

## HIZLI *Escherichia coli* TANIMLANMASINDA ULTRAVİOLE DESTEKLİ İNDOL VE MUG ESASLI TESTLERİN KIYASLANMASI

Gizem Özlük Çilak\*, Hilal Selamoğlu, Derya Dülger, Fadime Kurukama,  
Ceren Çağlar, Doszhan Assylbekov, Kadir Halkman

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı, Ankara

Geliş tarihi / Received: 20.08.2015  
Kabul tarihi / Accepted: 01.09.2015

### Özet

Bu çalışmada önceki ISO standardında (ISO 9308-1:2000) belirtilen UV destekli indol esaslı hızlı *E. coli* testi ile Bactident *E. coli* testi (MUG esaslı hızlı test) karşılaştırılmıştır. Bu amaçla çeşitli gıda örneklerinden izole edilen ve tanısı yapılmış olan 46 adet *E. coli* izolatu, 4 referans *E. coli* suşu ile koliform grup bakterilerin geliştirildiği besiyerlerinde tipik koliform kolonisi oluşturmaya da; gelişerek koloni oluşturabilen birer adet *Salmonella* Enteritidis ve *Klebsiella oxytoca* olmak üzere toplam 52 *Enterobacteriaceae* üyesi bakteri her iki yöntemle analiz edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre MUG esaslı hızlı test %100 doğru sonuç verirken UV destekli indol esaslı testte %94.1 doğru sonuç alınmıştır. *K. oxytoca*, bu testte soruna neden olmuştur. Laboratuvar koşullarında Bactident *E. coli* kitinin kullanılması UV destekli indol testine kıyasla çok daha hızlı ve kolay olarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Escherichia coli*, MUG, indol, hızlı tanımlama

## THE COMPARISON OF RAPID *Escherichia coli* TESTS BASED ON MUG AND ULTRAVIOLET SUPPORTED INDOLE

### Abstract

In this study, Bactident *E. coli* (rapid test based on MUG) and indole test supported by UV which was indicated in previous ISO method (ISO 9308:2000) was compared. Both methods were applied on 46 *E. coli* strains which were isolated from different food samples, 4 reference *E. coli* strains, 2 non-coliform bacteria as *Salmonella* Enteritidis and *Klebsiella oxytoca* which can be grown on the coliform media. 46 *E. coli* isolates, isolated from various foods and identified by MUG and indole tests. According to results accuracy of indole test supported by UV was determined as 94.1% whereas it was found 100% for Bactident *E. coli*. *K. oxytoca* has caused problem in UV supported indole test. In laboratory conditions, using Bactident *E. coli* is more rapid and easy than UV supported indole test.

**Keywords:** *Escherichia coli*, MUG, indole, rapid identification

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gizem.ozluk@gmail.com,

☎ (+90) 312 203 3300/3625,

☎ (+90) 312 317 8711

## GİRİŞ

Kontamine olmuş içme suyu, gelişmekte olan ülkelerin yanı sıra gelişmiş ülkelerde de sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1). İçme ve kullanma sularının hijyenik kalitesini belirlemek için kullanılan uluslararası yöntemlerin çoğu membran filtrasyon yöntemi ile koliform grup bakteri ve *Escherichia coli* analizi üzerine kurulmuştur (2). Avrupa Birliği'nde içme ve kullanma sularının yasal mikrobiyolojik analizinde de koliform ve *E. coli* analizi ağırlıklı olarak yapılmaktadır (3).

*E. coli*, diğer koliform grup bakterilerden farklı olarak spesifik olarak fekal kontaminasyon indikatörüdür. *E. coli* analizine yönelik yöntemlerin birçoğunda önce koliform bakteriler belirlenir, bunların içinde *E. coli* olanlar araştırılır. Bu analizlerin yine birçoğunda 44.5 °C'ta 24 sa inkübasyon sonunda triptofandan indol oluşturma testi ile  $\beta$ -D-glucuronidase (MUGaz) enzim varlığının gösterilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır (4). Koliform grup bakteriler içinde indol pozitif ve MUGaz enzimine sahip tek tür *E. coli* olmakla birlikte *E. coli* suşları içinde nadir de olsa (%1) indol negatif olanlar olduğu gibi (5) *E. coli* O157:H7 serotipinde MUGaz enzimi yoktur (6). Avrupa Birliği İçme Suları Yönergesi, sularda koliform ve *E. coli* analizinin ISO 9308-1'e göre yapılması gerektiğini belirtmiştir (2). TS EN ISO 9308-1 numaralı standart 2014 yılı sonunda revize edilmiş (7) ve koliform grup ve *E. coli* analizleri için bir besiyeri sunulmuştur: Chromogenic Coliform Agar (CCA). Bu standardın 9308-2 (EMS) ve 9308-3 (mikroplak) bölümlerinde değişiklik yoktur. Koliform grup bakterilerin analizinde kullanılan diğer selektif agarlardan farklı olarak CCA'da koliform grup bakteriler ve *E. coli* koloni rengine göre net bir şekilde ayrılır. Bir diğer deyiş ile diğer besiyerlerinden farklı olarak bu besiyerinde koliform grup olduğu belirlenmiş bakterilerin içinde *E. coli* analizi yapılmaz, *E. coli* farklı koloni rengi (mavi) ile diğer koliform grup bakterilerden (kırmızı) doğrudan ayrılır (8).

