

T.C.

**GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜKETİME SUNULAN BAZI GIDALARDA
Escherichia coli
PREVALANSI VE ÖNEMİ**

**Aydın TEKE
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GEBZE
2004**

ÖZET

Bu çalışmada insan sağlığı için büyük risk oluşturan enterik patojenlerin indikatörü olan *E. coli*' nin gıdalar içinde önemli yer tutan sofralarımızda eksik etmediğimiz çiğ süt bazlı peynirlerdeki varlığı araştırılmıştır. Hayvansal kaynaklı gıdalar özellikle çiğ süt ve süt ürünleri *E. coli* açısından büyük riskler taşımaktadır. Et ürünleri kadar olamasa da süt ürünlerinden de pek çok gıda zehirlenmesi olayı bildirilmektedir.

Çalışmada numunenin gramındaki *E. coli* sayısının yanında toplam koliform ve fekal koliform sayıları da tespit edilmiştir.

Başta semt pazarları olmak üzere çeşitli kaynaklardan alınan 10 adet beyaz peynir, 10 adet çökelek peyniri ve 10 adet lor peyniri olmak üzere toplam 30 adet peynir numunesi koliform grubu ve *E.coli* varlığı yönünden incelenmiş ve tüm numunelerin % 73,3' ünde *E. coli* tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmaların varlığı ve sayılarının tespiti sayesinde günlük yaşantımızda önemli yer tutan bu gıda türünün büyük oranda hastalık riski taşıdığı ve kalitesinin düşük olduğu söylenebilir.

SUMMARY

E. coli is a harmful bacteria for people healthy, is frequently contaminating organism, and is reliable indicator of fecal pollution. In this study, *E. coli* was researched in raw milk cheeses the daily product. The foods of animal source, especially milk and milk products carried risk for *E. coli*. Not to be like the meat products, the milk products causes food spoilage and food poisoning.

In this study, in addition total coliform counts and fecal coliform counts beside the *E. coli* counts in all the samples was determinated.

30 samples some kinds of cheeses was collected different market places and were examined for the presence of total coliform, fecal coliform and *E. coli*. *E. coli* contamination was recorded from the samples in 22 out of 30 each (73.3 %). The positive samples having counts in the undesirable range and potentially hazardous. According to these results the total counts of the microorganisms are caused illness and food spoilage.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve kılavuzluk eden değerli hocam Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN hocama teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarım sırasında rehberim olan Özlem ASKER' e, Arş. Görevlisi Tuğrul DORUK, Çiğdem İLERİ ve Mine Gül ŞEKER' e teşekkürü bir borç bilirim. Destek ve yardımlarıyla tezime katkıda bulunan Dr. İsa KARAMAN ve Necmettin GÜNAY' a da teşekkür ederim.

Tezimin uygulama ve yazım aşamasında bana sürekli destek olan hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili eşim Tutku TUNÇ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Escherichia coli</i> ve Özellikleri	3
2.1.1. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	5
2.1.2. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	6
2.1.3. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	6
2.1.4. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	7
2.1.5. Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAggEC)	9
2.2. <i>Escherichia coli</i> ‘nin Neden olduğu Hastalıklar ve Tedavi	9
2.2.1. <i>Escherichia coli</i> ‘nin Barsaklarda Oluşturduğu Hastalıklar	9
2.2.2. <i>Escherichia coli</i> ‘nin Barsak Dışında Oluşturduğu Hastalıklar	11
2.2.3. Tedavi	12
2.3. <i>Escherichia coli</i> Kökenli Hastalıkların Tarihsel Gelişimi	13
2.4. <i>Escherichia coli</i> ‘nin Gıda Maddelerinde Varlığı	15
2.5. <i>Escherichia coli</i> ‘nin İzolasyon ve İdentifikasyonu	17
2.6.1. Indol Testi	18
2.6.2. Metil Red ve Voges-Proskauer Testi	18
2.6.3. Sitrat (Citrate) Testi	19
2.6. <i>Enterobacter aerogenes</i>	20

3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Örneklerin Toplanması	23
3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Ekipman	23
3.1.2.1. Besiyerleri	23
3.1.2.2. Laboratuar Malzemeleri ve Ekipman	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması	24
3.2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon	24
3.2.2.1. Indol Testi	25
3.2.2.2. Methyl Red (Metil Kırmızısı) Testi	26
3.2.2.3. Voges - Proskauer Testi	26
3.2.2.4. Sitrat Testi	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	33
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

T.S.	Türk Standardı
T.S.E.	Türk Standartları Enstitüsü
MPN	Most Probable Number
EMS	En Muhtemel Sayı
IMViC	Indol-Metil red-Voges proskauer-Citrate
MCB	MacConkey Broth
ECB	Escherichia coli Broth
EMBA	Eosin Methylene Blue Agar
NA	Nutrient Agar
SCA	Simmons Citrate Agar
MR	Metil Red
VP	Voges Proskauer
KOH	Potasyum Hidroksit

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>E. coli</i> Biyotip I ve Biyotip II ‘nin biyokimyasal test sonuçları	4
2.2. Barsak enfeksiyonlarına neden olan <i>E. coli</i> virotiplerinin özellikleri	12
2.3. <i>E. coli</i> ’ nin neden olduğu bildirilen bazı önemli salgınlar	14
4.1. Lor peynirlerde toplam koliform, fekal koliform ve <i>E. coli</i> sayıları	28
4.2. Çökeleklerde toplam koliform, fekal koliform ve <i>E. coli</i> sayıları	29
4.3. Beyaz peynirlerde koliform, fekal koliform ve <i>E. coli</i> sayıları	30
4.4. Saptanan <i>E. coli</i> pozitif numune sayıları ve yüzdeleri	31
4.5. Koliform, fekal koliform ve <i>E. coli</i> pozitif numunelerinin karşılaştırılması	31
5.1. <i>E. coli</i> biyotipleri <i>Enterobacter aerogenes</i> ’ in biyokimyasal reaksiyonlarının sonuçları	34

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. EMB Agar Plağında üreyen <i>E. coli</i> ve <i>E. aerogenes</i>	21
2.2. MR Testi uygulanan <i>E. coli</i> ve <i>E. aerogenes</i>	22
2.3. Simmons Citrate Agar tüpleri (<i>E. coli</i> ve <i>E. aerogenes</i>)	22

1. GİRİŞ

İnsanoğlu yaşamını sürdürebilmesi için besin maddelerini almak zorundadır. Bu besin maddelerindeki besin unsurlarının dengeli olması ve yeterli oranda alınması gerekir. Bu sayede sağlıklı bir yaşam sürdürmek mümkün olur. Ancak tüketilen besin maddelerinin hijyenik kalitesi de önemlidir. Eğer hijyenik kalitesi düşük bir gıda maddesi tüketiliyorsa, bir gıda zehirlenmesi olayı ortaya çıkabilir. Aynı zamanda gıda maddesinde bulunan mikroorganizmalara bağlı olarak gıdanın bozulması söz konusu olabilir. Bu sayede ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır.

Alınan bütün önlemlere rağmen gıda zehirlenmelerindeki artış gıda sanayinde indikatör mikroorganizmaların önemini artırmıştır. İndikatör mikroorganizmalar, gıdaların mikrobiyolojik kalitesi, raf ömrü ve patojen mikroorganizma hakkında bilgi vermektedir. İndikatör mikroorganizmalar ikiye ayrılmaktadır:

1- Kaliteli gıda indikatörü

2- Güvenli gıda indikatörü

Kaliteli gıda indikatörü denildiğinde, ürünün mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü hakkında bilgi edinebileceğimiz, üründe belirli seviyelerde bulunan indikatör mikroorganizma ve/veya onların metabolik ürünleri tanımlanmaktadır. Bu veriler yardımıyla ürünün kalitesi ve raf ömrü hakkında bilgilere sahip olunur. İndikatör mikroorganizmaların sahip olması gereken özellikler aşağıda verilmiştir: (Jay, 1992)

- Her gıdada bulunmalı ve belirlenebilir olmalı
- Gelişmeleri ve sayıları ile gıdanın kalitesi arasında ters bir ilişki bulunmamalı
- Kolayca belirlenebilir ve sayımı yapılabilir olmalı ve diğer mikroorganizmalardan açıkça ayrılabilmesi
- Sayımları kısa bir zaman diliminde yapılabilmesi
- Gelişmesi diğer mikroorganizmalardan ters olarak etkilenmemelidir.

İndikatör mikroorganizmalar, daha çok kalite belirlemek yerine gıdanın güvenliği ve sanitasyonu için kullanılmaktadır. Bir gıdanın güvenliğini tespit etmek amacıyla kullanılan mikroorganizma, kolay ve çabuk belirlenebilmelidir. Florada bulunan diğer mikroorganizmalardan kolaylıkla ayırt edilebilmelidir. Canlılık süresi en az patojenler kadar olmalı ve dayanıklılığı patojenlerden daha fazla olmalıdır. (Jay, 1992)

Gıda sanayinde güvenli gıda indikatörü olarak kullanılan mikroorganizmaların en güvenlilerinden birisi *E. coli*' dir. *E. coli*, uzun zamandır tanınan ve belli koşullarda insanlarda rahatsızlıklara yol açtığı bilinen *Enterobacteriaceae* familyasına ait bir türdür. Ayrıca *E. coli*, fekal bulaşmanın ve enterik patojenlerin bulunma riskinin göstergesidir. Bu nedenle herhangi bir işlem uygulanmadan tüketilecek gıdalarda bulunması kesinlikle istenmemektedir. Tüketilmeden önce ısıtılacak gıdalarda ise çok düşük bir seviyede bulunması kabul edilebilmektedir. *E. coli* hem gıdanın güvenliği hem de işletme temizliği ve çalışma şartları hakkında bilgi verdiği için önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise bu organizmanın bazı tiplerinin insanlarda gıda zehirlenmelerine, ağır enfeksiyonlara ve hatta vücut direnci düşük olan insanlarda ölümlere neden olduğunu ortaya koymuştur (Jay, 1992).

