



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

EDİRNE YÖRESİNE AİT İŞLETMELERDE YETİŞTİRİLEN
SIĞIRLARDA *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 YAYGINLIĞININ
REAL-TIME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yunus Emre KARATOPAK

Danışman

Prof. Dr. Fatih BÜYÜK

Kars-2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

EDİRNE YÖRESİNE AİT İŞLETMELERDE YETİŞTİRİLEN
SIĞIRLARDA *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 YAYGINLIĞININ
REAL TIME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

Yunus Emre KARATOPAK

Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Prof. Dr. Fatih BÜYÜK

Kars-2024

ÖNSÖZ

Genellikle *E. coli* kısaltmasıyla veya koli basili olarak tanımlanan *Escherichia coli*, memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşamlarını idame ettiren bakterilerden bir tanesidir. Bu hayvanların bağırsaklarında üremeye adapte olduğu için vücut sıcaklığında çoğalması beklenir. İnsan ve hayvanların bağırsak floralarında yaşamını sürdüren ve normalde saprofitik özellikte olan bazı *E. coli*'ler, bazı koşullar altında enterik veya septisemik enfeksiyonlara sebebiyet veren bakteriyellerden birisidir. Bunların en bilineni *E. coli* O157:H7 olarak bilinen serotipidir. Etken rezervuarı olarak kabul edilen sığırlar; dışkı ile çevreye, yem ve sulara dolaylı olarak bulaştırmakta ve diğer canlıların etkeni almasına sebep olmaktadır.

Bu çalışma ile Edirne Yöresine ait işletmelerde yetiştirilen sığırlarda *Escherichia coli* O157:H7 yaygınlığının Real-Time PCR (Polymerase Chain Reaction) ile araştırılması amaçlanmıştır. Edirne merkez, ilçeleri ve köylerinden toplanan sığır taze dışkı örnekleri soğuk zincir altından ivedilikle laboratuvara getirildi, ön zenginleştirme yapıldı, DNA izolasyonları yapılarak Real-Time PCR ile analiz edildi. Çalışma sonuçları ile Edirne yöresinde sığırlarda *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığının bilinmesinin, etkenden ileri gelebilecek hastalıkların teşhisi, tedavisi, korunma ve kontrolüne faydalı olacağı umulmaktadır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım eden, deneyim ve bilgisini aktaran tez danışmanım değerli hocam Prof.Dr. Fatih BÜYÜK'e ve her türlü bilgi ve desteğini sağlayan Vet.Hek. Ozan KARAKUŞ'a, Vet.Hek. Hasan Zafer ŞAFAK'a ve Vet. Teknisyen Ersin TANGAL'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
RESİMLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Escherichia coli	3
2.1.1.Tarihçe ve Taksonomi	3
2.1.2.Genel Özellikleri	4
2.1.2.1. Yapısal Özellikleri	4
2.1.2.2. Kültürel Özellikleri	4
2.1.2.3. Genomik Özellikleri	5
2.1.2.4.Biyokimyasal Özellikleri	5
2.1.2.5.Antijenik Yapısı.....	6
2.1.2.6. Virulans ve Patojenite Özellikleri.....	6
2.1.2.6.1. Patojen <i>E. coli</i> patotipleri	8
2.1.2.6.1.1. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC).....	8
2.1.2.6.1.2. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC).....	8
2.1.2.6.1.3. Enteroinvazif <i>E. coli</i> (EIEC)	9
2.1.2.6.1.4. Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAEC veya EAggEC).....	9
2.1.2.6.1.5. Diffüz adherent <i>E. coli</i> (DAEC)	10
2.1.2.6.1.6. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC).....	10
2.2. <i>E. coli</i> O157:H7.....	11
2.2.1. Genel Özellikleri	11
2.2.2. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Biyokimyasal Özellikleri	12
2.2.3. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Patojenitesi ve Virulens Faktörleri	14
2.2.4. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Bulaşma ve Yayılması.....	16
2.2.5. Klinik Belirtiler	20

2.2.5.1. Hemorajik Kolit	21
2.2.5.2. Hemolitik Üremik Sendrom	22
2.2.5.3. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)	22
2.2.6. Teşhis	22
2.2.6.1. Real-Time PCR	23
2.2.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol	26
3. MATERYAL VE METOT	28
3.1. Çalışma Yasal İzni	28
3.2. Çalışma Alanı	28
3.3. Materyal	28
3.1.1. Kullanılan Besiyeri	28
3.1.1.1. Modifiye Tryptone Soya Broth (mTSB)	28
3.3.2. Ön Zenginleştirme İçin Kullanılan Alet-Ekipman ve Cihazlar	29
3.3.3. DNA Ekstrasyonu İçin Kullanılan Alet-Ekipman- Kimyasallar	30
3.3.4. RT-PCR İçin Kullanılan Alet-Ekipmanlar	30
3.4. Metot	31
3.4.1. Örneklerin Alınması	31
3.4.2. Ön Zenginleştirme	31
3.4.3. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Moleküler Analizi	32
3.4.3.1. DNA Ekstraksiyon	32
3.4.3.2. Real-Time PCR Analizi	32
3.4.4. Real-Time PCR'nin Aşamaları	33
3.4.5. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
4.1. Real-Time PCR Analiz Bulguları	36
4.2. <i>E. coli</i> O157:H7 Pozitifliğinin Dağılımı	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	40
5.1. Tartışma	40
5.2. Sonuç	45
6. KAYNAKLAR	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
PCR	: Polimerase Chain Reaction
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
RN	A: Ribonükleik Asit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
pH	: Potansiyel Hidrojen
°C	: Santigrat derece
mTSB	: Modified Tryptone-Soy Broth
SMAC	: Sorbitol MacConkey
HE	: Hektoen Enterik Agar
IMVIC	: İndol, Metil kırmızısı, Voges-Proskauer, Sitrat
TTP	: Trombotik Trombositopenik Purpura
HUS	: Hemolitik Üremik Sendrom
NA	: Nükleik Asit
UV	: Ultraviyole
RINA M14	: Robotik Nükleik Asit Ekstraksiyon Cihazı
RT	: Real Time
NTC	: Negatif Kontrol
PC	: Pozitif Kontrol

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: <i>E. coli</i> 'nin IMVIC Test Sonuçları (Microbeonline 2021).....	6
Resim 2: Real Time PCR Reaksiyonu ve Kantitatif Analiz Örneği.....	26
Resim 3: RT-PCR'ın Çalışma Sistemi.....	26
Resim 4: Pozitif Sonuç Veren 65 Numaralı Örnek	37



TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: <i>E. coli</i> 'nin Taksonomik Sınıflandırması	4
Tablo 2: Patojen <i>E. coli</i> Patotiplerinin Bazı Önemli Özellikleri (Eklund 2005).....	7
Tablo 3: <i>E. coli</i> O157:H7'nin Üreme Koşulları (Erol 2007, Bekar 2019).	13
Tablo 4: <i>E. coli</i> O157:H7'nin Biyokimyasal Test Özellikleri (Ratnam ve ark. 1988).	14
Tablo 5 : <i>E. coli</i> O157:H7'nin Bulaşma Şekilleri ve Rezervuarları (Armstrong ve ark. 1996).	17
Tablo 6 : Dünyada <i>E. coli</i> O157:H7'den Kaynaklanan Büyük Salgınlar (Bekar 2019).	18
Tablo 7 : 2010-2022 Yılları arası Dünya'da <i>E. coli</i> O157:H7 Salgınları (Bekar 2019; CDC 2019; CDC 2021).	20
Tablo 8: Ön Zenginleştirme İçin Kullanılan Besiyeri İçeriği.....	29
Tablo 9: Ön Zenginleştirme İçin Kullanılan Alet-Ekipman ve Cihazlar	29
Tablo 10: PCR'da Kullanılan Kit İçeriği Çizelgesi	31
Tablo 11: Real-Time PCR Kurulum Çizelgesi.....	33
Tablo 12: Real-Time PCR Sıcaklık Programı	33
Tablo 13: Numuneler için Kit Kontrollerinin Beklenen Performansı Çizelgesi	34
Tablo 14: Real-Time PCR Sonuçlarının Yorumlanması	35
Tablo 15: Toplanan Örneklerle Ait Hayvanların Yaş, Klinik Belirti, İşletme Sayısının Edirne Lokasyonuna Göre Dağılımı	36
Tablo 16: Dışkı Örneklerinin Yaş, Genel Durum Dağılımı ve <i>E. coli</i> O157:H7 Pozitifliği Yönünden Dağılımı	39

ÖZET**Edirne Yöresine Ait İşletmelerde Yetiştirilen Sığırlarda *Escherichia coli* O157:H7 Yaygınlığının Real-Time PCR ile Araştırılması**

İnsan ve hayvanların bağırsak floralarında yaşayan ve oportunistik özellikte olan *Escherichia coli* bazı durumlarda enterik veya septisemik karakterde enfeksiyonlara neden olarak buzağı ve sığır ölümlerine yol açan en yaygın etkenlerden biridir. En yaygın bilinen ve patojenik olan serotipi *E. coli* O157:H7'dir. Bu serotipin rezervuarı sığırlardır ve etken sığırların bağırsak florasında yaşayabilmektedir. *E. coli* O157:H7'yi taşıyan hayvanlar dışkıları ile etkeni saçtıkları için meyve, sebze, et, süt vb. gıdaları ve suları kontamine edebilmekte ve buna bağlı olarak sonraki olası bulaşlara aracılık edebilmektedir. Ayrıca hayvanlarla direkt teması sonucunda etken insanlara bulaşabilmektedir. Hayvanlara bulaşma sonucu *E. coli* O157:H7, Hemorajik Kolitis (HC), Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) ve Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) gibi ciddi hastalıklara sebep olabilmektedir. Bu nedenle, sığırların etken taşıyıcılıklarının araştırılması olası bulaşların önlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Bu çalışmanın amacı; Edirne yöresinde yetiştirilen sığırlarda *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığının Real-Time PCR ile araştırılmasıdır. Çalışmanın materyalini, Edirne il merkezi, ilçe ve köylerine ait aile tipi veya özel işletmelerde yetiştirilen buzağı, düve ve sığırlardan alınan taze dışkı örnekleri oluşturdu. Dışkı örnekleri 79 farklı yerleşim yerinden 120 adeti buzağı, 80 adeti düve ve 200 adeti ergin sığır olmak üzere 400 adet taze dışkı örneği alınmış ve alınan dışkı örnekleri ait 140 adet semptomik, 260 adeti asemptomatik hayvandan alındı. Alınan dışkı örnekleri Tamponlanmış Pepton ile ön zenginleştirilmesi (41,5 °C +16 saat) yapıldıktan sonra *E. coli* O157:H7 yönünden Real-Time PCR ile analiz edildi.

Toplam 120 adet buzağıya ait taze dışı örneğinin; 70 adetinin semptomik (ateş, iştahsızlık, ishal) belirti gösteren buzağıya ait olduğu ve 1 adet dışkı örneğinin pozitif sonuç tespit edildiği, 50 adet asemptomatik buzağıdan alınan taze dışkı örneğinden ise pozitif sonuç tespit edilmedi.

Toplam 80 adet düveye ait taze dışkı örneğinin; 20 adetinin semptomik, 60 adetinin asemptomatik hayvana ait olduğu ve pozitif sonuç tespit edilmediği görüldü.

Toplam 200 adet ergin sığira ait taze dışkı örneğinin; 50 tanesinin semptomik (ateş, iştahsızlık, ishal) belirti gösteren ergin sığira ait olduğu ve pozitif sonuç tespit edilmediği ve 150 adet asemptomatik ergin sığırdan alınan taze dışkı örneğinden 1 adet taze dışkı örneğinin pozitif sonuç verdiği görüldü.

Sonuç olarak Edirne yöresindeki işletmelerde yetiştirilen her yaş grubuna ait sığırlardan alınan 400 adet taze dışkı örneğinden 2 tanesinde *Escherichia coli* O157:H7 bulundu ve yaygınlığının %0,5 (2/400) olduğu tespit edildi.

Anahtar Sözcükler: Dışkı, Edirne, *Escherichia coli* O157:H7, Sığır, Real-Time PCR

SUMMARY

Investigation of the Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Cattle Raised in Enterprises in the Edirne Region with Real-Time PCR.

Escherichia coli, which lives in the intestinal flora of humans and animals and has an opportunistic character, is one of the most common factors that lead to calves and cattle deaths by causing enteric or septicemic infections in some cases. The most known serotype is *E. coli* O157:H7. The reservoir area of this serotype is cattle and it can survive in the intestinal flora. Animals carrying *E. coli* O157:H7 can cause the agent to spread to the environment by contaminating foods and water such as fruits, vegetables, meat, milk, etc. with their feces. Direct contact with animals can cause the agent to be transmitted to humans. As a result of contamination, *E. coli* O157:H7 serotype can cause serious diseases such as Hemorrhagic Colitis (HC), Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) and Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP).

The purpose of this study; To investigate the prevalence of *E. coli* O157:H7 using Real-Time PCR in cattle raised in the Edirne region. The material of the study consisted of fresh fecal samples taken from cattle raised in family type or private farms in Edirne city center, districts and villages. Fecal samples were taken from 79 different settlements, and fecal samples of a total of 400 clinically healthy and diarrheal cattle were used for the detection of *E. coli* O157H:7; Buffered Peptone Water (BWP) pre-enrichment (41.5 °C +16 hours) was performed and the samples were analyzed by Real-Time PCR. In the study, *E. coli* O157H:7 was detected in two (0.5%) of 400 stool samples.

Out of a total of 120 fresh fecal samples of calves, 70 of them belonged to calves with symptomatic (fever, anorexia, diarrhea) symptoms and 1 fecal sample was positive and 50 fresh fecal samples from asymptomatic calves were not positive.

Out of a total of 80 fresh fecal samples of heifers, 20 were symptomatic and 60 asymptomatic animals and no positive results were detected.

Out of a total of 200 fresh faecal samples of adult cattle, 50 of them belonged to adult cattle with symptomatic (fever, loss of appetite, diarrhoea) symptoms and no positive result was detected and out of 150 fresh faecal samples taken from asymptomatic adult cattle, 1 fresh faecal sample was positive.

As a result, *Escherichia coli* O157:H7 was found in 2 of 400 fresh faecal samples taken from cattle of all age groups raised in Edirne region and its prevalence was 2/400 (0.5%).

Key Words: Edirne, *Escherichia coli* O157:H7, Feces, Cattle, Real-Time PCR



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Escherichia coli, insanlarda ve hayvanlarda yaşamını kalın bağırsak florası içinde yürüten ve sık şekilde karşımıza çıkabilen fakültatif anaerob bakterilerdendir (Baysal ve ark. 2004).

Enterobacteriaceae familyasında bulunan *E. coli* memeliler için fırsatçı patojen olarak bilinir. *E. coli* hayata geliş ile başlayan ve kısa süre içerisinde sıcakkanlı canlıların gastrointestinal bölgesine yerleşir. *E. coli* suşlarının büyük kısmı bağırsağın uç yüzeyine tutunur (Erdem ve ark. 1999).

Sağlıklı sığır dışkılarında düzenli olarak bulunan *E. coli* O157 insanlara gıda, su ya da enfekte olmuş hayvan ve insan dışkılarından kontaminasyon yoluyla bulaşmaktadır. *E. coli* O157:H7 klinik olarak bakıldığında bir halk sağlığı sorunudur. Genellikle gıda kaynaklı bulaşlarla halk sağlığını tehdit eden ve gıda güvenliği konusunda karşımıza çıkan bu patojen sonuçları ölüme kadar varan sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (Mead ve Griffin. 1998).

Bu bakterinin rezervuarı sığırlar ile beraber koyun, keçi, geyik, tavuk, köpek, domuz ve martılarda daha sık görülmektedir. Dışkılarda genellikle oranı %0-10 bandında olmakla beraber, yaşı ileri olmayan hayvanlarda yüksek sıklıkta olduğu, sığır dışkılarında 70 güne kadar 5°C'de yaşamlarını sürdürebildiği ve verotoksin sentezleme özelliğini yitirmediği tespit edilmiştir (Temelli, 2002). Bazı araştırmalar gösteriyor ki, bu bakterinin özellikle sütçül inekler başta olmak üzere diğer memeli ve kanatlı hayvanların rezervuar olduğu ve dışkılama yoluyla et ve süt ürünlerine, toprağa, suya ve diğer hayvanlara bulaşabilecek diğer yüzeylere yayıldığını bildirilmiştir (Halkman ve ark. 2001).

Enfeksiyon ve enfeksiyon olmayan nedenlerden dolayı buzağı ishalleri, yüksek ölüm ve bulaşma sebebiyle sığır yetiştiriciliğinde ciddi maddi kayıplara sebep olan hastalıklardan birisidir. İshal kaynaklı küçük yaşta ölüm oranlarının düşürülmesi hayvancılıkta en önemli başarılarından birisi olarak kabul edilir (Nuhay ve Gülhan 2017). Bu hastalığın en yaygın görülen bakterilerden birisi ise; ekonomik kayıplara sebep veren, sulu kanlı diyare ve ölümlere kadar uzanan O157:H7 olarak bilinen serotiptir (Nataro ve Kaper 1998).

Hayvan sağlığını tehdit eden bu gibi hastalıklar ampirik veya genel tedavi yöntemleri ile değil de hızlı teşhis yöntemlerinden birisi olan PCR tanısı ile doğru ve hızlı teşhisinin yapılması, yaşanan coğrafyada sığır dışkılarında *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığının belirlenmesi ve etkin şekilde mücadele etmeye katkı sağlayacağı ve *E. coli* kaynaklı ekonomik kayıpların önüne geçebilmeyi amaçlamaktadır.