Öncelikle ekonomik nedenlerle mikrobiyolojide hızlı yöntemlere doğru giderek artan bir eğilim vardır. Bu amaçla yeni hızlı analiz yöntemleri geliştirilmekte ve yeni ürünler piyasaya sunulmaktadır. Buna göre laboratuvarlar farklı metotlar kullanabilmekte ancak kullandıkları

yöntemin en az referans yöntem kadar geçerli olduğunu kanıtlamak zorundadırlar (9).

Önceki uluslararası standart metot olan ISO 9308-1:2000'e göre sularda hızlı *E. coli* analizi; membran filtrasyon sonrası filtrelerin Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde 37 °C'ta 4 sa inkübasyona bırakılması, bu süre sonunda TSA yüzeyinden alınan membran filtrenin Tryptone Bile Agar (TBA) besiyerine aktarılması 44.5 °C'ta 19-20 sa süreyle inkübe edilmesi ve ardından filtrenin indol çözeltisi ile doyurulmuş filtre pedi üzerine yerleştirilip 254 nm UV lamba altında 10-30 dk bekletilmesi ile yapılmaktadır. Bu süre sonunda kırmızı-pembe renk verilen koloniler *E. coli* olarak tanımlanır (10).

Analizde seçici besiyeri olarak TBA kullanılması nedeni, besiyeri bileşiminde fermente edilebilir şeker bulunmaması ve triptofandan indol oluşumunu destekleyici etki göstermesidir. Membran filtrede tipik koloni oluşturmaya olanak vermez, besiyeri bileşimindeki safra tuzları ve yüksek inkübasyon sıcaklığı ile baskılanır (11-14). 254 nm UV lamba altında 10-30 dk süre içinde indol çözeltisi içinde bulunan p-Dimethylaminobenzaldehyde'in indole dönüşmesiyle kırmızı pigment oluşumuna yol açtığı Porubsky vd. tarafından gösterilmiştir (15). Fakat Niemi ve ark. (16) bu indol testiyle sahte negatif sonuçlar alınmasının mümkün olduğunu, bunun da testin geçerliliğini düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Triptofandan indol oluşturma testi, asıl olarak Tryptone Water gibi triptofan içeren bir sıvı besiyerine koloninin aşılması ve 24 saat inkübasyon sonunda kültüre birkaç damla indol çözeltisi damlatılması ile yapılır. *E. coli* şüphesi varsa inkübasyon sıcaklığı olarak 44.5 °C seçilir (17). Önceki ISO 9308-1 numaralı standartta yukarıda belirtilen yöntemin kullanılma nedeni membran filtre üzerindeki bütün kolonilere aynı anda ve beraberce indol testi uygulanmasıdır. Özellikle yoğun koliform grup bakteri ve refakatçi flora kolonisi olan filtreden kolonilerin tek tek alınması mümkün olmayabilir.

4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG) substratı *E. coli* Biyotip 1 için karakteristik olan MUGaz enzimi ile parçalanır. Parçalanma ürünlerinden 4-methylumbelliferone, uzun dalga boylu (366 nm) UV lamba ile floresan ışığa verir. MUG; VRB Agar, LST Broth gibi çeşitli selektif besiyerlerine doğrudan katılarak hızlı *E. coli*

analizinde kullanılabilir. Ayrıca MUG emdirilmiş şeritler ile tipik koliform grup bakteri kolonisinin *E. coli* olup olmadığı 2-4 saat içinde belirlenebilir. Bu çalışmada da kullanılan Bactident *E. coli* (Merck) kitinde plastik şeritlere MUG ve triptofan emdirilmiştir. Kitin özel küvetine 0.2 mL damıtık su ilave edilir, koloni bu su içinde suspand edilip 2-4 sa süreyle inkübasyona bırakılır. Bu sürenin sonunda uzun dalga boylu UV lamba altında floresan verenler *E. coli* olarak tanımlanır. Kitte bulunan Kovacs' indol çözeltilisi kullanılarak *E. coli* kesinleştirilir (18). Sonuçlar genellikle 2 sa içinde alınır. Bu kadar kısa süre içinde sonuç alınmasının nedeni 0.2 mL su içinde koloninin yoğun bir şekilde inoküle edilmiş olmasıdır.