Bu çalışmada hem gıda güvenliği hem de halk sağlığı açısından önem taşıyan *E. coli* bakterisinin gıdalar içinde önemli yer tutan sofralarımızda eksik etmediğimiz çiğ süt bazlı peynirlerdeki varlığı araştırılacaktır. Böylece, çiğ sütün alınması , peynire dönüştürülmesi, taşınması ve muhafazası sırasında maruz kaldığı şartlar açıkça ortaya konulabilecektir. Gıda zehirlenmesine neden olabilecek sayıda mikroorganizma içeren gıdalar da tespit edilmiş olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli* ve Özellikleri

E. coli, ilk kez Dr. Theodor Escherich tarafından 1885’ de tanımlanmış ve bu bakteriye *Bacterium coli commune* adı verilmiştir. 1920’ de cins adı değiştirilmiş, *Bacterium* yerine *Escherichia* kullanılmaya başlanmıştır (Kauppi, 1996).

E. coli yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda, 1,0-1,5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak, çomak şeklindedir. Kültürlerde koka benzer küçük, kısa şekilleri veya uzun şekilleri bulunabilir. *E. coli* suşları hareketlidir. Hareketsiz olan suşları da vardır. Bakteriyolojide kullanılan boyalarla iyi boyanır ve gram negatiftir (Akçelik, 2000).

Kan, serum, asit sıvısı, glikoz gibi maddeler ilave edilmiş adi besiyerlerinde kolay ürerler. En iyi üreme ısısı 37 °C ve pH 7 - 7,2’dir. Fakat 20 °C - 44 °C’de de ve pH 5 - 8 arasında da ürer (Akçelik, 2000).

Buyyonda, peptonlu suda bol ürer, homojen bir bulanıklık görülür. Dipte hafif bir çökelti oluşturur ve tüp çalkalanınca kolaylıkla dağılır. Adi agarda 2 – 3 mm çapında, hafif kabarık, yuvarlak kenarları düzgün gri – beyaz koloniler oluşur. Kanlı agarda hafif nemli görünümlü, 1 – 2 mm çapında gri koloniler oluşturur. Mac Conkey’de kuru, pembe – kırmızı, EMB agarda ise metalik koloniler oluşturur (Cengiz,1999).

Doğrudan dışkı kaynaklı bir mikroorganizma olduğu için toplam *Enterobacteriaceae* sayısından daha uygun bir indikatördür ve gıda sanayinde bu amaçla izolasyonu önem taşımaktadır. *E. coli* suşları genellikle insan kalın barsağında bulunan zararsız mikroorganizmalardır. Ancak bazı suşları patojen özellik taşımaktadır. (Cengiz,1999).

E. coli’ nin bazı suşlarının patojen olduğu bilinmekle beraber, bu bakteri, yakın zamana kadar gıda patojeni olarak kabul edilmemektedir. Ancak bazı salgınlarda

E. coli' nin tek saf kültür olarak saptanması, aynı *E. coli* tipinin hasta ve şüpheli gıdalardan izole edilmesi, hastalık sırasında klinik örneklerde *E. coli*' nin belirli bir sayıya yükselip hastalık sonrasında düşmesi gibi delillerin ortaya konması, bu bakterinin patojenik potansiyelinin anlaşılmasına yol açmıştır (Gönül ve Karapınar, 1984).

E. coli' nin patojen suşları çok çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Bunlar; diyareye yol açan enfeksiyonlar, idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, sepsisemi, arteroskleroz, hemolitik üremik sendrom ve romatoid artrit gibi hastalıklardır. *E. coli* insanlarda, sepsisemi ve genitoüriner yollar enfeksiyonlarında en sık rastlanan mikroorganizmadır. Menenjit etkeni olarak da bu bakteri, dördüncü sırayı almaktadır. (Ustaçelebi, 1999)

Tablo 2.1. *E. coli* Biyotip I ve Biyotip II 'nin biyokimyasal test sonuçları

<u>TEST</u>	<u>Biyotip I</u>	<u>Biyotip II</u>	Tüm <i>E. coli</i>' lerin pozitiflik yüzdesi
Glucose	+	+	100
Lactose	+	+	88
Sucrose	-	+	42
Maltose	+	+	98
Mannitol	+	+	99
Adonitol	-	-	3
Inositol	-	-	1
Salicin	-	-	0
Xylose	+	+	97
Arabinose	+	+	99
Cellobiose	-	-	0
Dulcitol	+	-	50
Sorbitol	+	+	95
Raffinose	-	-	20
Rhamnose	+	+	91
Trehalose	+	+	99
H ₂ S	-	-	0

Indole	+	+	99
Hareketlilik	+	-	67
Gluconate	-	-	0
Malonate	-	-	0
Citrate	-	-	0
Urease	-	-	0
Gelatin	-	-	0
Dnase	-	-	0
Oxidase	-	-	0
Lysin decarboxylase	+	+	92
Ornithine decarboxylase	+	+	74
Beta-glucuronidase	+	+	96

E. coli, virulans özellikleri, intestinal mukozayla ilişkileri, epidemiyolojileri, klinik sendromları ve serogruplarındaki farklılıklar göz önüne alınarak 5 temel grupta incelenmektedir (Ünlütürk, 1999).

2.1.1. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

EPEC bebeklerde ishal ve yüksek ölüm oranıyla karakterizedir. 1940 ve 1950' li yıllarda ABD' nde % 50' lere ulaşan bir ölüm oranıyla dikkatleri üzerine çekmiştir. Hijyen standartlarının gelişmesiyle birlikte gelişmiş ülkelerde yaygınlığı azalmıştır. Ancak gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde bebek ve çocuk ishalinin önde gelen nedenlerinden biridir. Yetişkinlerde seyrek görülmekle birlikte taşıyıcı oranı yüksektir. Buradan yola çıkılarak yetişkinlerin EPEC suşlarına karşı bağışıklık kazanabildiği düşünülmektedir. Bununla birlikte çocukların yanı sıra yetişkinleri de etkileyen önemli salgınlar bildirilmiştir. Bu salgınlarda klorlanmamış et suyu, et ve etli börek tipi gıdalar sorumlu olarak belirlenmiştir (Ünlütürk, 1999).

EPEC suşları toksin üretebilme yeteneğindedir. Ancak patojenitesinde toksinlerden ziyade etkenin barsak epitel hücrelerine yapışarak orada kolonize olması etkilidir. Bunun sonucunda mikrovillusları tahrip ederek ishale neden olur. Oluşan

ishal pirinç suyu görünümünde ve mukusludur. Hastalığın ilk semptomlarının oluşumu 17-72 saat sürer. Hastalık süresi 6 saat-3 gün kadardır. İshalin yanı sıra bulantı, karın ağrısı, kusma, baş ağrısı ve ateş de görülür (Ünlütürk, 1999).

2.1.2. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC grubuna dahil suşların 1940' lı yıllardan itibaren insanlarda ateş kramplar, kan ve mukus içeren ishalle karakterize olaylara yol açtığı belirtilmektedir. Başlıca rezervuarı insandır. Hastalıklı kişiler ve kontamine sular kontaminasyon kaynakları olarak önemlidir. Brie ve Camambert peyniri, patates salatası çeşitli çalışmalarda sorumlu gıda olarak bulunmuştur. Hastalık oluşturabilmesi için gerekli enfektif dozun oldukça yüksek olduğu (yaklaşık $10^6 - 10^8$ kob/g) belirtilmiştir. İnkübasyon süresi 8-24 saat arasında değişmekle beraber ortalama 11 saattir. Hastalık birkaç gün sürebilmektedir (Ünlütürk, 1999).

EIEC suşlarının oluşturduğu enfeksiyonun mekanizması *Shigella* suşlarıncı oluşturulan dizanteriye benzer. Etken kolon epitel hücrelerine nüfus eder ve burada çoğalır. Buradan yakındaki epitel hücrelerine yayılır. Böylece kolon ülserasyonu ve kanlı ishal oluşur.

EIEC suşları Shiga-benzeri toksin olarak adlandırılan bir veya daha fazla toksin oluşturabilen genlere sahiptir. Bu toksinler SLT I ve SLT II olarak gruplandırılmıştır. EIEC enfeksiyonlarından sorumlu tutulan 11 farklı serotip için de en yaygın olanı O124 serotipidir. Bunun dışında O28ac, O29, O136, O143, O152, O164 ve O167 önemli serotiplerdir.

2.1.3. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

ETEC suşları turist ishalinin en yaygın sebebidir. İyi hijyenik standartlara sahip olan ülkelere hijyenik standartları düşük ve iklimi sıcak olan ülkelere giden kişilerde sıklıkla görülmektedir. Seyahatlerde oluşan ishallerin yaklaşık % 60 – 70'inin ETEC suşlarıncı oluşturulduğu bildirilmiştir. Bebek ve çocuklarda önemli bir ishal nedenidir. Gelişmekte olan ülkelere yaşayan bir çocuğun 2-3 yaşına

kadar 2-3 ETEC enfeksiyonu geçirdiği belirtilmektedir. Ayrıca etkeni taşıyan ve sağlıklı gözükten portör kişilere de sıklıkla rastlanabilmektedir.

Su ve kontamine suyla temas eden çiğ sebzeler, peynir, mayonez, hazır gıdalar da hastalıktan sorumlu tutulmaktadır. İnsanlarda ETEC enfeksiyonunun şekillenebilmesi için tüketilen gıda maddelerinin gramında yaklaşık 10^6 veya daha fazla etkenin alınması ve ince barsak mukozasıyla temas etmesi gerekmektedir. Şekillenen enfeksiyon *Vibrio cholerae*' nın oluşturduğu enfeksiyona benzer. Etken ince barsağa ulaştığında epitel hücrelerin yüzeylerine kolonize olur ve toksin üretir. Isıya dayanıklı (ST) ve ısıya dayanıksız (LT) iki enterotoksine bağılı olarak ishal, dehidrasyon ve bazen kusma ile şekillenir. Isıya dayanıksız toksin(LT) immünolojik özellikleri açısından *V. cholerae*' ya benzer ve kolera antitoksini ile nötralize edilebilir. LT protein yapısında olup 60°C' de 30 dakikada inaktive edilebilir. Yüksek molekül ağırlıklıdır ve adenilat siklaz' ı uyarır. Isıya dayanıklı toksin(ST) ise düşük molekül ağırlıklıdır ve ısının yanı sıra proteolitik enzimlere, nükleazlara, lipazlara ve organik çözücülere de dirençlidir. Bu toksin, 18 aminoasitten oluşan peptid yapısındadır, antijenik özellik göstermez ve guanilat siklazı uyarır. Toksin, aminoasit kompozisyonu ve biyolojik özellikleri farklılık gösteren iki gruba ayrılır. Hastalık süresi 3-19 gün kadardır. Sulu ishalin yanı sıra ateş, abdominal kramplar, bulantı gibi semptomlar görülebilir (Ünlütürk, 1999).

