

## RESEARCH ARTICLE

### Bir Büyükbaş Hayvan Kesimhanesinde *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının IMS-PZR Teknikleri İle Araştırılması

Sabri DATLI, Nurhan ERTAŞ ONMAZ\*

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi AD, KAYSERİ, Türkiye  
Geliş:01.08.2017, Kabul: 25.12.2017  
\*nertas@erciyes.edu.tr

### Detection of *Escherichia coli* O157:H7 By IMS-PCR Techniques In A Cattle Slaughterhouse

Eurasian J Vet Sci, 2018, 34, 1, 49-55  
DOI:10.15312/EurasianJVetSci.2018.179

#### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, bir sığır kesimhanesinde, sığır karkas, kesimhaneden alınan svap örnekleri (konveyör, bıçak, önlük, kanca, testere ve eller) ve kesilen hayvanların barsak içeriklerinden alınan örneklerde *Escherichia coli* O157:H7'nin varlığı ve etkenin virulans genleri (*stx1* and *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA*) araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada, kesimhaneden alınan toplam 200 adet örnekte *E. coli* O157:H7'nin varlığı, ön zenginleştirme, immunomanyetik seperasyon (IMS)'daki immun boncuklar sefiksin tellürit'li CHROM agara ekildi. Şüpheli koloniler O157 ve H7 antiserumları ile incelendi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile bakteri üzerindeki *rfbO157*, *fliCH7* *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* içeren hedef gen bölgeleri ile teyit edildi.

**Bulgular:** Çalışmada, bir (% 2) barsak içeriği örneğinden *E. coli* O157 izole edilirken, iki (% 4) barsak içeriği ve iki (% 4) karkas örneğinde *E. coli* O157:H7 bulundu. İncelenen bütün izolatlar *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini içeriyordu.

**Öneri:** Alınan barsak içeriği ve karkas örneklerinden *E. coli* O157:H7'nin izole edilmesi ile karkasların dışkı ile kontamine olduğu kanaatine varıldı. Tüm *E. coli* O157:H7 izolatlarının *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerini içermesinden dolayı insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Çapraz kontaminasyon, *E. coli* O157:H7, kesimhane, sığır, virulans genler

#### Abstract

**Aim:** This study was conducted to investigate the presence of *Escherichia coli* O157:H7 and to detect its virulence genes, including; *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA*, on cattle carcasses, intestinal contents and swabs from environmental samples (conveyors, knives, aprons, saws, hooks, hands) in a beef slaughterhouse in Kahramanmaraş, Turkey.

**Materials and Methods:** A total of 200 samples, collected from commercial abattoirs, were examined for the presence of *E. coli* O157:H7 by enrichment/immunomagnetic separation (IMS) with plating of recovered immunobeads onto CHROM agar with cefixime and tellurite. Suspicious *E. coli* O157:H7 colonies were analysed with anti-O157 and H7 antisera and were confirmed by (Polymerase Chain Reaction) PCR targeting a range of genes including; *rfbO157*, *fliCH7* *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* region of bacteria.

**Results:** In the study, *E. coli* O157 was isolated from one (2%) of the intestinal content samples whereas *E. coli* O157:H7 was found in two (4%) intestinal content samples and two (4%) carcass samples. All isolates contained *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes.

**Conclusions:** The isolation of *E. coli* O157: H7 from the intestinal contents and carcass specimens revealed that the carcasses were contaminated by stool. It was concluded that all *E. coli* O157: H7 isolates may constitute a potential risk for human health due to the presence of *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes.