Bu çalışmanın amacı Edirne yöresine ait işletmelerde sığırlarda *Escherichia coli* O157:H7 yaygınlığının Real-Time PCR ile araştırılmasıdır. Bu amaçla yörede yetiştirilen klinik olarak sağlıklı veya ishalleri olan buzağı, düve ve ergin tüm yaş gruplarındaki sığır dışkuları toplanıp ön zenginleştirme ve inkübasyon sonrası Real-Time PCR ile tespiti hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1. Tarihçe ve Taksonomi

Tarihte ilkez 1885 yılında Theodor Escherich adındaki bakteriyoloğun araştırılması ile diyareli bir hastanın dışkılarından izole edilmiş ve *Bacterium coli commune* diye isimlendirilmiştir. 1919 yılında bağırsak dışı patojenitesi tanımlandıktan sonra Costellani ve Chalmer tarafından Dr. Theodor Escherich adına ithafen *Escherichia* cinsi adı verilmiştir (Russo ve Johnson, 2003).

E. coli Enterobacteriaceae familyasında olan, koliform grubunun ve fekal koliform grubunun alt üyesi olarak kabul edilen, *Escherichia* cinsine ait önemli ve yaygınlığı yüksek olan mikroorganizmlardan birisidir (Flemming ve Strokbine 2005).

Eski tarihlerden beri *E. coli*, insanlar, sıcakkanlı hayvanlar ve kanatlı hayvanların bağırsak florasında yaşayan zarar vermeyen, oksijenli ve oksijensiz ortamda üreyebilen bir bakteri olarak kabul görülmüştür (Nataro ve Kaper 1998, Wasteson 2002). Zaman geçtikçe 1920 yılında üriner sistem enfeksiyonlarına ve 1940'lı yıllarında ise küçük çocuklarda bağırsak yangılarına sebep verildiği görülmüştür. Sonraki süreçlerde teknolojinin gelişmesi ve araştırmaların çoğalmasıyla, enteritis, ürogenital hastalıklara, yara enfeksiyonları, meme yangısı, sepsisemi ve meningitis gibi hastalıklara sebep verebileceği anlaşılmıştır (Wasteson 2002).

Tablo 1: *E. coli*'nin Taksonomik Sınıflandırması

Alan Adı	Bakteri
Alem	Eubacteria
Şube	Proteobacteria
Sınıf	Gammoproteobacteria
Takım	Enterobakteriales
Aile	<i>Enterobacteriaceae</i>
Cins	<i>Escherichia</i>
Tür	<i>Escherichia coli</i>

(https://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli, Erişim tarihi: 27 Kasım 2023)

2.1.2. Genel Özellikleri

2.1.2.1. Yapısal Özellikleri

E. coli, sporsuz, çomak şeklinde ve gram negatif fakültatif anaerob özelliğine sahip bir mikroorganizmadır. Ortalama 2-6 µm boyutunda ve 1.0-1.5 µm genişliğinde uçları yuvarlak ve düz şekilde ifade edilir. Bir kısım kültürde koka benzerlik gösteren küçük ve kısa, bazı kültürlerde ise normal boyutundan daha uzun ve 'Y' harfi görünümünde uzanan, flamanlı olarak rastlanabilir. İki şeklin bir arada görülmesi düşük ihtimal olarak bilinir. Sıklıkla kirpikleri aracılığıyla hareket edebilmektedir fakat genel itibarıyla hızları yavaştır. Bağırsak dışında gözlenen bakterilerin çoğunda kapsül veya mikrokapsül rastlanmaktadır (Bilgehan 2004).

2.1.2.2. Kültürel Özellikleri

E. coli, genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürediği gözlenmiştir. *E. coli*'ler çeşitli besiyerlerinde tespit edilip ve tanımlanması için kullanılmaktadır. En uygun üreme sıcaklıkları 37 °C olarak görülmüştür. Daha yüksek sıcaklıklarda üreyebildiği gözlenmiştir. Hususi olarak 44 °C'de üremenin gözlenmesi *Enterobacter* ve *Serratia* türlerinden ayırt eden özelliklerden birisidir. Bakterinin üreyebildiği ideal pH 7,0-7,2'dir (Bilgehan 2004, Erol 2007).

MacConkey besiyerinde *E. coli*'ler kırmızı pembe tonlarında üremeler belirirken, Eosin metilen blue (EMB) besiyerinde metalik renkte veya madeni parlaklığı andıran üremeler olduğu gözlenmiştir. Salmonella Shigella (SS) agarda

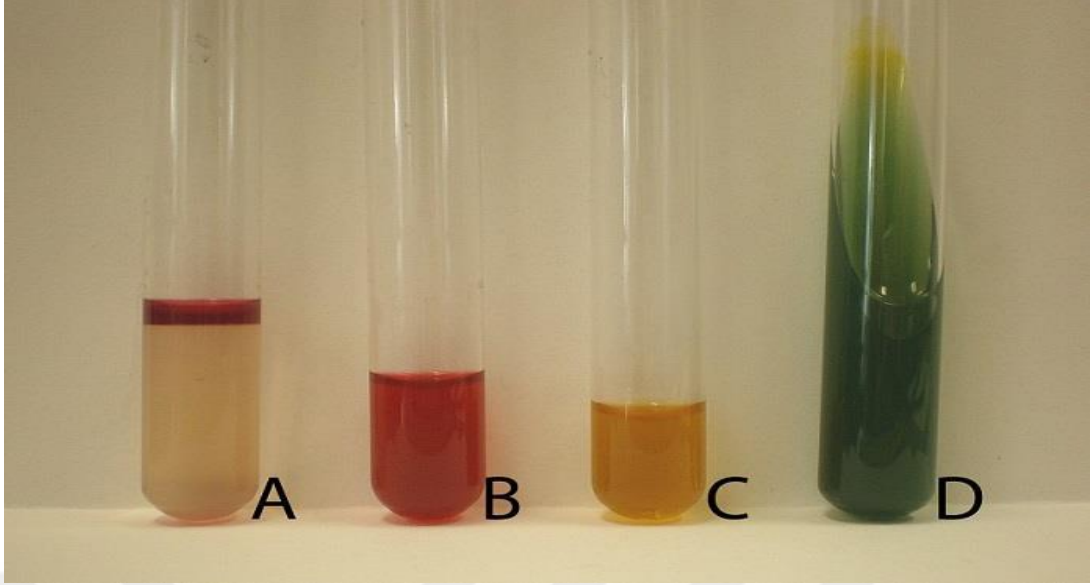
üremeleri biraz daha zordur. Ksiloz Lizin Deoksilat (XLD) besiyerinde sarı, Hektoen Enterik agarda (HE) sarı-turuncu renkte koloniler oluştururlar. Üç şekerli demirli (TSİ) besiyerinde dibinde gaz oluşumu, dipte ve yatık kısımda sarı renk tonlarında asit ürettiği tespit edilmiş. Lizin İron Agar (LIA) besiyerinde dip kısmında sarı renkli asit oluşumu, yatık kısımda mor renk tonlarında alkali oluşumları gözlenmiştir (Bilgehan 2004).

2.1.2.3. Genomik Özellikleri

E. coli; enterotoksinler, nörotoksinler, endotoksinler, sitotoksik nekrozan faktör ve verotoksin gibi patogenezinde kritik toksinler salgılayabilmektedir (Bilgehan 2004).

2.1.2.4. Biyokimyasal Özellikleri

E. coli, mannitol, laktoz, glikoz, maltoz, ksiloz gibi benzeri şekerleri asit ve gaz oluşumu ile fermente ederek sükröz, salisin, rafinoz benzeri şekerler grubunu aynı oluşuma sebep vermemektedir. Adenitol ve inozitolü nasiren fermente ederler. Nişastadan gaz oluşturmaz ve indol testinde pozitif sonuç verir. Metil Red testinde pozitif oluşum, Voges Proskauer testinde ise negatif sonuç verir. Sitrata karbon kaynağı olarak kullanmazlar (IMVIC: ++--). Karbon kaynağı olarak asetatı kullanırlar ve üreyi hidrolize etmezler. Dezenfektan türevi maddelere, boya maddelerine, safra tuzları ve safraya karşı duyarlı, sıcakta ve soğuk ortama dayanıklıdır (Bilgehan 2004).



Resim 1: *E. coli*'nin IMVIC Test Sonuçları (Microbeonline 2021).

(İndol: Pozitif, Metil kırmızısı: Pozitif, Voges-Proskauer test: Negatif, Sitrat test: Negatif)

2.1.2.5. Antijenik Yapısı

E. coli'ler iyi bir antijenik özelliğe sahiptir fakat bazı durumlarda değişik antijenlerinden dolayı karmaşık olduğu görülmüştür. Bu mikroorganizmaların 181 somatik (O), 90 flagella (H) ve 56 kapsül (K) antijenleri vardır. *E. coli*'nin serolojik tiplendirmesi O antijeni ve H antijenine göre belirlenmektedir. O ve H antijenleri sık değişmeyen ve güvenilir suş özelliğinde kabul edilir. Nadir de olsa K antijeni de görülmektedir. O ve H serotipleri özellikle ishalleri sebep vermekte ve serotipin belirlenmesi için özellikle epidemiyolojik araştırmalarda faydalanılmaktadır (Murray ve ark. 2009).

2.1.2.6. Virulans ve Patojenite Özellikleri

E. coli'nin biyokimyasal ve patojenite özelliklerine göre altı farklı enterik alt türü tanımlanmıştır. Bunlar; Enteretoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroinvazive *E. coli* (EIEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAaggEC), Diffüz adherent *E. coli* (DAEC) ve Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)'dir. Diffüz Adherens *E. coli* (DAEC)'nin patogenezi tam olarak belirlenememiştir. (Nataro ve Kaper 1998, Öngen 2008). Patojen *E. coli* patojenitesi ve genel özellikleri Tablo 2'de sunuldu.

Tablo 2: Patojen *E. coli* Patotiplerinin Bazı Önemli Özellikleri (Eklund 2005).

<i>E. coli</i> Patotipleri	Patojenite ve Genel Özellikleri
Enteretoksijenik (ETEC) <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Turist diyarelerinin büyük çoğunluğunun sebeplerindedir. <input type="checkbox"/> Bulaşması fekal kontaminasyondan kaynaklanmaktadır. <input type="checkbox"/> Enfeksiyon dozu 10⁸-10¹⁰ kob/g'dır. <input type="checkbox"/> Virulens faktörlerinden stabil toksin (ST)'ler ısıya dirençli olup, labil toksin (LT)'ler ise ısıya duyarlıdır. <input type="checkbox"/> Isıya duyarlı labil toksinleri <i>Vibrio cholerae</i> toksinine benzerlik göstermektedir. <input type="checkbox"/> Pirinç suyu görünümünde ishale neden olmaktadır.
Enteropatojenik (EPEC) <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 0-1 yaş aralığındaki çocuklarda akut ya da kronik ishal ile seyredir. Mukuslu ve pirinç suyu görümlü ishale neden olmaktadır. <input type="checkbox"/> Enfeksiyon dozu 10⁶-10¹⁰ kob/g'dır. <input type="checkbox"/> İnce bağırsak epiteline yerleşerek mikrovilluslarda tahribe neden olmaktadır.
Enteroinvazive (EIEC) <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Bağırsak epitelyum hücrelerine nüfuz ederek apoptozise neden olur. <input type="checkbox"/> Kanlı, mukuslu Shigellozis benzeri ishale neden olmaktadır. <input type="checkbox"/> Shigellozis 10⁴ kob/g'dan daha az bakteri enfeksiyon oluşturabilmekte iken Enteroinvazive <i>E. coli</i>'nin enfeksiyon dozu 10⁶-10⁸ kob/g'dır.
Enteroagregatif (EAggEC) <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Tropikal iklimin yaşandığı bölgelere seyahat eden kişilerde çoğunlukla görülmektedir. Bağışıklığı baskılanmış kişilerde (AIDS) daha yaygın görülmektedir.
Diffuz adherent (DAEC) <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Yaygın adhezyon ile karakterize olup çocuklarda kronik olarak görülen pirinç suyu görünümünde ishale neden olmaktadır.
Enterohemorajik (EHEC) <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Başlıca kaynak ruminantlar olmakla birlikte diğer hayvanlarda da bulunabilmektedir. <input type="checkbox"/> Bu patotip enterohemolizin (verotoksin) ve sitotoksin (shigatoksin) üreterek mikrovilluslarda tutunma ve bozma lezyonlarına sebep olarak etkinlik göstermektedir. <input type="checkbox"/> Enfeksiyon dozu oldukça çok düşük olup 10¹-10² kob/g'dır. <input type="checkbox"/> Bu patotip hemorajik kolit ile bağırsak kasılma-gevşeme ritme bozukluğuna, akut renal yetmezliğe kadar uzanan hemolitik üremik sendroma (HUS), kan yıkımı ve kan pulcuklarında azalma ile karakterize olan trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi ciddi üç hastalık tipine sebep olmaktadır. <input type="checkbox"/> Ağrılı, sadece kan veya kanlı ishale neden olmaktadır.

2.1.2.6.1. Patojen *E. coli* patotipleri

2.1.2.6.1.1. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Turistlerde görülen ishallerin yaygın sebepleri arasında yer alan ETEC'in 1960'lı yıllarda ishalleri hastalıklar ile bağlantılı olduğu anlaşılmıştır. Genellikle gelişmekte olan ülkelerde enterotoksijenik *E. coli* kaynaklı hastalıkların yüksek olduğu, çocuk ölümlerinde enfeksiyon etkenleri arasında önemli bir yere sahip olduğu gelişmiş ülkelerde ise salgına çok rastlanılmadığı bildirilmiştir (Eklund 2005).

İnkübasyon süresinin 8-44 saat gibi kısa sürmesi, gelişmekte olan ülkelerde hijyen kriterlerinin yetersiz olması, özellikle peynir gibi süt ürünlerinin tüketilmesi gıda sektöründe çalışan kişilerin insan dışkılarıyla kontamine olmuş sular ile teması etkenin yayılmasında rol oynamaktadır (Nataro ve Kaper 1998). Pirinç suyuna benzeyen ishale sebep olmakta ve rahatsızlık 24-30 saat devam etmektedir (Eklund 2005).

ETEC suşları sıcaklığa dirençli (ST) ve sıcaklığa duyarlı (LT) toksin üretir. Stabil toksin (ST) enzimlere ve organik çözücülere de dirençlidir. Labil toksin (LT)'in aminoasit dizilimi kolera toksin ile %75 oranında benzerdir. Enterotoksijenik *E. coli* suşlarından en çok (%35) stabil toksin (ST) salgılanmaktadır (Eklund 2005, Willke 2008).

2.1.2.6.1.2. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enteropatojenik *E. coli* enfeksiyonları genellikle yılın sıcak aylarında artış göstermektedir. Bebeklerde ve küçük çocuklarda akut ya da kronik ishal ile seyreden enfeksiyonlara neden olmaktadır. Enteropatojenik *E. coli*'ye bağlı enfeksiyonlar çapraz kontaminasyon el, bebek maması ile fekal-oral yolla olmaktadır. Enfeksiyonun yayılmasında hastane ve bakım merkezleri de önemli rol oynamaktadır. Hayvan dışkılarıyla kontamine sularla sulanan sebzeler, pastörize edilmemiş meyve suları, süt ve ürünleri gibi vb. gıda maddelerini tüketen kişilerde kanlı ishal ve karın ağrısı meydana geldiği bildirilmiştir. Enteropatojenik *E. coli*

(EPEC) kaynaklı enfeksiyonlarda, sulu, kansız ve mukuslu ishal görülmektedir (Arslan, 2008).

Tutunma ve bozma etkisi, histopatolojik olarak EPEC enfeksiyonunun en önemli özelliğidir. Bu etki enterositler arasındaki sıkı bağın zayıflamasına sebep olarak mikrovillusların kaybolmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda da doğrudan sıvı kaybı şekillenmesine bağlı olarak ishal oluşturmaktadır (Park ve ark. 1999, Willke 2008).

2.1.2.6.1.3. Enteroinvazif *E. coli* (EIEC)

Yetişkinler ve çocuklarda Shigella ile benzer hastalık semptomları göstermektedir. Kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle alınan EIEC, kolon epitel hücrelerine nüfuz ederek M hücreleri ve makrofajlar ile mücadele etmek suretiyle hücrelerin ölümüne sebep olur. Enfektif dozu (10⁶ -10⁸ kob/g) yüksek olduğu için, Shigella'dan (10⁴ kob/g) farklıdır (Bessesen ve ark. 1991, Nataro ve Kaper, 1998, Arslan 2008).

Kontamine olmuş gıdaların sindirilmesini takip eden 12-72 saat sonra semptomlar görülmeye başlar. Karın ağrısı, ishal, kusma, ateş, ateşe bağlı üşüme ve halsizlik görülen en önemli semptomlardır. EIEC suşları enterositlere bağlanarak hücrelerin yıkımına sebep olmaktadır. Enteroinvazif *E. coli* patotipi Shigella benzeri Tip III sekresyon sistemini (T3SS) kodlayan invazyon plazmidini de bulundurur (Eklund, 2005). EIEC, epiteli istila ederek hücrelerin sitoplazmasında hareketli aktin kamçılarıyla diğer hücrelerin içerisine girer. Kolon epitel hücrelerinin nekrozuna neden olarak yüksek ateşli, mukoid ve kanlı ishale sebep olmaktadır (Nataro ve Kaper 1998).

