

Escherichia coli BESİN ZEHİRLENMESİ (Derleme)

Ahmet GÜNER¹

Escherichia coli food poisoning

SUMMARY

Escherichia coli that forms considerable amounts of normal micflora of human and animal intestinum is very important microorganism in food microbiology. While its presence in food is known indicator of fecal contamination, it causes gastroenteritis and pathological and functional disorder in kidney and brain.

KEY WORDS: *Escherichia coli*, food, contamination, poisoning

ÖZET

İnsan ve sıcak kanlı birçok hayvanın intestinal kanalındaki normal mikrofloranın önemli bir bölümünü oluşturan *Escherichia coli* besin mikrobiyolojisinde önemli bir mikroorganizmadır. Besinlerdeki mevcudiyeti fekal bir kontaminasyonun indikatörü olarak bilinmekle birlikte, başlıca gastroenteritislere, böbrek ve beyinde patolojik ve fonksiyonel bozukluklara sebep olur.

ANAHTAR KELİMELEER: *Escherichia coli*, besin, kontaminasyon, zehirlenme

GİRİŞ

Besin zehirlenmesi, hastalık oluşturabilecek etkenleri ihtiva eden besinlerin tüketimi sonucu ortaya çıkabilen bir hastalıktır. Besin kaynaklı zehirlenmeler; bakteriler, viruslar, parazitler ve mantarların besinlere bulaşıp çoğalması ile meydana gelen enfeksiyon ve enfestasyon ile salgıladıkları ekzo ve endotoksinlerce oluşan intoksikasyonların yanı sıra toksik etkiye sahip maddeleri bileşiminde bulunduran ya da bu toksik madde ve/veya maddelerle kontamine besinlerin tüketimi neticesinde de ortaya çıkar.

Bakteriyel besin zehirlenmeleri, bakterilerin ürettikleri ekzo ve endotoksinleri ile oluşturdukları intoksikasyon ve bakteri hücrelerinin çoğalmasıyla meydana gelen enfeksiyon olmak üzere iki şekilde oluşur. *Escherichia coli* (*E. coli*), hem oluşturdukları toksinlerle intoksikasyona hem de hücrel artışı ile enfeksiyon tipinde bir besin zehirlenmesine (Toksi-İnfeksiyon) sebep olur (Doyle ve Padhye 1989, Orskow 1984, Pomeraz 1992).

İlk defa 1885'te Dr. Theodor ESCHERİCH tarafından tespit edilen *E. coli*, insan ve sıcak kanlı birçok hayvanın intestinal kanalındaki normal mikrofloranın önemli bir bölümünü oluşturur. Hayvanların çoğu yaşamlarının ilk gününde bağırsaklarında bu mikroorganizmayı bulundurur. Bebekler ise *E.coli*'yi annelerinden alırlar (Doyle ve Cliver 1990). *E. coli*, bağırsaklardaki fakültatif anaerobik doğal floranın predominant bakterisidir ve intestinal fizyolojide önemli rol oynar (Doyle ve Padhye 1989). Bundan dolayı, genellikle dışkıda mevcut olan bu bakteri çevrede yaygındır (Doyle ve Cliver 1990). Enterobacteriaceae familyasının

koliform grubu içinde yer alır. Koliform gruptaki diğer mikroorganizmalar doğal olarak toprakta bulunabildiğinden *E. coli* fekal kirlilik indikatörü olarak aranır (Dixon 1992, Halkman ve ark. 1994). *E.coli* buzağı, kuzu ve civcivlerde ekonomik kayıplara yol açan kolibasilozisin etkenidir. Ayrıca, ineklerde mastitis, kedi ve köpeklerde üriner sistem enfeksiyonlarına sebep olurlar (Arda ve ark. 1982). Besinlerdeki varlığı fekal bir kontaminasyonun indikatörü olarak bilinmekle birlikte besinler vasıtasıyla alınması sonucu başlıca gastroenteritislere, böbrek ve beyinde patolojik ve fonksiyonel bozukluklara sebep olurlar (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990, Olsvik ve ark. 1991, Pomeraz 1992).

E.coli'NİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Escherichia, Enterobacteriaceae familyasında bulunan 30 soydan birisidir ve *E.coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* ve *E. vulneris* türlerine sahiptir (Holt ve ark. 1994). *E.coli*, 2-3 µm uzunluğunda 0.6 µm genişliğindedir. Çoğunlukla peritrik flagellaları ile hareket halindedir, fakat az da olsa hareketsiz olanları vardır (Arda ve ark. 1982, Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990, Frank ve ark. 1978, Orskow 1984). Birçok suşlarında kapsül ya da mikrokapsül vardır (Doyle ve Cliver 1990, Olsvik ve ark. 1991). Bağırsaklardan dışarıda izole edilen birçok suşları lipopolisakkarid yapıda bir dış membrana sahiptir. Bu dış zara göre koloniler düz (Smooth, S formu) ya da parçalı (Rough, R formu) gözlemlenirler (Orskow 1984). Besiyerlerindeki koloniler genellikle düz ya da çok az konveks, gri, rutubetli, parlak yüzeyli ve tuzlarda kolaylıkla dağılabilen biçimde ya da kuru, parçalı ve tuzlarda kolaylıkla dağılamayan şekillerdedir (Orskow 1984,

Doyle ve Padhye 1989). *E.coli*'nin birçok suşunda bakteri yüzeyine yayılmış ve bakteriyi çevreleyen sıvı içersine uzanan oldukça fazla sayıda fimbria bulunur. Fimbriaların bazıları patojenitede önemli fonksiyonlara sahiptir. Hemaglitünasyon yeteneklerine göre fimbrianın başlıca iki varyetesi (mannoza dirençli ve mannoza duyarlı) bildirilmiştir (Orskow 1984).

