



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı**

**SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİNDE *ESCHERICHIA COLI*
O26, O111 ve O157 VARLIĞI, İZOLATLARIN
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI ve
MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Demet ÖZTEKİN**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY**

Yüksek Lisans Tezi

**Mayıs 2019
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİNDE *ESCHERICHIA COLI* O26,
O111 ve O157 VARLIĞI, İZOLATLARIN
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI ve
MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
Demet ÖZTEKİN**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Tarafından TYL-2017-7254 no'lu proje ile desteklenmiştir.**

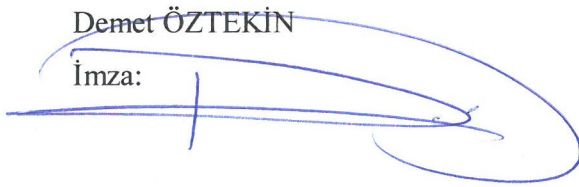
**Mayıs 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

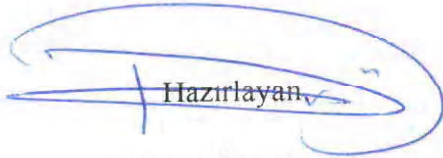
Demet ÖZTEKİN

İmza:



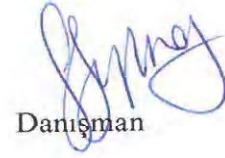
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Süt ve Süt Ürünlerinde *Escherichia coli* O26, O111 Ve O157 Varlığı, İzolatların Antibiyotiklere Duyarlılıkları Ve Moleküler Tiplendirilmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Hazırlayan,

Demet ÖZTEKİN



Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY



Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD Başkanı

Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM

Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY danışmanlığında **Demet ÖZTEKİN** tarafından hazırlanan “Süt ve Süt Ürünlerinde *Escherichia coli* O26, O111 ve O157 Varlığı, İzolatların Antibiyotiklere Duyarlılıkları ve Moleküler Tiplendirilmesi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

02/05/2019

JÜRİ

İmza

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY

.....

(Erciyes Üniversitesi Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD)

Üye : Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

.....

(Erciyes Üniversitesi Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD)

Üye : Prof. Dr. Naim Deniz AYAZ

.....

(Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2019

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

TYL-2017-7254 no'lu projemi destekleyen “Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne”, tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde rehberlik eden, araştırmalarımnda bilgi ve yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY'a, tez dönemim boyunca çalışmalarımı yönlendirmemde bana destek olan Sayın Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN'a, Sayın Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM'a, Sayın Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ'a ve Dr. Öğr. Üyesi Serhat AL'a, çalışmanın laboratuvar aşamalarında katkılarını esirgemeyen anabilim dalı doktora öğrencileri Candan Candemir GÜNGÖR, Adalet DIŞHAN, Hüseyin Burak DİŞLİ, Mukaddes BAREL'e, çalışma sırasında desteklerini esirgemeyen kardeşim Buket ÖZTEKİN'e, eğitim hayatım boyunca yanımda olan anneme ve babama en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Demet ÖZTEKİN

Kayseri, Mayıs 2019

**SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİNDE *ESCHERICHIA COLI* O26, O111 ve O157
VARLIĞI, İZOLATLARIN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI ve
MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ**

Demet ÖZTEKİN

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Mayıs 2019
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY**

ÖZET

Bu tez çalışması; Kayseri ilindeki çiftliklerde üretilen, köy pazarlarında satışa sunulan 100 adet çiğ süt numunesinden ve marketlerde satışa sunulan 100 adet süt ürününden (peynir, tereyağ, yoğurt, kefir, sütlü tatlı) izole edilen *Escherichia coli* O26, O157 ve O111 suşlarının varlığı, izolatların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları ve moleküler tiplendirilmesi amacıyla yapılmıştır.

Süt ve süt ürünlerinde bulunması muhtemel *E. coli*'ler izole edilmiştir. Fenotipik testler ve moleküler identifikasyon testleri (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile izolatlar identifiye edilmiştir. İzolatların serotiplerinin belirlenmesi amacıyla PCR testleri yapılmıştır. İzolatların; nalidiksik asit, siprofloksasin, tetrasiklin, trimetoprim sulfametoksazol, amoksisilin klavulanik asit, neomisin, gentamisin, azitromisin, eritromisin ve sefazolin antibiyotiklerine karşı direnç durumu disk difüzyon testi ve E test ile ortaya konulmuştur. İzolatların moleküler tiplendirilmesi amacıyla Enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC-PCR) yapılmıştır.

Çalışmada izolasyon yapılan örneklerin 88'i; *E. coli* yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir. Yapılan PCR testleri sonucunda 88 izolattan 3'ü *E. coli* O157:H7, 1 izolat *E. coli* O26:H11 yönünden pozitif olarak tespit edilmesine rağmen, *E. coli* O111:H8 serotipi bulunamamıştır. *E. coli* serotiplerine yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonunda sırasıyla eritromisin ve sefazolin %75 dirençli, neomisin ve amoksisilin klavulanik asite %50 dirençli, gentamisin, tetrasiklin ve trimetoprim sulfametoksazol ise %25 dirençli olarak tespit edilmiştir. Ayrıca siprofloksasin ve azitromisin izolatların %100'üne duyarlı bulunmuştur. E test ile disk difüzyon testi sonuçlarının uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Yapılan ERIC-PCR sonuçlarına göre izolatların genetik yönden birbirinden farklı olduğu ortaya konmuştur.

Sonuç olarak; çalışmamızda toplanan numunelerden 88 izolat *E. coli* yönünden pozitif bulunmuştur. Testler sonunda üç izolatın *E. coli* O157:H7 ve bir izolatın da *E. coli* O26:H11 olarak tespit edilmesi sokak sütü kullanımının ya da hijyen kurallarına uyulmadan üretilen süt ürünlerinin halk sağlığını olumsuz yönde etkilemesi açısından önemlidir. Antibiyotik duyarlılık testleri sonunda yüksek derecede direncin bulunması halk sağlığı açısından risk arz etmektedir. Süt ve süt ürünlerinde *E. coli* ve serotiplerinden kaynaklanabilecek hastalıklarla mücadele açısından hijyenik tedbirler uygulanmalı, artan antibiyotik direncin önlenmesi amacıyla antibiyotik kullanımının kontrol altında tutulması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*, çiğ süt, süt ürünleri, antibiyotik direnci, ERIC-PCR.

PRESENCE of *ESCHERICHIA COLI* O26,O111 and O157 in MILK and DAIRY PRODUCTS, ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY and MOLECULAR TYPING of ISOLATES

Demet ÖZTEKİN

**Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Veterinary Food Hygiene and Technology
Master Thesis, April 2019
Supervisor: Associate Prof. Dr. Harun HIZLISOY**

ABSTRACT

This thesis study; aimed to determine the presence of *Escherichia coli* O26, O157 and O111 strains isolated from 100 raw milk samples produced in farms in Kayseri province and 100 milk products (cheese, butter, yogurt, kefir, milky dessert) offered for sale in grocery stores in the markets of Kayseri, to find out the antibiotic resistance profiles and molecular type of isolates.

E. coli are likely to be present in milk and milk products. Phenotypic tests and molecular identification tests (Polymerase Chain Reaction) and isolates were identified. PCR tests were performed to determine the serotypes of the isolates. the isolates; Resistance to nalidixic acid, ciprofloxacin, tetracycline, trimethoprim sulfamethoxazole, amoxicillin clavulanic acid, neomycin, gentamicin, azithromycin, erythromycin and cefazolin antibiotics was demonstrated by disk diffusion test and E test. Enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC-PCR) was used for the molecular typing of the isolates.

Eighty eight of the samples were isolated; It was found to be positive for *E. coli*. As a result of PCR tests, 3 out of 88 isolates were found to be positive for *E. coli* O157: H7 and 1 isolate *E. coli* O26: H11, but *E. coli* O111: H8 serotype could not be found. Antibiotic susceptibility tests on *E. coli* serotypes were found to be resistant to 75% of erythromycin and cefazolin, 50% resistant to neomycin and amoxicillin clavulanic acid, and 25% resistant to gentamicin, tetracycline and trimethoprim sulfamethoxazole. In addition, ciprofloxacin and azithromycin were found to be sensitive to 100% of the isolates. E test and disk diffusion test results were found to be compatible. According to ERIC-PCR results, the isolates were found to be different from each other genetically.

As a result; 88 isolates were positive for *E. coli*. At the end of the tests, detection of three isolates as *E. coli* O157: H7 and one isolate as *E. coli* O26: H11 is important in

terms of adversely affecting the public health of dairy products produced without using street milk or hygiene rules. The presence of a high degree of resistance at the end of antibiotic susceptibility tests presents a risk for public health. Hygiene measures should be applied to combat the diseases that may arise from *E. coli* and serotypes in milk and dairy products and antibiotic use should be kept under control in order to prevent increased antibiotic resistance.

Keywords: *E. coli*, raw milk, dairy products, antibiotic resistance, ERIC-PCR.



İÇİNDEKİLER

SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİNDE *ESCHERİCHİA COLI* O26, O111 ve O157 VARLIĞI, İZOLATLARIN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI ve MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xv
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Süt	2
2.2. Süt Ürünleri	3
2.3. Süt Patojeni Olarak <i>Escherichia coli</i>	4
2.3.1. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	8
2.3.2. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	9
2.3.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	9
2.3.4. Entero-agregatif <i>E. coli</i> (EAggEC/EAEC)	9
2.3.5. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	9
2.4. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	10
2.4.1. <i>E. coli</i> O157:H7 Epidemiyolojisi	11
2.4.2. <i>E. coli</i> O157:H7 Teşhis Yöntemleri	12
2.5. <i>Escherichia coli</i> O26:H11	13
2.6. <i>Escherichia coli</i> O111:H8	13
2.7. Antibakteriyeller ve Direnç Mekanizmaları	14
2.7.1. Etki Mekanizmaları	14
2.7.2. Direnç Mekanizmaları	16
2.7.2.1. Doğal direnç	16
2.7.2.2. Kazanılmış direnç	16

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	18
3.1. Gereç	18
3.1.1. Süt ve Süt Ürünü Örnekleri.....	18
3.1.2. Çiğ Sütlerden <i>Escherichia coli</i> O26, O157 ve O111 İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplementler ve Diğer Kimyasallar	18
3.1.2.1. <i>Escherichia coli</i> Broth	19
3.1.2.2. Eozin Metilen Blue Agar	19
3.1.2.3. Sorbitol-MacConkey Agar	20
3.1.2.4. Kanlı Agar	20
3.1.2.5. Mueller Hinton Agar.....	21
3.1.2.6. Gliserinli Brucella Broth.....	21
3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İşleminde Kullanılan Sarf Malzemeler	22
3.1.4. Antibiyotik Duyarlılık Testinde Kullanılan Malzemeler.....	22
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Özenleştirme.....	22
3.2.2. Fenotipik İdentifikasyon Testleri	23
3.2.3. Moleküler İdentifikasyon.....	23
3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu.....	23
3.2.3.2. <i>E. coli</i> 'nin Moleküler Yöntemle İdentifikasyonu.....	24
3.2.3.3. <i>E. coli</i> O157:H7 PCR ile Doğrulanması.....	24
3.2.3.4. <i>E. coli</i> O26:H11 PCR ile Doğrulanması.....	25
3.2.3.5. <i>E. coli</i> O111:H8 PCR ile Doğrulanması.....	25
3.2.4. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PCR ile Moleküler Tiplendirme.....	26
3.2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	26
3.2.5.1. Disk Difüzyon Testleri.....	26
3.2.5.2. E (Epsilometer) Test.....	27
4. BULGULAR	28
4.1. Fenotipik Test Sonuçları.....	28
4.2. <i>E. coli</i> Serotiplerinin PCR ile Tespiti.....	28
4.2.1. ERIC-PCR Sonuçları.....	29
4.3. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları.....	30

4.3.1. Disk Difüzyon Testleri Sonuçları.....	30
4.3.2. E (Epsilometer) Test Sonuçları.....	31
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	33
6. KAYNAKLAR	37
EKLER	
ÖZ GEÇMİŞ	



KISALTMALAR ve SİMGELER

MIK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
UHT	Ultra Yüksek Isı
Subsp	Alt tür
LT	Labil Toksin
ST	Stabil Toksin
VT1	Verotoksin 1
VT2	Verotoksin 2
O	Somatik-O-Antijeni
H	Flagellalar-H-Antijeni
K	Kapsüller-K-Antijeni
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvansiv <i>Escherichia coli</i>
EAEC	Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EHEC	Enterohemorejik <i>Escherichia coli</i>
STEC	Shiga Toksin Üreten <i>E.coli</i>
VTEC	Verotoksin Üreten <i>E.coli</i>
PCR/PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
EMB	Eozin Metilen Blue
ONPG	Orto Nitrofenol beta D-galaktopronosid
DNaz	Deoksiribonükleaz
HC	Hemorojik Kolit
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura

GUSA	Gold Labelled Immuno Sorbent Assay
MLST	Çoklu Odak Dizilimi ile Tiplendirme
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
MLVA	Çoklu Odak Dizilimi- Sayı Tandem- Tekrarlı Analiz
STx	Shiga Toksin
SMAC	Sorbitol-MacConkey Agar
ERIC	Enterobakteriyel Tekrarlayan İntergenik Konsensüs
RNaz	Reoksiribonükleaz
kob	Koloni oluşturan birim
g	Gram

TABLOLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. İçme Sütünün Bileşimi	2
Tablo 2.2. <i>E. coli</i> 'nin Beş Farklı Alt Grubunun Karakteristik Özellikleri.....	7
Tablo 2.3. Antibiyotiklerin Etki Mekanizması.....	16
Tablo 3.1. Çalışma Kapsamında Alınan Örnek Çeşitleri ve Numune Sayıları	18
Tablo 3.2. <i>Escherichia coli</i> Broth İçeriği.....	19
Tablo 3.3. Eozin Metilen Blue Agar İçeriği.....	19
Tablo 3.4. Sorbitol-MacConkey Agar İçeriği.....	20
Tablo 3.5. Blood Agar Base No: 2 İçeriği.....	20
Tablo 3.6. Mueller Hinton Agar İçeriği	21
Tablo 3.7. Gliserinli Brucella Broth İçeriği.....	21
Tablo 3.8. PCR İşleminde Kullanılan Sarf Malzeme Listesi	22
Tablo 3.9. Çalışmada Kullanılan Primerlerin Dizilimleri.....	24
Tablo 4.1. Süt ve Süt Ürünlerinden <i>E. coli</i> İzolasyon Sonuçları.....	28
Tablo 4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile İdentifikasyon Sonuçları	29
Tablo 4.3. <i>E. coli</i> İzolatlarının Disk Difüzyon Sonuçları.....	31
Tablo 4.4. <i>E. coli</i> İzolatlarının MİK Düzeyleri	32