Weber ve Schäfer 1989'da yaptıkları çalışmada Bactident *E. coli* testinin, hızlı *E. coli* tanımlaması için uygun bir test olduğunu kanıtlamışlardır (19).

Bu çalışmada, laboratuvar koşullarında kullanımı kolay olan MUG esaslı Bactident *E. coli* ile ISO 9308-1:2000 standardında belirtilen UV destekli indol esaslı hızlı *E. coli* testi kıyaslanmıştır.

### MATERYAL ve YÖNTEM

#### Materyal

Toplu tüketim yerleri ve piyasadan toplanan çeşitli gıda örneklerinden 46 adet *E. coli* izole edilerek tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *E. coli* ATCC 10536, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 25927 ve *E. coli* NRLL-B-3008 suşları referans suşlar olarak kullanılmıştır. Ayrıca adı geçen koleksiyondan sağlanan ve koliform grup bakterilerin geliştirildiği besiyerlerinde tipik koliform kolonisi oluşturmasa da gelişerek koloni oluşturabilen *Salmonella* Enteritidis (indol negatif, MUGaz negatif) ile *Klebsiella oxytoca* (indol pozitif, MUGaz negatif) da denemelerde kullanılmıştır.

#### İzolasyon ve Tanımlama

Piyasadan toplanan gıda numunelerine Brilliant Green Bile 2% (BGB) Broth (Merck 1.05454) besiyerinde 44.5 °C'ta 24 sa inkübe edilerek zenginleştirme uygulanmıştır (25 g örnek + 225 mL BGB). Bu işlemin amacı numunede *E. coli* varsa izolasyon olasılığını artırmaktır. İnkübasyon süresi sonunda Fluorocult Violet Red Bile (FVRB) Agar (Merck 1.04030) besiyerine öze ile sürme

yapılmış ve Petri kutuları 44.5 °C'ta 18 sa inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 18 sa sürme nedeni floresan ışımının net bir şekilde gözlemlenmesi bir diğer deyiş ile, floresan ışımaya yoğunluğuna bağlı olarak floresan negatif olan kolonilerin alınmamasıdır (17). Bu süre sonunda UV lamba altında (366 nm) floresan ışımaya veren ve saf halde izole edilebilecek koloniler izole edilmiştir. Her gıda numunesinden farklı suş olması amacıyla Petri kutularından 1 adet *E. coli* kolonisi alınmış ve ayrı ayrı Fluorocult Lauryl Sulphate Tryptose (FLST) Broth (Merck 1.12588) besiyerine ekilmiştir. 37 °C'ta 24 sa inkübasyonun sonunda floresan testi yapılmış, pozitif sonuç veren tüplerden saflık kontrolü amacıyla yine FVRB Agara sürme yapılmış ve hemen ardından floresan pozitif sonuç veren bu tüplere indol testi uygulanmıştır. İndol testi de pozitif olan tüplerden ekimi yapılmış FVRB Agar besiyerleri 37 °C'ta 18 sa süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüm Petri kutusunun floresan kontrolü yapılmış ve pozitif sonuç veren koloniler saf *E. coli* kültürü olarak tanımlanarak Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerine (Merck 1.05459) aşılansın ve 37 °C'ta 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda kültürler standart buzdolabına alınarak denemelerde kullanılmak üzere stoklanmışlardır (17). Denemeler sırasında kültürler aynı besiyeri (TSB) ve inkübasyon koşullarında aktifleştirilmişlerdir. Buna göre denemelerde indol ve MUGaz pozitif olduğu önceden saptanmış *E. coli* izolatları kullanılmıştır.