**Keywords:** Cattle, cross-contamination, *E. coli* O157:H7, slaughterhouse, virulence genes.

## Giriş

Entero hemorajik *Escherichia coli* (EHEC) hastalık oluşturma dozunun çok düşük olması nedeniyle tüm dünyayı etkileyen ciddi enfeksiyonlara sebep olan global bir sorundur (Bell 2002). EHEC; Hemorajik kolitis (HK), Hemolitik üremik sendrom (HUS), Trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi ölümlü sonuçlanabilen hastalıkları oluşturmasından dolayı, *E. coli*'nin diğer tiplerinden daha tehlikelidir (Abdullah ve Davies 1999, Arslan 2008). *E. coli* O157:H7 zoonoz olmasından dolayı *E. coli* serotipleri içinde en önemlisidir. *E. coli* O157:H7; Gram negatif, zoonoz, besin hijyeni ve güvenliğini tehdit eden, bioterörizmde kullanılan veya ihmal sonucu biyolojik teröre neden olabilen bir bakteridir. Hastalık vakalarının özellikle Mayıs-Ekim ve kış aylarında artış gösterdiği belirtilmiştir (Halkman 2001, Noveir ve ark 2002). *E. coli* O157:H7 serotipinin virulansi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar; shiga toksin, adezin, hemolizin, intimin, tip III sekresyon sistemi ve O157 lipopolisakaritleri gibi faktörlerdir (Park ve ark 2010). *E. coli* O157:H7'nin en önemli kaynağı sığırlar başta olmak üzere, koyun, köpek, kedi ve kuşlar gibi sıcakkanlı hayvanlardır (Tosun ve Gönül 2003). Enfeksiyon enfekte hayvan dışkılarıyla, et, süt, sebze, su vb. gıdaları kontamine olmasıyla yayılır (Hajian ve ark 2011). Bulaşma enfekte hayvanla direk temasla olabileceği gibi insandan insana da geçebilir (Caprioli ve ark 2005, Hajian ve ark 2011). Et ve et ürünleri kesim ve parçalama sırasında deride ve bağırsak içeriğinde bulunan *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmaktadır. Etkenin dışkıda ve deride bulunma sıklığının karkas kontaminasyonunda önemli olduğu belirtilmiştir (Elder ve ark 2000). Hastalığın oluşabilmesi için en az 10 adet etkenin alınmasının yeterli olacağı (Cagney ve ark 2004) ve minimal enfektif dozunun (MID) 10-100 kob/g gibi çok düşük değerlerde olduğu bildirilmiştir (Reitsma ve Henning 1996, Chang ve Fang 2007).

Bu çalışmada, Akdeniz bölgesinde kurulu bulunan 1. sınıf bir mezbahadaki sığır kesim hattı boyunca, karkastan, kesimde

çalışan personelden, kesimde kullanılan alet ve ekipmanların yüzeyinden ve barsak içeriğinden alınan numunelerde *E. coli* O157:H7'nin varlığının araştırılması amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

### Numuneler

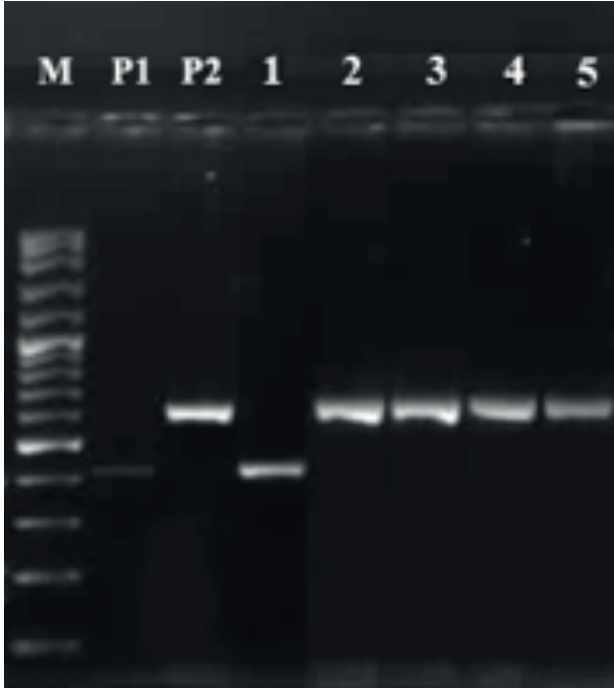
Bu çalışmada, Ocak-Mayıs 2014 tarihleri arasında Kahramanmaraş ilindeki 1. sınıf kombina olarak faaliyette bulunan işletmeye ikişer haftalık aralıklarla dört kez gidilerek sığır kesim hattından alınan 200 adet örnek (50 adet karkas, 50 adet iç organ svap örneği, 50 adet barsak içeriği svap örneği, 25 adet personele ait svap örneği ve 25 adet mezbahada kullanılan alet ve ekipmana ait svap örneği) toplandı. Svap örnekleri, içerisinde 20 mg/L novobiosin içeren selektif modifiye tryptone soya broth (mTSB+N) içeren tüplere konularak soğuk zincir altında en kısa süre içerisinde laboratuvara getirildi ve analiz edildi. Seçilen her bir yarım karkasın but, kavram ve döş bölgesinden 10x10 cm (100cm<sup>2</sup>) ebadında, toplam 300 cm<sup>2</sup>'lik yüzeyel karkas kısımlarından steril poliüretan süngerler kullanıldı. Yirmi beş mL tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilen süngerler steril plastik template (10X10'luk) kullanılarak, 10 adet horizontal ve 10 adet vertikal sürtme hareketi ile eşit basınç uygulamaya dikkat ederek yüzeye uygulanarak alınan steril örnekler stomacher poşetlerine konuldu. Poşetler soğuk zincirde laboratuvara getirilerek 1 saat içerisinde analize alındı.