2.1.2.6.1.4. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC veya EAggEC)

Gelişmemiş ülkelerde küçük yaşta çocuklarda belirli bir popülasyonda diyare, gelişme aşamasında olan ülkelere turist ishalleri, bağışıklığı düşük olan insanlarda (AIDS gibi) geçmeyen ishallerine neden olmaktadır. EAEC ishali hafif inflamasyon karın bölgesi krampla seyreden ağrılara ve ateş gibi semptomları

göstermektedir ancak dışkıda büyük çoğunlukta kan ve lökosit gözlenmez (Murray ve ark. 2009).

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

Yaygın diffüz adhezyon ile karakterize olup çocuklarda kronik olarak görülen pirinç suyu görünümünde ishale neden olmaktadır. Hücrelere adhezyon yoluyla tutundukları zaman diffüze olurlar. İki farklı adhesin genine sahip olması yanında yapılan çalışmalarda intimin varlığı da belirlenmiştir. Patogenezi tam olarak açıklanamayan Diffüz adherent *E. coli* patotipinin, epitel hücrelerine yaygın olarak tutunmaları, α -hemolizin üretmeleri ve karakterize olduğu sitotoksik nekroz faktör 1 olarak bildirilmiştir (Halkman ve ark. 2001, Eklund 2005).

2.1.2.6.1.6. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

Enterohemorajik *E. coli* patotipi, enterohemolizin ve sitotoksin üretir ve bunlar mikrovilluslarda tutunma ve bozma (A/E) lezyonlarına sebep olurlar (Caprioli ve ark. 2005, Öngen, 2008). EHEC'in en önemli patojen serotipi *E. coli* O157:H7'dir. Bu grupta bulunan öteki patojen serotipler O26:H11, O26:H32, O26:H-, O55:H7 O111:H8, O111:H-, O113:H21 ve O117:H14 'dür (Nataro ve Kaper 1998).

EHEC serotiplerinin patojenitesinde hem tutunma hem de bozma mekanizmalarında shiga toksinleri rol alır. Shiga toksin (verotoksin) üreten *E. coli*'nin bozma ve yapışma özelliği olan enterosit bozma lokusu (locus of enterocyte effacement: LEE) genleri de mevcutsa bu serotipe EHEC denir. EHEC serotipleri aynı zamanda EHEC hemolizini de salgılamaktadır. EHEC serotipleri geniş getiren hayvanların mide bağırsak doğal florasında bulunduğundan bu hayvanlardan elde edilen etlerin kontamine olma ihtimali çok yüksek olup bu kontamine etlerin yeterince pişirilmeden tüketilmesiyle insanlara bulaşır. EHEC'in enfeksiyon dozu oldukça düşük olup, 100 bakteriden azdır. Bu patotipin etkisi hem tutunma ve bozma mekanizması hem de Shiga toksin 1 ve 2 ile gerçekleşir. Shiga toksininin A ve B alt birimi olmak üzere 2 birimi vardır. Bunlar hücre reseptörlerine bağlanmak suretiyle hücre içerisine alınırlar. Sindirim sistemindeki epitel hücrelerinden geçerek bağırsak, böbrek ve diğer organlara sonra da onların kılcak endotelilerine zarar verir.

İntravasküler koagülasyon şekillenir ve trombositopeni, mikroangiopatik hemolitik anemi ve böbrek yetmezliğine gibi önemli hastalıklara sebep olur (Bell 2002, Willke 2008).

EHEC'in alt grubunda bulunan diğer serotipler bulaşıcı özelliktedir. Hayvanlarda hastalık sebebi olarak düşük olarak tespit edilmiştir. Geviş getiren hayvanlar özellikle sığırlar EHEC serotiplerinin başlıca kaynaklarıdır. Salgınlar, geviş getiren hayvanların fekal materyalleri ile direk ve indirek olarak kontamine olan et ve süt ürünleri, meyve veya sebzelerin tüketilmesi ve içme suları ile oluşmaktadır. Kanatalı ve domuz gibi canlılarda EHEC rezervuar olarak değerlendirilmektedir (Caprioli ve ark. 2005).

2.2. *E. coli* O157:H7

2.2.1. Genel Özellikleri

E. coli O157:H7 ilk kez Kaliforniya'da kanlı diyareli bayan hastadan 1975 yıllarında tespit edilmiştir. *E. coli* O157:H7'nin gıda patojeni olduğu ilk olarak 1982 senesinde ABD ve Kanada'da hazır yiyecek satan restoranlarında az pişirilmiş hamburgerin yenmesi sonucunda 2 kişinin ishal olması ile tespit edilmiştir (Park ve ark. 1999, Dontorou ve ark. 2003, Varela-Hernandez ve ark. 2007).

İnsanlarda hastalık etmeni olan Shiga toksini üreten birkaç serotipten birisi olan organizmanın evrimleşmesinin Shiga toksinleri ve diğer virülans faktörleri için genlerin yatay olarak edinilmesi şeklinde olduğu tahmin edilmektedir. Sağlıklı sığır dışkılarında düzenli olarak bulunan *E. coli* O157 insanlara gıda, su ya da enfekte olmuş hayvan ve insan dışkılarından kontaminasyon yoluyla bulaşmaktadır. *E. coli* O157:H7 klinik olarak bakıldığında bir halk sağlığı sorunudur. Genellikle gıda kaynaklı bulaşlarla halk sağlığını tehdit eden ve gıda güvenliği konusunda karşımıza çıkan bu patojen sonuçları ölüme kadar varan sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (Mead ve Griffin 1998).

Bu bakterinin rezervuarı sığırlar olmakla beraber koyun, keçi, geyik, martı, domuz, köpek ve tavuk gibi hayvanlar olduğu görülmüştür. Genelde dışkıda görülme oranı %0-10 arasında ve genç hayvanlarda görülme sıklığı daha fazladır. Sığır

dışkısında 70 güne kadar 5°C'lik sıcaklıkta canlılığını korumakta ve verotoksin üretmeye devam ettiği görülmüştür (Temelli 2002).

Bazı araştırmalar ile özellikle süt inekleri ve sıcakkanlı memeliler ve kanatlı hayvanların dışkılarının atılmasıyla et ve sütürünlerine, toprağa, suya ve tüm çevreye yayılabildiği ve bu yollarla diğer hayvanlara bulaştığı göstermiştir (Halkman ve ark. 2001).

E. coli O157:H7 serotipi, Hemorajik Kolitis (HC), Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) ve Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) gibi canlılarda üç temel hastalığa neden olmaktadır (Willke 2008). Verotoksin üretme yetenekleri nedeniyle Enterohemorajik *E. coli* suşları verotoksijenik olarak da isimlendirilmektedir. *S. dysenteria* Tip I ile Enterohemorajik *E. coli*'nin semptomlarının aynı olması ve Shiga benzeri toksin oluşturması sebebiyle *E. coli* STEC diye de adlandırılmaktadır (Caprioli ve ark. 2005).

Shiga toksinler (Stx), EHEC'in virülans faktörü olarak kabul edilir. Stx1 ve Stx2 olmak üzere iki temel toksin tipi vardır. Bazı EHEC serotipleri yalnızca Stx1 bazılarını yalnızca Stx2 üretirken, serotiplerin çoğu her ikisini de üretebilmektedir. Stx1 esas olarak Shiga toksin ile benzerdir, buna rağmen Stx2 ve varyantları farklılıklar göstermektedir (Arslan 2008).

2.2.2. *E. coli* O157:H7'nin Biyokimyasal Özellikleri

E. coli O157:H7 serotipi 157 adet somatik (O) ve 7 adet flageller (H) antijeni olması sebebiyle bu isimle adlandırılmıştır (Karmali ve ark. 1983). β -glukoronidaz enzim aktivitesinin bulunmaması, sorbitolü 48 saatte fermente edememesi, 44,5 °C'nin üzerinde üreyememesi, enterohemolizin üretmesi ve "eae" genine sahip olması ile diğer *E. coli* serotiplerinden ayrılmaktadır (Park ve ark. 1999, Dontorou ve ark. 2003).

E. coli O157:H7, Gram negatif basil, fakültatif anaerobik, hareketli, %6,5 NaCl içerisinde üreyebilen, düşük sıcaklıklara dirençli, yüksek ısıya dirençsiz mikroorganizmadır (Coia, 1998). *E. coli* O157:H7'nin en düşük üreme sıcaklığı 6 °C olup 30- 42 °C sıcaklıklarında iyi üreyebilmektedir. Optimal üreme sıcaklığı 37 °C olup ve 44-45 °C'de ise üremesi yavaşlar veya üreyemez. Bu nedenle *E. coli*

O157:H7, *E. coli*'nin üreyebilemesi için belirlenen 44-45 °C'lik inkübasyon aralığında izole edilemez. *E. coli* O157:H7'nin optimal üreme koşulları Tablo 3'de sunuldu.

Tablo 3: *E. coli* O157:H7'nin Üreme Koşulları (Erol 2007, Bekar 2019).

	pH	Sıcaklık	aw
Minimum- Maksimum	4,4-9,0	6-42°C	0,95/-
Optimum	5,7-7,5	37°C	0,99

E. coli O157:H7 enfeksiyonlarından korunmada en etkili yöntem termal inaktivasyondur. *E. coli* O157:H7'nin ideal pH değeri 7,2 olup pH 5,7-7,5 aralığında etkin ürerken pH değeri 3,6 olan ve buzdolabında muhafaza edilen gıda maddelerinde canlılığını koruyabilmekte, pH değeri 4,0 olan sıvı ortamlarda ise üreyebilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin asidik ortamlara dirençli olması onu diğer patojenlerden ayıran en önemli özelliklerinden birisidir (Coia 1998, Erol 2007).

E. coli O157:H7 serotipi düşük sıcaklıkta korunan veya dondurulmuş maddelerde, asidik ve düşük su aktivitesine sahip gıda maddelerinde canlılığını uzun süre koruyabilmekte ve negatif çevre şartlarına uyum sağlayarak sağlamlılık kazanmaktadır. *E. coli* O157:H7'nin pH 4,5-5,5 değerlerindeki ortamlarda aside uyum sağladığı ve dirençli hale geldiği bildirilmiştir (Leenanon ve Drake 2001, Tosun ve Gönül 2003). *E. coli* O157:H7'nin biyokimyasal testleri ve test sonuçları Tablo 4'te sunuldu.

Tablo 4: *E. coli* O157:H7'nin Biyokimyasal Test Özellikleri (Ratnam ve ark. 1988).

Testler	<i>E. coli</i> O157:H7 test sonuçları
Laktoz, glikoz, sukroz fermentasyonundan	Gaz ve asit oluştururlar
Sitrat (citrate)	Negatif
Sorbitol fermentasyonu	Negatif
İndol testi	Pozitif
Üre testi	Negatif
β -glukoronidaz enzim aktivitesi (MUG)	Negatif
Hareket testi	Pozitif
Hidrojen Sülfür (H ₂ S) testi	Negatif
Lizin Dekarboksilaz (LIA) testi	Pozitif
Metil Red (MR) testi	Pozitif
Voges Proskauer (VP) testi	Negatif

E. coli O157:H7, *E. coli*'den farklı olarak β -glukoronidaz enzim aktivitesine sahip olmadığı bildirilmiştir. *E. coli* O157:H7, İndol, Metil Red, hareket, Lizin Dekarboksilaz testleri pozitif, Voges Proskauer, Simmons Sitrat, Hidrojen Sülfür, Üre testi, Sorbitol fermentasyonu ve β -glukoronidaz enzim aktivitesi negatiftir. Triple Sugar Iron (glikoz, laktoz ve sukroz) Agar ile yatık olarak hazırlanan tüpün dip kısmında glikozu kullanarak gaz ve sarı renk, yüzey ve uç kısmında laktozu ve sukrozu kullanarak sarı renk oluşturur (Ratnam ve ark. 1988, Karch ve Bielaszewska 2001).

2.2.3. *E. coli* O157:H7'nin Patojenitesi ve Virulens Faktörleri

E. coli O157:H7'nin virulensi, adezin, hemolizin, intimin, O157 lipopolisakaritleri, shiga toksin ve tip III sekresyon sistemi gibi birçok faktöre bağlıdır. *E. coli* O157:H7, *S. dysenteriae* tip 1'in sentezlediği toksine benzer özellikte "shiga benzeri toksin 1 (stx 1)" ve "shiga benzeri toksin 2 (stx 2)" olarak isimlendirilen farklı iki toksin de üretmektedir. *E. coli* O157:H7'nin patojenitesi ürettiği toksinlerin Vero ve HeLa doku kültür hücrelerine yapmış olduğu toksik etkilerden kaynaklanmaktadır. Bu toksik etkileri nedeniyle verotoksin 1 ve verotoksin 2 diye de isimlendirilmektedir. Verotoksin sentezleyen *E. coli* O157:H7

zarar verme oranı yüksek ve tehlikeli patojen bakterileri grubunda değerlendirilmektedir. H7 antijeninden ayrı olarak farklı H antijenleri de tanımlanmış fakat verotoksijenik olarak değerlendirilmemiştir (Coia 1998, Halkman ve ark. 2001).

Verotoksinler, yapı itibari ile *S. dysenteriae*'nin ürettiği toksinlere benzer yapıda oldukları için Shiga-like toksinler (SLT-I= VT-1; SLT-II= VT-2) şeklinde adlandırılmıştır (Beutin ve ark. 2004, Eklund 2005, Kim ve ark. 2005, Jamshidi ve ark. 2008). Verotoksinler ile shiga toksinlerin benzerliği immundifüzyon, ELISA vb. yöntemler kullanılarak tespit edilmiş olmasına rağmen, molekül ağırlığı ve izoelektrik noktası gibi özellikler *E. coli* verotoksinlerinin shiga toksinlerinden ayırt edilebildiğini ortaya koymuştur (Halkman ve ark. 2001, Eklund 2005).

HC, HUS ve TTP sendromlarında oluşan ishallerin de verotoksinlerden kaynaklandığı belirlenmiştir. HC'nin shiga benzeri toksinin bağırsak boşluğuna salınmasıyla ortaya çıktığı, mukozal yüzeylerde apoptik hasarlara sebep olduğu belirlenmiştir. HUS ve TTP'nin ise shiga benzeri toksinin kan dolaşımına karışarak vasküler endotelial hücrelerine daha sonra da böbrek hücrelerine hasar verdiği bilinmektedir (Dunn 2003).

İnsan ve hayvanlarda birçok hastalığa sebep olan *E. coli* O157:H7, bağırsak epitel hücrelerine bağlanabilme ve bağırsaklarda kolonize olma özellikleri gibi virülans faktörleri bakımından da dikkatleri üzerine çekmektedir. HC ve HUS enfeksiyonlara sebep olurken, intiminde sindirim sistemine tutunmayı kolaylaştırır (Caprioli ve ark. 2005).

Enterohemorajik *E. coli* ve özellikle O157:H7 serotipi, gastrointestinal bölgeyi etkileyerek isahale neden olan en iyi belgelenmiş ve iyi bilinen *E. coli* serotipidir. Enterohemorajik *E. coli*'nin önemi hastalığın şiddetinde yatmaktadır. Binlerce insanın enfekte olduğu salgınlar, kanlı ishal ve HUS şeklinde ciddi hastalık tablosuna neden olmakta ve hatta ölüme sonuçlanabilmektedir (Chattaway ve ark. 2011).