2.1.4. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura gibi hastalıklara neden olabilmesi EHEC suşlarının diğeri *E. coli* suşlarına nazaran daha önemli kabul edilmeleri sonucunu doğurmuştur. EHEC suşlarının başlıca rezervuarı sığırlar, özellikle genç sığırlardır. Özellikle az pişmiş etlerin ve pastörize edilmemiş sütlerin tüketimiyle insanlara geçebilmektedir. Kontamine su salgınlara yol açabilmektedir. Bunun dışında pek çok gıda, enfeksiyonun oluşumuna neden olabilmektedir. İlk semptomların oluşumu 3-9 gün sürer. Hastalık süresi ise 2-9 gün kadardır (Reitsma, 1996).

Tüm EHEC suşları *Shigella* benzeri toksin = Shiga toksin ürettiklerinden STEC olarak da anılırlar. Stx 1 ve Stx 2 toksinlerini determine eden genler fajlar üzerinde bulunmaktadır. Ayrıca ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1) ve serinproteazlar da diğer virülens faktörler arasındadır (Abdul-Rauf, 1996).

Sulu diyarenin sorumlusu olan EAST 1 geni, araştırılan Enterovirulent grubun diğer alt gruplarında yer alan bir çok serotipte de gösterilmiştir. Bununla birlikte EHEC grubunda araştırılan O157:H7 suşlarının tamamında (% 100) bu gen bulunmuştur. Bu grubun başka bir özelliği de Vero (Afrika yeşil maymun böbreği) doku kültürlerinde hücrelere sitotoksik etki yapan toksin üretmesidir. Bu toksin Shigatoksine ile identiktir. Bu nedenle toksin oluşturan *E. coli* (VTEC) adıyla da anılmaktadır. Çünkü Stx 1 ve Stx 2 gibi ayrıca verotoksini determine eden spesifik bir gen belirlenememiştir (Abdul-Rauf, 1996).

EHEC grubunun gıda kaynaklı tek patojeni *E. coli* O157:H7 dir. *E. coli* O157:H7' nin minimum üreme sıcaklığı 8°C, maksimum üreme sıcaklığı ise 44.0 – 45.0 °C' dir (Optimum üreme sıcaklığı 37°C). Bu bakterinin ısıya karşı tipik *E. coli* suşlarına nazaran daha dirençli olduğu belirtilmektedir. Ayrıca patojenik *E. coli*, 5.4 ve altındaki pH değerlerinde üreyemediği ancak *E. coli* O157:H7' nin düşük pH' lı ortamlara karşı daha dayanıklı olduğu ve bunda da mevcut asidin tipinin etkili olduğu aktarılmaktadır. Yapılan bir çalışmada en az 5 saat süreyle pH 3.0 ve pH 2.5 düzeylerindeki ortamlarda canlılık kaybı gözlemediği bildirilmektedir. *E. coli* O157:H7 suşu, % 6.5 tuz içeren sıvı besiyeri ortamında yavaş da olsa üreyebilmekte, ancak % 8.5 tuz içeren ortamda üreyememektedir (Cebiroğlu, 1998).

Gama ışınlama yöntemi ile gıdaların korunması gelişmiş ve gelişmekte olan bir çok ülkede yaygın olarak kullanılan bir uygulamadır. Termal inaktivasyonun aksine düşük dozlarda ışınlama gıda maddesinin duyu özelliklerine önemli bir etki yapmamaktadır. Diğer patojenlerin yanı sıra *E. coli* O157:H7 nin kontrolünde de iyonize radyasyonun etkili olabileceği, farklı dozlarda verilen gama ışınlarının etkeni öldürdüğü, artan dozla beraber ölüm oranının da arttığı belirtilmektedir.

2.1.5. Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC)

Savarino ve ark. tarafından 1996 yılında yapılan bir çalışmada ortaya çıkarılan farklı bir gruptur. LT veya ST üretmeyen ve diğer gruplara benzemeyen *E. coli* suşlarıdır. EAggEC'lerin % 50 sinde virulens faktör olarak ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1) bulunmuştur (Ustaçelebi, 1999).

2.2. *Escherichia coli* 'nin Neden olduğu Hastalıklar ve Tedavi

E. coli, normal barsak florasını oluşturan bakteriler arasında yer almaktadır. Barsaklarda diyare oluşturan suşları dışında, kommensal olarak yaşarlar. Ancak vücutta başka bir organa ya da dokuya geçtiklerinde enfeksiyonlara neden olurlar. *E. coli*'nin oluşturduğu hastalıklar barsaklarda oluşan ve barsak dışında oluşan hastalıklar olmak üzere ikiye ayrılabilir (Ustaçelebi, 1999).

2.2.1. *Escherichia coli* 'nin Barsaklarda Oluşturduğu Hastalıklar

Barsaklarda hafif diyareden, kolera benzeri ağır sıvı kayıplarıyla seyreden ishale, ya da beraberinde hemolitik üremik sendrom gibi hayatı tehdit eden komplikasyonları olan kanlı ishale kadar ağırlığı değişen gastrointestinal hastalıklara 4 farklı *E. coli* grubu neden olmaktadır (Bilgehan, 1992).

ETEC suşları; gelişmekte olan ülkelerde 2 yaşın altındaki çocuklarda ve bebeklerde bakteriyel diyarenin en önemli nedenidir. ETEC suşlarının yaygın olarak bulunduğu Hindistan gibi ülkelerde toplumun önemli kısmı bağışıktır. Bölgeye dışarıdan gelen erişkinlerde diyare oluşur ve bu yüzden turist hastalığı da denir. Turist diyaresi, gelişmekte olan ülkelere seyahat eden kişilerde görülür (Bilgehan, 1992).

ETEC enfeksiyonu, kontamine su ve yiyeceklerin ağız yoluyla alınması sonucu ortaya çıkar. Kötü hijyen, kötü su kaynakları yayılma ve bulaşmada önemlidir. Sağlıklı kişilerde $10^6 - 10^8$ germ (hastalık etkeni mikroorganizma) hastalığı başlatabilir(Ustaçelebi, 1999).

ETEC ile meydana gelen kendisini sınırlayan tablo; kansız sulu diyare, bulantı, karın ağrıları-krampları ve düşük ateşle seyreder. Mukozaya penetrasyon (delme) ve invazyon (etkenin yayılması) yoktur (Ustaçelebi, 1999).

EPEC suşları; ateş, kusma, mukuslu – kansız – sulu diyare ile seyreder. İlk olarak 1955’ te tanımlanmıştır. Bebeklerde ve 2 yaşın altındaki çocuklarda sık görülür. Hastanelerde, bebek servislerinde ve kreşlerde salgınlara yol açar. Erişkinlerde nadiren görülür(Ustaçelebi, 1999).

EIEC suşları ; direkt olarak kolon mukozasına invazyon yapar, epitel hücreleri içinde çoğalır ve epitel hücrelerini tahrip eder. *Shigella*’nın yaptığı dizanteri gibi ince barsak iltihabı oluşturur. Ateş, kanlı-mukuslu tipik dizanteri veya sulu diyare yapar. Gelişmekte olan ülkelerde de gelişmiş ülkelerde de diğer *E. coli* diyarelerine oranla seyrek görülür(Ustaçelebi, 1999).

EHEC suşları ; kanlı diyareye ve hemolitik üremik sendroma yol açar. Su ve gıda kaynaklı enfeksiyonlardır. Yaşlı bakım evleri ve çocuk yuvalarında salgınlara neden olurlar. EHEC suşları lizojen bir bakteriyofaj tarafından kodlanan, vero hücrelerine toksik etki gösteren, protein sentezini inhibe eden, Shiga-toksin benzeri “verotoksin” salgırlarlar. Bilinen tek bir EHEC serotipi vardır: O157:H7. Kuzey Amerika ve Avrupa’ da sık görülmekte ve salgınlar yapmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

EAggEC suşları; dünyanın bir çok yöresinde kronik diyarelerde görülmektedir. Her yaşta görülür fakat çocuklarda sulu diyare, kusma, dehidratasyon ve nadiren karın ağrıları, ateş ve kanlı dışkı yapar (Ustaçelebi, 1999).

2.2.2. *Escherichia coli* ‘ nin Barsak Dışında Oluşturduğu Hastalıklar

Bunlar Üriner yol enfeksiyonları, Solunum yolu enfeksiyonları, Menenjit (özellikle yeni doğan bebeklerde) ve Bakteriyemi’ dir (Tast, 1997).

Üriner yol enfeksiyonlarının en sık rastlanan etkeni *E. coli*’ dir. Komplike olmayan idrar yolu iltihabı, sistit(mesane iltihabı) ve böbrek iltihabına neden olur. *E. coli* ile oluşana komplike olamayan enfeksiyonlar, kadınlarda sık görülür. Komplike üriner sistem enfeksiyonlarına katkıda bulunan en önemli konak faktörü, normal üriner akımın tıkanması veya sonda gibi yabancı cisim varlığıdır(Tast, 1997).

Solunum yolu enfeksiyonları hastane kaynaklı olabilir. Hastane kaynaklı zatürreelerde % 12 – 50 oranında etken *E. coli*’dir. Çoğu hastalar 50 yaşın üzerindedir ve altta yatan bir kronik hastalıkları vardır. *E. coli*, ağız salgılarının dışarıya atılmasıyla veya bakteriyemi sırasında solunum sistemine, akciğerlere ulaşır. Ampiyem gelişir. Kronik hastalığın varlığı nedeniyle tablo ağırdır (Tast, 1997).