**Referans Suş:** *E. coli* NCTC 12900 ve *E. coli* RHFS 232 referans suşları *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7'nin izolasyon, identifikasyon ve virulans faktörlerinin belirlenmesi amacı ile çalışmanın her aşamasında pozitif kontrol olarak kullanıldı.

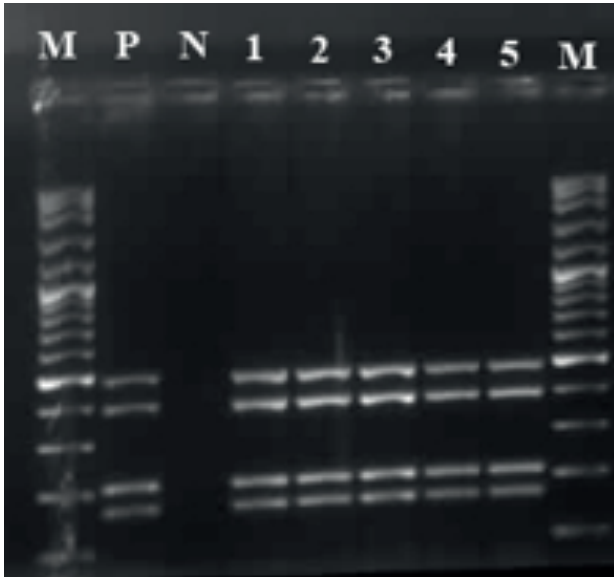
**Primerler:** Çalışma kapsamında izole edilen ve serolojik testler ile identifiye edilen *E. coli* O157:H7'nin moleküler olarak doğ-

Tablo 1. Çalışmada kullanılan virulans genleri ve primer 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>	Verositotoksin1	210
SLT1-R GCTATTCTGAGTCAACGAAAATAAC			
SLTII-F GTTTTTCTTCGGTATCCTATTCC	<i>Stx2</i>	Verositotoksin 2	484
SLTII-R GATGCATCTCTGGTCATTGTATTAC			
AE22 ATTACCATCCACACAGACGGT	<i>eaeA</i>	Intimin	397
AE20-2 ACAGCGTGGTTGGATCAACCT			
MFS1-F ACGATGTGGTTATTCTGGA	<i>ehlyA</i>	Enterohemolizin	166
MFS1-R CTTCACGTCCACATACATAT			



Resim 1. PZR işlemi sonucunda fliCh7 ve rfbO157 genlerinin gösterilmesi; M: Marker (100bp), P1: Pozitif kontrol (O157: 420 bp), P2: Pozitif kontrol (H7: 625 bp), 1 Nolu band: *E. coli* O157 (barsak içerik numunesi) 2-3 Nolu band: *E. coli* O157:H7 (Karkas numunesi) 3- Nolu bandlar: *E. coli* O157:H7 (barsak içerik numunesi)



Resim 2. PZR işlemi sonucunda virulans genlerinin gösterilmesi; M: Marker (100bp), P: Pozitif kontrol (ehlyA; 166 bp, stx1:210 bp, eaeA;397 bp stx2: 484), 1-5 Nolu bandlar: pozitif örnekler (stx1, stx2, eaeA ve ehlyA)

ruluğunun saptanmasında ve sahip oldukları virulans genlerin moleküler olarak tespitinde kullanılan primer dizileri Tablo 1.'de belirtilmiştir.