#### UV Destekli İndol Testi ile Hızlı *E. coli* Analizi

Bu çalışmanın amacı ISO 9308-1:2000 standardını sorgulama değildir. Sadece bu standartta belirtilen hızlı indol testi denenmiştir. Bu amaçla, aktifleştirilen kültürler TSA (Merck 1.05458) besiyeri üzerine yerleştirilen membran filtre (Sartorius 13005-50-AJN) yüzeyine öze ile sürülerek 37 °C'ta 4 sa inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda TSA yüzeyinden alınan membran filtre steril koşullarda *E. coli* için selektivite sağlayan TBA (Oxoid CM0595) besiyerine aktarılarak 44.5 °C'ta 20 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İndol çözeltilisi ISO 9308-1:2000'de tanımlandığı şekliyle 100 mL 1 mol/L HCl asit içinde 0.5 g p-Dimethylaminobenzaldehide çözümlenmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözelti ile doyurulmuş filtre pedi üzerine TBA'dan alınan membran filtre yerleştirilerek UV lamba altında 30 dakika bekletilmiş ve bu süre sonunda UV

lamba altında kırmızı-pembe renk koloni veren bakteriler indol pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### MUG Esaslı Hızlı Test

Aktifleştirilmiş kültürler, VRB Agar besiyerine öze ile sürülerek 37 °C'ta 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Buradan izole edilen koloniler Bactident E. coli kitindeki (Merck 1.13303) özel küvetlerde 0.2 mL damıtık su içinde yoğun bir bulanıklık verecek şekilde çözündürülmüş, test seridi bu süspansiyona daldırılarak ve her 30 dakikada kontrol edilerek en çok 2 sa süre ile 37 °C'ta inkübe edilmiştir. Uzun dalga boylu UV lamba ile yapılan kontrollerde floresan ışımaya görülmesi MUGaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (20). Floresan pozitif sonuç alınan küvetlere aynı kitin içinde bulunan Kovacs' indol çözeltisinden 1 damla damlatılarak indol testi yapılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Analizde kullanılan bakterilerin indol ve MUGaz analizlerinde beklenen ve elde edilen sonuçlar çizelge 1'de özetlenmiştir.

UV destekli indol testinde 46 *E. coli* izolatının kolonilerinden 43 adedi kırmızı renk (indol pozitif) ve 1 adedi açık pembe renk (zayıf indol) oluştururken, 2 adedinde renksiz (indol negatif) sonuç alınmıştır. Şahit olarak kullanılan 4 referans *E. coli* suşunun hepsi indol pozitif sonuç vermiştir. *S. Enteritidis*, 44.5 °C'ta gelişemediği için indol testi uygulanamamıştır ancak *K. oxytoca* TBA besiyerinde bu sıcaklıkta gelişebilmiş ve indol pozitif sonuç vermiştir. Bu durumda *S. Enteritidis* dışında 51 bakterinin 49 adedinden indol pozitif sonuç alınmıştır. Her ne kadar *K. oxytoca* kendisinden beklenen indol pozitif sonucu vermişse de analizin mantığı açısından bakıldığında sahte pozitif olarak değerlendirilmiş ve buna göre bu testin doğruluğu %94.1 (48/51) olarak

hesaplanmıştır.

MUG esaslı hızlı tayin yönteminin uygulandığı 46 *E. coli* izolatı ile 4 referans *E. coli* suşunun tamamının UV lamba altında floresan ışımaya (MUGaz pozitif sonuç) verdiği görülmüştür. *S. Enteritidis* MUGaz ve indol negatif sonuç verirken *K. oxytoca* MUGaz negatif ancak indol pozitif sonuç vermiştir. Bu sonuçlara göre Bactident E. coli için doğruluk payı %100'dür (52/52). Burada *K. oxytoca* için alınan pozitif indol sonucu doğru sonuç olarak değerlendirilmiştir çünkü kitin içindeki Kovacs' indol ayırıcı genel indol testi olarak kullanılmaktadır.