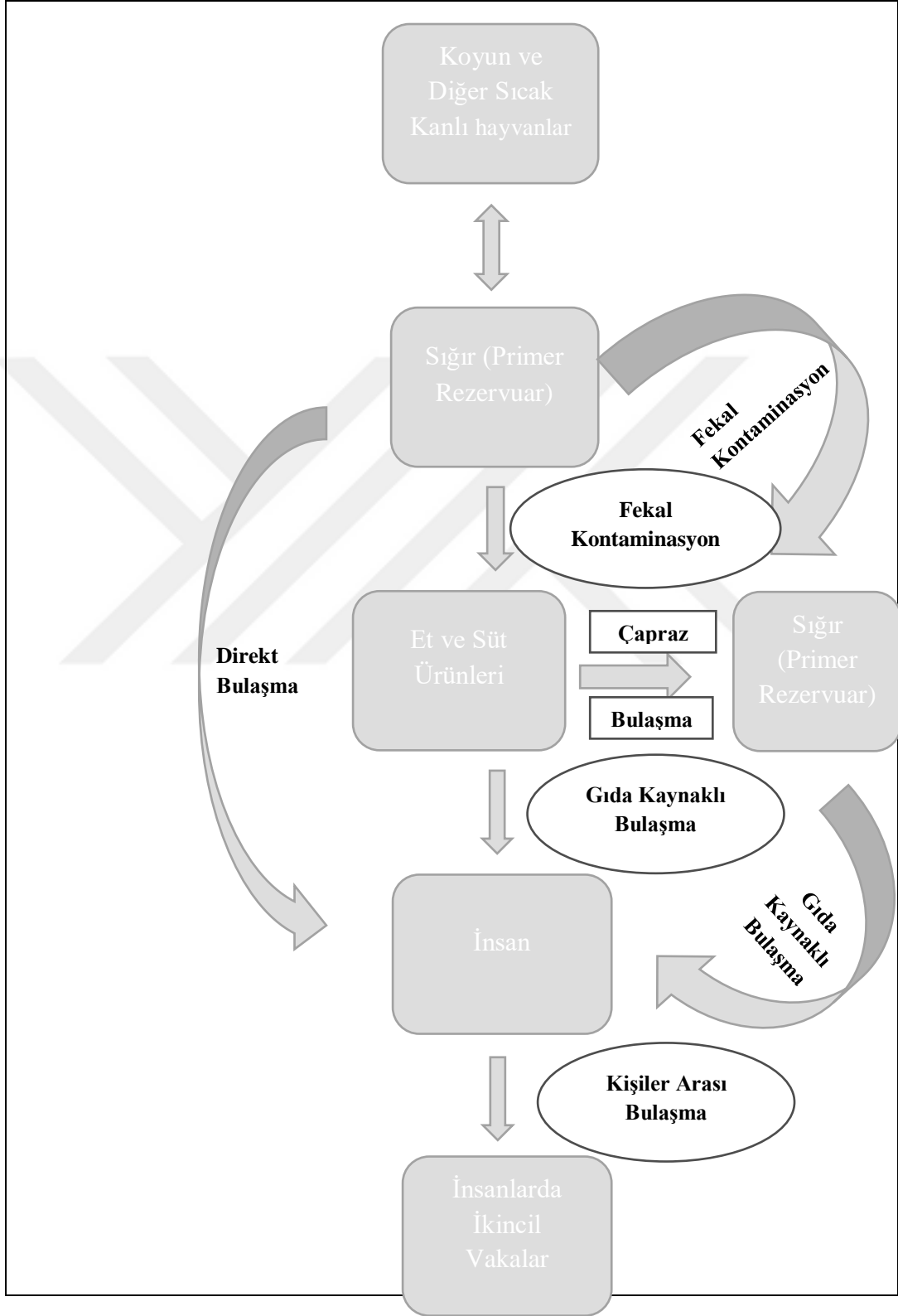
E. coli O157:H7'nin enfeksiyon dozu oldukça düşük olup 1-100 kob/g'dır. Miktarı az olsa bile hastalığa sebep olabilmeleri, mide asidine dayanıklı

olmasındandır. *E. coli* O157:H7 pH'sı düşük ortamlarda asite tolerans geliştirerek böylelikle canlılığını korur (Park ve ark. 1999).

2.2.4. *E. coli* O157:H7'nin Bulaşma ve Yayılması

E. coli O157:H7, sığırlar başta olmak üzere diğer geviş getiren hayvanlar ile kedi, köpek gibi enfekte sıcakkanlı hayvanların dışkılarında da bulunabilmektedir (Tosun ve Gönül 2003). *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığını iklim, rezervuar canlılığının türü, yaş oranı ve cinsi, beslenmesi gibi etkenler etkilemektedir (Chapman ve ark. 1993). Bahar ve yaz aylarında yaygınlığı daha yüksek, kış aylarında ise yaygınlığı daha düşüktür. Bu patojene mısır silajıyla beslenen hayvanların sindirim sisteminde normal besleme yapılan hayvanlara oranla daha yüksek miktarlarda görülmüştür (Chapman ve ark. 2001). *E. coli* O157:H7'yi taşıyan hayvanlar dışkıları ile meyve, sebzeler, et, süt vb. gıdaları ve suları kontamine etmesine bağlı olarak etkenin çevreye yayılmasına sebep olabilmektedirler. Hayvanlarla direk temas da etkenin insanlara bulaşmalara neden olabilmektedir (Caprioli ve ark. 2005). İnsanlardaki *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının bulaşma sebebi hastalık almış sığırlardır. Sığırlar ve diğer sıcak kanlı hayvanlar semptom göstermeden etkenini taşırlar ve bunları dışkılarıyla da çevreye bulaştırırlar. *E. coli* O157:H7'nin toprakta 130 gün ve dışkıda 50 gün canlı kalabildiği ve enfeksiyon yapma özelliğini koruduğu bildirilmiştir (Karmali ve ark. 1983). *E. coli* O157:H7'nin bulaşma şekilleri ve rezervuar haritası Tablo 5'te sunuldu.

Tablo 5 : *E. coli* O157:H7'nin Bulaşma Şekilleri ve Rezervuarları (Armstrong ve ark. 1996).



E. coli O157:H7'ye ilk olarak Kuzey Amerika'da rastlanmış olmakla birlikte 6 kıtada ve birçok ülkede vakalar görülmüştür (Halkman ve ark., 2001; Esameili ve ark. 2015). *E. coli* O157:H7 salgınlarının birçoğunun et ve ürünlerinden kaynaklandığı sığırların dışkılarıyla enfekte olan tüm gıdaların ve suyun en önemli kaynak olduğu bildirilmiştir (Doyle 1991, Park ve ark. 1999, Dontorou ve ark. 2003). Dünyada *E. coli* O157:H7'den kaynaklanan büyük salgınlar Tablo 6'da sunuldu.

Tablo 6 : Dünyada *E. coli* O157:H7'den Kaynaklanan Büyük Salgınlar (Bekar 2019).

Ürün	Olası bulaşma nedeni	Vaka Sayısı / Ölüm Sayısı	Yıl ve Ülke	Kaynak
Sandviç	Huzurevinde kişiden kişiye	73/13	1985 Fransa	Carter ve ark. 1987
Salata	Kontamine su ile yıkanmış sebzeler ve sebze yetiştirilen bahçelere hayvanların girmesi	61/3	1996 ABD	Hilborn ve ark. 1999
Beyaz turp filizli okul yemeği	Turp filizlerinin kontamine su ile yıkanması	12.000/12	1996 Japonya	Gutierrez 1997
Et ve ürünleri	Kontamine etlerin kasaplarda hijyen şartlarına uyulmayarak satışa sunulması ve yetersiz pişirilme	512/17	1996– 1997 İskoçya	Cowden ve ark. 2001
Dondurulmuş pizza	Kontamine sığır eti ve kümes hayvanlarından elde edilen ürünlerin donmuş pizzalarda kullanılması	21.244/2	2007 ABD	CDC, 2007
Romen marulu	Tarım alanlarının kontamine su ile yıkanması ve hayvanların tarlalara girmesi yetersiz hijyen koşulları	210/5	2018 ABD	CDC, 2018

Bu patojenin bulaşmasına ve yayılmasına kaynak olarak kontamine sığır eti kürlenmiş ve kurutulmuş salam-sucuk gibi gıdalar, çiğ süttten üretilen peynirler, kontamine sebze ve meyveler, beyaz turpun yeşil kısmı, meyve suları (pastörize edilmemiş) gösterilmektedir (Halkman ve ark. 2001, Bell 2002, Caprioli ve ark. 2005).

Enfeksiyonu taşıyan sığırlar ve diğer sıcak kanlı hayvanların ekili alanlara girmeleri, çiftçilerin bu hayvanların gübrelarını tarlaya bahçeye dağıtarak kullanması ve arazi sulamada atık suların kullanılması sonucunda meyve ve sebzelerin kontaminasyonunun şekillenmesine ve bakterinin yayılmasına olanak sağlamaktadır (Galli ve ark. 2016).

Kesimhanelerde görevli personel, kesim aşamalarında derinin yüzülmesi, iç organların çıkarılması ve etin parçalanması gibi tüm aşamalarda kullanılan alet ve ekipmanın hijyenik koşulları sağlamadığında etler kontamine olabilmektedir. Kontamine etlerin yüzeyindeki *E. coli* O157:H7; etlerin parçalanması ve kıyılması gibi yüzey hacimlerinin arttığı tüm aşamalarda etin iç kısımlarına kadar geçebilmekte ve tüketilmeden önce yeterince ısıtma işlemi uygulanmadığında canlılığını koruyabilmekte ve insan sağlığını tehdit eden önemli bir risk teşkil etmektedir (Doyle 1991, Scott ve ark. 2006). 2010-2022 yılları arasında *E. coli* O157:H7 salgınları Tablo 7’de sunuldu.

Tablo 7 : 2010-2022 Yılları arası Dünya’da *E. coli* O157:H7 Salgınları (Bekar 2019; CDC 2019; CDC 2021).

Ülke ve Yıl	Ürün	Olası bulaşma Nedeni	Kaynak
Türkiye 2010	Taze et ve hazır köfte	Kesim sırasında fekal kontaminasyon	Çadircı ve ark. 2010
ABD 2010	Sığır karkası	Kesim sırasında fekal kontaminasyon	CDC, 2010
Hollanda 2012	Gouda peyniri	Çiğ süt veya yeterince pastörize edilmemiş süt	Mc Collum ve ark. 2012
Fransa 2010	Kıyma	Kesim sırasında fekal kontaminasyon	King ve ark. 2014
Fransa 2011	Dondurulmuş kıyma ürünleri	Kontamine sığır karkası	King ve ark. 2014
ABD 2011	Marul	Kontamine su	Slayton ve ark. 2011
ABD 2014	Dana kıyma	Kontamine sığır karkası	CDC, 2014
Kanada 2014	Domuz et ürünleri	Kesim sırasında fekal kontaminasyon, kontamine domuz karkası	Honish ve ark. 2017
ABD 2015	Tavuk eti	Costco Rotisserie tavuk salatası	CDC, 2015
ABD 2017	Yeşil yapraklı sebzeler	Kontamine su	CDC, 2017
ABD 2018	Romania marulu	Kontamine su	CDC, 2018
ABD 2019	Kıyma	Kontamine sığır eti	CDC, 2019
ABD 2021	Paketli salata ve bebek ıspanak	Kontamine su	CDC, 2021

2.2.5. Klinik Belirtiler

Grup olarak EHEC grubuna dahil olan *E. coli* O157:H7, asemptomatik taşıyıcılık dahil olmak üzere; sulu diyare, kanlı dışkılama, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom (HUS)’a uzanan geniş klinik tablolara sebep olur.

E. coli O157:H7 serotipi halk sağlığını etkileyen önemli enterik patojenlerden birisidir (Park ve ark. 1999). *E. coli* O157:H7 vücuda alındıktan sonra 2-4 gün içerisinde karın bölgesinde, kramplar, bulantı, kusma, kanlı diyare gibi belirtiler görülürken bazan da hiç belirti göstermemekte ya da orta şiddette ishaller görülebilmektedir (Nataro ve Kaper 1998, Park ve ark. 1999).

Bu belirtilerden başka septisemi, menenjit ve üriner sistem enfeksiyonları da görülebilmektedir. *E. coli* O157:H7' nin sebep olduğu enfeksiyonlar bağışıklık sistemi zayıf olan veya zayıflamış kişilerde özellikle çocuk ve yaşlılarda daha şiddetli seyreder. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları daha fazla etkisini gösterdiğinde HC, HUS ve TTP şeklinde isimlendirilen, tedavi edilmezse ölümlü sonuçlanabilen hastalıklara da sebep olabilmektedir (Reitsma ve Henning 1996; Park ve ark. 1999).

2.2.5.1. Hemorajik Kolit

Hemorajik Kolit, 1982 yılında Oregon ve Michigan'da sulu kanlı ishale sebep olmuş ve iki olayda da benzer yerlerde hamburger tüketimi ile meydana gelmiştir. Karın bölgesinde kramp, kanlı dışkı ve çok az ateş gibi klinik belirtilere sebep olabilmektedir. Bu vakalar araştırılması sonucunda yarı oranda dışkıda *E. coli* O157:H7 izole tespit edilmiştir. İleri zamanlarda ise bu serotipin Stx ürettiği görülmüştür. Araştırmalar sonucunda Stx sentezi hemorajik kolitin en önemli sebeplerinden birisi olarak kabul edilmiştir (Nataro ve Kaper 1998).

Hemorajik kolit ansızın çıkan abdominal kramplarla kendini gösterir. 24-48 saat içerisinde sulu diyare olarak devam eder. İlk başlarda gözlenen diyaredaki kan oranı zamana ve etkene bağlı olarak artarak devam eder. Hastalığın görülmesi 3 ile 9 gün arasında (ortalama 4 gün) olarak görülmüş ve hastalık süresi 2 ile 9 gün arasında değişiklik göstermiştir. Genel olarak hastalık 8 gün sürdüğu, belirtilmiştir. Kramp ağrıları apantist ağrularına benzetildiği ve kan oranının doğum yapan kişi ile benzerlik göstermiştir. Ateşin yükselmesi ve kanlı dışkı görülmesi bu hastalığın dizanteri ve invaziv *E. coli* den ayıran özelliğidir (Halkman ve ark. 2001).

2.2.5.2. Hemolitik Üremik Sendrom

1955 yılında tespit edilmiş ve tanımlama yapılmıştır. HUS çocuklardaki akut renal yetmezliğin temel sebeplerinden birisidir. Sıklıkla havaların ısınması ve yaz aylarına yakın sürelerde sporadik vakalar ve küçük epidemiler halinde görülür. Genelde kanlı ishale ilerleyen bu hastalık tablosu gastroenteritisi takip ederek mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliği ile bilinir. Hastalığın morbilitesi oldukça düşüktür. Özellikle genç ve ileri yaşlardaki insanlar gözlenir (Arslantürk 1996). İleri yaşlardaki insanlarda HUS; ateş ve Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) gibi 2 önemli hastalıkla beraber seyredebilir. Böyle durumlarda hastalığın mortalitesi %50 ulaşabilmektedir (Halkman ve ark. 2001). HUS belirtisi olan hastalarda sarılık ve tansiyon gibi rahatsızlıkları tetiklemektedir. İleri durumlarda kan nakline ve diyalize gereksinim olabileceği, kalp sorunlarının olacağı (kalp yetmezliği, kalp krizi), koma gibi kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi klinik tablolarına sebep olabildiği görülmüştür (Özbaş ve Aytaç 1995). Yapılan bir araştırmada Kanada ve ABD’de HUS’lu hastaların %90 oranında verotoksin üreten bakterinin *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Arslantürk 1996).

2.2.5.3. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)

TTP, mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni, sinirsel hastalıklar, böbrek hastalıkları ve normalin üstünde vücut ısısı gibi ciddi rahatsızlıklarla beraber görülür. TTP ile HUS hastalığı birbirine oldukça benzerdir. TTP özellikle ileri yaşlarda gözlenir ve diyare gibi belirtiler gözlenmez. Araştırmalar sonucunda hastaların %14 oranında abdominal ağrılar olduğu bildirilmiştir. (Arslantürk 1996). TTP’de merkezi sinir sistemi bozukluğu spesifik özelliğidir. TTP tespit edilen hastalarda beyinde zamanla beyin bölgesinde kan pıhtıları birikir ve ölüm gerçekleşebilir (Doyle ve ark. 1987).

2.2.6. Teşhis

Klinik ve nekropsisi bulguları dikkate alınmalıdır. Laboratuvar muayenelerinde yeni ölmüş veya agoni halinde hayvana ait organlar getirilmelidir. Bakteriyoskopi;

yapılan preparatlarda Gram negatif çomakların görülmesi *E. coli* enfeksiyonlarını akla getirilir. Kültür; kanlı agar, MacConkey ve EMB agar ile teşhisi yapılabilmektedir.

Aşılana sığırlarda ve bu sığırlardan beslenen buzağuların kan serum/plazma örneklerinde IgG seviyesinin tespit edilmesi için SRID ve ELISA testleri gibi buna benzer immünoglobulinlerin tespitinde kullanılan birçok test mevcuttur kullanılabilir (Gelsinger ve ark. 2015).

Single Radial İmmunodiffüzyon (SRID) Testi; Bu test immünoglobulinlerin tespit edilmesi ve sınıflandırılmasına bağlı olarak hastalığın tespitinde kullanılan testlerden birisidir. Bu test hızlı, güvenilir, tekrarlanabilirliği önemli özelliklerindedir (Selim ve ark. 1995).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Testi; İlerleyen zaman diliminde buzağularda serum Ig seviyesinin ölçülmesiyle tespit yapılır. SRID gibi doğruluk oranı yüksek olan ELISA teşhis yöntemlerinden birisidir. İmmünoglobulin oranının örneklerde tam olarak saptanması, yöntemin önemli bir avantajı olmasına karşın, pahalı olması ve laboratuvar ortamı gerekliliği gibi dezavantajları vardır (Güngör ve Özyurtlu 2005).

Hayvan deneyi; özellikle ETEC suşlarını belirlemek amacıyla yapılır. Farklı hayvanlarda bağırsak ligatür (lup) testleri ve fare testi ile ST-I saptanabilir. Bakteri kültür süpernatantının fareye perkutan enjeksiyonundan sonra bağırsak sıvısının ölçülmesi esasına dayanır. A/E lezyonu oluşturan suş, doku kültürü ile veya *eae* genine (ya da LEE patojenite adasına) yönelik DNA probu veya PCR ile saptanabilmektedir (Nataro 1998).

Serolojik testler; Virulent olanları (K88, K99, F41 vb.) avirulentlerden ayırma, Lam-lateks aglütinasyon, HA, Elisa assay kit (EIA) ve PCR yöntemleridir.

2.2.6.1. Real-Time PCR

Moleküler tanımlama içerisinde yer alan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), klonlamaya ihtiyaç duyulmadan nükleik asitlerin bir tüp içerisinde (*in vitro*) enzim vasıtasıyla hızlı ve kolay bir şekilde amplifiye edilmesi işlemine dayanmaktadır. İlk defa 1985 tarihinde orak hücre anemisi tanısının konulabilmesi amacıyla, R. Saiki,

K. Mullis ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş, 1993 yılında da Nobel Kimya Ödülüne layık görülmüş bir tekniktir. Ayrıca 1988 yılında yüksek sıcaklıklarda yaşayabilen *Thermus aquaticus* bakterisinde bulunan Taq DNA polimeraz enziminin izolasyonu ile laboratuvar şartlarında DNA sentezi gerçekleştirilmiş, böylece PCR'nin kullanılabilirliği artmıştır (Adıgüzel 2006).

