigella* türleri ile benzerlik göstermektedir. Hatta bazı EIEC serotiplerinin O-antijenlerinin *Shigella* türlerinininkiyle özdeş olduğu belirtilmiştir. Bunların yanı sıra EIEC suşları ksilozu fermente edebilme ve glikozdan gaz oluşturabilme özellikleriyle diğer *E. coli* suşlarıyla benzerlik göstermiştir. *Shigella* türlerinin ise bu özelliklerinin negatif olduğu bildirilmiştir (Donnenberg, 2013).

*Shigella* türleri ve EIEC suşları, kalın bağırsak epiteline tutunarak hastalığa neden olmaktadır. Dizanterinin klinik belirtileri ishal başlangıcını takiben, patotiplerin bağırsak epiteline tutunması, burada çoğalması ve bu bölgede şiddetli enfeksiyonların görülmesiyle kendini göstermektedir. Rout vd. (1975)'nin denek maymunlar üzerinde yaptığı bir çalışmada *Shigella* türlerinin, ince bağırsakta koloni oluşturduklarında, sadece hafif ve geçici bir doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir. *Shigella* türlerinin ve EIEC suşlarının ince bağırsak epiteline tutunarak

ürettiği enterotoksinlerin, sonradan dizanteri başlangıcına çevrilen ishale yol açtıkları bildirilmiştir (Fasano vd., 1995; Nataro vd., 1995). Yapılan çalışmalar neticesinde, jejunal salgıların da bu enterotoksinlerden etkilenerek, bakterilerin ince bağırsaktan - koloni oluşturdukları ve hastalık yaptıkları- kalın bağırsağa geçişini kolaylaştırdığına inanılmaktadır.

*E. coli* K-12 donörü ile *S. flexneri* 2a alıcısıyla yapılan gen transferi çalışmalarında *Shigella* virülans faktörünün transferi sağlanmıştır. *E. coli* K-12 suşundan *xyl-rha* gen bölgesini alan *S. flexneri* 2a, epitel hücrelerini kaplama yeteneğini kazanmıştır. Bu hibrit suşun, kobaylar üzerinde ölümcül enfeksiyonlara yol açmadığı belirtilmiştir (Falkow vd., 1963).

Bakterilerin koloni oluşturma ve hastalıklara neden olma kabiliyetleri her ne kadar virülans genlerin ifadesiyle mümkün olsa da *Shigella* türlerinin ve EIEC suşlarının virülans özelliklerinin, sıcaklıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir. *Shigella* patotipleri 37 °C’de geliştiklerinde memeli hücrelerini kaplama kabiliyetine sahipken, 30 °C’de gelişen patotiplerde bu özelliğin görülmediği bildirilmiştir. 30 °C’de gelişen özelliklerini kaybetmiş patotiplerin 37 °C’ye alınmasıyla bu özelliklerini tekrar kazanarak virülans faktörlerini tekrar ifade edebildikleri belirtilmiştir (Maurelli vd., 1984). Benzer şekilde EIEC suşlarında da virülans faktörler sıcaklıkla kontrol edilmektedir (Small ve Falkow, 1988). Virülans genlerin ifadesinin sıcaklıkla düzenlenmesi, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bordetella pertussis*, *Yersinia* spp., ve *Listeria monocytogenes* gibi diğer insan patojenleri için ortak bir özelliktir. Çevre sıcaklığına bağlı gen ifadesinin düzenlenmesi, bakteriler açısından üstünlük sağlamaktadır. Bu yetenekleriyle *Shigella* ve EIEC, ortam sıcaklığına göre, örneğin memeli konakçıların vücut sıcaklıkları gibi 37 °C’de, genlerini ifade etmekte ve konakçı dışında bulduklarında virülans genleri ifade etmeyerek enerjiden tasarruf sağlamaktadır. Bu sistem aynı zamanda bakterinin, virülans fenotipin tamamen ifadesini gerektiren diğer birçok genin ayarlanmasını da düzenlemektedir (Donnenberg, 2013).

*Shigella* ve EIEC suşlarının virülans genleri hem kromozomda, hem de plazmitlerde kodlanmıştır. *Shigella* türlerinde büyük bir plazmitin, bağırsak epiteline yayılmada etkili olduğu belirtilmiştir. *S. sonnei*’de bulunan 180 kilobazlık bir plazmit, *S.*

*flexneri*'de bulunan 220 kilobazlık bir plazmitin bağırsak epitel hücrelerine yayılmada gerekli gen bölgelerini içerdiği belirtilmiştir (Sansone vd. 1981). EIEC suşlarının plazmitlerinin de *S. flexneri*'yle belirgin bir DNA homolojisine sahip olduğu bulunmuştur (Harris vd., 1982).

*S. flexneri* 2a suşunda bulunan 37 kb'lık plazmitin bir bölgesinin, bakterinin doku kültür hücrelerine nüfuz etmesi için gerekli bütün genleri ihtiva ettiği belirlenmiştir. Bu DNA parçası, *S. flexneri* türevlerini oluşturmak için gerekli virülans plazmitin en küçük parçası olarak tanımlanmıştır (Maurelli vd., 1985). Bu bölgede *ipa*, *mxi* ve *spa* olmak üzere 3 büyük operona ayrılan 34 virülans gen kodlanmıştır. *mxi* ve *spa* operonlarında T3SS'nin alt birimleri kodlanmıştır. *ipa* operonunda ise T3SS tarafından salgılanan proteinler kodlanmıştır (Galan ve Wolf-Watz, 2006).

Gram negatif bakterilerde *ipa* gen bölgesinin ekspresyonu sonucu oluşan ürünlerin, besiyeri ortamında sinyal molekülleri olmasa bile hücre dışına salgılandığı görülmüştür. *ipa* salgısı T3SS aracılığıyla *mxi/spa* bölgesinin gen ürünleri tarafından oluşturulmaktadır (Schroeder ve Hilbi, 2008). Buchrieser vd. (2000)'nin yaptığı çalışmada, *Shigella* spp. mutantlarının kültür süpernatantlarının analizinde, T3SS'nin aktivitesini belirleyen 14 protein daha bulunmuştur. Bu proteinlerin arasında *VirA*, *ipaH7.8* ve *ipaH9.8* gibi proteinlerin yanı sıra *Osp* (outer *Shigella* proteins) proteinleri olarak da bilinen *Shigella* harici proteinlerin de bulunduğu bildirilmiştir. *VirA*, optimum *Shigella* invazyonu ve hücreler arası yayılma için gerekli 44,7 kDa'lık bir proteindir (Uchiya vd. 1995). *ipaH* proteinlerinin hem kromozomda, hem de virülans plazmitte allelleri kodlanmıştır. Ayrıca yapılan 30 °C ve 37 °C'de kültür çalışmaları *ipaH* ekspresyonunun sıcaklığa bağlı olmadığı belirtilmiştir (Hartman vd. 1990). Plazmitte ve kromozomda birkaç *ipaH* kopyasının varlığı, *Shigella* ve EIEC suşlarının geniş bir alanda bu mikroorganizmaların tanımlanmasını sağlayacak bir prob olarak kullanılmasının yolunu açmıştır (Venkatesan vd., 1989).

#### **2.5.5. Enteroaggregatif *Escherichia coli***

Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC) çoğunlukla çocuklarda ve yetişkinlerde görülen kalıcı ishale ilişkilendirilen *E. coli* türlerindedir. Dünyada birkaç ishal salgınından

sorumlu oldukları bildirilmiştir. EAEC enfeksiyonlarının genellikle gıda ve su kaynaklarının kirlenmesine bağlı olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir. EAEC, ishal yapan ancak ETEC’de olduğu gibi ST veya LT toksinleri salgılamayan *E. coli* patotiplerinden biri olarak tanımlanmıştır. EAEC suşları kendine özgü olarak, insan epitelyum hücresi olan HEp2 hücrelerine tutunup birbiri üstüne yığılarak “yığılmış tuğla” deseni oluşturmaktadır (Olesen vd., 2012).

EAEC suşlarının HEp-2 hücrelerine ve bağırsak mukozasına tutunmasını, toplu tutunma fimbriaları (aggregative adherence fimbriae: AAFs) olarak bilinen bazı fimbrial yapılar sağlamaktadır. AAF’lerin en az dört çeşidinin olduğu ve her birine az sayıda EAEC suşunun sahip olduğu bildirilmiştir (Nataro vd., 1994).

EAEC enfeksiyonları genel olarak bakterinin bağırsak mukozasında koloni oluşturmasını takiben enterotoksin ve sitotoksinlerin salgısıyla devam etmektedir. İnsan bağırsağıyla yapılan çalışmalarda EAEC suşlarının ağrısız ancak önemli derecede mukoza hasarına yol açtıkları bildirilmiştir. Bu durumun özellikle kalın bağırsakta daha şiddetli olduğu gözlemlenmiştir (Hicks vd., 1996).

Akut ishale neden olan tipik EAEC suşlarının AggR regülonlarına sahip oldukları belirtilmiştir. Bununla birlikte bu regülonlara sahip olmayan atipik EAEC suşlarının akut ishale neden olmadıkları bildirilmiştir (Sarantuya vd., 2004).

EAEC suşlarının patojenitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu suşların sadece bir kısmında mukoza yüzeyine tutunma yeteneğinin olduğu gözlemlenmiştir. JM221 suşuyla yapılan çalışmalarda, tüm hastalarda bağırsak semptomlarının ortaya çıkmadığı belirtilmiştir. Bu sonuçlara göre EAEC suşlarının virülans özelliklerinin farklılık gösterdiği ortaya koymuştur (Gascon vd., 1998).

#### **2.5.6. Üropatojenik *Escherichia coli***

Üropatojenik *E. coli* (UPEC), patojenik *E. coli* türleri içinde bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olan bir grup bakteridir. Genellikle bulaşı olmuş su ve gıda kaynaklarıyla alınan UPEC suşları kan dolaşımı yoluyla böbreklere ulaşarak piyelonefrit ya da ürosepsise neden olmaktadır. Bunun sonucunda böbreklerin

iltihaplanmasıyla sistit, idrar yolu enfeksiyonları ve asemptomatik bakteriüri gibi hastalıklar görülmektedir (Donnenberg, 2013).

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) dünyada en sık rastlanan ikinci enfeksiyon türüdür. İYE sebebi fekal bakteriler olmakla birlikte yaklaşık %80 oranında UPEC suşları öncelikli etkindir. UPEC suşlarının steril olan periüretal bölgeye bulaşması ile İYE'ler oluşmaktadır (Ronald, 2002).

UPEC suşlarının idrar yollarında koloni oluşturması, enfeksiyonun gelişmesi için ilk adımdır. Epitel hücrelere tutunmanın gerçekleşmemesi halinde UPEC suşları idrar gücüyle dışarı atılabilmektedir. UPEC suşlarının birkaç farklı tutunma mekanizması vardır. Bunlar fimbrialar, çubuk şeklinde ikincil uzantılar, fibriller, afimbrial adezinler gibi yapılardır (Snyder vd., 2005). UPEC suşlarından *E. coli* CFT073 genomunda 12 adet fimbrial operonun kodlandığı belirtilmiştir (Welch vd., 2002).

UPEC suşları idrar yolunda hayatta kalabilmek için konakçı hücrelerinden demir elde edecek mekanizmalar geliştirmiştir. İnsan vücudunda yaşamın devamı için esansiyel olan demiri kullanabilmek için heme, laktoferrin, transferrin ve lipokalin-2 gibi yapılar kullanılmaktadır. UPEC suşları demiri bu yapılardan ayırabilmek için demir şelasyonunu sağlayan sideroforlardan yararlanmaktadır. UPEC suşları bunun için aerobaktin, enterobaktin, salmochelin ve yersiniabaktin olmak üzere dört çeşit siderofor sentezleyebilmektedir (Russo vd. 2002).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bakteri kültürleri

Gerçek zamanlı PZR analizinde pozitif kontrol olarak DSMZ (Almanya Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürü Koleksiyonu)'den temin edilen *E. coli* DSM 8698, DSM 9026, DSM 10974 ve DSM 10973 suşları referans suş olarak kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Primer dizaynı

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılmak üzere 7 çift primer seti, Sentromer DNA Teknolojileri firmasından temin edilmiştir. Kullanılan primerlerin baz dizileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. PZR reaksiyonunda kullanılan oligoların baz dizisi

Patotip	Hedef	Baz dizisi 5'-3'	Hedef Ürün Tm (°C)	Referans
VTEC	VT1	CAT TGT CTG GTG ACA GTA GCT CCC GTA ATT TGC GCA CTG AG	84-85	Bischoff Vd. 2005
	VT2	CCA TGA CAA CGG ACA GCA GTT CCT GTC AAC TGA GCA CTT TG	86-87	
EPEC	<i>eaeA</i>	GTG GCG AAT ACT GGC GAG ACT CCC CAT TCT TTT TCA CCG TCG	85-86	
	pCVD432	CTG GCG AAA GAC TGT ATC AT CAA TGT ATA GAA ATC CGC TGT T	78-79	
ETEC	ST	TCT GTA TTG TCT TTT TCA CC TTA ATA GCA CCC GGT ACA AGC	79-80	
	LT	GGC GAC AGA TTA TAC CGT GC CCG AAT TCT GTT ATA TAT GTC	83-84	
EIEC	<i>ipaH</i>	TGG AAA AAC TCA GTG CCT CT CCA GTC CGT AAA TTC ATT CT	87-88	

### **3.1.3. DNA izolasyonu**

Su örneklerinden izole edilen ve doğrulaması yapılan suşlardan DNA elde etmek için ticari Thermo Scientific Genomic DNA Purification Kit (ThermoFisher, ABD) kullanılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda genomik DNA izolasyonu yapılmıştır.

### **3.1.4. Gerçek zamanlı PZR**

Gerçek zamanlı PZR reaksiyonu için Thermo Scientific DyNAmo ColorFlash SYBR Green qPCR Kit (ThermoScientific, ABD) ve Thermo Scientific Nuclease-Free Water (Thermo Scientific, ABD) kullanılmıştır.

### **3.1.5. RFLP analizi**

Sınırlayıcı enzim parça uzunluğu çeşitliliği (RFLP) analizi için FastDigest EcoRI (Thermo Fischer, ABD) restriksiyon enzimi kullanılmıştır.

### **3.1.6. Jel elektroforez**

Jel elektroforez analizi için 13 taraklı yatay tank kullanılmıştır. Jelin hazırlanmasında Agaroz (Sigma, Almanya) ve TAE (Tris-asetat EDTA) Buffer kullanılmıştır. Jelin görüntülenmesi Vilber Lourmat jel dökümantasyon sistemi (Almanya) ile yapılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Su örneklerinin toplanması**

Isparta ili çevresinde bulunan ve Isparta Belediyesi tarafından içme suyu kaynağı olarak kullanılan Andık Kaynağı'ndan 1 adet, Bezirgan Çayı'ndan 2 adet, Darıderesi Barajı'ndan 2 adet ve Eğirdir Gölü'nden pimaş borularla gelen sudan 1 adet olmak üzere toplam 6 adet su örneği her ay düzenli olarak alınmıştır. Su örneklerinin

alındığı yerler ile koordinatları Çizelge 3.2’de, numunelerin alınma tarihleri Çizelge 3.3’de gösterilmiştir. TS EN ISO 5667-3’e göre, steril ve 20 mg/L sodyum tiyosülfat içeren polipropilen şişelere (Lp Italiana, İtalya) aseptik koşullarda alınan su örnekleri, soğuk zincir korunarak SDÜ Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyal Teknoloji Laboratuvarı’na ulaştırılmıştır. Analizler 24 saat içinde yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Su numunelerinin alım noktaları

Kaynak kodu	Yer	Koordinat (X)	Koordinat (Y)
A1	Andık Deresi	545655.702	4179007.467
B1-B2	Bezirgan Çayı	547330.453	4180047.371
D1-D2	Darıderesi Baraj çıkışı	552929.01	4179292.36
E1	Eğirdir su pompası Eğirdir Gölü	548570.82 569891.7	4179939.33 4188500.04

Çizelge 3.3. Numune alınan su kaynaklarının kodu ve numune alma tarihi

Kaynak kodu	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz
A1	08.04.2015	14.05.2015	17.06.2015	15.07.2015
B1	08.04.2015	14.05.2015	17.06.2015	15.07.2015
B2	08.04.2015	14.05.2015	17.06.2015	15.07.2015
D1	08.04.2015	14.05.2015	17.06.2015	15.07.2015
D2	08.04.2015	14.05.2015	17.06.2015	15.07.2015
E1	08.04.2015	14.05.2015	17.06.2015	15.07.2015
Kaynak kodu	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım
A1	19.08.2015	19.09.2015	22.10.2015	27.11.2015
B1	19.08.2015	19.09.2015	22.10.2015	27.11.2015
B2	19.08.2015	19.09.2015	22.10.2015	27.11.2015
D1	19.08.2015	19.09.2015	22.10.2015	27.11.2015
D2	19.08.2015	19.09.2015	22.10.2015	27.11.2015
E1	19.08.2015	19.09.2015	22.10.2015	27.11.2015
Kaynak kodu	Aralık	Ocak	Şubat	
A1	31.12.2015	02.02.2016	26.02.2016	
B1	31.12.2015	02.02.2016	26.02.2016	
B2	31.12.2015	02.02.2016	26.02.2016	
D1	31.12.2015	02.02.2016	26.02.2016	
D2	31.12.2015	02.02.2016	26.02.2016	
E1	31.12.2015	02.02.2016	26.02.2016	

(A1: Andık Kaynağı, B1: Bezirgan Çayı’nın durgun kısmı, B2: Bezirgan Çayı’nın akan kısmı, D1: Darıderesi Baraj çıkışı, D2: Darıderesi Baraj Gölü, E1: Eğirdir Gölü)

### **3.2.2. Su örneklerinin mikrobiyolojik sayımları**

Su örneklerinde *E. coli* ve koliform bakterilerin aranması ve sayımı TS EN ISO 9308-1'e göre yapılmıştır. Örnekler standartta belirtildiği şekilde aseptik şartlarda alındıktan sonra 24 saat içinde mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Aseptik şartlarda, gerekli seyreltmeleri yapılan örnekler membran filtrasyon sistemi kullanılarak 0,45 µm por çaplı steril membran filtrelerden (Millipore, Almanya) geçirilmiştir. Membran filtre, altta hava kabarcığı kalmayacak şekilde TTC-Tergitol laktozlu agar (Merck, Almanya) besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. Bu şekilde paralel olarak hazırlanan besiyerleri toplam koliform sayısını belirlemek amacıyla 24 saat 36 °C ve fekal (termotoleran) koliform sayısını belirlemek için 24 saat 44 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerlerinde oluşan koloniler sayılmıştır.

### **3.2.3. Doğrulama testleri**

Membran filtre üzerinde sarı, turuncu ve kırmızı renkli tipik koloniler seçilip saflaştırılmıştır. Bu amaçla izolatlar Tryptic Soy (CASO) Agar (Merck, Almanya) besiyerine aseptik koşullarda sürülerek 36 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Saflaştırılan koloniler lam üzerine alınarak Gram boyama seti (Merck, Almanya) ile boyanmıştır. Boyanan hücrelerin Gram tepkimeleri ve hücre morfolojileri mikroskop altında incelenmiştir. Gram negatif, çubuk şekilli bakteriler ileri doğrulama testleri için seçilmiştir.

#### **3.2.3.1. Oksidaz testi**

Gram negatif ve çubuk şeklinde olduğu belirlenen izolatlara oksidaz testi yapılmıştır. Bu amaçla Bactident Oxidase (Merck, Almanya) oksidaz test çubukları kullanılmıştır. Platin öze ile TSA üzerinde oluşan koloniler alınıp test çubuğuna sürülmüştür. 30 saniye içinde test çubuğunda renk değişimine neden olmayan suşlar oksidaz negatif olarak seçilmiştir ve ileri doğrulama testlerine bu suşlarla devam edilmiştir.

### 3.2.3.2. $\beta$ -Glukuronidaz ve indol testi

Gram tepkimeleri ve oksidaz aktivitelerine göre seçilen izolatlar CASO Broth (Merck, Almanya) besiyerine alınarak 36 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen kültürden %1 oranında Fluorocult® Lauryl Sulfate Broth (Merck, Almanya) besiyerine ekim yapılmıştır. Tüpler 44 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra Vilber Lourmat marka jel görüntüleme sisteminde 366 nm dalga boyu altında floresan veren tüpler işaretlenmiştir. Floresan veren tüplere 0,3 ml Kovacs indol reaktifi (Merck, Almanya) damlatılarak indol üretimine bakılmıştır. Sıvı besiyeri üzerinde kırmızı halka oluşumu ile indol üretimi doğrulanmıştır.

### 3.2.4. Mikrobiyolojik değerlendirme

Değerlendirmenin ardından numunelerdeki *E. coli* ve koliform grup sayıları TS EN ISO 9308-1'e göre aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Koloni Sayısı/100 ml} = \frac{(\text{Toplam Şüpheli Koloni Sayısı}) \times (\text{Doğrulanmış Koloni Sayısı})}{(\text{Test Edilen Koloni Sayısı})}$$

Mikrobiyolojik verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Orman ve Su İşleri Bakanlığının Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliğinde belirtilen şekilde yapılmıştır (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2015).

### 3.2.5. İzolatların muhafazası

Doğrulama testleri ile *E. coli* olduğu belirlenen izolatlar TSB besiyerinde 36 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Saf kültürler %20 gliserol ve %80 aktif kültür olacak şekilde hazırlanıp steril cryo tüplere alınmıştır. Stok kültürler -18°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.6. DNA izolasyonu

Doğrulan *E. coli* suşlarından DNA izole etmek amacıyla, her bir suş 5 ml TSB besiyerinde 36°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Aktifleştirilen suşların 1 ml'si 1,8 ml'lik eppendorf tüplerine aseptik koşullarda pipetlenmiştir. Tüpler daha sonra 5000 g'de 10 dakika mikrosantrifüj cihazında (Thermo Scientific, ABD) santrifüjlenerek süpernatant kısmı atılmıştır. Dipte kalan hücreleri yıkamak için pelet kısım 1 ml sterilize saf suda homojen hale getirilerek yıkanmıştır. Tekrar 5000 g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısım dökülerek pelet elde edilmiştir. Bu aşamadan sonra DNA izolasyonu için ticari Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kiti (Thermo Scientific, ABD) kullanılmıştır. Kit protokolüne göre izolasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen pelet 180 µL Digestion Solution içinde çözülmüş ve üzerine 20 µL Proteinase K solüsyonu eklenerek, homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırılmıştır. Örnek, 56°C'de blok ısıtıcıda belirli aralıklarla tüp karıştırıcısında karıştırılarak yaklaşık 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 20 µL RNase A solüsyonu eklenmiştir. Karıştırılan örnek oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Örnek üzerine 200 µL liziz solüsyonu eklenmiş ve homojen bir karışım elde edilene kadar 15 saniye karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra örneğe 400 µL %50'lik etanol eklenmiş ve örnek tekrar karıştırılmıştır. Hazırlanan lizat, kitte bulunan kolona (GeneJet Genomic DNA Purification Column) aktarılmış ve kolon 6000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Kolona 500 µL Wash Buffer I eklenmiş ve 8000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Kolona 500 µL Wash Buffer II eklenerek 14500 g'de 3 dakika santrifüjlenmiştir. Sonrasında kolon, 1,5 mL'lik steril mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiş ve üzerine 200 µL Elution Buffer eklenmiştir. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 8000 g'de 1 dakika santrifüjlenerek, kolona tutunmuş olan DNA'nın mikrosantrifüj tüpüne geçmesi sağlanmıştır. Bu şekilde elde edilen genomik DNA moleküler çalışmalarda kullanılabilecek kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.7. Gerçek zamanlı PZR

Gerçek zamanlı PZR bileşenleri, Thermo Scientific DyNAmo ColorFlash SYBR Green qPCR Kit (ThermoScientific, ABD)'e göre hazırlanmıştır. Master mix protokolüne göre bileşenler Çizelge 3.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Gerçek zamanlı PZR bileşenleri

<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
2x Master mix	10 $\mu$ L
Primer karışımı	0.5 $\mu$ M ileri primer 0.5 $\mu$ M geri primer
DNA	5 ng/ $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	20 $\mu$ L'ye tamamlandı
<b>Toplam</b>	<b>20<math>\mu</math>L</b>

Bileşenler karıştırıldıktan sonra Thermo 96-Well Plates (ThermoFisher, ABD) plakalara pipetlenmiştir. Plakalar PikoReal 96 Real-Time PCR System (ThermoFisher, ABD) gerçek zamanlı PZR döngü cihazına konarak master mix protokolüne göre analiz yapılmıştır. Çizelge 3.5'de gerçek zamanlı termal döngü cihazı için kullanılan sıcaklık, süre ve döngü sayıları verilmiştir.