### ***E. coli* O157:H7 İzolasyonu ve İdentifikasyonu Ön Zenginleştirme ve İmmunomanyetik separasyon (IMS)**

Bu çalışmada, karkas yüzeyinden 25mL tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilmiş süngerlerle alınan numuneler içeri-

sinde 225 mL, 20 mg/L novobiocin içeren Tryptone Soy Broth ilave edilmiş steril stomacher poşeti 2 dakika süreyle homojenize edildi. Aynı şekilde 20 mg/L novobiyosin içeren 10 mL mTSB+N içine alınan svap örnekleri 37°C'de 16-18 saat inkübe edildi (Dontorou ve ark 2003, Aslantaş ve ark 2006). Tryptose Soy Broth'ta ön zenginleştirme işlemine tabi tutulan numuneler, Dynabeads anti-*E. coli* O157 (Dynabeads anti-*E.coli* O157, Dynal, İngiltere) kullanılarak üretici firma tarafından bildirilen yönteme göre immunomanyetik separasyona tabi tutuldu.

### **İzolasyon ve İdentifikasyon**

IMS işleminden sonra ependorf içerisindeki boncuk 100 µL yıkama solüsyonu ile sulandırıldı. Bu sıvıdan 50 µL alınarak CT supplement içeren CHROM agara inokülasyon yapıldı ve 37 °C de 18-24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda agarda üreyen şüpheli kolonilere pozitif kontrol eşliğinde Gram boyama, biyokimyasal testler (indol, Metil Red, Voges Proskauer ve sitrit) ve O157 ve H7 antiserumları (SSI, Danimarka) ile aglütinasyon testleri yapıldı (Aslantaş ve ark 2006).

### **DNA ekstraksiyonu**

Bakteri DNA'sını ekstrakte etmek için GF-1 (GF-BA-100, Vivantis, ABD) bakteri ekstraksiyon kiti kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi kit protokolünün öngördüğü şekilde gerçekleştirildi.

### **FliC ve rfbO157 Genlerinin PZR ile Belirlenmesi**

FliC geninin belirlenmesi için, PZR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 50µL olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µL DNA örneği, 5 µL 10 X PZR buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 400 µM dNTPs, 0.5 µM her bir fliC primerinden ve 1.5 U Taq polimerazdan oluştu. DNA amplifikasyonu, PZR cihazında (Techne TC-512) 94 °C'de 2 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 35 siklus olacak şekilde 94 °C'de 20 s, 54 °C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk bekletildi. En son aşama olarak da 72°C'de 10 dk son uzatma işlemi gerçekleştirildi (Sarımehmetoğlu ve ark 2009). rfbO157 geninin belirlenmesi için uygulanan amplifikasyon işlemi ise; 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 30 siklus olacak şekilde bekletildi ve 72°C'de 5 dk son uzatma işlemi gerçekleştirildi (Aslantaş ve ark 2006).

### **Multipleks PZR ile Virulans Faktörlerin Belirlenmesi**

Çalışmada tanımlanmış *E. coli* O157:H7 izolatında bulunabilecek virulans faktörlere ait gen bölgeleri (*stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hlyA*) spesifik primerler (Tablo 3.2) kullanılarak analiz edildi (132). Bu amaçla, PZR reaksiyon karışımı, final volümü 50 µL olacak şekilde 5 µL DNA örneği, 5 µL 10 X PZR buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 400 µM dNTPs, intimine ait primerlerden 0.25 µM, diğer primerlerin her birinden 0.5 µM ve 1.5 U Taq polimeraz olacak şekilde hazırlandı. PZR, 94 °C'de 2 dk ön denatürasyondan sonra 35 siklus olarak 94 °C de 20 s, 54 °C de 1 dk ve 72 °C'de

Tablo 2. Fenotipik numunelerden izole edilen *E. coli* O157:H7

Numune	Numune sayısı		Fenotipik test sonucunda <i>E. coli</i> H7:O157 şüpheli pozitif				Serolojik analiz Sonuçları				PZR analiz sonucu				Virulans Faktörler							
							O157		H7		<i>E. coli</i> O157		<i>E. coli</i> O157:H7		<i>stx1</i>		<i>stx2</i>		<i>eaeA</i>		<i>ehlyA</i>	
							n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Karkas	50	6	12	2	4	2	2	-	-	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4			
Bıçak	10	3	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Konveyer	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Çengel	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
İç organ	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Barsak içeriği	50	12	24	3	6	2	4	1	2	2	4	3	6	3	6	3	6	3	6			
Personel	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Toplam	200	21	10.5	5	2.5	4	2	1	0.5	4	2											

n: İncelenen mikroorganizma yönünden pozitif örnek sayısı

1dk olarak gerçekleştirildi ve son uzatma 72 °C'de 10 dakika olarak tamamlandı (Sarımehmetoğlu ve ark 2009). Çalışmada gerçekleştirilen PZR işlemleri sonucunda elde edilen ampiklonlar % 1,5'lük agaroz jelde elektroforeze (EC250-90; Thermo, Pittsburgh, PA, ABD) tabi tutuldu ve sonuçlar bilgisayarlı jel dokümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat, Marne La Vallee, Fransa) analiz edildi (Aslantaş ve ark 2006, Sarımehmetoğlu ve ark 2009).