Gram negatif, fakültatif anaerobik ve optimum gelişme ısı 37° C dir. Koliform grubun diğer üyelerinden farklı olarak 45° C'de laktozu fermente eder. *E.coli*, besin maddelerinin en az bulunduğu bir ortamda (bazal ortam) gelişebilmesinin yanı sıra basit şekerleri de kullanabilme yeteneğine sahiptir (Arda ve ark. 1982, Orskow 1984, Doyle ve Padhye 1989). Isı ve pH değerine bakmaksızın % 8-10 sodyum klorür içeren ortamlarda üreyemezler. *E.coli*'nin % 1-4 sodyum klorür ve 1-400 ppm sodyum nitrit içeren, pH 'sı 6.2-6.8, sıcaklığı 15-35° C olan bir ortamda gelişmediği, buna karşın % 6 oranında sodyum klorür içeren ve sıcaklığı 10° C olan ortamlarda üremesinin egellendiği, fakat ortam sıcaklığı 35° C'ye yükseltildiği zaman üremenin olduğu bildirilmektedir (Doyle ve Padhye 1989). Conner (1992), *E. coli* 0157:H7'nin sıcaklığın düşmesiyle birlikte tuzdan daha çok etkilendiğini bildirmektedir. Bunun yanı sıra *E.coli*'nin, sodyum klorür ve sodyum nitrite karşı *Salmonella*'nın karışık suşlarından daha dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Doyle ve Padhye 1989). *Streptococcus cremoris*'in, *Lactobacillus helveticus* ya da *Lactobacillus bulgaricus* ile kombinasyonlarının, tek tek ya da birlikte kullanılan *Streptococcus cremoris* ve *Streptococcus diacetylactis*'ten daha etkili olarak *E.coli* üzerinde baskılayıcı ve elimine edici etkileri olduğu belirlenmiştir (Luck ve Dunkled 1981).

E.coli'nin bazı suşları enterotoksin oluştururlar. Oluşturulan toksinlerden ikisi üzerinde günümüze kadar çok fazla çalışmalar yapılmıştır. Bunlar ısıya dayanıksız olan labil toksin (LT), diğeri ise ısıya dayanıklı olan stabil toksin (ST) dir. Her iki toksin bir arada ya da ayrı ayrı bulunabilir (Holbrook ve Anderson 1982, Dixon 1992). Son zamanlarda üzerinde en fazla çalışılan toksinlerden olan ve Afrika yeşil maymununun böbrek hücrelerinden hazırlanan böbrek hücre kültürlerine (vero cells) toksik etki yaptıkları için verotoksin olarak bilinen, verotoksin I (VT I) ve verotoksin II (VT II) enterotoksinleridir (Wearatna ve Doyle 1991).

E. coli'nin varlığını doğrulamak amacıyla uygulanan biyokimyasal testlere (indol, metil - red, Voges Proskauer, citrat, İMVIC) göre mikroorganizma, biyotip I ve biyotip II olarak sınıflandırılır (Abbis ve Blood 1982, Doyle ve Padhye 1989, Dixon 1992, Pomeraz 1992). *E.coli*'nin yaklaşık % 95'i (+ + - -) test sonuçları ile biyotip I, geriye kalan % 5'lik kısım ise (- + - -) test sonuçları ile biyotip II sınıfına sokulur (Doyle ve Padhye 1989, Dixon 1992).

Besin kaynaklı *E.coli* farklı patojenik özellikleri, antijenleri ve epidemiyolojilerine göre dört grupta sınıflandırılarak incelenir (Doyle ve Padhye

1989). *E.coli*'yi klasifiye etmede en çok kullanılan yöntem, bakterilerin yüzeyindeki antijenlerin farklılıkları üzerine dayanan serotiplendirme yöntemidir (Orskow 1984). İlk serotiplendirme tablosunun Kaufman tarafından, somatik (O), flagellar (F) ve kapsüller (K) şeklinde geliştirildiği ifade edilmektedir (Orskow 1984, Doyle ve Padhye 1989). Somatik antijen, *Enterobacteriaceae* familyasının bütün düz kolonilerinde bulunan ısıya dayanıklı (100° C'de 2 saat) ve 170'ten fazla çeşiti bulunan bir antijendir. Flagellar antijen, proteinden oluşmuştur ve şu ana kadar 56 tane flagellar antijen tespit edilmiştir (Doyle ve Padhye 1989). Kapsül antijenleri, polisakkarid yapıda olup, yaklaşık 80 farklı kapsüller antijen bilinmektedir (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990, Orskow 1992). Tablo 1'de antijenlere dayanılarak yapılan sınıflandırmaya göre patojenik *E. coli* grupları ile her grubun etkileme şekli ve klinik belirtileri gösterilmektedir.

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Bu gruptaki serotipler, çocuklarda oluşan infantil diare ya da yaz ishali olarak bilinen salgın hastalıkların başlıca sebebidir. EPEC grubundaki serotipler başlıca, O18ab, O18ac, O26, O44, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128ab, O142, O158 antijenlerine sahiptirler (Doyle ve Padhye 1989, Orskow 1992, Pomeraz 1992). Sağlıklı insanlarda "O55 antijenini" bulunduran serotipler bulunmazlar. Bu antijeni bulunduran serotipler diareli çocuklardan izole edildiklerinden tamamen patojen olarak bilinir. Buna karşın "O86" serotipleri sağlıklı insanların bağırsak florasında bulunmalarına rağmen hastalık oluşturmazlar. Bu yüzden yetişkinlerde bu mikroorganizmalara karşı bağışıklık geliştiğine inanılır (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990).

Enteroinvansif *E. coli* (EIEC)

Enteroinvansif grubundaki serotipler birçok yönden shigellozise benzeyen ve ayırt edilmesi güç olan dizanterik formda bir hastalık oluşturur. EIEC serotipleri *Shigella* türlerindeki serotipler ile ilişkilidir ve bu ilişkide "O124" ve "O164" ile *Shigella dysenteria* 3'ün antijenik komponentleri önemli bulunmuştur.

EIEC genellikle hareketli, anaerobik, laktozu geç fermente eden ve biyokimyasal testlerde diğer *E.coli*'lerden daha az aktif olan serotiplerdir. EIEC serotipleri ile ilişkili olan "O" antijenler, O2a, O28ac, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167' dir (Doyle ve Padhye 1989, Pomeraz 1992). Bu "O" antijenlerin bazıları "H" antijenleri ile bir arada bulunur (Doyle ve Padhye 1989).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E. coli* bütün yaş gruplarında diarenin önemli bir sebebidir (Doyle ve Padhye 1989). Hastalık, yolcu diareisi ya da turist ishali olarak bilinir ve oldukça ılımlı bir seyir gösterir (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Gelişmekte olan ülkelerde yapılan çalışmalarda asemptomatik bireylerin dışkılarında sıklıkla bu serotiplerin varlığı ortaya çıkarılmıştır.

Tablo 1. Patojenik *E.coli* Grupları Virulens Faktörleri ve Klinik Belirtileri.