Bactident E. coli kiti ile yapılan analizde 46 *E. coli* izolatının tümünün MUGaz pozitif sonuç vermesi beklenen bir sonuçtur çünkü bu izolatların tümü pozitif MUGaz reaksiyonuna göre izole edilmişlerdir. Diğer 6 referans bakteri de bu kitte beklenen sonuçları vermişlerdir. Özetle, denemelerde kullanılan 52 bakterinin tümü Bactident E. coli kitinde beklenen sonucu vermiştir. Bu kit ile yapılan ilave indol testinde pozitif sonuç veren *K. oxytoca* sorun olarak görülmemektedir çünkü tüm indol pozitif bakteriler bu kit ile aynı sonucu vereceklerdir. Ancak bu kit, genel bir tanımlama kiti değil, sadece koliform grup olduğu selektif besiyerinde tipik koloni morfolojisi ile anlaşılan bakterilerin *E. coli* olup olmadığına yöneliktir. Bu besiyerlerinde seçicilik, genellikle laktozdan asit oluşturma ve selektif katkılar ile refakatçi floranın baskılanması ile sağlanır. Laktoz pozitif olan diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri, koliform grup için hazırlanmış selektif besiyerlerinde farklı morfolojide koloniler oluşturarak koliform grup bakterilerden ayrılır. Bu durumda bu bakteriler zaten Bactident E. coli kiti ile teste alınmayacaklardır ve zaten indol testi bu kitin asıl değil tamamlayıcı testidir (21).

Çizelge 1. Analizde kullanılan bakterilerin indol ve MUGaz beklenen ve elde edilen sonuçları  
Table 1. The expected and the acquired indole and MUGase results of the bacteria used.

Bakteri	MUGaz <sup>(1)</sup> MUGase <sup>(1)</sup>	İndol <sup>(1)</sup> Indole <sup>(1)</sup>	Hızlı İndol Testi <sup>(2)</sup> Rapid Indole Test <sup>(2)</sup>	Bactident E. coli MUGase <sup>(2)</sup>	İndole <sup>(2)</sup>
<i>E. coli</i> (46 izolat)	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> (4 şahit)	+	+	+	+	+
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	*	-	-
<i>K. oxytoca</i>	-	+	+	-	+

<sup>(1)</sup> Beklenen reaksiyon *Expected reaction*

<sup>(2)</sup> Elde edilen sonuç *Acquired reaction*

\* Analiz yapılamamıştır; bakteri TBA besiyerinde 44.5 °C'ta gelişmemiştir *Not analyzed, bacterium didn't growth at 44.5 °C*

Bununla birlikte kit içeriğinde bulunan indol çözültüsü ile testin tamamlanması *E. coli* O157:H7 serotipinin yakalanması açısından önemlidir. Bu serotip MUGaz negatif olduğu için floresan ışımaya vermez ancak indol pozitif olması ile kendini belli eder (21).

İndol esaslı hızlı analizde TBA besiyerinde 44.5 °C'ta gelişerek indol pozitif sonuç veren *K. oxytoca* aslında beklenen sonucu vermiştir ancak testin amacı açısından sahte pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuç, *E. coli* dışında TBA besiyerinde 44.5 °C'ta gelişerek sahte indol pozitif sonuç verebilecek başka bakterilerin de olabileceği endişesini getirmektedir. Her ne kadar Niemi vd. 2003'te yaptıkları bir çalışmada *K. oxytoca*'nın bu analizde *E. coli* gibi davranmasının ayrımının 44-45 °C'de laktozdan gaz oluşturma analizi ile çözümleneceğini rapor etmişlerse de (16) bu çözümün pratik bir uygulama olmayacağı açıktır.

Weber ve Schäfer (19) yaptıkları çalışmada Bactident *E. coli* kitinde doğruluk payını 165/175 (%94) *E. coli* olarak bulmuş, bunun yanı sıra *Enterobacteriaceae* familyasına ait *E. coli* olmayan 52 izolatın hiçbirinin pozitif sonuç vermediğini, dolayısıyla bu testin hızlı *E. coli* tanımlanmasında güvenle kullanılabilirliğini bildirmiştir. Hansen ve Yourassowsky (20) MUGaz aktivite tayininin gerçekleştirildiği Bactident *E. coli* yönteminin geçerliliğini %94 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada izolatların MUG esaslı hızlı testte %100 doğru sonuç verme nedeni *E. coli* izolasyonunun FVRB Agarda MUG pozitif suşların seçilmesi ile açıklanmakta ve Bactident *E. coli* kitinin güvenilir olduğunu göstermektedir.

Bonadonna vd.'nin 2007'de yaptığı çalışmada ISO 9308-1:2000'de tanımlanan hızlı yöntemi iki farklı yöntemle karşılaştırılmış, ISO yönteminin selektivitesinin diğer iki yöntemle göre düşük olduğu, özellikle *K. oxytoca*'nın analizde sorun oluşturduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın MUG testinin, indol belirlemesine göre *E. coli* tanımlanmasında daha geçerli bir yöntem olduğunu rapor etmişlerdir (4).

