

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



PROJE BAŞLIĞI
KANATLI KESİMİ AŞAMALARINDA *E. COLI* O157:H7 VARLIĞININ
IMS ve PCR YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ

Proje No:
TYL-2014-5504

Proje Türü
Yüksek Lisans

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Adı Soyadı
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ
Birimi/Bölümü
Veteriner Fakültesi/Besin Hijyeni ve Teknolojisi

Araştırmacının Adı Soyadı
Ahmet GEÇER
Birimi/Bölümü
Veteriner Fakültesi/Besin Hijyeni ve Teknolojisi

Mayıs 2016
KAYSERİ

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

**KANATLI KESİMİ AŞAMALARINDA *E. COLI* O157:H7
VARLIĞININ IMS ve PCR YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Ahmet GEÇER**

**Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Mayıs 2016
KAYSERİ**

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

**KANATLI KESİMİ AŞAMALARINDA *E. COLI* O157:H7
VARLIĞININ IMS ve PCR YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Ahmet GEÇER**

**Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-2014-5504 kodlu proje ile desteklenmiştir**

**Mayıs 2016
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.

Ahmet GEÇER

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kanatlı kesimi aşamalarında *E. coli* O157:H7 varlığının IMS-PCR yöntemleri ile incelenmesi” adlı **Yüksek Lisans tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi ’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Ahmet GEÇER

Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ

Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD Başkanı
Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ danışmanlığında Ahmet GEÇER tarafından hazırlanan “Kanatlı kesimi aşamalarında *E. coli* O157:H7 varlığının IMS-PCR yöntemleri ile incelenmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

27/05/2016

JURİ:

Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ

Üye: Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

Üye: Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

Üye: Yrd. Doç. Dr. Şebnem PAMUK

Üye: Yrd. Doç. Dr. Harun HIZLISOY

İMZA

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 02.06.2016. tarih ve 732 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

02.06.2016

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ'a, Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN, Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM'a, Yard. Doç. Harun HIZLISOY'a çalışmam sırasında analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Serhat AL'a ve Candan CANDEMİR'e, tez projesini, TYL-2014-5504 proje koduyla maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yetkililerine, çalışmalarım sırasında ve ayrıca tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ahmet GEÇER
Kayseri, Mayıs 2016

KANATLI KESİMİ AŞAMALARINDA *E. COLI* O157H7 VARLIĞININ IMS-PCR YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ

Ahmet GEÇER

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Haziran, 2016

Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ

KISA ÖZET

Bu çalışma; Samsun ilindeki bir kanatlı kesimhanesinde kesimin çeşitli aşamalarında alınan farklı örneklerde (haşlama tank suyu, tüy yoma makinası, iç organlar, bıçak, önlük, eller, bağırsak içeriği ve karkas) *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 ve etkenin virülens genlerini (*stx1* and *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA*) belirlemek amaçlandı. Bunun için toplam 200 örnekte *E. coli* O157:H7'nin varlığı, ön zenginleştirme, immunomanyetik seperasyon (IMS)'daki immunboncuklar sefimeksin tellüritli Chrom agara ekilerek incelendi. Şüpheli koloniler O157 ve H7 antiserumları ile incelendi. *rfbO₁₅₇*, *fliC_{H7}* *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini belirlemek için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yapıldı. Çalışmada, 2 (%1) bağırsak içeriği örneğinden *E. coli* O157 identifiye edildi fakat H7 tespit edilemedi ve bu izolatların ikisinin de *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* geni içerdiği tespit edildi. Sonuç olarak, bu çalışmada incelenen numune sayısı bir mezbaha ile kısıtlı olsa da kanatlılar Türkiye de insanlar için *E. coli* O157'nin kaynağı olabilir. *E. coli* O157'den ileri gelen halk sağlığı riskini azaltmak için kesimhane düzeyinde kesimin farklı aşamalarında karkasın dışkı kaynaklı kontaminasyonunu önleyici uygulamalara gerek vardır.

Anahtar Kelimeler: Kros-kontaminasyon, *E. coli* O157:H7, kesimhane, tavuk, virülens genler

INVESTIGATION OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 BY IMS-PCR TECHNIQUES IN POULTRY SLAUGHTERING STAGES

Ahmet GEÇER

Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Veterinary Food Hygiene and Technology
Master Thesis, May , 2016
Supervisor: Associate Prof. Dr. Nurhan ERTAS ONMAZ

ABSTRACT

In this study, the determination of *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 prevalence and their virulence genes (*stx1* and *stx2*, *eaeA* and *ehlyA*) in different samples (boiling tank water, plucking machine, viscera, knives, aprons, hooks, hands, intestinal contents and carcass) collected from poultry slaughterhouse in Samsun province, Turkey in poultry slaughtering stages was aimed. For this purpose, a total of 200 samples were analysed for the presence of *E. coli* O157:H7 by enrichment/immunomagnetic separation (IMS) with plating of recovered immunobeads onto Chromo Agar with cefixime and tellurite. The suspect *E. coli* O157:H7 isolates were tested with anti-O157 and H7 antisera. Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed on isolates for the detection of *rfbO₁₅₇*, *fliC_{H7}*, *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes. In this study, two intestinal content (1 %) isolates were identified as *E. coli* O157, but negative for H7 and all isolates contained *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes. In conclusion, although the numbers of samples analysed in this study were limited to one slaughterhouse poultry could be potential reservoir of *E. coli* O157 for human infection in the Turkey. Control measures to decrease the public health risks stem from *E. coli* O157 in reservoir poultry need to be reducing faecal sources and carcass contaminations at different stages of slaughter processes at abattoir levels.

Key words:, Chicken, cross-contamination, *E. coli* O157:H7, slaughterhouse, virulence genes

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY:.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	iv
KISA ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	x
TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	2
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tavuk Etinin Tanımı	3
2.2. Tavuk Etinin Üretim ve Tüketim Payı.....	3
2.3. Tavuk Etinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	4
2.4. Tavuk etinde mikrobiyal kontaminasyon	5
2.4.1. Antemortem (Kesim Öncesi) Bulaşma.....	6
2.4.2. Postmortem Bulaşma	7
2.4.2.1. Tavuk Kesimi Aşamaları.....	8
2.5. Escherichia coli.....	10
2.5.1. Enteropatojenik E.coli (EPEC).....	11
2.5.2. Enterotoksijenik E. coli (ETEC)	12
2.5.3. Enteroinvaziv E. coli (EIEC).....	12
2.5.4. Difüz-adhering E. coli (DAEC).....	12
2.5.5. Entero-agregatif E. coli (EAggEC / EAEC).....	13
2.5.6. Enterohemorajik E. coli (EHEC)	13

2.6. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	13
2.6.1. <i>E. coli</i> O157:H7 Serotipinin Tarihçesi.....	14
2.6.2. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Biyokimyasal Özellikleri.....	14
2.6.3. <i>E. coli</i> O157:H7'nin virulens faktörleri ve patojenitesi.....	15
2.6.3.1. Shiga Like Toksin I (stx1) ve Shiga Like Toksin II (stx2) ...	15
2.6.3.2. İntimin	16
2.6.3.3. Enterohemolizin.....	16
2.6.4. <i>E. coli</i> O157:H7'nin Neden Olduğu Hastalıklar.....	16
2.6.4.1. Hemorajik Kolitis (HC).....	17
2.6.4.2. Hemolitik Üremik Sendrom (HUS).....	17
2.6.4.3. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)	17
2.6.5. <i>E. coli</i> O157:H7'nin epidemiyolojisi.....	17
2.6.6. <i>E. coli</i> O157:H7'nin teşhis yöntemleri.....	18
2.6.6.1. Kültürel-Biyokimyasal Yöntemler	19
2.6.6.2. Serolojik Yöntemler	19
2.6.6.3. Moleküler ve İmmünoenzimatik Yöntemler	20
2.6.7. <i>E. coli</i> O157:H7 Enfeksiyonunun Kontrolü ve Önleme Yolları.....	21
2.6.7.1. Tavuk Kesimhanelerinde Temizlik ve Dezenfeksiyon Uygulamaları.....	22
2.6.7.2. Tavuk Kesimhanelerinde GMP ve HACCP uygulamaları.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	2
3.1. Gereç.....	25
3.1.1. Numuneler.....	25
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerler.....	26
3.1.3. Besiyerlerinde Kullanılan Diğer Sarf Malzemeler	27

3.1.4. PCR Analizlerde kullanılan Sarf Malzemeler	27
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. <i>E. coli</i> O157:H7 İzolasyonu	29
3.2.4. Moleküler Analizler.....	30
3.2.4.1. DNA ekstraksiyonu.....	30
3.2.4.2. <i>E. coli</i> O157:H7 PCR ile Doğrulanması.....	31
3.2.4.2. Virulans Faktörlerinin Multipleks PCR ile Belirlenmesi.....	31
4. BULGULAR	2
4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	32
4.2. Lateks Aglütinasyon Test Sonuçları.....	33
4.2.1. O Antiserumu ile Lateks Aglütinasyon Testi.....	33
4.2.2. H Antiserumu ile Lateks Aglütinasyon Testi	34
4.3. Moleküler Analiz Sonuçları	34
4.4. Örneklerde <i>E. coli</i> O157:H7 ve Virulens Genlerin Suşlar Arasındaki Dağılımı ..	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	2
6. KAYNAKLAR.....	2
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

DAEC	Difuz-adhering <i>E.coli</i>
EAggEC	Entero-agregativ <i>E.coli</i>
EIA	Enzim İmmunoassay
EIHEC	Enteroinvaziv <i>E.coli</i>
EHEC	Enterohemorajik <i>E.coli</i>
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPEC	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>E.coli</i>
FIA	Floresan İmmunoassay
Gb3	Globotriosylceramide
GLISA	Gold Labelled Immuno Sorbent Assay
GMP	İyi Üretim Teknikleri
H.C	Hemorajik Kolit
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
IMS	İmmunomanyetik Seperasyon
LT	Heat Labile Toxin
mECB	Modifiye <i>E.Coli</i> Broth
mTBS	Modifiye Tryptone Soy Broth
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIA	Radioimmunoassay
SLT	Shiga Like Toxin
ST	Heat Stabile Toxin
STX	Shiga Toxin
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura
VT	Vera toxin

TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

Tablo 2.1. Tavuk göğsü ve bütünü kimyasal bileşimi	5
Tablo 2.2. <i>E. coli</i> O157: H7 serotipini diğer <i>E. coli</i> serotiplerinden ayırıcı özellikler	15
Tablo 3.1. Çalışmada kanatlı kesimhanesinden alınan örnek çeşitleri ve sayıları	26
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin dizilimleri	28
Tablo 4.1. Fenotipik analiz sonucu	35
Tablo 4.2. Moleküler analiz sonucu <i>E. coli</i> O157:H7'nin incelenen numunelerde dağılımı	38
Şekil 2.1. Broiler kesimhanesinde iş akışı	8
Resim 2.1. <i>E. coli</i> 'nin Genel Yapısı	11
Resim 4.1. CHROM agarda <i>E. coli</i> O157:H7 kültürlerinin görünümü (Leylak renkli koloniler: pozitif koloniler , Mavi renkli koloniler: Negatif koloniler	35
Resim 4.2. <i>E. coli</i> O157 Lateks Testi ve değerlendirilmesi	36
Resim 4.3. PCR işlemi ile <i>fliC</i> H7 ve <i>rfb</i> O157 genlerinin gösterilmesi	37
Resim 4.4. PCR işlemi sonucunda virulens genlerinin gösterilmesi	37

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan tavuk eti, yüksek protein ve düşük yağ içeriği ile ucuz, sağlıklı ve besleyici bir gıdadır. Lezzetli olması, kolay hazırlanması ve kısa sürede pişmesi tavuk etinin yaygın olarak tüketilmesini sağlamaktadır (1). Ancak kimyasal kompozisyonu nedeniyle tavuk eti ve ürünleri patojen mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır ve tavuk etinde bulunan patojen mikroorganizmalar veya toksinleri, bu ürünlerinin tüketimiyle insana geçebilmekte ve insanda çeşitli enfeksiyonlara veya intoksikasyonlara neden olabilmektedir (2). Tavuk eti ile bulaşarak enfeksiyona neden olan en önemli bakterilerden biri de *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7)'dir. *E. coli* O157:H7, kanatlı ve memelilerin normal bağırsak florasında yer alan ve bu nedenle de fekal bulaşmanın indikatörü olarak kabul edilen zoonoz ve patojen bir bakteridir. Tavuklarda kuluçka ve yetiştirme döneminde başlayan mikrobiyal kontaminasyon, nakil, kesim ve işleme anında tavuk karkasının kontamine olmasını sağlayabilmektedir (3). Bunların dışında kesimhanedeki alet ve ekipman, personel ve ürün ile temas eden yüzeyler de kontaminasyon kaynaklarıdır (4). *E. coli* serotiplerinin çoğu üriner sistem hastalıkları, sepsis, meningitis ve enterik hastalıklara neden olabilmektedir ancak shiga toksin üreten *E. coli* O157: H7 serotipi, ürettiği verotoksinden dolayı diğerlerinden daha patojendir ve kanlı diyare, hemorajik kolitis, hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositik purpura (TTP) gibi semptomların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (5). Kanatlı eti ve ürünleri yüksek su aktiviteleri, uygun pH değerleri, azotlu besin öğeleri mineral ve glikojen içermeleri nedeniyle mikroorganizmaların gelişip çoğalabilmeleri için uygun

ortamlardır (2). Normal koşullarda, et dokusu mikroorganizma içermemektedir ancak kanatlı hayvanların sindirim sistemi florasında bulunan bakterilerin kesim, yüzme, parçalama, taşıma, depolama ve işleme aşamalarında birçok hayvansal ürünün kontaminasyonuna neden olduğu ve tüketime sunulan bu ürünlerin bir halk sağığı riski oluşturduğu bildirilmektedir (6). Bu çalışmada; Samsun ilindeki bir kanatlı kesimhanesinde kesim hattı boyunca kritik kontrol noktaları belirlenerek bu noktalardan alınan örneklerde *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmak amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilecek bilgi, kanatlı kesimhanelerinde belirlenecek *E. coli* O157:H7'nin Samsun ilinde halk sağığı üzerinde önemli bir tehlike olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği hususunda önemli olacaktır ve numunelerini alındığı kritik kontrol noktalarında düzeltici önlemlerin alınmasına ışık tutacaktır. Ayrıca bu konuda yapılacak olan benzer çalışmalar için bilimsel bir alt yapı oluşmasına ve literatüre katkıda bulunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tavuk Etinin Tanımı

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Et Ürünleri Tebliği'ne göre kanatlı karkası; tekniğine uygun olarak kesilmiş, kanı akıtılmış, tüyleri yolunmuş, içi boşaltılıp baş ve ayakları kesilmiş, yıkama ve soğutma işlemine tabi tutulmuş, suyu sızdırılmış bütün haldeki kasaplık kanatlı hayvan gövdesi olarak adlandırılmaktadır (7).

Kanatlı eti, avian türlerinin (tavuk, hindi, kaz, ördek) kas doku, bağ doku, deri ve tüketilebilir iç organlarından oluşmaktadır. Tavuk eti, kanatlı eti çeşitleri içinde tüketici tarafından en çok tercih edilen et türüdür. Dünya kanatlı eti üretiminin yaklaşık % 90'ını piliç eti oluşturmaktadır (8). Tavuk etinin tercih edilmesinde; protein içeriğinin yüksek, yağ içeriğinin düşük ve yağ asidi kompozisyonunun doymamış yağ asitleri lehine olması, ayrıca eti oluşturan kas liflerinin kısa olması nedeniyle çiğnenmesinin ve pişirilmesinin kolay olması gibi besinsel faktörler ile kırmızı ete göre daha düşük fiyatta olması gibi ekonomik faktörler, önemli rol oynamaktadır (9). Ayrıca tavuk eti kolayca hazırlanabilen bir yiyecek olmasından dolayı restoran ve hamburger, döner gibi hazır gıdaları satan yerlerde de çoğunlukla kullanılmaktadır (6).

2.2. Tavuk Etinin Üretim ve Tüketim Payı

Tavuk etinin ucuz protein kaynağı olması, kalp damar hastalıkları ve kilo problemi olan kişiler için uygun bir besin olması ve kolayca üretilebilmesi gibi sebeplerle ülkemizde ve dünyada tavuk eti üretimi günden güne artmaktadır. Tüketici talebi doğrultusunda tavuk etinin bütün, parçalı, marine edilmiş ya da ileri işlenmiş biçimlerde üretilip tüketime sunulması da tavuk etinin üretimini arttıran faktörler arasındadır. Özellikle teknolojinin ilerlemesi ve çalışma hayatının

yoğunlaşması ile birlikte kolayca tüketilen ve sağlıklı olduğu düşünülen tavuk etine talep artmıştır (10).