Gruplar	Virulens Faktörler	Klinik Belirtiler
Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	Bağırsak epitel hücre yüzeyine yapışma	Mukus içeren sulu diare
Enteroinvansif <i>E. coli</i> (EIEC)	Bağırsak epitel hücrelerine yığılma	Mukuslu, kanlı diare
Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Enterotoksin: LTIIa, LTIIb, LTIIa, LTIIb, STIIa, STIIb, STII	Sulu diare
Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	Shigella toksinine benzer toksin (SLTI, SLTII) ve kolonizasyon yeteneği	Ağrılı diare, hemolitik üremik sendrom, trombotik trombositopenik purpura

Bu durum gelişmekte olan ülke insanların ETEC'ye maruz kaldığını ve bu mikroorganizmaya karşı bağışıklığın geliştiğini göstermektedir (Doyle ve Padhye 1989). Bu gruptaki serotiplerin sahip olduğu antijenler, O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O80, O85, O115, O128ac, O139, O148, O153, O159, O167' dir (Doyle ve Padhye 1989, Orskow 1992).

Enterotoksijenik *E.coli* serotipleri, plazmid muhtevalarına bağlı olarak iki tip toksinin (ısıya dayanıklı ve dayanıksız toksin) birini ya da her ikisini oluştururlar (Linggood 1982, Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990, Orskow 1992, Pomeraz 1992).

Isıya dayanıksız toksin (Heat Labile Toxin, LT)

Bu toksin, 60° C'de 30 dakikada inaktif olur. Yapı ve mekanizması ile *Vibrio cholera*'nın oluşturduğu toksine (Cholera toxin, CT) benzerlik gösterir (Holbrook 1980, Linggood 1982, Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). LT, bir polipeptid zinciri içeren A alt birim (A subünite) ve beş polipeptid zinciri içeren B alt birim (B subünite) den meydana gelmiş bir protein kompleksidir. Molekül ağırlığı 11000–25000 dir. LT, periplazmik boşluğa yerleşmiştir ve çok az bir kısmı dışarı salınır. Bu durum LT'yi CT'den ayırt eder, çünkü CT tamamen ekstraselüler olarak salınır (Farrag ve Marth 1992). LT'nin insanlardan elde edilen LTh ve domuzlardan elde edilen LTp diye isimlendirilen iki şekli bilinmektedir. LTh ve LTp'nin hem ortak hem de ayrı özellikleri vardır. Her ikisinde CT'ine karşı hazırlanan antiserumlar tarafından nötralize edilir. *E.coli* tarafından üretilen LTh ve LTp, LT I olarak isimlendirilir. Ayrıca LT I ve CT'ine benzer bir çok biyolojik aktiviteye sahip olan fakat LT I ve CT'ine karşı hazırlanan antiserumlar tarafından nötralize edilemeyen *E.coli* toksini LT II olarak isimlendirilir (Doyle ve Padhye 1989).

Isıya dayanıklı toksin (Heat Stable Toxin, ST)

Bu enterotoksin 100° C'de 30 dakikada inaktif olur. Düşük moleküler ağırlığa sahip olan bu toksin, ısıya dayanıklılığının yanı sıra proteolitik enzimler, lipaz ve organik solventlere de dayanıklıdır (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Isıya dayanıklı toksinin STa ve STb ismi verilmiş olan iki tipi vardır (Doyle ve Padhye 1989, Gross 1990). STa ve STb metanoldeki çözünürlükleri ile birbirinden ayrılır. STa metanolde çözünmesine karşın STb çözünmez (Doyle ve Cliver 1990, Gross 1990). Antijenik özellikleri yoktur ve enfeksiyondan sonra antiserum

oluşmasına sebep olmazlar (Doyle ve Padhye 1989).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC, O157:H7)

Enterohemorajik *E.coli* (O157:H7), ilk olarak 1975'te şiddetli abdominal krampları takiben ishalin görüldüğü bir hastanın dışkılarından izole edilmiştir (Doyle ve Padhye 1989). *E.coli* O157:H7 izolasyonlarının bir çok biyokimyasal reaksiyonları, sorbitol fermentasyonu hariç, diğer serotiplerin benzeridir (Doyle ve Padhye 1989, Farrag ve Marth 1992). Bakterinin -80° C'de 9 ay canlılığını koruduğu ve -20° C'de dondurulmuş parça etlerin depolanma şartlarından etkilenmediği bildirilmiştir (Farrag ve Marth 1992).

E.coli O157:H7, bilinen *E.coli* toksinlerini (ısıya dayanıklı ve dayanıksız toksin) oluşturmamasına ve enteroinvansif olmamasına rağmen vero hücre kültürleri için sitopatojenik olan farklı antijenik yapıda toksin oluşturur (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Toksinler, VT I ve VT II diye bireysel olarak isimlendirildikleri gibi bütün olarak verotoksin (VT) de denir (Cheryl 1987, Gross 1990). VT I sırasıyla 32210 ve 7690 molekül ağırlıklarına sahip olan A ve B alt birimlerden meydana gelmiştir. VT II'deki A ve B alt birimlerinin molekül ağırlıkları ise 33135 ve 7817'dir (Gross 1990). Bu toksinler özellikle kalın bağırsaklarda etkilidir (Doyle ve Cliver 1990).

BESİNLERİN *E.coli* ile BULAŞMASI ve BULAŞMADA ROL OYNAYAN BESİNLER

E.coli'nin asıl kaynağı insan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsakları olduğundan varlığı; suda fekal bir kontaminasyonun, besinlerde de üretimde uygulanan hijyenin bir indikatörü gibi değerlendirilir (Holbrook ve ark. 1980, Doyle ve Padhye 1989). Bütün gıdalarda olduğu gibi suyun içilebilirliği de sudaki fekal kontaminasyona bağlıdır (Dixon 1992). *E.coli*, besin endüstrisinde çalışan işçilerin ellerinden, klorlanmamış kontamine sular ile besinlerin ve besin hazırlama ekipmanlarının teması ve gübre olarak insan ve hayvan dışkısının kullanımıyla besinlere bulaşır (Doyle ve Padhye 1989, Pomeraz 1992). *E.coli* enfeksiyonu geçirmiş ve hasta olan kişiler sıklıkla ve oldukça fazla miktarda mikroorganizmayı çevreye yayar (Brayn 1979). Brayn (1979)'ın bildirdiğine göre, Pether ve Gilber (1971), 110 kasabın 13'ünün ellerinden *E.coli*'yi izole etmişlerdir.