Çizelge 3.5. Gerçek zamanlı PZR cihazı döngü sayıları

<b>Döngü</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>
İlk denaturasyon	95°C	7 dakika
Denaturasyon	95°C	10 saniye
Annealing/Uzama	60°C	30 saniye
X40 döngü		

### 3.2.8. RFLP analizi

RFLP analizinde kullanılmak üzere, *E. coli*'ye özgü EcoRI restriksiyon enzimi kullanılmıştır. Temin edilen ticari FastDigest EcoRI (Thermo Fischer, ABD) restriksiyon enzim kitinin protokolüne göre hazırlanan tepkime bileşenleri Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. RFLP analiz bileşenleri

<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
H <sub>2</sub> O	17µL
10X FastDigest tampon	2µL
PZR ürünü	10µL
10X FastDigest enzim	1µL
<b>Toplam</b>	<b>30µL</b>

Bileşenler oda sıcaklığında steril eppendorf tüpünde hazırlanmıştır. Daha sonra blok ısıtıcıda 37°C’de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda eppendorf tüpleri 80°C’de 5 dakika bekletilerek restriksiyon enziminin inaktivasyonu sağlanmıştır.

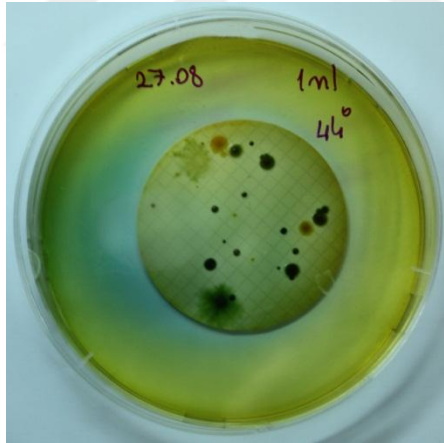
### **3.2.9. Jel elektroforez analizi**

RFLP analizinin ardından ürünler %1’lik agaroz jel kuyucuklarına pipetlenmiştir. 80V’da yürütülen DNA parçaları etidyum bromür ile boyanarak Vilber Lourmat jel dökümantasyon sistemi ile incelenmiştir. Jel fotoğrafları Vision-Capt Software (Analıs, Belçika) programı ile çekilmiştir. Bantların molekül ağırlıkları, kullanılan marköre göre aynı program ile hesaplanmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Fekal ve Toplam Koliform Sayım Sonuçları

Su rneklerinin alındığı yerler Ek A'da gösterilmiştir. Nisan 2015-Şubat 2016 tarihleri arasında Ek A'da verilen yerlerden toplam 57 adet su rneği alınmıştır. D1 ile gösterilen noktada Darıderesi Barajı'nın çıkışı bulunmaktadır. Baraj göletinde bulunan suyun seviyesinin dŐuk olması sebebiyle Temmuz 2015 ile Şubat 2016 tarihleri arasında baraj kapakları açılmamıŐtır. Bu nedenle bu tarihler arasında D1 noktasından numune alınamamıŐtır. D2 ile gösterilen Darıderesi Baraj Gölü içerisindeki su miktarının az olması ve gle ulaŐım sağlanamamasından Aralık ayında numune alınamamıŐtır. Diğer noktalardan ise herhangi bir sorun yaŐanmadan örnekler alınmıştır. Alınan su örneklerinde toplam ve fekal koliform sayımları 3.2.2'de belirtildiği Şekilde yapılmıştır. Toplam koliform sayım sonuçları izelge 4.1'de, fekal koliform sayım sonuçları ise izelge 4.2'de verilmiştir. Tipik kolonilerin olduğu petri grntŐs Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. TTC agardaki tipik koloni grntŐleri

Çizelge 4.1. Su örneklerinin toplam koliform sayım sonuçları ( $\log_{10}$  KOB/100 ml)

	Andık Kaynağı	Bezirgan Çayı (durgun)	Bezirgan Çayı (akan)	Darıderesi Baraj çıkışı	Darıderesi Baraj Gölü	Eğirdir	
Nisan	<b>1,15±0,16</b>	<b>2,50±0,01</b>	<b>2,24±0,09</b>	<b>1,95±0,04</b>	2,32±0,03	1,89±0,09	
Mayıs	2,15±0,09	2,75±0,02	2,62±0,04	2,41±0,02	<b>2,25±0,01</b>	1,92±0,04	
Haziran	1,26±0,16	2,92±0,01	2,70±0,01	<b>3,03±0</b>	2,41±0,04	2,23±0,01	
Temmuz	2,15±0,06	3,00±0,02	3,24±0,02	Örnek yok	2,64±0,07	2,87±0,01	
Ağustos	2,38±0,03	3,64±0,03	4,53±0,05		3,31±0,03	3,93±0,02	
Eylül	2,15±0,04	2,89±0,01	3,96±0,04		3,05±0,06	2,81±0,12	
Ekim	2,70±0,01	3,12±0,03	<b>4,67±0,09</b>		<b>3,36±0,03</b>	<b>4,30±0,03</b>	
Kasım	2,58±0,07	<b>3,91±0,03</b>	3,95±0,23		2,86±0,1	2,30±0,03	
Aralık	2,48±0,04	3,83±0,04	3,81±0,15		Örnek yok	1,99±0,13	
Ocak	2,97±0	3,26±0,04	3,56±0,16		3,06±0,03	2,08±0,05	
Şubat	<b>3,08±0,21</b>	3,45±0,08	3,67±0,06		3,13±0,03	<b>1,23±0,07</b>	
<b>Ortalama</b>	2,28±0,62 <sup>c</sup>	3,21±0,46 <sup>ab</sup>	3,54±0,77 <sup>a</sup>		2,46	2,84±0,41 <sup>abc</sup>	2,50±1,01 <sup>bc</sup>

Alınan su örneklerinin toplam koliform sayıları genel olarak incelendiğinde, mikroorganizma sayılarının en düşük Nisan ve Mayıs aylarında olduğu görülmüştür. Eğirdir Gölü'nden alınan örnekte ise en düşük mikroorganizma sayısı Ocak ayında tespit edilmiştir. En yüksek mikroorganizma sayılarının ise Ekim ve Kasım aylarında olduğu belirlenmiştir. Bezirgan Çayı'nda en yüksek mikroorganizma sayısı Ekim ayında bulunmuştur.

Andık Kaynağı'ndan alınan su örneklerinin toplam koliform sayısının 1,15 ile 3,08  $\log_{10}$  KOB /100 ml arasında değiştiği görülmüştür. 11 ay boyunca alınan su örneklerine göre Andık Kaynağı'nın toplam koliform içeriği ortalama 2,28  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olarak bulunmuştur.

Bezirgan Çayı'nın durgun kısmından alınan su örneklerinin toplam koliform bakteri içeriğinin 2,50 ile 3,91  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında olduğu tespit edilmiştir. 11 ay

boyunca alınan su örneklerinin ortalaması alındığında toplam koliform sayısının 3,21  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu görülmüştür.

Bezirgan Çayı'nın akan kısmından alınan su örnekleri incelendiğinde toplam koliform grup sayısının 2,24 ila 4,67  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Ortalama toplam koliform sayısının ise 3,54  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu belirlenmiştir.

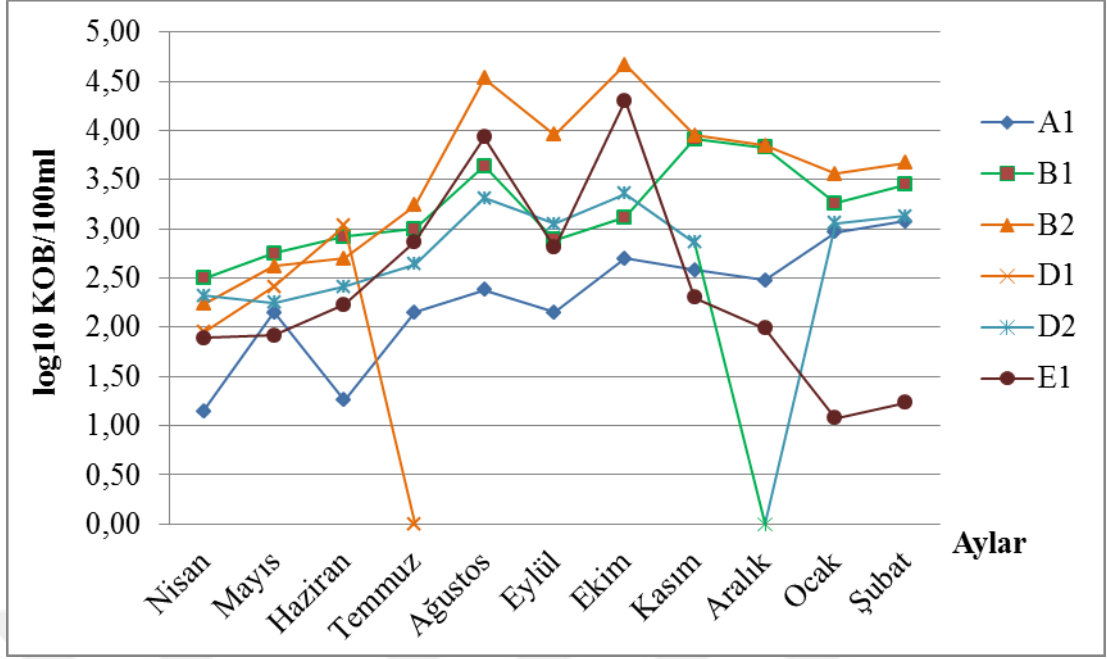
Darıderesi Barajı'nın çıkış kısmından alınan su örneklerinin toplam koliform sayısının 1,95 ile 3,03  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu belirlenmiştir. Bu noktadan baraj kapaklarının kapalı tutulması nedeniyle 3 ay örnek alınabilmiştir. Ortalama toplam koliform sayısının 2,46  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu görülmüştür.

Darıderesi Barajı'nın gölet kısmından alınan su örneklerinin toplam koliform sayısının 2,25 ile 3,36  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında değiştiği belirlenmiştir. 10 ay boyunca alınan su örneklerinin toplam koliform sayısının ortalaması 2,84  $\log_{10}$  KOB/100 ml olarak bulunmuştur.

Eğirdir Gölü'nden gelen içme suyunu taşıyan borudan alınan su örneklerinin toplam koliform sayısının 1,08 ile 4,30  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında değiştiği görülmüştür. 11 ay boyunca alınan örneklerin ortalaması 2,41  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olarak tespit edilmiştir.

En yüksek toplam koliform sayılarına bakıldığı zaman 4,67  $\log_{10}$  KOB / 100 ml ile Bezirgan Çayı'nın akan kısmı Ekim ayında en kirli düzeyde bulunmuştur. En düşük toplam koliform sayısı ise Eğirdir Gölü'nden Ocak ayında alınan su örneğinde 1,08  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olarak bulunmuştur.

Bütün veriler toplu olarak incelendiğinde Şekil 4.2'de gösterilen grafik elde edilmiştir.



Şekil 4.2. Toplam koliform sayılarının aylara göre değişimi.

Alınan su örneklerinden elde edilen toplam koliform sayıları ile yapılan varyans analizi sonucunda ay\*ay interaksyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bunun anlamı aylar arasındaki farklılığın sabit kalmayıp değişmiş olduğu sonucu bulunmuştur. Tukey testi sonuçları ortalamalar üzerinde latin harfleriyle gösterilmiştir.

Yapılan bölge\*bölge interaksyonu ile bölgelerin toplam koliform sayılarının ortalamaları arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Analiz sonucunda A1 bölgesi ile B1 ve B2 bölgeleri arasında istatistiksel açıdan fark gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). A1 bölgesi ile D2 ve E1 bölgeleri arasında ise istatistiksel açıdan farklılık görülmemiştir ( $p > 0,05$ ). B1 bölgesi ile diğer bölgeler karşılaştırıldığında aralarında fark görülmemiştir ( $p > 0,05$ ). B2 bölgesi ile D2 bölgesi arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). B2 bölgesi ile E1 bölgesi arasındaki fark ise önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). D2 bölgesi ile E1 bölgesi arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p > 0,05$ ).

Elde edilen bulguların Orman ve Su İşleri Bakanlığı tarafından hazırlanan “Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği’ne göre değerlendirilmesi tüm fekal kirlilik indikatörleriyle birlikte daha sonra yapılacaktır.

Taşıdığı önem nedeniyle sularda fekal kirlilik ulusal ve uluslararası dergilerde yayınlanmış çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Ulaşılabilen çalışmalar dikkate alındığında su örneklerinin çeşitli nehirlerden, göllerden ve işlenmiş hatta şişelenerek satışı sunulmuş sulardan alındığı görülmektedir. Alınan su örneklerinde fekal kirlilik; toplam koliform, fekal koliform, intestinal enterokok ve *E. coli* sayıları belirlenerek incelenmiştir. Bu açıdan çalışmamızla büyük ölçüde benzerlik göstermektedirler. Bu çalışmada elde edilen bulgular diğer çalışmalarla kıyaslanarak aşağıda tartışılmıştır.

Ülkemizde bulunan çeşitli nehir ve göl sularında fekal kirlilik araştırılmıştır. Örneğin; Karakoç vd. (2003)'nin Mogan Gölü'nden alınan beş adet su örneği ve Eymir Gölü'nden aldığı bir adet su örneğiyle yaptığı çalışmada, Mogan Gölü'nden alınan su örneklerinde toplam koliform sayısının 3,52 ile 5,95 log<sub>10</sub>KOB/ 100 ml arasında olduğu bildirilmiştir. Eymir Gölü'nden alınan örnekte ise bu değer 5,30 log<sub>10</sub>KOB/ 100 ml düzeyinde bulunduğu tespit edilmiştir. Tez çalışması için Eğirdir'den alınan su örnekleriyle karşılaştırıldığında, Mogan Gölü'nün Eğirdir ve Darıderesi Baraj Gölü'nden daha yüksek seviyede toplam koliform bakteriye sahip olduğu görülmektedir. Benzer şekilde Eğirdir ve Darıderesi Baraj Gölü, Eymir Gölü ile karşılaştırıldığında Eymir Gölü'nün toplam koliform sayısı açısından Eğirdir ve Darıderesi Baraj Göllerinden daha kirli olduğu ortaya konmuştur. Yapılan başka bir çalışmada Koloren vd. (2011) Gaga Gölü (Ordu)'nden Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarında toplam ve fekal koliformlar yönüyle su örneklerini incelemiştir. Bu örneklerde toplam koliform sayısının 1000 KOB/100 ml'den fazla bulunduğu belirtilmiştir. Bu aylarda Eğirdir Gölü incelendiğinde Ağustos ve Ekim aylarında bu değerleri geçtiği, diğer aylarda ise 1000 KOB/100 ml değerinin altında kaldığı görülmüştür. Darıderesi Baraj Gölü'nün ise sadece Kasım ayında bu değer altına düştüğü görülmektedir. Bu yönüyle toplam koliform açısından Eğirdir Gölü'nün Gaga Gölü'nden daha az kirli olduğu, Darıderesi Baraj Gölü'ndeki kirliliğin ise Gaga Gölü'nden daha fazla olduğu görülmüştür.

Bulut vd. (2016)'nin Eğirdir Gölü'nde yaptığı çalışmada toplam koliform sayısı 0 ile 34 EMS/100 ml arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Aynı zamanda toplam koliform sayısının sonbahar ve yaz mevsiminde, ilkbahar ve kış mevsimine oranla daha yüksek düzeyde tespit edildiği belirtilmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada

Eğirdir Gölü'nden alınan örneklerin de sonbahar ve yaz aylarında yüksek seviyede toplam koliform içerdiği, ilkbahar ve kış mevsiminde en düşük değerlere sahip olduğu görülmektedir. Bu açıdan, Bulut vd. (2016)'nin bulguları ile paralelik gözlenmektedir. Ancak bu çalışmada, Eğirdir Gölü'nün Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği Kıta içi Su Kaynakları Kalite Kriterleri'ne göre 2. Sınıf su kalitesine sahip olduğu ve içme suyu potansiyeline sahip olduğu görülmüştür.

Özgür (2013)'ün yaptığı çalışmada Meriç, Tunca ve Ergene Nehirlerinden alınan su örneklerinde toplam koliform sayılarının sırasıyla 3, 5, ve 6,30 log<sub>10</sub> KOB/100 ml değerlerinde olduğu bildirilmiştir. Bezirgan Çayı'ndan alınan örneklerle kıyaslandığında Tunca Nehri'nin en az iki, Ergene Nehri'nin ise en az 3 logaritmik birim daha kirli olduğu görülmektedir. Meriç Nehri ile Bezirgan Çayı'nın toplam koliform düzeylerinin hemen hemen aynı oldukları belirlenmiştir. Ancak Tunca Nehri'nin uzunluğu 390 km, Ergene Nehri'nin ise 283 km'dir. Nehir uzunluklarının bu sonuçta etkisi olabilir. Nehir uzunluğu ve buna bağlı olarak çevresindeki tarım arazileri ve yerleşim yerleri arttıkça artılmadan nehirlere akıtılan şehir kanalizasyon suları ve çiftlik hayvanı atıkları kirlilik düzeyini arttırmaktadır. Bu nedenle Meriç, Ergene ve Tunca nehirlerindeki kirlilik yükselmiş olabilir.

Yapılan kaynak taramasında konuyla ilgili olarak gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalara da rastlanmıştır. Freier ve Hartman (1987)'in yaptığı çalışmada, Iowa ve Nevada (ABD) eyaletlerinden aldıkları yüzey suyu örneklerinde toplam koliform sayısının 3,75-3,97 log<sub>10</sub> KOB/100 ml aralığında bulunduğu bildirilmiştir. Bu suların hem ABD Çevre Koruma Ajansı'nın, hem de Orman ve Su İşleri Bakanlığı Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği Kıta içi Su Kaynakları Kalite Kriterleri'nin sınırlarından yüksek olduğu görülmüştür. Schets vd. (2005)'nin Hollanda'da bulunan su kuyularından aldıkları örneklerle yaptıkları çalışmada, örneklerin %86,4'ünde fekal kirleticilere rastlanmadığı bildirilmiştir. Fekal kirleticilerin rastlandığı 23 noktanın 16'sında toplam koliform düzeyi 1 ile 283 KOB/100 ml aralığında bulunmuştur. Yine Jones (2017)'in yaptığı araştırmada İngiltere'nin Birmingham Üniversitesi tren istasyonu yakınlarında bulunan Bourne Brook Kanalı'ndan alınan su örneklerinde 2,06 ile 2,71 log<sub>10</sub>KOB/ 100 ml aralığında toplam koliform bakteri bulunduğu tespit edilmiştir. Bu oranlar Bezirgan Çayı ile karşılaştırıldığında, Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında Bezirgan Çayı'nın Kanal'a benzer sonuçlar verdiği,

ancak diğler aylarda, özellikle Ağustos ve Ekim aylarında, Bezirgan Çayı'ndaki toplam koliform düzeyinin Kanal'dan çok daha fazla olduğu görölmektedir.

Gelişmemiş ölkelerde yapılan çalışmalardan Djuikom vd. (2006)'nin çalışmasında Kamerun'da bulunan Mfoundi Nehrinden alınan su örneklerinde toplam koliform sayısının 4,90 ile 10,43 log<sub>10</sub> KOB/100 ml arasında bulunduğu belirtilmiştir. Bu kadar yoğun kirliliğın nedeni olarak insanlardan ve diğler sıcakkanlı hayvanlardan kaynaklanan kirlilik gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre Bezirgan Çayı'nın kirlilik düzeyinin en yüksek olduğu dönemde bile Mfoundi Nehrine kıyasla toplam koliform sayısının daha düşük olduğu görölmüştür. Diğler bir örnek olarak; Rai vd., (2015)'nin Nepal'de yaptığı çalışmada, işlem görmeden marketlerde şişelenmiş olarak satılan 24 adet kaynak suyu numunesinin %75'inde (n=18) toplam koliform bakteriye rastlandığı belirtilmiştir. Numunelerinin tamamında her mevsim toplam koliform içeren Andık Kaynağı ile kıyaslandığında, Nepal'deki çalışma için numunesi alınan kaynak sularının %25'i temiz çıkmıştır. Bu suların Dünya Sağlık Örgütü'nün içme suyu standartlarına göre kabul edilebilir değerde olmadığı görölmektedir. Bu suların halka arz edilmeden önce mutlaka işlemde geçirilmesi gerekmektedir.

Gelişmiş ölkelerdeki ve gelişmemiş ölkelerdeki su kaynaklarının kirlilik düzeyleri değeriendirildiğinde, gelişmemiş ölkelerdeki kaynakların gelişmiş ölkelere göre toplam koliform sayısı açısından daha kirli oldukları görölmüştür. İnsanların ve hayvanların dışkıları yetersiz kanalizasyon alt yapısı vb. nedenlerle, gelişmemiş ölkelerde sulara daha fazla karışmaktadır.

Çizelge 4.2. Su örneklerinin fekal koliform sayım sonuçları (KOB/100 ml)

	Andık Kaynağı	Bezirgan Çayı (durgun)	Bezirgan Çayı (akan)	Darıderesi Baraj çıkışı	Darıderesi Baraj Gölü	Eğirdir
Nisan	0,15±0,21	<b>2,07±0,06</b>	<b>1,96±0,06</b>	1,84±0,02	1,81±0,08	<b>0,85±0,21</b>
Mayıs	1,90±0,03	2,28±0,05	2,14±0,02	<b>2,12±0,05</b>	1,43±0,07	1,36±0,12
Haziran	<b>0</b>	2,09±0,01	2,36±0,04	<b>1,80±0,1</b>	1,61±0,2	1,75±0,06
Temmuz	1,54 ±0,04	2,30±0,01	2,57±0,04		<b>1,36±0,03</b>	1,78±0,08
Ağustos	1,37±0,16	<b>3,12±0,01</b>	3,38±0,04		1,84±0,07	<b>2,06±0,07</b>
Eylül	0,72±0,18	2,93±0,03	2,88±0,01		1,45±0,04	1,75±0,05
Ekim	1,63±0,04	2,96±0,01	<b>3,54±0,04</b>		1,92±0,04	1,31±0,01
Kasım	0,30±0	2,57±0,13	2,54±0,05		1,66±0,14	1,11±0,05
Aralık	<b>0</b>	2,50±0,12	2,57±0,07		Örnek yok	1,97±0,1
Ocak	2,36±0,04	2,43±0,51	3,02±0,03		2,13±0,02	1,38±0,11
Şubat	<b>2,84±0,02</b>	3,00±0,07	3,19±0,05		<b>2,23±0,05</b>	1,52±0,02
<b>Ortalama</b>	1,16±0,99 <sup>b</sup>	2,57±0,38 <sup>a</sup>	2,74±0,51 <sup>a</sup>	1,92	1,74±0,09 <sup>b</sup>	1,53±0,37 <sup>b</sup>

Alınan su örneklerinin fekal koliform sayıları genel olarak incelendiğinde, mikroorganizma sayılarının en düşük Nisan, Haziran ve Temmuz aylarında olduğu görülmüştür. Andık Kaynağı'ndan alınan örnekte ise en düşük mikroorganizma sayısı Haziran ve Aralık ayında tespit edilmiştir. En yüksek mikroorganizma sayılarının ise düzgün bir dağılım göstermeyip farklı aylarda farklı su kaynaklarında yüksek görülebildiği belirlenmiştir. En yüksek mikroorganizma sayısı Bezirgan Çayı'nın akan kısmında Ekim ayında tespit edilmiştir.

Andık Kaynağı'ndan alınan su örneklerinin fekal koliform sayısı 0 ile 2,84 log<sub>10</sub> KOB/100 ml arasında değiştiği görülmüştür. 11 ay boyunca alınan su örneklerine göre Andık Kaynağı'nın fekal koliform içeriği ortalama 1,16 log<sub>10</sub> KOB/100 ml olarak bulunmuştur.

Bezirgan Çayı'nın durgun kısmından alınan su örneklerinin fekal koliform bakteri içeriğinin 2,07 ile 3,12 log<sub>10</sub> KOB/100 ml arasında olduğu tespit edilmiştir. 11 ay

boyunca alınan su örneklerinin ortalaması alındığında fekal koliform sayısının 2,57  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu görülmüştür.

Bezirgan Çayı'nın akan kısmından alınan su örnekleri incelendiğinde fekal koliform grup bakteri sayısının 1,96 ila 3,54  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Ortalama fekal koliform sayısının ise 2,74  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu belirlenmiştir.