Broiler ırkı tavuklar çoğunlukla her bölge şartlarında yetişebilen, kısa zamanda yüksek canlı ağırlığa ulaşabilen, et verimi bakımından ise ekonomik olan bir tavuk ırkıdır. Bu özelliğinin ön plana çıkmasından dolayı dünya ülkelerinin protein açığının kapatılmasında giderek önem kazanmakta ve önemi ön plana çıkmaktadır.(11).

Tavuk eti üretimindeki hızlı artış nedeniyle tavuk kesimhanelerinin sayısı da artmıştır. Ancak kesim, işleme, depolama ve satış yerlerinin hijyenik koşullarının iyileştirilmesinde istenilen düzeyde ilerleme sarf edilememiştir. Kanatlı etleri, daha önceden taşıdıkları mikroorganizmalara ilaveten işlenmeleri sırasında sudan, havadan, kesim yerlerinin tabanından sıçrayan, işçilerin elleri, giysileri ve ete temas eden araç ve gereçlerden gelen mikroorganizmalarla da kontamine olmaktadır (12). Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de kanatlı et sanayisinde en büyük sorunlar, tavuk etlerinin enfeksiyon ve intoksikasyon kaynağı olma olasılığı ve muhafaza süresinin kısa tutulmasıdır (13).

2.3. Tavuk Etinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Tavuk etinde bulunan proteinler, insan beslenmesinde gerekli olan tüm aminoasitleri yeterli ve dengeli miktarda içermektedir. Tavuk proteini biyolojik değeri (82) açısından yumurta (100) ve süttten (90) sonra gelirken tavuk etinde kırmızı ete göre daha fazla protein bulunmaktadır. Protein oranının göğüs etinde daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Ayrıca tavuk etinin yağ içeriğinin yaklaşık %70’inin oleik, linoleik, palmitik asit gibi doymamış yağ asitlerinden oluştuğu, tavuk yağlarında bulunan kolesterolün çoğunun aynı balık etinde olduğu gibi HDL yani iyi huylu kolesterol olduğu belirtilmektedir. Tavuk ve balık haricindeki hayvanlardan elde edilen etlerin yağlarında bulunan kolesterolün büyük kısmının ise LDL yani kötü huylu kolesterol olduğu rapor edilmektedir (6, 14).

Tavuk eti kimyasal bileşim açısından yaklaşık olarak %71 su, % 21,3 protein, % 4,5 yağ ve <%0,1 karbonhidrat içermektedir. Ayrıca pH değeri 6,5-6,7 ve su aktivitesi değeri ise 0,985’dir. Tavuk göğsü ve butunun kimyasal bileşimi Tablo 2.1’de verilmiştir (13).

Tablo 2.1. Tavuk göğsü ve bütünün kimyasal bileşimi (13).

Tavuk	Nem(%)	Yağ(%)	Protein(%)	Su-Protein Oranı	Yağ-Protein Oranı
But	73	5.5	20.0	3.7	0.28
Göğüs	74	1.2	23.3	3.2	0.05

Tavuk eti, diğer kanatlı, sığır ve domuz etlerine göre daha az doymuş yağ asidini bünyesinde bulundurduğundan kalorisi düşüktür: Göğüs etinde kalori miktarı 114 kcal, but etinde ise 125 kcal'dir. Tavuk etinin önemli bir özelliği de sodyum içeriğinin az olmasıdır (100 g tavuk etinde yaklaşık 83 mg). Bu yüzden tansiyon hastalarının uyguladığı düşük sodyumlu diyetlere son derece uyumludur (14).

Tavuk eti bünyesinde B grubu vitaminlerini B2, B6 ve B12 gibi sinir sistemini besleyen ve destekleyen vitaminlerce zengin vitaminleri içerir. Tavuk etinde DNA'nın yapısını iyileştiren ve kanseri önleyici etkisi bilinen selenyum da bulunmaktadır. Bütün bunlara ek olarak çok düşük düzeyde bağ doku içerdiği için tavuk etinin sindirilme oranı fazladır. Göğüs etinde % 15, butta ise % 3 oranında bağ doku bulunmaktadır (13, 14).

2.4. Tavuk etinde mikrobiyal kontaminasyon

Gıda güvenliği markette sunulan tüm gıdalarda özellikle de et ve et ürünleri içeren ürünlerde en önemli dikkat edilmesi gereken hususların başında gelmektedir. Et güvenliğinin önemli olmasının sebebi en ciddi ve tehlikeli problemlerinden birisi olarak bilinen insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilecek mikrobiyal özellikle de bakteriyel patojen içeren ürünlerin piyasaya sunulmasıdır (15).

Canlı hayvanın gerek kas yapısı ve kimyası, gerekse vücudun immun sistemi, mikroorganizma faaliyetlerini önleyici bir faktör oluşturmaktadır. Kesimden hemen sonra kasta başlayan enzimatik faaliyet, ette bakteriyel olmayan olgunlaşma reaksiyonlarına sebep olur. Ancak otoliz sonunda et bünyesindeki yüksek besin içeriğinden dolayı mikroorganizmaların kolayca üreyebilmesi ve yaşamlarını sürdürebilmesi için ideal bir ortam oluşturmaktadır. (16).

Tavuk eti, patojen ve bozulma etkeni olan mikroorganizmaları da içeren birçok mikroorganizmanın gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Mikroorganizmaların tavuk etinde kolayca gelişmesini sağlayan en önemli faktör, tavuk etinin yüksek besin değeridir.

Ayrıca çiğ tavuk etinin su aktivitesi (0,98-0,99) ve pH değeri (göğüs etinde 5,7-5,9, but etinde 6,4-6,7) de mikroorganizmaların gelişimi için elverişlidir. Ek olarak tavuk derisi de, mikroorganizmalar için fiziksel koruyucu görevi görmesine karşın birçok mikroorganizmayı içermektedir (16).

Tavuk etinin mikrobiyolojik kalitesi ve güvenliği üretici, satıcı ve tüketici için oldukça önemlidir. Tavuk eti ve ürünlerinin tüketimine bağlı olarak meydana gelen enfeksiyon ve intoksikasyon problemleri günümüzde Avustralya, Kanada, İngiltere, Galler ve ABD gibi gelişmiş birden fazla ülkede halen yaygın bir şekilde rastlanmaktadır. ABD’de tavuk etinden kaynaklanan enfeksiyon ve intoksikasyon vakaları, gıda kaynaklı hastalıkların % 8’ini oluşturmaktadır ve tüm gıdalar içinde 3. sırada yer almaktadır. Gıda kaynaklı hastalıkların %95’den daha fazlasının, pazara sunulan tavuk etleri kullanılarak hazırlanmış ürünlerden kaynaklandığı bu ülkelerdeki epidemiyolojik çalışmalar sonucu ortaya çıkmıştır (17).

Gıda hammaddesinin işletmeye girmesinden başlanarak son ürün elde edilene kadar olan üretim zincirinde, ürüne farklı kaynaklardan bulaşan mikroorganizma kontaminasyonu söz konusudur. Mikroorganizmalar gıdalara, toprak, su, hava, gıda personeli, insan ve hayvanların bağırsak sistemleri, işletmelerde kullanılan hammadde, çeşitli alet-ekipman ve kaplar, atıklar, ara ürün veya son ürünün temas ettiği her türlü yüzeyden bulaşabilmektedir (18).

2.4.1. Antemortem (Kesim Öncesi) Bulaşma

Mikroorganizmaların tavuk etine bulaşmasındaki ilk kontaminasyon kaynağı kesimhaneye getirilen canlı hayvandır (16). Kuluçka ve yetiştirme döneminde barınakların temizlik ve hijyen koşulları, yem ve yem katkı maddeleri, su, hava, kuluçkahaneler ve yetiştirilme koşulları nedeniyle ve piliçlerin kesim için yüklenmesi, taşınması ve boşaltılması sırasında tavuğa, *Salmonella* ve *Campylobacter* türleri, patojenik *E. coli* suşları, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakteriler bulaşabilmektedirler (19, 20). Bu bakteriler bulaşmayı takiben tavuğun belli vücut bölgeleri ve yüzeylerinde lokalize olabilmektedirler. Örneğin, *Salmonella* spp’nin tavukta yerleştiği en önemli vücut bölgesi kör bağırsaktır. *Salmonella* ve *Campylobacter* türlerinin bolca rastlandığı diğer bölge ise kursaktır. Bu bakterilerden dolayı, kör bağırsak ve kursak bölgelerinin içerikleri kesim ve işleme anında tavuk karkası için önemli olan kontaminasyon kaynakları haline dönüşebilmektedir (2). Kontamine yem ve su kullanılması hayvanlarda enfeksiyona ve dolayısıyla ürünlerinin de mikrobiyal yükün fazla

olmasına sebep olabilmektedir. Kanatlı hayvanlarda kesimden önce stres düzeyinin minimum düzeye getirilmesi için şartların sağlanması gerekmektedir. Çünkü stres, kanın akıtılması ve tüylerin yolunması sırasında sorunlara sebebiyet vermektedir. Kesimden 8-16 saat önce hayvanların aç kalması gerekmektedir. Belirtilen süreden önce kesim olursa eğer bağırsak ve kursak tamamen boşalmamakta böylece proses esnasında mikrobiyal problemler ortaya çıkmaktadır. Antemortem dönemdeki kontaminasyonlar canlı tavuğun kesimhaneye taşınması anında da gerçekleşebilmektedir (16). Kontaminasyon canlı tavuğun işletmeye nakli sırasında, tavuklar arasında dışkı ve tüyler ile yeterince temizlenmemiş kafesler yolu ile dağılabilmekte, böylece canlı tavuklar kesimhanelere çok yüksek düzeyde mikrobiyal bulaşma ile girebilmektedirler (21). Bu nedenle kesim süreci sırasındaki kontaminasyonların asgari düzeye indirilmesi ile sağlıklı raf ömrü uzun bir son ürün elde edilmesi için tavukların yetiştirilme/kuluçka yerlerindeki koşullarına dikkat edilmesi ve kontaminasyonun minimum düzeyde tutulması en az kesimhane ve işletme koşulları kadar önem taşımaktadır (6).

2.4.2. Postmortem Bulaşma

Tavuk kesimhanelerinde kesim işlemi birçok aşamadan meydana gelmektedir. Bu aşamalardan kontaminasyona neden olma potansiyeli olanlar çeşitli çalışmalar sonucu belirlenmiş ve tavuk kesimhaneleri için uygun süreçler içeren HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) planları meydana getirilmiştir. HACCP akışına göre her aşamada uyulması gereken kurallar birbirinden farklı olsa da her şeyden işletmede hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulması ve dezenfeksiyon uygulamalarının belli bir program dahilinde yürütülmesi gerekmektedir (16). Aksi halde karkas temas yüzeyleri mikroorganizma kolonizasyonu ve biyofilm oluşumları için uygun ortam haline dönüşebilmektedir. Mikroorganizmaların gelişimleri için elverişli organik ve inorganik maddelerin kir olarak bulunduğu temas yüzeylerinde, bu yüzeylerde çıplak gözle görülemeyen çizikler ve aşınmış bölgeler içine yuvalanarak yerleşirler ve birbirlerine yüzeylerde bağlanarak biyofilm oluştururlar. Normal temizlik ve dezenfeksiyon işlemleriyle biyofilmin tabakaları genellikle yüzeylere çok sıkı bir şekilde bulunduğu için yüzeylerden uzaklaştırılması mümkün olmamaktadır. Böylece biyofilmdeki mikroorganizmalar olumsuz çevre koşullarına karşı zamanla direnç kazanmakta ve bu ortam içinde canlılıklarını devam ettirebilmektedir. (22, 23).

Kesim sırasında oluşabilecek kontaminasyon kaynaklarının tam olarak belirlenebilmesi için tavuk kesimhanesindeki iş akışının net olarak tanımlanması gerekmektedir.

2.4.2.1. Tavuk Kesimi Aşamaları

Tüm kesimhanelerde kanatlı etlerinin elde edilişı birkaç aşamalardaki az farklılıklar dışında benzerdir. Bu aşamalar; kesim, kan akıtma, haşlama, tüylerin yolunması, iç organların çıkarılması, yıkama, soğutma ve sınıflandırma aşamalarını içermektedir. (Şekil 2.1). Bundan sonraki aşamada ise karkaslar, ham madde olarak kullanılmak üzere marketlere ve diğer gıda işletmelerine gönderilir. (12, 24).

Yakalama ve canlı nakliyesi

↓

Kanatlı hayvan kabul, bekletme ve kanatlı hayvanların boşaltılması

↓

Bayıltma

↓

Kesim

↓

Kan akıtma

↓

Haşlama

↓

Tüy yolma

↓

İç çıkarma

↓

Soğutma ve paketlenme

↓

Depolama

Şekil 2.1. Broiler kesimhanesinde iş akışı (25).

Kesimhanede bayılma işleminden sonra kesim yapılmaktadır. Kesim işleminde kanın akıtılma süresinin yeterince uzun tutulması gerekmektedir (55-133 sn). Kısa olması kanatlı hayvanlarda kırmızı renkte olma riskini arttırdığı gibi haşlama tankına girdiklerinde hem suyun kirlenmesine, hem de can çekişme sırasında tankın içindeki suyu vücutlarına alarak kontaminasyona neden olmaktadır (19, 20).

Daha sonra uygulanan haşlama işlemi kritik kontrol noktalarından biridir. Haşlama aşamasında ters akım uygulaması önerilmektedir. Haşlama suyunun mikrobiyal kalitesi bu aşamadaki kontaminasyonu önlemede en önemli kriter olarak değerlendirilmektedir. Haşlama işlemi için en ideal su sıcaklığı 56°C (1,5-3,5 dk)'dir. Daha yüksek ısı işlemlerine maruz kalması sonucunda epidermis tabakasının zarar görmesine ve karkasın pişmiş bir görünüm kazanmasına ve zarar gören epidermis tabakasından karkasın iç kısımlarına doğru mikroorganizma girişinin kolay olmasına neden olmaktadır. Haşlama suyu önemli bir kontaminasyon kaynağı olabildiğinden belirli zaman aralıklarında yenilenmesi gerekmektedir. Kanatlı hayvanlar kesimhaneye geldiklerinde tüyler ve deri çeşitli mikroorganizmalarla yüksek oranda kontamine halde bulunmaktadır. Kesim sırasında kanatlı etleri, tüy, gaga, ayakta bulunan bakterilerle fazla miktarda rekontaminasyona maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle tüy yolma aşamasında oluşabilecek çapraz kontaminasyonlara çok dikkat edilmelidir (13, 20).

İç organların çıkarılması aşamasında sindirim sisteminin zarar görmesi olası fekal kontaminasyonlar açısından çok önemlidir (13, 20, 26). Karkas yüzeyi ve iç kısımlarında bulunan organik materyaller ile olası fekal materyalleri uzaklaştırmak ve mikroorganizma yükünü önemli ölçüde azaltmak için karkasların yüksek basınçlı su ile yıkanmalıdır. Ayrıca yıkama sularına klor ilavesinin daha etkili olduğu bildirilmektedir (24, 27).