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 4.1. <i>E. coli</i> 'nin %1.5'lik agoroz jeldeki görüntüsü.	29
Şekil 4.2. <i>E. coli</i> O157:H7 % 1.5'lik agoroz jeldeki görüntüsü için pozitif örnekler..	29
Şekil 4.3. <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>E. coli</i> O26:H11 izolatlarının %2'lik agoroz jeldeki ERIC-PCR band paternleri.....	30
Şekil 4.4. Kanlı agarda yapılan disk difüzyon testi ve oluşan inhibisyon zonu	31



1.GİRİŞ ve AMAÇ

Escherichia coli, insan ve hayvanlarda kontamine gıda ya da suyun tüketilmesine bağlı olarak çeşitli hastalıklara neden olan Gram negatif, fakültatif anaerob bir bakteridir. Bu bakterinin neden olduğu hastalıkların tedavisinde değişik antibiyotikler kullanılmaktadır. Son yıllarda, birçok *E. coli* serotipinin, çok sayıda antimikrobiyale karşı direnç geliştirdiği gözlenmiştir. Dodgeon ve arkadaşları tarafından ilk kez 1921 yılında *E. coli* suşları arasında bağlantı olduğu bulunmuştur. Daha sonra 1937’de Lowel, *E. coli*’nin somatik ve kapsül olmak üzere iki tür antijeni olduğunu ileri sürmüştür. Kaufmann ise 1943 yılında flagella antijenini göstermiştir. Buna göre *E. coli*’de 80 kapsül K antijeni, 56 flagella H antijeni ve 174 somatik O antijeni saptanmıştır. Bu serotipler arasında O26, O157 ve O111 suşları shiga-toksin üreten *E. coli* (STEC)’ler olarak bilinmektedir. Shiga-like toksin üreten *E. coli*’ler önemli gıda patojenleri olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışma ile;

- a) Süt ve süt ürünlerinde *E. coli* serotiplerinin (O26, O111, O157) varlığının ortaya konması,
- b) İzole ve identifiye edilmiş *E. coli* serotiplerinin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının ve antibiyotiklere karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) düzeylerinin belirlenmesi
- c) İzolatlar arası genetik ilişkilerin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Süt

Süt; bütün memeli hayvanların doğum sonrasında meme bezlerinde oluşturdukları biyolojik sıvı olarak tanımlanmıştır. Ayrıca; Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'nde içme sütü, "çiğ sütün; pastörizasyon, yüksek sıcaklıkta pastörizasyon, UHT veya sterilizasyon işlemlerden biri uygulanarak elde edilen ve başka bir işleme maruz kalmadan tüketime sunulan süt" şeklinde ifade edilmiştir (T.C. Resmi Gazete, 27 Şubat 2019, sayı: 30699).

Tablo 2.1. İçme Sütünün Bileşimi (T.C. Resmi Gazete, 27 Şubat 2019, sayı: 30699)

	*% Protein (m/v, en az)	% Süt Asitliği (m/v, en az)	Yoğunluk (m/v, en az)	%Yağsız Kuru Madde (m/v, en az)
İnek Sütü	2.9	0.135-0.20	1.028	8.0
Koyun Sütü	4.0	0.16-0.35	1.030	11.0
Keçi Sütü	2.9	0.15-0.28	1.026	8.0
Manda Sütü	5.5	0.14-0.22	1.028	8.0

*% Protein m/v, en az (N×6.38)

Süt, beslenmemizde önemli bir yere sahip olan temel besin maddelerimizden biridir. Buna karşılık birçok mikroorganizmanın üremesi için iyi bir ortam oluşturmaktadır. Süt memede olduğu dönemde sterildir. Sağım sırasında ve sağım sonrasında çeşitli aşamalarda mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır (Akan, 1992). Yapılan bazı çalışmalarda ise; süt memede iken az sayıda ancak insanda hastalık etmeni olmayan mikroorganizmaları içerdiği gösterilmiştir (Altun ve ark., 2002).

Memeden süt sağıldığı zaman mikrobiyotası ne olursa olsun üç aşamada mikroorganizmalar ile karşılaşabilmektedir. Süt önlem alınmadığı durumlarda meme kanalı, meme başları, meme lobunda kontamine olabilmektedir. Hayvandan gelen

etmenler, sağım malzemeleri ve tüketicilere ulaşıncaya kadar ki her aşama, sütün kontaminasyonuna neden olabilmektedir (Frank, 1997).

Sütte; *Salmonella* spp., *Brucella abortus*, *Staphylococcus* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Escherichia coli*, Laktobasiller, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus calidolaktis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas lipolyticum*, *P. fluorescens*, *Micrococcus* spp., *Pseudomonas synchyanea*, *Serratia marcescens*, *Alcaligenes* spp., *Flavobacterium* spp. *Acinetobacter* spp. gibi mikroorganizmalar bulunmaktadır (Akan, 1992).

Çiğ sütte, patojen mikroorganizmaların hiçbir koşulda bulunmaması gerekmektedir. A grubu streptokoklar, *Staphylococcus aureus*, *B. abortus*, riketsiyalar, A grubu streptokoklar, *M. tuberculosis*, *Salmonella* spp. ve enterokoklar enfekte sütte bulunabilen mikroorganizmalardır (Akan, 1992).

2.2. Süt Ürünleri

Süt ve süt ürünleri insan beslenmesinde önemli bir yere sahip besin grubudur. Süt ve süt ürünleri peynir, yoğurt, tereyağı, kefir ve süt tozu gibi süttten yapılan besinlerden oluşmaktadır (Ünal, 2008).

Türk Gıda Kodeksine göre peynir; “ ham maddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması, pıhtıdan peynir altı suyunun pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, yağ içeriklerinde ve farklı sertliklerde, kuru tuzlamayla ya da salamurayla tuzlanarak ya da tuzlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz olarak, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, starter kültür kullanarak ya da starter kültür kullanmadan, tekniğe uygun olarak üretilen, olgunlaşmadan ya da olgunlaşmadan sonra tüketilen çeşidine özgü tüm karakteristik özellikleri gösteren tüm süt ürünleridir “ (T.C. Resmi Gazete, 08 Şubat 2015, sayı: 29261).

Türk Gıda Kodeksine göre yoğurt; “ *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin laktik asit fermentasyonu ile meydana gelen bir süt ürünüdür “ (T.C. Resmi Gazete, 16 Şubat 2009, sayı: 27143).

Başka bir tanımla yoğurt; manda sütü, keçi sütü, koyun sütü, inek sütü veya karışımlarının pastörize edilmesi veya pastörize sütün süt tozu ilavesiyle homojenize

edilip veya edilmeden *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*'dan oluşan yoğurt kültürünün ilave edilmesi ve yapıma uygun işlemlerden geçirilmesiyle elde edilen mamuldür (Türk Standartları Enstitüsü TS 10935, 1993).

Kefir tanelerinin süte ilave edilmesiyle elde edilen kefir; alkolik ve asidik fermentasyonların birlikte olduğu bir süt ürünüdür (Karagözlü ve Kavas, 2000).

Kefirin Güneybatı Asya' da Türkler tarafından yapıldığı, asit ve alkol fermentasyonlarıyla meydana gelen ekşi, köpüklü ve hafif alkollü bir süt içkisi olduğu belirtilmektedir. Kafkasya' da "Kyppe" adı verilen; peynir altı sularından, yağlı veya yağsız süttten (koyun, inek, kısırak, keçi) yapıldığı bilinmektedir (Karagözlü ve Kavas, 2000).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde kefir, “ fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus* kefiri, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullıldığı fermente süt ürünleri” şeklinde ifade edilmektedir (T.C. Resmi Gazete, 06 Şubat 2009, sayı: 27143).

Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği'nde tereyağını “ ağırlıkça en az %80, en fazla %90 oranında süt yağı, en fazla %2 oranında yağsız süt kuru maddesi ve en fazla %16 oranında su içeriğine sahip süt ürünü” olarak tanımlanmaktadır (T.C. Resmi Gazete, 12 Nisan 2005, sayı: 25784).

2.3. Süt Patojeni Olarak *Escherichia coli*

Escherichia coli, Theodor Escherich tarafından ilk olarak 1885 yılında tanımlanmıştır. Önceleri *Bacterium coli commune* olarak bilinen bu mikroorganizma daha sonra *Escherichiacoli* olarak adlandırılmıştır. Bu bakteri, uzun yıllar insanlar ve sıcakkanlı hayvanlar ile kuşların normal bağırsak mikrobiyotasında bulunan ve patojen olmayan fakültatif bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir (Halkman, 2013). Ancak, 1920'li yıllarda üriner sistem enfeksiyonlarına ve 1940'lı yıllarda da çocuklarda gastroenteritise sebep olduğu belirlenmiştir (Fratamico ve Smith, 2005). Yapılan araştırmaların artmasıyla, enteritis, ürogenital enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları, mastitis, sepsis ve

meningitis gibi hastalıkların patojenik etkenleri arasında da bulunduğu anlaşılmıştır (Wasteson, 2002).

E. coli insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminde bulunan predominant fakültatif anaerob olarak bilinen Gram negatif bir basildir. Bu organizmalar genellikle konak hücreye zarar vermeden, doğumdan itibaren bebeklerin gastrointestinal sistemlerinde kolonize olmaktadır (Drasar ve Hill, 1974). Tipik mezofilik bakteri olan *E. coli* 7-45° C'ler arasında ürer. Sıcaklığa direnç göstermez. Etken uzun süreli soğuk ve donmuş muhafaza ortamında canlılığını korur. *E. coli*'nin optimal pH değeri nötre yakın olmakla birlikte diğer koşulların uygun olması halinde pH 4.4 gibi oldukça asidik değerlerde üreyebilir (Erol, 2007).

E. coli nedeniyle oluşan hastalık salgınları binlerce kişiyi etkileyebilmekte ve uluslararası düzeye ulaşabilmektedir (Kaper ve Karmali, 2008).

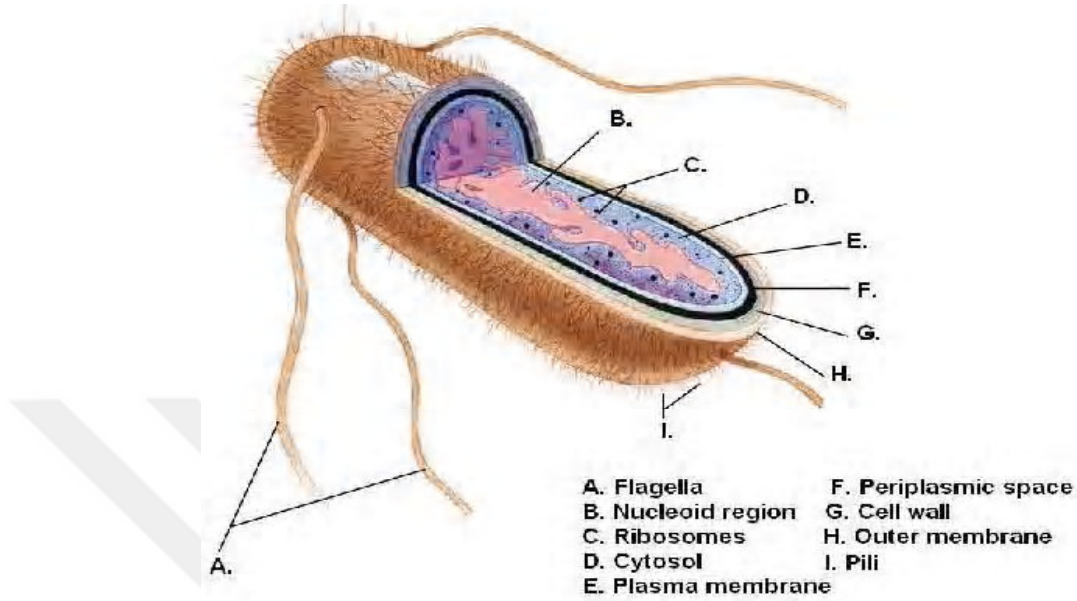
E. coli, sıcakkanlı hayvanların ve insanların gastrointestinal kanalında bulunur (Huang ve ark., 2016). Birçok *E. coli* serotipi barsaklarda kommensal bir yaşam sürer ve dışkıda 10⁶-10⁹ kob/g düzeylerindedir. Diğer *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleriyle birlikte bağırsaktakizararlı mikroorganizmalara karşı bağırsağın ve vücudun immun sisteminin düzenlenmesinde rol oynar (Meng ve Schroeder, 2007).

E. coli'nin bazı suşları enterotoksin oluşturur. Bunlar ısıya dayanıksız olan labil toksin (LT), diğeri ise ısıya dayanıklı olan stabil toksin (ST)'dir. Her iki toksin bir arada ya da ayrı ayrı bulunabilir (Wearatna ve Doyle, 1991).

Üzerinde en fazla çalışılan toksinlerden olan ve Afrika yeşil maymununun böbrek hücrelerinden hazırlanan böbrek hücre kültürlerine (vero cells) toksik etki yaptıkları için verotoksin olarak bilinen, verotoksin I (VT I) ve verotoksin II (VT II) enterotoksinleridir (Wearatna ve Doyle, 1991).

Besin kaynaklı *E. coli* enfeksiyonları farklı patojenik özellikleri, antijenleri ve epidemiyolojilerine göre sınıflandırılarak incelenir. İlk serotiplendirme tablosunun Kaufman tarafından, somatik (O), flagellar (F) ve kapsüller (K) şeklinde geliştirildiği ifade edilmektedir. Bu sistemde, 167 O antijeni, 53 H antijeni ve 74 K antijeni

tanımlanmıştır. Birçok suşun identifikasyonu için O ve H antijenlerinin belirlenmesi yeterlidir (Erol, 2007).



Resim 2.1. *E. coli* bakterisi ve organellerinin şematik görüntüsü

(<http://www.thinglink.com/scene>, Erişim tarihi: 14 Nisan 2019)

Patojenik *E. coli* türleri alt grublara ayrılmaktadır. Bunlar; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvansiv (EIEC), enteroagregativ (EAEC) ve enterohemorajik (EHEC) *E. coli*'dir. EHEC, shiga-toksin üreten *E. coli* (STEC) ve verotoksin üreten *E. coli* (VTEC)'dir (Huang ve ark., 2016).

EPEC grubundaki serotipler başlıca, O111, O111ab, O114, O142, O26, O55, O86, O119, O125, O125ac, O126, O127, O158, O18ab, O18ac, O44, O128ab antijenlerine sahiptir. EPEC, diyareye sebep olan en eski *E. coli* olarak bilinir. EPEC serotiplerinin başlıca virulens faktörü, adherens özelliğine sahip olmasıdır. Shiga-toksin üretmez. Gelişmekte olan ülkelerde, yeni doğanlarda şiddetli diyareye ve bir yaşın altındaki çocuklarda şiddetli yaz ishaline sebep olur. EPEC enfeksiyonunda sulu diyare, kusma ve düşük ateş eşlik eder (Meng ve Schroeder, 2007).