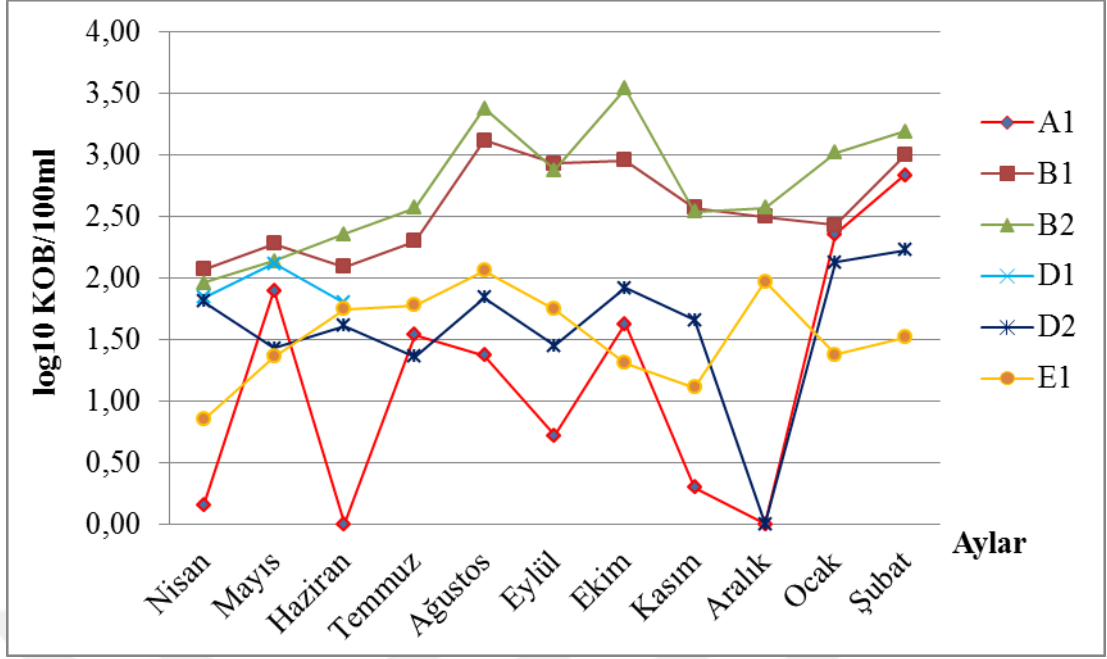
Darıderesi Barajı'nın çıkış kısmından alınan su örneklerinin fekal koliform sayısının 1,80 ile 2,12  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu belirlenmiştir. Bu noktadan baraj kapaklarının kapalı tutulması nedeniyle 3 ay örnek alınabilmiştir. Ortalama fekal koliform sayısının 1,92  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olduğu görülmüştür.

Darıderesi Barajı'nın gölet kısmından alınan su örneklerinin fekal koliform sayısının 1,36 ile 2,23  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında değiştiği belirlenmiştir. 10 ay boyunca alınan su örneklerinin fekal koliform sayısının ortalaması 1,74  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olarak bulunmuştur.

Eğidir Gölü'nden gelen içme suyunu taşıyan borudan alınan su örneklerinin fekal koliform sayısının 0,85 ile 2,06  $\log_{10}$  KOB / 100 ml arasında değiştiği görülmüştür. 11 ay boyunca alınan örneklerin fekal koliform ortalaması 1,53  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olarak tespit edilmiştir.

En yüksek fekal koliform sayılarına bakıldığı zaman 3,54  $\log_{10}$  KOB / 100 ml ile Bezirgan Çayı'nın akan kısmı Ekim ayında en kirli düzeyde bulunmuştur. En düşük fekal koliform sayısı ise Andık Kaynağı'ndan Haziran ve Aralık aylarında alınan su örneklerinde 0  $\log_{10}$  KOB / 100 ml olarak bulunmuştur.

Bütün veriler toplu olarak incelendiğinde Şekil 4.3'de gösterilen grafik elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Fekal koliform sayılarının aylara göre değişimi

Alınan su örneklerinden elde edilen fekal koliform sayıları ile yapılan varyans analizi sonucunda ay\*ay interaksiyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bunun anlamı aylar arasındaki farklılığın sabit kalmayıp değişmiş olduğu sonucu bulunmuştur. Tukey testi sonuçları ortalamalar üzerinde latin harfleriyle gösterilmiştir.

Yapılan bölge\*bölge interaksiyonu ile bölgeler arası fekal koliform sayılarının ortalamaları arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Analiz sonucunda A1 bölgesi ile B1 ve B2 bölgeleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). A1 bölgesi ile D2 ve E1 bölgeleri arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur ( $p > 0,05$ ).

B1 bölgesi ile D2 ve E1 bölgeleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). B1 bölgesi ile B2 bölgesi arasındaki fark ise istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p > 0,05$ ).

B2 bölgesi ile D2 ve E1 bölgeleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). D2 bölgesi ve E1 bölgesi arasındaki fark ise önemsiz olarak bulunmuştur ( $p > 0,05$ ).

Bu çalışmada elde edilen toplam koliform sayım sonuçlarının tartışmasında kullanılan kaynaklarda aynı zamanda fekal koliform sayımlarına da yer verilmiştir. Yapılan kaynak taramasında bazı çalışmalarda toplam koliform sayımı yapılmadan fekal koliform sayımları ile değerlendirme yapıldığı da belirlenmiştir. Örneğin Karafistan ve Arık-Çolakoğlu (2005)'nin Manyas Gölü'nden aldığı su örnekleriyle yaptığı çalışmada, gölün fekal koliform sayısı bakımından oldukça kirli olduğu belirtilmiştir. Gölün mikrobiyolojik su kalitesi açısından 3. sınıf olduğu, hatta bazı bölgelerdeki fekal kirlenmenin yoğunluğuna bağlı olarak 4. sınıf su kalitesinde olduğu saptanmıştır. Manyas Gölü'nde bulunan değerler, Eğirdir ve Darıderesi Baraj Gölü ile karşılaştırıldığında Manyas Gölü'ndeki kirlilik düzeyinin daha fazla olduğu görülmektedir. Yapılan diğer bir çalışmada Koloren vd. (2011), Ordu ilinde bulunan Gaga Gölü'nden, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarında aldığı su örneklerindeki fekal koliform düzeyinin 8 ile 26 KOB/100 ml arasında olduğunu bildirmiştir. Bu değerler göz önüne alındığında ise kalite sınıfı bakımından belirtilen aylar içerisinde su kalite sınıfının 2. Sınıf olduğu görülmektedir. Gaga Gölü'nden alınan su örnekleriyle, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarında Eğirdir ve Darıderesi Baraj Gölü'nden alınan örnekler kıyaslandığında, Eğirdir ve Darıderesi'nden alınan örneklerdeki fekal koliform düzeylerinin daha yüksek oldukları görülmektedir.

Nehir sularıyla yapılan bir çalışmada, Kaçar (2011), Meriç, Gediz, Bakırçay, Küçük Menderes ve Büyük Menderes Nehirlerinden aldığı su örneklerinde, fekal koliform sayılarının mevsimsel değişimini incelemiştir. En düşük fekal koliform sayısının ilkbahar ve sonbahar aylarında 1,48 ile 1,70  $\log_{10}$  KOB/100 ml aralığında Büyük Menderes Nehri'nden alındığını belirtmiştir. En yüksek fekal koliform sayısı ise kış aylarında 6,11  $\log_{10}$  KOB/100 ml ile Küçük Menderes Nehri'nde tespit edilmiştir. Bu çalışmada Bezirgan Çayı'nda belirlenen en düşük fekal koliform sayısı ilkbahar aylarında 1,95  $\log_{10}$  KOB/100 ml olarak kaydedilmiştir. En düşük fekal koliform sayıları mevsim ve sayı olarak Büyük Menderes ile Bezirgan arasında benzerlik göstermiştir. Bezirgan Çayı'nda en yüksek fekal koliform düzeylerine bakıldığında Ekim ayında 3,54  $\log_{10}$  KOB/100 ml olarak görülmektedir. Bu bağlamda Andık Kaynağı'nın Küçük Menderes'ten daha az kirli olduğu tespit edilmiştir.

Gelişmiş ülkelerdeki su kaynaklarıyla yapılan çalışmalarda da benzer bulgular elde edilmiştir. Geldreich ve Litsky (2009)'nin yaptığı çalışmada Ohio eyaletinde bulunan

çeşitli su kuyuları, yüzme amaçlı kullanılan sular ve özel kaynaklardan alınan su örnekleri fekal koliform sayıları bakımından incelenmiştir. Buna göre fekal koliform sayıları su kuyularında 90-170 KOB/100 ml arasında, yüzme amaçlı kullanılan sularda 2.0-100 KOB/100 ml arasında, kaynaklardan alınan sularda ise 0,8-5.0 KOB/100 ml aralığında bulunduğu tespit edilmiştir. Andık Kaynağı ile su kaynaklarından alınan sular karşılaştırıldığında, Andık Kaynağı'nda bulunan fekal koliform miktarının Nisan, Eylül ve Kasım aylarında Ohio'daki su kaynaklarıyla benzer olduğu görülmektedir. Ocak, Şubat Mayıs, Temmuz, Ağustos ve Ekim aylarında ise fekal koliform miktarının çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında Haziran ve Aralık aylarında Andık Kaynağı'nda fekal koliform bulunmadığından yukarıda bahsedilen su kaynaklarından daha temiz olduğu görülmüştür. Darıderesi Baraj Gölü'nü, Eğirdir Gölü'nü ve Bezirgan Çayı'nı yüzme amaçlı kullanılan sularla birlikte değerlendirdiğimizde, Darıderesi'nin her mevsim daha kirli olduğu, Eğirdir'in sadece Nisan ayında daha temiz olduğu ve Bezirgan Çayı'nın ise yine her mevsim daha kirli olduğu belirlenmiştir. ABD'de yapılan başka bir çalışmada Noble vd. (2003), ABD ve Meksika sınırındaki yüzme amaçlı kullanılan noktalardan yaz aylarında 224 adet, kış aylarında ise 214 adet okyanus suyu örneği almıştır. Yaz aylarında alınan örnekler incelendiğinde %47,1'inde fekal koliform olduğu tespit etmiştir. Kış aylarında alınan örneklerin ise %22,6'sında fekal koliform olduğunu bildirmiştir. Bu örnekler rekreasyon alanları olarak değerlendirilip tez çalışmasındaki örneklerle karşılaştırıldığında, %96,5 oranındaki fekal koliform kirliliğiyle Isparta ili çevresinden alınan örneklerin oldukça kirli oldukları söylenebilmektedir. Ancak okyanus su kütlesinin büyüklüğü dikkate alınacak olursa kirlilik düzeyinin rekreasyon alanlarına göre daha düşük olması normal olarak kabul edilebilir.

Tarım ve hayvancılıkta kullanılan su kaynaklarıyla ilgili bir çalışmada, Jafari vd., (2006), İran'daki tavuk çiftliklerinden aldıkları 40 adet içme suyu örneğini incelemiş ve fekal koliform düzeyini ölçmüştür. Örneklerin %50'sinin fekal koliform sayısı, birçok kuruluşun kabul ettiği, kanatlılarda içme suyu olarak kullanılacak en yüksek değerin (50 KOB/ml) üzerinde bulunmuştur. Su örneklerinin 9 adedinde bu değer 50-500 KOB/ml olarak, geri kalanında ise 500 KOB/ml değerinin üzerinde tespit edilmiştir. Tarım ve hayvancılık alanında sulamada kullanılan Darıderesi Baraj Gölü, Bezirgan Çayı ve Eğirdir Gölü'nde ölçülen değerlerin tamamı 50 KOB/ml

değerinin altında bulunmuştur. Bu kaynakların mikrobiyel açıdan tavukçuluk sektöründe doğrudan kullanımının uygun olduğu söylenebilmektedir. Ancak kimyasal kirleticilerin düzeyi de bu karara varmakta önem taşımaktadır. Canlılar üzerinde zehir etkisi yapacak kimyasalları içeren suların mikrobiyel kalitesi ne olursa olsun içme suyu olarak kullanılması mümkün değildir.

Dünya’da yüzey suları ve içme sularının kirlilik düzeylerine yönelik çeşitli yasal düzenlemeler, bu düzenlemelerde sınırlamalar bulunmaktadır. Ülkemizde içme sularında fekal kirlilik indikatörlerine yönelik yasal düzenlemeler, 17.02.2005 tarih ve 25730 sayılı Resmi Gazete ile yürürlüğe giren, Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu’nun “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik”in Ek-1’inde belirtilmiştir:

1) İçme-Kullanma Suları için:

- |                     |          |
|---------------------|----------|
| a. <i>E. coli</i>   | 0/100 ml |
| b. Koliform bakteri | 0/100 ml |

2) İçme Suları için (İmalathanede):

- |                           |          |
|---------------------------|----------|
| a. <i>E. coli</i>         | 0/250 ml |
| b. Koliform bakteri       | 0/250 ml |
| c. Fekal koliform bakteri | 0/250 ml |

3) Kaynak Suları için:

- |                           |          |
|---------------------------|----------|
| a. <i>E. coli</i>         | 0/250 ml |
| b. Koliform bakteri       | 0/250 ml |
| c. Fekal koliform bakteri | 0/250 ml |

Bu çalışmadaki su örnekleri içme suları, “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik”e göre değerlendirildiğinde, her ne kadar bazı parametreleri tek tek karşılanmış olsa da, topluca bakıldığında içme suyu olarak doğrudan tüketime ve imalathanelerde işlem görmeden kullanılmaya uygun olmadıkları görülmüştür. Çalışmada kullanılan su kaynaklarının şehir şebekesine verilmeden önce uygun bir arıtmadan geçirilmesi gerektiği görülmektedir.

Türk Standartları Enstitüsü'nün 29.04.2005 tarihli "TS 266 Sular - İnsanî tüketim amaçlı sular" standardının Çizelge 1 ve Çizelge 3'te belirttiği mikrobiyolojik sınırlamalar şu şekildedir:

1) Sınıf 1 – Kaynak (memba) suları

- a. *E. coli* 0/250 ml
- b. Koliform bakteri 0/100 ml

2) Sınıf 2 - Kaynak suları dışındaki insanî tüketim amaçlı sular

- a. *E. coli* 0/100 ml
- b. Koliform bakteri 0/100 ml

Buna göre tez çalışmasında incelenen sular TSE'nin "TS 266 Sular - İnsanî tüketim amaçlı sular" standardında belirtilen limitleri de karşılamadığı görülmektedir. Bu nedenle bahsedilen su kaynaklarının herhangi bir işlem görmeden doğrudan insani tüketim amaçlı kullanılmaları da sakıncalı görülmektedir.

Ülkemizde bulunan yüzeysel sular ile kıyı ve geçiş sularının biyolojik kalitelerinin belirlenmesi, sınıflandırılması ve su kalitesinin izlenmesi amacıyla, 30.11.2012 tarihli ve 28483 sayılı Resmi Gazete ile yürürlüğe giren, Orman ve Su İşleri Bakanlığında: "Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği" mevcuttur. Bu yönetmelikte Ek 5'te bulunan "Kıta içi Yerüstü Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri"nin "D) Bakteriyolojik Parametreler" bölümü Çizelge 4.3'te gösterilmiştir (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2015).

Çizelge 4.3. Kıta içi Yerüstü Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri

Bakteriyolojik Parametreler	Su Kalite Sınıfları			
	1. Sınıf	2. Sınıf	3. Sınıf	4. Sınıf
Fekal koliform (Membran)	≤10	10-200	200-2000	> 2000
Toplam koliform (Membran)	≤100	100-20000	20000-100000	> 100000

Çizelge 4.3'deki kalite kriterlerine göre bu çalışmadaki bulgular değerlendirilerek sonuçlar Çizelge 4.4.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Bakteriyolojik parametreler bakımından örneklerin su kalite kriterlerine göre sınıflandırılması

Örnek Adı	Toplam Koliform sayısına göre su kalitesi	Fekal Koliform sayısına göre su kalitesi
Andık Kaynağı	2. Sınıf	2. Sınıf
Bezirgan Çayı (Akan)	2. Sınıf	3. Sınıf
Bezirgan Çayı (Kirlili)	2. Sınıf	3. Sınıf
Darıderesi Baraj çıkışı	2. Sınıf	2. Sınıf
Darıderesi Baraj Göleti	2. Sınıf	2. Sınıf
Eğirdir pompası	2. Sınıf	2. Sınıf

Çizelge 4. 3'e göre yapılan değerlendirmede su örnekleri toplam koliform sayılarına göre değerlendirildiğinde tüm örneklerin 2. Sınıf "az kirlenmiş su" olarak kabul edilebileceği görülmektedir. Orman ve Su İşleri Bakanlığının "Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliğine" göre 2. Sınıf az kirlenmiş suların;

- 1) İçme suyu olma potansiyeli olan yerüstü suları,
- 2) Rekreatiyonel maksatlar için kullanılabilir nitelikte su,
- 3) Alabalık dışında balık üretimi için kullanılabilir nitelikte su,
- 4) Mer'i mevzuat ile tespit edilmiş olan sulama suyu kalite kriterlerini sağlamak şartıyla sulama suyu,

olarak değerlendirildikleri görülmüştür.

Örnekler fekal koliform açısından incelendiğinde ise Andık Kaynağı, Darıderesi Baraj çıkışı, Darıderesi Baraj Göleti ve Eğirdir Pompası'nın 2. Sınıf az kirlenmiş sulara dahil olduğu belirlenmiştir. Bezirgan Çayı'nın her iki noktasından alınan örnekler ise 3. Sınıf "kirlenmiş su" kategorisine girmektedir. Orman ve Su İşleri Bakanlığının "Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliğine" göre 3. Sınıf kirlenmiş suların; "gıda, tekstil gibi nitelikli su gerektiren tesisler hariç olmak üzere, uygun bir arıtmadan sonra su ürünleri yetiştiriciliği için kullanılabilir nitelikte su ve sanayi suyu" oldukları belirtilmiştir.

Genel olarak bakıldığında örnek alınan noktaların bakteriyolojik parametreler bakımından "az kirlenmiş" ve "kirlenmiş" sular sınıfında oldukları belirlenmiştir. Bu sonuçlar içme suyu kaynaklarına bir miktar insan ve/veya sıcakkanlı hayvanların dışkılarından karıştığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre Isparta Belediyesi Su ve

Kanalizasyon Müdürlüğü'ne 3. sınıf olarak belirlenen suların içme ve sulama suyu olarak doğrudan kullanılmaması önerilmektedir.

Dünya'da kullanılan insani tüketim amaçlı suların standartları incelendiğinde, ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA)'nın belirlediği içme suyu standartlarında, toplam koliform miktarının aynı bölgedeki ardışık su örneklerinde 0/100 ml (%95) sağlaması gerekmektedir. *E. coli* düzeyi ise 0/100 ml (%100) olmalıdır (ABD Çevre Koruma Ajansı, 2016). Kanada Federal-Vilayet Bölgesi İçme Suyu Komitesi tarafından uygulanan içme suyu standardına göre ise toplam koliform sayısı 0/100 ml (%90) sağlamalıdır ve aynı bölgeden alınan ardışık su örneklerinde toplam koliform sayısı 10 KOB/100 ml'yi geçmemelidir. *E. coli* düzeyi ise 0/100 ml (%100) olmalıdır (Government of Canada Federal-Provincial-Territorial Committee, 2006). Dünya Sağlık Örgütü'nün içme suyu ile ilgili standartlarına göre toplam koliform sayısı 0/100 ml (%95) olmalıdır. *E. coli* sayısı ise 0/100 ml (%100) şeklinde olmalıdır. (Dünya Sağlık Örgütü, 2016). Görüldüğü gibi ülkemizde çeşitli nitelikteki sulara yönelik standart, tebliğ vb. düzenlemeler uluslararası yasal düzenlemelerle paralellik göstermektedir. Bu açıdan incelenen örneklerin artılmadan şehir şebekesine verilmesi mümkün değildir. Bu gereksinim nedeniyle DSİ tarafından kurulmuş bir tesiste Isparta şebeke suyu işlemden geçirilmekte ve şehir kullanımına sunulmaktadır. Ancak aynı su kaynaklarından özellikle 3. sınıf kaliteye sahip olanların tarımsal amaçlarla kullanımı da büyük sakınca taşımaktadır. Suların geçtiği çevrelerdeki çiftçilerin bu açıdan bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

## **4.2. Doğrulama Testlerinin Sonuçları**

Sayım sonucu Laktoz TTC Agar üzerinde 36°C ve 44°C'de gelişen sarı, turuncu veya kırmızı tipik kolonilerden toplam 397 adet izole edilmiştir.

Nisan ayında alınan örneklerden izole edilen 54 adet tipik koloniye uygulanan Gram boyama sonucu 8 adet Gram pozitif ve 46 adet Gram negatif bakteri olduğu tespit edilmiştir. Gram negatif olan bakterilerin 34 adedinin çubuk şekilli, 12 adedinin ise kok oldukları belirlenmiştir. İleri tanı testleri için seçilen 34 adet Gram negatif çubuk şekilli bakterinin 30 adedi oksidaz negatif, 4 adedinin ise oksidaz pozitif oldukları bulunmuştur. Seçilen oksidaz negatif suşların MUG içeren besiyerinde UV altında

incelenmesi sonucu 8 tanesinin pozitif, 22 tanesinin ise negatif olduğu belirlenmiştir.  $\beta$ -Glukuronidaz aktivitesi pozitif çıkan suşların hepsinin indol testinin de pozitif olduğu tespit edilmiştir. Böylece Nisan ayında incelenen 54 adet suştan 8 adedinin *E. coli* oldukları bulunmuştur. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.1’de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Mayıs ayında incelenen örneklerin 44 adedi tipik koloni özelliği göstermiştir. Bu kolonilere uygulanan Gram boyama testinin sonunda 18 adedinin Gram pozitif, 26 adedinin ise Gram negatif oldukları belirlenmiştir. Gram negatif suşların 24 adedi çubuk şekilli olup, 2 adedi kok şekillidir. İleri tanı testleri için seçilen 24 adet Gram negatif çubuk şekilli suşun 18 adedi oksidaz negatif, 6 adedi ise oksidaz pozitif olarak bulunmuştur. Oksidaz negatif bakterilerden 5 adedi MUG içeren besiyerinde UV altında floresan ışık verdiği görülmüştür. Bu suşların hepsi aynı zamanda indol testinde de pozitif sonuç vermiştir. Mayıs ayında izole edilen 44 adet örnekten 5 adedi *E. coli* olarak tespit edilmiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.2’de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Haziran ayında alınan su örneklerinden toplamda 43 adet sarı tipik koloni izole edilmiştir. Bu izolatlarla yapılan Gram boyama testi sonucu 37 adet Gram negatif, 3 adet de Gram pozitif suş olduğu tespit edilmiştir. 3 adet suş saflaştırma sırasında CASO agarda gelişim göstermemiştir. Gram negatif suşların 36 adedinin çubuk, 1 adedinin ise kok şekilli olduğu belirlenmiştir. Seçilen Gram negatif çubuk şekilli suşlardan 32 adedinin oksidaz negatif, 4 adedinin ise oksidaz pozitif olduğu belirlenmiştir. Oksidaz negatif suşlardan 13 adedinin  $\beta$ -Glukuronidaz aktivitesi pozitif olarak bulunmuştur. Bu suşlardan ise 12 adedi indol pozitif çıkmıştır. Haziran ayında incelenen toplam 43 adet izolatın 12 adedi *E. coli* olarak belirlenmiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.3’de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Temmuz ayı örneklerinden 31 adet tipik sarı koloni izole edilmiştir. Bu izolatların 26 adedi Gram negatif, 5 adedi ise Gram pozitif bulunmuştur. Gram negatif suşların 23 adedinin mikroskop altında çubuk şekilli, 3 adedi kok şekilli oldukları görülmüştür. Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin 13 adedinin oksidaz tepkimesi negatif bulunmuştur. Oksidaz negatif suşların 8 adedi MUG içeren besiyerinde üreme