Yeni doğan menenjiti, K1 kapsül antijeni taşıyan *E. coli* suşları tarafından oluşturulur. Yeni doğanlar *E. coli* ve B grubu streptokoklarla oluşan bakteriyel menenjitlere yatkınlık gösterirler. *E. coli* nadiren yaşlılarda menenjit yapabilir. Ölüm oranı % 40-80 arasındadır (Tast, 1997).

E. coli fırsatçı bir patojendir. Yara enfeksiyonlarına, apendiks yırtılması sonucunda karın zarı iltihaplarına yol açabilir. Diğer fırsatçı patojenlerde olduğu gibi ilk enfeksiyon bölgelerinin herhangi birinden kana karışarak, bakteriyemi yapabilir. Hastane kaynaklı gram negatif bakteri sepsislerine (ateş ve titreme) en sık yol açan etkenlerdendir. Endotoksik şok gelişmesi ortaya çıkabilir (Tast, 1997).

2.2.3. Tedavi

Barsak enfeksiyonlarının tedavisinde ilk yaklaşım, kaybedilen sıvı ve elektrolitlerin yerine konmasıdır. Kaybedilen sıvı miktarına göre oral veya damar içi tedavi uygulanmalıdır. Barsak enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisi kesinlik kazanmamıştır. EIEC suşlarının oluşturduğu tabloda antibiyotik tedavisinin yararlı olacağı düşünülmektedir (Ustaçelebi, 1999).

Barsak dışı *E. coli* enfeksiyonlarında ise antibiyotik tedavisi gereklidir. Bu enfeksiyonların bir bölümünün hastane enfeksiyonu olması ve dirençli suşlarla gelişmiş olma olasılığı nedeniyle, antibiyotik duyarlık testi sonucuna ve hastanın kliniğine uygun antibiyotik, yeterli süre ve dozda uygulanmalıdır (Ustaçelebi, 1999).

Tablo 2.2. Barsak enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* virotiplerinin özellikleri

Virotip	Patogenez	Barsak Enfeksiyonu	Kliniği	Yaş grubu	Risk faktörü
ETEC	LT ve ST	Bebek ve Turist diyaresi	Bol sulu diyare, kramplar, bulantı, dehidratasyon	< 2 yaş Erişkinler	Endemik ve gelişmekte olan ülkelere seyahat
EPEC	Barsak epiteline tutunma	Akut diyare	Bol sulu diyare, ateş,kusma, mukuslu dışkı	< 2 yaş Erişkinler	Bebek servisleri ve kreşler
EIEC	Barsak mukozasına yayılma, üreme ve yıkım	Dizanteri	Kanlı, mukuslu dışkı, dışkıda bol lökosit,karın ağrısı, kramp, ateş	Erişkinler	Endemik bölgeye seyahat
EHEC	Shiga benzeri toksin (verotoksin)	Diyare, hemorajik kolit	Lökositsiz diyare, karın ağrısı, kanlı dışkı, ateş	Çocuklar	Az pişmiş et tüketimi, kontamine su, hayvansal gıdalar
EAggEC	Bilinmiyor	Kronik ve akut diyare	Sulu diyare, kusma, dehidratasyon	Tüm yaşlar	Bilinmiyor

2.3. *Escherichia coli* Kökenli Hastalıkların Tarihsel Gelişimi

E.coli' nin neden olduğunun belirlendiği salgınlar arasında 1968 yılında ABD' de klorlanmış su, 1967 ve 1973' de İngiltere' de pişmiş etin neden olduğu olaylar sayılabilir. 1971' de İngiltere'deki bir başka salgında kontamine peynirleri tüketen 380 kişide EIEC enfeksiyonu görülmüştür. Bu salgında peynirlerin $10^5 - 10^7$ /g düzeyinde EIEC suşu içerdiği ve peynire bu bakterinin kontamine su ile bulaştığı saptanmıştır. Peynirin neden olduğu bir başka salgın da 1983' te ABD' de görülmüştür. Bu salgında ETEC ile kontamine olmuş Fransız peyniri tüketen 169 kişi enfeksiyon geçirmiştir. Bu salgınlardan bazıları da 1980' de ABD' de 400 kişinin Meksika restoranındaki yiyeceklerden, yine 2000' den fazla kişinin içme suyundan zehirlenmeleri olarak ortaya çıkmıştır. 1974 yılında Meksika' ya giden 73' ü doktor toplam 121 kişiden 59' u salatalara bulaşmış ETEC nedeniyle enfeksiyon geçirmişlerdir (Buchanan, 1997).

EHEC kaynaklı pek çok gıda zehirlenmesi vakası bildirilmiştir. Bu vakaların sıklığına neden olarak enfektif dozun oldukça düşük olması gösterilmektedir. Çeşitli araştırmacılar 10 – 100 kob/g kadar düşük dozlar ile enfeksiyon oluşabileceğini belirtmektedirler. EHEC kaynaklı 1984' ten 1991 yılına kadar 504 olay kaydedilmiştir. Meydana gelen zehirlenme olaylarının bakımevi, restoran, hastane gibi toplu beslenme yapılan yerlerde görüldüğü ve ölüm vakalarının şekillenebildiği belirtilmiştir (Buchanan, 1997).

Tablo 2.3. *E. coli*' nin neden olduğu bildirilen gıda ve su kaynaklı bazı önemli salgınlar (Jay, 1992)

<i>YIL</i>	<i>ARACI GIDALAR</i>	<i>VAKA/ÖLÜM</i>	<i>YER</i>
1982	Hamburger köftesi	26 / 0	Michigan
1983	Hamburger köftesi	34 / 4	Nebraska
1985	Soğuk sandviç	73 / 19	Ontario, CANADA
1985	Çiğ patates	24 / 0	İngiltere
1986	Çiğ süt	46 / 0	Ontario, CANADA
1986	Hamburger köftesi	37 / 2	Washington
1987	Hindi eti	26 / 0	İngiltere
1987	Sığır kıyması	51 / 4	Utah
1988	Sığır eti	61 / 0	Wisconsin
1989	Su	243 / 4	Missouri
1990	Okul yemeđi	10 / 0	Montana
1990	Sığır eti	70 / 0	Kuzey Dakota
1991	Elma suyu	23 / 0	Massachusetts
1993	Hamburger köftesi	732 / 3	Washington, California, Nevada, Idaho
1993	Yeşil salata	47 / 0	Rodos adası
1993	Salata	121 / 0	New Hampshire
1994	Hamburger	46 / 0	New Jersey
1994	Salam	23 / 0	Washington, California
1994	Kontamine pastörize süt	17 / 0	Montana
1995	Salata sosu	23 / 1	Güney Avustralya
1996	Elma suyu	28	California, Colarodo, Washington
1997	Sığır kıyması	15	Colorado
1998	İçme suyu	114	Wyoming
1998	Meyve salatası	47	Wisconsin
1998	Kek	20	California
1998	Lahana salatası	142	Kuzey Carolina

2.4. *Escherichia coli* ‘nin Gıda Maddelerinde Varlığı

Kuntze ve ark. Almanya’ da 245 çiğ süt ve 15 çiğ süttten yapılmış peynir örneğini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda hemen her örnekte *E. coli*’ ye rastlanmış, ancak sadece 2 peynir örneğinde EHEC’ e rastlanmıştır.

Vera ve ark. 100 çiğ süt örneğini verotoksin üreten *E. coli* O157 açısından araştırmışlar ve 51 numunede *E. coli* tip I tespit edilmiş ve bunların içinden bir tanesinde *E. coli* O157 bulunmuştur .

Ansay ve Kapsar perakende satılan 19 peynirde yaptıkları araştırmada 11 numune *E. coli* açısından pozitif bulunmuştur. Peynir tesislerinde ve mandıralarda işleme ortamından alınan 42 çiğ süt örneği dahil 1104 örnekten EHEC izole edilememiştir. Fakat numunelerin yarısından çoğunda *E. coli* varlığı tespit edilmiştir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Gönül, 20 çiğ süt ve 30 peynir örneğinde *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmıştır. Çiğ süt numunelerinden *E. coli* O157:H7 izole edilemezken, teneke tulum peynirine ait bir peynir numunesinde ise etkenin mevcudiyetini saptamıştır.

Peynir yapımında çiğ, pastörize ya da pastörizasyon sıcaklığının altında ısısal işlem görmüş sütler kullanılmaktadır. Pastörizasyonda uygulanan minimum sıcaklık ve süre 71,7°C’ de 16 saniyedir. Isısal işlemin artırılması daha yumuşak pıhtı oluşmasına neden olur. ABD’ nde peynire işlenecek süt pastörize edilmek zorundadır. Eğer pastörizasyon işlemi uygulanmıyorsa üretilen peynirin 1,7°C’ de 60 gün bekletilmesi gerekir. Ülkemizde de Gıda Maddeleri Tüzüğü çiğ süttten peynir üretimine izin vermekte ancak kaşar peynirinin en az 60 gün ve beyaz peynirin ise en az 90 gün süre ile +4 ile +10°C’ de bekletilerek olgunlaştırılması zorunluluğunu getirmektedir. Taze olarak tüketilen peynirlerin yapımında kullanılan sütlerin ise mutlaka 72°C’ de 2 dakika pastörize edilmesi gerekmektedir. Çiğ süttten yapılan peynirlerin piyasaya sürülmeden önce belirli bir süre bekletilmesindeki amaç süt kaynaklı patojenlerin insanlara geçişine engel olmaktır (Ahbar, 1988).