PCR; Denatürasyon, Hibridizasyon (annealing) ve Amplifikasyon (extensiyon) olmak üzere 3 temel basamaktan oluşmaktadır. Bu basamaklar ise toplamda 35 kez tekrarlanmaktadır. Birçok alanda kullanılan PCR yöntemi ile, gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan patojen mikroorganizmalar saf kültürlerde veya seçici besiyerlerinde büyütülerek incelendiği gibi direkt olarak gıda maddesinden, ilgili patojenin DNA'sının spesifik DNA ekstraksiyon kiti ile izolasyonu şeklinde de gerçekleştirilmektedir (Aydın ve Sudağdan 2016).

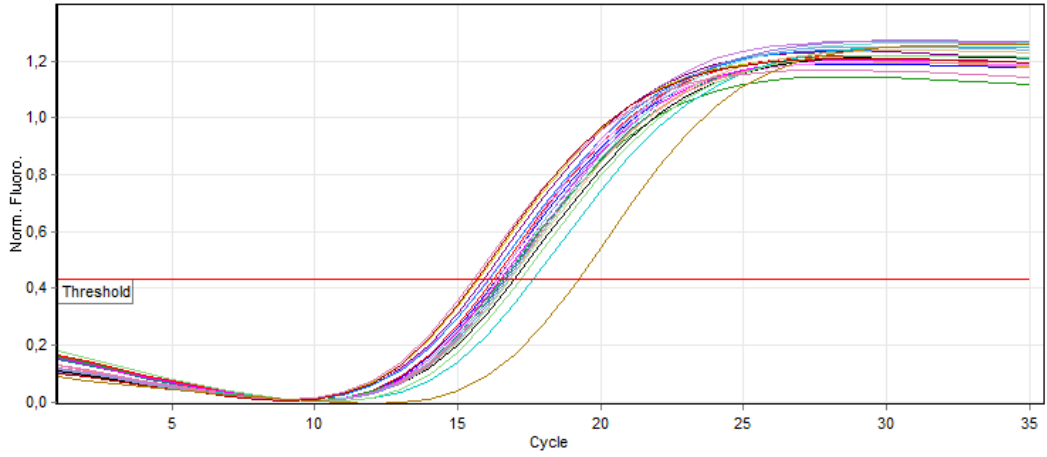
PCR için 1993 yılında kullanılan thermal cycler cihazlarına bazı seçkin özellikler eklenmiş ve tek bir aşamada DNA'lara özgü florasan boyaların ya da DNA problemlerinin kullanıldığı, ikincil nesil olan ve Real-Time PCR (qPCR) olarak isimlendirilen yeni bir teknoloji, Higuchi ve arkadaşları tarafından literatüre kazandırılmıştır. Geleneksel PCR yönteminden farklı olarak, gerçekleştirilen tüm aşamalar kapalı bir tüp içerisinde, kontaminasyon riskinden uzak bir şekilde uygulandığından hata oranı oldukça düşüktür. Ayrıca ürünlerin analizi reaksiyonla eşzamanlı olarak alınmakta olup, hedef bölgenin varlığına ilaveten örneğin miktarda ölçülebilmektedir. Real-Time PCR yöntemi, gen ekspresyon çalışmalarında kullanılmasının yanı sıra mikroorganizmaların tanımlanmasında, genotiplendirilmesinde, tespit edilmesinde, gıdaların kalite kontrolü ve güvenliğinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Harshitha ve Arunraj 2021).

Homojen PCR, Kinetik PCR, Kantitatif Real-Time PCR (RT-qPCR) gibi isimlerle isimlendirilen bu teknolojiye, gen ekspresyonu bir bilgisayar yardımı ile eş zamanlı olarak görselleştirilir ve DNA'nın hedef bölgesi ile interkalasyon yapan, DNA amplifikasyonunu belirleyen bir raportör boya yöntemi kullanılır. Real-Time PCR'da amplifikasyon sonrası elde edilen ürünün varlığını ispatlamak için DNA'yı bağlayan boyalar (SYBR Green I ve EtBr) ve hedef DNA'ya özgü problemler kullanılmaktadır (Tajadini 2014).

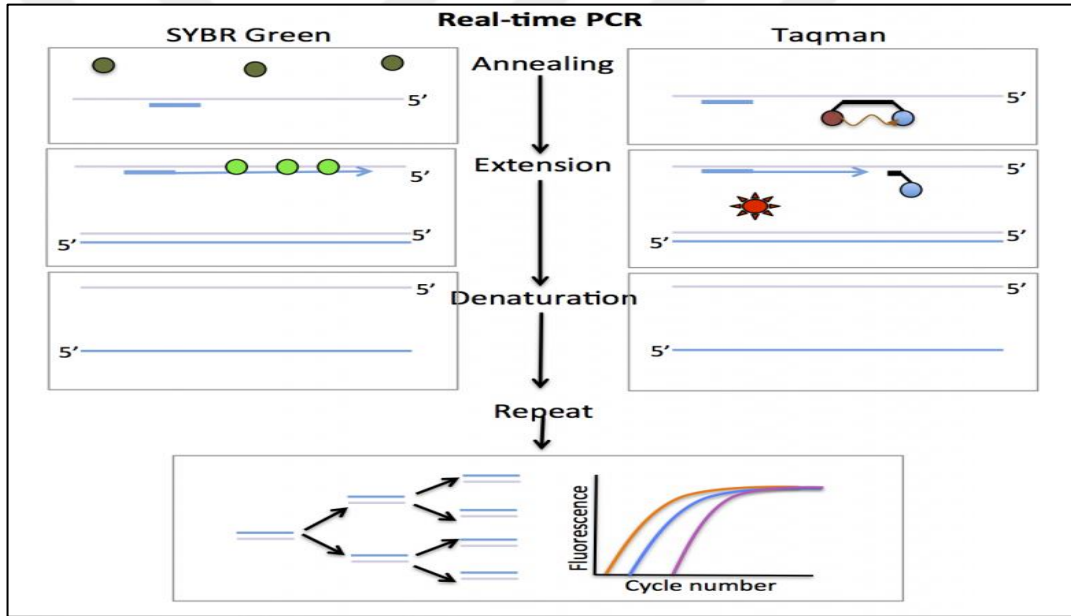
Varlığı saptanmak istenilen DNA bölgesi, spesifik bir bölge ise, saptamak için floresan işaretli problar kullanılmaktadır ki, bu yöntemlerden biri, hidroliz problar içerisinde yer alan TaqMan Prob Yöntemi olup, burada arttırılmak istenilen hedef DNA bölgesine komplementer olan ve floresan adaptörle saptanmış tek zincirli problar yer almaktadır (Watson ve Li 2005).

Elde edilen ürünün varlığını saptamak için kullanılan yöntemlerden biri de spesifik olmayan çift zincirli DNA boyalarının kullanılması işlemidir. Bu bağlamda da en sık kullanılan boya SYBR Green I boyasıdır. SYBR Green I, çift zincirli deoksiribonükleik aside (dsDNA) bağlanır ve reaksiyon tüpündeki dsDNA miktarına bağlı olarak boyanın bağlanma oranı da artar. Böylece floresan boyanın verdiği sinyalde bağlanmayla doğru orantıda artmaya başlar (Wang 2006). Bu yöntem, kullanım kolaylığı ve diğer yöntemlere nazaran düşük maliyetli olması sebebi ile daha çok tercih edilmektedir.

Floresan yoğunluğu, Real Time PCR reaksiyonunda PCR ürünlerinin miktarıyla doğru orantılı olarak artar. Döngü eşiği (Cycle threshold - Ct), bir floresan sinyalinin belirli bir eşiği geçmesi için gereken döngü sayısı olarak tanımlanır. Ct, numunelerde bulunan hedef DNA konsantrasyonunun bir belirteçidir. Başlangıç konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa Ct değeri o kadar küçük olur. Floresansın döngü sayısına göre çizilmesi, reaksiyon sırasında PCR ürünlerinin birikimini temsil eden bir eğri oluşturur. Kopya sayısı bilinen DNA konsantrasyonlarına karşılık gelen Ct değerlerine göre yapılacak çizimle standart bir eğri oluşturulabilir. Böylece, incelenen numunelerdeki hedef DNA miktarı Ct değerlerinin standart eğri ile kıyaslanması suretiyle hesaplanabilir (Gorski ve Csordas 2009).



Resim 2: Real Time PCR Reaksiyonu ve Kantitatif Analiz Örneği



Resim 3: RT-PCR'in Çalışma Sistemi.

2.2.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol

Hayvan yemlerinin temiz olması, hayvan miktarının az olması ve dışkıların ortamda çok bekletilmeden uzaklaştırılması işletmelerde önemli korunma yöntemlerinden başlıcasıdır. Kesimden sora etin kirlenmesinin engellenmesi ve çapraz kontaminasyona sebep olacak şeylerden kaçınılması gerekmektedir. Buna paralel olarak sağım makinası, materyallerin temizliği hastalıktan korunmanın başı olarak kabul edilir. Etkenin klora karşı duyarlı olması su ve çevre temizliğinde

hastalığa korunma amacıyla kullanılması bildirilmiştir (Caprioli ve ark. 2005, Çiçek 2008).

Hayvanlara temas sonucunda el temizliği ve diğer ortamlara bulaşın engellenmesi önemlidir (Caprioli ve ark. 2005, Çiçek 2008). Mead ve Griffin (1998), yapılan araştırmada gıda sektöründe hizmet eden personelin el temizliğini etkin şekilde yapmaları, *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının %34 oranına kadar önlediği görülmüştür. Ham maddeden son ürüne kadar genel hijyenik kurallarına uyulması ve genel çapraz bulaşmalara sebep verilmemesi hastalığı büyük ölçüde engellemiştir (Caprioli ve ark. 2005, Çiçek 2008).

Öncelik isahalli vakalarda kaybedilen sıvının geriatılması sağlanmalı (Altındış 2010). Buna göre ağız veya damar yolu ile tedavi uygulanmalıdır. Etkenin hızlı atılımı için; bağırsak hareketlerini kısıtlayan veya durduran ilaçların kullanılmamasına dikkat edilmelidir (Altındış 2010).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Yasal İzni

Çalışmanın etik kurul izni, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulunun 29.08.2022 tarihli ve KAÜ- HADYEK/2022-133 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

3.2. Çalışma Alanı

Bu çalışma, Eylül- Aralık 2022 tarihleri arasında Edirne merkez, ilçe ve köylerinden alınan örneklerle gerçekleştirildi. Çalışma saha örnekleme bu lokasyonlara ait 79 adet ekstantif, yarı ekstantif ve entansif tipli aile ve özel işletmeler oluşturdu.

3.3. Materyal

Çalışma materyalini, Edirne merkez, ilçe ve köylerinde yer alan işletmelerde yetiştirilen 120 adeti buzağı, 80 adeti düve ve 200 adeti ergin sığır olmak üzere 400 hayvandan alınmış taze dışkı örnekleri oluşturdu. Dışkı örneği alınan hayvanların 140'ı semptomik (ateş, ishal veya halsizlik) ve 260'sı asemptomatik olarak kaydedildi.

3.1.1. Kullanılan Besiyeri

3.1.1.1. Modifiye Tryptone Soya Broth (mTSB)

Modifiye Tryptone Soya broth (mTSB), *E. coli*'nin patojenik serotiplerinden olan özellikle *E. coli* O157:H7 serotipinin, gıda ürünlerinde ve hayvan kaynaklı kontamine örneklerde saptanması için geliştirilmiş bir zenginleştirme besiyeridir (Merck Mikrobiyoloji El Kitabı 2011).

Modifiye Tryptone Soya broth (mTSB) ticari bir besiyeri olup (Ocumeda LAB M LAB165 O157 Broth), içeriği Tablo 8'de verilmiştir. Bu çalışmada mTSB, dışkıda bulunabilecek *E. coli* O157:H7'nin zenginleştirilmesi için kullanılmıştır. Ön zenginleştirme için kullanılan besiyeri içeriği Tablo 8'de sunuldu.

Tablo 8: Ön Zenginleştirme İçin Kullanılan Besiyeri İçeriği

Formül	g/L
Kazein	17,0
Peptone from soymeal	3,0
NaCl	5,0
Safra Tuzu	1,5
D (+) Glikoz	2,5
di-Potassium hydrogen phosphate	4,0
Novobiocin	0,02

Dehidre besiyeri, 33,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilmiştir ve uygun kaplara 225'er mL dağıtılıp otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında 25°C'da pH'sı 7,3±0,2'ayarlanmıştır (Merck Mikrobiyoloji El Kitabı 2011).

3.3.2. Ön Zenginleştirme İçin Kullanılan Alet-Ekipman ve Cihazlar

Tablo 9: Ön Zenginleştirme İçin Kullanılan Alet-Ekipman ve Cihazlar

Kullanılan Alet-Ekipman ve Cihazlar	Markası	Kullanım Amacı
Otoklav	Nüve	Hazırlanan besiyeri ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu için kullanılmıştır.
İnkübatör	Memmert	Zenginleştirme yapılan örneklerdeki bakterilerin optimum sıcaklıkta üremesi için kullanılmıştır.
Manyetik karıştırıcı ısıtmalı	IKA-RH-2	Distile su içine aktarılan Toz besiyeri (mTSB) çözdürmek için kullanılmıştır.
Hassas Terazı	Radway	Toz besiyeri tartımında ve Dışkı Örneklerinin Zenginleştirme öncesi tartımında kullanılmıştır.
Schott şişe		mTSB zenginleştirme sıvısı 225 mL'lik bu şişelere aktarılmıştır.
Erlen, beher, pipet, Mezür		Muhafaza ve ölçüm işlerinde kullanılmıştır.
Gamma steril numune poşeti		Dışkı örneklerinin taşınması, saklanması ve zenginleştirmesinde kullanılmıştır.
Distile su cihazı	Nüve Nd-8	Kullanılacak saf su temini için kullanılmıştır.

3.3.3. DNA Ekstrasyonu İçin Kullanılan Alet-Ekipman- Kimyasallar

Örnek tüpü (Eppendorf 1,5 ml)

Otomatik pipet (0,5-10-100-1000 µl) Axypet, Eppendorf

Mikro pipet ucu (0,5-10-100-1000 µl)

RINA M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Robotu

Elüsyon tüpü (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Ön işlem tüpü (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Pipet ucu (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Pipet ucu kılıfı (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Kartuş delici (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Kartuş delici kılıfı (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Manyetik alan tüpü (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Kartuş (RINA M14 Nükleik Asit İzolasyon Kiti)

Santrifüj (Onilab D1008, ScanSpeed mini, Fuge One)

VORTEX (Velp)

STLB (Stool Lysis Buffer): Bakteri hücre zarı parçalamak için kullanılır

PEGN (Polietililen Glikol): Hücre içeriği bozmak için kullanılır.

OHT (Ölü Hücre Tamponu): Ortamda bulunan ölü hücreleri tamponlar.

3.3.4. RT-PCR İçin Kullanılan Alet-Ekipmanlar

Soğuk blok (-20 °C)

PCR güvenlik kabini (Biotek, Mikrotest)

Strip ve kapağı (Nest Biotechnology)

Real Time PCR Cihazı (Agilent Technologies)

-90 °C derin dondurucu (NÜVE DF290)

Otomatik pipet (0,5-10-100- µl) (AxyPET, Eppendorf)

Mikro pipet ucu (0,5-10-100- µl) (NEST)

Tablo 10: PCR’da Kullanılan Kit İçeriği Çizelgesi

Kimyasal	İçeriği	LOT
2x Prime Script Mix	Dna Polimeraz Enzimi, dNTP Mg+2	Bio-Speedy 2B2120206TK
<i>E. coli</i> O157:H7 Oligo Mix	Forward primer Revers primer Florence Prob	Bio-Speedy 2B21201O157:H7
İnhibisyon ve Reaktif Kontrol	Nükleik Asit İnhibisyonu ve Reaktif çalışması kontrolü	Bio-Speedy 2B11109CF5
<i>E. coli</i> O157:H7 pozitif kontrol	<i>E. coli</i> O157:H7 Spesifik Dna Dizisi içeren kontrol	Bio-Speedy 2B21202-O157:H7
<i>E. coli</i> O157:H7 negatif kontrol	Herhangi Bir Nükleik Asit içermeyen kontrol	Bio-Speedy 2B2090683A

3.4. Metot

3.4.1. Örneklerin Alınması

Dışkı örnekleri steril edilen plastik numune kaplarına aseptik şartlarda en az 100 gr olacak şekilde tek kullanımlık svaplarla alınarak soğuk zincir altında (ICE BOX) laboratuvara getirildi ve aynı gün analizi yapıldı.

3.4.2. Ön Zenginleştirme

Analize edilecek örneklerin her birinden ayrı ayrı aseptik koşullarda 25'er gr alındı ve steril stomacher torbalarına tartıldı. Örneklerin üzerine 225 mL mTSB eklendikten sonra 2 dakika stomacher cihazında homojenize edildi. Homojen hale gelen örnekler 41,5 °C’de 12-18 saat inkübatörde inkübasyon için bırakıldı.