Tablo 2.2. *E. coli*'nin Beş Farklı Alt Grubunun Karakteristik Özellikleri (Halkman, 2013)

Patotip	Virülans Determinantları	Adezyon ve İnvazyon Özellikleri	Hastalık ile İlişkisi
Enterotoksijenik <i>E.coli</i> (ETEC)	Isı-labil (LT) ve Isı-stabil(ST)enterotoksin	Adeziv ve noninvaziv	Seyahat ishali, Bebek ishali
Enteroinvaziv <i>E.coli</i>(EIEC)	Plasmid kodlanmış dış membran invazinleri vetoksinleri	Kolon hücrelerinde invazyon	<i>Shigella</i> benzeri dizanteri
Enteroaggregatif <i>E.coli</i> (EAEC)	Enteroaggregatif ısıya dayanıklı enterotoksin (EAST); agregatif adherens fimbria	Kümeler halinde adezyon	Mukoidishal, Sulu ishal
Enteropatojenik <i>E.coli</i> (EPEC)	Yalancı pili oluşumu; kromozomal patojenite ada ürünleri (LEE)	Kümeler halinde adezyon A/E lezyon oluşumuna yol açmakta	Az gelişmiş ülkelerde bebekishali
Enterohemorajik <i>E.coli</i> (EHEC, STEC),	Shigasitotoksin; LEEpatojenite ada ürünleri.	Yüksek derece adeziv, Non-invaziv	Kanlı ishal, Hemorajik kolitis (HC), Hemolitik Üremik Sendrom(HUS)

ISO 13136:2012, beş ana EHEC serotipinin tespiti için moleküler yöntemlerin gerekliliğinden bahsetmektedir (Wearatna ve Doyle, 1991). Bu yöntemle, Stx ve eae genlerinin varlığı, PCR analizi ile gösterilmektedir. *E. coli* izolatlarında EHEC ile ilişkili genlerin varlığı PCR ile teyit edilmelidir. (<https://www.iso.org/standard> Erişim tarihi: 12 Mayıs 2019).

E. coli O157:H7; çubuk şeklinde, hareketli, fakültatif anaerob özellikte, Gram negatif, 30-42° C'ler arasında pH 7.2'de üreyebilen bir bakteridir. Bu bakteri asidik ortama karşı ve donma sıcaklığına karşı dirençlidir ve % 6.5 NaCl içeren ortamda gelişebilmektedir (Kundakçı ve ark., 1991). Buna karşın *E. coli* O157:H7'nin, yüksek ısı ve ışınlama işlemi uygulamalarına direnç gösteremediği bildirilmektedir (Kundakçı ve ark., 1991).

E. coli; jeloz ve buyyon gibi zenginleştirilmiş besiyerlerinde, peptonlu suda fakültatif anaerob olarak ürer. Optimal üreme 37° C'de, nötral pH durumunda olur. Ancak; pH 5-8 sınırlarında ve 18-44.5° C arasında daha yavaş ürer. Laktozu fermente eden

bakterilerden ayırt edilebilmesi için 44° C' de laktozu fermente edebilmesi ve indol oluşturmaya gerekmektedir (Erdem, 1999). Bazı *E.coli* suşları besiyerlerinde yavaş ürer. Katı besiyerlerinde 24 saatte ortası kalkık, 2-3 mm çapında, düzgün kenarlı S koloniler oluştururlar. Sıvı besiyerlerinde ürediğinde; homojen bulanıklık meydana getirir (Töreci, 2002). MacConkey agar besiyerindeki safrayı presipite ederek ve laktozu fermente ederek kırmızı renkte koloniler oluşturur. Eosin Methylen-blue (EMB) agar besiyerlerinde laktozu fermente ederek metalik refle veren yeşil siyah koloniler yapar (Erdem, 1999).

E. coli'nin önemli biyokimyasal özelliklerinden biri; eritrol, sellobioz, inositol, D-arabitolü fermente edememesidir. L-ramnoz, maltoz, laktoz, trehaloz, L-arabinoz, D-mannitol, D-sorbitol ve D- mannozu fermente edebilmektedir. Glikozdan gaz ve asit oluşturur. *E. coli*'nin glikozdan gaz oluşturmayan, laktozu fermente etmeyen, hareketsiz suşları inaktif suşlar olarak kabul edilir. Bu suşlar birçok özellikleri ile *Shigella* cinsine benzerlik göstermektedir (Bilgehan, 2000).

E. coli ısıya dirençli bir bakteri olup, uygun ortamda bulunduğu 30 dakikada 60° C sıcaklıkta uzun süre canlı kalabilmektedir. Ayrıca 8° C'ye kadar olan sıcaklıklarda canlılığını koruyabilmektedir. *E. coli*, dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Selenit tuzları, safra tuzları, fuksin, sodyum sülfat, sodyum deoksikolat, malaşit yeşili, sodyum tetrasyonat, brillant yeşili, bizmut sitrata karşı daha az dirençli olmasından dolayı *Shigella* spp. ve *Salmonella* spp. gibi bakterilere selektif besiyerleri geliştirilmiştir (Bilgehan, 2000).

2.3.1. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

EPEC'lerin enfeksiyon yeteneğinin toksinlerle bir ilgisi yoktur. İyi dezenfekte edilmiş ortamlarda yaygın bir şekilde bulunmaz. Başlıca rezervuarı insanlardır. Kontaminasyon kaynakları gıda sektöründe çalışan insanlar ve kanalizasyon sularıdır. İnsanlar arasında taşıyıcılık yüksek olmasına karşın bağışıklık kazanıldığında hastalık ender görülür. Etken bağırsak mukozasına tutunarak kolonize olur. Başta invazyon oluşturmada mikrovilleri tahrip eder. Buna bağlı olarak sulu ve kanlı ishal gelişir. Yetişkinlere oranla bebeklerde daha çok görülen hastalıkta ateş yüksektir (Davies, 1999).

2.3.2. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

ETEC kaynaklı enfeksiyonlar, hijyen standartlarının düşük olduğu ülkelere gelen turistlerde görülür (Karapınar ve Gönül, 1998). Turist ishalinin en yaygın sebeplerindendir. Enfekte kişiler ve atık sular, gıda kontaminasyon kaynağıdır. Etken vücuda alındıktan sonra bağırsak mukozasındaki hücrelere yerleşerek yapışır. Mikroorganizma bağırsağa tutunma ve kolonizasyon için özel bir fimbriaya sahiptir. Etken ısıya dirençli (ST) ve dirençsiz (LT) protein yapısında toksinlere sahiptir ve 60°C'de 30 dakikada inaktif olur. Biyojenik ve antijenik olarak *Vibrio cholerae* toksiniyle yakından ilişkilidir (Karapınar ve Gönül, 1998). Hastalık oluşabilmesi için çok sayıda etkenin vücuda alınması gerekir. İnkübasyon süresi 8-44 saat olup hastalık 24-30 saat sürmektedir ve pirinç suyu görünümünde sulu diyare ve dehidrasyon hastalığın tipik bulgularındandır (Whipp ve ark., 1994).

2.3.3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC suçları, genelde laktoz negatif veya geç pozitif ile hareketsiz olma gibi atipik özelliklere sahiptir. Etken doku hücrelerinin içine girip çoğalır ve oluşturduğu enfeksiyon *Shigella* bakterisinin yaptığı dizanteriye benzemektedir (Kundakçı ve ark., 1991). İnkübasyon süresi 8-44 saattir. Etken kalın bağırsakta epitel hücrelerinde çoğalarak mukozanın yangısına ve ülserleşmesine sebep olur. Hastalık 20-30 saat sürer. Klinik olarak ateş, titreme, üşüme, abdominal kramplar, dizanteri görülür. Dışkı mukuslu ve kanlıdır (Hudson ve ark., 2000).

2.3.4. Entero-agregatif *E. coli* (EAaggEC/EAEC)

EAagg *E. coli*'ler, özellikle çocuklarda görülen akut ve uzun süreli ishalin en önemli sebebidir. EAEC suşunun bağırsak epitel hücrelerine kümeler halinde yapışması karakteristiktir. EAEC bağırsak mukozasına (plazmid tarafından kodlanan) kümeler halinde fimbria ile yapışır. Bu yapışma mukus oluşumunu, inflamasyona bağlı olarak mukozal toksisiteyi ve sitokin salınımını artırır (İzgür, 2002).

2.3.5. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

EHEC, hastalık oluşturma dozunun çok düşük olması nedeniyle, tüm dünyada enfeksiyonlara neden olan global bir sorundur (Arslan, 2008).

EHEC, hemolitik üremik sendrom (HUS), trombotik trombositopenik purpura (TTP) ve hemorajik kolik (HC) gibi hastalıklara neden olmasından dolayı, *E. coli*'nin diğer suşlarından daha tehlikelidir. Bazen kusma, bağırsaklarda çok seyrek abdominal ağrı, kan görülmektedir. Bu durum shigellozise benzese de ateş ender görülür. Hastalık iki, dokuz gün sürebilir, ortalama dört gündür. Enfekte hastalar genellikle komplikasyon oluşturmada iyileşir. Fakat çocuklarda bazen birkaç gün içinde HUS gibi sistemik komplikasyonlar oluşabilir. Yaşlılarda ise HUS'a ya da TTP'ye sebep olabilir. EHEC' le kontamine et ürünlerinin az pişmesi ve yine kontamine süt ürünlerinin pastörize edilmemesi ile insana bulaşır (Nataro ve Kaper, 1998). EHEC, enterohemolizin ve sitotoksin (verotoksin veya sigatoksin) üretir. Bu sitotoksinler bağırsaktaki mikrovillüslerde tutunma ve bozulma lezyonlarına neden olur (Karmali ve ark., 1983).

2.4. *Escherichia coli* O157:H7

Escherichia coli O157:H7, EHEC grubu içinde yer alan gıda kaynaklı bir patojendir. *E. coli* O157:H7'nin isimlendirilmesi 7 adet (H) antijenine ve 157 adet (O) antijenine sahip olmasını temsilen yapılmıştır (Thorns, 2000).

E. coli O157:H7 insanlarda; hemorajik kolit (kanlı diyare), trombotik trombositopenik purpura ve hemolitik üremik sendroma (böbrek yetmezliği) neden olmaktadır (Eklund, 2005). *E. coli* O157:H7 serotipi ilk defa Kaliforniya'da ağır kanamalı ishal geçiren bir kadın hastadan 1975 yılında izole edilmiştir (Özbaş ve Aytaş, 1995). Yapılan araştırmalarda; salgının yeterli ısı işlemi uygulanmamış hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklandığı ortaya çıkmıştır. Bu vakalardan elde edilen izolatların diğer *E. coli* serotiplerinden farklı olduğu; EIEC gibi invaziv olmadığı, ETEC gibi enterotoksin üretmedikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu serotipin oluşturduğu hastalığın semptomlarının EPEC'ten farklı olduğu saptanmış ve bu serotip, enterohemorajik EHEC olarak adlandırılmıştır (Coşansu ve Ayhan, 2000). Bu vakalardan hemen sonra benzer vakalar ABD haricinde Çin, Kanada, Meksika, Arjantin, İngiltere, Belçika gibi ülkelerde de görülmüştür. Japonya'da 1996'da ölümle sonuçlanan salgının etkeninin de *E. coli* O157:H7 olduğu tespit edilmiştir (Pedritis ve ark., 2002). ABD'de sadece 1982 ile 1992 yılları arasında 17 enterohemorajik EHEC salgını görüldüğü, daha sonra ortaya çıkan 68 *E. coli* O157:H7 salgını vakası kaynağının, %32.4' ünün sığır kıyması,

%2.9'unun kızarmış sığır eti, %2.9'unun ise çiğ süt olduğu bildirilmiştir (Park ve ark.,1999).

2.4.1. *E. coli* O157:H7 Epidemiyolojisi

E. coli O157:H7 serotipi başta sığırlar olmak üzere koyun, köpek gibi memeli ve kuş gibi kanatlı hayvanların dışkıları ile toprağa, suya, ete ve süte yayılmaktadır. *E. coli* O157:H7, havanların dışkıları ile kontamine olmuş, yeteri kadar ısı görmemiş yeteri kadar ısı görmemiş ya da çiğ hayvansal besinlerin tüketilmesi ile bulaşmaktadır (Caprioli ve ark., 2005). *E. coli* O157:H7'nin bulaşmasında başlıca rezervuarlar sığırlar olmasına rağmen kanatlı ve domuz etleri de *E. coli* O157:H7 için rezervuardır. Salgınlarda önemli rol oynayan etmenlerden biri de sığır dışkısı ile kontamine olan bitkisel ürünler ve içme sularının tüketilmesidir. Bulaşma da hayvanlarla direkt temas kadar insandan insana nakil de önemli rol oynamaktadır (Maluelle, 2000). *E. coli* O157:H7, göçmen kuşların sindirim biotalarında yaşayabilmekte, uzun süre dış ortamda ve toprakta canlı kalabildikleri için uzak bölgelerde rahatlıkla yayılabilmektedir (Alişarlı ve Akman, 2004).

Mevsim, coğrafi bölge, hayvanın yaşı, hayvanın cinsiyeti, hayvanın türü ve hayvanın beslenme şekli gibi faktörler *E. coli* O157:H7'nin prevalansını etkilemektedir. Ayrıca; etkenin prevelansı, sığırlarda ve koyunlarda, yaş durumu, beslenme ve mevsime göre değişkenlik göstermektedir (Chapman ve Ashton, 2003).

E. coli O157:H7'nin et ve et ürünlerine bulaşmasında en önemli faktör kesimhane şartlarıdır. Kesim hijyenine uygun olmayan çalışma koşulları, kesim anında ve sonrasında, etin işlenmesi ve depolanması sırasında hijyen kurallarına uyulmaması, etkenin son ürüne bulaşmasını kolaylaştırmaktadır (Chapman ve Ashton, 2003). Kesimhanelerde özellikle derinin yüzülmesi ve iç organların çıkarılması aşamalarında da et kontamine olabilmektedir. Bu durumun halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaması için, etin parçalanması ve etin kıyılması esnasında yüzeyden iç kısımlara geçen bakteri için yeterli miktarda ısı işlem uygulanmalıdır (Tosun ve Aktuğ, 2003).

E. coli O157:H7, bir süre pH 4.5-5.5 değerlerinde kalırsa, aside karşı direnç geliştirmekle beraber; dondurulmuş, soğukta saklanan, düşük su aktivitesine sahip ürünlerde ve asidik gıdalarda adapte olabilmekte ve uzun süre canlılığını

sürdürmektedir. Bu durum insanlara *E. coli* O157:H7 bulaşını kolaylaştırmaktadır (De Boer, 1998).