Pastörizasyon işlemi patojenlerle birlikte bozulmaya neden olan bir çok mikroorganizmayı öldürür ve sütte doğal olarak bulunan bazı enzimleri de inaktive eder. Sütün doğal enzimleri peynirin olgunlaşmasında önemli rol oynar. Bu nedenle pastörize süttten yapılan peynirlerde, özellikle çedar peynirlerinde, olgunlaşma, çiğ süttten yapılan peynirlere oranla daha yavaştır. Diğer taraftan çiğ süt, patojen mikroorganizmalarla birlikte depolama sırasında peynirin lezzet ve tekstüründe arzu edilmeyen durumların ortaya çıkmasına neden olan mikroorganizmaları da içerebilir. Peynirle işlenecek sütle pastörizasyon normlarının altında uygulana ısısal işlem genellikle 64 - 70°C' de 15 – 20 saniyelik bir işlemdir. Bu işlem patojen mikroorganizmaların çoğunu ve bozulmaya neden olan koliformları öldürmek için yeterlidir. Ancak ABD' nde ısısal işlem görmüş sütlerden üretilen peynirlerin de 1,7°C' de 60 gün bekletilme zorunluluğu vardır (Reitsma, 1996).

Sütte mikrobiyal bozulma sonucu ortaya çıkan kusurlar bu süttün peynire işlenmesi sonucu üründe de görülür. Olgunlaşmış peynirlerin su aktivitesi ve pH değerleri genellikle küflerin dışında bozulmaya neden olan bir çok mikroorganizmanın gelişmesine engel olabilir. Ancak 30 değişik peynir örneğinde yapılan bir çalışmada su aktivitesi ölçümlelerinde bir kaç hariç kalan tüm peynirlerin su aktivitesi değerlerinin 0,94' ün üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu peynirlerin çoğunun pH değerlerinin de düşük olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle de bazı bakteriler bu peynirlerde gelişebilir (Gönül, 1997).

Peynir bir çok gıda kökenli hastalığın kaynağını oluşturur. Bunlar arasında *Brucellosis*, *Listeriosis*, *Salmonellosis*, *Shigellosis* ve Patojenik *E. coli*' nin neden olduğu gastroenteridis ve gıda zehirlenmeleri sayılabilir. Ayrıca peynirde bulunması muhtemel mikroorganizmalar arasında *Salmonella*, *S. aureus*, *Brucella*, *Listeria*, *Shigella*, *Clostridium botulinum*, bazı *Enterobacter* türleri, *Streptococcus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* türleri sayılabilir (Ünlütürk,1999).

2.5. *Escherichia coli* ‘nin İzolasyon ve İdentifikasyonu

Tipik *E. coli* ‘nin izolasyonu ve sayımında genel olarak AOAC tarafından kabul edilmiş ve Türk Standartları Enstitüsü’nün TS 6063 ISO 7251 numaralı standardında belirtilmiş 4 farklı basamak içeren “Üçlü Tüp MPN (Most Probable Number – En Muhtemel Sayı) Yöntemi” kullanılmaktadır.

Numunenin hazırlanmış olan 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} lük sulandırmaları, durham tüplü ve içerisinde MacConkey Broth bulunan tüplere transfer edilir. 37°C’ de 48 saat inkübe edilen tüplerde inkübasyon süresi sonunda gaz çıkışı ve bulanıklık tespit edilirse tüpler pozitif olarak değerlendirilir. Gaz pozitif tüplerde tahmini koliform sayısı saptanır. Olasılık testi sonuçlarını kanıtlamak amacıyla tüm gaz pozitif tüplerden EMB Agara tek koloni düşürme yöntemine göre çizim yapılarak 37°C’ de 24 saat inkübe edilir. Bu besiyerinde koliform bakteriler ortası koyu renkli metalik yeşil refle veren veya vermeyen tipik koloniler ya da mukoid pembe koloniler oluştururlar. Bu tipik kolonilerin saptandığı dilüsyonlara göre MPN tablosundan gıdanın gramındaki kanıtlanmış toplam koliform sayısı hesaplanır (İstanbuloğlu, 1998).

E. coli sayımı için, koliform doğrulama testi yapıldıktan sonra pozitif sonuç veren tüplerden, durham tüpü içeren 10 ml EC Broth besiyerine lup öze ile ekim yapılır. Tüpler $44,5 \pm 0,1$ °C ‘ ye ayarlanmış su banyosunda 24 – 48 saat inkübasyona bırakılır. Süre sonunda gaz oluşumu gözlenen tüpler fekal koliform pozitif olarak belirlenmektedir. (Ejikman Testi).

Fekal koliform sayımında pozitif sonuç veren tüplerden Eosin Methylene Blue Agar’ a (EMBA) çizme yöntemiyle ekim yapılır. Petriler 37°C’ de 24 saat inkübasyona bırakılır. Tipik *E. coli* kolonisi olarak değerlendirilen ortası koyu renkli metalik yeşil refle veren veya vermeyen koloniler IMV₁C testlerinin uygulanabilmesi için Nutrient Agar’ a ekilir ve 24 saat 37°C’ de inkübe edilir. Bu biyokimyasal test sonuçlarından elde edilen veriler ile *E. coli* sayısı MPN tabloları kullanılarak tespit edilebilmektedir (Akçelik, 2000).

2.5.1. Indol Testi

İndol testi için tripton içeren Tryptone Broth veya Peptone Water kullanılabilir. Tripton, triptofanca zengin bir peptondur ve bu besiyerinde mikroorganizmanın triptofandan indol üretilip üretilmediği saptanabilir (Cruale, 1991).

Nutrient Agar’ da geliştirilen 24 saatlik fekal koliform kolonilerinden Tryptone Broth veya Peptone Water’ öze ile inokulasyon yapılır ve 24 saat 37°C’ de inkübe edilir. Süre sonunda tüpe Kovac’s Ayracı damlatılarak kırmızı renkli bir halka oluşup oluşmadığına bakılır. Halka oluşuyorsa sonuç pozitif olarak değerlendirilir (Cruale, 1991).

2.5.2. Metil Red ve Voges-Proskauer Testi

MR-VP testi, glikozun fermentatif olarak yıkım şeklini indirekt olarak gösteren bir testtir. Pozitif Metil Kırmızısı testi, mikroorganizmanın glikozdan karışık asit fermentasyonu ile yüksek oranda asit ürettiğini gösterir. Ortama ilave edilen Metil Red indikatörü ortamın pH’ ısı 4,5’ in altında ise kırmızı renk verir. Voges-Proskauer testi ise mikroorganizmanın piruvik asitten asetil metil karbinol üretilip üretilmediğini saptamak amacıyla uygulanır (Entis, 1984).

Glikoz → Piruvik asit → Karmaşık asit Fermentasyonu (pH 4.4)

↓

Metil Kırmızısı İndikatörü (MR)

↓

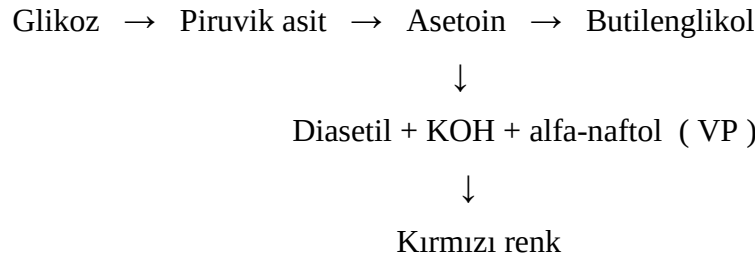
Kırmızı renk

Nutrient Agar’ da geliştirilen 24 saatlik fekal koliform kolonilerinden iki ayrı MR-VP besiyerine inokulasyon yapılır. Tüplerden biri VP testi için 37°C’ de 48 saat, diğeri ise MR testi için 37°C’ de 96 saat inkübe edilir (Entis, 1984).

İnkübasyon süresi sonunda MR testi için tüpe 5 damla Metil Red çözeltisi damlatılır ve renk değişimi gözlenir. Eğer renk kırmızıya dönüyorsa sonuç pozitif olarak değerlendirilir (Ünlütürk, 2002).

VP testi için ise süre sonunda tüpe spatül ucuyla kreatin ve 5 ml % 40' lık NaOH ilave edilerek tüp iyice çalkalanır. 30 dakika içerisinde pembe bir renk gözleniyorsa sonuç pozitif olarak değerlendirilir. (O'Meara Yöntemi)

Diğer bir yöntemde ise inkübasyon süresi sonunda 1 mililitrelin VP tüplerine 0,5 ml etil alkol ile hazırlanmış % 5' lik alfa – naftol çözeltisi ve 0,5 ml % 16' lık KOH (potasyum hidroksit) çözeltisi ilave edilir ve tüp iyice çalkalanır. 5 dakika içerisinde kırmızı renk gözlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilir. (Barrit Yöntemi)



2.5.3. Sitrat (Citrate) Testi

Sitrat testi ile bir mikroorganizmanın sitratı karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığı saptanır. Bu amaçla karbuon kaynağı olarak sadece sitrat içeren Koser Citrate Broth veya Simmon's Citrate Agar kullanılır (Ünlütürk, 2002).

Nutrient Agar' da geliştirilen kolonilerin steril fizyolojik tuzlu su (% 85' lik) ya da peptonlu suda hazırlanan süspansiyonlarından Koser Citrate Broth sıvı besiyerine iğne öze ile inokulasyon yapılır. Simmon Citrate Agar kullanılacaksa , süspansiyonlardan, eğik agar şeklinde hazırlanmış Simmon Citrate Agar' lı tüplere yüzey çizme yöntemi ile ekim yapılır. 35 – 37 °C' de 4-7 gün inkübe edilir.

Koser Citrate Broth sıvı besiyeri içeren tüplerde, inkübasyon süresi sonunda bulanıklık gözleniyorsa sonuç pozitif olarak değerlendirilir. Bu durumda mikroorganizma sitratı karbon kaynağı olarak kullanabildiği için sitratlı besiyerinde gelişmiş ve bulanıklık oluşturmuştur (Ünlütürk, 2002).

Simmon Citrate Agar pH indikatörü olarak bromthmol blue (bromtimol mavisi) içerdiğinden mikroorganizmanın sitratı kullanması ve besiyerinde gelişmesi sonucu oluşan alkali ortamda bromtimol mavisinin besiyerindeki yeşilimsi rengi maviye döner. Yani sonuç pozitif olarak değerlendirilir. Eğer mikroorganizma sitratı karbon kaynağı olarak kullanma yeteneğine sahip değilse bu durumda Simmon Citrate Agar’ da gelişemeyecek ve besiyerinin renginde bir değişiklik olmayacaktır.