3.4.3. *E. coli* O157:H7'nin Moleküler Analizi

3.4.3.1. DNA Ekstraksiyon

mTSB'de zenginleştirilen örneklerden eppendorf tüpüne 100 µl alındı, üzerine 365 µl STLB (Hücre duvarından itibaren hücre içeriğini bozan deterjan), 35 µl PEGN (Polietilenglikol; DNA'yı ortaya çıkartmak için çekirdek zarını parçalar) ve 10 µl OHT (Ölü hücre tamponu: Ortamdaki ölü hücreleri tamponlar) eklendi. Örnekler 2 dakika vorteksledikten sonra 1 dakika süreyle santrifüj edildi. Örneklerden total DNA eldesi RINA M14 nükleik asit ekstraksiyon robotu aracılığı ile yapıldı. Bu amaçla, RINA M14 DNA izalasyon cihazı açılarak cihazda bulunan 5 kuyucuğa sırasıyla;

1. Kuyucuğa içinde manyetik boncukkartuş yerleştirildi.
2. Kuyucuğa manyetik alan tüpü yerleştirildi.
3. Kuyucuğa hazırladığımız örnek tüpü yerleştirildi.
4. Kartuş delici kılıfı ve kartuş delici yerleştirildi.
5. Pipet ucu kılıfı ve pipet ucu yerleştirildi.
6. Elüsyon tüpü yerleştirildi.

Cihaz ayarlarından “hazırladığımız örnek tüp hacmi 510 µl” ve istediğimiz “Elüsyon hacmi 100 µl” olacak şekilde ayarlandı. Bu işlemler RINA M14 DNA İzolasyon cihazının DNA ekstraksiyonu prosedürüne göre yapıldı. Ekstrakte DNA'lar analiz edilinceye kadar -20 °C'de saklandı.

3.4.3.2. Real-Time PCR Analizi

Zenginleştirilmiş dışkı örneklerinden *E. coli* O157:H7'nin identifikasyonu için bakteri spesifik *E. coli* O157:H7 gen bölgesinin amplifikasyonunu sağlayan primer ve problemlerin kullanıldığı Real-Time PCR analizi kullanıldı. Bu analizde etkene özgü Biospeedy Real-Time PCR Kitinin Primer F (Forward), Primer R (Reverse) ve probu kullanıldı.

3.4.4.. Real-Time PCR'nin Aşamaları

Örneklerden *E. coli* O157:H7 identifikasyonu için başvuru Real-Time PCR analizi Tablo 11'deki bileşenler eşliğinde gerçekleştirildi.

Tablo 11: Real-Time PCR Kurulum Çizelgesi.

Real Time - qPCR Kurulumu			
İçerik	RT qPCR/İnhibisyon ve Reaktif Kontrol NA	RT qPCR Negatif Kontrol (NTC)	RT qPCR Pozitif Kontrol (PC)
2x Prime Script Mix	5µL	5µL	5 µL
<i>E. coli</i> O157-Oligo Mix	3µL	3 µL	3 µL
NTC	-	2 µL	-
İnhibisyon ve Reaktif Kontrol_NA	1µL	1 µL	1 µL
Nükleik Asit İzolatı	2µL	-	-
PC- <i>E. coli</i> O157	-	-	2 µL
Toplam Reaksiyon Hacmi	11 µL	11 µL	11 µL

Dipnot: RT (Real Time), NTC (Negatif kontrol), PC (Pozitif kontrol)

Real-Time PCR analizi Tablo 12'deki termal döngüler eşliğinde gerçekleştirildi.

Tablo 12: Real-Time PCR Sıcaklık Programı

RT qPCR Sıcaklık Programı			
Basamak	Döndü sayısı	Sıcaklık	Süre
Ters Transkripsiyon	1 Döngü	52 °C	3 dakika
Ön Denatürasyon	1 Döngü	95 °C	10 saniye
Denatürasyon	40 Döngü	95 °C	10 saniye
Bağlanma ve Uzama		55 °C	30 saniye
Tespit (Okuma)		FAM / HEX	
FAM kanalında hedef <i>E. coli</i> O157:H7 okuması yapıldı. HEX kanalında İnhibisyon ve İnternal kontrol okuması yapıldı.			

Real-Time PCR analizine ait sonuçlar Tablo 13'deki bilgiler eşliğinde yorumlandı.

Tablo 13: Numuneler için Kit Kontrollerinin Beklenen Performansı Çizelgesi

Kontrolün Türü	Kontrolün Adı	Amaç	Beklenen Sonuçlar ve Cq Değerleri	
			İnternal Kontrol	Hedef
Negatif Kontrol	NTC	qPCR sırasında kontaminasyon kontrolü	Tespit Edilemedi (Cq yok)	Tespit Edilemedi (Cq yok)
Templatesiz	NRC	Reaktif Kontaminasyon Kontrolü	Tespit Edilemedi (Cq yok)	Tespit Edilemedi (Cq yok)
Ekstraksiyon Negatif Kontrolü	ENC	Ekstraksiyon sırasında kontaminasyon kontrolü	Tespit edild (Cq \leq 27)	Tespit Edilemedi (Cq yok)
Pozitif Kontrol	PC	Reaktif stabile kontrolü	Tespit Edildi (Cq \leq 27)	Tespit Edildi (Cq \leq 27)
Hedef Engelleme ve Reaktif Kontrolü	IC	Örneklerde nükleik asit ekstraksiyonu ve qPCR'ın kontrolünü izlemek için	Tespit Edildi (Cq \leq 27) IC Cq >27 ise Hedef Cq'yi Kontrol Edin	Hedef Cq \leq 27 ise, analiz geçerlidir.
<p>Herhangi bir kontrol yukarıda açıklanan şekilde geçmezse, çalışma geçersiz sayılır ve test tekrarlanır.</p> <ul style="list-style-type: none"> Geçersiz PC (Herhangi bir kanalda Cq>27 ise): Üretici ile iletişime geçilmesi, reaktiflerin yenilenmesi ve reaksiyonun tekrarlanması önerilir. Geçersiz NTC (Herhangi bir kanalda Cq yok): Uyarılar bölümünde dikkat edilerek analiz tekrarlanır. Geçersiz NRC (Herhangi bir kanalda Cq yok): Üretici ile iletişime geçilmesi, reaktiflerin yenilenmesi ve reaksiyonun tekrarlanması önerilir. Geçersiz İn. ve Reak. Kontrol_NA (HEX kanalında Cq>27 ve diğer kanalda yok): Numuneyi Test edin. Sonuç hala geçersizse, yeni bir numune talep edin ve testi tekrarlayın. <p>Tüm kontroller geçerliyse sonuçların yorumlamasına geçin.</p>				

Real-Time PCR analizinin sonuçları Tablo 14'deki veriler eşliğinde yorumlandı.

Tablo 14: Real-Time PCR Sonuçlarının Yorumlanması

Hedef	İnternal Kontrol	Sonuçların Yorumlanması	Sonuç
Pozitif (+)	Pozitif (+)	Sonuçlar Geçerli, Hedef Nükleik Asit Tespit Edildi	<i>E. coli</i> O157:H7 Pozitif
Pozitif (+)	Negatif (-)	Sonuçlar Geçerli, Hedef Nükleik Asit Tespit Edildi	<i>E. coli</i> O157:H7 Pozitif
Negatif (-)	Pozitif (+)	Sonuçlar Geçerli, Hedef Nükleik Asit Tespit Edilemedi	<i>E. coli</i> O157:H7 Negatif

3.4.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmada sığırlardan alınan dışkı örneklerinin *E. coli* O157:H7'nin PCR ile analizi sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizi Statistical Package Social Science (SPSS) 26 programında Chi-Square (x2) testi ile yapıldı.

4. BULGULAR

Toplanan örneklere ait hayvanların yaş, klinik belirti, işletme sayısının Edirne lokasyonuna göre dağılımı Tablo 15’te sunuldu.

Tablo 15: Toplanan Örneklere Ait Hayvanların Yaş, Klinik Belirti, İşletme Sayısının Edirne Lokasyonuna Göre Dağılımı

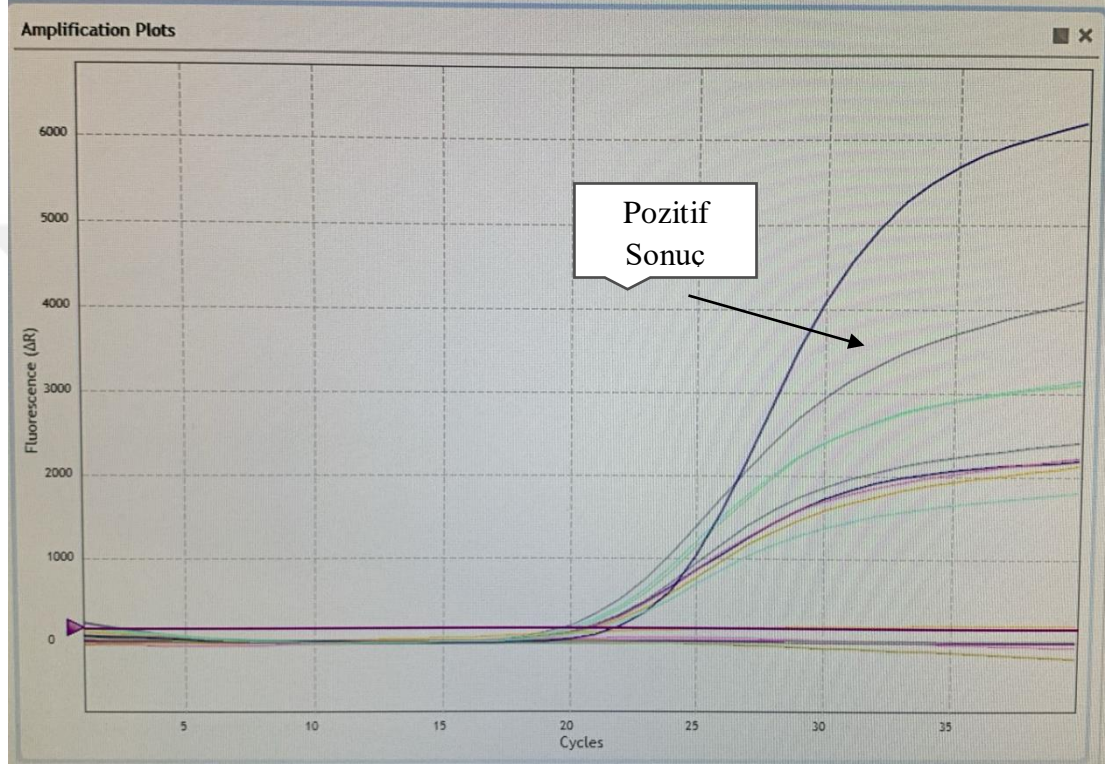
S. Nu.	İl/İlçe	Buzağı		Düve		Ergin		Toplam		İşletme Sayısı
		As.	S.	As.	S.	As.	S.	As.	S.	Eks./Yarı Eks./Ent.
1	Edirne Merkez	6	4	5	2	17	3	28	9	6
2	Enez ve köyleri	4	6	6	2	10	5	20	13	5
3	Keşan ve köyleri	7	13	10	5	21	9	38	27	13
4	İpsala ve köyleri	8	12	13	2	25	10	46	24	18
5	Uzunköprü ve ilçeleri	6	14	9	3	28	7	43	24	12
6	Meriç ve köyleri	6	9	6	2	19	6	31	17	9
7	Havsa ve köyleri	3	2	4	1	17	3	24	6	5
8	Lalapaşa ve köyleri	4	6	3	2	7	3	14	11	6
9	Süloğlu ve köyleri	6	4	4	1	6	4	16	9	5
Toplam		50	70	60	20	150	50	260	140	79
Genel Toplam		120		80		200		400		

Not: As: (Asemptomatik), S: (Semptomatik), Eks: (Ekstansif), Yarı Eks: (Yarın Ekstansif), Ent: (Entansif)

4.1. Real-Time PCR Analiz Bulguları

Real-Time PCR analizi sonucu, CFX96 Touch/CFX96 Dx/CFX Opus 96/CFX Opus 96 (Bio-Rad) ve Manyetik İndüksiyon Dengeleyici (Mic) (Bio Molecular System-BMS) cihazlarının eşik seviyesi, Cq değerlerinin hesaplamak için

200 RFU'ya ayarlandı. Büyüme eğrilerinin şekli incelendi. Sigmoidal olmayan eğriler negatif olarak kabul edildi. HEX kanalında IC (İnhibisyon ve Reaktif Kontrolü) ve FAM kanalında hedef reaksiyonlar Cq değerleri hesaplandı. $27 \leq Cq$ değere sahip örnekler *E. coli* O157:H7 yönünden negatif; $27 > Cq \geq 25$ değere sahip örnekler *E. coli* O157:H7 yönünden şüpheli ve $Cq < 25$ değere sahip örnekler *E. coli* O157:H7 yönünden pozitif olarak kaydedildi.



Resim 4: Pozitif Sonuç Veren 65 Numaralı Örnek

Real-Time PCR analizi sonucu, incelenen 400 sığır dışkı örneğinin 2 (%0,5)'sinde *E. coli* O157:H7 pozitifliği tespit edildi.

4.2. *E. coli* O157:H7 Pozitifliğinin Dağılımı

Bu çalışmada, mTSB'de önzengileştirilmesi yapılan sığır dışkı örneklerinden *E. coli* O157:H7 pozitifliği Real-Time PCR analizi ile belirlendi.

Çalışmada toplam 400 dışkı örneği analiz edilmiş olup, mTSB'de ön zengileştirilmesi yapılan sığır dışkı örneklerinden *E. coli* O157:H7 toplam pozitifliği %0,5 olarak saptandı.

Çalışmada toplam 79 adet ekstantif, yarı ekstantif ve entansif tipli aile ve özel işletmelerden alınan dışkı örneği analiz edilmiş olup, mTSB'de önzengileştirmesi yapılan sığır dışkı örneklerinden *E. coli* O157:H7 pozitifliği 79 işletmenin 2'sinde (1 yarı ekstantif ve 1 entansif) belirlendi.

E. coli O157:H7'nin pozitifliği ile işletmeler arasında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmamıştır ($P > 0,05$).

Çalışmada 120 adet buzağı, 80 adet düve ve 200 adet ergin sığır dışkı örneği analiz edilmiş olup, mTSB'de önzengileştirmesi yapılan örneklerden *E. coli* O157:H7 pozitifliği buzağılarda %1,43, düvelerde %0 ve ergin sığırlarda %0,5 olarak belirlendi.

E. coli O157:H7'nin pozitifliği ile hayvanların yaşı arasında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmamıştır ($P > 0,05$).

Çalışmada 140'ı semptomatik (ateş, ishal veya halsizlik) (bunları da buzağı düve ve ergin diye sınıfla ve örnek sayısı ve pozitiflik sayısı ver) ve 260'ı asemptomatik hayvana (bunları da düve buzağı ve ergin diye sınıfla) ait dışkı örneği analiz edilmiş olup, mTSB'de önzengileştirmesi yapılan örneklerden *E. coli* O157:H7 pozitifliği semptomatik olanlarda %0,72 ve asemptomatik olanlarda %0,39 olarak belirlendi.

E. coli O157:H7'nin pozitifliği ile klinik durum arasında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmamıştır ($P > 0,05$).

Dışkı örneklerinin yaş, genel durum ve *E. coli* O157:H7 pozitifliği yönünden dağılımı Tablo 16'da sunuldu.

Tablo 16: Dışkı Örneklerinin Yaş, Genel Durum Dağılımı ve *E. coli* O157:H7 Pozitifliği Yönünden Dağılımı

	Buzağı		Düve		Ergin Sığır		Toplam	
	Pozitiflik		Pozitiflik		Pozitiflik		Pozitiflik	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Semptomatik	1/70	%1,43	0/20	%0	0/50	%0	1/140	%0,72
Aseptomatik	0/50	%0	0/60	%0	1/150	%0,67	1/260	%0,39
Toplam	1/120	%0,84	0/80	%0	1/200	%0,5	2/400	%0,5

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Tartışma

Escherichia coli O157:H7 enfeksiyonu insanlarda kanlı diyare, Hemorajik Kolit, HUS, TTP gibi klinik belirtilere yol açarken, bazen ölüme sebep olmaktadır. İnsanlarda bu enfeksiyondan kaynaklanan salgınlarda enfeksiyon kaynağı olarak sığırlara ait et ve çeşitli et ürünleriyle, çiğ süt ve süt ürünlerinin olduğu kanıtlanmıştır. *E. coli* O157:H7, enfekte veya sağlıklı hayvan ve insan dışkılarıyla atılımı sonucu toprak ve suyu kontamine etmekte ve sonrasında diğer canlılara bulaşmaktadır. Birçok memeli ve kanatlı türü *E. coli* O157:H7 için rezervuarlık yapmaktadır (Caprioli ve ark. 2005). Bunlar arasında sığırlar, etkenin birincil rezervuarı olarak bilinmektedir (Zhao ve ark. 1995, Dunn 2003, Caprioli ve ark. 2005). Sığır yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmelerde hem sığırlara ait çeşitli örneklerden hem de bu hayvanların ekstret ve sekretlerinin bulaşını takiben çevresel örneklerden *E. coli* O157:H7 pozitifliği belirlenmiştir. Böylelikle sığırlar etkenin çevreye yayılımı ve olası bir zoonotik bulaşı kolaylaştırabilmektedir (Zhao ve ark. 1995, Dunn 2003, Caprioli ve ark. 2005).