E.coli ile ilişkili besin kaynaklı salgınlarda su başlıca bir bulaşma kaynağıdır. Romanya'da 1961 çoğunluğunda görülen enteritis vakasında, öğrencilerin içmiş oldukları kahvenin besin zehirlenmesini oluşturduğu ve etkeninde "*E.coli*

O86:B7:H34" olduğu tespit edilmiştir (Doyle ve Padhye 1989). 1967 yılında Washington yakınlarında bir konferans merkezinde EPEC'nin sebep olduğu su kaynaklı gastroneteritis vakasında hastaların dışkılarından ve içilen sudan yapılan incelemeler sonucunda "E.coli O11:B4" izole edilmiştir (Doyle ve Padhye 1989). ABD'de, Fransa'dan ithal edilen camembert peynirlerini tüketen kişilerde ortaya çıkan besin enfeksiyonlarının sebebi olarak; üretiminin yapıldığı fabrikanın su arıtma sisteminin iyi çalışmadığı ve peynirin bu yolla kontamine olduğu bildirilmiştir (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990).

Besinler, servise sunulduğu bölümlerde de sıklıkla *E.coli* ile kontamine olurlar. Brayn (1979)'nın bildirdiğine göre, Cook ve ark. (1970) bu mikroorganizmayı salata, çiğ meyve ve sebze, sıcak ve soğuk püreler, soslar, et ve tavuk ürünleri, çorba ve sıcak sebze yemeklerinden izole etmişlerdir. Süt ve ürünlerinde yapılan araştırmalarda da değişik *E.coli* serotipleri bulunmuştur (Doyle ve Padhye 1989). 1940'larda çocuklarda EPEC'den ileri gelen infantil diarelerin etiolojisi tespit edilememiş fakat genelde pastörize edilmemiş ve uygun bir sterilizasyona tabi tutulmamış sütlerin, titiz bir şekilde sterilizasyonu ve pastörizasyonu ile enfeksiyonun önüne geçilebileceği gözlemlenmiştir (Luck ve Dunkled 1981, Gross 1990). Kalkan ve ark. (1991), analiz ettikleri beyaz peynir numunelerinin % 22'sinde *E. coli* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Arocha ve ark. (1992), *E. coli* O157:H7'nin peynir yapım işlemleri sırasında 100 kat arttığını fakat teleminin ve peynir altı suyunun ısıtılması anında mikroorganizmanın büyük oranda yıkımlandığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, pH ve asiditenin bu mikroorganizmayı önemli düzeyde etkilemediğini de bildirmektedirler. *E.coli*, tat ve tekstür bozukluklarına sebep olabileceği ve mevcudiyeti hijyenik tedbirlerin yetersizliğini gösterdiği için peynirde bulunması istenilmez (Dommet ve Madsen 1974). Fakat olgunlaşmış yumuşak yüzeyli peynirlerde, asiditenin yavaş gelişmesi ve düşük asiditeden dolayı bu gibi besinlerde *E.coli* potansiyel bir tehlike oluşturur (Brayn 1979). Frank ve ark. (1978), süt ürünlerinde olabilecek potansiyel *E. coli* kontaminasyonunun göz ardı edilmemesi gerektiğini bildirmektedirler. Klasik patojenik *E.coli* serotipleri (EPEC, EIEC ve ETEC) biftek, domuz karaciğeri, donmuş et suyunda bulunabilir (Glatz ve Brudvig 1980). *E. coli*, kesim işlemleri esnasında özellikle derinin yüzülmesi ve iç organları çıkarılmasında karkasa bulaşarak et ve et ürünlerinin kontaminasyonuna yol açar. Brezilya'da yapılan bir araştırmada bir süpermarkette satılan biftek, hamburger ve sosis'in sırasıyla % 5, 7.5, 10 oranlarında ETEC suşlarını içerdiği tespit edilmiştir (Doyle ve Padhye 1989). Anar ve ark. (1992), pilic butlarının % 32.95'inde *E. coli* Tip I'in izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir. *E. coli* O157:H7'nin sebep olduğu besin zehirlenmeleri son yıllarda dünyanın ve özellikle de gelişmiş ülkelerin gündeminde yer almaktadır. Verotoksijenik *E. coli* (VTEC) enfeksiyonları daha çok et ve ürünleri ile pastörize

olmamış süt ve süt ürünlerinden kaynaklanmaktadır (Gross 1990). Weeratna ve Doyle (1991), etin verotoksijenik *E. coli* için uygun bir ortam olduğunu ve 37° C'de bekletilen kontamine etlerde bu mikroorganizmanın önemli düzeyde verotoksin ürettiğini bildirmektedirler.

PATOJENİTE

EPEC'nin Patojenik Mekanizması

EPEC, insan bağırsaklarında belirgin yüzeysel histopatolojik lezyonlara sebep olur. Bakteri, bağırsak hücre membranlarına yapışır (adherence faktör) ve bağırsak membranı kısmi olarak bakteriyi sarar (Doyle ve Padhye 1989). Doyle ve Padhye (1989)'nin bildirdiğine göre, Scaletsky ve ark. (1971), EPEC'nin adherence faktörünü HEP-2 ve HeLa hücrelerine yapışmalarına göre iki grupta kategorize etmişlerdir. Bir tipi lokal bir yapışma sergiler ve bakteri hücrenin bir ya da birkaç köşesine yapışarak etkili olur. Diğer tipi yaygın bir yapışma sergiler ve hücrenin yüzeyine rastgele hücum eder.

EIEC'nin Patojenik Mekanizması

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda EIEC'nin intestinal ve korneal epitele yığılma yaptığı ve şiddetli bir yangı oluşturduğu ortaya konmuştur. Akut histopatolojik değişiklikler ileumun distal kısımları, sekum ve kalın bağırsaklarda açıkça görülür. Başlıca bulgular lamina propriaya bakterilerin yayılması ve polimorf lökositlerin bu kısma yığılması ve sonuçta mukozal ülserlerin oluşumudur. Hastalık geçiren bireylere yapılan sigmoidoskopide kalın bağırsak mukozasının oldukça kırmızı ve çok fazla kanama odakları (peteşiler) bulunduğuna ortaya konmuştur (Doyle ve Padhye 1989).

ETEC'nin Patojenik Mekanizması

Vibrio cholera O1'in patojenik mekanizmasına benzer bir etkiye bulunan ETEC'nin insanlarda hastalık oluşturmaları;

- mikroorganizmanın, insanın ince bağırsağına yapışmasına imkan sağlayan adhezyon faktörlerini bulundurmasına,

- mikroorganizmanın, insanlarda diare oluşturan toksinleri şifreleyen plazmidlere sahip olmasına,

- bireyler tarafından yeterli sayıda mikroorganizma alınmasına bağlıdır.