## Bulgular

Çalışmada, CT-SMAC agarda renksiz koloniler ve CHROM agarda üreyen pembe renkli koloniler *E. coli* O157:H7 şüpheli olarak değerlendirildi. Fenotipik testlerle izole edilen 21 adet *E. coli* O157:H7 şüpheli izolatının 6'sı (% 12) karkas, 12'si (% 24) barsak içeriği, 3'ü (% 30) bıçaktan elde edildi. CHROM agarda üreyen 21 adet şüpheli koloniyi O antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucunda örneklerin 5'inin *E. coli* O157 antijeni yönünden pozitif olduğu saptandı. H antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucunda bu örneklerden 4'ünde H antijenin varlığı belirlendi. Serolojik testlere paralel olarak PZR analizi sonucunda, 21 izolatın sadece 5'inde (%2.5) rfbO157 geni belirlenerek *E. coli* O157 pozitif olduğu doğrulandı. Bu izolatlardan, 4'ünün flhC geni (H7 pozitif) içerdiği belirlendi. Virulans faktörleri için yapılan mPZR işlemi sonucunda incelenen beş izolatın tamamında da *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genleri belirlendi.

## Tartışma

*E. coli* O157:H7 serotipinin, birincil rezervuarı olarak kabul edilen sığır ve süt ineklerinin dışkıları ile ete, süte, toprağa, suya ve dolayısı ile tüm çevreye bulaştığı bildirilmektedir (Zhao ve ark 1995, Caprioli ve ark 2005). *E. coli* O157:H7, uygun olmayan çevre koşulları ve sıcaklıklarda sürekli çoğalabilir, ortam koşul-

larına kendilerini adapte edebilir ve çok sayıda ve farklı serotip oluşturabilir. *E. coli* O157:H7 serotipi, neden olduğu gıda zehirlenme vakalarına bağlı ölümlerin artması nedeniyle halk sağlığı açısından önemlidir (Duffy ve ark 2008, Nastasijevic ve ark 2008).

Bu çalışmada, mezbaha da incelenen iki barsak içeriği (% 4) ve iki karkas (% 4) örneğinde *E. coli* O157:H7 ve bir barsak içeriği örneğinde (% 0.5) *E. coli* O157 izole edildi (Tablo 4.2). Arjantin, Sırbistan, İrlanda, Fransa, İngiltere, Meksika ve Türkiye'de % 0.4 ile % 28.2 arasında değişen oranlar da *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotiplerinin izolasyon oranları bildirilmiş ve elde edilen bu izolatların da virulans ile ilgili genlerinden (*stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *hlyA*) en az birini içerdiği gösterilmiştir (Chapman ve ark 2001, Manna 2006, Nastasijevic ve ark 2008, Masana ve ark 2010). Daha önce yapılan çalışmalarda (Chapman ve ark 2001, Yılmaz ve ark 2002, Gun ve ark 2003, Manna 2006, Carney ve ark 2006, Islam ve ark 2008, Masana ve ark 2010) sığır rektal svap örnekleri *E. coli* O157 izolasyon oranları %2-25 aralığında bildirilmiştir. Mezbahalarda alınan sığır karkas örneklerinde ise izolasyon oranı %0.8-24 olarak rapor edilmiştir (Chapman ve ark 2001, Gun ve ark 2003, Carney ve ark 2006, Nastasijevic ve ark 2008, Masana ve ark 2010, İnat ve Sırıken 2010). McEvoy ve ark (2003) bu çalışma ile benzer olarak, İrlanda'da geleneksel bir mezbahada sığır rektal içerik, rumen içeriği ve yıkanmış karkasta *E. coli* O157:H7 varlığını araştırdıkları çalışmalarında, numunelerinin % 2.4'ünde ve karkas numunelerinin % 3.2'ünde *E. coli* O157:H7 belirlemişlerdir.