göstermiş ve  $\beta$ -Glukuronidaz ve indol aktivitesi pozitif çıkmıştır. Temmuz ayında izole edilen 31 adet suştan 8 adedi *E. coli* olarak bulunmuştur. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.4'de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Ağustos ayında alınan su örneklerinde muhtemel *E. coli* suşu olabilecek tipik kolonilerden 40 adet izole edilmiştir. İzolatların 25 adedinin Gram tepkimesi negatif, 9 adedinin ise pozitif olduğu bulunmuştur. 6 adet izolat ise saflaştırma amacıyla sürüldükleri CASO Agar üzerinde gelişme gösterememiştir. Gram negatif olarak belirlenen suşların 23 adedinin çubuk şekilli, 2 adedinin ise Gram negatif kok oldukları belirlenmiştir. İzolatların 9 adedinin Gram pozitif kok oldukları belirlenmiştir. Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin 21 adedinin oksidaz aktivitesi negatif bulunmuştur. Oksidaz negatif izolatların ise 6 adedinin  $\beta$ -Glukuronidaz ve indol aktivitesi pozitif çıkmıştır. Ağustos ayında izole edilen 40 adet tipik koloninin 6 adedi *E. coli* suşu olarak belirlenmiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.5'de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Eylül ayında toplanan su örneklerinde *E. coli* olabilecek sarı tipik kolonilerden 32 adet izole edilmiştir. Bu izolatların 21 adedinin Gram tepkimesi negatif, 11 adedinin ise Gram tepkimesi pozitif olduğu belirlenmiştir. Gram tepkimesi negatif bulunan suşların hepsi aynı zamanda çubuk şekillidir. Gram pozitif suşların hepsinin ise kok şekilli oldukları bulunmuştur. Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin 19 adedinin oksidaz tepkimesi negatif çıkmıştır. Oksidaz negatif çubukların 7 adedinin  $\beta$ -Glukuronidaz aktivitesi pozitif çıkmıştır. Bu 7 adet suştan 5 tanesinde indol aktivitesi pozitif olarak belirlenmiştir. Böylece Eylül ayında alınan su örneklerinden alınan 32 adet izolatın 5 adedi *E. coli* suşu olarak belirlenmiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.6'de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Ekim ayında alınan su örneklerinden izole edilen 37 adet tipik koloniye uygulanan Gram boyama sonucu 12 adet Gram pozitif ve 25 adet Gram negatif bakteri olduğu tespit edilmiştir. Gram negatif olan bakterilerin 24 adedinin çubuk şekilli, 1 adedinin ise kok olduğu belirlenmiştir. İleri tanı testleri için seçilen Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin 24 adedi de oksidaz negatif bulunmuştur. Oksidaz negatif suşların MUG içeren besiyerinde UV altında incelenmesi sonucu 7 tanesinin pozitif, 17 tanesinin

ise negatif olduğu belirlenmiştir.  $\beta$ -Glukuronidaz aktivitesi pozitif çıkan suşların hepsinin indol testinin de pozitif olduğu tespit edilmiştir. Böylece Nisan ayında incelenen 37 adet suştan 7 adedinin *E. coli* oldukları tespit edilmiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.7’de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Kasım ayında incelenen örneklerden 36 adedi tipik koloni özelliği göstermiştir. Bu kolonilere uygulanan Gram boyama testinin sonucu 2 adedinin Gram pozitif, 34 adedinin ise Gram negatif oldukları belirlenmiştir. İzole edilen suşların hepsi çubuk şekillidir. Gram negatif çubuk şekilli suşların 12 adedi oksidaz negatif, 22 adedi ise oksidaz pozitif olarak bulunmuştur. Oksidaz negatif bakterilerden hiçbiri MUG içeren besiyerinde UV altında floresan ışık vermemiştir. Bu nedenle indol testi yapılmamıştır. Kasım ayında izole edilen 36 adet örnekten hiçbiri *E. coli* olarak tanımlanamamıştır. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.8’de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Aralık ayı örneklerinden 28 adet tipik sarı koloni izole edilmiştir. Bu izolatların 18 adedi Gram negatif bulunmuştur. 10 adedi ise saflaştırma aşamasında CASO agarda gelişim gösterememiştir. Gram negatif suşların hepsinin mikroskop altında çubuk şekilli oldukları görülmüştür. Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin 10 adedinin oksidaz tepkimesi negatif bulunmuştur. Oksidaz negatif suşların 6 adedi MUG içeren besiyerinde üreme göstermiş ancak  $\beta$ -Glukuronidaz aktivitesi göstermemiştir. Bu nedenle indol aktivitesine bakılmamıştır. Aralık ayında izole edilen 28 adet suştan hiçbiri *E. coli* özelliği göstermemiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.9’de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Ocak ayında alınan su örneklerinden toplamda 20 adet sarı tipik koloni izole edilmiştir. Bu izolatlara yapılan Gram boyama testi sonucu 7 adet Gram negatif, 10 adet de Gram pozitif suş olduğu tespit edilmiştir. İzolatlardan 3 adedi saflaştırma aşamasında CASO agarda üreme göstermemiştir. Gram negatif suşların hepsinin çubuk şekilli oldukları görülmüştür. Gram pozitif suşların ise kok oldukları belirlenmiştir. Seçilen Gram negatif çubuk şekilli suşların hepsinin oksidaz aktivitelerinin negatif olduğu belirlenmiştir. Oksidaz negatif suşların hiçbiri  $\beta$ -Glukuronidaz aktivitesi göstermemiştir. Ocak ayında incelenen toplam 20 adet

izolatın hiçbirisi *E. coli* olarak belirlenmemiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.10'de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Şubat ayında alınan su örneklerinde muhtemel *E. coli* suşu olabilecek tipik kolonilerden 32 adet izole edilmiştir. İzolatların 27 adedinin Gram tepkimesinin negatif olduğu bulunmuştur. 5 adet izolat ise saflaştırma amacıyla sürüldükleri CASO Agar üzerinde gelişme gösterememiştir. Gram negatif olarak belirlenen suşların hepsinin çubuk şekilli oldukları belirlenmiştir. Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin 22 adedinin oksidaz aktivitesi negatif bulunmuştur. Oksidaz negatif izolatların ise 4 adedinin  $\beta$ -Glukuronidaz ve indol aktivitesi pozitif çıkmıştır. Şubat ayında izole edilen 32 adet tipik koloninin 4 adedi *E. coli* suşu olarak belirlenmiştir. İzole edilen tüm suşlara yapılan doğrulama testi sonuçları Çizelge B.11'de toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Genel olarak bakıldığında Nisan 2015 – Şubat 2016 tarihleri arasında Isparta'nın içme suyu kaynaklarından alınan su örneklerinden izole edilen tipik kolonilerin %17,38'inin Gram pozitif kok, %2,27'sinin Gram pozitif çubuk, %5,29'unun Gram negatif kok ve %68,26'sinin Gram negatif çubuk bakteriler olduğu belirlenmiştir. İleri tanı testlerinin sonucunda Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin %76,01'inin oksidaz aktivitesi negatif bakterilerden oluştuğu görülmüştür. Yine Gram negatif çubuk şekilli bakterilerin %55,72'sinin fekal ve toplam koliform bakteriler ile %20,3'ünün *E. coli*'den oluşturduğu tespit edilmiştir.

İzole edilen suşlara yapılan Gram boyama, oksidaz,  $\beta$ -Glukuronidaz ve indol testlerinin sonuçları Ek B'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Yukarıda ayrıntılı değerlendirilen bulgular ise özet halinde Çizelge 4.5'de değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.5. İzole edilen suşların koliform ve *E. coli* sayıları

	Koliform	<i>E.coli</i>	Diğer	Toplam
Nisan	22	8	24	54
Mayıs	13	5	26	44
Haziran	18	12	13	43
Temmuz	5	8	18	31
Ağustos	15	6	19	40
Eylül	14	5	13	32
Ekim	17	7	13	37
Kasım	12	0	24	36
Aralık	10	0	18	28
Ocak	7	0	13	20
Şubat	18	4	10	32
Toplam	151	55	191	397

Doğrulama testlerinin sonucunda 3.2.4'e göre hesaplanan *E. coli* sayıları Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Su örneklerinde *E. coli* sayıları ( $\log_{10}$  KOB /100 ml)

	Andık Kaynağı	Bezirgan Çayı (durgun)	Bezirgan Çayı (akan)	Darıderesi Baraj çıkışı	Darıderesi Baraj Gölü	Eğirdir	
Nisan	0	0,81	0,38	0,40	0,05	0	
Mayıs	0	0	1,53	0	0,40	0	
Haziran	0	2,35	1,75	1	0	0	
Temmuz	0	2,25	0,90	Örnek Yok	0	0	
Ağustos	0	2,52	2,38		0	0	
Eylül	0	0,90	1,76		0,08	0	
Ekim	0,78	<b>2,75</b>	0		0	0	
Kasım	0	0	0		0	0	
Aralık	0	0	0		0	0	
Ocak	0	0	0		0	0	
Şubat	0	2,73	0		1	0	
Ortalama	0,07	1,30	0,79		0,47	0,14	0

Alınan su örneklerinin *E. coli* sayıları genel olarak incelendiğinde, mikroorganizma sayılarının en düşük Kasım, Aralık ve Ocak aylarında olduğu görülmüştür. En yüksek mikroorganizma sayısı ise Ekim ve Kasım aylarında Bezirgan Çayı'nda bulunmuştur. Eğirdir Gölü'nden alınan su örneklerinin hiçbirinde *E. coli*'ye rastlanmamıştır. Andık Kaynağı'nda ise sadece Ekim ayında *E. coli*'ye rastlanmıştır.

Aylık ortalamalara bakıldığı zaman Bezirgan Çayı'nın durgun kısmından alınan su örnekleri *E. coli* sayısı açısından 1,30 log<sub>10</sub> KOB / 100 ml ile en yüksek bulunmuştur.

*E. coli*'nin doğal yaşam yerinin insanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsakları olması nedeniyle, sularda tespit edilmesi dışkı kökenli kirliliğin en büyük kanıtıdır. Bu bağlamda su kaynaklarında *E. coli* bulunması büyük sorunlara yol açabilmektedir. Konunun önemi nedeniyle su kaynaklarında *E. coli* tespitiyle ilgili çalışmalar önem kazanmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, genellikle içme suları, musluk suları, yüzmeye ve içme suyu olarak kullanılmaya uygun göller ve kaynak suları gibi insanların doğrudan ulaşabildiği su kaynaklarında *E. coli* varlığı ve miktarının belirlendiği görülmektedir.

Ülkemizde Kireççi vd. (2006)'nin yaptığı bir çalışmada, Kars ve Sarıkamış çevresindeki askeri birliklerden alınan 1469 adet içme suyu örneklerinden membran filtrasyon yöntemiyle *E. coli* izolasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda örneklerin %30'undan *E. coli* izole edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmayla karşılaştırıldığında, Isparta İli su örneklerinden %35,1 oranında *E. coli* izolasyonu yapıldığı belirlenmiştir. Bu bağlamda arada %5'lik bir fark olduğu görülmektedir. Toroğlu vd. (2006) Kahramanmaraş ilinde bulunan Aksu Çayı'nda yaptıkları incelemede, belli aralıklarla alınan su örneklerinde %67 oranında *E. coli* tespit etmişlerdir. Bu oranın Bezirgan Çayı ile kıyaslandığında yüksek olduğu görülmüştür. Köksal vd. (2007)'nin İstanbul'daki su kaynaklarıyla yaptığı bir araştırmada, 134 adet ham su örneği, 446 adet arıtma tesisi çıkış suyu ve 1657 adet şebeke suyu örneği alınmıştır. Bu örneklerde yapılan araştırma sonucunda ham suların %46'sında, arıtma tesislerinin %1'inde ve şebeke sularının %2'sinde *E. coli*'ye rastlandığı bildirilmiştir. Isparta sularında ise, ham su örneklerinin tamamında %35 oranında *E. coli* bulaşısı olduğu görülmektedir. Bu yönüyle Isparta ilindeki su kaynaklarının İstanbul ilindeki su kaynakların daha az kirli oldukları açıkça görülmektedir. Yine Alemdar vd. (2009)'nin Bitlis İli içme suları üzerine yaptığı çalışmada ise Bitlis merkezde bulunan musluk sularından alınan örneklerde *E. coli* oranlarının %8 olduğu belirtilmiştir. Isparta ili su kaynaklarından Andık Kaynağı ve Eğirdir Gölü'nün içme suyu olarak kullanılma amaçlı arıtımından önce bile bu orandan daha düşük düzeyde *E. coli*'ye sahip oldukları görülmüştür. Bezirgan Çayı ve Darıderesi Baraj Gölü'nde ise bu oranlar sırasıyla %55 ve %27 bulunarak, Bitlis'teki musluk sularından daha

kirli oldukları tespit edilmiştir. Bulut vd. (2016)'nin yaptığı çalışmada, Eğirdir Gölü'ndeki 9 istasyondan mevsimsel olarak su örnekleri alınmıştır. Alınan su örneklerinde *E. coli* tespit edilmediği belirtilmiştir. Bu yönüyle Bulut vd. (2016)'nin çalışmasıyla tez çalışmasındaki Eğirdir Gölü su örnekleri *E. coli* açısından paralellik göstermiştir.

Diğer ülkelerde su kaynaklarıyla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, Olsen vd. (2002)'nin yaptığı çalışmada, musluk suyu içmekten kaynaklanan hastalıklara sahip 157 kişiden alınan dışkı örneklerinin %45'inde *E. coli* O157:H7'ye rastlandığı bildirilmiştir. Bu duruma yüzey sularının kronik kontaminasyon potansiyelinin yol açtığı ileri sürülmüştür. Schets vd. (2005)'nin içme suları üzerine yaptığı araştırmada, Hollanda'da bulunan 144 adet özel su kaynağından aldığı su örneklerinde *E. coli* O157 taraması yapılmıştır. Örneklerin %2,7'si O157 pozitif olarak bulunmuştur. Sonucu pozitif çıkan su örneklerinin, kamp alanlarının, tarım alanlarının ve meraların yakınlarında bulunan su kaynaklarından alındığı bildirilmiştir. Yine yapılan bir çalışmada, Rai vd., (2015) Nepal'de marketlerde şişelenmiş olarak satılan 24 adet kaynak suyu numunesinin %54,2'sinde (n=13) *E. coli*'ye rastlandığı belirtilmiştir. Andık Kaynağı'ndaki oranla karşılaştırıldığında Nepal'deki su örneklerindeki *E. coli* düzeyinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Oswald vd. (2007)'nin yaptığı bir diğer çalışmada, Peru'nun Lima kentinden alınan kaynak suyu örneklerinde *E. coli* bulunamamıştır. Buna göre çalışmada elde edilen bulgularla Eğirdir Gölü'nden elde edilen sonuçlar arasında paralellik görülmüştür. Sadece bir ayda *E. coli*'ye rastlanan Andık Kaynağı ise daha kirli bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise LeJeune vd. (2001) 99 adet farklı sığır çiftliğinden toplam 473 adet su örneği olarak *E. coli* bakımından incelemiştir. Bu su örneklerinde ortalama 0,98 log<sub>10</sub> KOB/ml düzeyinde *E. coli* tespit etmiştir. Isparta'dan alınan su örneklerinin ortalamasına bakıldığında ise 0,005 log<sub>10</sub> KOB/ml gibi oldukça düşük bir seviyede olduğu görülmektedir.

### **4.3. Gerçek Zamanlı PZR Bulguları**

Muhtemel *E. coli* suşu olduğu belirlenen 55 adet izolatin virülans faktörlerinin tespit edilmesi için çeşitli gen bölgelerini içeren 7 primer seti kullanılmıştır. Gerçek zamanlı PZR döngü cihazı ile gerçekleştirilen analizde eşik döngü sayısı (Cq) 40'ın

altında ve erime sıcaklığı ( $T_m$ ) Çizelge 3.1’de belirtilen aralıkta olan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.3.1. ETEC (Enterotoksijenik *Escherichia coli*) tespiti

ETEC tespiti için ETEC ST ve ETEC LT olmak üzere iki farklı primer seti kullanılmıştır. Membran filtrasyon yöntemi sonrası doğrulanan *E. coli* kolonilerinden elde edilen DNA’larla ve ETEC ST primeriyle yapılan çalışmada örneklerin tümü negatif olarak tespit edilmiştir. ETEC LT primeriyle yapılan çalışmada da aynı şekilde bütün örnekler negatif olarak tespit edilmiştir. Çizelge 4.7’de izolatların ETEC ST primeri ile Çizelge 4.8’de ise ETEC LT primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları verilmiştir.

Çizelge 4.7. İzolatların ST primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	31,58	85,4	Negatif	6B1-2	33,34	85	Negatif
2B2-3	28,69	84,3	Negatif	4B1-2	34,07	84,9	Negatif
2D1-10	30,54	85,6	Negatif	5B1-6	37,04	85	Negatif
3B1-7	30,55	85	Negatif	5B2-1	33,65	84,6	Negatif
3B2-8	30,03	85,2	Negatif	6B1-5	37,45	85	Negatif
3D1-1	29,59	84,2	Negatif	6A1-2	34,83	84,8	Negatif
3D1-2	28,32	84,5	Negatif	6B1-7	36,17	85	Negatif
3D1-3	29,96	85,1	Negatif	6B2-4	31,86	83,8	Negatif
3D2-1	31,27	85,3	Negatif	1B1-1	30,12	85	Negatif
3B1-16	28,44	84,1	Negatif	2B2-11	29,05	85,2	Negatif
3B1-14	28,72	85,4	Negatif	3B1-1	30,65	85	Negatif
4B1-1	34,70	85,1	Negatif	3B1-13	29,23	85,2	Negatif
4B1-6	34,10	84,8	Negatif	3B2-3	28,36	83,1	Negatif
4B2-3	34,12	84,9	Negatif	4B1-5	29,11	85,2	Negatif
4B1-9	-	84,9	Negatif	6A1-3	32,85	85,1	Negatif
4B1-10	33,82	84,8	Negatif	1D1-1	29,63	85,1	Negatif
4B1-8	36,69	84,8	Negatif	1D1-10	29,33	85,3	Negatif

Çizelge 4.7. İzolatların ST primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları (Devam)

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
5B1-2	37,16	84,9	Negatif	1D2-16	29,81	85,1	Negatif
5B1-8	34,64	84,8	Negatif	2B2-4	30,01	85,2	Negatif
5B2-3	35,54	82,4	Negatif	2D2-4	30,94	85,1	Negatif
5B2-7	34,38	84,8	Negatif	3B2-5	29,88	85,1	Negatif
6B1-10	34,99	84,8	Negatif	3B2-7	30,33	85,3	Negatif
6B2-9	33,24	83,4	Negatif	3B1-12	30,00	85,1	Negatif
6B2-6	32,93	84,9	Negatif	1B2-3	29,58	85,3	Negatif
6B2-8	34,20	84,8	Negatif	1B1-7	30,06	85,2	Negatif
6B2-10	33,43	84,8	Negatif	1B1-6	30,01	85,1	Negatif
6A1-1	32,54	84,9	Negatif	3B1-6	30,42	85,1	Negatif
3B1-11	29,99	85,1	Negatif				

Çizelge 4.8. İzolatların LT primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	-	72,4	Negatif	6B1-2	-	71,3	Negatif
2B2-3	-	73,3	Negatif	4B1-2	-	73,3	Negatif
2D1-10	-	72,6	Negatif	5B1-6	-	72,6	Negatif
3B1-7	-	72,3	Negatif	5B2-1	-	72,7	Negatif
3B2-8	-	70,2	Negatif	6B1-5	-	70,2	Negatif
3D1-1	-	71,5	Negatif	6A1-2	-	71,2	Negatif
3D1-2	-	72,4	Negatif	6B1-7	-	70,3	Negatif
3D1-3	-	70,5	Negatif	6B2-4	-	71,2	Negatif
3D2-1	-	73,2	Negatif	1B1-1	-	71,2	Negatif
3B1-16	-	72,8	Negatif	2B2-11	-	72,1	Negatif
3B1-14	-	72,7	Negatif	3B1-1	-	73	Negatif
4B1-1	-	72,6	Negatif	3B1-13	-	71,1	Negatif
4B1-6	-	72,4	Negatif	3B2-3	-	72,3	Negatif
4B2-3	-	72,5	Negatif	4B1-5	-	72,1	Negatif
4B1-9	-	70,4	Negatif	6A1-3	-	71,2	Negatif

Çizelge 4.8. İzolatların LT primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları (Devam)

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
4B1-10	-	73,5	Negatif	1D1-1	-	71,2	Negatif
4B1-8	-	72,5	Negatif	1D1-10	-	72,1	Negatif
5B1-2	-	72,4	Negatif	1D2-16	-	72	Negatif
5B1-8	-	73,7	Negatif	2B2-4	-	71,7	Negatif
5B2-3	-	72,3	Negatif	2D2-4	-	71,2	Negatif
5B2-7	-	71,8	Negatif	3B2-5	-	71,2	Negatif
6B1-10	-	71,5	Negatif	3B2-7	-	70,1	Negatif
6B2-9	-	72,9	Negatif	3B1-12	-	72,1	Negatif
6B2-6	-	72,4	Negatif	1B2-3	-	71,2	Negatif
6B2-8	-	72,3	Negatif	1B1-7	-	70,1	Negatif
6B2-10	-	71,6	Negatif	1B1-6	-	70,2	Negatif
6A1-1	-	70,2	Negatif	3B1-6	-	70,3	Negatif
3B1-11	-	71	Negatif				

#### 4.3.2. EPEC (Enteropatojenik *Escherichia coli*) tespiti

EPEC suşlarının tespitinde EPEC *eaeA* ve EPEC pCVD432 olmak üzere iki primer seti kullanılmıştır. Membran filtrasyon yöntemiyle doğrulanan koloniler ile yapılan çalışmada 55 izolatın 18 tanesinde EPEC *eaeA* tespit edilmiştir. 37 izolat ise negatif sonuç vermiştir. EPEC pCVD432 ile çalışılan örneklerden ise bütün örnekleri negatif sonuç vermiştir. Çizelge 4.9'da izolatların EPEC *eaeA* primeri ile, Çizelge 4. 10'da ise EPEC pCVD432 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. İzolatların *eaeA* primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	-	86,3	Negatif	6B1-2	33,22	88,7	Negatif
2B2-3	-	86	Negatif	4B1-2	26,27	87	Negatif
2D1-10	-	85,9	<b>Pozitif</b>	5B1-6	34,11	85,5	<b>Pozitif</b>
3B1-7	-	86,7	Negatif	5B2-1	31,91	82,4	Negatif
3B2-8	-	85,9	<b>Pozitif</b>	6B1-5	33,61	85,6	<b>Pozitif</b>

Çizelge 4.9. İzolatların *eaeA* primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları (Devam)

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
3D1-2	39,56	85,9	<b>Pozitif</b>	6B1-7	33,77	85,6	<b>Pozitif</b>
3D1-3	-	81,8	Negatif	6B2-4	33,77	85,1	<b>Pozitif</b>
3D2-1	39,19	85,5	<b>Pozitif</b>	1B1-1	38,19	87,8	Negatif
3B1-16	39,50	85,9	<b>Pozitif</b>	2B2-11	33,48	87,2	Negatif
3B1-14	38,86	87,3	Negatif	3B1-1	32,46	86,9	Negatif
4B1-1	26,75	87,1	Negatif	3B1-13	35,27	87	Negatif
4B1-6	26,87	86,9	Negatif	3B2-3	33,89	86,7	Negatif
4B1-9	26,28	86,9	Negatif	6A1-3	29,49	87,2	Negatif
4B1-10	27,15	86,9	Negatif	1D1-1	-	86	Negatif
4B1-8	27,80	86,9	Negatif	1D1-10	32,57	87,1	Negatif
5B1-2	26,73	86,4	Negatif	1D2-16	39,56	86,9	Negatif
5B1-8	26,67	87	Negatif	2B2-4	-	86	Negatif
5B2-3	34,10	85,4	<b>Pozitif</b>	2D2-4	39,48	85,4	<b>Pozitif</b>
5B2-7	33,65	85,6	<b>Pozitif</b>	3B2-5	38,87	87	Negatif
6B1-10	25,59	87	Negatif	3B2-7	33,95	87,2	Negatif
6B2-9	32,57	89,7	Negatif	3B1-12	33,59	86,8	Negatif
6B2-6	32,85	85,6	<b>Pozitif</b>	1B2-3	37,75	86	Negatif
6B2-8	32,72	85,6	<b>Pozitif</b>	1B1-7	30,60	87,2	Negatif
6B2-10	32,80	85,7	<b>Pozitif</b>	1B1-6	33,08	86,9	Negatif
6A1-1	27,45	85,6	<b>Pozitif</b>	3B1-6	34,80	86,9	Negatif
4B2-3	26,06	87,2	Negatif	3B1-11	38,46	87	Negatif
4B1-5	32,21	87,1	Negatif				