Bu işlemden sonra karkaslar hemen soğutulmalıdır. Soğutma işlemleri, soğuk suyla soğutma (soğuk suya daldırarak veya soğuk su püskürterek) ya da soğuk hava sirkülasyonu ile gerçekleştirilmektedir. Hava soğutması özellikle Avrupa Birliği Ülkelerinde yaygın olarak kullanılmakta olup, ABD'de ise daha çok su soğutması sistemlerinden yararlanılır. Karkaslar hava soğutma odasında belli süre sirküle ettirilerek, karkas iç sıcaklığı ortalama 4.4°C altına düşürülür (27). Soğutma işlemi psikrofilik bakterilerin gelişimini engellemesi açısından önemli bir basamak teşkil etmektedir. Kontaminasyona uğrayan karkasların hızlı bir şekilde soğutulmaları mezofilik organizmaların gelişimini yavaşlatırken ters akımlı soğutma sistemleri karkasta bulunan bakteri düzeyinde de azalmalar meydana getirmektedir. Ancak, birçok

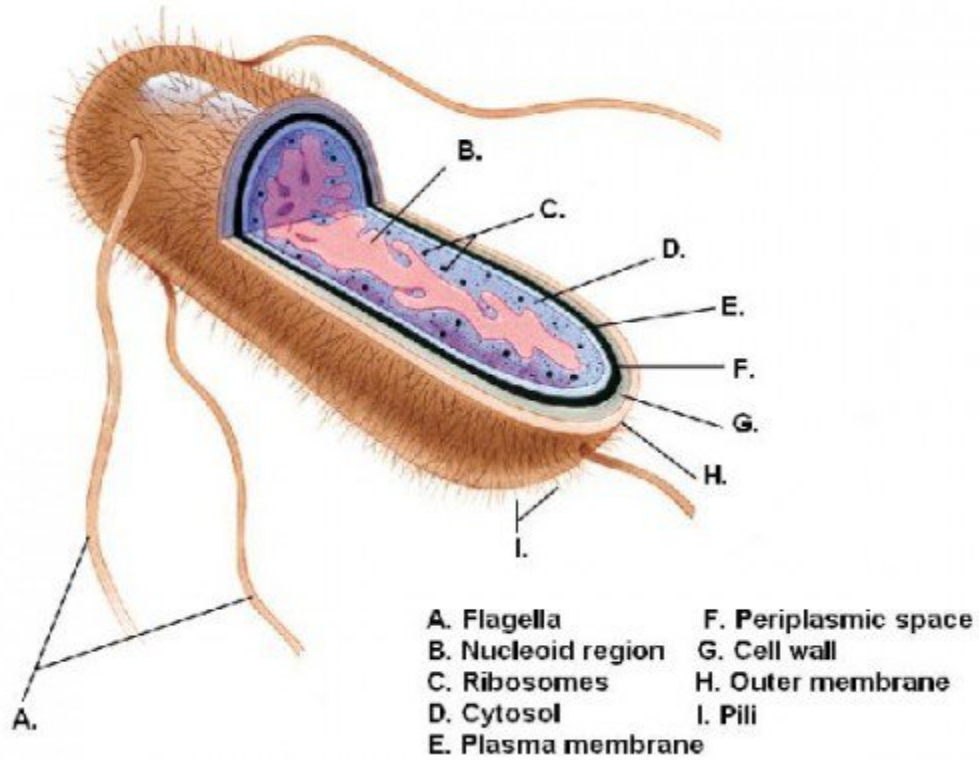
karkasın geçtiği soğutma tankları karkaslar arasında oluşabilecek çapraz kontaminasyonlar aracılığıyla kaynak oluşturabilmektedir (17). Bundan sonra karkasın parçalanması ve işlenmesi aşamasına geçilmektedir. Bu aşamada da ürüne çeşitli yollardan mikroorganizma kontaminasyonu gerçekleşebilir. Bu aşamanın en önemli kontaminasyon kaynakları kesici ve parçalayıcı alet- ekipmanlar ve personeldir. Ürün, bu aşamada hijyen şartları sağlanmazsa yoğun bir şekilde rekontaminasyona uğrayabilmektedir. Bunların dışında havada bulunan mikroorganizmalar da ürünlerin raf ömrünü olumsuz yönde etkileyebilmektedir (13, 20).

Kontaminasyonun gerçekleşebileceği son aşamalar ise kesimhane ve işletmede ürünün paketlenmesi ve muhafazasıdır. Bu aşamalarda en önemli kontaminasyon kaynakları ise ambalaj materyali, paketleme sistemi, personel ve tüketiciye ulaşmaya kadar geçen zamanda uygulanan muhafaza koşullarıdır (17). Kanatlı etlerinin satışa sunulduğu muhafaza ortamlarında soğuk zincir iyi sağlanmalıdır, gövde ve parça etlerin tüketiciye sunulduğu yerlerin temizliği kolay, rekontaminasyona karşı korunaklı olması gerekmektedir. Primer kontaminasyonlar nedeni ile oluşan mikroflora yetersiz soğutma, dondurma ve uygunsuz depolama koşulları sonucunda daha da çoğalarak hem ürünün bozulmasına, hem de halk sağlığının riske girmesine neden olmaktadır. Bu aşamalarda meydana gelebilecek her türlü aksamaların sebebine bağlı olarak da tavuk etlerinin kolayca bozulmalarına neden olabilmektedir (20, 27-29).

2.5. *Escherichia coli*

Escherichia coli Enterobacteriaceae ailesi içinde yer alan *Escherichia* genusuna bağlı, hayvanların ve insanların bağırsak sistemlerinin normal florasında predominant olarak bulunan fakültatif bir organizmadır. Bakteri ilk kez Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve önce *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilmiştir (5, 30).

Etken, Gram negatif, aerob ya da fakültatif anaerob, peritrik flagellaları ile hareketli, sporsuz (Resim 2.1), 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm boyutlarında, düzgün çomak şeklindedir. Optimal üreme ısıları 37 °C olmasına rağmen 20-40 °C’de ve optimal pH’sı 7-7,2 olmasına rağmen pH 5-8’de de üreyebilme özelliğine sahiptirler (25, 31, 32)



Resim. 2.1. *E. coli* 'nin Genel Yapısı (33)

Sıcak kanlı hayvanların sindirim sisteminde doğumdan hemen sonra kolonize olabilen bu bakterinin konakçı organizmayla kurulan denge bozulduğunda insanlarda hastalıklara sebep olan patojen türleri bulunmaktadır (5). Bakterinin patojen serotipleri, patojenite mekanizmaları, virülans özellikleri, oluşturdukları klinik semptomlar ve O (somatik) ve H (flageller) antijen serotiplerine göre sınıflandırıldıklarında; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvasiv (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difüz- adhering (DAEC) ve entero- agregativ (EAggEC) olmak üzere altı gruba ayrılmaktadırlar (34).

2.5.1. Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)

Enfeksiyon yeteneğinin toksinlerle bir ilgisi yoktur. İyi dezenfekte edilmiş ortamlarda yaygın değildir. 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, başka invazyon oluşturmadan mikrovilleri tahrip eder. Buna bağlı olarak sulu ve kanlı ishale gelişir. Yetişkinlere oranla bebeklerde daha çok görülen hastalıkta ateş yüksektir(35, 36).

2.5.2. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Hijyen standartları düşük olan ülkelere gelen turistlerde görülür. 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 fimbriyası içerirler. Etken ısıya dirençli (ST) ve dirençsiz (LT) iki endotoksin üretir (35, 37). Isıya dirençsiz toksin (LT) protein yapısındadır ve 60 °C 'de 30 dakika da inaktive olur. Biyolojik ve antijenik olarak *Vibrio cholerae* toksiniyle yakından ilişkilidir (38). Hastalık oluşabilmesi için çok sayıda etkenin vücuda alınması gerekir. İnkubasyon süresi 8-44 saat olup hastalık 24-30 saat sürmektedir ve pirinç suyu görünümünde sulu diyare ve dehidrasyon hastalığın tipik bulgularıdır (39-41).

2.5.3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC suşları genelde laktoz negatif veya geç pozitif ile hareketsiz olma gibi atipik özellikler taşırlar. Etken doku hücrelerinin içine girip çoğalırlar ve oluşturdukları enfeksiyon *Shigella* bakterisinin sebep olduğu dizanteriye benzer (25). İnkubasyon süresi 8-44 saattir. Kalın bağırsaklarda epitelium hücrelerinde çoğalarak mukozanın yangısına ve ülserleşmesine sebep olur. Hastalık 24-30 saat sürer. Klinik olarak üşüme, titreme, ateş, abdominal kramplar, dizanteri görülür, dışkı kanlı ve mukusludur ve ateş yüksektir (34, 42). Çocuklarda hastalığın ilerlemesiyle HUS görülebilir (40). Diğer enterovirulent tiplerden farkı; invaziv özellik taşıması ve laboratuvar analizlerinde fekal lökositlere rastlanmasıdır. Mukuslu ve kanlı bir dışkı görülür. Ateş yüksektir ve infektif dozu düşüktür (34).

2.5.4. Difüz-adhering *E. coli* (DAEC)

Bu gruptaki suşlar hücre çözücü *E. coli* olarak bilinirler. Patogenezi çok iyi bilinmemektedir. DAEC suşları; epitel hücreler üzerinde yapışma şekilleri, a-hemolizin üretimi, sitotoksik nekroz faktör 1 ve difüz adhesyon ile karakterizedir (43). Çocuklarda sürekli diyareye sebep olabilirler (34). Bu mikroorganizmada iki ayrı adhesin geninin varlığı ve ayrıca son olarak intimin varlığı saptanmıştır (34, 44, 45).

2.5.5. Entero-agregatif *E. coli* (EAggEC / EAEC)

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 arttırır (43). Virulens faktörü olarak ısıya dirençli enterotoksin içerir (34, 44, 46).

2.5.6. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

EHEC tüm dünyayı etkileyen ciddi enfeksiyonlara sebep olan global bir sorundur. Bunun en önemli sebebi hastalık oluşturma dozunun çok küçük olmasıdır (47). EHEC, Hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombolik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere üç temel hastalığı oluşturmaları nedeniyle, *E. coli*'nin diğer tiplerinden daha tehlikelidir. Bağırsaklarda kan, çok seyrek abdominal ağrı, bazen kusma görülür. Bu durum shigellozise benzese de ateş ender görülür. Hastalık 2-9 gün sürer, ortalama 4 gündür. Enfekte hastalar genellikle komplikasyon oluşmadan 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 pishirilmesi ve yine kontamine süt ürünlerinin pastörize edilmemesi ile insana bulaşır (37, 48). EHEC, enterohemolizin ve sitotoksin (verotoksin veya sigatoksin) üretirler. Bu sitotoksinler bağırsaktaki mikrovillüslerde tutunma ve bozulma lezyonlarına neden olur(49, 50).

2.6. *Escherichia coli* O157:H7

E. coli O157: H7, EHEC grubu içinde yer alan bir serotiptir, 1982 yılında, ilk olarak ABD'de kanamalı kolit ile seyreden iki salgından izole edilerek gıda kaynaklı bir patojen olarak adlandırılmıştır. *E. coli* O157:H7'nin isimlendirilmesi kendine ait 157 adet (O) antijenine ve 7 adet (H) antijenine sahip olmasını temsilen yapılmıştır (51).

E. coli O157:H7 insanlarda hemorajik kolit (kanlı diyare), hemolitik üremik sendrom (böbrek yetmezliği) ve trombotik trombositopenik purpuraya neden olmaktadır (42).

2.6.1. *E. coli* O157:H7 Serotipinin Tarihçesi

E. coli O157:H7 serotipi ilk defa 1975 yılında, Kaliforniya’da ağır kanamalı diyare geçiren bir kadın hastadan izole edilmiştir (52). Yine ABD’de Oregon ve Michigan isimli iki şehirde 1982 yılında kanamalı kolitle birlikte seyreden ve toplam 37 kişinin hastalandığı iki salgından sonra bakteri, gıda patojeni olarak tanımlanmıştır. 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 nedenlerden dolayı serotip, enterohemorajik EHEC olarak adlandırılmıştır (53, 54). Bu vakalardan hemen sonra benzer vakalar ABD haricinde Kanada, İngiltere, Meksika, Çin, Arjantin, Belçika gibi ülkelerde de görülmüştür. Japonya 'da 1996’da kişinin ölümüyle sonuçlanan salgının etkeninin de *E. coli* O157:H7 olduğu tespit edilmiştir (55-57). ABD’de sadece 1982 ile 1992 yılları arasında 17 enterohemorajik EHEC salgını görüldüğü, daha sonra ortaya çıkan 68 *E. coli* O157: H7 salgın vakası kaynağının, % 32,4’ünün sığır kıyması, % 2,9’unun kızarmış sığır eti, % 2,9’nun ise çiğ süt olduğu bildirilmiştir (58). İskoçya’da ise 1996-97 yıllarında bu bakteri yüzünden 21 kişi hayatını kaybettiği rapor edilmiştir (34, 59).

2.6.2. *E. coli* O157:H7’nin Biyokimyasal Özellikleri

E. coli O157: H7 gram negatif, hareketli, çubuk şeklinde, fakültatif anaerob özellikte, pH 7,2’de ve optimal 37 °C’de olmak üzere, 30-42 °C’ler arasında üreyebilen bir bakteridir. Bu bakteri donma sıcaklığına ve asidik ortama karşı dirençlidir ve % 6,5 NaCl içeren ortamda gelişebilmektedir (25, 60). Buna karşın *E. coli* O157:H7’nin, ışınlama ve yüksek ısı işlemi uygulamalarına direnç gösteremediği bildirilmektedir (25, 60). *E. coli* O157:H7 serotipi diğer *E. coli* serotiplerinden çeşitli özellikleri ile ayrılmaktadır. Bu özellikler Tablo 2.2.’de sıralanmıştır.

Tablo 2.2. *E. coli* O157: H7 serotipini diğer *E. coli* serotiplerinden ayıran özellikler (34, 61-63).

Özellik	<i>E. coli</i> O157: H7 serotipi	Diğer <i>E. coli</i> serotipleri
44,5 °C ve üzerinde gelişme gösterme	Yok	var
Sorbitolü fermentasyonu	Yok*	var
β-glucuronidase enzimi	yok (MUG reaksiyonu negatif) (4-methylumbelliferoneglukuronide)	var (%97)
Enterohemolisin üretimi	Var	yok
60 mDa plazmid	Var	yok
<i>eae</i> geni	Var	yok
Safra tuzlarına dayanıklılık	Yok	var

* Hemorajik kolitis ve hemolitik üremik sendrom ile ilişkili bazı *E. coli* O157:H7 suşları sorbitolu fermente edebilmektedir (64).

2.6.3. *E. coli* O157:H7'nin virulens faktörleri ve patojenitesi

E. coli O157:H7 virulensi ve patojenitesi tam olarak açıklanmamakla birlikte değişken faktörlere bağlı olduğu; bu faktörler arasında shiga toksinlerin (verotoksinler), hemolizin, adhesin, intimin, tip III sekresyon sistemi ve PO157 lipopolisakkaritlerinin yer aldığı bildirilmiştir (65).

2.6.3.1. Shiga Like Toksin I (stx1) ve Shiga Like Toksin II (stx2)

E. coli O157: H7 suşları, *Shigella dysenteriae* tip 1'in ürettiği "shiga toksin" ile homolog yapıda "shiga like toksin 1 (stx 1)" ve "shiga like toksin 2 (stx 2)" olarak adlandırılan iki farklı yapıda toksin üretmektedirler. Bu toksinler HeLa ve Vero doku kültürü hücrelerine toksik etki göstermektedirler. Bundan dolayı verotoksin 1 ve 2 (VT- 1 ve VT-2) olarak da isimlendirilmektedirler. Bu toksinleri üretebilen *E.coli*'ler STEC ya da VTEC olarak adlandırılmaktadırlar. Stx1, *E.coli* O157:H7 'nin bazı suşları tarafından üretilen intrasellüler bir toksin özelliğine sahiptir. (66, 67). Stx2'nin ise kan damarlarının çeperlerinde bulunan endotel hücrelere etki ederek kalın bağırsakta kanlı ishal meydana getirdiği bildirilmektedir. Toksin kan yoluyla iç organlara ulaşması sonucunda küçük damarlar içeren çeşitli organlara zarar verebildiği ortaya çıkmıştır. Bu iç organlardan böbrek, glomerulusunun epitelinin, taşıdığı Gb3

reseptörleri yüzünden özellikle toksine karşı duyarlıdır ve onun zarar görmesi böbreğin filtreleme işlevini ortadan kaldırmakla birlikte sonuç olarak hemolitik üremik sendrom meydana gelmektedir (68, 69). Ayrıca toksinin bağırsakta sıvı birikimine ve kript epitellerinin yıkımı ile kolonik lezyonlara sebep olduğu rapor edilmektedir (66,69).

Günümüzde verotoksin üreten 100'den fazla *E. coli* serotipinin olduğu bilinmektedir. Ancak verotoksin üreten en önemli suş *E. coli* O157: H7 olup, bilinen en tehlikeli gıda kaynaklı patojen bakteriler arasında değerlendirilmektedir. Bu bakterinin H7 dışında diğer H tipleri de tanımlanmakla birlikte bunların verotoksijenik özellikte olmadığı bildirilmektedir (61). Shiga like toksin üreten *E. coli*'ler özellikle O157:H7 serotipi önemli derecede gıda patojeni olarak tanımlanmaktadır (66).

2.6.3.2. İntimin

İntimin, *eaeA* geni tarafından determine edilmektedir ve bakterinin bağırsak epitel hücrelerine yapışmasında rol oynamaktadır. Bu genin bütün STEC izolatlarında bulunmadığı, bu geni bulundurmayan ancak hastalık yapabilen STEC izolatlarının da başka kolonizasyon faktörlerine sahip olabilecekleri belirtilmektedir (34).