2.6. *Enterobacter aerogenes*

Enterobacteriaceae ailesine ait, insan gastrointesitinal sisteminde normalde bulunan, sporsuz, gram negatif basillerdir. Laktoz, mannitol, glikoz, sukroz ve sitrat pozitifdir. Hareketlidir. MR(-) ve VP(+)’ tir. İndol ve Üreaz testlerinde negatif reaksiyon verir (Covert, 1989)

Enterobacter aerogenes, vücutta yaralara ve üriner sistem enfeksiyonlarına (fırsatçı ve hastane enfeksiyonları) neden olur. Nadiren de sepsisemi görülür. Bulaşıcı değildir ve aşısı yoktur (Covert, 1989)

E. coli ve *Enterobacter aerogenes* türleri bir çok yönden birbirlerine benzemelerine rağmen çeşitli yönlerden de farklılık gösterirler. Her iki tür de, 37°C’ de inkübe edilmiş Nutrient Agar’ da birbirlerine çok benzeyen beyaz yuvarlak koloniler oluştururlar. Laktozu fermente ederek asit ve gaz üretirler. MacConkey ve EC Broth’ da aynı reaksiyonları verirler. İkisi de gram negatiftir ve mikroskopta hemen hemen aynı şekilde görünürler (Bollenbach, 2001).

Bu iki türü birbirinden ayırt edebilmek için biyokimyasal testlere tabi tutmak gerekmektedir. *E. coli* ve *Enterobacter aerogenes* EMB Agar yüzeyinde koloni oluştururlar. Bu besiyeri içerisinde her iki bakterinin de kullandığı glikoz

bulunmaktadır. Ancak iki bakteri, glikozu kullanarak farklı yan ürünler oluşturmaktadırlar. Aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi, *E. coli*'nin meydana getirdiği yan ürün, kolonilerinin besiyeri yüzeyinde yansıma yapan metalik yeşil refleler oluşturmalarına neden olmaktadır. Fakat *Enterobacter aerogenes*, besiyerinde normal, düzgün, pembe renkli koloniler oluşturur. EMB Agar testi, *E. coli* ve *Enterobacter aerogenes* arasındaki farkı net bir şekilde ortaya koymaktadır. (Bollenbach, 2001)



Şekil 2.1. EMB Agar Plağı

(Sol tarafta *E. coli* kolonileri, sağ tarafta ise *Enterobacter aerogenes* kolonileri görülmektedir.)

MR testinde ise *E. coli*, ortamın pH'ını 5 civarına düşürür. Metil Kırmızısı indikatörü bu pH seviyesinde besiyerinin rengini kırmızıya dönüştürür (E. Bollenbach, 2001). Yani *E. coli* MR(+)’tir. *Enterobacter aerogenes* ise pH 5,5’ in yukarısındadır, bu nedenle besiyeri rengi sarı kalır. (bkz. Şekil 2.2.)



Şekil 2.2. MR Testi

(Sol tarafta *E. coli* tüpü (MR+), sağ tarafta ise *Enterobacter aerogenes* tüpü (MR-) görülmektedir.)

E.coli ve *Enterobacter aerogenes* bakterileri arasındaki farkın gösterilebilmesi için yapılabilecek testlerden bir de Sitrat testidir. *Enterobacter aerogenes*, besiyeri içeriğinde bulunan sitratı karbon kaynağı olarak kullanabilir. Bu reaksiyon sonucunda pH değişimleri nedeniyle besiyerinde bulunan bromtimol mavisinin yeşil rengi, maviye döner (E. Bollenbach, 2001). *E. coli* ise sitratı kullanamadığı için besiyerinin renginde herhangi bir değişikliğe neden olmaz. (bkz. Şekil 3)



Şekil 2.3. Simmon Citrate Agar tüpleri

(Sol tarafta *Enterobacter aerogenes* tüpü (C+) sağ tarafta ise *E. coli* tüpü (C-), görülmektedir.)

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada, farklı dönemlerde çiğ süttten yapılmış peynir örnekleri toplanmıştır. Bu örnekler İstanbul’ un değişik semtlerinde kurulan halk pazarlarından ve çeşitli marketlerden alınmıştır.

Çeşitli pazarlardan ve marketlerden satın alınan numuneler orijinal ambalajlarıyla izole kutular içerisinde mümkün olan en kısa sürede laboratuara taşındı. Gerekli etiketlemeler yapılarak örnekler analize hazırlandı.

3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Ekipman

3.1.2.1. Besiyerleri

- MacConkey Broth
- EC Broth
- EMBA (Eosin Methylene Blue Agar)
- Nutrient Agar
- Peptonlu Su
- Simmon’s Citrate Agar
- MR – VP Broth
- Kovac’s Ayracı (Indol testi için)
- Metil red çözeltisi
- KOH çözeltisi (% 40’ lık)
- Alpha-naphtol çözeltisi

3.1.2.2. Laboratuvar Malzemeleri ve Ekipman

- Kalaycı pamuğu ve aliminyum folyo
- Beher ve pipetler
- Petri ve balonlar
- Küçük ve büyük deney tüpleri, durham tüpleri
- Otoklav
- Etüv
- Blender
- Tüp karıştırıcı
- Hassas terazi
- Su banyosu
- Soğutucu
- Diğer malzemeler

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Analiz edilecek peynir örnekleri, steril koşullarda 10 g tartılarak 90 ml' lik peptonlu su ile 10^{-1} lik dilüsyon hazırlandı. Steril olarak Blender ile homojenize edildi. Bu dilüsyodan yine steril koşullarda 10^{-2} ve 10^{-3} lük dilüsyonlar hazırlandı.

3.2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon

E. coli izolasyonu için “Üçlü tüp MPN Yöntemi” kullanıldı. Gıda örneğinden hazırlanan dilüsyonların her birinden içinde durham tüpü bulunan ve 10 mililitre MacConkey Broth içeren 3' er tüpe aseptik olarak 1' er mililitre transfer edildi. Her bir örneğe ait 9 tüp, 37°C de 48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda durham tüplerinde gaz çıkışı olup olmadığı kontrol edildi. Gaz pozitif tüplerden MPN tablolarına kullanılarak gıdanın gramındaki olası toplam koliform sayısı hesaplandı.

Gaz pozitif tüplerden, durham tüplü 10 mililitre Escherichia coli Broth (ECB) içeren tüplere bir lup öze dolusu inokulasyon yapıldı. Tüpler $44,5 \pm 0,1$ °C ‘ ye ayarlanmış su banyosunda 24 – 48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda gaz oluşumu gözlenen tüpler fekal koliform pozitif olarak belirlendi (Ejikman Testi).

İnkübasyon sonunda gaz oluşumu gözlenen tüplerden, önceden hazırlanmış 15 ml Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) içeren cam petrilere çizme yöntemiyle ekim yapıldı. Petriler 37° C’ de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

EMBA’ da inkübasyon süresi sonunda oluşan ortası koyu merkezli metalik yeşil refle veren tipik koloniler yatık nutrient agar plaklarına çizme yöntemiyle ekildi. 37° C’ de 24 saat inkübe edildi.

Nutrient Agar’ da gelişen kolonilere tür düzeyinde tanımlama için dört farklı biyokimyasal test uygulandı. Kısaca IMViC testleri olarak bilinen bu testler Indol, Metil Red, Voges-Proskauer ve Sitrat testleridir.

3.2.2.1. Indol Testi

İndol testi için tripton içeren Peptone Water’ a, nutrient agarda geliştirilen fekal koliform kolonilerinden öze ile inokülasyon yapıldı. İnoküle edilen tüpler 35 - 37°C’ de 24 – 48 saat inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonunda üreme olan tüplere 0,2 – 0,3 ml Kovac’s (İndol) Çözeltisi ilave edildi ve tüp karıştırıldı. 10 dakika içerisinde tüpün yüzeyinde kırmızı – pembe bir halka oluşup oluşmadığına bakıldı. Kırmızı renkli halka oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.2.2. Methyl Red (Metil Kırmızısı) Testi

Nutrient Agar’ da geliştirilen kolonilerden, içerisinde 5 ml MR–VP Broth bulunan tüplere öze ile inokülasyon yapıldı. Tüpler 35 - 37°C’ de 48 saat inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonunda MR testi için tüplere beşer damla Metil Red indikatörü damlatıldı. Kültürün birkaç dakika içinde kırmızı renk alması pozitif, sarı renk alması negatif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.2.3. Voges - Proskauer Testi

VP testi için içinde 5 ml MR-VP Broth bulunan tüpler hazırlandı. Nutrient agarda geliştirilen kolonilerden bu tüplere inokülasyon yapıldı ve 35 - 37°C’ de 96 saat inkübe edildi.

Bu sürenin sonunda tüplerden 1’ er ml kültür alınarak steril tüplere aktarıldı. Kültür üzerine 0,5 ml etil alkol ile hazırlanmış % 5’ lik alfa – naftol çözeltisi ve 0,5 ml % 16’ lık KOH (potasyum hidroksit) çözeltisi ilave edildi ve tüp iyice çalkalandı (Barrit Yöntemi). 5 dakika içerisinde kırmızı renk gözlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.2.4. Sitrat Testi

Nutrient agarda geliştirilen kolonilerin steril fizyolojik tuzlu su (% 85’ lik) ya da peptonlu suda süspansiyonları hazırlandı. Bu süspansiyonlardan, tüpte eğik agar şeklinde hazırlanmış 7 ml Simmon’ s Citrate Agar içeren tüplere yüzey çizme yöntemiyle ekim yapıldı. 35 – 37 °C’ de 4-7 gün inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonunda yeşil olan besiyerinin renginde bir değişiklik olmadığında sonuç negatif, besiyeri rengi yeşilden maviye döndüğünde ise sonuç pozitif olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Biyokimyasal testler sonucunda pozitif sonuç veren tüpler MPN tabloları kullanılarak mikroorganizma sayıları tespit edildi. Toplam koliform sayısı için, durham tüplü MacConkey besiyerine ekilen pozitif tüp sayısı belirlendi ve MPN tabloları kullanılarak bir değer elde edildi. Fekal Koliform sayısı için ise MacConkey besiyerinde pozitif sonuç veren tüplerin EC Broth besiyerine ekilmesi sonucu pozitif tüp sayısı belirlendi. Buna göre yine MPN tabloları kullanılarak numunenin gramındaki *E. coli* sayısı saptandı. Numunedeki *E. coli* sayısı için pozitif tüpler EMBAgar' a ekildi, metalik yeşil renkli refle veren veya vermeyen kolonilere IMViC testleri uygulandı. Indol (+/-), MR (+), VP (-), C (-) reaksiyonlarını veren tüpler pozitif kabul edildi ve MPN tabloları kullanılarak gıdanın gramındaki *E. coli* miktarı hesaplandı.