2.4.2. *E. coli* O157:H7 Teşhis Yöntemleri

E. coli O157:H7'nin gıdalarda bulunmaması gerekmektedir. Bu nedenle gıdalarda olup olmadığını belirlemek amacıyla; selektif katı besiyerlerine sürme, biyokimyasal identifikasyon, selektif zenginleştirme, serolojik yöntemlerle doğrulama yöntemi uygulanmaktadır (Chapman, 2003). *E. coli* O157:H7'nin teşhisi standart prosedür teşhis ve izolasyonuna yönelik çok çeşitli teknikler olmasına rağmen, izolasyon amaçlı uygulanan kombine yöntemlerin hiç birisinin %100 duyarlı olmadığı bildirilmektedir (Chapman, 2003). İncelenecek örneklerin taze ve en kısa zamanda soğuk incirle laboratuvara ulaştırılmış olmasının izolasyon şansını arttırdığı belirtilmektedir (Okrend ve ark., 1990). *E. coli* O157:H7'nin tespit edilmesini, olumsuz sonuçlar alınabilmesini önlemek amacıyla moleküler, serolojik ve enzimatik yöntemler kullanılmaktadır (Chapman, 2003).

Gold Labelled Immuno Sorbent Assay (GLISA) testi; *E. coli* O157:H7 izolatlarının serolojik özelliklerini belirlemek için kullanılmakla birlikte bu tarama testi immün akış prensibine dayanılarak geliştirilmiş, gıdalarda *E. coli* O157:H7'nin aranması ve doğrulanması için kullanılmaktadır (Hudson ve ark., 2000).

E. coli O157'nin varlığını tespit edebilmek için Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) testi kullanılmaktadır. *E. coli* O157'nin tespiti için hızlı ve güvenilir olduğundan gerekli zamanı önemli bir şekilde azaltır. Enfekte olmuş hastaların belirlenmesinde ELISA uygulamaları ve nötralizasyon testleri duyarlı değildir. Sandwich ELISA, selektif zenginleştirme kültürü yüksek düzeydeki duyarlılığı spesifikliğı ve hızlı olmasının yanında bu işlem rutin mikrobiyolojik kontroller için kolay ve uygun bir yöntemdir (Chapman ve Ashton, 2003). Et ve tavuk ürünlerinden *E. coli* O157:H7 izolasyonu için bulunan “reactive disc blot” ELISA sisteminin kullanıldığı tarama yöntemi *E. coli* O157 antijen için tasarlanmıştır (Tosun ve Aktuğ, 2003).

2.5. *Escherichia coli* O26:H11

Escherichia coli O26, dünya çapında ikinci en önemli enterohemorajik *E. coli* (EHEC) serogrubudur (49). Amerika Birleşik Devletleri'nde enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) O157: H7, Amerika'da son iki yılda gıda kaynaklı salgınların çoğuna neden olmuştur (Rangel ve ark., 1982).

Ancak, O157 olmayanlar arasında: H7 EHEC suşları, Shiga toksin üreten *E. coli* O26: H11 / H⁻ (STEC), Amerika Birleşik Devletleri'nde (Scallan ve ark., 2011) ve dünyadaki EHEC gıda kaynaklı enfeksiyonların ikinci en yaygın nedenidir (Chase-Topping ve ark., 2012).

STEC O26, insanlarda hafif diareye, hemorajik kolite (HC), bazı durumlarda hemolitik-üremik sendroma (HUS) yol açan çok çeşitli enfeksiyonlara neden olabilir (Bugarel ve ark., 2011). Patojenik O26 suşları iki ana gruba ayrılır: enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterositlerin etkilediği, hafif ishalin neden olduğu hemorajik kolite (HC) ve HUS gibi daha ciddi sonuçlardan sorumludur (Jenkins ve ark., 2008).

EPEC O26 ayrıca iki alt gruba ayrılmıştır. Bir alt grup, O26 EHEC için çoğu virülans markeri (bir geni taşıyan bir EHEC virülans plazmidi, ehxA, bir enterohemolizini kodlayan dahil) taşır. Bu alt gruba EHEC benzeri O26 (veya atipik EPEC O26) adı verilmiştir. Ayrıca, çoklu odak dizilimi (MLST) ile belirlenen aynı dizi tipine (ST) ve bazı O26 EHEC suşları ile aynı çoklu odak değişken-sayı tandem-tekrarlı analiz (MLVA) profillerine sahiptirler (Leomil ve ark., 2005). Atipik EPEC O26'nın, bir Shiga-toksini (STX) üreten fajı (STX) üreten fajın edinilmesi yoluyla yüksek derecede patojenik bir klon (EHEC O26) haline geldiğine inanılmaktadır (Bugarel ve ark., 2011). Her ne kadar dünya genelinde mevcut olsa da (Bugarel ve ark., 2011) O26: H11 / H⁻ Avrupa'da baskın olarak tanımlanmakta olup, diğer kıtalardaki prevalansı hakkında çok az veri bulunmaktadır.

2.6. *Escherichia coli* O111:H8

E. coli O111:H8, STEC suşlar içinde ilk kez HC ve HUS hastalarında saptanan, en bilinen serotipidir (Riley ve ark., 1983). Bu serotip, çok sayıda salgın ve hastalık vakalarından sorumludur. Moleküler genetik çalışmaları, EPEC bakterisinin bir suşu

olarak bilinen *E. coli* O157:H7' nin Shiga toksin genlerini kazanmasıyla daha virulent bir organizma olarak geliştiğini göstermektedir (Whittam ve ark., 1993). Fakat O157:H7 dışında 100'den fazla STEC serotipi ciddi insan hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir. ABD'de HUS vakalarının % 20-25'inin kaynağını non-O157 STEC oluşturmaktadır (Johnson ve ark., 1996). İnsan hastalıkları ile ilişkili en yaygın non-O157 STEC serotipleri arasında O111:H, bulunmaktadır (Griffin ve ark., 1991).

2.7. Antibakteriyeller ve Direnç Mekanizmaları

Antibiyotikler, çeşitli mikroorganizma türleri (bakteriler, mantarlar, aktinomiçesler) tarafından sentezlenen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen veya onları öldüren maddelerdir (Tünger ve ark., 2005).

Bakteriyel etkinliği olan biyolojik ya da sentetik ilaçların tümü antibiyotik olarak nitelendirilmiştir (Tünger ve ark., 2005). Günümüzde antibiyotik, kimyasal tepkimeler yoluyla elde edilmiş ve mikroorganizmalarca üretilen, az miktarda kullanıldığında bakterilerin üremesini engelleyen kimyasallar olarak da tanımlanmaktadır (Çiftçi ve Aksoy, 2015). Penisilin, ilk keşfedilen antibiyotik olup, 1928 yılında Alexander Fleming tarafından bulunmuştur ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır (Sengupta ve ark., 2013). Flarey ve Chain'in 1940 yılında *Penicillium notatum*'dan elde ettiği bir maddenin bakteriler üzerinde öldürücü etkisinin bulunması ile antibiyotikler üzerindeki çalışmalar hızla artmıştır (Sengupta ve ark., 2013).

2.7.1. Etki Mekanizmaları

Antibiyotikler, 17. yüzyıldan itibaren enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Antimikrobiyal tedavinin bilimsel bir temele oturması Paul Ehrlich'in, 17. yüzyılın başında "seçici toksik etki" kavramını ortaya çıkarması ile olmuştur. Bu kavram, kemoterapik maddenin az miktarlarda mikroorganizmalar üzerinde zarar verici etkileri olmasına karşılık organizma üzerinde hiçbir etki göstermemesi ya da sınırlı etki göstermesi olarak tanımlanmaktadır. Antibiyotikler, bakteri popülasyonları üzerinde yaptıkları etkinin derecesine göre bakteriyostatik ve bakterisid olmak üzere ikiye ayrılırlar (Quinn ve ark., 2002). Bakteriyostatik etkide, bakteri hücresinin gelişmesi ve üremesi önlenir. Bakteri doğrudan doğruya öldürülmez (tetrasiklinler, sülfanamidler).

Üremesi ve gelişmesi durmuş bakteriler vücudun savunma sistemi tarafından yok edilir (Kayaalp, 2005).

Bakteriyostatik etkili ilaçlarla yapılan tedavi şeklinde antibakteriyel madde, dokularda yeterli düzeylere ulaşamazsa bakterinin hayatta kalmasına neden olur. Bakterisid etkide ise bakteriler direkt olarak öldürülür (penisilinler, aminoglikozidler). Yüksek konsantrasyonlarda eritromisin gibi bakteriyostatik antibiyotikler de bakterisidal etki gösterebilir (Quinn ve ark., 2002).

Bakteriyostatik ve bakterisidal etkili kemoterapötikler kombine edildikleri zaman birbirlerine karşı sinerjik, additif, endifferan ve antagonist etki gösterebilmektedir (Şanlı, 1999). Kemoterapötik ilaç kombinasyonlarında ortaya çıkan etkileri bakteri türü, üreme gelişme durumları ve ilaçların çeşidine göre değişir (Şanlı, 1999).

Kombinasyon halindeki ilaçların mikroorganizma yapısındaki etki yerleri farklıdır. Gelişigüzel kemoterapötik ilaç kullanım sonucu, dirençli mikroorganizmalar sayısal ve çeşit yönünden artış göstermektedir (Şanlı, 1999).

Bu kemoterapötik ilaca duyarlı mikroorganizma türlerinin tümüne o ilacın antibakteriyel spektrumu adı verilir (Quinn ve ark., 2002). Antibakteriyel spektrum, kemoterapötik ilacın çeşidine göre farklılık gösterdiğinden, etkilediği bakteri türü ve sayısına göre dar, orta ve geniş olmak üzere başlıca üç gruba ayrılmaktadır (Şanlı, 1999).

Antibiyotikler; hücre duvarı sentezinin inhibe edilmesi, ribozomal protein sentezinin engellenmesi, ara metabolizmanın bozulması yolları ve hücre membranının permabilitesinin artırılması olarak etki gösterir (Quinn ve ark., 2002).

Tablo 2.3. Antibiyotiklerin Etki Mekanizması (Quinn ve ark., 2002)

Etki Mekanizması	Antibiyotik
1. Bakteri hücre duvarı sentezinin bozulması	Penisilinler, Sefalosporinler, Aztreonam, İmipenem, Basitrasin, Vankomisin, Teikoplanin
2. Sitoplazma membranının geçirgenliğinin bozulması	Polimiksinler, Gramisidin, Ketokonazol, Nistatin, Amfoterisin B ve diğer antifungal imidazoller, Flukonazol ve diğer antifungal triazoller
3. Protein sentezinin inhibe edilmesi	Kloramfenikol, Eritromisin ve diğer makrolidler, Tetrasiklinler, Kuinupristin-Dalfopristin, Linezolid, Aminoglikozidler
4. Nükleik asit sentezinin bozulması	Rifampisin ve diğer rifamisinler, Nalidiksik asid, Florokinolonlar, Metronidazol (kısmen)
5. İntermediyer metabolizmayı bozanlar (Bakteriyel antimetabolitler)	Sülfonamidler, Trimetoprim, Sülfonlar, İzoniazid, Etambutol, PAS

2.7.2. Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde iki çeşit direnç mekanizması bulunmaktadır. Bakterilerin antibiyotik dirençliliği bir ve birden fazla mekanizma ile oluşabilmektedir (Davies ve Davies, 2010).

2.7.2.1. Doğal direnç

Antimikrobiyalin bağlanarak etkili olduğu hedef durumun olmaması, kalıtsal özellikte olmayan direnç tipidir. Mikroorganizmanın yapısının dirençli olduğu vurgulanmaktadır (Öztürk, 2002).

2.7.2.2. Kazanılmış direnç

Antibiyotiklere duyarlı olan mikroorganizmaların antibiyotiklerden etkilenmeyecek duruma gelmesidir. Direnç kazanım mekanizmaları mikroorganizma türlerine göre değişiklik göstermektedir. Kazanılmış direnç mekanizmaları biyokimyasal ve genetik olarak incelenir (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

Genetik olarak kazanılan direnç mekanizmaları üç tiptir (Öztürk, 2002).

Kromozoma bağlı dirençte; her hücre bölünmesinde mutasyon bulunmaktadır. Mutasyon sıklığı 10^{-5} ile 10^{-10} civarında olmaktadır (Öztürk, 2002).

Plazmidlere bağlı dirençte; plazmidler kromozom dışı replike olur. En fazla klinikte görülen dirençtir. Farklı antimikrobiyallere karşı direnç genleri R plazmidi ile taşınmaktadır. Bir bakterinin dirençli hale gelmesi; R plazmidi içeren bakterinin özelliklerini, duyarlı olan bakterilere aktarması ile olmaktadır. Plazmidlere bağlı direnç; antimikrobiyalleri inaktive eden ve hücrenin geçirgenliğini değiştiren enzimlerle olmaktadır (ztrk, 2002).

Transpozonlara bağlı direnteyse; plazmid ve kromozom içinde bulunabilen ve yer değiştirebilen transpozonlar bir DNA molekülünden başka bir DNA molekülü dizisine geçebilmekte ve bağımsız replike olabilmektedirler (ztrk, 2002).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Süt ve Süt Ürünü Örnekleri

Çalışmada, 2018 yılı Şubat ayında Kayseri ilindeki çiftliklerde üretilen, köy pazarlarında satışa sunulan 100 adet çiğ süt numunesi ve marketlerde satışa sunulan 100 adet süt ürünü (peynir, tereyağ, yoğurt, kefir, sütlü tatlı) materyal olarak kullanıldı (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Çalışma Kapsamında Alınan Örnek Çeşitleri ve Numune Sayıları

Örnek	Numune Sayısı
Çiğ Süt	100
Peynir	20
Tereyağ	20
Yoğurt	20
Kefir	20
Sütlü Tatlılar	20
Toplam	200

3.1.2. Çiğ Sütlerden *Escherichia coli* O26, O157 ve O111 İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplementler ve Diğer Kimyasallar

İzolasyon ve identifikasyon aşamaları için *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 ve *Escherichia coli* RHFS 232 referans suşları, antibiyotik duyarlılık için ise *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı.

3.1.2.1. *Escherichia coli* Broth

Escherichia coli Broth besiyeri (Merck, Almanya) 37.0 g/L konsantrasyonda olacak şekilde damıtık su içinde eritildi. İçinde Durham tüpü bulunan deney tüplerine 10'ar mL dağıtılıp otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası 25° C'de pH 6.9±0.2'ye ayarlandıktan sonra hazırlanmış besiyeri 45° C'de 24 saat süre ile inkübe edildi. Bu sürenin sonunda gelişme ve Durham tüplerinde gaz görülen tüpler pozitif olarak işaretlendi. *Escherichia coli* Broth içeriği Tablo 3.2'de verildi.

Tablo 3.2. *Escherichia coli* Broth İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Kazein Pepton	20.0
Laktoz	5.0
Safra Tuzu Karışımı	1.5
Dipotasyum Fosfat	4.0
Mono Potasyum Fosfat	1.5
Sodyum Klorür	5.0
Agar	12.0
Distile Su	1000 mL

3.1.2.2. Eozin Metilen Blue Agar

Eozin Metilen Blue (Merck, Almanya) ticari besiyeri 36.0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritildi. Otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildi ve 45-50° C'ye soğuduğunda steril petri kutularına 12.5'er mL döküldü. Hazırlanmış besiyeri 25° C'de pH'sı 7.1±0.2 olduğunda berrak ve kırmızımsı-kahve, menekşe-kahverenginde olduğu görüldü. Eozin Metilen Blue Agar içeriği Tablo 3.3'te verildi.