2.6.3.3. Enterohemolizin

Enterohemolizinin bakteri fimbriasının bağırsak epitel hücrelerine adezyonunu sağladığı düşünülmektedir (38). pO157 isimli 90 -kb büyüklüğündeki plazmid tarafından kodlanmaktadır. Bu plazmid hemen hemen tüm *E.coli* O157:H7 serotipleri tarafından taşınmaktadır (59).

2.6.4. *E. coli* O157:H7'nin Neden Olduğu Hastalıklar

E. coli O157:H7 insanlarda, hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olarak adlandırılan ve ölümlü sonuçlanabilen hastalıklara sebep olmaktadır. *E. coli* O157: H7'nin neden olduğu enfeksiyonlarda HUS veya TTP görülme sıklıkları % 20'dir. HUS gelişen vakaların % 5'i ölüme sebebiyet vermektedir. Bu oran okul öncesi çocuklarda veya 65 yaşın üzerindeki yaşlılarda % 50'ye kadar yükselmektedir (65).

2.6.4.1. Hemorajik Kolitis (HC)

Hemorajik kolitis(HC), semptomları aniden ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ile başlar, 24-48 saat içinde sulu diyare gözlemlenir, daha sonra dışkı tamamen kanlı hale dönüşür, ateş yoktur, hastaların yaklaşık % 50'sinde kusma görülür. Hastalık 3-9 gün devam eder. Kolonik mukoza ödemi ile karakterize bir hastalıktır (58).

2.6.4.2. Hemolitik Üremik Sendrom (HUS)

Çocuklarda akut böbrek yetmezliğinin en önemli sebeplerinden biri olan Hemolitik üremik sendrom (HUS) *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu enfeksiyonların içerisinde en tehlikelidir. Etken sindirim mukozasındaki hücrelere yapışarak hasara uğratmakta ve salgıladığı verotoksinle pıhtılaşma mekanizmasını bozarak kılcak damarların tıkanmasına neden olmaktadır (70). Sindirim sistemi semptomları dışında böbrek glomeruluslarını tıkayıp böbrek yetmezliğine sebep olarak hastaların diyaliz ve kan nakline ihtiyaç duymasına yol açabilir. Ayrıca sarılık, nöbet ve koma ile karakterize merkezi sinir sistemi hastalıkları, yüksek tansiyon veya kalp yetmezliğine ve % 5-10'a varan vakalarda ölüme de sebep olabilmektedir (55). HUS *E. coli* O157:H7 ile enfekte olan hastaların % 2-8'inde gelişmektedir. Hastalıktan en yaygın olarak çocuklar etkilenmekte ve hastalık çocuklarda akut böbrek yetersizliğine neden olmaktadır. Hastalık çocukların % 3-5'inde ve 30 yaş üzerindeki kişilerde kalıcı böbrek fonksiyon kaybına neden olabilir. Hemolitik üremik sendromlu hastaların % 8'inde yüksek kan basıncı, nöbetler, körlük, felç gibi komplikasyonlar da oluşabilir (71).

2.6.4.3. Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP)

E. coli O157:H7 enfeksiyonlarında yaşlı insanlarda nadiren HUS ve ateş ile merkezi sinir sistemi bozukluğu semptomları ile seyreden TTP meydana gelmektedir. Hastalıkta hemolitik anemi, renal hastalık, ateş ve beyinde kan pıhtısı oluşur ve genellikle ölüm ile sonuçlanır. TTP'yi HUS'dan ayıran semptomlar çoğunlukla ateş ile birlikte seyretmesi, ergin bireylerde görülmesi ve hastalık sırasında bazı hastalarda karın ağrısı gözlemlense de hastalığın öncesinde diyare görülmemesidir. Yaşlılarda mortalite (ölüm) oranı % 50'ye kadar yükselmektedir (72).

2.6.5. *E. coli* O157:H7'nin epidemiyolojisi

E. coli O157:H7 serotipi başta süt sığırları olmak üzere memeli ve kanatlı hayvanların dışkıları ile ete, süte, toprağa ve suya dolayısıyla tüm çevreye yayılmaktadır. Köpek, koyun, kuş, geyik

ve sığırlar da bu serotipin kaynağıdır. *E. coli* O157:H7, çiğ ya da yeteri kadar ısı görmemiş hayvansal gıdaların ve hayvanların dışkısı ile kontamine olan besinlerin tüketilmesi ile bulaşmaktadır (73). Etkenin bulaşmasında başlıca rezervuarlar sığırlardır. Domuz ve kanatlı etleri de bu organizma için rezervuardır. Aynı zamanda sığır dışkısı ile kontamine içme suları ve bitkisel ürünlerin tüketilmesi de salgınlarda önemli rol oynamaktadır. Bulaşma yolunun hayvanlarla direk temas şeklinde olabileceği gibi insandan insana da geçebildiği bilinmektedir (74). *E. coli* O157:H7, göçmen kuşların sindirim floralarında yaşayabilmekte, uzun süre toprak ve dış ortamda canlı kalabildikleri için uzak bölgelere kolayca yayılabilmektedir (75, 76)

Mevsim, coğrafi bölge, hayvanın türü, yaşı ve cinsiyeti, beslenme şekli gibi faktörler *E. coli* O157:H7'nin prevalansını etkilemektedir. Etkenin prevalansı, sığırlarda koyunlardan, genç hayvanlar yaşlı hayvanlardan silajla beslenen hayvanlarda silajla beslenmeyen hayvanlardan ve yaz aylarında kış aylarından daha yüksek oranlarda gözlemlenmektedir. (77).

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 (77). Kesimhanelerde özellikle derinin yüzülmesi ve iç organların çıkarılması aşamalarında et kontamine olabilmektedir. Etin kıyılması ve parçalanması sırasında yüzeyden iç kısımlara geçen bakteri yeterli ısı işlemi uygulanmadığında canlılığını sürdürebilmekte ve halk sağlığı açısından tehlike oluşturabilmektedir (78).

E. coli O157:H7 insanlara bulaşmasını kolaylaştıran diğer özellikleri de dondurulmuş veya soğukta saklanan ürünlerde, düşük su aktivitesine sahip ürünlerde ve asidik gıdalarda adaptasyon kabiliyeti sayesinde uzun süre canlılığını sürdürebilmesidir. *E. coli* O157: H7'nin, pH 4,5- 5,5 değerlerinde bir ortamda bir süre kalmasının aside karşı direnç geliştirmesine neden olduğu rapor edilmektedir (79).

2.6.6. *E. coli* O157:H7'nin teşhis yöntemleri

Gıdalarda *E. coli* O157:H7'nin bulunmaması gerekmektedir bu nedenle gıdada olup olmadığı var/yok testi ile belirlenmektedir. Bu amaçla; selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, biyokimyasal identifikasyon ve serolojik yöntemlerle doğrulama işlemleri uygulanmaktadır. *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 (80). İncelenecek örneklerin taze ve en kısa zamanda soğuk zincirle laboratuvara ulaştırılmış olmasının izolasyon şansını arttırdığı belirtilmektedir (81). Gıda maddesinde bulunan diğer bakterilerin *E. coli* O157:H7'yi maskeleyebilmesi ve dolayısı ile sahte negatif sonuçlar alınabilmesi nedeni ile bu durumu önlemek amacı ile daha duyarlı olan enzimatik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır (80).

2.6.6.1. Kültürel-Biyokimyasal Yöntemler

E. coli O157:H7 serotipin standart kültürel yöntemlerle belirlenmesinde selektif bir sıvı besiyerinde ön zenginleştirme, selektif-diferansiyel katı besiyerine ekim, şüpheli kolonilerin biyokimyasal testler ve O157 antiserumu ile lam ya da tüp aglutinasyon testi yapılarak veya lateks aglutinasyon testi ile *E. coli* O157 olarak belirlenmiş olması ve son olarak da izolatın bünyesinde H7 antijeni içerip içermediğinin belirlenmesi yolları izlenmektedir (59, 70). Ön zenginleştirme besiyeri olarak en fazla modifiye Tryptone Soy Broth (mTSB) ve modifiye *E. coli* Broth (mECB) kullanılmaktadır (82). *E. coli* O157:H7 sorbitolü kullanamaması ve MUG reaksiyonunun negatif olması ayırt edici özellikler olarak tanımlanmaktadır. Bu iki temel reaksiyon ile katı besiyerinde gelişmiş olan koloniler arasından muhtemel *E. coli* O157:H7 serotipleri seçilebilir (80). Gıdalardan *E. coli* O157:H7 izolasyonunda son aşama klasik yöntemle selektif katı besiyerinde izole edilen şüpheli kolonilerin biyokimyasal testler ve lateks aglutinasyon testi ile tanımlanması şeklindedir (83).

2.6.6.2. Serolojik Yöntemler

E. coli O157:H7 izolatlarının serolojik özelliklerini belirlemede en çok kullanılan test Lateks Aglutinasyon testidir. Lateks Aglutinasyon, *E. coli* O157:H7 izolatlarının identifikasyonunda yüksek duyarlılığı ile ön plana çıkan bir testtir. Test kiti iki adet latex solüsyonu içermektedir. Bunlardan test solüsyonu *E. coli* O157:H7 antijenine özel tavşan antikoları ile kaplanmış lateks partiküllerinden oluşurken, diğeri ise kontrol solüsyonudur ve pre-immun halde tavşan globinleri içerir. İzolasyon aşamasında elde edilen sorbitol negatif koloniler lateks testine tabi tutularak bir dakika içinde etken belirlenebilmektedir (84).

Gold Labelled Immuno Sorbent Assay (GLISA) testi, gıdalarda *E. coli* O157:H7 aranması ve doğrulanması için immun akış prensibine dayanılarak geliştirilmiş immünolojik bir tarama testidir (34).

Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) etlerde *E. coli* O157'nin varlığını göstermek için gerekli zamanı önemli bir şekilde azaltan hızlı ve güvenilir bir testtir. Gerek ELISA uygulamaları gerek nötralizasyon testleri enfekte olmuş hastaların belirlenmesinde duyarlı değildir. Sandwich ELISA selektif zenginleştirme kültürünün *E. coli* O157 antijeni için spesifik bir poliklonal antikor ile uygulanmasıdır. Yüksek düzeydeki spesifikliği, duyarlılığı ve hızlı olmasının yanında bu işlem rutin mikrobiyolojik kontroller için kolay ve uygun bir yöntemdir (77). Et ve tavuk ürünlerinden *E. coli* O157:H7 izolasyonu için ticari olarak bulunan ve *E. coli* O157 antijeni için "reactive disc blot" ELISA sisteminin kullanıldığı bir tarama yöntemi de tasarlanmıştır (78).

İmmünomanyetik ayırım (immunomagnetic separation) tekniği gıda maddelerinde ve diğer örneklerde mikroorganizmaların aranmasında kullanılan hızlı, yüksek spesifikliğe sahip ve uygulaması basit bir yöntemdir. Bu yöntemin prensibi spesifik immünokimyasal ajanlar (monoklonal, poliklonal ve rekombinant antikorlar) ile kaplanmış manyetize boncuklar kullanılarak istenen mikroorganizmanın aranması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemle göre geliştirilmiş, Dynabeads anti *E. coli* O157 kitleri bulunmaktadır (85, 86)

2.6.6.3. Moleküler ve İmmunenzimatik Yöntemler

Gelişen teknoloji ile birlikte hastalık yapıcı mikroorganizmaların hastalardan ve gıdalardan hızlı ve doğru şekilde izolasyonu başarılı teşhis ve tedavinin ön şartı olmuştur. Geleneksel teşhis yöntemleri bir çok mikroorganizma için spesifik olsa da uzun sürede sonuç alınması ve laboratuvar şartlarının sonucu etkilemesi gibi faktörler güvenilirliği azaltmaktadır. Günümüzde gittikçe artan bir biçimde etkenin hızlı bir şekilde teşhis edilmesinin yanında tür veya cins düzeyinde tanımlanması, epidemiyolojik tiplendirme, virulans faktörlerinin belirlenmesi, direnç genlerinin araştırılması, mutasyon incelemeleri, sınıflandırma ve filogenetik analizlerde moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır. *E. coli* O157:H7'nin teşhisinde başta DNA esaslı testler ve immünenzimatik yöntemler gibi çeşitli analiz yöntemleri geliştirilmiştir. İmmunoassay, radioimmunoassay (RIA), fluorescent immunoassay (FIA), enzim immunoassay (EIA), immün peroksidaz gibi serolojik testlerle bakterilerin belirlenmesi daha kolay ve daha kısa zamanda gerçekleştirilmektedir. Ayrıca DNA problemleri kullanılarak yapılan testler ve *E. coli* suşlarına ait spesifik yapısal veya toksin proteinlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak elektroforez işlemi ile tespit edilmesi esasına dayalı yöntemler de bulunmaktadır. Ancak bu yöntemler henüz gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılmamaktadır (85, 87, 88).

2.6.7. *E. coli* O157:H7 Enfeksiyonunun Kontrolü ve Önleme Yolları

E. coli O157:H7 enfeksiyonlarının kontrolü için, gıdanın üretildiği hammaddeden başlayarak tüm işleme ve hazırlama aşamalarında hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulması gerekmektedir. Bütün bu aşamalarda çalışan personelin direkt ve çapraz kontaminasyonlar ve personelin hijyeni konularında eğitiminin sağlanması etkenin insanlara bulaşmasına engel olunmasında önem kazanmaktadır (89). Çiğ ya da yetersiz pişirilmiş gıdaların hazırlanması sırasında *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının temas edilen araçlar veya eller vasıtasıyla bulaşması engellenmelidir. Gıda işletmelerinde çalışan işçilerin gıda maddelerine doğrudan temasının engellenmesi için uygun iş giysileri giymesi, ağız ve saçların kapatılması, el ve tırnak temizliğine özen gösterilmesi ve işçilerin sanitasyon hakkında bilinçlendirilmesi gerekmektedir (90). Bunların dışında enfeksiyonun yayılmasını engellemek için, özellikle çocukların tuvalet sonrasında, yemek öncesi ve sonrasında, çiftlik hayvanlarıyla ve çiğ gıdalarla temasta bulunduktan hemen sonra ellerini sabunla veya dezenfektanlarla uygun şekilde yıkanması ve kurulanması gerekmektedir (89).

Başta kesimhaneler ve et parçalama ve işleme tesislerinin fekal kontaminasyon ve çapraz kontaminasyon konusunda bilgili olması ve kesim işlemlerinde fekal kontaminasyona özellikle dikkat edilmesi gerekmektedir. Kesimden sonra karkasların su veya çeşitli antiseptik solüsyonlarla yıkanmasının fekal materyallerin uzaklaştırılması için etkili olduğu bildirilmektedir. Ayrıca çiftlik hayvanları yetiştiriciliği yapılan yerlerde periyodik olarak hayvanlardan dışkı örneği alınarak, *E. coli* O157:H7'ye yönelik izolasyon ve fekal saçılım taramaları yapılması enfeksiyonun kontrolü ve önlenmesi açısından önem sarf etmektedir (62). Ayrıca koruyucu önlem olarak etin kesim sonrası hızlı bir şekilde 7°C altında, sütün ise 5°C altında soğutulması önem arz etmektedir (91).

Etken yüksek ısıya duyarlı olduğu için, gıda maddelerinin önerilen ısıda pişirilmesi ile *E. coli* O157:H7'nin inaktivasyonu sağlanabilmektedir. Etin parçalanması ve kıyılması sırasında etin yüzeyinden iç kısımlarına geçen bakteri yeterli ısı işlemi uygulanmadığı takdirde canlılığını sürdürmekte ve halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü haline gelebilmektedir. Et ve et ürünlerinin her yerine uygulanan ısı işleminin 70°C ve üzerinde olması ile etken inaktive edilebilmektedir (62, 91, 92). Ayrıca bakteri ışınlamaya da duyarlıdır, dondurulmuş, pişirilmemiş et ve et ürünlerine iyonize ışınlarının uygulanması ile gıda kaynaklı hastalıkların düzeyleri azaltılabilir. Işınlama gıda maddelerinde bir hijyen güvencesi sağlanmaktadır (92).

2.6.7.1. Tavuk Kesimhanelerinde Temizlik ve Dezenfeksiyon Uygulamaları

Hijyenik koşullara önem verilerek kaliteli ve güvenli bir ürün hazırlanmasında kontaminasyon kaynaklarının ortadan kaldırılması ya da en aza indirilmesi için üzerinde durulması gereken önemli bir konu, temizlik ve dezenfeksiyon uygulamalarıdır. Bu uygulamalar, GMP (Good manufacturing practises) programı içerisinde ayrı bir başlık altında, tüm işletmeyi kapsayacak şekilde ele alınmalıdır (93).