Çiğ süt bazlı 10 beyaz peynir, 10 çökelek ve 10 lor peyniri olmak üzere toplam 30 adet peynir numunesinde tespit edilen toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları Tablo 4.1. , 4.2. , 4.3. ' de verildi.

Tablo 4.1. Lor peynir numunelerinde toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları (N/g)

Numune Kodu	Toplam Koliform Sayısı	Fekal Koliform Sayısı	<i>E. coli</i> Sayısı
L – 1	1.4×10^3	2.1×10^2	2.1×10^2
L – 2	9.2×10^0	9.2×10^0	3.6×10^0
L – 3	1.5×10^2	9.3×10^1	9.3×10^1
L – 4	1.4×10^3	1.4×10^3	1.4×10^3
L – 5	1.5×10^1	9.2×10^0	9.2×10^0
L – 6	1.4×10^3	3.5×10^2	3.5×10^2
L – 7	2.1×10^2	2.1×10^2	7.5×10^1
L – 8	1.1×10^3	1.1×10^3	1.1×10^3
L – 9	1.2×10^2	7.5×10^1	7.5×10^1
L – 10	1.4×10^3	1.1×10^3	2.4×10^2

Tablo 4.2. Çökelek peynir numunelerinde toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları (N/g)

Numune Kodu	Toplam Koliform Sayısı	Fekal Koliform Sayısı	<i>E. coli</i> Sayısı
Ç – 1	1.1×10^3	2.1×10^2	3.5×10^1
Ç– 2	0.3×10^1	0.3×10^1	0
Ç– 3	1.4×10^3	2.1×10^2	2.1×10^2
Ç – 4	1.1×10^3	2.8×10^2	2.8×10^2
Ç – 5	1.5×10^1	7.4×10^0	7.4×10^0
Ç – 6	1.4×10^3	2.9×10^2	9.3×10^2
Ç– 7	0	0	0
Ç – 8	3.5×10^1	1.5×10^1	7.4×10^0
Ç – 9	1.1×10^3	1.1×10^3	1.1×10^3
Ç – 10	1.4×10^3	1.4×10^3	1.4×10^3

Tablo 4.3. Beyaz peynir numunelerinde toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları (N/g)

Numune Kodu	Toplam Koliform Sayısı	Fekal Koliform Sayısı	<i>E. coli</i> Sayısı
B – 1	3.6×10^0	3.6×10^0	0
B– 2	0	0	0
B– 3	0	0	0
B– 4	2.1×10^2	2.1×10^2	7.5×10^1
B– 5	1.4×10^3	1.1×10^3	1.1×10^3
B– 6	0	0	0
B– 7	2.1×10^2	3.5×10^1	2.8×10^1
B – 8	1.5×10^1	9.2×10^0	9.2×10^0
B – 9	0	0	0
B – 10	0	0	0

Tablo 4.4. İncelenen numunelerde saptanan *E. coli* pozitif numune sayıları ve yüzdeleri

Numune Grupları	Toplam Numune Sayısı	Pozitif Numune Sayısı	Pozitif Numune Oranı (%)
Lor	10	10	100
Çökelek	10	8	80
Beyaz Peynir	10	4	40
TOPLAM	30	22	73

Tablo 4.5. İncelenen numunelerde koliform, fekal koliform ve *E. coli* pozitif numunelerinin karşılaştırılması

Numune Grupları	Koliform Pozitif Numune Sayısı	Fekal Koliform Pozitif Numune Sayısı	<i>E. coli</i> Pozitif Numune Sayısı	Toplam Numune Sayısı
Lor	10	10	10	10
Çökelek	9	9	8	10
Beyaz Peynir	5	5	4	10
TOPLAM	24	24	22	30
(%) TOPLAM POZİTİF (30 Numunede)	% 80	% 80	% 73,3	% 100

Çiğ süt bazlı alınan üç farklı çeşitte peynire ait 30 adet numuneden yalnızca 6 tanesinde, koliform ve fekal koliform bakterilere , 8 tanesinde ise *E. coli*' ye rastlanmamıştır. Örnekler, % 80 oranında toplam koliform, yine % 80 oranında fekal koliform ve % 73,3 oranında da *E. coli* içermektedirler. Genel olarak numunelerde fekal koliform sayısı ile *E. coli* sayısının aynı olduğu görülmüştür.

Toplam numunelerin 12 tanesinden ise yüksek sayıda *Enterobacter aerogenes* bakterisi izole edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türk Standartları Enstitüsünün TS 591 No' lu Peynir standardına göre peynirin gramında toplam koliform sayısı, her 5 numuneden 1 tanesinde ancak 10^2 sınırında olursa uygun özellik taşımaktadır. Peynire uygulanan mikrobiyolojik analizlerde *E. coli* varlığı kesinlikle kabul edilmemektedir. Ayrıca standartta, peynirlerin halk sağlığı ve ekonomi açısından mutlaka pastörize sütte üretilmesi gerektiği de vurgulanmıştır.

E. coli, belirli sınırlar içerisinde gıdalarda bulunması istenmeyen mikroorganizmalardan biridir. Gıdalarda bozulmalara neden olduğu gibi mukuslu – mukussuz, kanlı – kansız sulu diyareler, ateş, kusma, karın krampları, hemolitik üremik sendrom gibi çeşitli hastalıklara da neden olur. *E. coli* dışkı kökenli bir bakteri olması nedeniyle dışkı ile temas riski yüksek gıdalarda bulunma ihtimali fazladır. Hayvansal ürünler, özellikle et ve süt ürünleri gıda zehirlenmelerinde önemli kaynaklardır. Süt ürünlerinde pastörize edilmemiş süt kullanılması gıdadaki fekal koliform ve *E. coli* sayısını artırmakta, buna bağlı olarak da hastalanma riskini yükseltmektedir. Bu gıdalarda *E. coli* bulunması işletmelerde hijyen ve sanitasyon koşullarını göstermekte, gıdanın üretim şekli ve gıdaya uygulanan işlemler hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca gıda maddelerinde *E. coli* varlığı hem kendi patojen suşlarının hem de diğer patojen mikroorganizmaların bu gıdada bulunabileceğinin bir göstergesidir.

Çalışmamızda çiğ süt bazlı peynir çeşitlerinde toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* Biotip I ve Biotip II sayıları belirlenmiş ve bu sayıların gıdanın güvenilirliğine etkisi belirtilmiştir. Daha önce bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda uygulanan ve güvenilirliği kanıtlanmış olan 3' lü Tüp MPN Yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntem bir dizi inokülasyon aşamalarından sonra uygulanan IMViC olarak da bilinen biyokimyasal testleri içermektedir.

Koliform grubu bakterilerin gelişmesini sağlayan ve gram pozitif bakterilerin üremesini inhibe eden MacConkey besiyeri, içinde durham tüpü bulunduran deney tüplerine hazırlanır. Durham tüpü koliformların besiyerinde bulunan laktozdan gaz

oluşumunun gözlenmesini sağlar. MacConkey besiyerinde gaz oluşumu, bulanıklık ve kötü koku koliform grubu bakterilerin ürediğini göstermektedir. MPN yöntemi ile fekal koliform bakteri sayısını hesaplamak için MacConkey besiyerinde pozitif sonuç veren tüplerden içerisinde durham tüpleri bulunan *Escherichia coli* Broth' a ekim yapıldı. Bu besiyerinde gaz oluşumu gözlenen tüpler fekal koliform pozitif olarak belirlenmiş ve mikroorganizma sayısı hesaplanmıştır (Ejikman Testi).

Gaz pozitif sonuç veren EC Broth tüplerinden Indol testi için Triptofanca zengin olan Peptone Water' a ekim yapıldı. *E. coli* besiyerinde bulunan triptofandan indol üretebilmektedir. Yine EC Broth tüplerinden EMBAgar' a çizim yöntemiyle ekim yapılarak metalik yeşil refle veren koloniler tespit edildi. Bu besiyerinden fekal koliform olan bir diğer bakteri *Enterobacter aerogenes* da *E. coli*' nin yanı sıra izole edildi. Bu besiyerindeki tipik koloniler MR ve VP testlerine tabi tutuldu. MR testi ile glikozdan asit üretimi, VP testi ile ise pürivik asitten asetil metil karbinol üretimi saptanmaktadır. Son olarak Sitrat testi ile de mikroorganizmanın sitratı karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığı tespit edildi. Tüm bu biyokimyasal reaksiyonlarda *E. coli* Biyotip I ve Biyotip II' nin, ayrıca *Enterobacter aerogenes*' in verdiği sonuçlar Tablo 5.1. ' de verilmiştir.