EPEC *eaeA* patotiplerine ait çoğalma eğrileri Ek C. 1'de, erime eğrileri ise Ek C.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. İzolatların pCVD432 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	-	84,3	Negatif	6B1-2	36,32	83,7	Negatif
2B2-3	-	83,7	Negatif	4B1-2	35,56	83,8	Negatif
2D1-10	-	83,9	Negatif	5B1-6	37,77	83,6	Negatif
3B1-7	-	83,5	Negatif	5B2-1	33,75	82,7	Negatif
3B2-8	-	83,6	Negatif	6B1-5	37,68	70,8	Negatif
3D1-1	-	83,8	Negatif	6A1-2	35,44	70,8	Negatif
3D1-2	-	83,7	Negatif	6B1-7	37,17	83,7	Negatif
3D1-3	-	83,5	Negatif	6B2-4	36,22	83,7	Negatif
3D2-1	-	83,6	Negatif	1B1-1	-	82,8	Negatif
3B1-16	-	83,6	Negatif	2B2-11	-	83,2	Negatif
3B1-14	-	83,7	Negatif	3B1-1	-	83,7	Negatif
4B1-1	35,73	84,7	Negatif	3B1-13	-	85,3	Negatif
4B1-6	36,30	86,3	Negatif	3B2-3	-	83,8	Negatif
4B2-3	36,04	83,7	Negatif	4B1-5	-	83,6	Negatif
4B1-9	37,04	84,1	Negatif	6A1-3	-	86	Negatif
4B1-10	36,24	70,6	Negatif	1D1-1	-	71,8	Negatif
4B1-8	38,54	83,6	Negatif	1D1-10	-	83,8	Negatif
5B1-2	36,35	83,5	Negatif	1D2-16	-	83,4	Negatif
5B1-8	36,27	83,6	Negatif	2B2-4	-	83,6	Negatif
5B2-3	36,23	83,3	Negatif	2D2-4	-	84	Negatif
5B2-7	35,91	83,4	Negatif	3B2-5	-	83,6	Negatif
6B1-10	34,97	70,7	Negatif	3B2-7	-	85,8	Negatif
6B2-9	31,39	81,4	Negatif	3B1-12	-	83,5	Negatif
6B2-6	34,56	83,6	Negatif	1B2-3	-	83,4	Negatif
6B2-8	35,70	84,7	Negatif	1B1-7	-	83,6	Negatif
6B2-10	35,81	83,7	Negatif	1B1-6	-	83,6	Negatif
6A1-1	35,21	85,8	Negatif	3B1-6	-	83,4	Negatif
				3B1-11	-	83,6	Negatif

#### 4.3.3. EIEC (*Enteroinvaziv Escherichia coli*) tespiti

EIEC suşlarının tespiti için EIEC *ipaH* primeri kullanılmıştır. EIEC *ipaH* primeri ile incelenen izolatlardan 2 adedi pozitif bulunmuştur. 53 adet örnek ise negatif olarak tespit edilmiştir. Çizelge 4. 11’de izolatların EIEC *ipaH* primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. İzolatların *ipaH* primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	-	83,5	Negatif	6B1-2	-	89,8	Negatif
2B2-3	-	80,2	Negatif	4B1-2	-	91,2	Negatif
2D1-10	-	83	Negatif	5B1-6	-	84,9	Negatif
3B1-7	-	79,9	Negatif	5B2-1	-	85,1	Negatif
3B2-8	-	81,4	Negatif	6B1-5	-	76,7	Negatif
3D1-1	-	83,8	Negatif	6A1-2	-	89,9	Negatif
3D1-2	38,53	77	Negatif	6B1-7	-	81	Negatif
3D1-3	-	80	Negatif	6B2-4	-	83,5	Negatif
3D2-1	39,15	79,9	Negatif	1B1-1	-	89,4	Negatif
3B1-16	39,21	84,5	Negatif	2B2-11	-	80,8	Negatif
3B1-14	39,44	80,3	Negatif	3B1-1	-	80,7	Negatif
4B1-1	-	90	Negatif	3B1-13	-	80,4	Negatif
4B1-6	-	87,2	<b>Pozitif</b>	3B2-3	-	80,4	Negatif
4B2-3	-	89,5	Negatif	4B1-5	-	79	Negatif
4B1-9	-	81,3	Negatif	6A1-3	-	90,6	Negatif
4B1-10	-	89,6	Negatif	1D1-1	-	80,3	Negatif
4B1-8	-	91,1	Negatif	1D1-10	39,38	85,9	Negatif
5B1-2	-	83,9	Negatif	1D2-16	-	85	Negatif
5B1-8	-	90,6	Negatif	2B2-4	-	83,9	Negatif
5B2-3	-	91,2	Negatif	2D2-4	39,11	80,1	Negatif
5B2-7	-	86,8	Negatif	3B2-5	39,26	83,6	Negatif
6B1-10	-	91,2	Negatif	3B2-7	37,79	80,5	Negatif
6B2-9	-	80,6	Negatif	3B1-12	38,36	80,1	Negatif

Çizelge 4.11. İzolatların *ipaH* primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları (Devam)

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
6B2-6	-	84,8	Negatif	1B2-3	-	76,2	Negatif
6B2-8	-	90,8	Negatif	1B1-7	-	81,1	Negatif
6B2-10	-	89,7	Negatif	1B1-6	-	80,7	Negatif
6A1-1	-	86,6	Negatif	3B1-6	-	90	Negatif
				3B1-11	-	83,8	Negatif

#### 4.3.4. VTEC (Verotoksijenik *Escherichia coli*) tespiti

VTEC suşlarının tespitinde VTEC VT1 ve VTEC VT2 olmak üzere iki adet primer seti kullanılmıştır. VTEC VT2 ile yapılan analizlerde 4 adet örnek pozitif, 51 adet örnek ise negatif bulunmuştur. VTEC VT1 ile yapılan analizde ise 2 adet örnek pozitif, 53 adet örnek ise negatif olarak bulunmuştur. Çizelge 4. 12’de izolatların VTEC VT2 primeri ile, Çizelge 4. 13’te ise VTEC VT1 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları verilmiştir.

Çizelge 4.12. İzolatların VT2 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	-	86	<b>Pozitif</b>	6B1-2	37,65	85,4	Negatif
2B2-3	-	85,2	Negatif	4B1-2	-	85,4	Negatif
2D1-10	-	87,6	Negatif	5B1-6	-	85,4	Negatif
3B1-7	-	85	Negatif	<b>5B2-1</b>	-	<b>86,1</b>	<b>Pozitif</b>
4B1-6	36,93	85,4	Negatif	3B2-3	-	85,3	Negatif
4B2-3	37,02	86,2	<b>Pozitif</b>	4B1-5	-	85,3	Negatif
4B1-9	35,82	85,3	Negatif	6A1-3	-	85,6	Negatif
4B1-10	37,73	85,3	Negatif	1D1-1	35,77	85,3	Negatif
4B1-8	37,43	85,3	Negatif	1D1-10	34,85	85,3	Negatif
5B1-2	36,42	85,3	Negatif	1D2-16	34,47	86	<b>Pozitif</b>
5B1-8	37,53	85,4	Negatif	2B2-4	36,86	85,2	Negatif
5B2-3	38,58	78,3	Negatif	2D2-4	34,89	84,3	Negatif

Çizelge 4.12. İzolatların VT2 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları (Devam)

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
5B2-7	38,11	85,3	Negatif	3B2-5	35,30	85,1	Negatif
6B1-10	36,47	85,3	Negatif	3B2-7	35,88	85,3	Negatif
6B2-9	37,05	87,8	Negatif	3B1-12	37,04	85,2	Negatif
6B2-6	36,15	85,4	Negatif	1B2-3	35,21	85,4	Negatif
6B2-8	36,57	85,9	Negatif	1B1-7	34,60	86,3	<b>Pozitif</b>
6B2-10	36,11	85,4	Negatif	1B1-6	34,70	85,2	Negatif
6A1-1	37,28	85,5	Negatif	3B1-6	36,21	85,1	Negatif
4B1-1	36,86	85,5	<b>Negatif</b>	3B1-11	37,22	85,1	Negatif
3B2-8	-	85,3	<b>Negatif</b>	6B1-5	-	85,4	Negatif
3D1-1	-	85,2	<b>Negatif</b>	6A1-2	-	85,4	Negatif
3D1-2	-	85,2	<b>Negatif</b>	6B1-7	-	85,4	Negatif
3D1-3	-	85,2	<b>Negatif</b>	6B2-4	-	85,6	Negatif
3D2-1	-	84,4	<b>Negatif</b>	1B1-1	-	86,1	Pozitif
3B1-16	-	85,3	<b>Negatif</b>	2B2-11	-	85,3	Negatif
3B1-14	-	85,4	<b>Negatif</b>	3B1-1	-	85,8	Negatif
3B1-13	-	85,2	Negatif				

Çizelge 4.13. İzolatların VT1 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
1D1-2	35,97	86,7	Negatif	6B1-2	32,58	86,8	Negatif
2B2-3	35,64	85,3	Negatif	4B1-2	33,09	86,8	Negatif
2D1-10	35,74	85,7	Negatif	5B1-6	34,76	85,1	Negatif
3B1-7	36,58	85	Negatif	5B2-1	34,86	86,6	Negatif
3B2-8	36,06	86,6	Negatif	6B1-5	34,34	86,8	Negatif
3D1-1	35,02	85,6	Negatif	6A1-2	33,76	86,8	Negatif
3D1-2	37,92	85,7	Negatif	6B1-7	34,13	86,8	Negatif
3D1-3	36,78	84,7	<b>Pozitif</b>	6B2-4	34,97	85,6	Negatif
3D2-1	37,24	86,4	Negatif	1B1-1	34,39	86,6	Negatif
3B1-16	35,55	85,3	Negatif	2B2-11	34,63	87	Negatif

Çizelge 4.13. İzolatların VT1 primeri ile döngü sayıları ve erime sıcaklıkları (Devam)

Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç	Örnek	Eşik döngü sayısı (Cq)	Tm (°C)	Sonuç
3B1-14	38,43	85,3	Negatif	3B1-1	35,22	86,6	Negatif
4B1-1	34,30	86,8	Negatif	3B1-13	35,76	86,8	Negatif
4B1-6	33,83	86,7	Negatif	3B2-3	37,97	84,4	<b>Pozitif</b>
4B2-3	34,52	86,8	Negatif	4B1-5	35,74	86,7	Negatif
4B1-9	34,19	86,7	Negatif	6A1-3	37,05	87	Negatif
4B1-10	33,64	86,7	Negatif	1D1-1	37,11	83,9	Negatif
4B1-8	35,73	86,6	Negatif	1D1-10	35,38	86,9	Negatif
5B1-2	34,11	86,6	Negatif	1D2-16	37,39	86,6	Negatif
5B1-8	33,79	86,6	Negatif	2B2-4	36,99	85,6	Negatif
5B2-3	37,06	85,3	Negatif	2D2-4	38,03	85,4	Negatif
5B2-7	34,85	85,3	Negatif	3B2-5	38,44	85,1	Negatif
6B1-10	34,07	88,3	Negatif	3B2-7	34,45	87	Negatif
6B2-9	34,84	86,9	Negatif	3B1-12	28,49	81,5	Negatif
6B2-6	37,37	85,6	Negatif	1B2-3	36,88	85,3	Negatif
6B2-8	35,33	86,8	Negatif	1B1-7	34,98	87	Negatif
6B2-10	34,03	86,8	Negatif	1B1-6	37,68	83,6	Negatif
6A1-1	34,19	86,4	Negatif	3B1-6	36,20	86,6	Negatif
				3B1-11	37,40	85,1	Negatif

İzolatlar eşik döngü sayısı değerleri ve erime sıcaklıklarına göre değerlendirildiğinde Gruplar ayrı ayrı değerlendirilmek üzere RFLP analizlerine geçilmiştir. Çizelge 4.14'te izolatlarla yapılan kantitatif PZR çalışma sonuçları ve ayrılan gruplar toplu şekilde gösterilmiştir.

VTEC VT2 patotiplerine ait çoğalma eğrileri Ek C. 3'te, erime eğrileri ise Ek C.4'te gösterilmiştir. VTEC VT1 patotiplerine ait çoğalma eğrileri ise Ek C. 5'te ve erime eğrileri ise Ek C.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. İzolatlarda bulunan gen bölgeleri

Örnek Kodu	VTEC VT2	VTEC VT1	EPEC <i>eaeA</i>	EPEC pCVD432	ETEC LT	ETEC ST	EIEC <i>ipaH</i>
2D1-10	-	-	+	-	-	-	-
2D2-4	-	-	+	-	-	-	-
3B1-16	-	-	+	-	-	-	-
3B2-8	-	-	+	-	-	-	-
3D1-2	-	-	+	-	-	-	-
3D2-1	-	-	+	-	-	-	-
5B1-6	-	-	+	-	-	-	-
5B2-3	-	-	+	-	-	-	-
5B2-7	-	-	+	-	-	-	-
6A1-1	-	-	+	-	-	-	-
6B1-5	-	-	+	-	-	-	-
6B1-7	-	-	+	-	-	-	-
6B2-10	-	-	+	-	-	-	-
6B2-4	-	-	+	-	-	-	-
6B2-6	-	-	+	-	-	-	-
6B2-8	-	-	+	-	-	-	-
1B1-1	+	-	-	-	-	-	-
1B1-7	+	-	-	-	-	-	-
1D1-2	+	-	-	-	-	-	-
1D2-16	+	-	-	-	-	-	-
4B2-3	+	-	-	-	-	-	-
5B2-1	+	-	-	-	-	-	-
4B1-6	-	-	-	-	-	-	+
3B2-3	-	+	-	-	-	-	-
3D1-3	-	+	-	-	-	-	-
6B2-9	-	-	-	-	-	-	-
6B1-2	-	-	-	-	-	-	-
1B1-6	-	-	-	-	-	-	-
1B2-3	-	-	-	-	-	-	-
1D1-1	-	-	-	-	-	-	-
1D1-10	-	-	-	-	-	-	-
2B2-11	-	-	-	-	-	-	-
2B2-3	-	-	-	-	-	-	-
2B2-4	-	-	-	-	-	-	-
3B1-1	-	-	-	-	-	-	-
3B1-11	-	-	-	-	-	-	-
3B1-12	-	-	-	-	-	-	-
3B1-13	-	-	-	-	-	-	-
3B1-14	-	-	-	-	-	-	-
3B1-6	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.14. İzolatlarda bulunan gen bölgeleri (devam)

Örnek Kodu	VTE VT2	VTE VT1	EPEC <i>eaeA</i>	EPEC pCVD432	ETEC LT	ETEC ST	EIEC <i>ipaH</i>
3B1-7	-	-	-	-	-	-	-
3B2-5	-	-	-	-	-	-	-
3B2-7	-	-	-	-	-	-	-
3D1-1	-	-	-	-	-	-	-
4B1-1	-	-	-	-	-	-	-
4B1-10	-	-	-	-	-	-	-
4B1-2	-	-	-	-	-	-	-
4B1-5	-	-	-	-	-	-	-
4B1-8	-	-	-	-	-	-	-
4B1-9	-	-	-	-	-	-	-
5B1-2	-	-	-	-	-	-	-
5B1-8	-	-	-	-	-	-	-
6A1-2	-	-	-	-	-	-	-
6A1-3	-	-	-	-	-	-	-
6B1-10	-	-	-	-	-	-	-

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Gerçek zamanlı PZR analizi sonucunda 30 adet suşta, incelenen patojenik gen bölgelerine rastlanmamıştır. Araştırılan gen bölgelerine sahip suşların 8 adedinin VTEC patotipine, 16 adedinin EPEC patotipine ve 1 adedinin EIEC patotipine ait oldukları belirlenmiştir. İzole edilen suşlar arasında ETEC patotipine ise rastlanmamıştır.

İçme sularında var olan *E. coli* bakterisinin patojenik genleri taşıyıp taşımadığı halk sağlığı açısından büyük öneme sahiptir. Bu nedenle su kaynaklarında tespit edilen *E. coli* patotipleriyle ilgili ülkemizde kısıtlı olmakla beraber çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir. Özgür (2013)'ün yaptığı çalışmada Edirne İli'nde bulunan nehir, dere, çeltik tarlaları ve süs havuzlarından 10 adet su örneği almıştır. Yapılan gerçek zamanlı PZR analizinde, örneklerin %10'unda EHEC, %20'sinde ETEC, %100'ünde EPEC ve %20'sinde EAEC olmak üzere 4 farklı *E. coli* patotipinin bulunduğu bildirilmiştir. EIEC patotipine ise rastlanılmadığı belirtilmiştir. Isparta ilindeki su kaynaklarına bakıldığında, ETEC ve EPEC yönünden Edirne ilindeki su kaynaklarına göre daha az kirli oldukları görülmektedir. Isparta ilinin EIEC bakımından Edirne ilinden daha kirli olduğu söylenebilir. Diğer bir çalışmada Köksal ve Samastı (2007b) polikarbon damacanalarda satılan içme sularından aldığı 92 adet

su örneğinin %3,3'ünde *E. coli*'ye rastlansa da, EPEC patotipine rastlanmadığını bildirmiştir. İçme sularında *E. coli* varlığına müsaade edilmediği halde bakterinin tespit edilmiş olması düşündürücüdür. Halk sağlığı açısından önemli bir sorun bulunmaktadır.

Yapılan uluslararası çalışmalar incelendiğinde, Lin vd. (1993)'nin, insanlardan, evcil hayvanlardan ve et örneklerinden izole ettikleri, vero hücrelerine etki eden toksin salgıladığı belirlenen 80 adet *E. coli* suşuyla yaptıkları PZR analizinde, bu suşların 40 adedinde (%50) VTEC ortak genlerinin bulunmadığı belirlenmiştir. İnsan ve hayvan atıklarından kirlendiği düşünülen Isparta ili su kaynaklarında ise VTEC bulunmama oranının %85,5 olduğu göz önünde bulundurulursa su kaynaklarının daha az kirli oldukları görülmektedir. Meraz vd. (2008)'nin yaptığı başka bir çalışmada, insanlardan izole edilen 162 adet *E. coli* suşunda PZR yöntemiyle, LT ve ST patojenik genleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda izole edilen suşların %21'inde ETEC LT ve ST genlerine rastlandığı bildirilmiştir. Isparta çevresindeki su kaynaklarında ise bu patotipe rastlanılmamıştır. Sidhu vd. (2013)'nin Brisbane, Avustralya'da yüzey sularıyla yaptığı bir çalışmada sulardan izole edilen 300 adet *E. coli* suşundan %14'ünde EPEC ve %10'unda EIEC virülans genlerin bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca *ipaH* genine izolatların %14'ünde, *eaeA* genine izolatların %56'sında rastlandığı belirtilmiştir. EPEC patotipi bakımından kıyaslandığında Isparta ilindeki suların %15 daha kirli oldukları görülmüştür. EIEC patotipi açısından ise Brisbane, Avustralya'daki suların Isparta'daki su kaynaklarına göre yaklaşık %8 daha kirli oldukları söylenebilir. Yapılan bir diğer çalışmada, Mazzette vd. (2012)'nin kesimhanelerden izole ettikleri *E. coli* suşlarında ise VTEC, EHEC ve EPEC genlerinin varlığı araştırılmıştır. Araştırma sonucunda 95 adet örneğin %21'inin VTEC patotipine, %92'sinin EHEC patotipine ve %37,9'unun ise EPEC patotipine ait olduğu bildirilmiştir. İzolatların %41'inin ise herhangi bir patotipe ait olmadıkları belirtilmiştir. Tez çalışmasında izole edilen *E. coli* suşlarıyla kıyaslandığında, su örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarında patojenite oluşturan gen bölgelerinin daha az sayıda olduğu görülmektedir. Tespit edilen patotipler karşılaştırıldığında ise VTEC ve EPEC patotipine ait suşların, kesimhanelerden izole edilen suşlarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Kesimhane atıklarında mikroorganizma yükünün fazla olması nedeniyle patotip yüzdelerinin yüksek olmasını normal karşılamak gerektiği düşünülmüştür.

Bu çalışmada incelenen içme suyu kaynaklarında *E. coli* varlığının belirlenmesi ve bu suşlardan bazılarının patojenik özellik göstermesi önemli bir sorundur. Su işleminin yapılması sırasında özen gösterilmesi, klorlama dozajının doğru şekilde ayarlanması ve takibinin yapılması meydana gelebilecek halk sağlığı sorunlarını önlemek açısından önem taşımaktadır. DSİ'ye ait su işleme tesisinde donanımlı bir laboratuvar ve uzman personel bulunmaktadır. Bu açıdan güncel bir halk sağlığı sorunu yaşanmamıştır.

#### 4.3.5. Referans suşların gerçek zamanlı PZR sonuçları

Gerçek zamanlı PZR analizinde pozitif kontrol olarak kullanılan referans suşların analiz sonuçları Çizelge 4.15'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.15. Referans suşların içerdiği gen bölgeleri

Örnek Kodu	VTEC VT2	VTEC VT1	EPEC <i>eaeA</i>	EAEC pCVD4 32	ETEC LT	ETEC ST	EIEC <i>ipaH</i>
<i>E. coli</i> DSM 8698	-	+	+	-	-	-	-
<i>E. coli</i> DSM 9026	+	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> DSM 10973	-	-	-	-	+	-	-
<i>E. coli</i> DSM 10974	-	-	-	-	-	-	-

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

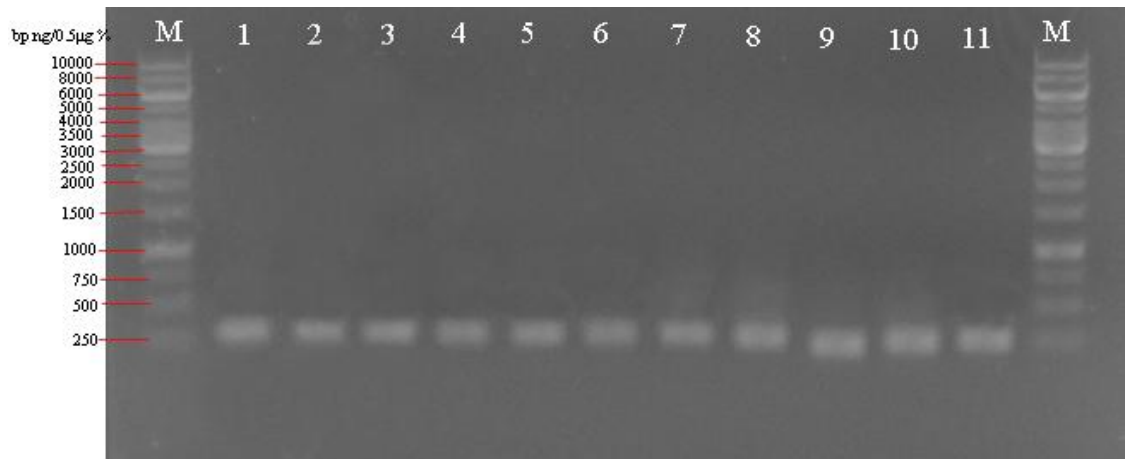
Referans suşlarla yapılan gerçek zamanlı PZR analizi sonucunda *E. coli* DSM 8698 suşunda VTEC ve EPEC patotiplerine ait gen bölgelerine rastlanılmıştır. DSMZ kültür kataloğuna göre *E. coli* DSM 8698'in EPEC grubuna ait bir suş olduğu belirtilmiştir (DSMZ, 2010). *E. coli* DSM 9026 suşunda ise VTEC patotipine ait genler tespit edilmiştir. DSMZ kataloğuna göre bu suş EIEC grup içerisinde görünmesine rağmen *ipaH* gen bölgesinin çoğalmadığı görülmüştür. Bunun nedeni kültürel olarak çoğaltılan suşun herhangi bir rekabet ortamına girmemesinden kaynaklı, *ipaH* gen bölgesinin ekspresyonunu yapmaması olabilmektedir (Bliven ve Maurelli, 2012). *E. coli* DSM 10973 suşunda ETEC patotipinin genleri belirlenmiştir.

Bu suş ise DSMZ kültür kataloğunda ETEC grubuna ait, LT gen bölgesi pozitif, ancak ST gen bölgesini muhtemelen kaybetmiş suş olarak tanımlanmaktadır (DSMZ, 2010). *E. coli* DSM 10974 suşunda ise çalışılan gen bölgelerinden hiçbirine rastlanmamıştır. DSMZ kültür kataloğuna göre bu suş EAEC olarak tanımlanmasına rağmen pcvd432 gen bölgesinde çoğalma olmaması bu bölgenin yukarıda açıklanan sebepten işlevini yitirdiği düşündürmüştür (DSMZ, 2010).

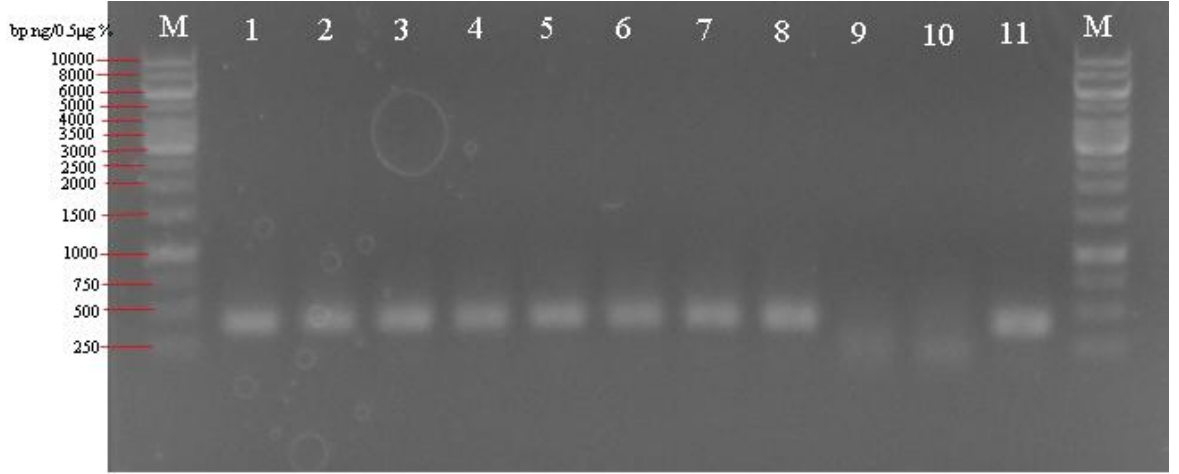
Su kaynaklarından izole edilen suşlar incelendiğinde, izolatlardan 6 adedinin (1B1-1, 1B1-7, 1D1-2, 1D2-16, 4B2-3, 5B2-1) *E. coli* DSM 9026 referans suşuyla benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bunların dışında kalan izolatlardan hiçbirisi referans olarak kullanılan suşlarla benzerlik göstermemiştir. Bu sonuçlar RFLP ile suş düzeyinde farklılıkların gösterilmesini gerekli ve önemli kılmıştır. Daha sonra yapılacak çalışmalarda ek bazı denemelerle bulguların doğrulanması da planlanmaktadır.