Mikroorganizma kontaminasyonu ve yayılmasıyla bunların olumsuz etkileşimlerinin önlenmesinde temizlik ve dezenfeksiyonun önemli bir rolü bulunmaktadır. Temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin doğru uygulanması ve gerçekleştirilme sıklığı ürünün mikrobiyolojik kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin sık yapılmadığı kesimhanelerde ise karkas kontaminasyon düzeyinin yüksek olduğu bildirilmektedir (93).

Temizlik, gıda ile temas eden alet-ekipmanların çeşitli yüzeylerde bulunan bütün kir ve gıda artıklarının uzaklaştırılması ve bunların mikroorganizma için çoğalma ortamı şekline dönüşmesinin önlenmesine denir. Temizlik işlemi yardımıyla gözle görülebilen kir ve artıkların uzaklaştırılmasının yanı sıra gözle görülemeyen mikroorganizmalarında önemli bir kısmının da uzaklaştırılması söz konusu olabilmektedir (18).

Gıda işletmelerinde, kullanılan gıdanın bileşimine ve gıdaya uygulanan işlemlere bağlı olarak kir çeşitleri ve nitelikleri farklılık göstermektedir. Tavuk kesimhanelerinde en yaygın olarak protein ve yağ kirlenmelerine rastlanmaktadır. Bu kirler yıkama, kesme, tüy yolma gibi çeşitli proses aşamalarında ortaya çıkan tüy, kemik, et parçaları ve kan gibi ürün artıklarından kaynaklanmaktadır. Bu kirler uzaklaştırılmadıklarında, yüksek besin değerlerinden dolayı mikroorganizmalar için çok iyi gelişme ortamı oluşturabilmektedirler (18, 93).

Yağ ve protein oranı yüksek kirleri uzaklaştırmak için deterjan adı verilen temizlik maddeleri kullanılmaktadır. Gıda işletmelerinde kullanılan temizlik maddeleri arasında, alkali bileşikler, asit bileşikler, yüzey aktif bileşikler, kalsiyum bağlayıcı bileşikler, korozyon inhibitörü maddeler, süspansiyon halini devam ettiriciler, köpük önleyiciler ve enzimler ile köpük temizleyiciler ve jeller yer almaktadır. İyi bir deterjan, suda kolay çözünmeli, yüzeyleri ıslatma yeteneğine sahip olmalı, yüzeylerden kolayca uzaklaştırılabilir. Bunlara ek olarak deterjanın, suyun yüzey gerilimini azaltabilme, korozyona neden olmama, kalıntı sorunu yaratmama, belli

ölçülerde dezenfektan etkili olma, insan sağlığına zararsız olma, depolamada kararlı olma ve ucuz olma gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir (93, 94).

Dezenfeksiyon ise, temizlik aşamasından sonra, ortamdaki ürüne kontaminasyon kaynağı olabilecek mikroorganizmaların tümünün öldürülmesi ya da zararlı etki yapmayacak en düşük düzeye indirilmesi işlemidir. Temizlik sırasında bulundukları yerlerden alınan ve serbest hale geçirilen mikroorganizmaların bir kısmı, suyun da etkisiyle daha geniş bir yüzeye yayılma olanağı bulabilmektedir. Bu sebepten dolayı işletmede yapılacak temizliğin hemen sonrasında mutlaka uygun bir dezenfeksiyon işlemi izlemesi gerekmektedir (18).

Gıda işletmelerinde dezenfeksiyon işlemi, fiziksel ve kimyasal işlemler şeklinde gerçekleştirilmektedir (95). Fiziksel işlemler, sıcaklık uygulamaları, ısıtılma, UV, yüksek voltajlı elektriksel uygulamalar, yüksek basınç, ultrasonik vibrasyon ve negatif hava akımı gibi uygulamalardır (96). Kimyasal işlemler ise çeşitli kimyasallar, antibiyotikler, mikrobiyositler ve biyoaktif pestisitlerin kullanımı şeklinde gerçekleştirilmektedir. Kimyasal dezenfeksiyon işleminde kullanılan maddelere dezenfektan adı verilmektedir (96). Tavuk kesimhanelerinde kullanılan dezenfektanlar arasında başlıca halojenler (klor ve klorlu bileşikler, iyotlu bileşikler), yüzey aktif maddeler, alkoller ve aldehytler, asitler, alkaliler, oksidan maddeler, fenol ve fenolik bileşikler ve benzeri kimyasal maddeler bulunmaktadır. Halojen dezenfektanlar arasında yer alan klor ve klorlu bileşiklere gıda işletmelerinde yaygın olarak başvurulmaktadır. Hipokloritler, özellikle sodyum hipoklorit (NaOCl) ve kalsiyum Bunların dışında ise izosiyonurik asit türevleri, hidantoin türevleri, klorlu trisodyum fosfatlar, inorganik ve organik kloraminler dezenfeksiyon amacıyla kullanılan diğer klorlu bileşiklerdir. Ayrıca gaz formundaki klor ve CO_2 de gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. (95, 96).

2.6.7.2. Tavuk Kesimhanelerinde GMP ve HACCP uygulamaları

Tavuk kesimhane ve işletmelerinde GMP, ürünlerin kalite ve güvenliğinin sağlanması için başvurulmuş önemli bir programdır. GMP, işletmeyi ve ürün/ürünleri tüm yönleriyle ele alan geniş kapsamlı bir gıda kalite ve güvenlik sistemidir. GMP sistemi işletmede HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) programının başarıya ulaşması için gerekli olan ön koşulları ve bunların sürekliliğini sağlayan tüm uygulamaları kapsamaktadır. Bu sebeple HACCP programının etkinliği ve başarısı için daha önceden işletmeye uygun bir GMP programı

belirlenmeli ve uygulamaya geçirilmelidir. GMP programı aşağıda sıralanan konuları ve bunlarla ilgili programları kapsamaktadır (16):

- Bina ve tesisler,
- Alet ve ekipman
- İşlem aşamaları
- Temizlik ve sanitasyon
- Üretimde kullanılan materyal ve katkıları
- Personel
- Zararlı hayvan kontrolü ve ürünün izlenmesi
- Ürün iadesi

Bu programa göre, işletme binası ve çevresi hijyen ve sanitasyon ilkelerine göre uygun bir şekilde tasarlanmalı, inşa edilmelidir. İşletmeye yeterli miktarda ve iyi kalitede bir su kaynağı sağlanmalıdır. Ayrıca bu suyun işletmede gerekli olan her yere uygun bir şekilde dağılımının yapılması gerekmektedir. Alet ve ekipmanların işletme içerisinde üretim tekniğine uygun ve hijyen/sanitasyon uygulamalarını kolaylaştıracak şekilde yerleştirilmelidir. Temel prensipte işlem aşamaları kalite kontrolüne dönük olarak büyük bir dikkatle kontrol altında tutulmalıdır (16).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Numuneler

Çalışmada, Ocak-Mayıs 2014 tarihleri arasında Samsun ilinde faaliyette bulunan kanatlı kesimhanesi *E. coli* O157:H7 serotipinin araştırılması amacı ile 2 haftalık periyotlarda 10 kez ziyaret edilerek haşlama kazanı, tüy yolma makinası, iç organlar, bağırsak içeriği, karkas, kanatlı etini parçalamada kullanılan ekipmandan ve personelden toplam 200 adet örnek alındı. Bu kapsamda, sıvap personel, kullanılan alet ve ekipman ve bağırsak içeriğinden alınan örnekler 20 mg/l novobiosin içeren tryptone soya broth'a konularak en kısa süre içerisinde laboratuvara götürülerek analiz edildi. Ayrıca, rastgele seçilen tavuk karkasının yüzeyinden 25 mililitre tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilen steril pamukla sürtme hareketi ile alınan örnekler steril stomacher poşetlerine konularak, soğuk zincirde laboratuara getirilerek en kısa zamanda analize alındı. Çalışma kapsamında kanatlı kesimhanesinden alınan örnek çeşitleri ve sayıları tablo 3.1.'de belirtildi.

Tablo 3.1. Çalışmada kanatlı kesinhanesinden alınan örnek çeşitleri ve sayıları

Örnek	Sayı
Haşlama kazanı	20
Tüy yolma makinası	20
İç organlar	40
Bağırsak içeriği	40
Kesimde kullanılan aletlerin yüzeyinden alınan swap	20
Karkas	40
Personel	20
Toplam	200

3.1.2.Çalışmada Kullanılan Besiyerler

i

Chrom Agar O157 (CHROM) (CHROMagar, France)

Bilesimi	gr/lt
Agar	15,0
Peton ve yeast ekstrakt	13,0
Chromogenic mix	1,2

Hazırlanışı: Chromagar besiyerinden 5,84 g tartılarak bir lt distile su içerisinde çözündürüldü. Daha sonra 121 °C’ de 15 dakika otoklavda steril edildi.

Novobiosinli modifiye Tyriptose Soy Broth (m TSB Broth Oxoid, England) :

Bilesimi	gr/lt
Peptone from Casein	17,0
Soya Peptonu	3,0
NaCl	5,0
Bile Salts No.3	1,5
D(+) Glucose	2,5
K 2HPO4	4,0

Novobiosin 0,02

Hazırlanışı: mTSB besiyerinden 33g tartılarak üzerine bir litre distile su ilave edildi. Hazırlanan besiyeri vida kapaklı şişelere 225’şer ml olacak şekilde bölündükten sonra şişelerin ağzı sıkıca kapatılarak 121 °C’ye ayarlanmış otoklavda 15 dk. steril edildi.

3.1.3. Besiyerlerinde Kullanılan Diğer Sarf Malzemeler

Cefixime Tellurite Selective Supplement (Fluka, Hindistan)

Bilesimi	500ml/mg
Potassium tellurite	1,25
Cefixime	0,025

Hazırlanışı: Bir vial Cefixime Tellurite Selective Supplement iki ml distile su içerisinde eritilerek 500 ml SMAC besiyerine ilave edildi.

Yıkama Solüsyonu (PBS Tween)

Bilesimi	gr/lt
NaCl	0.15M
Sodium-Phosphate buffer	0.01M
Tween-20	%0.05
pH	7.4

Bu karışım IMS’de örneklerin yıkanmasında kullanıldı.

Dynabeads® anti-*E. coli* O157 (Invitrogen, Dynal Biotech, Oslo, Norway): Dynebeads anti *E. coli* O157 kitleri IMS işleminde *E.coli* O157’nin saptanması amacı ile ticari firmanın belirttiği kullanım prosedürüne uygun bir şekilde kullanıldı.

***E. coli* O157 Antisera (SSI, Danimarka):** *E. coli* O157 antisera, ticari firmanın belirttiği kullanım prosedürüne göre kullanıldı.

***E. coli* H7 Antisera (SSI, Danimarka):** *E. coli* H7 antisera, ticari firmanın belirttiği kullanım prosedürüne göre kullanıldı.

Referans Bakteri: Çalışmada bütün izolasyon ve identifikasyon aşamalarında Erciyes Üniversitesi Veteriner fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarına ait kültür koleksiyonunda bulunan *E.coli* O157:H7 NCTC 12900 kontrol suşu olarak kullanıldı.

3.1.4. PCR Analizlerde kullanılan Sarf Malzemeler

10X PCR (Vivantis)

Bilesimi	Konsantrasyonu
Tris-HCl	100Mm
KCl	500mM
pH	8,3

PCR işlemi sırasında enzimin çalışması için gerekli stabil pH şartlarını sağlamak amacı ile kullanıldı. PCR protokünde 10X PCR buffer son konsantrasyonu 1X olacak şekilde kullanıldı.

dNTP Mix: dNTP miks (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP) solüsyonu amplifikasyonu sırasında denatüre edilen zincirlerin tamamlanması için PCR reaksiyonunda 10 mM konsantrasyonunda kullanıldı.

Taq Polimeraz: Isıya dayanıklı olan DNA enzimi PCR reaksiyonunda çift zincirli DNA'nın 5'-3' yönünde nükleotidlerine ayrılarak tek iplikçikli hale dönüşmesi için kullanıldı.

MgCl₂: PCR reaksiyonunda Taq DNA polimeraz enziminin çalışması için gerekli kofaktör olarak kullanıldı.

Primerler: Çalışmada elde fenotipik testler ile belirlenen *E.coli* O157:H7'nin moleküler olarak saptanmasında ve etkenin sahip oldukları virülans faktör genlerin saptanmasında kullanılan primerlerin dizilimi, primerlere ait gen bölgeleri tablo 3.2.'de belirtilmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin dizilimleri

Çalışmada Kullanılan Primerlerin Dizilimi	Gen Bölgesi	Virulans Genin Adı	Amplikon Büyüklüğü (bp)
PF8 CGTGATGATGTTGAGTTG	<i>rfbO157</i>	O157	420
PR8 AGATTGGTTGGCATTACTG			
FLICH7-F GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	<i>fliC</i>	H7	625
FLICH7-R CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC			
SLT1-F TGTAAGTGGAAAGGTGGAGTATACA	<i>Stx1</i>	Verocytotoxin1	210
SLT1-R GCTATTCTGAGTCAACGAAAAATAAC			
SLTII-F GTTTTCTTCGGTATCCTATTCC	<i>Stx2</i>	Verocytotoxin 2	484
SLTII-R GATGCATCTCTGGTCATTGTATTAC			
AE22 ATTACCATCCACACAGACGGT	<i>eaeA</i>	Intimin	397
AE20-2 ACAGCGTGGTTGGATCAACCT			
MFS1-F ACGATGTGGTTTATTCTGGA	<i>ehlyA</i>	Enterohemolysin	166
MFS1-R CTTCACGTCACCATACATAT			

DNA Ladder: Konsantrasyonu 0,5µg/µl olan 100bp DNA ladder (Vivantis) elektroforez sonucunda oluşan bantların büyüklüklerini belirlemek için marker olarak kullanıldı.

6xLoading Dye: 6 X Loading Dye'nin (Vivantis) elektroforez boyunca DNA göçünün izlenmesi amacı ile kullanıldı.

10xTBE Electrophoresis Buffer

Tris	89 mM
Borik asit	89 mM
EDTA	2 Mm

Hazırlanışı: 50 ml 10 X TBE Buffer (Vivantis) 950 ml distile su ile 1000'e tamamlanarak hazırlanan 0.5 X TBE buffer agaroz jel hazırlanmasında ve elektroforez aşamasında kullanıldı.

Agarose: Agaroz'dan (Sigma, USA, 100gr) 2 gr tartılarak 100 ml 0.5 X TBE ile homojenize edildi. Mikrodalga fırında bir dk. 400W'ta bekletilerek eritildikten sonra 50°C civarına kadar soğutulmuş 3 µl ethidium bromid ilave edildi ve jel haline getirilerek elektroforez aşamasında kullanıldı.

Ethidium Bromide: Jelde DNA bantlarının görülebilmesi görüntüleme cihazında görülebilmesi amacı ile kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *E. coli* O157:H7 İzolasyonu

Ön Zenginleştirme

Çalışmada, karkas yüzeyinden tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilen pamuk ile alınan numuneler 20 mg/l novobiocin içeren 225 ml TPS broth'a ilave edilerek 2 dakika süreyle homojenize edildi ve 37°C'de 16-18 saat inkübasyona bırakıldı. Sıvı örnekleri ise 20 mg/l novobiocin içeren 10 ml TPS broth'ta 37°C'de 16-18 saat inkübe edildi (97, 98).

İmmunomanyetik Separasyon Yöntemi

Ön zenginleştirme işlemine tabi tutulan numunelere, Dynabeads anti-*E.coli* O157 kullanılarak immunomanyetik separasyon işlemi uygulandı. Kısaca, kültürlerden bir ml alınarak steril ependorflara ilave edildi. Daha sonra vortekslenerek homojenize edilen anti-*E.coli* O157 Dynabeads'lerden 20 µl alınarak içerisinde şüpheli kültür bulunan ependorfa aktararak bir kaç saniye vortekslendi. Vorteks işleminden sonra ependorflar IMS üzerine yerleştirildi. IMS mıknatıs takılı olmadan düşük bir devirde 10 dk çalıştırıldı. Daha sonra mıknatıs paneli yerleştirilerek 5 dk'da daha döndürüldükten sonra 3 dk beklendi. Daha sonra ependorfun çeperine yapışmış olan kahverengi renkte boncuğu atmadan içindeki sıvı dikkatli bir şekilde döküldükten sonra 1 ml yıkama solüsyonu ilave edildi. Mıknatıs paneli takılı IMS'de 5 dk döndürülen ependorflar mıknatısı çıkarılan cihazda tekrar 3 dk bekletilerek içlerindeki sıvı kısım dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı. IMS işleminden sonra ependorf içerisindeki boncuk-bakteri kompleksi 100 µl yıkama solüsyonu ile sulandırıldı. Sulandırılmış bakteri-

boncuk karışımından 50 µl alınarak CT supplement içeren CHROM agara ekilerek 37 °C de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda agarda üreyen pembe renkli koloniler serolojik testlere tabi tutuldu (98).