Tablo 3.3. Eozin Metilen Blue Agar İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Pepton	10.0
Laktoz	5.0
Sukroz	5.0
Dipotasyum Fosfat	2.0
Eozin Y	0.4
Metilen Blue	0.07
Agar	13.5
Distile Su	1000 mL

3.1.2.3. Sorbitol-MacConkey Agar

Katkı şişesine 1 mL steril damıtık su ilave edilip, iyice karıştırıldı. Otoklavlama yapıldıktan sonra 45° C'ye soğutulup 500 mL SMAC Agar besiyerine (Merck, Almanya) bir şişe katkı ilave edildi. Besiyeri ile katkının homojen bir şekilde karışması sağlandı ve steril petri kutularına 12.5'er mL döküldü. Sorbitol-MacConkey Agar içeriği Tablo 3.4'te verildi.

Tablo 3.4. Sorbitol-MacConkey Agar İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Pepton	20.0
D-Sorbitol	10.0
Safra Tuzları	1.5
Sodyum Klorür	5.0
Nötral Kırmızı	0.03
Kristal Viyole	0.001
Agar	15.0
Distile Su	1000 mL

3.1.2.4. Kanlı Agar

Blood Agar Base No: 2 (Oxoid, CM 271 B, İngiltere) ticari besiyerinden 40 g tartıldı. 1 L distile su içerisinde çözdürüldü. pH değeri 7.4±0.2'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda eritildi. Otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra 50° C'ye kadar soğutuldu. Üzerine %7 steril defibrine koyun kanı eklendi. Besiyeri her biri 20 mL olacak şekilde steril petrilere döküldü. Donmaya bırakıldı. Kullanılincaya kadar 4° C'de muhafaza edildi. Besiyeri içeriği Tablo 3.5'te verildi.

Tablo 3.5. Blood Agar Base No: 2 İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Proteoz Pepton	15.0
Karaciğer Özütü	2.5
Maya Ekstraktı	5.0
Sodyum Klorür	5.0
Agar	12.0
Distile Su	1000 mL

3.1.2.5. Mueller Hinton Agar

Mueller Hinton (Merck, Almanya) ticari besiyeri, 34.0 g/L konsantrasyonda damıtık su içinde ısıtılarak eritildi ve otoklavda 115° C'de 10 dakika sterilize edilip, steril petri kutularına 12.5'er mL döküldü. Zor gelişen mikroorganizmaların gelişimini arttırmak için bileşime kan ilave edildi. Otoklav çıkışında 45-50° C'ye soğutuldu. Besiyeri içeriği Tablo 3.6'da verildi.

Tablo 3.6. Mueller Hinton Agar İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Sığır Eti Ekstraktı	2.0
Kazein Asit Hidrolizatı	17.5
Nişasta	1.5
Agar	13.0
Distile Su	1000 mL

3.1.2.6. Gliserinli Brucella Broth

Elde edilen izolatların PCR ile identifikasyonu yapılana kadar uzun süre dondurularak (-80° C'de derin dondurucuda) saklanması için %10'luk Gliserinli Brucella Broth hazırlandı. Brucella Broth (Oxoid, CM0169, İngiltere) hazır besiyerinden 2.52 gr tartılarak 90 mL distile su içinde çözdürüldü ve üzerine kriyoprotektif amaçlı 10 mL gliserin (Merck, M104091, Almanya) ilave edildi. Otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildi. Soğumasını takiben buzdolabına kaldırılarak, kullanılıncaya kadar saklandı. Gliserinli Brucella Broth içeriği Tablo 3.7' de verildi.

Tablo 3.7. Gliserinli Brucella Broth İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Kazein Pepton	10.0
Et Pepton	10.0
Glikoz	1.0
Sodyum Klorür	5.0
Sodyum Bisülfat	0.1
Maya Ekstraktı	2.0
Agar	13.0
Distile Su	1000 mL

3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İşleminde Kullanılan Sarf Malzemeler

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) işleminde kullanılan malzemeler Tablo 3.8.'de listelenmiştir.

Tablo 3.8. PCR İşleminde Kullanılan Sarf Malzeme Listesi

Malzeme	Stok hacim
Taq DNA polimeraz (Thermo Fisher Scientific, ABD)	500 U
PCR Buffer (Thermo Fisher Scientific, ABD)	10X
MgCl ₂ (Merck, 105833)	25 mM
dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Thermo Fisher Scientific, ABD)	10 mM
DNA ekstraksiyon kiti (Bio-Rad, InstaGene Matrix, ABD)	

3.1.4. Antibiyotik Duyarlılık Testinde Kullanılan Malzemeler

Disk difüzyon testi için; eritromisin (15 µg), nalidiksik asit (30 µg), sefazolin (30 µg), azitromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), neomisin (10 µg), amoksisilin-klavulanik asid (30 µg), trimethoprim-sulfametoksazol (23.75 µg-1.25 µg), gentamisin (10 µg) ve siprofloksasin (5 µg) duyarlılık test diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanıldı.

E test için eritromisin, nalidiksik asit, sefazolin, azitromisin, tetrasiklin, neomisin, amoksisilin-klavulanik asid, trimethoprim-sulfametoksazol, gentamisin ve siprofloksasin duyarlılık test kartuşları (Liofilchem, İtalya) kullanıldı.

3.2. Yöntem

Kayseri ilindeki çiftliklerde üretilen, köy pazarlarında satışa sunulan 100 adet çiğ süt numunesi ve marketlerde satışa sunulan 100 adet süt ürünü (peynir (n=20), tereyağ (n=20), yoğurt (n=20), kefir (n=20), sütlü tatlı (n=20)), steril bir şekilde 24 saat içinde soğuk zincirle Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Laboratuvarına getirilerek incelenmeye alınmaya kadar +4° C'de bekletildi.

3.2.1. Önzenginleştirme

Numunelerden 5 mL tartılarak üzerine 10 mL tryptone soy broth ilave edilip, steril Stomacher poşetleri içerisinde iki dakika süreyle Stomacher cihazı ile homojen

süsyansiyon hazırlandı. Hazırlanan süspansiyonların üzerine 90 mL *E. coli* Broth (Oxoid, İngiltere) ilave edilip, 37° C’de 3-6 saat inkübe edildi.

Numunelerden 5 g tartılarak üzerine 10 mL tryptone soy broth ilave edilip, steril Stomacher poşetleri içerisinde 2 dakika süreyle Stomacher cihazı ile homojen süsyansiyon hazırlandı. Hazırlanan süspansiyonların üzerine 90 mL *E. coli* Broth (Oxoid, İngiltere) ilave edilip, 37° C’de 3-6 saat inkübe edildi.

3.2.2. Fenotipik İdentifikasyon Testleri

Önzenginleştirme işlemi sonunda stomacher poşetlerinden kanlı agar, Sorbitol-MacConkey (SMAC) agar (Oxoid, İngiltere) ve Eosin Methylen-blue (EMB) agar (Oxoid, İngiltere) besiyerlerine inokülasyon yapılarak, 18-24 saat aerobik ortamda 37° C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda petrilere gelişen kolonilere Gram boyama, biyokimyasal ve fizyolojik testler yapılarak fenotipik olarak *E. coli* identifikasyonu yapıldı.

3.2.3. Moleküler İdentifikasyon

3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu

Bakterinin DNA’sını elde etmek amacıyla InstaGene Matrix kiti (Bio-Rad, ABD) kullanıldı. Bu işlem kit protokolünde belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Kısaca, fenotipik olarak doğrulanan bakterilere ait 24 saatlik sıvı kültürden ependorflara yaklaşık 1 mL alındıktan sonra 10.000xg-12.000xg’de 1 dakika santrifüj edildi. Ependorfun üstünde biriken sıvı uzaklaştırılarak altta kalan pelletin üzerine 200 µL InstaGene matrix solüsyonundan eklenerek homojenize edildi ve 56° C’de 15-30 dk. inkübe edildi. Daha sonra bu süspansiyon 10.000xg-12.000xg’de 10 sn. boyunca yüksek hızda santrifüj edildi. Homojenize edilen süspansiyon 100° C’lik su banyosunda 8 dk. inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 10 sn. boyunca yüksek hızda santrifüj edildi. Daha sonra 10.000xg-12.000xg’de 2-3 dk süreyle inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 50 µL PCR reaksiyonu başına elde edilen süpernatandan 20 µL kullanıldı. Hedef DNA olarak kullanılmak üzere ependorfta kalan sıvı -20° C’de saklandı.

3.2.3.2. *E. coli*'nin Moleküler Yöntemle İdentifikasyonu

Fenotipik testlerle *E. coli* olarak tespit edilen izolatların doğrulanması amacıyla PCR yöntemi kullanıldı (Clermont ark., 2013; Muştak ark., 2015). Buna göre; reaksiyon toplam 25 µL hacimde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı; her bir primerden 0.2 µM, 200 µM DNTP, 2.5 µl PCR reaksiyon buffer, 3mM MgCl₂, 2 U Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific; EP0402, ABD) ve 1 µl kalıp DNA'dan oluşmuştur. Termal döngü koşulları; 94° C'de 5 dk ilk denatürasyon; 94° C'de 10 saniyede denatürasyon, 59° C'de 20 sn primer bağlanması, 72° C'de 10 sn. uzatma, reaksiyon 30 döngüden oluştu ve daha sonra 72° C'de 5 dk. son uzama aşamasından meydana gelmiştir.

Çalışmada kullanılan primer çiftleri ve beklenen ampikon büyüklüğü (bp) Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9. Çalışmada Kullanılan Primerlerin Dizilimleri

Genin Adı	Primer Dizilimi	Gen Bölgesi	Genin Adı	Ampikon Büyüklüğü
PF8	CGTGATGATGTTGAGTTG	<i>rfbO157</i>	O157	420
PR8	AGATTGGTTGGCATTACTG			
FLICH7F	GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	<i>fliC</i>	H7	625
FLICH7-R	CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC			
O26F	AAATTAGAAGCGGTTTCATC	<i>O26</i>	O26	596
O26R	CCCAGCAAGCCAATTATGACT			
<i>fliCRH11-1</i>	ACTGTTAACGTAGATAGC	<i>fliC</i>	H11	224
<i>fliCRH11-2</i>	TCAATTTCTGCAGAATATAC			
O111 F	AGAGAAATTATCAAGTTAGTTCC	<i>rfbO111</i>	O111	406
O111R	ATAGTTATGAACATCTTGTTTAGC			
H8F	AGT GAC CTG ATTTCTAAA	<i>fliC</i>	H8	238
H8R	TTC AAT GGA GCC TTT GTC			
ERIC1	ATGTAAGCTCCTGGGGATTTCAC	-	-	-
ERIC2	AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG	-	-	-
trpBA.f	CGGCGATAAAGACATCTTCAC	-	-	489
trpBA.r	GCAACGCGGCCTGGCGGAAG			

3.2.3.3. *E. coli* O157:H7 PCR ile Doğrulanması

Fenotipik ve moleküler testler ile *E. coli* olarak tespit edilen izolatların serotiplerinin belirlenmesi amacıyla PCR yöntemlerinden yararlanıldı (Maurer ark., 1999; Sarımehtetoğlu ark., 2009). *E. coli* O157:H7, izolatları için, *rfbO157* ve H7 için *fliC* gen bölgesini kodlayan primerler kullanılarak doğrulandı. PCR reaksiyon karışımının

final konsantrasyonu 50 µL olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µL DNA örneği, 0.5 µM her bir *fliC* primerinden, 1.5 mM MgCl₂, 5 µL 10 X PCR buffer, 400 µM dNTPs ve 1.5 U Taq polymerase'dan oluştu. *fliC* geninin belirlenmesi için PCR cihazında (Techne TC-512) 94° C'de 2 dk. ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 54° C'de 1 dk., 94° C'de 20 s., 72° C'de 1 dk. 35 siklusa bekletildi. 72° C'de 10 dk. son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi. *rfbO157* geninin tespit edilmesi için; 94° C'de 5 dk. ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra, 53° C'de 1 dk., 72° C'de 1 dk., 94° C'de 1 dk. toplam 30 siklusa gerçekleştirildi. 72° C'de 5 dk son uzatma işlemi yapıldı.

3.2.3.4. *E. coli* O26:H11 PCR ile Doğrulanması

Fenotipik ve moleküler testler ile *E. coli* olarak tespit edilen izolatların serotiplerinin belirlenmesi amacıyla PCR yönteminden yararlanıldı (Durso ve ark., 2005). *E. coli* O26:H11 izolatları için *rfbO26* ve H11 için *fliC* gen bölgesini kodlayan primerler kullanılarak doğrulandı. PCR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 20 µL olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 1 µL DNA örneği, 0.5 µM her bir *fliC* ve *rfbO26* primerlerinden, 4.5 mM MgCl₂, 3 µL 10 X PCR buffer, 500 µM dNTPs ve 0.5 U Taq polymerase'dan oluştu. *FliCH8* ve *rfbO111* genlerinin belirlenmesi için PCR cihazında (Techne TC-512) 95° C'de 15 dk. ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 56° C'de 1 dk., 94° C'de 1 dk., 72° C'de 1 dk. 35 siklusa bekletildi. 72° C'de 10 dk. son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi (Durso ve ark., 2005).

3.2.3.5. *E. coli* O111:H8 PCR ile Doğrulanması

Fenotipik ve moleküler testler ile *E. coli* olarak tespit edilen izolatların serotiplerinin belirlenmesi amacıyla PCR yönteminden yararlanıldı (Durso ve ark., 2007). *E. coli* O111:H8 izolatları için *rfbO111* ve H8 için *fliC* gen bölgesini kodlayan primerler kullanılarak doğrulandı. PCR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 30 µL olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 1 µL DNA örneği, 0.5 µM her bir *fliC* ve *rfbO26* primerlerinden, 4.5 mM MgCl₂, 3 µL 10 X PCR buffer, 120 µM dNTPs ve 0.5 U Taq polymerase'dan oluştu. *FliCH8* ve *rfbO111* genlerinin belirlenmesi için PCR cihazında (Techne TC-512) 95° C'de 15 dk. ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 53° C'de 1 dk., 94° C'de 1 dk., 72° C'de 1 dk. 35 siklusa bekletildi. 72° C'de 10 dk. son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi (Durso ve ark., 2007).