Sonuç olarak *E. coli* için iki farklı hızlı tanımlama testinin kıyaslanmasına yönelik yapılan bu çalışmada MUG esaslı hızlı testin, UV desteği ile indol esaslı teste oranla daha güvenilir olduğu ve çok daha hızlı sonuç verdiği görülmüştür. Ayrıca bu kitin uygulanış şekli UV destekli indol testine kıyasla çok daha kolaydır. UV destekli indol testinde tek avantaj, filtre üzerinde gelişen tüm

kolonilere bu testin beraberce uygulanmasıdır. Ancak Bactident *E. coli* kiti için tek koloni zorunluluğu yoktur, membran filtre üzerinden öze ile çok sayıda koloni alınarak bu kite uygulanabilir. Floresan pozitif sonuç, en az 1 koloninin *E. coli* olduğunu gösterir.

### KAYNAKLAR

1. Fricker CR, Bullock S, Murrin K, Niemela SI. 2008. Use of ISO 9308-1 Procedure for the detection of *E. coli* in water utilizing two incubation temperatures and two confirmation procedures; comparison with defined substrate technology (DST). *J Water Health*, 06 (3): 389-397.
2. Pitkänen T, Paakkari P, Miettinen IT, Tanski HH, Paulin L, Hänninen ML. 2006. Comparison of media for enumeration of coliform bacteria and *Escherichia coli* in non-disinfected water. *J Microbiol Methods*, 68: 522-529.
3. Taştemür S, Halkman AK. 2014. Membran filtrasyon tekniği ile koliform analizinde kullanılan besiyerlerinin kıyaslanması. *GIDA*, 39 (5): 267-273.
4. Bonadonna L, Cataldo C, Semproni M. 2007. Comparison of methods and confirmation tests for the recovery *Escherichia coli* in water. *Desalination* 213: 18-23.
5. Farmer JJ. 1995. Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. In: *Manual of Clinical Microbiology* 6th Ed (Chief Ed. PR Murray). American Society for Microbiology ASM, Washington DC, USA, p 438-449.
6. Çakır İ, 2000. *Escherichia coli* O157:H7. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Sim Matbaacılık, Ltd. Şti., Ankara, Türkiye. s. 403-411.
7. ISO 9308-1:2014 Water Quality- Detection and Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria.
8. Lange B, Strathmann M, Oßmer R. 2013. Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. *Lett Appl Microbiol* 57: 547-553.
9. Schets FM, Nobel PJ, Strating S, Mooijman KA, Engels GB, Brouwer A. 2001. Comparison of methods for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in water samples in the Netherlands. National Institute of Public Health and the Environment. RIVM report: 289202 028.

10. ISO 9308-1:2000 Water Quality- Detection and Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Part 8.4: Rapid Test.
11. Holbrook R, Anderson JM, Baird-Parker AC. 1980. Modified Direct Plate Method for Counting *Escherichia coli* in foods. *Food Technol.* 32: 78-83.
12. Clarke PH, Cowen ST. 1952. Biochemical Methods for Bacteriology. *J Gen Microbiol*, 6, 187
13. MacFaddin JF. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria, Vol. I, *Williams and Wilkins*, Baltimore.
14. Finegold SM, Baron EJ, Bailey WR, Scott EG. 1986. *Diagn Microbiol*, 7th Ed., The C.V. Mosby Co., St. Louis.
15. Porubsky PR, Scott EE, Williams TD. 2008. p-Dimethylaminocinnamaldehyde Derivatization for Colorimetric Detection and HPLC-UV/Vis-MS/MS Identification of Indoles. *Arch Biochem Biophys.* 475: 14-17.
16. Niemi RM, Heikkilä MP, Lahti K, Kalso S, Niemelä SI. 2001. Comparison of methods for determining the numbers and species distribution of coliform bacteria in well water samples. *J Appl Microbiol* 90, 850-858.
17. Halkman K (ed). 2005. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., 358 s., Ankara.
18. Merck. 2010. Bactident E. coli, Test kit for the rapid identification of *E. coli*. *Merck Microbiology Manual* 12th Edition. s 180.
19. Weber A, Schäfer R. 1989. The rapid identification of *Escherichia coli* using Bactident E. coli (Article in German). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 102(1): 4-5.
20. Hansen W, Yourasowsky E. 1984. Detection of  $\beta$ -Glucuronidase in Lactose-Fermenting Members of the Family Enterobacteriaceae and its Presence in Bacterial Urine Cultures. *J Clin Microbiol*, 20; 1177-1179.
21. www.mikrobiyoloji.org. Erişim tarihi: 17.08.2015