Bu çalışmadaki karkas örneklerinde *E. coli* O157:H7 izolasyon oranı (% 4) Guyon ve ark. (2001)'nin sonucuna göre (% 0.4) daha yüksektir. Yine bu çalışma sonuçlarından farklı olarak Gün ve ark.(2003), İstanbul'daki beş mezbahada bir yıl süresince yaptıkları çalışmada, çevresel örneklerin 6'sının (2 bıçak, 2 personel eli, bir önlük ve bir adet zemine ait örnek) *E. coli* O157:H7

ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu çalışma, ülkemizde ve dünya ülkelerindeki *E. coli* O157:H7 izolasyon oranlarının belirlenmesine yönelik diğer çalışmalarla (Chapman ve ark 2001, Yılmaz ve ark 2002, Gun ve ark 2003, Manna 2006, Carney ve ark 2006, Islam ve ark 2008, Nastasijevic ve ark 2008, Masana ve ark 2010) kıyaslandığında farklı sonuçların çıktığı, bu farklılıkların örnekleme metodu ile izolasyon yöntemlerindeki farklılıklar, coğrafik ve mevsimsel değişiklikler ve hayvanların kesimi esnasındaki hijyenik koşullar olduğu düşünülmektedir. Nitekim ruminantlar da *E. coli* O157:H7 serotipinin prevalansının mevsimsel olarak değişiklik gösterdiği ve sıcak aylarda (Mart-Eylül) arttığı bildirilmiştir (Chapman ve ark 2001, Guyon ve ark 2001, Gallagher ve ark 2003, McEvoy ve ark 2003, Barkocy-Hussein ve Sakuma 2003).

Ayrıca *E. coli* O157:H7 serotipinin prevalansını örnekleme metodu ve izolasyon tekniğinin etkilediği bildirilmiştir (Islam ve ark 2008, Ojo ve ark 2010). Çalışmada svap örneği direkt dışkıdan değil barsak mukozasının etkenin primer olarak yerleştiği bölge olan mukazaya temas ederek alınmıştır (Hussein ve Sakuma 2005, Greenquist ve ark 2005, Sheng ve ark 2006). *E. coli* O157:H7 serotipinin gıda, klinik ve çevre örneklerinde aranmasında kullanılan klasik yöntemlerde yoğun olarak bulunan normal flora varlığına bağlı olarak sıklıkla yanlış negatif sonuçlar alınabilmektedir. Özellikle sığır dışkılarında *E. coli* O157:H7 tespiti, bakteri sayısının çok düşük olmasından dolayı oldukça güçtür (Halkman ve ark 2001, Tutenel ve ark 2003). Hedef bakterinin sıvı ve katı besiyerlerinde gelişebilen diğer flora içindeki oranının en düşük % 1 olması gerektiği belirtilmektedir (Tutenel ve ark 2003). Bu nedenle örneklere çeşitli zenginleştirme ve gelişmiş izolasyon metodları uygulanmalıdır (Carney ve ark 2006, Tutenel ve ark 2003). Bu metodlar içerisinde en duyarlı olanlardan birisi de IMS tekniğidir (Okrend ve ark 1992, Weagant ve ark 1995, Tutenel ve ark 2003). Çalışmada, elde edilen bütün izolatların shiga-like toksin genleri (*stx1* ve *stx2*), *eaeA* ve *ehlyA* genlerinin hepsini birlikte içerdiği belirlendi.

Bu genlerin izolatlarda kombine bir şekilde bulunması, genellikle hayli güçlü bir virulent genetik karışımı olarak kabul edilir (Possé ve ark 2007). Ayrıca incelen izolatlarda *stx2* geninin bulunması HUS açısından önemlidir. Çünkü *stx2* toksinini üreten suşların *stx1*'lere göre HUS oluşumunda daha etkin rol aldığı bildirilmiştir (Hussein ve Bollinger 2005, Etcheverria ve ark 2010). Bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde, daha önce yapılan birçok çalışmada (Chapman ve ark 2001, Guyon ve ark 2001, Yılmaz ve ark 2002, Aslantaş ve ark 2006, Manna 2006, Carney ve ark 2006, Islam ve ark 2008, İnat ve Siriken 2010) en az bir ya da daha fazla virulans faktör geni tespit edilmiştir.