Serolojik Testler

CHROM agarda üreyen pembe renkli kolonilere *E. coli* O157 ve *E. coli* H7 antiserumları kullanılarak agglütinasyon testleri uygulandı. Şüpheli kolonilere, kontrol serumu (pozitif ve negatif) ve test serumu damlatıldı. Negatif olan kontrol serumunda herhangi bir değişiklik beklenmezken pozitif kontrol serumu ve test serumu ile karıştırılan kolonilerde agglütinasyon (kumlanma görüntüsü) beklendi (97). Agglütinasyon testine pozitif yanıt veren *E. coli* O157: H7 kolonileri moleküler düzeyde doğrulanmak ve virülens faktörlerinin belirlenmesi amacıyla gliserinli broth (%15) içerisinde - 20 °C’de muhafaza edildi.

3.2.4. Moleküler Analizler

3.2.4.1. DNA ekstraksiyonu

Bakteri DNA’sını elde etmek için GF-1 bakteri ekstraksiyon kiti kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi kit protokolünde belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Kısaca, Serolojik olarak doğrulanmış bakterilere ait bir gecelik sıvı kültüründen ependorflara yaklaşık 1,5 ml alındıktan sonra 6000xg’de 5 dakika santrifüj edildi. Ependorfun üstünde biriken sıvı uzaklaştırılarak altta kalan pelletin üzerine 100 µl R1 solüsyonundan eklenerek homojenize edildi ve üzerine 10 µl lizozim (50 mg/ml) ilave edilerek 37°C’de 20 dakika inkübe edildi. Daha sonra bu süspansiyon 10000 x g’de 3 dakika santrifüj edilerek üsteki sıvı atılarak altta kalan pellete 180 µl R2 solüsyonu ve 20 µl proteinaz K (20 mg/ml) ilave edildi. Homojenize edilen süspansiyon 60°C’lik su banyosunda 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 20 µl RNase (20 mg/ml) konuldu ve 37°C’de 5 dakikainkübe edildi. Bu süre sonunda süspansiyonun üzerine 440 µl BG buffer ilave edildi. Süspansiyon bir dakika oda ısısında 3-5 dakika bekletildikten sonra üzerine 200 µl absolut etanol ilave edilerek tüplerinin üzerine yerleştirilen kolona aktarıldı. 10000xg’de 1 dakika santrifüj edildikten sonra kolonun filtresinin altına geçen sıvı atılarak kolon yeni bir ependorfa yerleştirildi ve üzerine 750 µl yıkama solüsyonundan konularak 10000xg’de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpün altında toplanan sıvı atılarak kalan etanolün tamamen uzaklaşması için boş olan ependorf tekrar santrifüj edildi. Yeni eppendorflara spin kolon yerleştirilerek 50-100 µl elution buffer ilave edildi. İki dakika oda ısısında beklendikten sonra

10000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Ependorfta kalan sıvı hedef DNA olarak kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

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

Fenotipik ve serolojik testler ile tespit edilen *E. coli* O157:H7 izolatları O157 için, *rfbO157* ve H7 için *FliC* gen bölgesini kodlayan primerler kullanılarak doğrulandı. PCR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 50µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PCR buffer, 1,5 mM MgCl₂, 400 µM dNTPs, 0,5 µM her bir *fliC* primerinden ve 1,5 U Taq polymerase'dan oluştu (100). *FliC* geninin belirlenmesi için, PCR cihazında (Techne TC-512) 94 °C'de 2 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 94 °C'de 20 s, 54 °C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk 35 siklusa bekletildi ve 72°C'de 10 dk son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi (99). *rfbO157* geninin tespit edilmesi için; ön denatürasyon işlemi 94 °C'de 5 dk uygulandıktan sonra 94 °C'de 1 dk, 53 °C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk toplam 30 siklusa gerçekleştirildi ve 72°C'de 5 dk son uzatma işlemi yapıldı.

3.2.4.2. Virulans Faktörlerinin Multipleks PCR ile Belirlenmesi

Çalışmada izole edilen *E. coli* O157:H7 serotipine ait virulans faktörleri ile ilgili gen bölgeleri (*stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hlyA*) spesifik primerler (Tablo 3.2) kullanılarak incelendi (99). Bu amaçla, final volümü 50µl olacak şekilde hazırlanan karışım 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PCR buffer, 3mM MgCl₂, 400 µM dNTPs, intimin primerinden 0,25 µM, diğer primerlerden 0,5 µM ve 1,5 U Taq polymeraz içerdi (87). Reaksiyon PCR cihazında (Techne TC-512) 94 °C'de 2 dk ön denatürasyondan sonra 36 siklus olacak şekilde 94 °C de 20 s, 54 °C de 1 dk ve 72 °C'de 1dk ve son uzatma 72 °C'de 10 dakika son ekstensiyon olarak gerçekleştirildi.

Çalışmada, amplifikasyon ürünleri %1,5'lik agarose jelde elektroforeze (EC250-90; Thermo, Pittsburgh, PA, USA) tabii tutuldu ve jel dokümantasyon sisteminde ((Vilber Lourmat, Marne La Vallee, France)) değerlendirildi.

4. BULGULAR

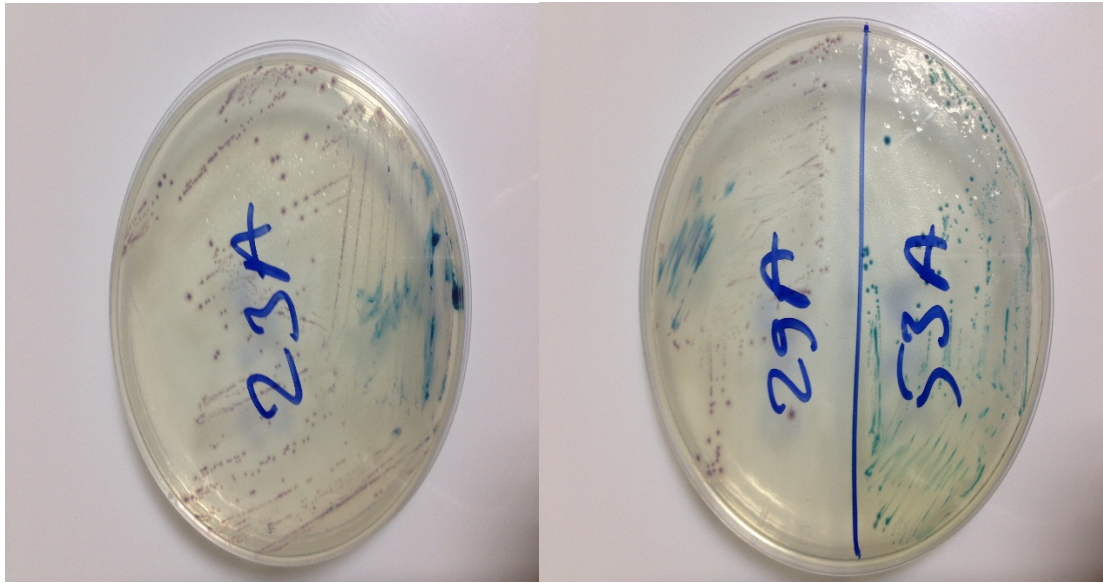
Çalışma kapsamında Ocak-Mayıs 2014 tarihleri arasında Samsun ilindeki kanatlı kesimhanesinden, toplam 200 adet (personel, kesim hattı boyunca haşlama kazanı, tüy yolma makinesi, bağırsak içeriği, yıkama suyu, parçalama üniteleri, personel ve karkas) örnek toplandı. *E. coli* O157:H7 yönünden incelenmek için CT-SMAC agar ve CHROM agara ekim yapıldı, üreyen şüpheli kolonilere, lateks aglütinasyon testi, biyokimyasal testler ve hareket testi uygulandı.

4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında, CT-SMAC agarda görülen renksiz koloniler ve CHROM agarda üreyen pembe renkli koloniler *E. coli* O157:H7 yönünden şüpheli olarak kabul edildi (Resim 4.1) Şüpheli kolonilere yapılan gram boyama ve hareket testi sonucunda incelenen numunelerin 18'i (%9) *E. coli* O157:H7 pozitif olarak değerlendirildi. Çalışmada izole edilen 18 adet *E.coli* O157:H7 suşlarından 4'ünün (%22,2) karkasa, 2'sinin (%11,1) personele, 4'ünün (%22,2) iç organlara, 3'ünün (%16,6) yıkama suyuna ve 5'inin (%27,7) bağırsak içeriğine ait olduğu belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Fenotipik analiz sonucu

Numune	Numune sayısı	Fenotipik test sonucunda <i>E. coli</i> H7:O157 pozitif (%)
Karkas	75	4 (%22,2)
İç organ	30	4 (%22,2)
Bağırsak içeriği	30	2(%11,1)
Personellerin ellerinden alınan svap	25	3 (%16,6)
Yıkama suyu	40	5 (%27,7)
Total	200	18(%9)

**Resim 4.1.** CHROM agarda *E.coli* O157:H7 kültürlerinin görünümü (Leylak renkli koloniler: pozitif koloniler , Mavi renkli koloniler: Negatif koloniler)

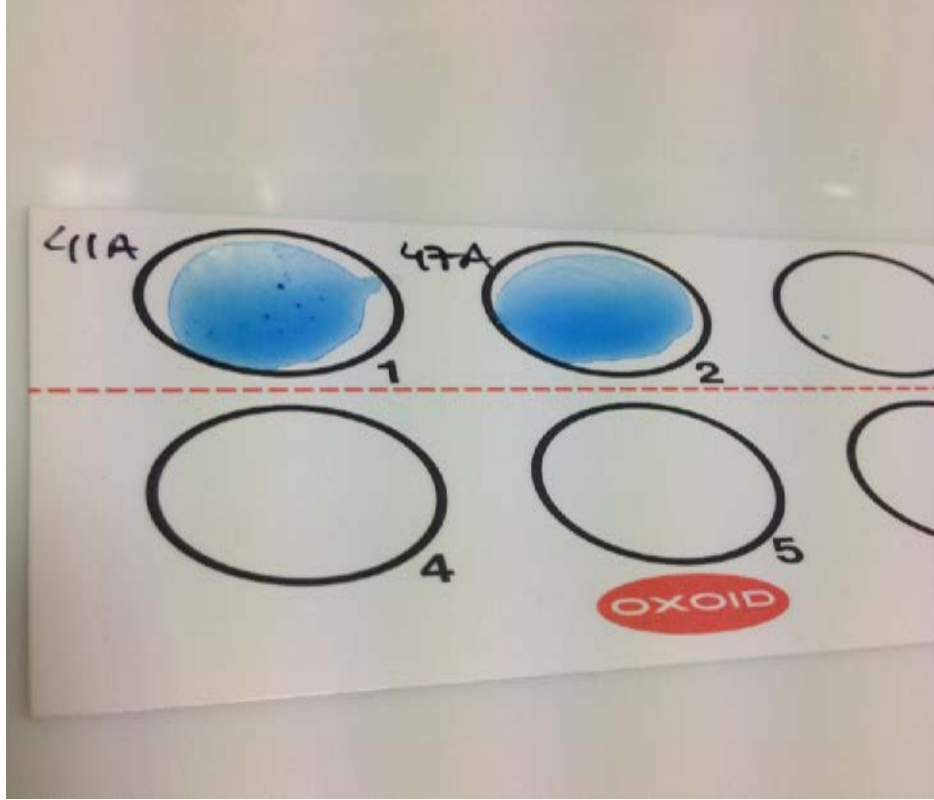
4.2. Lateks Aglütinasyon Test Sonuçları

4.2.1. O Antiserumu ile Lateks Aglütinasyon Testi

CHROM agarda üreyen 30 adet süpheli koloniye O antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucunda bu örneklerin 2'sinde granüler çöküntünün oluştuğu ve O157 antijeni yönünden pozitif olduğu saptandı (Resim 4. 2).

4.2.2. H Antiserumu ile Lateks Aglütinasyon Testi

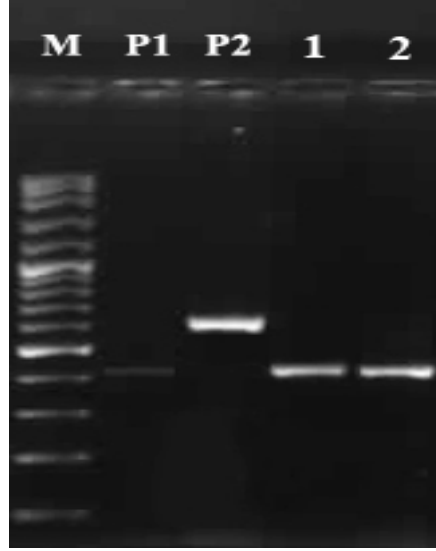
CHROM agarda üreyen süpheli kolonilere H antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucu bu örneklerden hiçbirisinde antijeni belirlenemedi (Resim 4. 2).



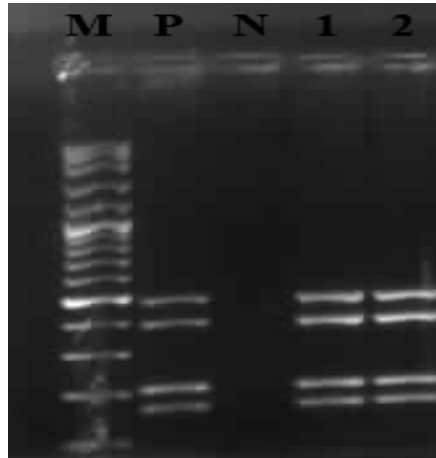
Resim 4.2. *E. coli* O157 Lateks Testi ve değerlendirilmesi.

4.3. Moleküler Analiz Sonuçları

Çalışmada fenotipik ve serotipik testler ile pozitif olarak kabul edilen numunelerde H7 ve O157 identifikasyonu için yapılan PCR işlemi sonucunda; H7 için 625 bp ve LPS O157 için 420 bp büyüklüğünde bant oluşumu beklendi. PZR analizi sonucunda incelenen örneklerin 2'inde (%1) sadece *rfbO*₁₅₇ geni tespit edildi (Resim 4.3).



Resim 4.3. PCR işlemi ile *fliCh7* ve *rfbO157* genleri; M: Marker (100bp), P1: Pozitif kontrol (O157: 420 bp), P2: Pozitif kontrol (H7: 625 bp), 1-2 Nolu bandlar: *E. coli* O157 (bağırsak içerik numunesi) PCR ile O157 geni içeren iki izolata virulans faktörleri için yapılan mPCR işlemi sonunda yapılan agaroz jel elektroforezinde; intimin için 840 bp, *stx1* için 348 bp, *stx2* için 584 bp, enterohemolizin için 534 bp büyüklüğünde bant oluşumu beklendi. m-PCR işlemi sonucunda incelenen iki izolata tamamlamında da *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genleri belirlendi (Resim 4.4).



Resim 4.4. PCR işlemi sonucunda virulens genlerinin gösterilmesi; M: Marker (100bp), P: Pozitif kontrol (*ehlyA*; 166 bp, *stx1*:210 bp, *eaeA*;397 bp *stx2*: 484), 1-2 Nolu bandlar: pozitif örnekler (*stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA*)

4.4. Örneklerde *E. coli* O157:H7 ve Virulens Genlerin Suşlar Arasındaki Dağılımı

Çalışmada incelenen 200 adet numunenin 18'i fenotipik testler ile *E. coli* O157:H7 olarak tespit edildi. İzolatlara uygulanan lateks aglütinasyon testi sonucunda O157 antijeni sahip olduğu belirlenen

2 (% 1) izolata yapılan PCR işlemi ile hepsinin *rfbO₁₅₇* geni içerdiği fakat *fliC_{H7}* geni içermediği doğrulandı. *E. coli* O157:H7 olarak identifiye edilen 2 izolatın bağırsak içeriğine ait olduğu belirlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Moleküler analiz sonucu *E. coli* O157:H7'nin incelenen numunelerde dağılımı

Numune	PCR		Virulans Faktörler			
	<i>O157</i>	<i>H7</i>	<i>eaeA</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>ehxA</i>
Dışkı 1	+	-	+	+	+	+
Dışkı 2	+	-	+	+	+	+

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

E.coli O157:H7 enfeksiyonlarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu gıdalar içerisinde çiğ et ya da yetersiz pişirilmiş et ürünleri gibi hayvansal olanlar ise en başta yer almaktadır (102). Ruminantlar özellikle sığırlar etkenin insanlara taşınmasında önemli bir rezervuar olmasına rağmen, son dönemlerde yapılan bazı çalışmalar kanatlı ve kanatlı ürünlerinin de etkenin taşınmasında önemli rol aldığını göstermiştir (103). Gıdalarla alınan etkenin 10-100 kadar düşük dozlarda bile hastalık oluşturabileceği bildirilmiştir (35). Bu durum halk sağlığı açısından *E.coli* O157: H7'nin önemini göstermektedir (104).