3.2.4. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PCR ile Moleküler Tiplendirme

Moleküler tiplendirme için ERIC-PCR kullanıldı. Analizde ERIC-1 (5'-ATGTA AGCTCCTGGGGATTTCAC-3') ve ERIC-2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3') primerleri kullanıldı. Amplifikasyon için PCR karışımı, 4 mM MgCl₂ (Thermo Fisher Scientific, ABD), 5 U Tag DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific, ABD), karışımı, 5 µL 10Xpcr buffer A (Thermo Fisher Scientific, ABD), 25 pmol primerler (Sentromer DNA Teknolojileri, İstanbul, Türkiye), final konsantrasyonu 0.2 mM olacak şekilde dNTP (Thermo Fisher Scientific, ABD) ve 1 µL template DNA içeren toplam 50 µL hacimden oluşturuldu. Amplifikasyon koşulları 94° C'de 5 dk. da ilk denatürasyon basamağını takiben 40 amplifikasyon siklusundan ve her siklus, 94° C'de 1 dk., 25° C'de 1 dk., 72° C'de 2 dk. aşamalarından oluşturuldu (Touchgene Gradient, Techne, İngiltere). Elde edilen PCR ürünleri, %2'lik agaroz jel içerisinde yürütüldü (Thermo EC 330, ABD). Oluşan bantlar jel dökümantasyon sisteminde incelendi (Vilber Lourmat, Fransa).

3.2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

3.2.5.1. Disk Difüzyon Testleri

Escherichia coli O26, O157 ve O111 olarak identifiye edilmiş bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı direnç durumunu belirlemek amacıyla disk difüzyon testi (Bauer and Kirby, 1966), Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsünün (2014) önerdiği prosedüre göre yapıldı (Bauer ve ark., 1996). Bu yöntemle göre; isolatlar %5 defibrine koyun kanlı Mueller-Hinton agarda aerobik ortamda 18-24 saatte üretildi. Üreyen koloniler besiyeri üzerinden toplanarak %0.075 NaCl içinde süspanse edilip, bakteri yoğunluğu McFarland No. 0.5 turbidite standardına ayarlandıktan sonra 0.1 mL Mueller-Hinton agar besiyerine inoküle edilip, yayıldı. Antibiyotik duyarlılık test diskleri besiyeri üzerine yerleştirildi. Petriler, aerobik 37° C'de 18-24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda oluşan zon çapları ölçüldü. Değerlendirme yapıldı (CLSI, 2014).

3.2.5.2. E (Epsilometer) Test

E.coli O26-H11 ve O157-H7 izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK değerlerini belirlemek amacıyla Etest yöntemi kullanıldı. *E.coli* izolatlarının 24 saatlik taze kültürü 0.5 McFarland yoğunluğuna ayarlanarak %7 steril defibrine koyun kanı ilave edilmiş Mueller-Hinton agar (Merck, Almanya) yüzeyine eküvyonla yayıldı. Daha sonra kanlı agar yüzeyine E test şeritleri yerleştirildi. Petriler 37° C'de 24 saat aerobik ortamda inkübe edildi. Şerit etrafında oluşan inhibisyon elipsinin ölçekle kesiştiği nokta MİK değeri olarak kabul edildi. Sonuçların değerlendirilmesinde izolatlar duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak kaydedildi (CLSI, 2014).



4. BULGULAR

4.1. Fenotipik Test Sonuçları

Çalışmada 200 adet örnek toplandı. İzolasyon amacıyla SMAC ve EMB agar besiyerlerine inokulasyon yapıldı. Pozitif olarak tespit edilen her besiyerinden şüpheli üç koloni alındı, toplamda 227 şüpheli *E.coli* kolonisi izole edildi. Bu 227 şüpheli izolattan 88'i (%38.7) fenotipik identifikasyon testleri sonucu *E. coli* yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1)..

Tablo 4.1. Süt ve Süt Ürünlerinden *E. coli* İzolasyon Sonuçları

	Çiğ Süt	Yoğurt	Kefir	Peynir	Tereyağ	Sütlü Tatlı	Toplam
n	100	20	20	20	20	20	200
Şüpheli İzolat Sayısı	140	9	22	25	19	12	227
Pozitif İzolat Sayısı	62	1	12	4	6	3	88
<i>E. coli</i> O157:H7	2	-	-	-	1	-	3
<i>E.coli</i> O26:H11	1	-	-	-	-	-	1
Yüzdelik %	44.2	11.1	54.5	16.0	31.5	25.0	38.7

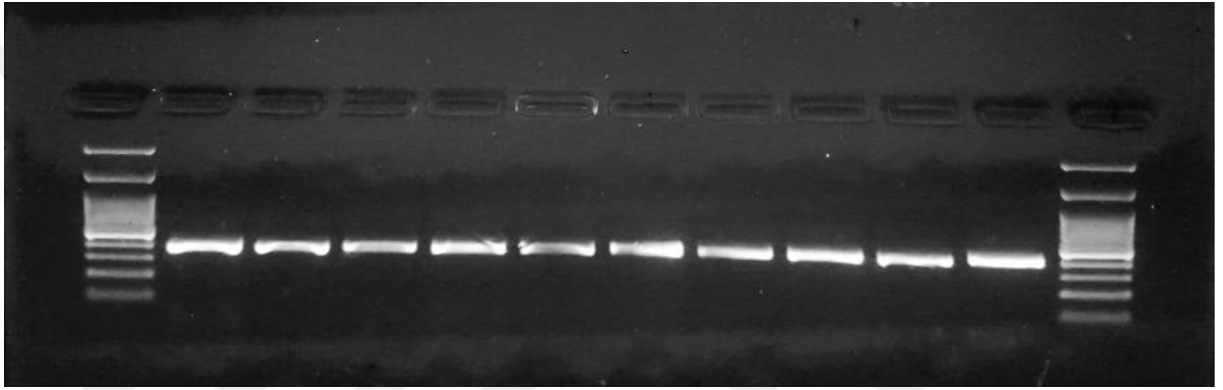
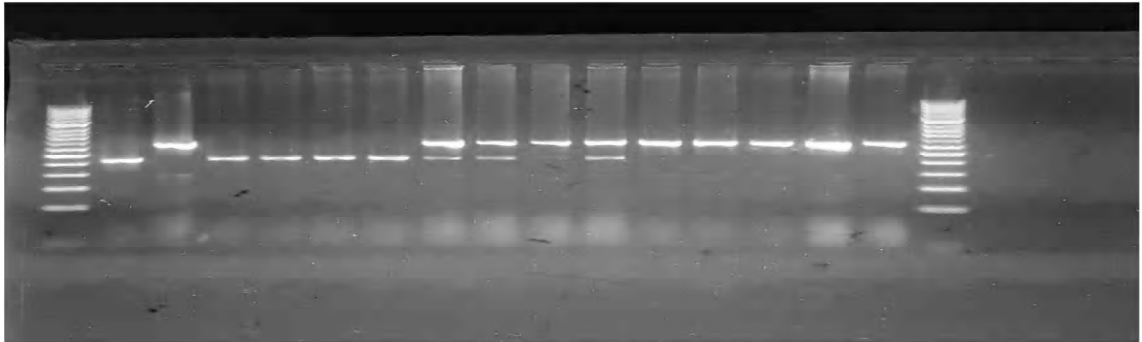
4.2. *E. coli* Serotiplerinin PCR ile Tespiti

Fenotip olarak *E. coli* yönünden doğrulanan 88 izolatın tamamı PCR ile doğrulandı. Serotiplerin belirlenmesi amacıyla yapılan PCR testleri sonucunda 88 izolattan 3'ü *E. coli* O157:H7 (61 nolu (süt), 86 nolu (süt) ve 168 nolu (tereyağı) izolatlar), 1 izolat ise *E.coli* O26:H11 (160 nolu (süt) izolat)yönünden pozitif olarak tespit edilmiş, fakat *E. coli* O111:H8 serotipi bulunamamıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile İdentifikasyon Sonuçları

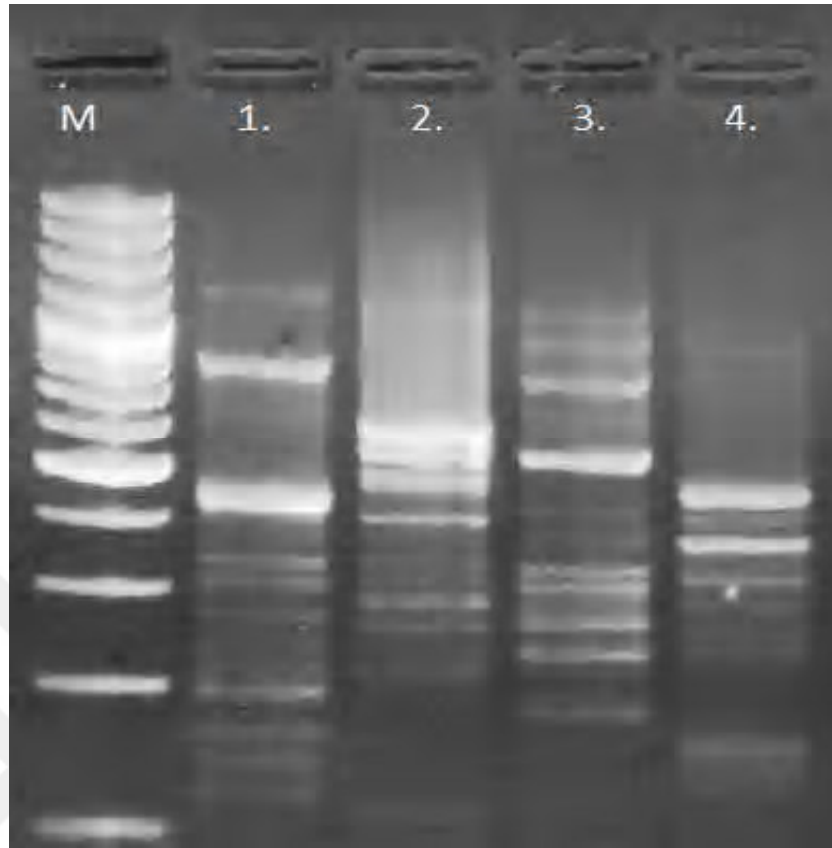
Serotip	Pozitif örnek sayısı (%)
<i>E.coli</i> O157:H7	3 (%3.40)
<i>E.coli</i> O26:H11	1 (%1.13)
<i>E.coli</i> O111:H8	-
Toplam	4 (%2.27)

E.coli yönünden pozitif bulunan örneklerin agoroz jeldeki görüntüleri şu şekildedir.

**Şekil 4.1.** *E. coli*'nin %1.5'lik agoroz jeldeki görüntüsü. *E. coli* pozitif örnekler (489 bp)**Şekil 4.2.** *E. coli* O157:H7 % 1.5'lik agoroz jeldeki görüntüsü için pozitif örnekler. *E. coli* O157 için 420 bp ve H7 için ise; 625 bp pozitifdir.

4.2.1. ERIC-PCR Sonuçları

Yapılan ERIC-PCR sonuçlarından elde edilen bant profillerinin birbirinden farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bant sayısının 8 ile 18 arasında değiştiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O26:H11 izolatlarının %2'lik agaroz jeldeki ERIC-PCR band paternleri. M: 100 bp DNA ladder, 1: 61 nolu izolat, 2: 86 nolu izolat, 3: 160 nolu izolat, 4: 168 nolu izolat

4.3. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları

4.3.1. Disk Difüzyon Testleri Sonuçları

Çalışmada *E. coli* serotipleri yönünden pozitif izolatlara disk difüzyon testi yapılmıştır ve buna göre antibiyotik duyarlılık test sonuçları sırasıyla nalidiksik asit %75, siprofloksasin %100, tetrasiklin %75, trimetoprim sulfametoksazol %75, amoksisilin klavulanik asit %50, neomisin %50, gentamisin %75, azitromisin %100 duyarlı, eritromisin ve sefazolin %75 dirençli olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *E. coli* İzolatlarının Disk Difüzyon Sonuçları

Antibiyotik	İnhibisyon zon çapı (mm)			<i>E. coli</i> O157:H7 (mm)			<i>E. coli</i> O26:H11(mm)
	S	I	R	61	86	168	160
Tetrasiklin	≥ 15	12–14	≤ 11	24 S	22 S	0 R	26 S
Trimetoprim Sulfametoksazol	≥ 16	11–15	≤ 10	21 S	21 S	0 R	28 S
Amoksisilin Klavulanik Asit	≥ 18	14–17	≤ 13	0 R	18 S	0 R	21 S
Sefazolin	≥ 23	20–22	≤ 19	0 R	16 R	14R	21 I
Eritromisin	≥ 23	14–22	≤ 13	9 R	15 I	0 R	0 R
Neomisin	≥ 15	13–14	≤ 12	12 R	13 I	7 R	13 I
Nalidiksik Asit	≥ 19	14–18	≤ 13	18 I	19 S	20 S	21 S
Gentamisin	≥ 15	13–14	≤ 12	20 S	18 S	0 R	20 S
Siprofloksasin	≥ 21	16–20	≤ 15	29 S	30 S	22 S	30 S
Azitromisin	≥ 18	14–17	≤ 13	18 S	22 S	28 S	19 S

S: Duyarlı, I: Orta Dirençli, R: Dirençli

**Şekil 4.4.** Kanlı agarda yapılan disk difüzyon testi ve oluşan inhibisyon zonu

4.3.2. E (Epsilometer) Test Sonuçları

E. coli serotiplerinin anılan antibiyotiklere karşı MİK düzeylerini belirlemek için yapılan E test sonuçlarının da disk difüzyon testiyle tamamen uyumlu olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. *E. coli* İzolatlarının MİK Düzeyleri

Antibiyotik	CLSI'ye göre MİK düzeyleri			<i>E. coli</i> O157:H7 (µg/ml)			<i>E. coli</i> O26:H11 (µg/ml)
	S	I	R	61	86	168	160
Tetrasiklin	≤4	8	≥ 16	2 S	2 S	16 R	4 S
Trimetoprim Sulfametoksazol	≤2	-	≥ 4	2 S	2 S	8 R	2 S
Amoksisilin Klavulanik Asit	≤4	8	≥ 16	32 R	2 S	32 R	2 S
Sefazolin	≤2	4	≥ 8	8 R	8 R	8 R	4 I
Eritromisin	≤0.5	1-4	≥ 8	8 R	2 I	8 R	8 R
Neomisin	≤4	8	≥ 16	16 R	8 I	16 R	8 I
Nalidiksik Asit	≤16	-	≥ 32	32 R	4 S	2 S	2 S
Gentamisin	≤4	8	≥ 16	2 S	2 S	16 R	2 S
Siprofloksasin	≤1	2	≥ 4	1 S	0.5 S	1 S	0.5 S
Azitromisin	≤4	8	≥ 16	1 S	2 S	2 S	1 S

S: Duyarlı, I: Orta Dirençli, R: Dirençli

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Süt; mikroorganizmaların metabolik ürünlerine bağlı olarak, ilk sırada patojenler olmak üzere belirli mikroorganizmalar ve birbirleriyle rekabet halinde olan mikroorganizmalar için iyi bir kültür ortamıdır (Heescen, 1998). İlk sırayı hamburger alsa da; çiğ süt, *E. coli* O157:H7 enfeksiyonuna neden olan en önemli ikinci gıda olmuştur. İlk kez *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu ABD’de 1986 yılında tespit edilmiştir (Martin ve ark., 1986).