ETEC tarafından oluşturulan enterotoksin tek başına diare oluşturmada yeterli değildir, bakteri aynı zamanda ince bağırsak epitel hücrelerinin mukozal yüzeylerine kolonize olabilmelidir. Bu kolonizasyon, filamentöz fimbriaların adhezif faktörleri üzerine bağlıdır. Bu fimbriyalar ince bağırsaktaki hücre membranlarında bulunan spesifik resöptörleri bağlar ve ETEC'nin bağırsak peristaltik hareketlerini yenmesine yol açar. Adhezif faktörler kısmen konakçıya özeldir. Böylece insanda kolonize olan ETEC'nin fimbriyası hayvanlarda kolonize olamaz ya da tersi bir durum meydana gelmez (Doyle ve Padhye 1989).

ETEC'nin patolojik mekanizmasında salgıladığı toksinlerin de önemli rolü vardır. LTh'de A alt birimleri bağırsak hücreleri üzerindeki glikoprotein reseptörlerini bağlar. Sonra bağırsak

hücre membran plazmasındaki adenilatsiklaz metabolizmasındaki adenosin difosfata bağlı nikotin amid dinükleotid (NAD⁺)'yi katalize eder. Adenilatsiklaz aktivitesinin bu aktivasyonu siklik adenosin monofosfat'ın birikimine yol açar. Bu birikim kript hücreleri tarafından açık bir sekresyona ve villus hücrelerinin absorpsiyonunun azalmasına yol açar. Bunun sonucunda ise ince bağırsağın proksimal boşluğu içine sıvı sekresyonu başlar ve sulu bir diare oluşur. Isıya dayanıklı toksinin antijenik özellikleri yoktur ve enfeksiyondan sonra antiserum oluşmasına sebep olmazlar. Stabil toksin hücre içinde "guanosin 3'5 siklik monofosfat" birikimine sebep olan "guanilat siklaz" aktivitesinin etkisi ile intestinal sekresyonu başlatır (Doyle ve Padhye 1989).

EHEC'nin Patojen mekanizması

E.coli O157:H7'nin patojenitesindeki en önemli görüş bağırsak hücrelerine adhezyon faktörüdür. Mikroorganizma, bağırsaklarda kolonize olur ve özellikle kalın bağırsaklar üzerinde etkili olan toksinlerini salgılar. Bakteri toksinlerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. *E.coli* O157:H7, ince bağırsağın proksimalinden kalın bağırsaklara doğru kolonize olur ve kalın bağırsaklarda ince bağırsaklardan daha fazla bulunur. Histolojik değişiklikler; epitel yüzeylerinde ve kriptlerde mitotik aktivite artışı, lamina propriya ve epitelde ılımlı bir nötrofil infiltrasyonudur (Doyle ve Padhye 1989).

SEMPTOMLAR

EPEC, sıklıkla hastahane de yatan bebeklerde görülen neonatal diarenin (infantil diare) sebebi olarak bilinir (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Bununla birlikte yetişkinlerde de EPEC besin zehirlenmeleri görülmüştür (Doyle ve Cliver 1990). Bu mikroorganizma, bazı gelişmekte olan ülkelerin ciddi sağlık sorunlarından birisidir. EPEC'den ileri gelen hastalık, diare ile seyreden diğer enfeksiyonlardan daha şiddetli bir klinik görünüm içinde olmaya meyillidir. Birçok vakada 14 günden fazla süren bir diare gelişir (Doyle ve Padhye 1989). Enfeksiyon dozu 10^6-8 hücredir (Brayn 1979). Zehirlenme belirtileri 6 saat ile 3 gün içinde ortaya çıkar. Ateş, kusma, abdominal ağrılar, titreme, baş ağrısı ve diare görülür (Brayn 1979, Doyle ve Padhye 1989).

EIEC, dizanteri benzeri bir hastalık oluşturur (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Shigellozisten farklı olarak enfeksiyon oluşturacak mikroorganizma sayısı (10^6-10^8) oldukça yüksektir (Doyle ve Cliver 1990). Gönüllü kişiler üzerinde yapılan çalışmalarda " 10^4-10^5 " sayıda mikroorganizmayı besinle alan kişilerin hasta olmadığı buna karşın bu sayıda mikroorganizma alınmadan 5 dakika önce sodyum bikarbonat verilen kişilerde şiddetli bir diarenin geliştiği gözlemlenmiştir (Doyle ve Padhye 1989). Belirtiler kontamine besinin alımından 8-24 saat sonra ortaya çıkar (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Başlıca semptomlar titreme, ateş, baş ağrısı, kas ağrıları ile başlar, abdominal kramplar ve aşırı bir diarenin ortaya çıkışı ile şiddetlenir. Dışkılama sıklıkla yapılıp, fakat miktarı çok az ve

sulu kıvamdadır. Dışkı, kan, mukus ve oldukça fazla sayıda epitel hücresi içerir. Hipertansiyon, sistemik toksemi ve ıknıma görülür (Brayn 1979).

EETEC, yolcu diareisinin başlıca sebebidir. Yolcu diareisi; kişilerin gelişmiş bir ülkeden ya da iyi hijyene sahip bir ortamdaki, suları genellikle kontamine ve sanitasyonu iyi olmayan gelişmekte veya gelişmemiş bir ülkeye ya da bölgelere gittikleri zaman görülür (Doyle ve Padhye 1989). Belirtilerin ortaya çıkışı 8-44 saattir. Hastalığın seyri genellikle kısadır (24-30 saat) fakat şiddetli formlarda 3-19 gün sürer (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). ETEC'den ileri gelen besin zehirlenmelerinde, genellikle sulu diareye eşlik eden düşük ateş, abdominal kramp, bitkinlik ve mide bulantısı görülür (Doyle ve Padhye 1989, Gross 1990). Birçok vakada ateş olmaz fakat dışkıda kansız bir mukus vardır (Doyle ve Padhye 1989). ETEC'nin çok şiddetli seyreden vakalarında klinik görünüm *Vibrio cholera*'nın sebep olduğu koleraya benzer ve ayırt etmek oldukça güçtür (Doyle ve Padhye 1989, Starvic ve Speirs 1989, Gross 1990). Gelişmekte olan ülkelerde yetersiz beslenen çocuklarda ETEC'den ileri gelen gastroenteritis haftalarca sürebilir ve şiddetli bir malnütrasyona sebep olabilir. Bununla birlikte, yolcu diareisinde hastalık genellikle ılımlı seyreder ve dehidrasyona karşı uygulanan sıvı tedavisine hemen hemen hiç ihtiyaç göstermez (Doyle ve Padhye 1989).