Bu çalışmada, kanatlı kesimhanesinde; personel, kesim hattı boyunca haşlama kazanı, tüy yolma makinesi, bağırsak içeriği, yıkama suyu, parçalama üniteleri ve karkastan *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmak amaçlandı. Çalışmada incelenen 200 örneğin 2'sinde (%1) *E. coli* O157 tespit edildi. *E. coli* O157 izolatların 2'si de bağırsak içeriğinden elde edildi.

E. coli O157:H7 serotipleri insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan toksinleri oluşturur ve hastalığın şiddetini artıran virulens faktörlerini içerirler. Bu faktörler intimin ve enterohemolizindir. Intimin *eaeA* geni enterohemolizin ise *ehlyA* geni tarafından kodlanır (105). Bu çalışmada, izole edilen *E. coli* O157:H7 serotiplerinin her birinin *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *hlyA* genlerinin hepsini içerdiği belirlendi. Bu genlerin bir örnekte kombine bir şekilde bulunması, genellikle hayli güçlü bir virulent genetik karışımı olarak kabul edilir (106). Ayrıca incelenen izolatlarda *stx1* ve *stx2* geninin bulunması HUS açısından önemlidir. Çünkü *stx1* ve *stx2* toksinini üreten suşların HUS oluşumunda daha etkin rol aldığı belirtilmiştir (105, 107, 108).

Bu çalışmada, kesimhanede incelenen numunelerden sadece bağırsak içeriğinden *E. coli* O157 izole edilirken, personelde, karkası parçalamakta kullanılan tezgah ve bıçaklarda, yıkama suyu, tüy yolma makinesinde, karkasta ya da iç organlarda etken tespit edilemedi. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre kesim esnasında kullanılan alet ve ekipmandan kaynaklı bir kros kontaminsayon söz konusu olmadığı gözlemlendi. Ancak çalışmada, patojen *E. coli* O157'nin tespit edilmesi kanatlıların etken için bulaşma kaynağı olabileceğini göstermektedir. *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7'nin kanatlıların sekumuna kolonize olduğu ve aylarca dışkı ile atılarak kontaminasyona neden olabileceği bildirilmiştir (109, 110). Gıda sektöründe, en önemli güvenlik problemi, kırmızı ve kanatlı eti ürünlerinde *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. varlığıdır (111). Bu nedenle Amerika Birleşik Devletleri, kırmızı ve kanatlı eti ile ürünlerinin güvenliğinin, çiftlikten çatala kontrol önlemlerinin uygulanmasına bağlı olduğunu kabul etmiştir (112).

Yurdumuzda ve diğer ülkelerde *E.coli* O157:H7 serotipinin gerek kanatlı hayvanların bağırsak içeriklerinde gerekse kanatlı etlerindeki varlıklarına ilişkin çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Dünya'da ve yurdumuzda *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7'nin kloakal sıvap, kanatlı karkas ve kanatlı ürünlerinde varlığı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır.

Yurdumuzda yapılan çalışmalardan, Akkaya ve ark. (113) inceledikleri 190 kanatlı et örneğinin 2'sinde (%1,05) *E. coli* O157:H7 izole etmişler ve izolatların hepsinin STX1 ve STX2 içerdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise Akkaya ve ark. (113)'dan farklı olarak tavuk karkaslarında etken izole edilememiştir.

Abay ve ark. (114) tarafından gerçekleştirilen bir çalışma da 400 broiler barsak içeriği, 400 yumurtacı tavuklara ait dışkı örneği ayrıca özel bir kanatlı mezbahanesinin farklı birimlerinden (haşlama tank suyu, duvar ve iç organ çıkarılma ünitesi) alınan 80 adet sıvap örneğinde *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığı araştırılmıştır. Kalın ve ark. (115) ise yapılan çalışmadan farklı olarak, Elazığ'da yürüttükleri çalışmada 1000 broiler barsak içeriği, 1000 broiler karaciğeri örneklerini *E. coli* O157 serotipi yönünden incelemişlerdir. Ancak araştırmacılar (114, 115) bizim çalışmamızdan farklı olarak dışkı örnekleri de dahil inceledikleri numunelerin hiç birinde *E.coli* O157 izole edmemişlerdir.

Sekmen ve Kaya (116) çeşitli illerden (İzmir, Manisa, Aydın, Denizli ve Uşak) aldıkları 500 adet broiler kloakal sıvap örneklerinin 32 (% 6.40)'sinden *E. coli* O157:H7 serotipi tanımlanmıştır.

Kagambe`ga ve ark. (117) tarafından yapılan bir çalışmada, 350 tavuk dışkı örneğinin % 6'sından STEC izole edilmiştir. Raji ve ark. (118), Tanzania'da tavuk kesimhanesinden aldıkları 120 adet tavuk barsak içeriğinde *E.coli* O157'nin varlığını araştırmışlar ve inceledikleri numunelerin 11'inde (%9,6) etkeni saptamışlardır.

Bu çalışmada ki *E.coli* O157:H7 izolasyon oranları diğer araştırmacıların (116, 117) oranlarından nispeten daha düşüktür.

Tabatabaei ve ark. (119), İran'da 28 broiler işletmesinden aldıkları 350 dışkı örneğinin 14'ünden (% 4) shiga toksin içeren *E. coli* izole etmişlerdir. Araştırmacılar, izolatların 10 tanesinde(%2,8) *stx1* ve *stx2* geni, 3 tanesinde (%1,16) ise *stx1* geni ve sadece bir tanesinde de (%0,28) *stx2* genin bulunduğunu vurgulamışlardır.

Heuvelink ve ark. (120), inceledikleri 501 adet yumurtacı tavuklara ait dışkı örneğini, *E. coli* O157 yönünden negatif bulmuşlardır. Araştırmacılar, elde ettikleri izolatların shiga-like toksin ürettikleri, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini içerdiklerini bildirmişlerdir.

Bizim çalışma sonucumuz ve kanatlı dışkısından *E. coli* O157:H7 (116-119) izole edilen diğer çalışma sonuçları, etkenin sekunda kolonize olup uzun süreler boyunca dışkıyla saçılabilceği ve kontaminasyonlara neden olabileceğini göstermektedir. Beery ve arkadaşlarının (1985) civcivlerin oral yolla etken ile kontaminasyondan 5 ay sonrasına kadar dışkılarında 10^8 civarında *E. coli* O157:H7 bakterisinin bulunduğunu bildirmeleri de kanatlıların bu etken yönünden rezervuar olarak dikkate alınmaları gerektiğinin göstergesidir.

Bu çalışmada, kesimhanedeki karkas örneklerinin hiç birisinde etken izole edilmemiştir. Benze şekilde, Baran ve Gülmez (121) Kars ilinde inceledikleri 50 adet tavuk eti örneğinin *E. coli* O157:H7 yönünden negatif olduğunu bildirmişlerdir. Yine, Kalın ve ark (115) inceledikleri 1000 adet broiler karkas swap örneğinin, Abay ve ark (114) ise inceledikleri 400 kanatlı karkas örneklerinin hiç birisinin *E. coli* O157 ile kontamine olmadığını bildirmişlerdir. Balpetek (122)'te incelediği tavuk eti numunesinin hiç birisinde etkeni tespit edememiştir.

Bu çalışmalara benzer olarak tavuk eti ve dışkısı ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda yine incelenen örneklerden *E. coli* O157:H7 izole edilemediği bildirilmiştir (123-125). Fakat Olatoye ve ark. (126) inceledikleri 400 adet tavuk eti örneğinin 58'inin (%14,5) *E. coli* O157:H7 serotipi yönünden pozitif olduğunu rapor etmişlerdir. Bu araştırmacıların (126) tavuk eti örneklerindeki oldukça yüksektir.

Yine, bu çalışmadan farklı olarak, Doyle ve Schoeni (103) inceledikleri 263 kanatlı etinin 4'ünde (%1,5) *E. coli* O157:H7 izole etmişlerdir.

Fransa'da yapılan bir çalışmada 250 tavuk etinin 4'nün (%1,6) verotoksin üretmeyen *E. coli* O157 için pozitif olduğu belirtilmiştir (127). Bu çalışmada ise tavuk karkas örneklerinin hiç birisinden etken izole edilememiştir. Aynı şekilde, Jo ve ark. (9) tarafından Kore'de yapılan bir çalışmada da 418 tavuk dışkı ve 52 tavuk etinde *E.coli* O157 rastlanmamıştır.

Bu çalışma sonuçlarının diğer çalışmalarda elde edilen bulgular arasındaki farklılıklarının nedeni; *E. coli* suşlarındaki serotipik dağılımın bölgesel ve ülkesel olarak değişebilmesi (77, 101, 105, 128-131) ve kullanılan farklı izolasyon metotları (132, 133), örnekleme metodunda ki farklılıklar (132, 133) ve hayvanların kesimi esnasındaki hijyenik koşullarına bağlanabilir.

E. coli O157:H7 serotipinin belirlenmesinde kullanılan klasik yöntemler de, yoğun olarak bulunan normal flora varlığına bağlı olarak sıklıkla yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipinin özellikle dışkı örneklerinde bakteri sayısının çok düşük olmasından dolayı tespiti oldukça zordur (34, 134). Bu sebeple, incelenen örneklere çeşitli zenginleştirme ve gelişmiş izolasyon metotları uygulanması etkenin izolasyon oranını artırmaktadır (134). Bu metotlardan en duyarlı olanlardan birisi de çalışmada da uygulanan IMS ve moleküler tekniklerdir (134-136).

Sonuç olarak, bu çalışmada Samsun ilindeki bir kanatlı kesimhanesinde kesilen kanatlı hayvanlara ait dışkı örneklerinin %1'inde *E. coli* O157 kontaminasyonu belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen izolatların hepsinde *aeA* ve *ehlyA*, *stx1* ve *stx2* genlerini birlikte içermeleri göz önüne alındığında bu ilde kesilen kanatlıların insanlarda HUS, HC, TPP gibi şiddetli enfeksiyon ve bazende ölümlere neden olan hayli patojenik *E. coli* O157:H7 serotipi için önemli bir rezervuar olduklarını göstermektedir. Bununla birlikte, çalışmada etkenin incelen diğer materyallerden izole edilemesi (personel, haşlama tankı, tüy yolma makinası, iç organlar vs.) numunelerin alındığı işletmede hijyen ve sanitasyon uygulamaların yeterli bir düzeyde yapıldığını düşündürmektedir. Yine de, kesim esnasında tüylerin yolunması, iç organların çıkarılması, yıkama sırasında dışkı ile kros kontaminasyonu önlemeye yönelik tedbirler alınmalıdır. Bu kapsamda, kanatlı kesimhanelerinde, HACCP programları çerçevesinde çalışan personelin eğitimi, kesim esnasında iç organların ve bağırsakların tek parça halinde çıkarılması ve bu organların çıkarılırken yaralanmamasına dikkate edilmesi, karkas dekontaminasyonun sağlanması ve karkasların soğukta muhafaza edilmesi gerekir.

6. KAYNAKLAR

1. Adu-Gyamfi A, Torgby-Tetteh W, Appiah V. Microbiological Quality of Chicken Sold in Accra and Determination of D10-Value of *E. coli*. Food Nutr Sci 2012; 3: 693-698.
2. Alvarez-Astorga M, Capita R, Alonso-Calleja C, Moreno B, Garcia-Fernandez MC. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. Meat Sci 2002; 62: 45-50.
3. Amara A, Badoum M, Faid M, Bouzoubaa K. Microbial Contamination of Poultry Slaughtered in Traditional Shops in Morocco. MicrobiolAliments Nutr1994; 12: 323-327.
4. Gill CO, Jones T. Effects of wearing knitted or rubber gloves on the transfer of *Escherichia coli* between hands and meat. J Food Prot 2002; 65: 1045-1048.
5. Chen HD, Frankel G. Enteropathogenic *Escherichia coli* unravelling pathogenesis, FEMS Microbiol Rev 2005; 29:83-98.
6. Mead GC. Fresh and further-processed poultry. The Microbiological Safety and Quality of Food. Edt. Lund BM, Baird-Parker TC, Gould GW. An Aspen Publication, 2000a; 1: 445-471.
7. Anonim. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Et Ürünleri Tebliği. Yayımlandığı Resmi Gazete: 10.02. 2000
8. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Poultry and poultry products. In: Microorganisms in Foods. 6. Microbiol Ecology of Food Commodities. Blackie Academic & Professionals, London 1998.

9. Şengör E. Türk tavukçuluk sektörünün durumu ve dünya ile karşılaştırma. Gıda Teknolojisi 2002; 6(9): 18-20.
10. Albayrak M, Güneş T, Türkoğlu M. Tavuk eti sanayinde pazarlama hizmetleri ve dağıtım kanalları, Uluslararası Tavukçuluk Kongresi Bildiri Kitabı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul 12-15/ Mayıs 1993; 43-56.
11. Hinton A, Cason JA, Ingram KD. Tracking spoilage bacteria in commercial poultry processing and refrigerated storage of poultry carcasses. International J Food Microbiol 2004; 9: 155-165.
12. Öztan A. Et Bilimi ve Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları 1995.
13. Aslan A. Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Yayınları, Elazığ 2002.
14. Biswass S, De A, Patra D, Bhattacharya D. Meat Microbiology Vis-à-vis Food Safety –A Retrospective. Animal Products Technology and Marketing. Faculty of Veterinary and Animal Sciences, West Bengal University of Animal and Fishery Sciences, Koklata-37. 2008
15. Mead GC. HACCP in primary processing : poultry. HACCP in the Meat Industry. Edt. Brown M. CRC Press, Woodhead Publishing Limited, England 2000b; 123-153.
16. Conner DE, Davis MA, Zhang L. Poultry-borne pathogens: plant considerations. Poultry meat processing. Edt. Sams A R. CRC Press, USA 2001; 137-159.
17. Temiz A. Gıda işletmelerinde hijyen ve sanitasyon. Gıda Denetçisi Eğitimi Semineri. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, , Ankara 7-9 Şubat 2001; 19.
18. Baracho MS, Camargo GA, Lima AMC, et al. Variables impacting poultry meat quality from production to pre-slaughter: a review. Braz J Poult Sci 2006; 8: 201-212.
19. Northcutt JK. Reference Guide for Solving Poultry Processing Problems. The University of Georgia Cooperative Extension Bulletin 2009; 1156.
20. Hargis BM, Caldwell DJ, Byrd JA, Microbiological pathogens: live poultry considerations. Poultry Meat Processing. Edt. Sams AR. CRC Press, USA 2001; 121-137.
21. Kumar CG, Anand SK. Significance of microbial biofilms in food industry : a review. Int J Food Microbiol 1998; 42: 9-27.
22. Arnold JW, Silvers S. Comparison of poultry processing equipment surfaces for susceptibility to bacterial attachment and biofilm formation, Poult Sci 2000; 79: 1215-1221.

23. Escudero-Gilete ML, González-Miret ML, Heredia FJ. Multivariate study of the decontamination process as function of time, pressure and quantity of water used in washing stage after evisceration in poultry meat production. J Food Eng 2005; 69: 245-251.
24. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. A.Ü. Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Ankara Üniversitesi Yaynevi, Ankara 2001.
25. 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, Bursa1991; 191-200.
26. Mead GC. Microbiological quality of poultry meat. Braz J Poult Sci, 2004a; 6(3): 135-142.
27. Davies A, Board R. The Microbiology of Meat and Poultry. Blackie Academic and Professional. UK 1998.
28. Mead GC. Shelf-life and Spoilage of Poultry Meat. Edt. Mead GC. Poultry Meat Processing and Quality, Cambridge, UK 2004b.
29. Jian-Guo XU, Bo-Kun C, Qi-Huai J. *Escherichia coli* 0157:H7 and shiga-like-toxin producing *Escherichia coli* in China. World J Gastroenterol 1999;5(3):191-194.
30. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Iowa: Blackwell Publishing Professional 2002; 106-113.
31. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins. 2000; 179- 180.
32. <http://hubpages.com/education/Understanding-The-E-Coli-Bacteria> (Erişim tarihi: 21.03.20016).
33. Halkman AK, Noveir MR, Doğan HB. *Escherichia coli* O157: H7 Serotipi, Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara2001; 43.
34. Hudson JA, Nicol C, Capill J, Bennett J. Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from Foods Using EHEC Agar. Lett Appl Micr 2000; 30(2): 109-113.
35. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Tanı Safak Matbacılık, 4 .Basım. Ankara 2004
36. Abdullah N, Davies R. Growth and Toxin Production of Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) in the Presence of Sodium chloride. Suppl to J Appl Micr 1999; 87(1): 15.
37. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev1998; 11: 142-201.