Bu çalışmada; Kayseri ilindeki çiftliklerde üretilen 100 adet çiğ süttten ve marketlerde satışa sunulan 100 adet süt ürününden alınan örneklerden *E. coli* O26, O157 ve O111 izolasyonu, izolatların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları ve moleküler tiplendirilmesi amaçlandı. Çalışmada 200 adet örnekten 227 şüpheli koloni izole edildi ve izolatlar üzerine yapılan fenotipik ve moleküler identifikasyon testleri neticesinde 88/227 (% 38.7) *E. coli* izolatının varlığı tespit edildi. Çalışmada serotiplerin belirlenmesi amacıyla yapılan moleküler testler sonunda; üç izolat *E. coli* O157:H7 (61 nolu (süt), 86 nolu (süt) ve 168 nolu (tereyağı) izolatlar), bir izolat ise; *E. coli* O26:H11 (160 nolu (süt) izolat) olarak tespit edildi. Ancak *E. coli* O111:H8 serotipine rastlanmadı.

Süt ve ürünlerinde yapılan araştırmalarda değişik *E. coli* serotipleri bulunmuştur Sütün kontaminasyonu, sağım işlemleri sırasında ya da pastörizasyon sonrası hijyenik olmayan işlemler sırasında meydana gelebilir (Donnenberg ve Nataro, 2000). VTEC’in bazı suşlarının peynir yapım işlemleri sırasında canlı kalabileceği ve kontamine sütlerden üretilen peynirlerin insanlarda bu hastalık için sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Rola ve Osek, 2015).

ABD’de 2013 yılında STEC O157’lerin yer aldığı 557 vaka, 100.000 kişide 1.15 insidens oranı ve iki vakada (%0.4) ölüm olduğu; STEC olmayan O157’lerin sorumlu olduğu 561 vakada ise, 1.17 insidens ve 2 (%0.4) ölüm olduğu rapor edilmiştir. Bu vakalardan en çok O26, O103, O111 serotipleri izole edildiği bildirilmiştir (Centers for disease Control and Prevention, 2014).

Al-Zogibi ve ark. (2015), Riyad'da topladıkları 540 süt numunesinin 26 tanesinde O157:H7, 23 tanesinde O111, 20 tanesinde O113:H21, 10 tanesinde O22:H8 ve yedi tanesinde O172:H21 serotipi tespit etmişlerdir.

Ayrıca, Ombarak ve ark. (2016), Mısır'da yaptıkları çalışmada 187 süt ve süt ürününde *E. coli* izolasyonu yapmışlar. Çalışma sonunda elde edilen izolatların %76.4'ü çiğ süttten, %74.5'i Karish peynirinden ve %21.7'si Ras peynirinden tespit edilmiş.

Aydın ve ark. (2010), 500 süt örneği içerisinde sadece 1 izolatta *E. coli* O157 varlığı bulmuşlardır. Şeker ve Yardımcı (2008)'nin yaptıkları çalışmada klasik kültür yöntemleriyle incelenen 213 çiğ süt örneğinin 3 (%1.4)'ünde *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir. Sancak ve ark. (2015), Van ilinde tüketime sunulan 100 adet çiğ süt ve 100 adet otlu peynir örneğini incelemişler. Otlu peynirlerin %2'lik kısmından *E. coli* O157:H7'yi identifiye etmişlerdir. Akkaya ve ark. (2007), Afyonkarahisar'da yaptıkları çalışmada klasik kültür yöntemleriyle incelenen 100 adet peynir örneğinden 1 (%1)'inde ve 100 adet çiğ süt örneğinden 3 (%3)'ünde *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir.

Garbaj ve ark. (2016), Libya'da yaptıkları çalışmada 108 süt ve süt ürününde Sorbitol MacConkey besiyerinde inokülasyon yaparak 27 adet EHEC O157'yi izole etmişlerdir. Çalışma sonunda elde edilen izolatların %11'i inek sütünden, %11'i dişi deve sütünden %7.4'ü keçi sütünden tespit edilmiştir.

Miszczyscha ve ark. (2012), Fransa'da çiğ süt, çiğ süttten yapılmış peynirler ve çiğ kıymadan *E. coli* O157:H7'yi izole edebilmek amacıyla Real-Time PCR testini geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu protokolün çiğ süt ve çiğ kıyma gibi ürünlerde *E. coli* O157:H7'nin hızlı, spesifik ve hassas bir şekilde tespiti için yararlı bir protokol olduğu sonucuna varılmıştır.

Farahmandfar ve ark. (2016), Khuzestan'dan topladıkları 150 süt örneğinden topladıkları iki izolatta *E. coli* bulmuşlardır ve bu izolatları farklı iki PCR yöntemi kullanarak sağlamışlardır. Multiplex PCR ile iki izolat, toksijenik *E. coli* O157:H7 olarak bulunmamıştır. Doğrudan PCR ile iki izolat, toksijenik *E. coli* O157:H7 pozitif olarak bulunmuştur. Doğrudan PCR yönteminin, dolaylı PCR yönteminden daha kesin, hızlı ve ekonomik olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmalardan farklı olarak *E. coli* O157:H7 tespit edilemeyen çalışmalar da bulunmaktadır. Gümüşsoy ve Gönülalan (2005), Kayseri ilinden toplanan 100 adet taze peynir numunesinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 tespit edememiştir.

Yaptığımız çalışmada; antibiyotik duyarlılık testleri yapıldığında izolatların tamamı azitromisine ve siprofloksasine duyarlı bulunmuştur. Bakterilerin antibiyotiklere olan direnci giderek artmaktadır. Bundan dolayı hastalıklarda antibiyotik kullanılması tartışılmaktadır.

Daha önce yapılan antibiyotik dirençlilik çalışmalarında *E. coli* O157:H7 suşlarının pek çok antibiyotiğe duyarlı olduğu bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar *E. coli*’ de artan antibiyotik dirençliliğini göstermiştir. Bir çalışmada 1984-1987 yılları arasında izole edilen 56 suşun tamamı antibiyotiklere duyarlı iken, 1989-1991 yılları arasında izole edilen 176 suşun 13 tanesi sülfisoksazole, streptomisine ve tetrasikline dirençli bulunmuştur (Halkman, 2013).

Ahmed ve Samer (2017), yaptıkları çalışmada *E. coli* izolatlarının gentamisine (%79.2) ve siprofloksasine (%70.8) duyarlı olduğu ancak, izolatların tamamının (%100) eritromisine ve izolatların % 79.2’sinin ise trimetoprim-sülfametoksazole dirençli olduğu bildirilmiştir. Dinç ve Kılıç Altun (2017), peynirlerden izole edilen *E. coli* suşlarının tamamının (%100) penisiline, klindamisine, oksasikline ve tetrasikline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Diğer antibiyotiklere direnç oranlarının ise sırasıyla neomisin (%80), kanamisin (%80), gentamisin (%50), enrofloksasin (%50), streptomisin (%46) olduğu ifade edilmiştir.

Atabey (2011), peynirlerden izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının sırasıyla %100 penisilin, %55 streptomisin, % 55 gentamisin ve %18 amoksisilin-klavulonik asit olduğunu bildirmişlerdir. İki farklı süt ürünüde yapılan araştırmada Farzana ve ark (2009), içlerinde *E. coli*’nin de bulunduğu bakteri grubunda yapılan antibiyogram çalışmasında, üriksin, kloramfenikol ve ampisilin’e karşı % 100 direnç belirlemişlerdir. Amikasin, amoksisilin, seftazidim ve augmentin’e karşı duyarlılık % 100 olarak tespit edilmiştir.

Irrgang ve ark. (2017), Almanya’da gıda ürünlerinden izole edilen *E. coli*’nin moleküler karakterizasyonu pulsed-field gel-eletrophoresis (PFGE) ve multi-locus sequence typing (MLST) ile yapılmıştır.

Mora ve ark. (2007), çiğ biftek, peynir ve sebzeden elde ettiği 32 izolattın %85 benzerliği multi-locus sequence typing (MLST) tarafından farklı sekans tiplerine atanan PFGE alt grubu ile ortaya konulmuş olup, PFGE alt tipleri ile STEC O157:H7 arasındaki birçok genetik varyantın doğal oluşumu gösterilmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamızda izole edilen *E. coli* örneklerinden 88’i pozitif olarak bulunmuştur. Yapılan PCR testleri sonucunda ise; 88 izolatın 3’ü *E. coli* O157:H7, 1 izolat *E.coli* O26:H11 yönünden pozitif olarak tespit edilmesi çiğ süt kullanımının ya da hijyen kurallarına uyulmadan üretilen süt ürünlerinin halk sağlığını olumsuz yönde etkilemesi açısından tehlikelidir. Ayrıca; *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri sonunda eritromisin ve sefazoline karşı yüksek derecede dirençli olması halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Süt ve süt ürünlerinde *E. coli* ve serotiplerinden kaynaklanabilecek hastalıkların önlenmesi için hijyenik tedbirler uygulanmalıdır. Artan antibiyotik direncinin önlenmesi amacıyla antibiyotik kullanımının kontrol altında tutulması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Ahmed WF, Samer A. Detection of shiga toxin - producing *Escherichia coli* in raw and pasteurized milk. Zagazig Veterinary Journal, 2017; 45 (1): 47-54.
2. Akan E. Genel Mikrobiyoloji ve İmmunoloji (1. baskı). Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Adana, 1992: 221.
3. Akkaya L, Alişarlı M, Kara R, Telli R. Afyonkarahisar’da tüketime sunulan çiğ süt ve peynirlerde *E. coli* O157:H7 varlığının belirlenmesi. YYÜ, Vet Fak Derg, 2007; 18, 1-5.
4. Alişarlı M, Akman NH. Perakende satılan kıymaların *Escherichia coli* O157 yönünden incelenmesi. YYÜ, Vet Fak Derg, 2004; 15 (1-2): 65-69.
5. Altun B, Besler T, Ünal S. Ankara piyasasında satılan işlem görmüş (UHT ve pastörize) ve görmemiş (sokak) sütlerin makro-besin değeri ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmesi. STED, 2002; 11 (2): 51.
6. Al-Zogibi OG, Mohamed MI, Hessain AM, El-Jakee JK, Kabil SA. Molecular and serotyping characterization of shiga toxogenic *Escherichia coli* associated with food collected from Saudi Arabia. Saudi J Biol Sci, 2015; 22 (4): 438-42.
7. Arslan D. İshal oluşturan *Escherichia coli* enfeksiyonları; epidemiyoloji, klinik, tedavi. Ankem Derg 2008; 22 (2): 192-196.
8. Atabey C. Piyasada Satışa Sunulan Peynirlerden Elde Edilen İçeriği *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* Suşlarının Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenerek Mastisit Kontrol ve Tedavi Programlarında Kullanılan Antibiyotiklerle İlişkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011: 49.
9. Aydın F, İça T, Yontar A. Kayseri yöresinde süt sığırlarında *Escherichia coli* O157:H7’ nin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Erciyes Üniv Sağ Bil Derg, 2010; 19, 159-166.

10. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 1996; 45 (4): 493-496.
11. Baz E, Gülmez M, Güven A, Sezer Ç, Duman B. Kars ilinde satışa sunulan çiğ süt ve beyaz peynirlerin koliform grubu, *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 yönünden incelenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2003; 9 (2): 165-167.
12. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, (10.baskı), Barış Yayınları, İzmir, 2000: 3-17.
13. Bugarel M, Beutin L, Scheutz F, Loukiadis E, Fach P. Identification of genetic markers for differentiation of Shiga toxin-producing, enteropathogenic, and avirulent strains of *Escherichia coli* O26. *Appl Environ Microbiol*, 2011; 77: 2275–2281.
14. Caprioli A, Morabito S, Brugere H, Oswald E. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* 2005; 36: 289-311.
15. CDC (Centers for disease Control and Prevention). Morbidity and Mortality Weekly Report, 2014; 321-338.
16. Chapman PA, Ashton R. An Evaluation of rapid methods for detecting *Escherichia coli* O157 on beef carcasses. *Int J Food Microbiol* 2003; 87: 279-285.
17. Chapman PA. Methods available for the detection of *Escheria coli* O157 in clinical, food and environmental samples. *World J Microbiol Biotech*, 2000; 16: 733-740.
18. Chase-Topping ME, Rosser T, Allison LJ, Courcier E, Evans J, McKendrick IJ, Pearce MC, Handel I, Caprioli A, Helge K, Hanson MF, Pollock KGJ, Locking ME, Woolhouse MEJ, Matthews L, Low JC, Gally DL. Pathogenic potential to humans of bovine *Escherichia coli* O26.Scotland. *Emerg Infect Dis*, 2012; 18: 439-448.
19. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylogroups. *Environ Microbiol Rep*, 2013; 5: 58-65.

20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Clinical and Laboratory Standards Institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth Informational Supplement, 2014; M 100-S 24, Wayne PA.
21. Coşansu S, Ayhan K. *Escherichia coli* O157:H7 ve fermente et ürünlerindeki önemi. Gıda Derg, 2000; 25 (1): 33-38.
22. Çiftçi A. Aksoy A. Antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics, 2015; 1 (2):1-10.
23. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev, 2010; 74 (3): 417-33.
24. Davies R. Growth and toxin production of Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) in the presence of sodium chloride. Suppl to J Appl Mier, 1999; 87 (1): 15.
25. De Boer E. Update on media for isolation of Enterobacteriaceae from foods. Int J Food Microbiol, 1998; 45: 43-53.
26. Dinç H, Kılıç Altun S. Presence of *Escherichia coli* in Urfa cheese and *in vitro* screening of donkey milk and essential oil of micromeria congesta for antibacterial activity using disc diffusion method. MAE Vet Fak Derg, 2017; (2): 139-145.
27. Donnenberg MS, Nataro JP. The molecular pathogenesis of *Escherichia coli* infections. In: Cary JW, Linz JE, Bhatnagar D (eds), Microbial Foodborne Diseases, Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis. First edition, Technomic Publishing Company, America, 2000: 87-130.
28. Drasar BS, Hill MJ. Human intestinal flora. Academic Press Ltd, London, UK, 1974; 36-43.
29. Duchaud E, Rusniok C, Frangeul L, Buchrieser C, Givaudan A, Taourit S, Bocs S, Boursaux-Eude C, Chandler M, Charles JF, Dassa E, Derose R, Derzelle S, Freyssinet G, Gaudriault S, Medigue C, Lanois A, Powell K, Siguier P, Vincent R, Wingate V, Zouine M, Glaser P, Boemare N, Danchin A, Kunst F. The genome sequence of the entomopathogenic bacterium *Photobacterium luminescens*. Nat. Biotechnol, 2003; 21: 1307–1313.