EHEC ile ilişkili başlıca önemli üç hastalık vardır. Bunlar hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) dir. *E.coli* O157:H7'nin sebep olduğu diğer hastalıklar diare, hemorajik sistitis, balanitis ve peritonitis'tir (Doyle ve Cliver 1990). HC belirtileri 3-9 günde ortaya çıkar, ani gelişen abdominal krampları takiben "24 saat içinde" sulu ve çok kanlı bir diare meydana gelir. Bu diare "All blood and No Stool" yani dışkının olmadığı tamamen kanlı bir bağırsak içeriği olarak bilinir, kusma olabilir fakat ateş çok az ya da hiç yoktur. Hastalık 2-9 gün sürer (Doyle ve Padhye 1989, Starvic ve Speirs 1989, Farrag ve Marth 1992). HUS, çocuklarda görülen renal bozuklukların başlıca sebebidir (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). HUS'ta, "mikroanjiyofatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut nörolojik bozukluklar" başlıca önemli klinik bulgulardır (Doyle ve Padhye 1989). HUS'ta kan pıhtıları ve kandaki atık ürünlerin yığılması sonucu böbrek tubulusları tıkanır. Hastalar dializ tedavisine ihtiyaç gösterebilir, bazen çocuklar koma ve ölüme sürüklenebilir. Hasta çocuklar kadar yaşlılarda da ölüm oranı çok yüksektir (Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990, Farrag ve Marth 1992). Nöbetler halinde gelen ve komaya kadar uzanabilen sentral sinir sistemi bozuklukları gelişebilir (Doyle ve Padhye 1989, Farrag ve Marth 1992). TTP, klinik yönden HUS'a benzerlik gösterir (Doyle ve Cliver 1990, Farrag ve Marth 1992). TTP'da ateş, abdominal ağrılar, gastrointestinal hemoraji ve daha çok sentral sinir sistemi bozuklukları görülür

Tablo 2. Besinlerden *E. coli*'nin Tesbitini Etikleyen Başlıca Faktörler.

<i>E. coli</i> 'nin bazı suşlarının 41.5°C'nin üzerinde üreyememesi
Bazı seçici ortamlarda mikroorganizma sayısının düşük olmasından dolayı inhibisyona uğraması
<i>E. coli</i> 'nin apatojenik suşlarının ve diğer Enterobacteriaceae soylarının bulunduğu sıvı ortamlarda zayıf rekabet kabiliyeti
Potansiyel diare oluşturan suşlarının diğer suşlardan ayırt edilmesi için özel biyokimyasal reaksiyonların olmayışı

Tablo 3. Besinlerde *E. coli*'nin Belirlenmesi ve Teyit Edilmesi

Numune hazırlama	Besin numunelerinin ondalık süspansiyonlarının hazırlanması. Gerekli ise pH'nın 7.0'ye ayarlanması. Gerekli ise baskılanmış hücrelerin normal fonksiyonlarını almasını sağlama . Uygun şekilde seri ondalık seyreltilerinin hazırlanması.
Muhtemel koliformları Tahmin	3'tüp'e en muhtemel sayı (MPN) ve koliform katı besiyerleri kullanarak hazırlanan kültürleri 37° 'de inkübe etmek.
Muhtemel <i>E. coli</i> Tip i'nin Tespiti	Bütün pozitif ve MPN pozitif kültürlerden iki ortama alt kültürler hazırlanır. 1: Koliform ortamlarda; 44-45° C'de inkübasyon ve 24 saat sonra gaz üretimi kontrol edilir (Eijkman testi). 2: Triptonlu Su; 35-38° C'de inkübasyon. 24 saat sonra indol üretimi yönünden test edilir.
<i>E. coli</i> Tip i'nin teyit edilmesi	Eijkman ve İndol pozitif kültürler izole edilir ve saflaştırılır. Bu saf kültürlerle, metil red, sitrat ve voges-proskauer testleri uygulanır.

(Doyle ve Padhye 1989, Doyle ve Cliver 1990). Beyinde sıklıkla kan pıhtıclıkları gelişir ve ölümle sonuçlanır (Doyle ve Cliver 1990, Farrag ve Marth 1992). Bütün yaş gruplarındaki insanlar *E. coli*'nin bu serotipine karşı büyük bir risk altındadır. Bununla birlikte çocuklarda ve yaşlılarda HUS ve TTP gibi hastalıklara duyarlılık ve mortalite oranı daha yüksektir (Starvic ve Speirs 1989).

BESİNLERDEN *E. coli*'NİN TESPİTİ

Besinlerden patojen *E. coli*'lerin tespit edilmesini zorlaştıran birçok faktör vardır. Bu faktörlerin başlıcaları Tablo 2'de gösterilmektedir (Holbrook ve ark. 1980, Abbis ve Blood 1982).

Koliform grubu mikroorganizmalar genellikle indikatör mikroorganizmalar olarak bilinirler. Bu grup içinde en çok araştırılan mikroorganizma da, *E. coli* biyotip I dir (Abbis ve Blood 1982). *E. coli*'nin besinlerdeki varlığının belirlenmesi ve teyit edilmesi için çok fazla yöntem geliştirilmiştir. Genel hatları ile besinlerden *E. coli*'nin belirlenmesi ve teyit edilmesinin aşamaları Tablo 3'de gösterilmektedir.

E. coli'nin izolasyonu ve varlığının belirlenmesinde uygulanan metodlar genellikle iki safha içerir. Birinci safha 30-37° C'de koliformların tespit edilmesi. İkinci safhada, birinci safhayı takiben, *E. coli*'nin varlığının belirlenmesi. Bu safhada genellikle yüksek ısıda (44-45° C) triptofan'dan indol üretimi testi ve *E. coli* için tipik olan IMVIC testlerin hepsi sırayla yapılır. Bu testlerde seçiciliği vermek için her iki safhada kullanılan ortamlar

genellikle; enerji ve karbon kaynağı olarak laktoz, yüzeysel aktif etken olarak gerçek orjinli safra tuzları, sentetik deterjan ve sıklıkla kristal viyole ya da brilliant green gibi boyalar içerir (Abbis ve Blood 1982).