38. Karapınar M, Gönül SA. Gıda kaynaklı hastalıklar "Gıda mikrobiyolojisi, Edt. Ünlütürk A, Turantaş F. Mengi Tan Basımevi 1998; 1: 109-164.
39. 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.
40. Milon A, Oswald E, Rycke JD. Rabbit EPEC: a model for the study of enteropathogenic *Escherichia coli*. Vet. Res 1999; 30: 203- 219.
41. Doyle M P. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. Int Food Microbiol 1991; 12(4):289-301.
42. Eklund M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from Humans in Finland. Publications of the National Public Health Institute 2005; 97.
43. İzgür M. Koli enfeksiyonları. In: Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Ed: İzgür M, Akan M. Medisan Yayınevi, Ankara 2002; 55-59.
44. Fantelli K, Stephan R. Prevalence and characteristics of shigatoxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. Int J Food Microbiol 2001; 70: 63-69.
45. Tunail N. Mikrobiyolojik enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. Edt. Akçelik M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB, Gürgün V, Halkman K, Kulesaan H, Özkaya DF. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbacılık Ltd Sti Ankara 1999; 59-90
46. Bell C. Approach to the control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Int J Food Microbiol 2002; 78: 197-216.
47. Arslan D. İshal oluşturan *Escherichia coli* enfeksiyonları; epidemiyoloji, klinik, tedavi. ANKEM Derg 2008; 22(2): 192-196
48. Krishnan C, Fitzgerald VA, Dakin SJ, Behme RJ. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J Clin Microbiol 1987; 5(6): 1043-1047.
49. Scott L, McGee P, Minihan D, et al. The characterization of *E.coli* O157:H7 isolates from cattle faeces and feedlot environment using PFGE. Vet. Microbiol 2006.

50. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet 1983; 619-620.
51. Thorns CJ. Bacterial food-borne zoonoses. Re Sci Tech Off int Epiz 2000; 19(1): 226-239.
52. Özbaş ZY, Aytaç SA. *Escherichia coli* O157:H7 Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri. Türk Hij Biyol Derg 1995; 52 (1): 47-53.
53. Coşansu S, Ayhan K. Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 ve Fermente Et Ürünlerindeki Önemi. Gıda Derg 2000; 25(1): 33-38.
54. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E.coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev. 1991; 13: 60-98.
55. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris J. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of developed world. Epidemiol Rev 1996; 18: 29-51.
56. Remis RS, MacDonald KL, Riley LV, Puhr ND. Sporadic Cases of Hemorrhagic Colitis Associated with *Escherichia coli* O157:H7. Ann Int Med 1984; 101: 624-626.
57. Pedritis H, Kidder G, Ogram A. *E.coli* O157:H7, A potential health concern. University of Florida 2002; 1-4
58. Park S, Worobo R, Durst R. *Escherichia coli* O157:H7 As an Emerging Foodborne Pathogen: A Literature Review. Crit Rev Food Sci Nutrition 1999; 39(6): 481-502.
59. Temiz A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara 2000; 3: 216-232.
60. Coia JE. Clinical, Microbiological and Epidemiological Aspects of *Escherichia coli* O157:H7 Infections, FEMS Immunol Medical Microbiol 1998; 20: 1-9.
61. Noveir MR, Doğan HB, Halkman AK. A note on *Escherichia coli* O157:H7 serotype in Turkish meat products. Meat Sci 2000; 56(4): 331-335.

62. Karch H, Bielaszewska M. Sorbitol-fermenting shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H- strains: epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis. J Clin Microbiol 2001; 39: 2043-2049.
63. Bettelheim KA, Whipp M, Djordjevic SP, Ramachandra V. First isolation outside Europe of sorbitol-fermenting verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) belonging to O group O157. J Med Microbiol 2002; 51: 713-714.
64. Park S, Worobo R, Durst R. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A Literature Review. Crit Rev Food Sci Nutr 2010; 39(6): 481-502.
65. Kuntz TB, Kuntz ST. Enterohemorrhagic *E.coli* infection. Prim Care Update OB/GYNS, 1999; 6: 192-196.
66. Lira WM, Macedo Marin JM. The incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle with mastitis in Brazil, J Appl Microbiol 2004; 97: 861-866.
67. Osek J. Development of a multiplex PCR approach for the identification of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains and their major virulence factor genes. J Appl Microbiol. 2003; 95: 1217- 1225.
68. Jores J, Rumer L, Wieler LH. Impact of the locus of enterocyte effacement pathogenicity island on the evolution of pathogenic *Escherichia coli*, Int J Med Microbiol 2004; 294:103-113.
69. Padhye NV, Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. J Food Protect 1992; 55: 555-565.
70. Dunn JR. The Epidemiology of Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Louisiana Dairy Cattle, Beef Cattle and White-Tailed Deer 2003.
71. Terada K. Information about food poisoning caused by *E. coli* O157. J Infect Dis 1995; 171: 1042-1045.
72. Hajian S, Rahimi E, Mommtaz H. A-3year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, camel, sheep, goat, chicken and beef minced meat. International Conference on Food Engineering and Biotechnology 2011; 9: 5-6.
73. Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. Vet Res 2005; 36: 289-311.

74. Maulle A. Survival of verotoxigenic strain *E.coli* O157 in laboratory-scale microcosms. In: Coliforms and *E.coli* problem or solution. The Royal Society of Chemistry 2000: 6-5.
75. Alişarlı M, Akman NH. Perakende satılan kıymaların *Escherichia coli* O157 yönünden incelenmesi. YY ÜnivVet Fak Derg 2004; 15(1-2): 65-69.
76. Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Asthon R, Harkin MA. *E.coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamp products in South Yorkshire. UK. Int J Food Microbiol 2001; 64: 139-150.
77. 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.
78. Tosun H, Gönül Aktuğ Ş. *E.coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalardaki önemi. Orlab On-line Mikrobiyolojisi Dergisi 2003; 10(1): 10-17.
79. De Boer E. Update on media for isolation of *Enterobacteriaceae* from foods. Int J Food Microbiol 1998; 45: 43-53.
80. 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.
81. Okrend AJG, Rose B, Lattuada CP. Use of 5-bromo-4-chloro-3-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.
82. Farmer JJ, Davis BR. H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J Clin Microbiol 1985; 22: 620-625.
83. March SB, Ratnam S. Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157. J Clin Microbio. 1989; 27: 1675-1677.
84. Johsen G, Wasteson Y, Heir E, Gerget OI, Herikstad H. *Escherichia coli* O157:H7 faeces from cattle, sheep and pigs in the southeswest part of Norway during 1998 and 1999. Int J Food Microbiol 2001; 65: 193-200.
85. Chapman PA, Ellin M, Ashton R, Shafique W. Comparison of culture, PCR and immunoassays for detecting *Escherichia coli* O157 following enrichment culture and immunomagnetic

- separation performed on naturally contaminated raw meat products. *Int J Food Microbiol* 2001; 68: 11-20.
86. Fratamico PM, Bagi LK, Pepe T. A multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection and identification of *Escherichia coli* O157:H7 in foods and bovine feces. *J Food Protect* 2000; 63: 1032-1037.
 87. Kuhnert P, Dubosson CR, Roesch M, et al. Prevalance and risk factor analysis of shiga toxigenic *Escherichia coli* in feecal samples of organically and conventionally farmed dairy. *Vet Microbiol* 2005; 109: 37-45.
 88. Cleary TG. The role of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Infect Dis* 2004; 15: 260-265.
 89. Temelli S. Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157:H7 ve önemi. *UÜ J Fac Vet Med* 2002; 21: 133-138.
 90. CDC. *E. coli* O157:H7 Procedure for isolation and identification from stool specimens. foodborne and diarrheal diseases branch, division of bacterial and mycotic diseases. National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention MS C-09 1600 Clifton Rd Atlanta 1994; (703): 487-490.
 91. McCabe-Sellers B, Beattie SE. Food Safety: Emerging Trends in Foodborne Illness Surveillance and Prevention. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1708-1717.
 92. Rahkio M, Korkeala H. Microbiological contamination of carcasses related to hygiene practice and facilities on slaughtering lines. *Acta Vet Scand* 1996; 37(3): 219-228.
 93. Hayes PR. *Food Microbiology and Hygiene*, Second Edition, Chapman & Hall, 1992; 34 p, pp. 360-369.
 94. Marriott NG. *Principles of Food Sanitation*, Second edition, An avi book 1989; 101-113.
 95. Yang Z, Li Y, Slavik M. Use of antimicrobial spray applied with an inside – outside birdwasher to reduce bacterial contamination on prechilled chicken carcasses, *J.Food Protect* 1998; 61(7): 829-832.
 96. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, et al. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. *Int J Food Microbiol* 2003; 82: 273-279.

97. Aslantas O, Erdogan S, Cantekin Z, Gulacti İ, Evrendilek GA. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from Turkish cattle. *Int J Food Microbiol* 2006; 106: 338-342.
98. Sarimehmetoğlu B, Aksoy MH, Ayaz ND. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef using immunomagnetic separation and multiplex PCR. *Food Control* 2009; 20: 357-361.
99. Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, et al. Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *J Food Prot* 2003; 66: 1978-1986.
100. Inat G, Siriken B. Detection of *Escherichia coli* O157 and *Escherichia coli* O157:H7 by the immunomagnetic separation technique and *stx1* and *stx2* genes by multiplex PCR in slaughtered cattle in Samsun Province, Turkey. *J Vet Sci* 2010; 11(4): 321-326.
101. Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 1998; 352:1207-1212.
102. Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol* 1987;53: 2394-2396.
103. Palumbo SA, Pickard A, Call JE. Population Changes and Verotoxin Production of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains Inoculated in Milk and Ground Beef Held at Low Temperatures. *J Food Prot* 1997; 60(7): 47-50.
104. Hussein HS, Bollinger LM. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *J Food Protect* 2005; 68: 2224-2441.
105. Possé B, De Zutter L, Heyndrickx M, Herman L. Metabolic and genetic profiling of clinical O157 and non-O157 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli*. *Res Microbiol* 2007; 158: 591-599.
106. Murinda SE, Nguyen LT, Landers TL, et al. Comparison of *Escherichia coli* isolates from humans, food, and farm and companion animals for presence of shiga toxin-producing *E. coli* virulence markers. *Foodborne Pathog Dis* 2004; 1: 181-184.
107. Etcheverria AI, Padola NL, Sanz ME, et al. Occurrence of shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci*, 2010; 86: 418-421.

108. Stavric S, Buchanan B, Gleeson TM. Intestinal colonisation of young chicks with *Escherichia coli* O157:H7 and other verotoxin-producing serotypes. J Appl Bacteriol 1993; 74: 557-563
109. Beery JT, Doyle MP, Schoeni JL. Colonization of chicken caeca by *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. Appl Environ Microbiol 1985; 49: 310-315.
110. Sperber WH. HACCP does not work from farm to table. Food Control, 2005a; 16: 511-514.
111. Sperber WH. HACCP and transparency. Food Control, 2005b; 16: 505-509.
112. Akkaya L, Atabay HI, Kenar B, Alisarlı M. Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 on chicken carcasses sold in Turkey. Bull Vet Inst Pulawy 2006; 50: 513-516.
113. Abay S, Aydın F, Ertaş N, Hizlisoy H, Erdoğan S, Gönülalan Z. Kanatlılardan *Escherichia coli* O157 İzolasyonu Üzerine Çalışmalar. Erc Univ Vet. Fak Derg 2014;11(1): 1-6.
114. Kalin R, Öngör H, Çetinkaya B. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 from broiler and human samples. Foodborne Paht Dis 2012; 9(4): 313-318.
115. Sekmen SGD, Kaya O. Broiler piliçlerden *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Pendik Vet Mikrobiyol Derg 2010; 37(1): 19-31.
116. Kagambe`ga A, Martikainen O, Lienemann T. Diarrheagenic *Escherichia coli* detected by 16-plex PCR in raw meat and beef intestines sold at local markets in Ouagadougou, Burkina Faso. Int J Food Microbiol 2012;153:154158.
117. Raji MA, Minga UM, Machang'u RS. Prevalence and characterization of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 isolated from local chicken in Morogoro, Tanzania. J Anim Vet Advan 2006; 5(11): 952-958.
118. Tabatabaei M, Mekarizade A, Foad-Marashi N. Detection and molecular characterization of sorbitol negative shiga toxigenic *Escherichia coli* in chicken from northwest of Iran. Vet Res Forum 2011; 2(3): 183-188.

119. Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JT, Van den Biggelaar FL, Van Leeuwen WJ, De Boer E. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int J Food Microbiol* 1999; 52 (1-2): 67-75.
120. Baran F, Gülmez M. The occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in the ground beef and chicken drum sticks. *Internet J Food Safety* 2003; 2: 13-15.
121. Balpetek D, Gürbüz Ü. Bazı et ürünlerinde *E. coli* O157:H7 varlığının araştırılması. *Eurasian J Vet Sci*, 2010; 26(1): 25-31.
122. Chahed A, Ghafir Y, Dierick K, et al. Survey of the contamination of foodstuffs of animal origin by shiga toxin producing *Escherichia coli* serotype O157:H7 in Belgium from 1999 to 2003. *Eurosurveillance* 2005; 10: 9-10.
123. Chapman PA, Siddons CA, Cerdan Malo AT, Harkin MA. A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiol Infect* 1997; 119: 245-250.
124. Kijima-Tanaka M, Ishihara K, Kojima A, et al. A national surveillance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food-producing animals in Japan. *J Vet Med* 2005; B52:230237.
125. Olatoye IO, Amosun EA, Ogundipe GA. Multidrug Resistant *Escherichia coli* O157 Contamination of Beef and Chicken in Municipal Abattoirs of Southwest Nigeria. *Nature and Science* 2012;10(8): 125-132.
126. Vernozy-Rozand C. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and other verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC) in food. *J Appl Microbiol.* 1997;82(5): 537-551.
127. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne diseases active surveillance network, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46: 258-261
128. McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ et al. The prevalence and spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a commercial beef abattoir. *J Appl Microbiol* 2003; 95: 256-266.
129. Varela-Hernández JJ, Cabrera-Diaz E, Cardona-López MA, et al. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. *Int J Food Microbiol* 2007; 113: 237-241.
130. Hussein HS, Sakuma T. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *J Dairy Sci*, 2005; 88: 450-465.

131. Islam MA, Mondol AS, de Boer E, et al. Prevalence and genetic characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Appl Environ Microbiol*, 2008; 74: 5414-5421.
132. Ojo OE, Ajuwape ATP, Otesile EB, et al. Potentially zoonotic shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in the faeces and meat of food-producing animals in Ibadan, Nigeria. *Int J Food Microbiol*, 2010; 142: 214-221.
133. Tutenel AV, Pierard D, Van Hoof J, Cornelis M, De Zutter L. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. *Int J Food Microbiol* 2003; 84: 63-69.
134. Okrend AJG, Rose BE, Lattuada CP. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 using O157 specific antibody coated magnetic beads. *J Food Prot* 1992; 55: 214-217.
135. Mora A, Leon SL, Blanco M, et al. Phage types virulence genes and PFGE profiles of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 isolated from raw beef meat, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). *Int J Food Microbiol*, 2007; 114: 204-210.

ÖZGEÇMİŞ

- 1. Adı Soyadı** : Ahmet GEÇER
- 2. Doğum Tarihi** : 07.03.1988
- 3. Doğum Yeri** : Tokat
- 4. Unvanı** : Veteriner Hekim
- 5. Medeni Durumu** : Bekar
- 6. İş Tecrübesi** : Güler Sucukları Et Entegre Tesislerinde Yetkilendirilmiş Veteriner Hekim
(2012-2013), Samsun Havza İlçe Tarım Müdürlüğü 2013-
- 7. Yabancı Dil** : İngilizce

1. Öğrenim Durumu:

Derece	Üniversite	Fakülte	Yıl
Lisans	Erciyes	Veteriner	2007-2012
Y. Lisans	Erciyes	Sağlık Bilim. Enst.Veteriner Gıda Hij. Ve Tek.	2012-

Adres : Yenimescit mah. Toki Konutları E4 No :3, Kat:1, Havza, SAMSUN

Tel : 05064933977

E-mail : ahmetgecer60@hotmail.com