### Öneriler

Bu çalışmada, kesimhanede analiz edilen bir (% 2) barsak içeriği örneğinden *E. coli* O157, iki (% 4) barsak içeriği ve iki (% 4) karkas örneğinde *E. coli* O157:H7 serotipi izole edildi. Bu izolat-

ların hepsinde *eaeA* ve *ehlyA* virulans faktör genleri ile *stx1* ve *stx2* toksin genlerini birlikte içermeleri göz önüne alındığında bu ilde kesilen ve sağlıklı görünen sığırların insanlarda HUS, HC, TPP gibi şiddetli enfeksiyon ve bazen de ölümlere neden olan oldukça patojenik *E. coli* O157:H7 serotipi taşıdığını göstermektedir. Kesim esnasında derinin yüzülmesi, iç organların çıkarılması, karkasın yıkanması sırasında çapraz kontaminasyonla kesilen diğer hayvanların karkasları ve organları ve kullanılan ekipman etken ile kontamine olabilir. Çalışmada muhtemelen dışkı ile kontaminasyona bağlı olarak karkasta da bu etkenin belirlenmesi, karkasların hijyenik kalitesinin sağlanması için; mezbahalarda HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) programları çerçevesinde çalışan personelin eğitimi, kesim esnasında özofagus ve anusun bağlanması, iç organların ve barsakların tek parça halinde çıkarılması ve bu organların çıkarılırken bıçak ile yaralanmamasına dikkate edilmesi, karkas dekontaminasyonunun sağlanması, karkas gövdeleri için mikrobiyolojik kriterlerin geliştirilmesi ve denetlenmesi için yasal uygulamalar getirilmelidir.

### Teşekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2014-5469 kodlu proje ile desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- Abdullah N, Davies R, 1999. Growth and toxin production of Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) in the presence of sodium chloride. J Appl Micr, 87, 15.
- Arslan D, 2008. İshal oluşturan *Escherichia coli* enfeksiyonları; epidemiyoloji, klinik, tedavi. ANKEM Derg 2008,22, 192-196.
- Aslantaş Ö, Erdoğan S, Cantekin Z, Gülaçtı İ, Evrendilek GA, 2006. Isolation of characterization verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from Turkish cattle. Int J Food Microbiol, 106, 338-342.
- Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, Nou X, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M, 2003. 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,66, 1978-1986.
- Bell C, 2002. Approach to the control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Int J Food Microbiol, 78, 197-216.
- Cagney C, Crowley H, Duffy G, Sheridan JJ, O'Brien S, Carney E, Anderson W, McDowell DA, Blair IS, Bishop RH, 2004. Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. Food Microbiol, 21, 203-212.
- Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E, 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. Vet Res, 36, 289-311.
- Carney E, O'Brien SB, Sheridan JJ, McDowell DA, Blair IS,