Sığır dışkı örneklerinde yapılan çalışmalarda *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığı farklı oranlarda bildirilmiştir. ABD'de %1-5 arasında bildirilen bu oran (Hancock ve ark. 1994, Zhao ve ark. 1995, Sargeant ve ark. 2000), Avrupa'da %1-15,7 arasında bildirilmiştir (Chapman ve ark. 1993, Blanco ve ark. 2004). Avrupa'da en yüksek oran İngiltere'de rastlanmış olup, 1995-1996 yılı için %15,7 ve 2001 yılı için %12,9 pozitiflik bildirilmiştir. *E. coli* O157:H7 varlığı sığırlarda çiğ süt ve süt ürünlerinde de rapor edilmiştir. Örneğin, ABD'de klinik belirti göstermeyen 1266 adet sığırdan alınan süt örneklerinin %1,4'ünden (Wells ve ark. 1991), İtalya'da inek ve keçilere ait 144 çiğ süt örneğinin %0,7'sinden *E. coli* O157:H7 izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Picozzi ve ark. 2005). Ülkemizde ise Van yöresinde yapılan bir araştırmada, klinik belirtisi bulunmayan süt sığırlarından elde edilen 312 dışkı örneğinin %1,28'sinden *E. coli* O157:H7 pozitifliği tespit edilmiştir (Çabalar ve ark. 2001). Ege Bölgesinde yetiştirilen sığırların dışkı ve süt örnekleri ile yapılan bir başka çalışmada Lam-Lateks Agulinitasyon testi ile her iki örnekte de %1,3 oranında *E. coli* O157:H7 pozitifliği rapor edilmiştir (Çiçek 2008). Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada,

500 adet sığır süt örneğinin 1'inde (%0,2) ve 500 adet sığır dışkı örneğinin 6'sında (%1,2) *E. coli* O157 tespit edilirken, örneklerde H7 antijenine rastlanılmamıştır (Kuyucuoğlu ve ark. 2011). İstanbul bölgesinde yetiştirilen sığırlarda *E. coli* O157:H7 yaygınlığının araştırılması için 330 rektal svap örneği toplanmış, örneklerin 88'inde (%26,7) SMAC agarda sorbitol-negatif koloni gözlemlenmiş ve bu örneklerin biyokimyasal ve antijen testleriyle 13'ünde (%3,93) *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Yılmaz ve ark. 2002). Erzurum bölgesinde yapılan bir çalışmada, çeşitli sayılarda kanatlı etlerinden elde edilen *E. coli* O157:H7 pozitifliğinin yanı sıra, 120 sığır eti örneğinin 2 (%1,67)'sinde kültürel analiz sonucu *E. coli* O157:H7 pozitifliği saptanmıştır (Ünsal 2007). Aslantaş ve ark. (2006) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 565 adet sığır dışkı örneğinin 77 (%13,6)'sinde *E. coli* O157 pozitifliği bildirilmiştir. İstanbul'da Yılmaz ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada 330 sığırdan %53,9 oranında *E. coli* O157:H7 pozitifliği rapor edilmiştir. Kırıkkale ilindeki sığırlardan toplanan 502 adet dışkı örneğinin 13 (%2,5)'ünde *E. coli* O157 ve 9 (%1,7)'unda O157:H7 pozitifliği bildirilmiştir. Aksoy ve ark. (2007) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada, 406 sığır rektum mukozasından alınan svap örneğinin 7 (%1,7)'sinden *E. coli* O157:H7 ve 3'ünden (%0,7) ise *E. coli* O157 saptanmıştır (Aksoy ve ark. 2007). Ayrıca araştırmacılar, erkek ve 3 yaşın altındaki hayvanlardan izolasyon oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Öksüz ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, 457 buzağı ve sığır dışkı örneğinde (237 buzağı ve 220 sığır) 14 adet *E. coli* O157:H7 izole edilmiş ve prevalansı %3,06 olarak bildirmiştir. Bu araştırmacılar, 100 adet çiğ inek sütü örneğinde ise 1 (%1) oranında *E. coli* O157 saptamışlardır. Marmara Bölgesinde yetiştirilen süt ineklerinden toplanan 576 dışkı, süt ve çevre örneğinin kültürel analizi sonucu 11'inde *E. coli* O157 izole edilmiş ve prevalansı (%1,91) olarak bildirilmiştir (Birdal 2013).

Bu çalışmada, Edirne ili, ilçeleri ve köylerinden sığır yetiştiriciliğinin yapıldığı ekstansif/yarı ekstansif/entansif olarak beslenen, aile ve özel işletmelere ait 120 adet buzağı, 80 adet düve ve 200 adet ergin sığır olmak üzere toplam 400 adet hayvandan dışkı numuneleri toplandı. Analiz sonucundan toplanan 400 adet örnekten 2'sinde (%0,5) *E. coli* O157:H7 tespit edildi. Bu çalışma ile ulusal ve uluslararası yapılan araştırmalar dikkate alındığında bölgedeki sığırlarda *E. coli* O157:H7

prevalansının diğer araştırmalara kıyasla farklı oranlarda saptanmıştır. Bu farklılığın ortaya çıkmasında, kullanılan izolasyon yöntemlerindeki farklılıklar, coğrafik özelliklerin, hayvanların beslenme Őekillerinin, besin türlerinin, hayvanların yaşının ve işletmeler arasında hijyen kurallarının değişkenliğinin etkili olabileceği düşünülmüştür.

Sığırlarda bağırsak mikroflorasının bir yesi olan *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığı sığırların yaşıyla değişim gösterebilmektedir. ABD'de yapılan bir araştırmada özellikle sütten kesildikten sonra buzağılarda ve genç hayvanların dışkılarında bu etkenin bulunma oranının erişkinlere kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Dunn 2003, Caprioli ve ark. 2005). ABD'de yapılan bir başka çalışmada farklı yaştaki sığırlarda *E. coli* O157:H7 prevalansı araştırılmış, 210 buzağının 5 (%0,23)'inde, 394 dvenin 12 (%3,04)'sinde, 662 yetişkin sığırın sadece 1 (%0,15)'inde *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Wells ve ark. 1991). Yılmaz (2002), sığırlarda üzerine yapılan bir çalışmada *E. coli* O157:H7 izolasyonunun genellikle 2 yaşındaki hayvanlardan gerçekleştirebilmiştir. iek (2008), sığırların bağırsak mikroflorasının bir parçası olan *E. coli* O157:H7 miktarının hayvanların yaşıyla değişim gösterdiğini vurgulamıştır. Genç yaşlardaki hayvanlarda özellikle sütten kesildikten sonra hastalık oranının arttığı diğer birçok çalışmada da bildirilmiştir (Dunn 2003, Caprioli ve ark. 2005). Süt işletmesinde *E. coli* O157:H7'nin çevreye yayılmasında işletmede çalışanlarının da rol oynayabileceği bildirilmiştir. Özellikle su kaynaklarının *E. coli* O157 rezervuar olabileceği ve kontamine suların tüketilmesi sonucu etkenin diğer canlılara bulaşabileceği görülmüştür (Faith ve ark. 1996, Schouten ve ark. 2005). Hollanda'da süt sığırını yetiştiriciliği yapılan bir çiftlikte gerçekleştirilen çalışmada 594 evre örneğinin 9 (%1,51)'undan (1 çiftlik arazisindeki göletten, 2 dışkı toplayıcısından, 1 yemlikten ve 5 sunta kaplı zeminden) CT-SMAC agara ekim yapılarak *E. coli* O157 pozitifliği tespit edilmiştir (Schouten ve ark. 2005). Findanliya'da yapılan bir araştırmada ise süt sığırını işletmelerinde suluk, yer ve yemlik kaplarından örnekler alınmış ve 74 su kabının 18 (%24,3)'inden, 10 zemin örneğinin 8 (%80)'inden ve 65 yemliğin 24 (%36,9)'nden *E. coli* O157 izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Lahti ve ark. 2003). Bazı araştırmalarda dışkı ve sütte *E. coli* O157:H7 izole edilmesine rağmen süt tankı, vakum makinesi ve sağım makinesi gibi ekipmanlardan etken tespit edilememiştir

(Mechie ve ark. 1997, Rahn ve ark. 1997). Aslantaş ve ark. (2006), sığırlardan yılın her ayı örnek alınarak yapılan bir çalışmada, *E. coli* O157:H7 pozitifliğini Temmuz ve Ekim'de daha yüksek, Şubat'da ise en düşük oranda saptamışlardır. Diğer bazı çalışmalarda *E. coli* O157:H7 pozitifliği yaz aylarında daha yüksek oranda rapor edilmiştir (Dunn 2003, Caprioli ve ark. 2005, Çiçek 2008).

Bu çalışmada, entansif/yarı entansif/ekstansif beslenen, aile ve özel işletmelerden toplanan dışkı numuneleri; 140 adeti semptomatik (halsizlik, iştahsızlık, hafif kanlı sulu ishal) ve 260 adeti asemptomatik hayvandan olmak üzere toplam 400 adet taze dışkı örneği toplanmış ve 2 (%0,5)'sinde *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir. Pozitiflik tespit edilen örneklerin 1'i halsizlik, iştahsızlık ve hafif kanlı sulu ishal gibi klinik belirti gösteren bir buzağıya ait olup, bu hayvanın entansif beslendiği, semptomlar nedeniyle karantinaya alındığı ve genel tedaviye başlandığı; diğer pozitif sonuç veren taze dışkı örneğinin ise klinik bulgu göstermeyen ergin bir sığıra ait olduğu ve bu hayvanın yarı ekstansif olarak beslendiği, mevsime bağlı olarak meraya sıklıkla çıkmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, 400 adet dışkı örneği incelenmiş olup, hayvanların yaşına göre *E. coli* O157:H7 pozitifliğine bakıldığında; buzağılarda 1/120 (%0,84), düvelerde 0/80 (%0) ve ergin sığırlarda 1/200 (%0,5) *E. coli* O157:H7 pozitifliği belirlenmiştir. Analiz edilen örnekler sayısal olarak değerlendirildiğinde ergin sığırlara ait örnek sayısının fazla olduğu fakat etken yaygınlığı bakımından buzağılarda daha yüksek oranda pozitiflik edildiği görülmektedir. Çalışmada, semptomatik olan ancak *E. coli* O157:H7 tespit edilmeyen diğer örneklerin başka etkenlere bağlı olarak klinik belirti göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmada, semptom görülmemesine rağmen *E. coli* O157:H7 tespit edilen ergin sığırın ise diğer araştırmalarda da görüldüğü üzere, klinik belirti olmaksızın sığırların *E. coli* O157:H7 etkeni için rezervualık yapabildiği gerçeği ile uyumaktadır. Etken pozitifliğinin yaş aralıklarına göre dağılımı değerlendirildiğinde, mevcut çalışmada buzağılarda görülme oranının daha fazla olması diğer ulusal ve uluslararası çalışmalara benzerlik göstermektedir. Bu durumun, genç hayvanların bağışıklıklarının yetersiz oluşu, düve ve ergin sığırların ise etkene karşı bağışıklık kazanmış olabileceğine yorumlanmıştır. Bunun yanı sıra bölgede etkenin görülme oranının düşük olması, işletme sahiplerinin klinik belirtisi olan hayvanları karantinaya alması, işletme dezenfeksiyonuna ve koruyucu

hekimliğe dikkat etmeleri total pozitiflikteki bu düşük oranın bir gerekçesi olarak düşünülmektedir.

Ulusal ve uluslararası çalışmalarda da belirtildiği gibi etkenin mevsimlere göre değişiklik gösterebileceği ve sıcak aylarda görülme oranının daha fazla olduğu bildirilmiştir (Hancock ve ark., 2001, Birdal ve Ak 2018). Mevcut çalışmada, saha örneklerinin Eylül-Aralık ayları arasında toplandığı, aylara bağlı olarak hayvanların meraya daha az çıktığı ve buna bağlı olarak etkenin çevreye bulaşması ve hayvanlar arasında etkileşimin daha az olabileceği, mevsimin kışa yaklaşması ve bu durumunda etkenin görülme oranını etkilediği şeklinde yorumlanmıştır.

Gıdalarda, klinik örneklerde ve çevresel örneklerden bakterilerin teşhisinde konvansiyonel kültür yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bir gold standart olarak kabul edilen bu yöntemin, zahmetli, zaman alıcı ve maliyetinin yüksek olması, sonuçların elde edilmesinin 5-7 günü bulması, identifikasyon için birçok biyokimyasal ve serolojik testlere ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları ile birlikte birçok bakteri türünün VNBC (Viable But Nonculturable (Canlı fakat kültürü yapılamayan durum) formuna girebilmesi ve kültür ortamında üretilmemesi nedeniyle canlı bakterilerin tespiti için hassas, hızlı ve uygulanması kolay analiz metotlarına ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur (Hugenholtz ve ark. 1998, FDA 2020, Taskin 2017, Yelboğa ve Karagüler 2012). Birçok çalışmada patojen bakterileri tespit etmek amacıyla moleküler temelli tekniklerin güncel olarak kullanıldıkları ve bu yöntemlerin hızlı, güvenilir ve doğru sonuçlar verdikleri bildirilmiştir (Nitecki ve ark. 2015). Bazı çalışmalarda, moleküler temelli tekniklerin, konvansiyonel kültür temelli tekniklerinden daha hassas ve hızlı sonuçlar verdiği de ortaya konulmuştur. Bunlardan, Real-Time PCR yönteminin, *E. coli* O157:H7'nin sığır dışkılarında belirlenmesinde oldukça etkin olduğu belirlenmiştir (Nitecki ve ark. 2015). Bursa yöresinde yapılan bir başka çalışmada hayvan kaynaklı *E. coli* genlerinin taranmasında moleküler tanı yöntemlerinden biri olan PCR'nin birçok geni bir arada ve aynı anda taranması yönüyle patojenik *E. coli*'nin tanımlanmasında hızlı ve yararlı bir tanı yöntemi olduğu bildirilmiştir. Moleküler tanı teknikleri ile gerek toplum sağlığı, endüstriyel ve bilimsel açısından önemli olacak gelişmeler sağlanmaktadır. Halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturan *E. coli* O157:H7'nin EMA + qPCR veya PMA + qPCR teknikleri ile kantitatif analizlerinde daha

güvenilir sonuçların alınması ve optimizasyonu için yeni kimyasalların geliştirilmesi ve ileri düzey çalışmaların devam etmesi gerekliliği vurgulanmıştır (Ekin 2022). Bu çalışmada, Edirne ili, ilçeleri ve köylerinden Eylül-Aralık 2022 tarihleri arasında sığır yetiştiriciliğinin yapıldığı ekstansif/yarı ekstansif/entansif olarak beslenen, aile ve özel işletmelere ait toplamda 400 adet dışkı örneği ön zenginleştirmesinin ardından Real-Time PCR yöntemiyle hedef patojenin araştırılmış. Moleküler tanı yöntemlerinden birisi olan Real-Time PCR yöntemi bu etkene yönelik gerçekleştirilen ulusal ve uluslararası araştırmalar ile paralel olarak hedeflenen patojenlerin hızlı, güvenilir ve zahmetsiz bir şekilde tespitini sağlamıştır.

5.2. Sonuç

Edirne yöresine ait işletmelerde yetiştirilen sığırlarda *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığı Real-Time PCR ile araştırılmıştır. Edirne merkez, ilçeleri ve köylerinde bulunan aile ve özel işletmelerde yetiştirilen buzağı, düve ve ergin tüm yaş gruplarındaki sığırlardan 400 adet taze dışkı örneği alınmıştır. Alınan 400 adet taze dışkı örneğinin 140 tanesi semptomik, 260 adet taze dışkı örneği asemptomatik hayvanda olmak üzere 120 adeti buzağı, 80 adeti düve ve 200 adeti ergin sığırdan oluşmaktadır. Analiz edilen örneklerden; halsizlik, iştahsızlık ve hafif kanlı sulu ishalleri buzağıya ait bir dışkı örneği ve klinik olarak sağlıklı ergin bir sığır ait dışkı örneği olmak üzere toplam 2'sinde *E. coli* O157:H7 pozitifliği saptanmıştır.