#### 4.4. RFLP ve jel elektroforez bulguları

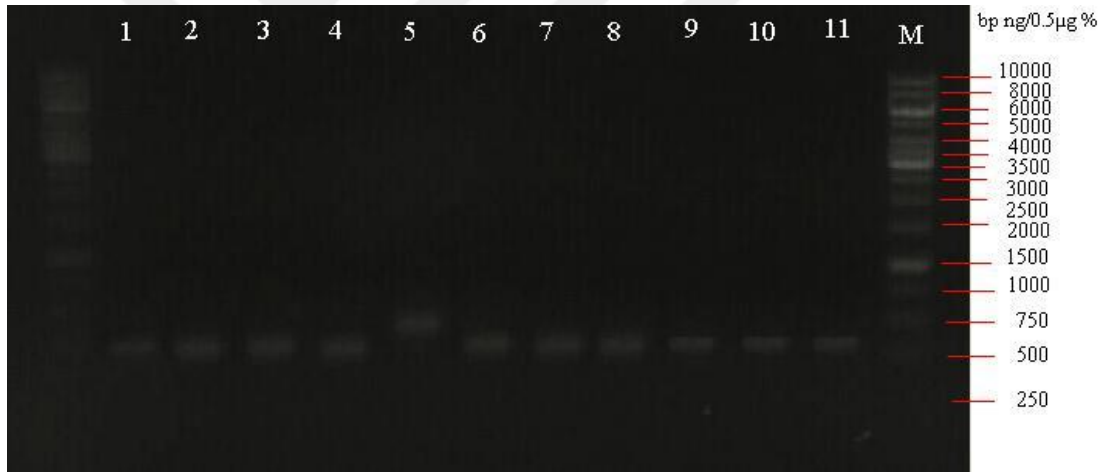
Restriksiyon enzimiyle kesildikten sonra agaroz jel içine yüklenen örneklerin elektroforez analizi sonucu elde edilen jel görüntüleri Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



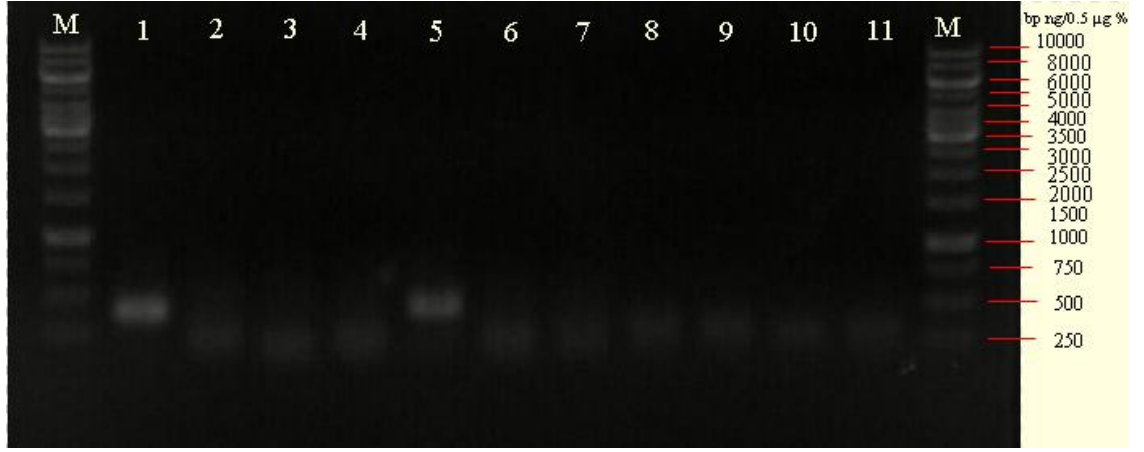
Şekil 4.4. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü (M: Marker, 1: 1D1-2, 2: 2B2-3, 3:3D1-10, 4:3B1-7, 5: 3B2-8, 6: 3D1-1, 7: 3D1-2, 8: 3D1-3, 9: 3D2-1, 10: 3B1-16, 11: 3B1-14)



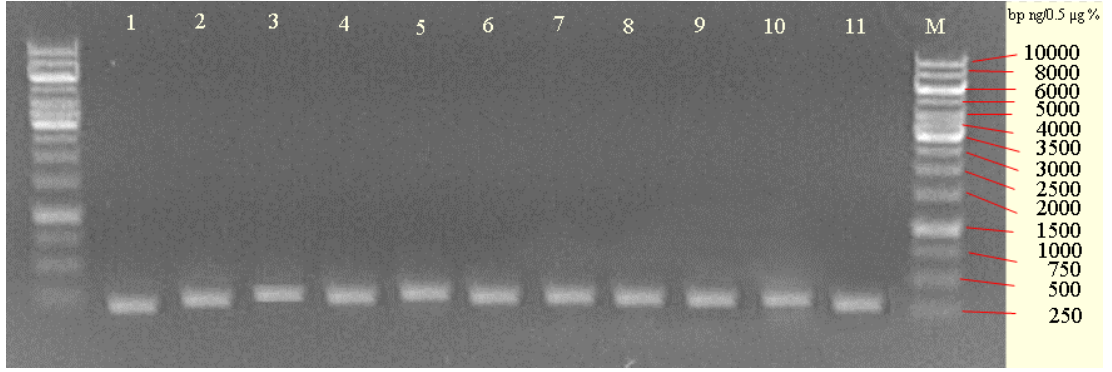
Şekil 4.5. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü (M: Marker, 1: 4B1-1, 2: 4B1-6, 3:4B2-3, 4:4B1-9, 5: 4B1-10, 6: 4B1-8, 7: 5B1-2, 8: 5B1-8, 9: 5B2-3, 10: 5B2-7, 11: 6B1-10)



Şekil 4.6. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü (M: Marker, 1: 6B2-9, 2: 6B2-6, 3: 6B2-8, 4: 6B2-10, 5: 6A1-1, 6: 6B2-2, 7: 1B2-3, 8: 1B1-7, 9: 1B1-6, 10: 3B1-6, 11: 3B1-11)



Şekil 4.7. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü (M: Marker, 1: 4B1-2, 2: 5B1-6, 3: 5B2-1, 4: 6B1-5, 5: 6A1-2, 6: 6B1-7, 7: 6B2-4, 8: 1B1-1, 9: 2B2-11, 10: 3B1-1, 11: 3B1-13)



Şekil 4.8. İzolatlara ait gen bölgelerinin EcoRI enzimiyle kesimleri sonucunda elde edilen bantların görünümü (M: Marker, 1: 3B2-3, 2: 4B1-5, 3: 6A1-3, 4: 1D1-1, 5: 1D1-10, 6: 1D2-16, 7: 2B2-4, 8: 2D2-4, 9: 3B2-5, 10: 3B2-7, 11: 3B1-12)

#### 4.5. RFLP sonucu oluşan bantların molekül ağırlıkları

Gerçek zamanlı PZR analizi sonucu elde edilen ürünler restriksiyon enzimiyle kesilip agaroz jelde yürütülmüştür. Görüntülenen bantların molekül ağırlıkları Vision-Capt Software (Analis, Belçika) programı ile hesaplanmıştır. Patotip gruplarının molekül ağırlıkları Çizelge 4.16'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. Patotiplere ait DNA parçacıklarının molekül ağırlıkları

<b>EPEC</b>	<b>M.A.(dalton)</b>	<b>VTEC</b>	<b>M.A.(dalton)</b>	<b>EIEC</b>	<b>M.A.(dalton)</b>
5B2-3	184,2	5B2-1	239,1	4B1-6	351,7
5B2-7	184,2	1B1-1	306,3		
6B1-7	250	1B1-7	349,1		
6B1-5	261,3	4B2-3	390,8		
6B2-4	261,3	1D2-16	401,7		
5B1-6	295,1	1D1-2	415,6		
3B1-16	371,4	3B2-3	278,7		
3D2-1	387,4	3D1-3	392,9		
3D1-2	392,9				
2D2-4	401,7				
3B2-8	404,1				
2D1-10	409,8				
6B2-8	436,7				
6B2-10	449,3				
6A1-1	474,6				
6B2-6	487,3				

Yukarıdaki çizelgeye göre EPEC patotipi olarak belirlenen grupta bulunan toplam 16 adet suştan 14 adedinin birbiriyle farklılık gösterdikleri bulunmuştur. 5B2-3 ve 5B2-7 suşlarının molekül ağırlıkları bakımından benzerlik gösterdiği görülmüştür. Yine 6B1-5 ile 6B2-4 suşlarının molekül ağırlıkları birbirine eşit bulunmuştur. Buna göre bu suşların birbiriyle suş düzeyinde benzerlik gösterdikleri sonucuna varılmıştır.

VTEC patotipi olarak belirlenen toplam 8 adet suşla yapılan RFLP analizi sonucunda bu suşlardan herbirinin farklı molekül ağırlıklarına sahip oldukları belirlenmiştir. Buna göre 8 adet VTEC suşun birbiriyle benzerlik göstermedikleri ve hepsinin birbirinden farklı suşlar oldukları belirlenmiştir.

Yapılan gerçek zamanlı PZR analizi sonucunda çalışılan gen bölgelerinden hiçbirine sahip olmayan *E. coli* suşlarına yapılan RFLP analizi sonucu belirlenen molekül ağırlıkları Çizelge 4. 17’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. Patojen olmayan *E. coli* suşları DNA’larının molekül ağırlıkları

<i>E. coli</i> suşu	M.A.(dalton)	<i>E. coli</i> suşu	M.A.(dalton)
2B2-11	328,7	3B1-6	399
3B1-1	328,7	2B2-4	401,7
3B1-13	328,7	3B2-7	401,7
6B1-10	338,8	3B1-14	409,8
6B1-2	349,1	5B1-2	417,3
4B1-1	351,7	2B2-3	421,5
3B2-5	358,4	4B1-10	430,7
3B1-11	361,6	4B1-8	430,7
1B2-3	386,5	1D1-10	436,5
3D1-1	387,4	3B1-7	439,8
3B1-12	390,7	6A1-2	448,5
6A1-3	390,7	4B1-5	448,5
5B1-8	390,7	1D1-1	486,7
4B1-9	390,7	6B2-9	487,3
1B1-6	399	4B1-2	489,9

Çizelge 4. 18’de verilen 30 adet suştan 15 adedinin birbiriyle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. 2B2-11, 3B1-1 ve 3B1-13 suşlarının aynı molekül ağırlığına sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu nedenle bu izolatların EcoRI kesimi ile elde edilen DNA parçacıklarının büyüklükleri açısından büyük benzerlik gösterdiği, o nedenle de aynı suş olabilecekleri sonucuna varılmıştır. Ancak bu konuda kesin karar verilebilmesi için farklı restriksiyon enzimleriyle de kesimler yapılarak DNA parçacıklarının büyüklüklerini incelemek gerekmektedir.

Benzer şekilde 3B1-12, 6A1-3, 5B1-8 ve 4B1-9 suşları incelendiğinde de DNA parçacıklarının aynı molekül ağırlıklarına sahip oldukları belirlenmiştir. Bunların yanı sıra incelenen suşlardan 1B1-6 ile 3B1-6’nın, 2B2-4 ile 3B2-7’nin, 4B1-10 ile 4B1-8’in, 6A1-2 ile 4B1-5’in aynı suşlar olduğu söylenebilir.

Amerika’da yapılan bir çalışmada 1983 ile 1996 yılları arasında izole edilen 280 adet *E. coli* suşunda, O157:H7 ve O157:NM suşlarına özgü *stx* gen bölgelerinin araştırıldığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda O157:H7 izolatlarının hepsi için tek tip kalıp RFLP yapısının elde edildiği belirtilmiştir. Bunun yanında 18 adet O55:H7 suşları için 16 farklı tip kalıp RFLP yapısının olduğu bildirilmiştir (Fields vd., 1997). Rolland vd. (1998)’nin yaptığı bir çalışmada, izole edilen 13 adet EIEC suşu, A, B1, B2 ve D olmak üzere 4 farklı filogenetik gruba ayrılmış olan 72 adet *E. coli* referans koleksiyonu suşlarıyla karşılaştırılmıştır. EIEC suşlarının EcoRI ve HindIII enzimleriyle kesilmesinin ardından, geniş çeşitlilik göstererek A, B1 ve B2 filogenetik gruplarına ayrıldığı görülmüştür. Tez çalışmasında sadece 1 adet EIEC suşu izole edildiğinden herhangi bir karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak EPEC suşları incelendiğinde toplam 16 adet suştan 14 adet farklı filogenetik gruba ayrıldıkları görülmüştür. Rolland vd. (1998)’nin çalışmasıyla kıyaslandığında bu su örneklerinden alınan EPEC patotipinin daha fazla çeşitlilik, Fields vd. (1997)’nin çalışmasıyla kıyaslandığında ise çeşitlilik bakımından benzerlik gösterdiği görülmüştür.

200 adet *E. coli* suşunun antibiyotiğe dirençlilik genlerindeki farklılıkların araştırılmasıyla ilgili bir çalışmada, PZR-RFLP yöntemi kullanılarak PZR ürünleri restriksiyon enzimleriyle kesilmiştir. Çalışma sonucunda agaroz jelde 3 çeşit bant gözlemlendiği bildirilmiştir. Ürünlerden %55,2’sinin enzimler tarafından kesilmediği belirtilmiştir (Japoni vd., 2008). Tez çalışmasına bakıldığında EcoRI restriksiyon enzimiyle muamele edilen PZR ürünlerinin hiçbirinin kesilmediği görülmüştür. Bu nedenle ileriki çalışmalarda daha hassas sonuçlar elde edilmesi açısından tek restriksiyon enzimi yerine daha fazla enzimle çalışılması gerekliliği görülmüştür.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu tez çalışmasında, Isparta ili çevresinde bulunan su kaynaklarının, Orman ve Su İşleri Bakanlığının “Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği”nde bulunan bakteriyolojik parametreler açısından sınıflandırılması yapılmıştır. Yapılan sınıflandırmada Andık Kaynağı, Bezirgan Çayı, Darıderesi Barajı ve Eğirdir Gölü’nden alınan suların toplam koliform bakteri içeriği bakımından 2. sınıf su kalitesinde olduğu tespit edilmiştir. Yine Andık Kaynağı, Darıderesi Barajı ve Eğirdir Gölü’nden alınan su örnekleri fekal koliform sayıları açısından incelendiğinde bu su kaynaklarının 2. sınıf; Bezirgan Çayı’ndan alınan su örneklerinin fekal koliform içeriğine göre incelendiğinde 3. sınıf su kalitesine sahip olduğu görülmüştür.

Yönetmeliğe göre 2. sınıf suların az kirlenmiş su oldukları belirtilmiştir. Bu tip suların içme suyu potansiyeli olan, rekreasyonel amaçlar için kullanılabilen, alabalık üretimi dışındaki balık üretimi için kullanılabilen ve mer’i mevzuat ile tespit edilmiş olan sulama suyu kalite kriterlerini sağlamak şartıyla sulama suyu olarak kullanılabilen sular olduğu bildirilmiştir.

3. sınıf sular, yönetmeliğe göre kirlenmiş su kategorisine giren sulardır. 3. sınıf suların, gıda, tekstil gibi nitelikli su gerektiren tesisler hariç olmak üzere, uygun bir arıtmadan sonra su ürünleri yetiştiriciliği için kullanılabilir nitelikte su ve sanayi suyu olduğu belirtilmiştir. Bütün bunlar göz önüne alındığında Isparta çevresindeki su kaynaklarının doğrudan içme suyu, sulama suyu, sanayi suyu vb. amaçlarla kullanılmaması tavsiye edilmektedir. İncelenen su kaynaklarının kullanımından önce mutlaka uygun bir arıtma yapılmalıdır.

Tez çalışmasında incelenen su örneklerinin tamamı toplam koliform bakteri içermektedir. Bu nedenle Sağlık Bakanlığı’nın İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmeliği’ne göre incelenen suların herhangi bir işlemde geçmeden içme suyu olarak veya sulama, fabrikalarda doğrudan kullanma vb. amaçlarla tüketime sunulmaması gerekmektedir.

Su örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının moleküler olarak incelenmesi sonucu bazı patojen genleri içerdikleri tespit edilmiştir. Bu nedenle bu kaynakların arıtılmadan doğrudan kullanılması durumunda çeşitli rahatsızlıklar ortaya çıkabilme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle EPEC patotiplerinin 2 yaş altı çocuklarda ishal salgınlarına neden olduğu bilinmektedir. EPEC patotiplerinin bulaşısında bağırsakta bulunan mikrovillusların yok olmasını takiben doğrudan sıvı kaybı ile ishal olduğu da yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bazı VTEC suşları patojen olmamakla birlikte, bazı patotiplerin sitotoksinler üreterek konakçı hücrelere zarar verdiği bilinmektedir.

RFLP analizleri sonucu suş düzeyinde incelenen izolatların farklılıklar gösterdiği, çok az izolatın birbiriyle benzerlik gösterdiği görülmüştür. Su kaynaklarında bulunan patolojik veya patolojik olmayan *E. coli*'nin filogenetik olarak farklı gruplara dağılmış olduğu görülmüştür. Bu da biyolojik çeşitliliği göstermektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasıyla, Isparta İli çevresindeki su kaynaklarının mikrobiyolojik kalitesi hakkında fikir edinilmesi sağlanmıştır. Su kaynaklarındaki indikatör ve patojen mikroorganizmaların mevsimsel ve kirleticilerin varlığına bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. *E. coli* patotipleri tespit edilen su kaynaklarından Darıderesi Barajı ve Bezirgan Çayı'nın doğrudan herhangi bir arıtım yapılmadan kullanımıyla ise hastalık kaynağı olabilecekleri görülmüştür. Özellikle EPEC ve EIEC patojenitesine sahip olan bu suların, kirletici etmenlerinin tespiti ile mikrobiyolojik açıdan iyileştirilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasının gelecekte yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacağı da düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Alemdar S., Kahraman T., Ağaoğlu S., Alişarlı M. 2009. Bitlis İli İçme Sularının Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri. *Ekoloji* 19, 73, 29-38.
- Baldini M. M., Kaper J. B. , Levine M. M., Candy D. C., Moon H. W. 1983. Plasmid-mediated adhesion in enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1983;2(3):534-8.
- Bieber D., Ramer S. W., Wu C. Y., Murray W. J., Tobe T., Fernandez R., Schoolnik G. K. 1998. Type IV pili, transient bacterial aggregates, and virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Science.* 1998 Jun 26;280(5372):2114-8.
- Bischoff C., Lüthy J., Altwegg M., Baggi F. 2005. Rapid detection of diarrheagenic *E. coli* by real-time PCR. *J Microbiol Methods.* 2005 Jun;61(3):335-41. Epub 2005 Jan 11.
- Bitton, G. 2010. Introduction to Wastewater Treatment, in *Wastewater Microbiology, Fourth Edition.* John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470901243.ch8.
- Bliven K. A., Maurelli A. T. 2012. Antivirulence Genes: Insights into Pathogen Evolution through Gene Loss. *Infect Immun.* 2012 Dec; 80(12): 4061–4070.
- Bodero, M. D., Munson, G. P. 2009. Cyclic AMP Receptor Protein-Dependent Repression of Heat-Labile Enterotoxin . *Infection and Immunity, 77(2), 791–798.* <http://doi.org/10.1128/IAI.00928-08>
- Brenner, D.J., Fanning, G.R., Johnson, K.E., Citarella, R.V., Falkow, S., 1969. Polynucleotide sequence relationships among members of Enterobacteriaceae. *J. Bacteriol.* 98, 637–650.
- Brooks J. T., Sowers E. G., Wells J. G., Greene K. D., Griffin P. M., Hoekstra R. M., Strockbine N. A. 2005. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. *J Infect Dis.* 2005 Oct 15;192(8):1422-9. Epub 2005 Sep 14.
- Buchrieser, C., Glaser, P., Rusniok, C., Nedjari H., D'Hauteville H., Kunst F., Sansonetti P., Parsot C., 2000. The virulence plasmid pWR100 and the repertoire of proteins secreted by the type III secretion apparatus of *Shigella flexneri*. *Mol. Microbiol.* 38, 760–771.
- Bulut C., Kubilay A., Akçimen U., Yener O. 2016. Eğirdir Gölü Mikrobiyoloji Kalitesinin Mevsimsel Değişimi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi Cilt 20, Sayı 1, 50-53.
- Çakır, İ., Çakmakçı, M. L. 2005. Gıdalarda patojen mikroorganizma aranmasında kullanılan moleküler genetik yöntemler. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3 (12): 1-7.*

- Djuikom E., Njine T., Nola M., Sikati V., Jugnia L. B. 2006. Microbiological water quality of the Mfoundi River watershed at Yaoundé, Cameroon, as inferred from indicator bacteria of fecal contamination. *Environmental Monitoring and Assessment* November 2006, Volume 122, Issue 1–3, pp 171–183.
- Donnenberg M. S., Girón J. A., Nataro J. P., Kaper J. B. 1992. A plasmid-encoded type IV fimbrial gene of enteropathogenic *Escherichia coli* associated with localized adherence. *Mol Microbiol.* 1992 Nov;6(22):3427-37.
- Donnenberg M. S., Tacket C.O., Losonsky G., Frankel G., Nataro J.P., Dougan G., Levine M.M. 1998. Effect of Prior Experimental Human Enteropathogenic *Escherichia coli* Infection on Illness following Homologous and Heterologous Rechallenge. *Infect Immun.* 1998 Jan; 66(1): 52–58.
- Donnenberg M. S. (Ed.), 2013. *Escherichia coli* Pathotypes and Principles of Pathogenesis, Academic Press, 576p, London.
- Dünya Sağlık Örgütü, 2016. Erişim Tarihi: 03.12.2016. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/iwachap13.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/iwachap13.pdf)
- Falkow, S., Schneider, H., Baron, L. S., Formal, S. B. 1963. Virulence of *Escherichia-Shigella* genetic hybrids for the guinea pig. *Journal of Bacteriology*, 86(6), 1251–1258.
- Fasano, A., Noriega, F. R., Maneval, D. R., Chanasongram, S., Russell, R., Guandalini, S., Levine, M. M. 1995. Shigella enterotoxin 1: an enterotoxin of *Shigella flexneri* 2a active in rabbit small intestine in vivo and in vitro. *Journal of Clinical Investigation*, 95(6), 2853–2861.
- Fields P., Blom K., Hughes H. J., Helsel L. O., Feng P., Swaminathan B. 1997. Molecular Characterization of the Gene Encoding H Antigen in *Escherichia coli* and Development of a PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Test for Identification of *E. coli* O157:H7 and O157:NM. *Journal Of Clinical Microbiology*, p. 1066–1070.
- Freier T. A., Hartman P. A. 1987. Improved Membrane Filtration Media for Enumeration of Total Coliforms and *Escherichia coli* from Sewage and Surface Waters. *Applied And Environmental Microbiology*, June 1987, p. 1246-1250.
- Galan, J. E., Wolf-Watz, H., 2006. Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines. *Nature* 444, 567–573.
- Gascon, J., Vargas, M., Quinto, L., Corachan, M., Jimenez de Anta M. T., Vila J. Enteroaggregative. 1998. *Escherichia coli* strains as a cause of traveler's diarrhea: a case-control study. *J. Infect. Dis.* 177 (5), 1409–1412.