- Duffy G, 2006. Prevalence and level of *Escherichia coli* O157 on beef trimmings, carcasses and boned head meat at a beef slaughter plant. *Food Microbiol*, 23, 52-59.
- Chang JM, Fang TJ, 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. *Food Microbiol*, 24, 745-751.
- Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Asthon R, Harkin MA, 2001. *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*, 64, 139-150.
- Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levi-diotou S, 2003. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. *Int J Food Microbiol*, 82, 273-279.
- Elder RO, Keen JE, Siraguse GR, Barkocy-Gallagher GA, Koohmaria K, Laegreid WW, 2000. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc Natl Acad Sci ABD*, 97, 2999-3003.
- Etcheverria AI, Padola NL, Sanz ME, Polifroni R, Krüger A, Passucci J, Rodríguez EM, Taraborelli AL, Ballerio M, Parma AE, 2010. Occurrence of shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci*, 86, 418-421.
- Duffy G, Lynch OA, Cagney C, 2008. Tracking emerging zoonotic pathogens from farm to fork. *Meat Sci*, 78, 34-42.
- Greenquist MA, Drouillard JS, Sargeant JM, Depenbusch BE, Shi X, Lechtenberg KF, Nagaraja TG, 2005. Comparison of rectoanal mucosal swab cultures and fecal cultures for determining prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle. *Appl Environ Microbiol*, 71, 6431-6433.
- Guyon R, Dorey F, Malas JP, Grimont F, Foret J, Rouvière B, Collobert JF, 2001. Superficial contamination of bovine carcasses by *Escherichia coli* O157:H7 in a slaughterhouse in Normandy (France). *Meat Sci*, 58, 329-331.
- Gun H, Yilmaz A, Turker S, Tanlasi A, Yilmaz H, 2003. Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157:H7 in Istanbul. *Int J Food Microbiol*, 84, 339-344.
- Hajian S, Rahimi E, Mommtaz H, 2011. 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*, 9, 5-6.
- Halkman A.K, Noveir MR, Doğan HB, 2001. *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd. Ankara, pp. 53.
- Hussein HS, Sakuma T, 2005. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *J Dairy Sci*, 88, 450-465.
- Hussein HS, Bollinger LM, 2005. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *J Food Protect*, 68, 2224-2241.
- Islam MA, Mondol AS, de Boer E, Beumer RR, Zwietering MH, Talukder KA, Heuvelink AE, 2008. Prevalence and genetic characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Appl Environ Microbiol*, 74, 5414-5421.
- Inat G, Siriken B, 2010. 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*, 11, 321-326.
- Manna SK, 2006. Detection of *Escherichia coli* O157 in foods of animal origin by culture and multiplex polymerase chain reaction. *J Food Sci Technol*, 43, 77-79.
- Masana MO, Leotta GA, Del Castillo LL, D'Astak BA, Palladino PM, Galli L, Vilacoba E, Carbonari C, Rodríguez HR, Rivas M, 2010. Prevalence, characterization, and genotypic analysis of *Escherichia coli* O157:H7/NM from selected beef exporting abattoirs of Argentina. *J Food Prot*, 73, 649-656.
- McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, Thomson-Carter FM, Garvey P, McGuire L, Blair IS, McDowell DA, 2003. The prevalence and spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a commercial beef abattoir. *J Appl Microbiol*, 95, 256-66.
- Nastasijevic I, Mitrovic R, Buncic, S, 2008. Occurrence of *Escherichia coli* O157 on hides of slaughtered cattle. *Lett Appl Microbiol*, 46, 126-131.
- Noveir MR, Doğan HB, Halkman AK, 2002. Çeşitli hayvansal gıdalarda Enterobacteriaceae üyelerinin varlığı. *Gıda Derg*, 25, 423-428.
- Ojo OE, Ajuwape AT, Otesile EB, Owoade AA, Oyekunle MA, Adetosoye AI, 2010. Potentially zoonotic shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in the faeces and meat of food-producing animals in Ibadan, Nigeria. *Int J Food Microbiol*, 142, 214-221.
- Okrend AJG, Rose BE, Lattuada CP, 1992. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 using O157 specific antibody coated magnetic beads. *J Food Prot*, 55, 214-217.
- Park S, Worobo R, Durst R, 2010. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A literature review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 39, 481-502.
- Possé B, De Zutter L, Heyndrickx M, Herman L, 2007. Metabolic and genetic profiling of clinical O157 and non-O157 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli*. *Res Microbiol*, 158, 591-599.
- Reitsma CJ, Henning DR, 1996. Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of Cheddar Cheese. *J Food Protect*, 59, 460-464.
- Sarimehmetoglu B, Aksoy MH, Ayaz ND, Ayaz Y, Küplülü Ö, Kaplan YZ, 2009. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef using immunomagnetic separation and multiplex PCR. *Food Control*, 20, 357-361.
- Sheng H, Lim JY, Knecht HJ, Li J, Hovde CJ, 2006. Role of *Escherichia coli* O157:H7 virulence factors in colonization at the bovine terminal rectal mucosa. *Infect Immun*, 74, 4685-4693.
- Tosun H, Gönül Aktuğ Ş, 2003. *E.coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalardaki önemi. *Orlab On-line Mikrobiyolojisi Derg*, 10, 10-17.
- Tutenel AV, Pierard D, Vandekerchove D, Hoof JV, De Zutter L, 2003. Sensitivity of methods for the isolation of *Escherichia coli* O157 from naturally infected bovine faeces. *Vet Microbiol*, 94, 341- 346.

Weagant SD, Bryant JL, Jinneman KG, 1995. An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods. J Food Prot, 58, 7-12.

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

Zhao T, Doyle MP, Shere J, Garber L, 1995. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in a survey of dairy herds. Appl Environ Microbiol, 61, 1290-1293.