Sonuç olarak, Edirne yöresine ait işletmelerde yetiştirilen sığırlardan alınan 400 adet taze dışkı örneğinden 2'sinde *E. coli* O157:H7 pozitifliği saptanmış olup, yaygınlığının 2/400 (%0,5) olarak tespit edilmiştir. Real-Time PCR yöntemide kültür zorunluluğunu ortadan kaldıran, hızlı ve güvenilir bir tanı yöntemi olarak öne çıkmıştır. *E. coli* O157:H7 pozitifliği ile yetiştiricilik şekli, hayvanların klinik durumları ve yaş skalaları arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmazken, buzağılarda ve semptomlu hayvanlarda oransal olarak daha yüksek pozitiflik belirlenmiştir. Bu konuda gerçekleştirilmiş ulusal ve uluslararası araştırmalar dikkate alındığında, *E. coli* O157:H7'nin prevalansının sığır dışkılarında genel olarak düşük olduğu, fakat yine de çeşitli yetiştiricilik şekli, yaş veya klinik bulgulara haiz sığırların *E. coli* O157:H7'ye rezervuarlık yaparak hastalığın ekolojisinde ve bulaşında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Sınırlı bir lokasyonu temsil eden bu çalışmaya ait verilerin, *E. coli* O157:H7'nin eko-epidemiolojisinin aydınlatılmasına yönelik katkı sunacağı düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Aksoy A, Yıldırım M, Kaçmaz B, Apan TZ, Göçmen JS. Verotoxin production in strains of *Escherichia coli* isolated from cattle and sheep, and their resistance to antibiotics. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 2007; 31, 225-231.
- Altındış M. Hemşireler İçin Mikrobiyoloji, 1. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2010, 184- 186.
- Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JGJ. Glenn. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. Epidemiol Rev, 1996; 18 (1): 29-51.
- Arslan D. İshal oluşturan *Escherichia coli* enfeksiyonları: Epidemiyoloji, klinik, tedavi. Ankem Derg. 2008; 22 (2): 192-196.
- Arslantürk A. 0-15 Yaş Grubu Gastroenterit Olgularında *E. coli* O157:H7 Serotipinin Araştırılması. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Uzmanlık Tezi, Ankara, 1996.
- Aslantaş Ö, Erdogan S, Cantekin Z, GulactıI, Evrendilek GA. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from Turkish cattle. Int J Food Microbiol, 2006; 106: 338-342.
- Aydın A, Sudağdan M. Gıda mikrobiyolojisinde moleküler biyolojik Tekniklerin kullanımı ve tiplendirme yöntemleri. Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics, 2016; 2 (1): 1-9.
- Baysal B. *Escherichia coli*. İçinde: Cengiz T, Mısırlıgil A, Aydın M (editörler). Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, 1. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2004, 454-458.
- Bekar E. Etilerde *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kars, 2019.
- Bell C. Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Int J Food Microbiol. 2002; 78 (3): 197-216.

- Bessesen MT, Wang E, Echeverria P, Blaser MJ. Enteroinvasive *Escherichia coli*: A cause of bacteremia in patients with AIDS. *J Clin Microbiol.* 1991; 29 (11): 2675-2677.
- Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S, Gleier K. Characterization of shiga toxinproducing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J Clin Microbiol.* 2004; 3, 1099-1108.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Safak Matbacılık. 4. Basım. Ankara. 2004.
- Birdal E, Ak S. Prevalence of *E. coli* O157:H7 in dairy cattle and the farm environment. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences,* 2018; 3 (2), 85-90.
- Birdal E. Marmara Bölgesinde Bulunan Süt İşletmelerindeki İnekler ve İşletme Çevresinde *E. coli* O157:H7 Varlığının Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Doktora tezi; İstanbul Üniversitesi, 2013.
- Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, Blanco J. Serotypes, Virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from human patients: prevalence in lugo, spain, from 1992 through 1999. *Journal of Clinical Microbiology,* 2004, 42, 311-319.
- Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: Emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res.* 2005; 36 (3): 289-311.
- Carter AO, Borczyk AA, Carlson JA, Harvey B, Hockin JC, Karmali MA, Kriskna C, Kora DA, Lior H. A severe outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 – associated with haemorrhagic colitis in nursing home. *New Engl. J. Med.* 1987; 317: 1496-1500.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *E. coli* Outbreak Linked to Baby Spinach and *E. coli* Outbreak Linked to Packaget Salads [Internet]. 2021. [Erişim Tarihi 15 Aralık 2023]. <https://www.cdc.gov/ecoli/2021-outbreaks.html>.

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Linked to Totino's and Jeni's Frozen Pizza (FINAL UPDATE) [Internet]. 2007. [Erişim Tarihi 10 Aralık 2023]. <https://www.cdc.gov/ecoli/2007/jeno-pizza-11-1-2007.html>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *E. coli* Infections Linked to Romaine Lettuce [Internet]. 2018. [Erişim Tarihi 19 Aralık 2023]. <https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-11-18/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *E. coli* Infections Linked to Ground Beef [Internet]. 2019. [Erişim Tarihi 1 Aralık 2023]. <https://www.cdc.gov/ecoli/2019/o103-04-19/index.html>
- Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin MA. *E. coli* O157 in cattle, and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire. *Int J Food Microbiol.* 2001; 64, 139-150.
- Chapman PA, Siddons A, Wright DJ, Norman P, Fox J, Crick E. Cattle as a possible source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infections in man. *Epidemiol Infect.* 1993; 111, 439-447.
- Chattaway MA, Dallman T, Okeke IN, Wain J. Enteroaggregative *E. coli* O104 from an outbreak of HUS in Germany 2011, could it happen again. *J Infect Dev Ctries.* 2011; 5 (6): 425-436.
- Coia JE. Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1998; 20 (1): 1-9.
- Cowden JM, Ahmed S, Donaghy M, Riley A. Epidemiological investigation of the central Scotland outbreak of *Escherichia coli* O157 infection, November to December 1996. *Epidemiol Infect.* 2001; 126 (3): 335-341.
- Çabalar M, Boynukara B, Gülhan T, Ekin H. Prevalence of Rotavirus, *Escherichia coli* K99 and O157:H7 in healthy dairy cattle herds in Van, Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2001; 25, 191-196.
- Çadırcı Ö, Sırıken B, Inat G, Kevenk TO. The prevalence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in ground beef and raw meatball by immunomagnetic

separation and the detection of virulence genes using multiplex PCR. Meat Science 2010; 84: 553-556.

Çiçek E. Ege Bölgesindeki Sığırların Süt ve Dışkı Örneklerinden *Escherichia coli* O157:H7 İzolasyonu ve Verotoksinlerinin Belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2008.

Dontorou C, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, et al. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. Int J Food Microbiol. 2003; 82 (3): 273-279.

Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl Environ Microbiol 1987; 53, 2394-2396.

Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. Int J Food Microbiol. 1991; 12 (4): 289-301.

Dunn JR. The epidemiology of shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Louisiana cattle, and white-tailed deer [PhD thesis]. ABD: Louisiana State University, 2003.

Ekin H. Sütte *Escherichia coli* O157:H7 canlı hücrelerinin belirlenmesinde kültür yöntemi ile Real-Time PCR yöntemlerinin karşılaştırılması, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2022.

Eklund M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings From Humans In Finland [PhD Thesis]. Finland, University of Helsinki, 2005.

Erdem B. Enterobacteriaceae. İçinde: Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Tümbay E, Mete Ö (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999, 480-485.

Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık Ltd. Sti. Ankara, 82-93, 2007.

Esameili H, Khanjari A, Gholami F. Detection and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from feral pigeon in Qom province, Iran. Asian Pacific J Tropic Disease. 2015; 5 (2): 116-118.

- Faith NG, Shere JA, Brosch R, et al. Prevalence and clonal nature of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farms in Wisconsin. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996; 62: 1519-1525
- FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Chapter 4 and 4A, updated 07.2020; Available from (<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>). Erişim Tarihi: Eylül 2022.
- Flemming S, Strockbine NA. *Bergey's Manual of Systemic bacteriology*. 2nd. ed. içinde: The Genus *Escherichia*. Editör: Garrity, G.M. East Lansing USA: Springer. 607-625, 2005.
- Galli L, Brusa V, Singh P, Cataldi AA, Manning S, Peral-García P, et al. High prevalence of clade 8 *Escherichia coli* O157:H7 isolated from retail meat and butcher shop environment. *Infect Genetic and Evolution*. 2016; 45, 1-5.
- Gelsing SL, Smith AM, Jones CM, Heinrichs AJ. Technical note: Comparison of radial immunodiffusion and ELISA for quantification of bovine immunoglobulin G in colostrum and plasma. *J Dairy Sci*. 2015; 98 (6): 4084-4089.
- Gorski L, Csordas A. Molecular detection: Principles and methods. In: Liu D, (editor). *Molecular detection of foodborne pathogens*. Boca Raton, FL: CRC Press. 2009; pp 1-15.
- Gutierrez, E., 1997. Japan prepares as O157 strikes again. *Lancet*, 349, 1156.
- Güngör Ö. Özyurtlu N. Neonatal buzağılarda pasif transfer yetmezliğinin belirlenmesinde kullanılan testler. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg* 2005;11 (2): 185-188.
- Halkman AK, Noveir MR, Doğan HB. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ankara. Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 2001.
- Hancock D, Besser T, LeJeune J, Davis M, Rice D. The control of VTEC in the animal reservoir. *Int. J. Food. Microbiol*. 2001; 66: 71-78.

- Harshitha R, Arunraj DR. Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 2021; 49 (5): 800-812.
- Hilborn ED, Mermin JH, Mshar PA, Hadler JL, Voetsch A, Wojtkunski C, Swartz M, Mshar R, Lambert-Fair MA, Farrar JA, Glynn MK, Slutsker L. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Arch Intern Med*. 1999; 159 (15): 1758-1764.
- Honish L, Punja N, Nunn S, Nelson D, Hislop N, Gosselin G, Stashko N, Dittrich D. *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with contaminated pork products - Alberta, Canada, July-October 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2017; 65 (52): 1477-1481.
- https://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli, Erişim tarihi: 27 Kasım 2023.
- Hughenoltz P, Goebel BM, Pace NR. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol*. 1998; 180 (18): 4765-4774.
- Jamshidi A, Bassami MR, Rasooli M. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polymerase chain reaction in Mashhad, Northeastern Iran. *Iran J Vet Res*. 2008; 9, 22.
- Karch H, Bielaszewska M. Sorbitol-fermenting shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H- strains: Epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 2043-2049.
- Karmali M, Petric M, Steele B, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *The Lancet*. 1983; 321 (8325): 619-620.
- Kim JY, Kim SH, Kwon NH, Bae WK, Lim JY, Koo HC, et al. Isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 using different detection methods

and molecular determination by multiplex PCR and RAPD. *J Vet Sci.* 2005; 6 (1): 7-19.

King LA, Loukiadis E, Mariani-Kurkdjian P, Haeghebaert S, Weill FX, Baliere C, Ganet S, Gouali M, Vaillant V, Pihier N, Callon H, Novo R, Gaillot O, Thevenot-Sergentet D, Bingen E, Chaud P, de Valk H. Foodborne transmission of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157:[H7] via ground beef: an outbreak in northern France, 2011. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20 (12): O1136-44.

Kuyucuoglu Y, Seker E, Sareyyupoglu B, Gurler Z. Virulence genes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from calves and cattle. *Ankara Univ Vet Fak Derg,* 2011; 58: 255-260.

Lahti E, Ruoho O, Rantala L, Hanninen ML, Honkanen Buzalski T. Longitudinal study of *Escherichia coli* O157 in a cattle finishing unit. *Appl Environ Microbiol,* 2003; 69: 554-561.

Leenanon B, Drake MA. Acid stress, starvation and cold stress affect post stress behavior of *Escherichia coli* O157:H7 and non-pathogenic *Escherichia coli*. *J Food Prot.* 2001; 64 (7): 970-974.

McCullum JT, Williams NJ, Beam SW, Cosgrove S, Ettestad PJ, Ghosh TS, Kimura AC, Nguyen L, Stroika SG, Vogt RL, Watkins AK, Weiss JR, Williams IT, Cronquist AB. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with in-store sampling of an aged raw-milk Gouda cheese, 2010. *J Food Prot.* 2012; 75 (10): 1759-1765.

Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet,* 1998; 352 (9135): 1207-1212.

Mechie SC, Chapman PA, Sidoons CA. A fifteen month study of *Escherichia coli* O157:H7 in a dairy herd. *Epidemiol. Infect.* 1997; 118, 17-25.

Merck Mikrobiyoloji El Kitabı (Eds): A. Kadir HALKMAN, Özlem Etiz SAĞDAŞ. 234 s. Ankara 2011.

Murray PR, Baron J, Jorgensen H, Landry M, Pfaller A. *Klinik Mikrobiyoloji,* 2009; 9 (1): 649-678.

- Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1998; 11: 142- 201.
- Nitecki S, Teape N, Carney B, Slater J, Brück W. A duplex qPCR for the simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* using LNA probes. *Letters in Applied Microbiology*, 2015; 61 (1): 20-27.
- Nuhay Ç, Gülhan T. Samsun ili ve ilçelerinde yetiştirilen Anadolu Mandalarının dışkı örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7'nin tespiti. *Etlük Vet Mikrobiyol Derg.* 2017; 28 (1): 39-45.
- Öksüz Ö, Arıcı M, Kurultay S, Gümüş T. Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control*. 2004; 15, 453-456.
- Öngen B. *Escherichia coli* ishallerinde laboratuvar tanısı. *Ankem Derg.* 2008; 22 (2): 197-210.
- Özbaş Y, Aytaç A. *Escherichia coli* O157:H7 epidemiyolojisi, gıdalarla ilişkisi, patojenitesi ve izolasyon yöntemleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Derg.* 1995; 52 (1): 47-53.
- Park S, Worobo RW, Durst RA. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A literature review. *Critical Rev Food Sci Nut.* 1999; 39 (6): 481-502.
- Picozzi C, Foschino R, Heuvelink A, Beumer R. Phenotypic and genotypic characterization of sorbitol-negative or slow-fermenting (suspected O157) *Escherichia coli* isolated milk samples in Lombardy region. *Lett Appl Microbiol.* 2005; 40, 491-496.
- Rahn K, Renwick SA, Johnson RP, Wilson JB, Clarke RC, Alves D, et al. Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy cattle and the dairy farm environment. *Epidemiol Infect.* 1997; 119: 251-259.
- Ratnam S, March SB, Ahmed R, Bezanson GS, Kasatiya S. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol.* 1988; 26: 2006-2012.

- Reitsma CJ, Henning DR. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of Cheddar cheese. *J Food Prot.* 1996; 59 (5): 460-464.
- Russo TA, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: Focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and Infect.* 2003; 5 (5): 449-456.
- Sargeant JM, Gillespie JR, Oberst RD, Phebus RK, Hyatt DR, Bohra LK, Galland JC. Results of a longitudinal study of the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on cow-calf farms. *Am J Vet Res.* 2000; 61 (11): 1375-1379.
- Schouten JM, van de Giessen AW, Frankena K, De Jong MC, Graat EA. *Escherichia coli* O157 prevalence in Dutch poultry, pig finishing and veal herds and risk factors in Dutch veal herds. *Prev Vet Med.* 2005; 70 (1-2): 1-15.
- Scott L, McGee P, Minihan D, Sheridan JJ, Earley B, Leonard N. The characterisation of *E. coli* O157:H7 isolates from cattle faeces and feedlot environment using PFGE. *Vet Microbiol.* 2006; 114 (3-4): 331-336.
- Selim SA, Cullor JS, Smith BP, Blanchardz P, Farver TB, Hoffmant R, Dilling G, Da Rodent L, Wilgenburg B. The effect of *Escherichia coli* J5 and modified live 29 *Salmonella* dublin vaccines in artificially reared neonatal calves. *Vaccine,* 1995; 13 (4): 381-390.
- Slayton RB, Turabelidze G, Bennett SD, Schwensohn CA, Yaffee AQ, Khan F, Butler C, Trees E, Ayers TL, Davis ML, Laufer AS, Gladbach S, Williams I, Gieraltowski LB. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7 associated with romaine lettuce consumption, 2011. *PLoS One.* 2013; 8 (2): e55300.
- Tajadini M, Panjehpour M, Javanmard SH. Comparison of SYBR Green and TaqMan methods in quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of four adenosine receptor subtypes. *Advanced Biomedical Research,* 3, 2014.
- Taskin B. Novel approaches for monitoring viable pathogenic microorganisms in environmental samples. *YYÜ Tar Bil Derg.* 2017; 27 (2): 285-291.

- Temelli S. Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157:H7 ve önemi. Uludağ Üniv J Fak Vet Med. 2002; 21: 133-138.
- Tosun H, Gönül ŞA. *E. coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalarda önemi. Orlab on-line Mikrobiyol Derg. 2003; 1 (10): 10-17.
- Ünsal C. Erzurum Bölgesinde Satışa Sunulan Etlerde *E. coli* O157:H7'nin Varlığının Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi, 2007.
- Varela-Hernández JJ, Cabrera-Diaz E, Cardona-López MA, Ibarra-Velázquez LM, Rangel-Villalobos H, Castillo A, et al. Isolation and characterization of Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 and no O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. Int J Food Microbiol. 2007; 113 (2): 237-241.
- Wang Y, Zhu W, Levy D. Nuclear and cytoplasmic mRNA quantification by SYBR green based real-time RT-PCR. Methods, 2006; 39 (4): 356-362.
- Wasteson Y. Zoonotic *Escherichia coli*. Acta Vet Scand Suppl. 2001; 95: 79-84.
- Watson DE, Li B. TaqMan applications in genetic and molecular toxicology. International Journal of Toxicology, 2005; 24 (3): 139-145.
- Wells JG, Shipman LD, Greene KD, Sowers EG, Green JH, Cameron DN, Downes FP, Martin ML, Griffin PM, Ostroff SM, et al. Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. J Clin Microbiol. 1991; 29 (5): 985-989.
- Willke A. *Escherichia coli* ishallerinde etiyoloji ve patogenez. Ankem Derg. 2008; 22: 188-191.
- Yelboğa E, Karagüler NG. Moleküler biyolojik yöntemler. Aran N, (editör). Gıda Biyoteknolojisi. 2. baskı Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık; p. 50-69; 2012.
- Yılmaz A, Gün H, Turan N. Manda ve Manda Karkaslarında *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının araştırılması. VI. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ, 2004.

Yılmaz A, Gün H, Yılmaz H. Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish cattle. J Food Protect, 2002; 65: 1637-1640.

Zhao T, Doyle MP, Shere J, Garber L. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. Applied And Environmental Microbiology, 1995; 61: 1290-1293.