En Muhtemel Sayım Yöntemi (EMS, Most Probable Number - MPN)

Üç tüp yönteminde *E. coli*'nin fekal koliformlar gibi muhtemel sayısının belirlenmesi en az iki gün alır ve bir izolatin *E. coli* olarak teyit edilmesinin tamamlanması 3 günden fazla sürer. MPN tekniği üzerine oluşturulmuş yöntemler zahmetlidir ve en az üç dilüsyon hazırlamadıkça ve çok fazla üreme olmadıkça direkt sayımdan daha az güvenlidir (Holbrook ve ark. 1980). *E. coli*'nin EMS yöntemiyle sayımında en çok kullanılan bazı sıvı besiyerleri lauril Sülfat Triptoz Broth, Laktoz Broth, MacConkey Broth ve EC Broth'dur (Halkman ve ark. 1994).

Petri Kabına Direkt Ekim Yöntemi

Klasik direkt ekim yöntemlerinde genellikle Violet Red Bile Agar (VRBA) kullanılır ve 30° C'de 24saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayılır (Dixon 1992).

Anderson ve Baird-Parker tarafından 1975 yılında MPN'in dezavantajlarını ortadan kaldırmak için modifiye bir direkt ekim yöntemi geliştirilmiştir (Holbrook ve ark. 1980). Bu metodun özelliği *E. coli*'nin, 44°C'de, petri kabı içinde bulunan tripton bile agar üzerine kapatılmış selüloz asetat membranlar üzerinde geliştiği zaman triptofanı

Tablo 4. *E. coli* Enterotoksinlerini Belirlemek İçin Kullanılan Mevcut Teknikler.

Test		ST	LT
İnvivo	Ligate edilmiş bağırsak	+	+
	Emen fare	+	-
	Tavşan derisi	-	+
	Rat perfüzyonu	+	-
İnvitro	Çin hamsteri ovaryum hücreleri	-	+
	Fare adrenal hücreleri	-	+
Serolojik	Pasif immun hemoliz	-	+
	Radio immun assay	-	+
	ELISA	-	+

ST: Isıya dayanıklı toksin, LT: Isıya dayanıksız toksin

metabolik faaliyetlerde kullanması ile indol oluşturma kabiliyeti üzerine dayanır (Holbrook ve ark. 1980, Holbrook ve Anderson 1982, Dixon 1992). Hazırlanan tripton bile agar üzerine asetat membranlar yerleştirilir, sonra 1 ml inokulümmembranın üzerine iyice yayılır. İnokule olmuş plaklar 18 saat $44 \pm 0.5^\circ$ C'de ve hava sirkülasyonun olduğu bir ortamda inkübe edilir. İndol pozitif kolonileri tespit için membran agardan çıkarılır ve bir petri kabının içinde bulunan 2 ml miktarındaki Vracko ve Sherris'in indol belirteci içine katılarak 5 dakika beklenir, süre sonunda çıkarılarak fazla belirteç uzaklaştırılır. Membran uzun dalga boyulu (365nm) UV lambası ve düşük basınç altında kurutulur, sonra pembe boyanmış olan indol pozitif koloniler sayılır (Holbrook ve Anderson 1982).

Membran Filtrasyon Yöntemi

Membran filtrasyon tekniğinde; üzerinde mikroorganizmalar tutunmuş olan filtre uygun katıbesiyerlerine yerleştirilerek inkübasyona bırakılır ve oluşan koloniler sayılır.

Yukarıda belirtilen yöntemlerden herhangi birinin uygulanmasıyla belirlenen muhtemel *E.coli*'nin varlığı bazı biyokimyasal testler (İMVIC) uygulanarak doğrulanır. Bu testlere ilaveten HOMoC (H: Hidrojen sülfür oluşumunun belirlenmesi testi; O: Ornitin dekarboksilaz testi; Mo: Hareketlilik testi; C: Sitrat testi) testleri de kullanılabilir (Dixon 1992, Halkman ve ark. 1994).

Uygulanan bütün tekniklerde *E. coli*'nin varlığının belirlenmesi ve doğrulanması en az dört gūnaldığından son yıllarda *E.coli* sayım yöntemlerinde 4- Methylumbelliferone Glucoronide (MUG) kullanılmaktadır. *E.coli* tarafından oluşturulan glucoronidase MUG'u fluorojenik bir ürüne parçalar. Bu fluorojenik bileşik ise UV ışığında fluoresans vermektedir. MUG katı besiyerleri, membran filtrasyon ve EMS yöntemlerinin hepsinde kullanılmaktadır (Dixon 1992, Halkman ve ark. 1994).

Bu bilinen klasik tekniklerin yanı sıra son yıllarda *E. coli*'nin tespiti için PCR, DNA probe,

İmpedance, Ethanol ve Glutamate Dekarboksilaz deneyleri de kullanılmaktadır (Dixon 1992).

ENTEROTOKSİNLERİN TESPİT EDİLMESİ

E.coli enterotoksinlerini hazırlamak için bir çok yöntem açıklanmış ve çok fazla sayıda ortam kullanılmıştır. Brain heart infusion ve synyeast gibi enterotoksin üretimini destekleyen ortamlarda 18 saat içinde gelişen serotiplerin oluşturduğu yüzeydeki sıvı LT ve ST testleri için kullanılır. ST genellikle kültürlerin üzerindeki sıvıda, LT hem yüzey sıvısında hemde erimiş hücrelerde bulunur (Linggood 1982). Üretilmiş kültürlerden küçük şişede bulunan bu ortamlara % 2.5'luk olarak ilave edilir ve 37° C'de 18 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda, 15 dakika, 1200 devirle santrifüje edilerek bakteriden ayrılır ve yüzey sıvısı test için kullanılır. LT testleri ilk 24 saat içinde gerçekleştirilmelidir, ST hemen test edilebileceği gibi, -20° C'de bekletildiği zaman 3 ay süreyle test edilebilecektir (Glatz ve Brudvig 1980).

SONUÇ ve KORUNMA

Besinlerdeki mevcudiyeti fekal bir kontaminasyonun indikatörü olarak gösterilmesinin yanı sıra son yıllarda çok ciddi besin zehirlenmelerine yol açtığı tespit edilen *E. coli* kontaminasyonun önlenmesi için gıda işletmelerinde ve besinlerin tüketime hazırlanmasında çalışan kişilerin personel hijyenine dikkat etmek gerekir. Bu kişilere hijyenin önemi öğretilmelidir. Üretimde ve besinlerin tüketime hazırlanmasında kullanılan suların hijyenik kalitesinin iyi olması gerekir. Bunun yanı sıra insan ve hayvan kaynaklı fekal ve diğer artık materyaller dekontamine edilmeli ve su ve diğer besin kaynakları ile teması önlenmelidir. İçme ve kullanmada kullanılan şehir şebeke suları uygun zaman aralıklarında sürekli olarak klorlanmalıdır. Besin zehirlenmesine maruz kalmış kişilerin besin işyerlerinde çalışmaları, portör muayeneleri negatif

çıkıncaya kadar, önlenmelidir. Gelişmiş bölgelerden az gelişmiş bölgelere seyahatler esnasında açık ve güvenli olmayan yiyeceklerin tüketilmesinden kaçınılmalı, seyahat esnasında kapalı ve belirli bir markayı taşıyan su ve içecekler tüketilmez. Anneler yeni doğan bebeklerinin beslenmesinde hijyen kurallarına azami dikkati göstermelidir.