- Geldreich E. E., Litsky W. 2009. Fecal coliform and fecal streptococcus density relationships in waste discharges and receiving waters. *C R C Critical Reviews in Environmental Control*, 6:4, 349–369.
- Gilbride K. A., Lee D. Y., Beaudette L. A. 2006. Molecular techniques in wastewater: Understanding microbial communities, detecting pathogens, and real-time process control. *J Microbiol Methods*. 2006 Jul;66(1):1-20. Epub 2006 Apr 24.
- Government of Canada Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water (CDW) - Health Canada. 2006. Erişim Tarihi: 03.01.2017. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/water-quality/drinking-water/federal-provincial-territorial-committee-drinking-water-health-canada.html>
- Güler L., Gündüz K., 2007. Virulence Properties of *Escherichia coli* Isolated from Clinical Bovine Mastitis. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*; 31(5): 361-365.
- Harris, J. R., Wachsmuth, I. K., Davis, B. R., Cohen, M. L., 1982. High-molecular-weight plasmid correlates with *Escherichia coli* enteroinvasiveness. *Infect. Immun.* 37, 1295–1298.
- Hartman, A. B., Venkatesan, M., Oaks, E. V., Buysse, J. M. 1990. Sequence and molecular characterization of a multicopy invasion plasmid antigen gene, ipaH, of *Shigella flexneri*. *J. Bacteriol.* 172, 1905–1915.
- Hicks, S., Candy, D. C. A. & Phillips, A. D. Adhesion of enteroaggregative *Escherichia coli* to pediatric intestinal mucosa in vitro. *Infect. Immun.* 64, 4751–4760 (1996).
- Jafari R. A., Fazlara A., Govahi M. 2006. An investigation into Salmonella and fecal coliform contamination of drinking water in broiler farms in Iran. *International Journal of Poultry Science* 5 (5): 491-493.
- Japoni A., Gudarzi M., Farshad S., Basiri E., Ziyaeyan M., Alborzi A., Rafaatpour N. 2008. Assay for Integrons and Pattern of Antibiotic Resistance in Clinical *Escherichia coli* Strains by PCR-RFLP in Southern Iran. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 61, 85-88.
- Jerse A. E., Kaper J. B. 1991. The eae gene of enteropathogenic *Escherichia coli* encodes a 94-kilodalton membrane protein, the expression of which is influenced by the EAF plasmid. *Infect Immun.* 1991 Dec;59(12):4302-9.
- Jones A. N. 2017. Investigating The Bacterial Inactivation Potential Of Purified Okra (*Hibiscus Esculentus*) Seed Proteins In Water Purification. *Arid Zone Journal of Engineering, Technology and Environment*, February 2017; Vol. 13, No. 6-14.

- Joshi M., Deshpande J. D. 2011. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles And Application International Journal of Biomedical Research IJBR 2 [1] [2011]81-97.
- Kaçar A. 2011. Analysis of spatial and temporal variation in the levels of microbial fecal indicators in the major rivers flowing into the Aegean Sea, Turkey. Ecological Indicators 11 (2011) 1360–1365.
- Karafistan A., Arık-Çolakoğlu F. 2005. Physical, Chemical and Microbiological Water Quality of the Manyas Lake, Turkey. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change January 2005, Volume 10, Issue 1, pp 127–143.
- Karakoç G., Ünlü Erkoç F., Katircioğlu H. 2003. Water quality and impacts of pollution sources for Eymir and Mogan Lakes (Turkey). Environment International 29 (2003) 21 – 27.
- Kireççi E., Savaşçı M., Uslu H. 2006. Kars ve Sarıkamış Çevresindeki İçme Suyu Kaynaklarından Membran Filtrasyon Yöntemi ile *Escherichia coli* İzolasyonu. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2006, 1 (1-2) 29-32.
- Knutton S., Shaw R. K., Anantha R. P., Donnenberg M. S., Zorgani A. A. 1999. The type IV bundle-forming pilus of enteropathogenic *Escherichia coli* undergoes dramatic alterations in structure associated with bacterial adherence, aggregation and dispersal. Mol Microbiol. 1999 Aug;33(3):499-509.
- Koloren, Z., Taş, B., Kaya, D. 2011. Gaga Gölü (Ordu, Türkiye)'nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, Yıl: 2 1 (3);74-85.
- Kosek, M., Bern, C., Guerrant, R. L. 2003. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bulletin of the World Health Organization, 81(3), 197–204.
- Kotloff, K. L., Winickoff, J. P., Ivanoff, B., Clemens, J. D., Swerdlow, D. L., Sansonetti, P. J., Levine, M. M. 1999. Global burden of Shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. Bulletin of the World Health Organization, 77(8), 651–666.
- Köksal F., Oğuzkurt N., Samastı M. 2007. İstanbul içme sularının bakteriyolojik yönden incelenmesi: Aeromonas sorunu. Türk Mikrobiyol Cem Derg (2007) 37 (3) : 164-168.
- Kudva I T., Hatfield P. G., Hovde C. J. 1997. Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* serotypes isolated from sheep. J. Clin. Microbiol. April 1997 vol. 35 no. 4 892-899.
- La Ragione, R.M., Cooley, W.A., Woodward, M.J., 2000. The role of fimbriae and flagella in the adherence of avian strains of *Escherichia coli* O78:K80 to tissue culture cells and tracheal and gut explants. J. Med. Microbiol. 49 (4), 327–338.

- Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH. 2010. Erişim Tarihi: 12.12.2016. <https://www.dsmz.de/catalogue/catalogue-microorganisms.html#searchResult>
- LeJeune J. T., Besser T. E., Merrill N. L., Rice D. H., Hancock D. D. 2001. Livestock Drinking Water Microbiology and the Factors Influencing the Quality of Drinking Water Offered to Cattle. *Journal of Dairy Science* Volume 84, Issue 8, August 2001, Pages 1856-1862.
- Lin Z., Kurazono H., Yamasaki S., Takeda Y. 1993. Detection of Various Variant Verotoxin Genes in *Escherichia coli* by Polymerase Chain Reaction. *Microbiol. Immunol.*, 37 (7), 543-548.
- Lloyd, S.J., Ritchie, J.M., Rojas-Lopez, M. 2012. A double, long polar fimbria mutant of *Escherichia coli* O157:H7 expresses Curli and exhibits reduced in vivo colonization. *Infect. Immun.* 80 (3), 914–920.
- Maheux A. F., Picarda F. J., Boissinot M., Bissonnette L., Paradisa S., Bergeron M. G., 2009. Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli*/Shigella in water samples. *Water Research* 43 3019–3028
- Maurelli, A. T., Blackmon, B., Curtiss, R. 1984. Temperature-dependent expression of virulence genes in *Shigella* species. *Infection and Immunity*, 43(1), 195–201.
- Maurelli, A. T., Baudry, B., d' Hauteville, H., Hale, T. L., Sansonetti, P. J. 1985. Cloning of plasmid DNA sequences involved in invasion of HeLa cells by *Shigella flexneri*. *Infection and Immunity*, 49(1), 164–171.
- Mazzette R., Busia G., Mureddu A., Mazza R., Consolati S.G., Meloni D. 2012. Characterization of Pathogenic *E. coli* Isolated In Sheep At Slaughterhouse. *Italian Journal of Food Safety*, Vol. 1 N. 4 Giugno 2012.
- McDaniel T.K., Kaper J.B. 1997. A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on *E. coli* K-12. *Mol Microbiol.* 1997 Jan;23(2):399-407.
- McDonough, K. A., Rodriguez, A. 2011. The myriad roles of cyclic AMP in microbial pathogens, from signal to sword. *Nature Reviews. Microbiology*, 10(1), 27–38. <http://doi.org/10.1038/nrmicro2688>.
- Mellies J.L., Navarro-Garcia F., Okeke I., Frederickson J., Nataro J. P., Kaper J. B., 2001. espC pathogenicity island of enteropathogenic *Escherichia coli* encodes an enterotoxin. *Infect Immun.* 2001 Jan;69(1):315-24.

- Mellies, J.L., Barron, A.M., Carmona, A.M., 2007. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence gene regulation. *Infect. Immun.* 75 (9), 4199–4210.
- Meraz I. M., Jiang Z., Ericsson C. D., Bourgeois A. L., Steffen R., Taylor D. N., Hernandez N., DuPont H. L. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Diffusely Adherent *E. coli* as Likely Causes of a Proportion of Pathogen-Negative Travelers' Diarrhea—A PCR-Based Study. *J Travel Med* 2008; 15 (6): 412-418. doi: 10.1111/j.1708-8305.2008.00249.x
- Nataro, J. P., Seriwatana, J., Fasano, A., Maneval, D. R., Guers, L. D., Noriega, F., Morris, J. G. 1995. Identification and cloning of a novel plasmid-encoded enterotoxin of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* strains. *Infection and Immunity*, 63(12), 4721–4728.
- Nataro, J. P., Yikang, D., Yingkang, D., Walker, K. 1994. AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 176, 4691–4699.
- Nataro J. P., Yikang D., Cookson S., Cravioto A., Savarino S. J., Guers L. D., Levine M. M., Tacket, C. O. 1995. Heterogeneity of Enteroaggregative *Escherichia coli* Virulence Demonstrated. *J Infect Dis.* 171 (2): 465-468.
- Nataro J. P., Kaper J. B. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 1998 Jan; 11(1): 142–201.
- Navarro-García F., Canizalez-Roman A., Sui B. Q., Nataro J. P., Azamar Y. 2004. The Serine Protease Motif of EspC from Enteropathogenic *Escherichia coli* Produces Epithelial Damage by a Mechanism Different from That of Pet Toxin from Enteroaggregative *E. coli*. *Infect Immun.* 2004 Jun; 72(6): 3609–3621.
- Noble R.T., Moore D.F., Leecasterc M.K., McGeed C.D., Weisberge S.B. 2003. Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. *Water Research* 37 (2003) 1637–1643.
- Nunes E. B., Saridakis H. O., Irino K., Pelayo J. S. 2003. Genotypic and phenotypic characterization of attaching and effacing *Escherichia coli* (AEEC) isolated from children with and without diarrhoea in Londrina, Brazil. *Journal of Medical Microbiology* (2003), 52, 499–504
- Ochman H., Selander R. K., 1984. Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural populations. *J Bacteriol.* 1984 Feb; 157(2): 690–693.
- Ohara M., Oswald E., Sugai M. 2004. Cytotoxic distending toxin: a bacterial bullet targeted to nucleus. *J Biochem.* 2004 Oct;136(4):409-13.
- Olesen B., Scheutzb F., Andersena R. L., Menard M., Boisen N., Johnston B., Hansen D. S., Krogfelte K. A., Nataro J. P., Johnson J. R. 2012.

Enteroaggregative *Escherichia coli* O78:H10, the Cause of an Outbreak of Urinary Tract Infection. J. Clin. Microbiol. vol. 50 no. 11 3703-3711.

Olsen S. J., Miller G., Breuer T., Kennedy M., Higgins C., Walford J., McKee G., Fox K., Bibb W., Mead P. 2002. A Waterborne Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections and Hemolytic Uremic Syndrome: Implications for Rural Water Systems. Emerging Infectious Diseases • Vol. 8, No. 4, April 2002.

Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği. 2015. Erişim tarihi 03.12.2016.  
<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/04/20150415-18.htm>

Oswald W. E., Lescano A. G., Bern C., Calderon M. M., Cabera L., Gilman R. H. 2007. Fecal Contamination of Drinking Water within Peri-Urban Households, Lima, Peru. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Volume 77, Issue 4, Oct 2007, p. 699 – 704.

Özgür M., 2013. Edirne İlindeki Çevresel Sularda Kirlilik İndikatörü Mikroorganizmaların Ve Yeni Çıkan Bakteriyel Patojenlerin Moleküler Yöntemlerle Saptanması. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 90s, Edirne.

Petri W.A. Jr., Miller M., Binder H.J., Levine M.M., Dillingham R., Guerrant R.L. 2008. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. Journal of Clinical Investigation. 2008;118(4):1277-1290.

Potter, L. R. 2011. Guanylyl cyclase structure, function and regulation. Cellular Signalling, 23(12), 1921–1926. <http://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.09.001>

Pupo, G. M., Karaolis, D. K., Lan, R., Reeves, P. R. 1997. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and mdh sequence studies. Infection and Immunity, 65(7), 2685–2692.

Rai R., Kumal B., Rai D., Keshari A., Bhandari R. 2015. Bacteriological Evaluation Of Bottled Water Commercially Available In Eastern Nepal. Sunsari Technical College Journal 2015; 2(1):54-57.

Rasko D.A., Rosovitz M.J., Myers G.S., Mongodin E.F., Fricke W.F., Gajer P., Crabtree J., Sebaihia M., Thomson N.R., Chaudhuri R., Henderson I.R., Sperandio V., Ravel J. 2008. The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. J Bacteriol. 2008 Oct;190(20):6881-93. doi: 10.1128/JB.00619-08. Epub 2008 Aug 1.

Rolland K., Lambert-Zechovsky N., Picard B., Denamur E. 1998. Shigella and enteroinvasive *Escherichia coli* strains are derived from distinct ancestral strains of *E. coli*. Microbiology (1998), 144, 2667-2672.

- Rompré A., Servais P., Baudart J., de-Roubin M. R., Laurent P., 2001. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *Journal of Microbiological Methods* 49 (2002) 31–54.
- Ronald, A., 2002. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.* 113 (Suppl. 1A), 14S–19S.
- Rout, W. R., Formal, S. B., Giannella, R. A., Dammin, G. J. 1975. Pathophysiology of *Shigella* diarrhea in the rhesus monkey: intestinal transport, morphological, and bacteriological studies. *Gastroenterology* 68, 270–278
- Russo, T. A., McFadden, C. D., Carlino-MacDonald, U. B., Beanan, J. M., Barnard, T. J., Johnson, J. R. 2002. IroN functions as a siderophore receptor and is a urovirulence factor in an extraintestinal pathogenic isolate of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 70 (12), 7156–7160.
- Sack R.B. 1990. Travelers' diarrhea: microbiologic bases for prevention and treatment. *Rev Infect Dis.* 1990 Jan-Feb;12 Suppl 1:S59-63.
- Sack, R.B. 2011. The discovery of cholera-like enterotoxins produced by *Escherichia coli* causing secretory diarrhoea in humans. *Indian J. Med. Res.* 133 (2), 171–180.
- Sağlık Bakanlığı (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu)'ndan: İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. 2013. Erişim tarihi: 02.01.2017 [http://www.saglik.gov.tr/TR,10473/insani-tuketim-amacli-sular-hakkinda-  
yonetmelik.html](http://www.saglik.gov.tr/TR,10473/insani-tuketim-amacli-sular-hakkinda-yonetmelik.html).
- Sansonetti, P. J., Kopecko, D. J., Formal, S. B. 1981. *Shigella sonnei* plasmids: evidence that a large plasmid is necessary for virulence. *Infection and Immunity*, 34(1), 75–83.
- Sarantuya, J., Nishi, J., Wakimoto, N., Erdene, S., Nataro, J. P., Sheikh, J., Iwashita, M., Manago, K., Tokuda K., Yoshinaga, M., Miyata K., Kawano, Y. 2004. Typical Enteroaggregative *Escherichia coli* Is the Most Prevalent Pathotype among *E. coli* Strains Causing Diarrhea in Mongolian Children. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 133–139.
- Schets F. M., During M., Italiaander R., Heijnen L., Rutjes S. A., van der Zwaluw W. K., de Roda Husman A. M. 2005. *Escherichia coli* O157:H7 in drinking water from private water supplies in the Netherlands. *Water Research* 39 (2005) 4485–4493.
- Schroeder, G. N., Hilbi, H. 2008. Molecular Pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling Host Cell Signaling, Invasion, and Death by Type III Secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(1), 134–156. <http://doi.org/10.1128/CMR.00032-07>.
- Sidhu J. P. S., Ahmed W., Hodgers L., Tozea S. 2013. Occurrence of Virulence Genes Associated with Diarrheagenic Pathotypes in *Escherichia coli* Isolates

- from Surface Water. *Applied and Environmental Microbiology*, Volume 79, p. 328–335.
- Silva, R. M., Toledo, M. R., Trabulsi, L. R. 1980. Biochemical and cultural characteristics of invasive *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 11(5), 441–444.
- Sims, G.E., Kim, S.H., 2011. Whole-genome phylogeny of *Escherichia coli*/Shigella group by feature frequency profiles (FFPs). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 8329–8334.
- Sixma T.K., Pronk S.E., Kalk K.H., Wartna E.S., van Zanten B.A., Witholt B., Hol W.G. 1991. Crystal structure of a cholera toxin-related heat-labile enterotoxin from *E. coli*. *Nature*. 1991 May 30;351(6325):371-7.
- Small, P. L., Falkow, S., 1988. Identification of regions on a 230-kilobase plasmid from enteroinvasive *Escherichia coli* that are required for entry into HEp-2 cells. *Infect. Immun.* 56, 225–229.
- Snyder, J. A., Haugen, B. J., Lockett, C. V., Maroncle N., Hagan E. C., Johnson D. E., Welch R. A., Mobley H. L. T. 2005. Coordinate expression of fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 73 (11), 7588–7596.
- So, M., Boyer, H. W., Betlach, M., & Falkow, S. 1976. Molecular cloning of an *Escherichia coli* plasmid determinant that encodes for the production of heat-stable enterotoxin. *Journal of Bacteriology*, 128(1), 463–472.
- Tauschek, M., Gorrell, R. J., Strugnell, R. A., & Robins-Browne, R. M. 2002. Identification of a protein secretory pathway for the secretion of heat-labile enterotoxin by an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(10), 7066–7071. <http://doi.org/10.1073/pnas.092152899>
- Tilden Jr., J., Young, W., McNamara, A.M., et al., 1996. A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *Am. J. Public Health* 86 (8), 1142–1145.
- Topçu A. W., Söyletir G., Doğanay M. 1996. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2670s, İstanbul.
- Toroğlu E., Toroğlu S., Alaeddinoğlu F. 2006. Aksu Çayı'nda (Kahraman Maraş) Akarsu Kirliliği. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 2006,4 (1), 93-103.
- Trofa A.F., Ueno-Olsen H., Oiwa R., Yoshikawa M. 1999. Dr. Kiyoshi Shiga: discoverer of the dysentery bacillus. *Clinical Infectious Diseases* 29 (5): 1303–1306.
- Uchiya, K., Tobe, T., Komatsu, K., Suzuki T., Watarai M., Fukuda I., Yoshikawa M., Sasakawa C. 1995. Identification of a novel virulence gene, *virA*, on the

large plasmid of *Shigella*, involved in invasion and intercellular spreading. *Mol. Microbiol.* 17, 241–250.

US EPA Drinking Water Contaminants – Standards and Regulations. Erişim Tarihi 02.01.2017. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations#Microorganisms>.

Venkatesan, M. M., Buysse, J. M., Kopecko, D. J. 1989. Use of *Shigella flexneri* ipaC and ipaH gene sequences for the general identification of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(12), 2687–2691.

Welch, R.A., Burland, V., Plunkett 3rd, G., Redford P., Roesch P., Rasko D., Buckles E. L., Liou S. R., Boutin A., Hackett J., Stroud D., Mayhew G. F., Rose D. J., Zhou S., Schwartz D. C., Perna N. T., Mobley H. L., Donnenberg M. S., Blattner F. R. 2002. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (26), 17020–17024.

Whittam, T.S., 1998. Evolution of *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-producing *E. coli* Strains. In: Kaper, J.B., O'Brien, A.D. (Eds.), American Society for Microbiology, Washington, D.C, pp. 195–212.

Willke A. 2008. Etiology and Pathogenesis of Diarrhea Caused by *Escherichia coli*. *Ankem Derg*; 22(0):188-191.

Xicohtencatl-Cortes, J., Monteiro-Neto, V., Saldana, Z., et al., 2009a. The type 4 pili of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 are multipurpose structures with pathogenic attributes. *J. Bacteriol.* 191 (1), 411–421.

Xicohtencatl-Cortes, J., Sanchez Chacon, E., Saldana, Z., et al., 2009b. Interaction of *Escherichia coli* O157:H7 with leafy green produce. *J. Food Prot.* 72 (7), 1531–1537.

## **EKLER**

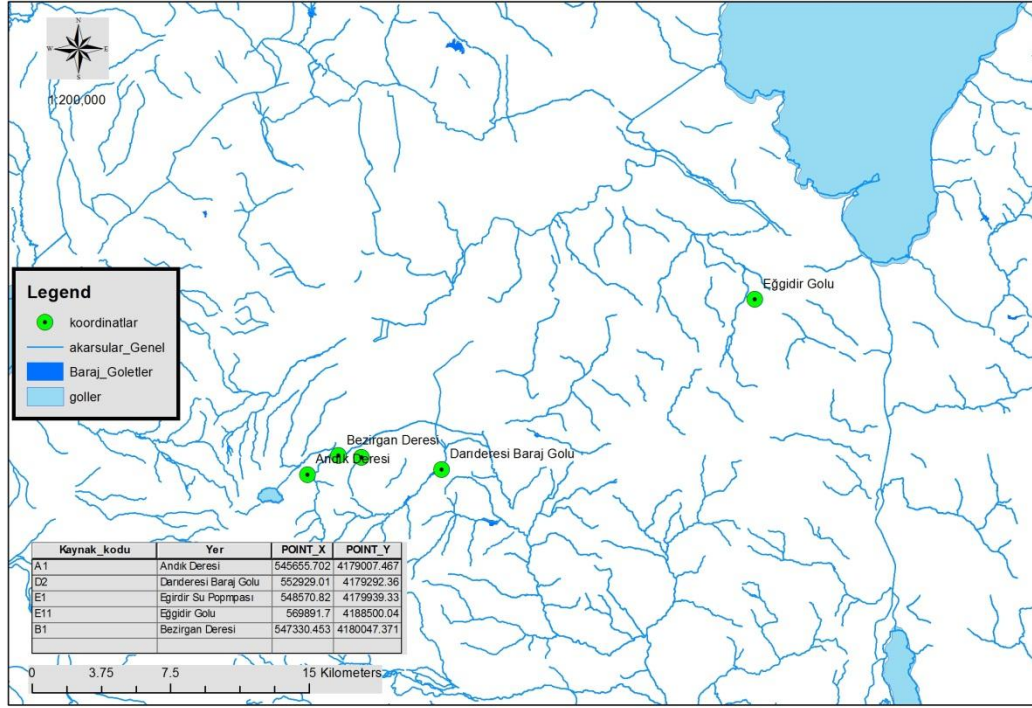
**EK A.** Haritalar

**EK B.** Çizelgeler

**EK C.** Fotoğraflar



## EK A. Haritalar



Şekil A.1. Su örneklerinin alındığı noktalar

## EK B. Çizelgeler

Çizelge B.1. Nisan ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
4A1-1	+	kok			
<b>4B1-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	++	+
4B1-2	-	çubuk	-	-	
4B1-3	-	çubuk	-	üreme yok	
4B1-4	-	çubuk	-	-	
4B1-5	-	çubuk	-	-	
<b>4B1-6</b>	-	<b>çubuk</b>	-	++	++
<b>4B1-7</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
4B1-8	-	çubuk	-	-	
4B1-9	-	kok			
4B1-10	-	çubuk	-	-	
4B1-11	-	çubuk	-	-	
4B1-12	-	kok			
4B2-1	+	kok			
4B2-2	-	kok			
<b>4B2-3</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
4B2-4	-	çubuk	-	üreme yok	
4B2-5	-	çubuk	-	-	
4B2-6	-	kok			
4B2-7	-	çubuk	-	üreme yok	
4B2-8	-	çubuk	-	-	
<b>4D1-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>4D1-2</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
4D1-3	-	çubuk	-	-	
4D1-4	-	kok			
4D1-5	-	kok			
4D1-6	-	çubuk	+	üreme yok	
4D1-7	-	çubuk	-	-	
4D1-8	-	çubuk	+	üreme yok	
4D1-9	-	çubuk	-	-	
<b>4D1-10</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
4D1-11	-	çubuk	-	-	
4D1-12	+	kok			
4D2-1	-	çubuk	-	-	
4D2-2a	+	kok			
4D2-2b	-	çubuk	-	üreme yok	
4D2-3	-	çubuk	-	üreme yok	

Çizelge B.1. Nisan ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri (Devam)