Tablo 5.1. *E. coli* biyotipleri *Enterobacter aerogenes*' in biyokimyasal reaksiyonlarının sonuçları

<i>Bakteriler</i>	<u>EMBA' da</u> <u>Görünüm</u>	<u>Indol</u>	<u>MR</u>	<u>VP</u>	<u>Sitrat</u>
<i>E. coli</i> Biyotip I	Metalik yeşil refle veren koloniler	+	+	-	-
<i>E. coli</i> Biyotip I	Metalik yeşil refle veren koloniler	-	+	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Normal beyaz veya pembe renkli koloniler	-	-	-	+

Biyokimyasal işlemlerin değerlendirilmesinden sonra üç farklı çeşit toplam 30 peynir numunesinde tespit edilen toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayılarının daha önce yapılmış olan bu konu ile ilgili çalışmalarla paralel olduğu saptanmıştır. 30 numunenin 22' sinde tespit edilen *E. coli* varlığı, bu peynirlerin sütün alınması, işlenmesi, peynirin üretimi aşamalarında fekal bulaşmaya maruz kaldığını göstermektedir. Ayrıca bu işletmelerde gerekli hijyenik ve sanitasyon koşulları sağlanamamış ve gıdanın kalitesi ve güvenilirliği bozulmuştur. Patojen mikroorganizmaların da bulaşma esnasında gıdalara geçebileceği unutulmamalıdır. Bu nedenlerle gıdanın kalitesinin belirlenmesi, işletme ve çalışanların temizliği konusunda bilgi vermesi, halk sağlığını tehdit etmesinin ve gıdalarda bozulma yaparak ekonomik kayıplara neden olmasının önlenmesi için hangi tedbirlerin alınması gerektiği konusunda kılavuzluk yapması açısından bu tip bir çalışma önem taşımaktadır.

Pazarlarda satışa sunulmuş olan bu peynirlerin, hazırlanması, taşınması ve satılması esnasında patojen *E. coli* suşları ile karşılaşma sıklıkları bu çalışma ile tespit edilmiştir. Böylece gıda güvencesi taşımayan ve hijyenik olmayan, fiyatlarının uygun olması nedeniyle halkın büyük bir çoğunluğunun tercih ettiği gıdalar içerisinde peynirlerin de, halk sağlığı açısından nasıl bir tehlike oluşturduğu kanıtlanmaya çalışıldı. Çünkü *E. coli*, hem gıdanın güvenliği hem de işletme temizliği ve çalışma şartları hakkında bilgi verdiği için önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle gıda ile ilgili yapılan çalışmalarda *E. coli* varlığı üzerine yapılmış olanları büyük önem taşımaktadır. Satıcıların özellikle, peynirlerde bozulmaya da neden *E. coli* bakterisi ve etkileri hakkında bilinçlendirilmesi sağlandığı ve ürettikleri gıdaların korunması için alacakları önlemler belirlendiği takdirde hem satıcı hem de halk kazanmış olacaktır. Ayrıca satıcıların gıda işleri ile uğraşmaları sebebiyle üretimin, satışın her aşamasında hijyen kurallarına uyarak davranmalarının önemini kavramaları sağlanmalıdır.

Sonuç olarak, piyasadan toplanan peynirlerin hijyenik kalitesinin çok düşük olduğu ve *E. coli*' yi yüksek oranlarda içerebileceği belirlenmiştir. Alınabilecek önlemlerin başında gıda işleri ile uğraşan kişilerin ve gıdanın bulunduğu çevrenin hijyenik kurallara dikkat etmesi ve bunun için teknolojik tedbirler alınması

gerekmektedir. Tüm kritik noktaları kapsayan HACCP (Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizleri) gibi kompleks sistemler tüm gıda işletmelerinde tam olarak yerleştirilmelidir. Bu sayede tüketici sağlığı, dolayısıyla da toplum sağlığı korunmuş olacak, gıdaların kalitesi ve güvenilirliği artacaktır.

KAYNAKLAR

1. ABDUL-RAOUF, U.,AMMAR, M., BEUCHAT, L., Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. Int.J.Food Micro., 1996
2. AHBAR, F., M. Incidence of fecal coliform and serovars of enteropatogenic *Escherichia coli* in naturally contaminated cheese.Journal of Food Protection, 1988
3. AKÇELİK, M. , “Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları” Ankara Üniv. Ziraat Fak. , Ankara, 2000
4. ALKAR, O., Peynirlerde *E.coli* Sayımında Kullanılan Bazı Yöntemlerin Karşılaştırılması, İzmir, 1998
5. ALPERDEN, İ. , “Et ve Süt Ürünleri Mikrobiyolojisi” Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji Uygulamaları, Yay. No: 124, TÜBİTAK – Marmara Araştırma Merkezi. Gebze, 1993
6. ANĞ, Ö., KÜÇÜKER, M., YENEN, Ş., Tıp Mikrobiyolojisi 1996
7. ANONİM. “ Beyaz Peynir” Türk Standartları Enstitüsü, TS 591. Ankara, 1995
8. ANONİM. “ Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi – Deney Numunelerinin Başlangıç Süspansiyonlarının ve Ondalık Dilüsyonlarının Hazırlanması için Genel Kurallar ” Türk Standartları Enstitüsü, TS 6235. Ankara, 2001
9. ANONİM. “ Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi – Mikrobiyolojik Muayeneler için Genel Kurallar” Türk Standartları Enstitüsü, TS 7894. Ankara, 2001
10. ANONİM , Microorganisms in Foods. 5. Microbiological Specifications of Food Pathogens.ICMSF, Blackie Academic and Professional, London, 1996
11. ANONİM. “ Mikrobiyoloji – Muhtemel *E. coli* Sayımı İçin Genel Kurallar; En Muhtemel Sayı Tekniği” Türk Standartları Enstitüsü, TS 6063. Ankara, 1996
12. ANONİM. “ Süt ve Süt Mamülleri – Koliformların Sayımı” Türk Standartları Enstitüsü, TS 6930. Ankara, 1989
13. ANSAY, S.E., KASPAR, C., Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7. Lett.Appl.Micro., 1997
14. ARDA, M., Temel Mikrobiyoloji, Ankara, 2000

15. BİLGEHAN, H. Klinik Mikrobiyoloji , Ankara, 1992
16. BİNDSCHEDLER, O., DE-MAN, J., CURIAT, G., Comparative study of several culture media to determine coliforms and *E.coli* in dairy and cocoa products. Zentrabl. Bakteriöl. Naturwiss.,1981
17. BOLLENBACH, E. , “Differentiation of *E. coli* and *Enterobacter Aerogenes*” , Fall, 2001
18. BOWEN, D., Coliform bacteria and *Staphylococcus aureus* in retail natural cheeses. J.Food Protect.,1994
19. BUCHAHAN,R., GİBBONS,N., Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. The Williams and Wilkins Comp., Baltimore,1974
20. BUCHAHAN,R., Foodborne disease significance of *E. coli* and EHEC. Food Technol. , 1997
21. CEBİROĞLU, H., Dondurulmuş Köfte ve Diğer Köfte Çeşitlerinde Enterohemorajik O157:H7 Suşunun Varlığı Üzerine Araştırmalar, İstanbul, 1998
22. COİA, E. , JOHNSTON, Y. STEERS, J. , HANSON, F. , “A Survey of the prevalence of *Escherichia coli* O157 in raw meats, row cow’ s milk and raw – milk cheeses in South-east Scotland” ,Edinburgh, UK, 2001
23. COVERT, T., RİCE, E., Evoluion of the autoanalysis Colilert test for detection and enumeration of total coliforms. Applied and Environmental Mikrobiology ,1989
24. CURIÁLE, M., MCLVER, D.,HALSEY,B., Dry rehydratable film for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in foods. J.Assoc. Off. Anal. Chem.,1991
25. ENTİS, P., BENNETT, B.,BRODSKY, M.,CARLSON, M., CIEBIN, B., Enimeration of total coliform, fecal coliform and *Escherichia coli* in foods by hydrophobic grid membrane filtre: collabrative study. J-Assoc. Off.Anal. Chem.,1984
26. FRAZIER, W., WESTHOFF, D., Food Microbiology , 1988
27. GÖNÜL, Ş., Çiğ süt ve peynir örneklerinde enterohemorajik *E. coli*’ye (O157:H7) rastlanma sıklığı. KÜKEM Derg.,1997
28. GÖNÜL, Ş., KARAPINAR, M., *Escherichia coli*: Patojenitesi ve gıdalardaki önemi. Tr.Biology, 1994

29. HAHN, G. AND WITTROCK, E., Comparison of chromogenic and fluorogenic substances for differentiation of coliforms and *Escherichia coli* in soft cheese. Acta-Microbiol. Hung.,1994
30. HARRİGAN, M.,MC CANCE, E., Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press, London, 1976
31. HOFSTRA, H., HUIJ IN'T VELD, J., Methods for the detection and isolation of *Escherichia coli* including pathogenic strains. J.Appl.Bact. Symp. Suppl., Netherlands, 1988
32. İSTANBULOĞLU, E., Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metodları, Bursa, 1988
33. JAY, J., Modern Food Microbiology, 2000
34. KAUPPI, K., TATINI, S., HARRELL, F.,FENG, P., Influence of *Escherichia coli*. Food Micro., 1996
35. MADİGAN, M., MARTINKO,J., PARKER, J., Brock Biology of Microorganisms, 2000
36. MATNER, R., FOX, T., MCİVER, D., Efficacy of Petrifilm™ *E.coli* and Coliform enumeration. Journal of Food Protection, 1990
37. REİTSMA, C., HENNİNG, D.,Survival of enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of Cheddar cheese. J.Food protect., 1996.
38. TAST, E., KESKİNAKİ, M., SAARI, M., Vero cytotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 infection in a 6-year-old child associated with consumption of unpasteurised milk. World Congress on Food Hygiene, Proceedings, Netherlands, 1997
39. USTAÇELEBİ, Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, 1999
40. ÜNLÜTÜRK, A., TURANTAŞ, F., Gıda Mikrobiyolojisi, İzmir, 1999
41. ÜNLÜTÜRK, A., TURANTAŞ, F., Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi, İzmir, 2002
42. WISTREICH, G., Microbiology Laboratory, New Jersey, 1997

ÖZGEÇMİŞ

1978 Yılında Karabük’ te doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Karabük’ te tamamladıktan sonra 1996 yılında Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü’ ne girdi. 2000 yılında mezun oldu ve aynı yıl Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı’ nda Yüksek Lisans programına başladı. Bu sırada serbest meslek yapmaya başladı. Halen aynı şirkette satış danışmanı olarak çalışmaktadır.