KAYNAKLAR

- Abbis JS, Blood RM (1982) The Detection of *Escherichia coli* in Foods. In "Isolation and Identification Methods for Food Poisoning Organisms". Ed. Janet E.L.Coory., Diane Roberts, and F A. Skinner. Academic Press, Inc., London.
- Anar Şahsene, Canlı T, Şen Aysin, Eyigör Ayşegül (1992) Bursa'da tüketime sunulan piliç butlarından *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* tip I'in izolasyonu üzerine çalışmalar. Uludağ Univ. Vet. Fak. Derg., 11 (2): 135-141.
- Anonymous (1971) Reference Methods for the Microbiological Examination of Foods. Food Protection Committee. 2101, Constitution Avenue., N. W. Washington.
- Arda M, Minbay A, Aydın N (1982) Özel Mikrobiyoloji Bakteriyel ve Infeksiyöz Hastalıklar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 386, Ders Kitabı: 284, A.Ü. Basımevi, Ankara.
- Arocha M Marlene, Mcvey Melkinda, Loder D Susan, Rupnow JH, Bullerman L (1992) Behavior of hemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7 during the manufacture of cottage cheese. J. Food Protect 155 (5): 379-381.
- Brayn FL (1979) Infections and Intoxications Caused by Other Bacteria. In "Foodborne Infections and Intoxications". Hans Rieman, and Frank L.Brayn (ed.). 2nd. (ed.) Academic Press, Inc., London.
- Cheryl AB, Katherine DG, Frances PD, Evangeline G Sowers, Joy GW, Waschmut K (1987) Unusual verotoxin-producing *Escherichia coli* associated with haemorrhagic colitis. J. clinical Microbiol., Aug., 1486-1489.
- Conner DE (1992) Temperature and NaCl affect growth and survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in poultry – based and laboratory media. J. Food Sci., 57 (2): 523 - 533.
- Dixon DE (1992) Indicator Organisms: Detection and Enumeration in Foods. In "Encyclopedia of Food Science and Technology". Y.H. Hui (ed.), John Wiley and Sons Inc., New York.
- Dommet TW, Madsen O (1974) Variation in levels of coliforms and *Escherichia coli* type I in Queensland cheddar cheese. The Aust. J. Dairy Technol. December, 198-203.
- Doyle MP, Padhye V (1989) *Escherichia coli*. In "Foodborne Bacterial Pathogenes". Ed. Micheal P.Doyle. Marcel Dekker, Inc., Newyork.
- Doyle MP, Cliver OD (1990) *Escherichia coli*. In "Foodborne Diseases". Dean O.Cliver (ed.). Academic Press, Inc., London.
- Farrag SA, Marth EH (1992) *Escherichia coli* O157:H7, Yersinia enterocolitica and their control in milk by the lactoperoxidase system. A Review. Food Sci. and Technol., 25(3): 201-211.
- Frank JF, Marth EH, Olson NF (1978) Behavior of enteropathogenic *Escherichia coli* during manufacture and ripening of brick cheese. J. Food Protect., 41 (2): 111-115.
- Glatz BA, Brudvig SA (1980) Survey of commercially available cheese for enterotoxigenic *Escherichia coli*. J. Food Protect., 43 (5): 395-398.
- Gross RJ (1990) *Escherichia coli* Diarrhoea. In "Principles of Bacteriology, Virology and Immunity". Volume III. Ed. Geoffrey R.Smith, and Charles S.F.Easman. 8th ed. A division of Hodder, London.
- Halkman AK, Doğan Hilal, Noveir Malihe Rahatı (1994) Gıda Maddelerinde Salmonella ile *E. coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 21, Ankara.
- Holbrook R, Anderson JM, Baird-Parker AC (1980) Modified direct plate method for counting *Escherichia coli* in foods. Food Technol. in Aust., 32 (2): 78-83.
- Holbrook R, Anderson JM (1982) The Rapid Enumeration of *Escherichia coli* in Foods by Using Direct Plating Method. In "Isolation and Identification Methods for Food Poisoning Organisms" Ed. Janet E.L.Corry, Diane Roberts and F A. Skinner. Academic Press, Inc., London.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley, JI, Williams ST (1994) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition, Ed. William R Hensyl. William & Wilkins, Baltimore.
- Kalkan A, Aktan HT, Kamber U, Ülgen MT, Mutluer B (1991) Beyaz peynirlerde koliform bakteriler (*E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) üzerinde araştırma. A. Ü. Veteriner Fak. Derg., 38 (1-2): 108-113.
- Linggood Margaret (1982) *Escherichia coli*: Detection of Enterotoxins. In "Isolation and Identification Methods for Food Poisoning Organisms". Ed. Janet E.L.Corry, Diane Roberts and F A.Skinner. Academic Press, Inc., London.
- Luck H, Dunkled M (1981) Enterobacteriaceae in cheese. J. Dairy Technol., 13 (1), 9-14.
- Olsvik O, Wasteson Y, Lund A, Hornes E (1991) Pathogenic *Escherichia coli* found in food. International J. Food Microbiol., 12 (1): 103-114.
- Orskow F (1984) *Escherichia*. In "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology". Vol.1. Ed. Neol R.Krieg. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Özbaş Z, Yeşim, Temiz A (1988) Çeşitli gıdalarda *Escherichia coli* sayımında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması üzerine bir araştırma. Doğa Türk Veteriner ve Hayvancılık Derg., 12 (3), 214 - 228.
- Pomeray Y (1992) Foodborne Diseases. In "Encyclopedia of Food Science and Technology". Ed. Y.H. Hui, John Wiley and Sons Inc., NY.
- Starvic S, Speirs JI (1989) *Escherichia coli* associated with haemorrhagic colitis. Canadian Institute Food Sci. Technol. Journal, 22(3): 205-208.
- Wearatna RD, Doyle MP (1991) Detection and production of verotoxin I of *Escherichia coli* O157:H7 in food. Applied and Environ. Microbiol., 57 (10): 2951-2955.