30. Durso LM, Bono JL, Keen JE. Molecular serotyping of *Escherichia coli* O111:H8. *Journal of Microbiological Methods*, 2007; 69, 38-383.
31. Durso LM, Bono JL, Keen JE. Molecular serotyping of *Escherichia coli* O26:H11. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005; 71 (8): 494-4944.
32. Eklund M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from Humans in Finland. *Publications of the National Public Health Institute*, 2005; 97.
33. Erdem B. *Enterobacteriaceae*. In: Ustaçelebi Ş (eds), *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (1. baskı), Güneş Kitabevi, Ankara, 1999: 471- 515.
34. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi (1. baskı), Pozitif Matbaacılık Ltd Şti, Ankara, 2007: 78.
35. Farahmandfar M, Moori-Bakhtiari N, Gooraninezhad S, Zarei M. Comparison of two methods for detection of *E. coli* O157H7 in unpasteurized milk. *Iran J Microbiol*, 2016; 8 (5): 282-287.
36. Farzana K, Akhtar S, Jabeen S. Prevalence and antibiotic resistance of bacteria in two ethnic milk based products. *Pak. J. Bot*, 2009; 41 (2): 935-943.
37. Frank JF. Milk and dairy products. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (eds), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM press, Washington DC, 1997: 3-12.
38. Fratamico PM, Smith JL. *Escherichia coli*, foodborne infections and intoxications, Academic Press, 2005; 205-258.
39. Garbaj AM, Awad EM, Azwai SM, Abolghait SK, Naas HT, Moawad AA, Gammoudi FT, Barbieri I, Eldaghayes IM. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in milk and dairy products from Libya: Isolation and molecular identification by partial sequencing of 16S rDNA. *Veterinary World*, 2016; 9 (11): 1184-1189.
40. Gonzalez-Escalona N, Toro M, Rump L, Cao G, Meng J, Nagaraja TG. Virulence gene profiles and clonal relationships of *Escherichia coli* O26:H11 isolates from feedlot cattle as determined by whole-genome sequencing. *Journal of Food Protection Supplement*, 2016; 77.

41. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohaemorrhagic *E. coli*, and the associated haemolytic uremic syndrome. Epidemiol. Rev, 1991; 13: 60-98.
42. Gümüşsoy GF, Gönülalan Z. Kayseri ilinde köy pazarlarında satılan taze peynirlerde Enterohemorajik *E. coli*O157:H7 suşunun araştırılması. Erciyes Univ Sağ Bil Derg, 2005; 14 (1): 13-19.
43. Halkman AK. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Diyarejenik *E. coli* Serotipleri. Ders Notu. 2013; 25-26.
44. Heescen WH. Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar. Ege Üniv Zir Fak Yay, İzmir, 1998: 97-114.
45. Houf K, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Assessment of the genetic diversity among arcobacters isolated from poultry products by using two PCR-based typing methods. Appl Environ Microbiol, 2002; 68, 2172-2178.
46. <https://www.iso.org/standard>. Erişim tarihi: 12.05.2019.
47. <http://www.thinglink.com/scene>. Erişim tarihi:14.04.2019.
48. Huang WC, Hsu BH, Kao PM, Tao CW, Ho YN, Kuo CW, Huang YL. Seasonal distribution and prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in different aquatic environments in Taiwan. Ecotoxicol Environ Saf, 2016; 124: 37- 41.
49. Hudson JA, Nicol C, Capill J, Bennet J. Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from Foods Using EHEC Agar. Lett Appl Mier, 2000; 30(2):109-113.
50. Hulton CSJ, Higgins CF, Sharp PM. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of 99 *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium and other enterobacteria. Mol. Microbiol, 1991; 5: 825–834.
51. Irrgang A, Falgenhauer L, Fischer J, Ghosh H, Guiral E, Guerra B, Schmoger S, Imirzalioglu C, Chakraborty T, Hammerl JA, Kasbohrer A. CTX-M-15-Producing *E. coli* isolates from food product in Germany are mainly associated with an *incF*-type plasmid and belong to two predominant clonal *E. coli* lineages. Front Microbiol, 2017; 8: 2318.

52. İzgür M. Koli infeksiyonları. In: İzgür M, Akan M (eds), Kanatlı Hayvan Hastalıkları Medisan Yayınevi, Ankara, 2002: 55-59.
53. Jenkins C, Evans J, Chart H, Willshaw GA, Frankel G. *Escherichia coli* serogroup O26 a new look at an old adversary. J Appl Microbiol, 2008; 104: 14-25.
54. Johnson R, Clarke RC, Wilson JB, Read SC, Rahn K, Renwick SA, Sandhu KA, Alves D, Karmali MA, Lior H, McEwen SA, Spika JS, Gyles CL. Growing concerns and recent outbreaks involving non-0157:H7 serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli*. J. Food. Protect, 1996; 59: 1112-1122.
55. Kaper JB, Karmali MA. The continuing evolution of a bacterial pathogen. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008; 105 (12): 4535-4536.
56. Karagözlü C, Kavas G. Alkollü fermente süt içecekleri: kefir ve kımızın özellikleri ile insan beslenmesindeki önemi. Dünya Yayınları Gıda Dergisi, 2000; 86-93.
57. Karapınar M, Gönül SA. Gıda kaynaklı hastalıklar. Ünlütürk A, Trantaş F, Mengi Tan (edt), Gıda mikrobiyolojisi. Edt Basınevi, 1998: 1: 109-164.
58. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stool, Lancet 1983; 619-620.
59. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (11. baskı). Hacettepe TAŞ, Ankara, 2005: 145-238.
60. Kundakçı A, Yücel A, Uylaşer V, Konca R, Can S. Soğuk koşullarda depolanan ve satışa sunulan piliç etlerinin mikroflorası ve kalitesi. II. Uluslararası Gıda Sempozyumu Bildiri Kitabı, Bursa, 1991: 91-200.
61. Leomil L, Pestana de Castro AF, Krause G, Schmidt H, Beutin L. Characterization of two major groups of diarrheagenic *Escherichia coli* O26 strains which are globally spread in human patients and domestic animals of different species. FEMS Microbiol Lett, 2005; 249: 335-342.

62. Maluelle A. Survival of verotoxigenic strain *E.coli* O157 in laboratory-scale microcosms coliforms and *E.coli* problem or solution, The Royal Society of Chemistry, 2000: 5-6.
63. Martin ML, Shipman LD, Wells GJ. Isolation of *E. coli* O157:H7 from dairy cattle associated with to cases of hemolytic uremic syndrome, Lancett ii, 1986; 1043.
64. Maurer JJ, Schmidt D, Petrosko P, Sanchez S, Bolton L, Lee MD. Development of primers to O-antigen biosynthesis genes for specific detection of *Escherichia coli* O157 by PCR. Appl Environ Microbiol, 1999; 65: 2954-2960.
65. Meng J, Schroeder CM. *Escherichia coli*. In: Simjee S, ed. Foodborne Diseases. New Jersey: Humana Press, 2007: 1-25.
66. Miszczycha SD, Ganet S, Duniere L, Rozand C, Loukiadis E. Thevenot-Sergentet D. Novel Real-Time PCR method to detect *Escherichia coli* O157:H7 in raw milk cheese and raw ground meat. J Food Prot, 2012; 75 (8): 1373-1381.
67. Mora A, Leon SL, Blanco M, Blanco JE, Lopez C, Dahbi G, Echeita A, Gonzalez EA, Blanco J. Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). Int J Food Microbiol, 2007; 114: 204-210.
68. Muştak HK, Günaydın E, Kaya IB. Phylo-typing of clinical *Escherichia coli* isolates originating from bovine mastitis and canine pyometra and urinary tract infection by means of quadruplex PCR. Veterinary Quarterly, 2015; 35 (4): 194-199.
69. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev, 1998; 11:142-201.
70. Nobili G, Franconieri I, Basanisi G, La Bella G, Tozzoli R, Caprioli A, La Salandra G. Short communication: Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk and mozzarella cheese in southern Italy. J Dairy Sci, 2016; 99 (10): 7877-7880.

71. Okrend AJG, Rose B, Lattuada CP. Use of 5-bromo-4-chloro-indoxyl-b-D-glucuronide in MacConkey sorbitol agar to aid in the isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef. J Food Protect, 1990; 53: 941-943.
72. Ombarak RA, Hinenoya A, Awasthi SP, Iguchi A, Shima A, Elbagory AR, Yamasaki S. Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. International Journal of Food Microbiology, 2016; 69-76.
73. Özbaş ZY, Aytaş SA. *Escherichia coli* O157:H7 epidemiyolojisi, gıdalarla ilişkisi, patojenitesi ve izolasyon yöntemleri. Türk Hij Biyol Derg, 1995; 52 (1): 47-53.
74. Öztürk R. Antimikrobik ilaçlara karşı direnç gelişme mekanizmaları ve günümüzde direnç durumu. Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar sempozyum dizisi, 2002; 31: 83-100.
75. Park S, Worobo R, Durst R. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen, A Literature Review. Crt Rev Food Sci Nutrition, 1999; 39 (6): 481-502.
76. Pedritis H, Kidder G, Ogram A. *E.coli* O157:H7, A potential health concern. University of Florida, 2002: 1-4.
77. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Diseases. Blackwell Science, USA, 2002: 168-172.
78. Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks. United States, Emerg Infect Dis, 2002; 11: 603-609.
79. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl J. Med, 1983; 308: 681-685.
80. Rola JG, Osek J. Milk and milk products as a source of food-borne infections caused by *Escherichia coli*. Medycyna Weterynaryjna, 2015; 71 (2): 84-87.

81. Sancak YC, İşleyici Ö, Durmaz H. Presence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in raw milk and Van herby cheese. Bull Vet Inst Pulawy, 2015; 59, 511-514.
82. Sarımeahmetoğlu B, Aksoy MH, Ayaz ND, Ayaz Y, Küplülü Ö, Kaplan YZ. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef using immunomagnetic separation and multiplex PCR. Food Control, 2009; 20: 357-361.
83. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. Emerg Infect Dis, 2011; 17: 7-15.
84. Sengupta S, Chattopadhyay MK, Grossart P. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Front Microbiol, 2013; 4 (47): 1-13.
85. Sharples GJ, Lloyd RG. A novel repeated sequence located in the intergenic regions of bacterial chromosomes. Nucleic Acids Res, 1990; 18: 6503-6508.
86. Şanlı Y. Besinlere yansıyan veteriner ilacı kalıntıları ve denetimi veteriner klinik farmakoloji ve ilaçla sağaltım ilkeleri (3. baskı). Özkan Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 1999: 1049-1052.
87. Şeker E, Yardımcı H. First isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from faecal and milk specimens from Anatolian water buffaloes (*Bubalus bubalus*) in Turkey. Journal of the South African Veterinary Association, 2008; 79 (4): 167-170.
88. Thorns CJ. Bacterial food-borne zoonoses. Re Sci Tech Off int Epiz, 2000; 19 (1): 226-239.
89. Tosun H, Aktuğ GŞ. *E.coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalardaki önemi. Orlab Online Mikrobiyolojisi Dergisi, 2003; 10 (1): 10-17.
90. Töreci K. *Escherichia* türleri. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M (eds), Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, (2. baskı), Cilt 2, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2002: 1564-1574.
91. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji, (4. baskı), Asya Tıp Kitapevi, İzmir, 2005: 19-60.
92. Türk Gıda Kodeksi, T.C. Resmi Gazete, 27 Şubat 2019, sayı: 30699.

93. Türk Gıda Kodeksi, T.C. Resmi Gazete, 08 Şubat 2015, sayı: 29261.
94. Türk Gıda Kodeksi, T.C. Resmi Gazete, 16 Şubat 2009, sayı: 27143.
95. Türk Gıda Kodeksi, T.C. Resmi Gazete, 06 Şubat 2009, sayı: 27143.
96. Türk Gıda Kodeksi, T.C. Resmi Gazete, 12 Nisan 2005, sayı: 25784.
97. Türk Standartları Enstitüsü TS 10935, Yoğurt Yapım Kuralları, Ankara, 1993.
98. Ünal RN, Besler T. Beslenmede sütün önemi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyet Dergisi, 2008; 3-8.
99. Wasteson Y. Zoonotic *Escherichia coli*. Acta Vet Scand, 2002; 43 (1): 79-84.
100. Wearatna RD, Doyle MP. Detection and production of verotoxin 1 of *Escherichia coli* O157:H7 in food. Appl Environ Microbiol, 1991; 57 (10): 2951-2955.
101. Whipp SC, Rasmussen MA, Cray WC. Animals as a source of *Escherichia coli* pathogenic for human beings. J Am Vet Med Assoc, 1994; 204:1168-1175.
102. Whittam TS, Wolfe ML, Wachsmuth IK, Orskov F, Orskov I, Wilson RA. Clonal relationships among *Escherichia coli* strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhoea. Infect. Immun, 1993; 61: 1619-1629.

Tez İntihal Raporu

SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİNDE ESCHERICHIA COLI O26, O111 ve O157 VARLIĞI, İZOLATLARIN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI ve MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

%**11**
BENZERLİK ENDEKSİ

%**9**
İNTERNET
KAYNAKLARI

%**7**
YAYINLAR

%
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- | | | |
|----------|--|------------|
| 1 | AYDIN, Fuat, İÇA, Tuba and YONTAR, Ayşegül. "Kayseri yöresinde süt sığırlarında escherichia coli o157:h7'nin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle araştırılması", Fırat Üniversitesi, 2010.
Yayın | % 2 |
| 2 | ercivet.erciyes.edu.tr
İnternet Kaynağı | % 1 |
| 3 | tmc.dergisi.org
İnternet Kaynağı | % 1 |
| 4 | DATLI, Sabri and ERTAŞ ONMAZ, Nurhan. "Bir Büyükbaş Hayvan Kesimhanesinde Escherichia coli O157:H7 Varlığının IMS-PZR Teknikleri İle Araştırılması", Selçuk Üniv. Veteriner Fakültesi, 2018.
Yayın | % 1 |
| 5 | www.istanbulsaglik.gov.tr
İnternet Kaynağı | % 1 |

6	members.wto.org İnternet Kaynağı	%1
7	food.eng.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
8	acikders.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
9	veteriner.fusabil.org İnternet Kaynağı	%1
10	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
11	vfdergi.yyu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
12	organiksut.blogspot.com İnternet Kaynağı	%1

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Demet ÖZTEKİN

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 4 Eylül 1991, Kayseri

Medeni Durumu: Bekar

Tel: 05061078466

Elektronik posta adresi: dytdemetztkn@gmail.com

Adres: Gültepe Mah. Köşk Cad. Bahçekent Sit. A Blok 14/43 Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Ege Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2014
Lise	Sema Yazar Anadolu Lisesi	2009

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014- Halen	Erciyes Üniversitesi Mustafa Eraslan-Fevzi Mercan Çocuk Hastanesi	Diyetisyen

YABANCI DİL

İngilizce