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
4D2-4	-	çubuk	+	-	
4D2-5	+	kok			
4D2-6	-	çubuk	-	-	
4D2-7	-	çubuk	-	-	
4D2-8	-	kok			
4D2-9	-	çubuk	-	-	
4D2-10	-	çubuk	-	-	
4D2-11	-	kok			
4D2-12	-	kok			
4D2-13	-	çubuk	+	üreme yok	
4D2-14	-	kok			
4D2-15	+	kalın çubuk			
<b>4D2-16</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
4E1-1	+	kok			
4E1-2	-	kok			
4E1-3	+	kok			
4E1-4	-	kok			
<b>E. coli: 8</b>		<b>Toplam koliform: 22</b>		<b>Toplam: 54</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.2. Mayıs ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
5A1-1	+	kok	+		
5A1-2	+	kok	+		
5A1-3	+	kok	+		
5A1-4	+	kok	+		
5A1-5	+	kok	+		
5A1-6	+	kok	+		
5A1-7	-	çubuk	-	üreme yok	
5A1-8	+	kok	-		
5B2-1	+	çubuk			
5B2-2	+	çubuk			
<b>5B2-3</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>5B2-4</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
5B2-5	+	kok			
5B2-6	+	kok			
5B2-7	+	kok			
5B2-8	+	kok			
5B2-9	-	kok			
5B2-10	-	çubuk	-	üreme yok	
<b>5B2-11</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
5B2-12	+	çubuk			
5D1-1	-	çubuk	-	-	
5D1-2	-	çubuk	-	-	
5D1-3	-	çubuk	+		
5D1-4	-	çubuk	-	-	
5D1-5	+	kok			
5D1-6	-	çubuk	+		
5D1-7	-	kok			
5D1-8	-	çubuk	+		
5D1-9	-	çubuk	-	-	
<b>5D1-10</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
5D1-11	-	çubuk	-	-	
5D1-12	-	çubuk	-	-	
5D2-1	-	çubuk	-	üreme yok	
5D2-2	-	çubuk	+		
5D2-3	-	çubuk	+		
<b>5D2-4</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
5E1-1	-	çubuk	+		
5E1-2	-	çubuk	-	üreme yok	
5E1-3	+	çubuk			
5E1-4	+	çubuk			

Çizelge B.2. Mayıs ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri (Devam)

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
5E1-5	-	çubuk	-	üreme yok	
5E1-6	+	kok			
5E1-7	-	çubuk	-	üreme yok	
5E1-8	-	çubuk	-	üreme yok	
<b><i>E. coli</i>: 5</b>		<b>Toplam koliform: 16</b>		<b>Toplam: 44</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.3. Haziran ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
6A1-1	-	çubuk	+		
6A1-2	üreme yok		-		
<b>6B1-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
6B1-2	-	kok	-		
6B1-3	-	çubuk	-	-	
6B1-4	-	çubuk	-	-	
6B1-5	+	çubuk			
<b>6B1-6</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	-
<b>6B1-7</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	-
6B1-8	-	çubuk	-	-	
6B1-9	-	çubuk	-	-	
6B1-10	-	çubuk	-	-	
<b>6B1-11</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>6B1-12</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>6B1-13</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
6B1-14	-	çubuk	-	-	-
6B1-15	-	çubuk	-	-	
6B1-16	-	çubuk	-	-	
6B2-1	-	çubuk	-	-	
6B2-2	-	çubuk	-	-	
6B2-3	-	çubuk	-	-	
6B2-4	-	çubuk	-	-	
<b>6B2-5</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
6B2-6	-	çubuk	-	-	
<b>6B2-7</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>6B2-8</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
6B2-9	-	çubuk	-	-	
6B2-10	-	çubuk	-	-	
<b>6D1-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>6D1-2</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>6D1-3</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
6D1-4	-	çubuk	+		
6D1-5	-	çubuk	+		
6D1-6	-	çubuk	+		
6D2-1	-	çubuk	-	+	-
6D2-2	-	çubuk	-	-	
6D2-3	üreme yok				
6D2-4	-	çubuk	+		
6D2-5	-	çubuk	+		

Çizelge B.3. Haziran ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri (Devam)

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
6D2-6	-	çubuk	-	-	
6D2-7	+	kok			
6D2-8	üreme yok				
6E1-1	+	kok			
<b><i>E. coli</i>: 12</b>		<b>Toplam koliform: 18</b>		<b>Toplam: 43</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler



Çizelge B.4. Temmuz ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
7A1-1	+	kok			
7A1-2	+	kok			
7A1-3	+	kok			
7A1-4	-	çubuk	+		
<b>7B1-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
<b>7B1-2</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
7B1-3	+	kok			
7B1-4	-	kok			
<b>7B1-5</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
<b>7B1-6</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
7B1-7	+	kok			
<b>7B1-8</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
<b>7B1-9</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
<b>7B1-10</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>zayıf</b>	<b>+</b>
7B2-1	-	çubuk	+		
7B2-2	-	çubuk	+		
<b>7B2-3</b>	-	<b>çubuk</b>	-	<b>+</b>	<b>+</b>
7B2-4	-	çubuk	-	üreme yok	
7B2-5	-	kok			
7D2-1	-	çubuk	-	-	
7D2-2	-	çubuk	+		
7D2-3	-	çubuk	-	-	
7D2-4	-	çubuk	+		
7D2-5	-	kok			
7D2-6	-	çubuk	+		
7D2-7	-	çubuk	+		
7D2-8	-	çubuk	+		
7D2-9	-	çubuk	+		
7D2-10	-	çubuk	+		
7E1-1	-	çubuk	-	-	
7E1-2	-	çubuk	-	-	
<b>E. coli: 8</b>		<b>Toplam koliform: 5</b>		<b>Toplam: 31</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.5. Ağustos ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
8A1-1	+	kok			
8A1-2	+	kok			
8A1-3	+	kok			
8A1-4	-	çubuk	-	-	
8A1-5	+	kok			
8A1-6	-	çubuk	-	üreme yok	
8A1-7	+	kok			
8A1-8	+	kok			
8B1-1	-	çubuk	-	-	
<b>8B1-2</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
8B1-3	-	çubuk	-	-	
8B1-4	-	çubuk	-	-	
8B1-5	-	çubuk	-	-	
<b>8B1-6</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
8B1-7	-	çubuk	-	-	
<b>8B1-8</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>8B2-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
8B2-2	-	çubuk	-	-	
<b>8B2-3</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
8B2-4	-	çubuk	-	-	
8B2-5	-	kok			
8B2-6	-	çubuk	-	-	
<b>8B2-7</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
8B2-8	-	çubuk	-	-	
8D2-1	-	çubuk	-	-	
8D2-2	-	çubuk	-	-	
8D2-3	-	kok			
8D2-4	-	çubuk	-	-	
8D2-5	+	kok			
8D2-6	+	kok			
8D2-7	-	çubuk	+		
8D2-8	+	kok			
8E1-1	üreme yok				
8E1-2	üreme yok				
8E1-3	üreme yok				
8E1-4	üreme yok				
8E1-5	üreme yok				
8E1-6	üreme yok				
8E1-7	-	çubuk	+		
8E1-8	-	çubuk	-	-	
<b>E. coli: 6</b>		<b>Toplam koliform: 15</b>	<b>Toplam: 40</b>		

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.6. Eylül ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
9A1-1	+	kok			
9A1-2	+	kok			
9B1-1	-	çubuk	-	-	
9B1-2	-	çubuk	-	-	
9B1-3	-	çubuk	-	-	
9B1-4	-	çubuk	+		
9B1-5	+	kok			
<b>9B1-6</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>9B1-7</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
9B1-8	-	çubuk	-	-	
9B1-9	-	çubuk	-	-	
9B1-10	-	çubuk	-	-	
9B2-1	-	çubuk	-	-	
9B2-2	-	çubuk	-	-	
9B2-3	-	çubuk	-	+	-
9B2-4	-	çubuk	-	-	
<b>9B2-5</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
9B2-6	+	kok			
9B2-7	+	kok			
<b>9B2-8</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
9B2-9	-	çubuk	-	+	-
9B2-10	-	çubuk	-	-	
<b>9D2-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
9D2-2	-	çubuk	-	-	
9D2-3	-	çubuk	-	-	
9D2-4	+	kok			
9D2-5	+	kok			
9D2-6	+	kok			
9D2-7	-	çubuk	+		
9D2-8	+	kok			
9D2-9	+	kok			
9D2-10	+	kok			
<b>E.coli: 5</b>		<b>Toplam koliform: 14</b>		<b>Toplam: 32</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.7. Ekim ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
10A1-1	-	çubuk	-	+	-
10A1-2	-	çubuk	-	+	+
10A1-3	-	çubuk	-	+	+
10A1-4	-	çubuk	-	-	
10A1-5	-	çubuk	-	-	
10B1-1	-	çubuk	-	-	
10B1-2	-	çubuk		+	+
10B1-3	-	kok			
10B1-4	-	çubuk	-	-	
10B1-5	-	çubuk	-	+	+
10B1-6	-	çubuk	-	-	
10B1-7	-	çubuk	-	+	+
10B1-8	-	çubuk	-	-	
10B1-9	-	çubuk	-	-	
10B1-10	-	çubuk	-	+	+
10B2-1	-	çubuk	-	-	
10B2-2	-	çubuk	-	-	
10B2-3	-	çubuk	-	-	
10B2-4	-	çubuk	-	-	
10B2-5	-	çubuk	-	-	
10B2-6	-	çubuk	-	-	
10B2-7	-	çubuk	-	-	
10B2-8	-	çubuk	-	-	
10B2-9	-	çubuk	-	-	
10B2-10	-	çubuk	-	-	
10D2-1	+	kok			
10D2-2	+	kok			
10D2-3	+	kok			
10D2-4	+	kok			
10D2-5	+	kok			
10D2-6	+	kok			
10D2-7	+	kok			
10D2-8	+	kok			
10D2-9	+	kok			
10D2-10	+	kok			
10E1-1	+	kok			
10E1-2	+	kok			
<b>E.coli: 7</b>		<b>Toplam koliform: 17</b>		<b>Toplam: 37</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.8. Kasım ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
11A1-1	-	çubuk	+		
11A1-2	-	çubuk	+		
11A1-3	-	çubuk	+		
11A1-4	-	çubuk	+		
11A1-5	-	çubuk	+		
11A1-6	-	çubuk	+		
11A1-7	-	çubuk	+		
11A1-8	-	çubuk	+		
11A1-9	-	çubuk	+		
11A1-10	-	çubuk	+		
11B1-1	-	çubuk	-	-	
11B1-2	-	çubuk	+		
11B1-3	-	çubuk	+		
11B1-4	-	çubuk	+		
11B1-5	-	çubuk	+		
11B1-6	-	çubuk	-	-	
11B1-7	-	çubuk	+		
11B1-8	-	çubuk	-	-	
11B1-9	-	çubuk	+		
11B1-10	-	çubuk	+		
11B2-1	-	çubuk	-	-	
11B2-2	üreme yok				
11B2-3	-	çubuk	-	-	
11B2-4	-	çubuk	-	-	
11B2-5	-	çubuk	+		
11B2-6	-	çubuk	-	-	
11D2-1	-	çubuk	+		
11D2-2	-	çubuk	+		
11D2-3	-	çubuk	-	-	
11D2-4	-	çubuk	+		
11D2-5	üreme yok				
11D2-6	-	çubuk	-	-	
11D2-7	-	çubuk	-	-	
11D2-8	-	çubuk	-	-	
11D2-9	-	çubuk	-	-	
11D2-10	-	çubuk	+		
<b>E. coli: 0</b>		<b>Toplam koliform: 12</b>	<b>Toplam: 36</b>		

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.9. Aralık ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
12A1-1	-	çubuk	-	üreme yok	
12A1-2	-	çubuk	-	üreme yok	
12A1-3	-	çubuk	-	üreme yok	
12A1-4	üreme yok				
12A1-5	üreme yok				
12A1-6	üreme yok				
12A1-7	üreme yok				
12A1-8	üreme yok				
12B1-1	-	çubuk	-	-	
12B1-2	-	çubuk	-	-	
12B1-3	-	çubuk	-	-	
12B1-4	üreme yok				
12B1-5	üreme yok				
12B1-6	üreme yok				
12B1-7	-	çubuk	-	-	
12B1-8	-	çubuk	+		
12B1-9	-	çubuk	-	üreme yok	
12B1-10	-	çubuk	-	-	
12B2-1	-	çubuk	+		
12B2-2	-	çubuk	+		
12B2-3	-	çubuk	+		
12B2-4	görüntü yok				
12B2-5	üreme yok				
12B2-6	-	çubuk	-	-	
12B2-7	-	çubuk	+		
12B2-8	-	çubuk	+		
12B2-9	-	çubuk	+		
12B2-10	-	çubuk	+		
<b>E. coli: 0</b>		<b>Toplam koliform: 10</b>		<b>Toplam: 28</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.10. Ocak ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
1A1-1	+	kok			
1A1-2	üreme yok				
1A1-3	+	kok			
1A1-4	+	kok			
1A1-5	+	kok			
1A1-6	+	kok			
1A1-7	+	kok			
1A1-8	+	kok			
1A1-9	+	kok			
1A1-10	+	kok			
1B1-1	+	kok			
1B1-2	-	çubuk	-	üreme yok	
1B1-3	üreme yok				
1B1-4	-	çubuk	-	-	
1B1-5	-	çubuk	-	-	
1B1-6	-	çubuk	-	-	
1B1-7	üreme yok				
1B1-8	-	çubuk	-	-	
1B1-9	-	çubuk	-	-	
1B1-10	-	çubuk	-	-	
<b><i>E. coli</i>: 0</b>		<b>Toplam koliform: 7</b>		<b>Toplam: 20</b>	

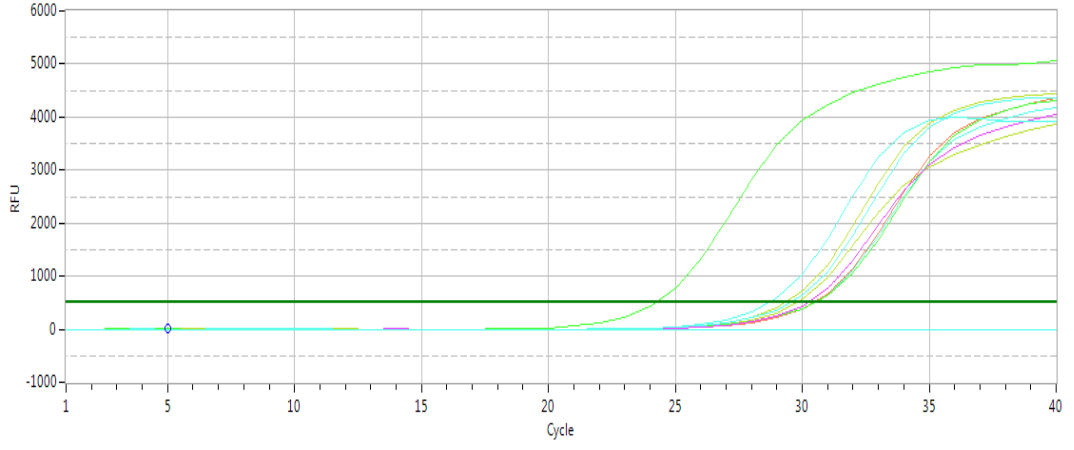
+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

Çizelge B.11. Şubat ayı su örneklerinden alınan suşların doğrulama testleri

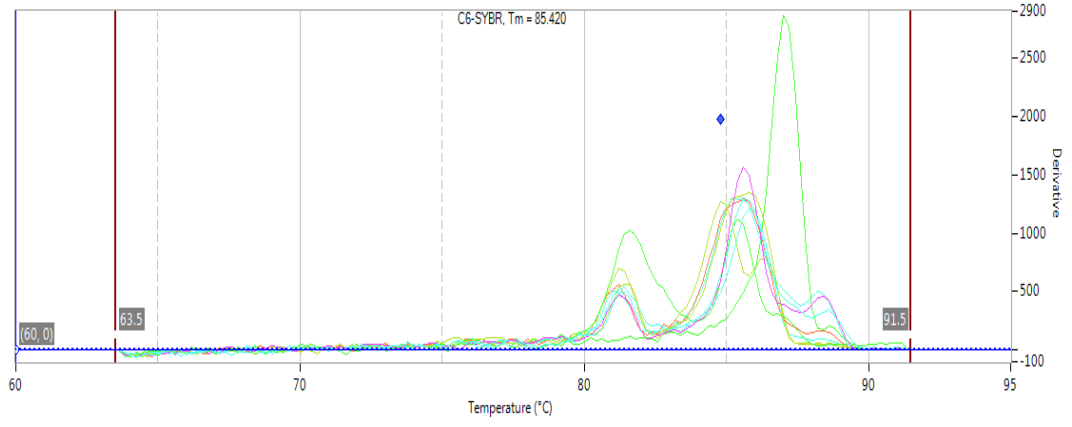
Suş kodu	Gram	Morfoloji	Oksidaz	MUG	İndol
2A1-1	üreme yok				
2A1-2	üreme yok				
2A1-3	üreme yok				
2A1-4	-	çubuk	-	üreme yok	
2A1-5	-	çubuk	-	üreme yok	
2A1-6	-	çubuk	-	üreme yok	
2A1-7	-	çubuk	-	üreme yok	
2A1-8	üreme yok				
2A1-9	üreme yok				
2A1-10	-	çubuk	-	-	
2B1-1	-	çubuk	-	-	
2B1-2	-	çubuk	-	-	
<b>2B1-3</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
2B1-4	-	çubuk	+		
2B1-5	-	çubuk	+		
2B1-6	-	çubuk	+		
2B1-7	-	çubuk	-	-	
2B1-8	-	çubuk	-	-	
<b>2B1-9</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
<b>2B1-10</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
2B2-1	-	çubuk	-	-	
2B2-2	-	çubuk	-	-	
2B2-3	-	çubuk	-	-	
2B2-4	-	çubuk	-	-	
2B2-5	-	çubuk	+		
2B2-6	-	çubuk	+		
2B2-7	-	çubuk	-	-	
2B2-8	-	çubuk	-	-	
<b>2D2-1</b>	-	<b>çubuk</b>	-	+	+
2D2-2	-	çubuk	-	-	
2D2-3	-	çubuk	-	-	
2D2-4	-	çubuk	-	-	
<b>E. coli: 4</b>		<b>Toplam koliform: 18</b>		<b>Toplam: 32</b>	

+ : pozitif tespit edilen örnekler, - : negatif tespit edilen örnekler

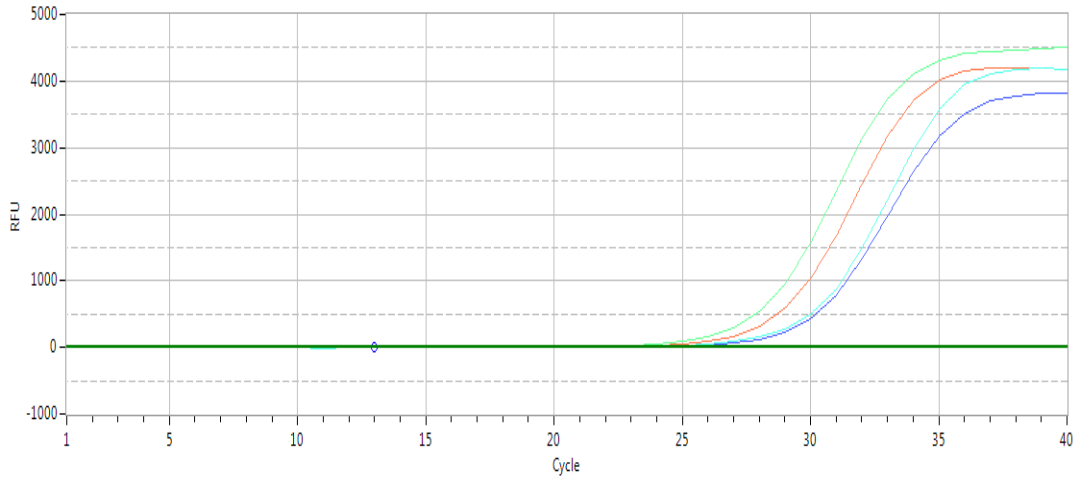
## EK C. Fotoğraflar



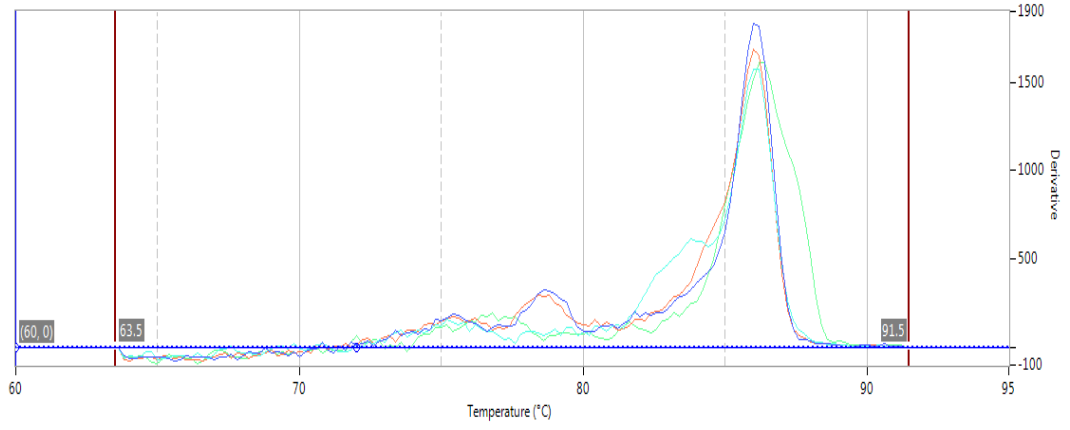
Şekil C.1. EPEC patotiplerinin *eaeA* gen bölgesine ait çoğalma eğrisi



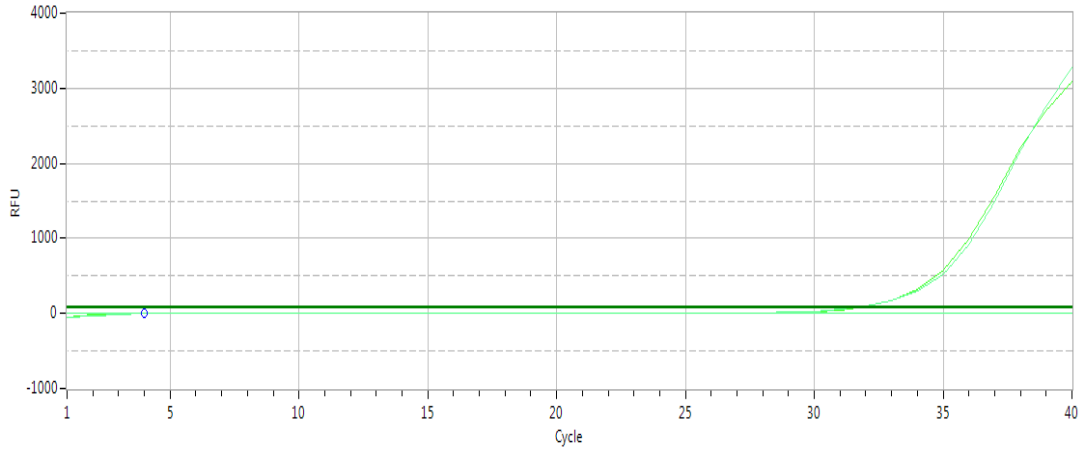
Şekil C.2. EPEC patotiplerinin *eaeA* gen bölgesine ait erime eğrisi



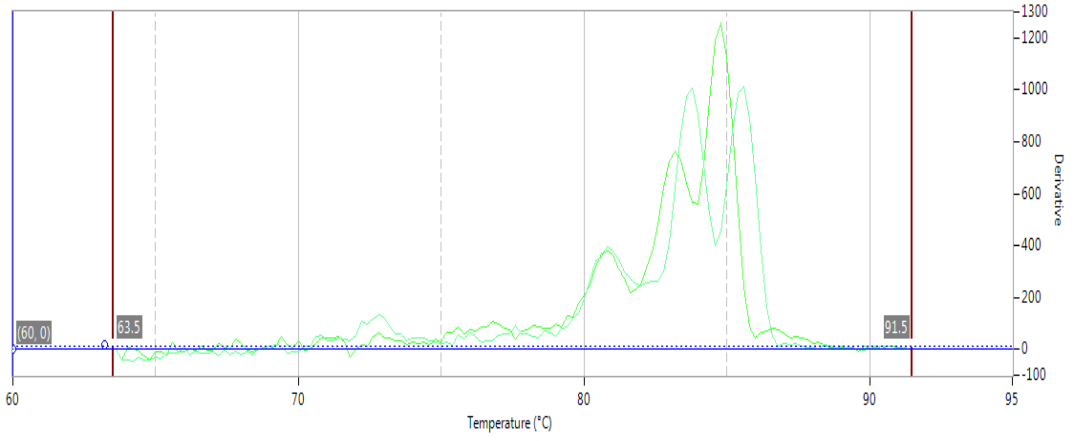
Şekil C.3. VTEC patotiplerinin VT2 gen bölgesine ait çoğalma eğrisi



Şekil C.4. VTEC patotiplerinin VT2 gen bölgesine ait erime eğrisi



Şekil C.5. VTEC patotiplerinin VT1 gen bölgesine ait çoğalma eğrisi



Şekil C.6. VTEC patotiplerinin VT1 gen bölgesine ait erime eğrisi

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Ebru Sedef KAPLAN

Doğum Yeri ve Yılı : Antalya, 1988

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : esedefkaplan@hotmail.com

### **Eğitim Durumu**

Lise : Isparta Anadolu Lisesi, 2006

Lisans : SDÜ, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, 2012