

Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde Escherichia coli O157:H7 Araştırılması

Investigation of Escherichia coli O157:H7 in Raw Milk Offered for Consumption

Cansu ÖNLEN GÜNERİ^{1*} , Suna KIZILYILDIRIM² 

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Ankara, Türkiye

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye



ÖZET

Amaç: *Escherichia coli* (*E.coli*) O157:H7 insan sağlığı açısından önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. *E. coli* O157:H7'ye bağlı enfeksiyonların çoğunluğu gıda kaynaklıdır. Bu çalışmada, Mersin ilinde tüketime sunulan çiğ sütlerde *E. coli* O157:H7 prevalansının tespiti amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Mersin ilinde çeşitli pazar ve bakkalarda satışa sunulan 60 adet çiğ süt örneği incelenmiştir. Her bir süt numunesi steril kaba alınmış olup, soğuk zincirde bakteriyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Süt örneklerinden 25 ml olacak şekilde alınarak, zenginleştirme işlemi için 225 ml olarak hazırlanan Tryptic Soy Broth'a inoküle edilmiştir. Zenginleştirme işlemi sonrasında, MacConkey veya Eozin Metilen Blue (EMB) agara kültüre edilmiştir. İnkübasyon sonunda üreyen şüpheli koloniler IMVIC testi ile *E. coli* olarak doğrulandıktan sonra *E. coli* O157:H7 araştırılması için Sorbitol-Mac-Conkey (SMAC) agar üzerine inoküle edilmiştir. Soyutlanan izolatlar antimikrobiyal direnç profilleri açısından araştırılmak üzere Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzlarına göre Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır.

Bulgular: Analize alınan 60 adet çiğ süt örneğinin iki tanesinde (%3,3) *E. coli* O157:H7 soyutlanmıştır. *E. coli* O157:H7 izolatlarının ampisilin ve kloramfenikole karşı dirençli olduğu, gentamisin ve siprofloksasine ise yalnızca birinin dirençli iken diğer izolatın duyarlı olduğu bulundu. Ayrıca her iki izolatın da tetrasiklin, nalidiksik asit ve sefuroksime karşı duyarlı olduğu görüldü.

Sonuç: Çiğ süt ve süt ürünlerinin *E. coli* O157:H7 için kaynak olabileceği ve halk sağlığı açısından risk teşkil edebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, Çiğ süt, Antibiyotik direnci

Alınış / Received: 11.11.2022 Kabul / Accepted: 24.11.2022 Online Yayınlanma / Published Online: 20.12.2022



ABSTRACT

Objective: *Escherichia coli* (*E.coli*) O157:H7 is one of the important causes of morbidity and mortality in terms of human health. Most infections due to *E. coli* O157:H7 are foodborne. In this study, it was aimed to determine the prevalence of *E. coli* O157:H7 in raw milk offered for consumption in Mersin.

Materials and Methods: Sixty raw milk samples sold in various markets and grocery stores in Mersin province were examined. Each milk sample was taken into a sterile container and brought to the bacteriology laboratory in the cold chain. 25 ml of milk samples were taken and inoculated into 225 ml of Tryptic Soy Broth, which was prepared for enrichment. After enrichment, it was cultured on MacConkey or Eozin Metilen Blue (EMB) agar. After the suspicious colonies that grew at the end of the incubation were confirmed as *E. coli* by IMVIC test, they were inoculated on Sorbitol-Mac-Conkey (SMAC) agar to investigate *E. coli* O157:H7. Antibiotic susceptibility test was performed by Kirby Bauer disk diffusion method according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines to investigate the isolated isolates in terms of antimicrobial resistance profiles.

Results: *E. coli* O157:H7 was isolated in two (3.3%) of 60 raw milk samples analyzed. *E. coli* O157:H7 isolates were found to be resistant to ampicillin and chloramphenicol, whereas only one isolate was resistant to gentamicin and ciprofloxacin, while the other isolate was susceptible. In addition, both isolates were found to be sensitive to tetracycline, nalidixic acid and cefuroxime.

Conclusion: It was concluded that raw milk and dairy products may be a source for *E. coli* O157:H7 and pose a risk to public health.

Keywords: *E. coli*, Raw milk, Antibiotic resistance



1. Giriş

Süt, temel besin bileşenleri ile beslenmede büyük önem taşır [1]. Sağlıklı bir memeden elde edilen süt, işlenmesi nedeniyle çoğalabilen birçok bakteri içerir [2]. Ayrıca eşsiz bileşimi ile süt, bakteri üremesi için mükemmel bir ortam sağlar. Bu nedenle tüketim açısından önemli bir bakteriyel enfeksiyon kaynağıdır. Sütte bulunan patojen bakteriler insan sağlığını tehdit etmekte olup, antibiyotiğe dirençli patojen etkenlerinin yayılması için önemli bir vektör olabilir. Patojenik mikroorganizmalar doğrudan memeden süte yayılabilirken, sağım sırasında ve sonrasında ahırdan, havadan, süt sağım cihaz ve ekipmanları ile personeller gibi önemli kontaminasyon kaynakları aracılığıyla yayılabilir. Sütte bulunan başlıca patojenler: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Campylobacter*'dir [3]. Özellikle *E. coli* O157 ve O157:H7 gibi *E. coli* serogrupları dışkıdan süt ve süt ürünlerine yayılabilir ve ciddi enfeksiyonlara neden olabilir [4]. *E. coli*, Enterobacteriaceae ailesinde sınıflandırılan Gram negatif, fakültatif anaerob bir bakteridir. İnsan normal florasının bir üyesi olarak bağırsağın önemli kommensallerinden biri olan *E. coli*, çoğunlukla fekal kontaminasyon ve hijyen analizleri için indikatör olarak kullanılan mikroorganizmadır [5]. Bununla birlikte, birkaç *E. coli* serotipi, yeni ortamlara uyum sağlamak adına virülans faktörleri kazanımıyla ciddi hastalıklara neden olmaktadır. İnsanlarda koliform bakteri grubunda yer alan *E. coli* genel olarak bağırsak epitel hücrelerini etkileyen altı patojenik serotipe sahiptir. Bunlar; enterohemorajik *E. coli* (EHEC); enteropatojenik *E. coli* (EPEC); enterotoksijenik *E. coli* (ETEC); enteroagregatif *E. coli* (EAEC); enteroinvaziv *E. coli* (EIEC); dir. Bu patojenik *E. coli* serotipleri arasında yüksek virülansı nedeniyle *E.*

coli O157:H7 olarak da bilinen EHEC suşları düşük sayıda bakteri ile bile (5-50 arası bakteri) enfeksiyon geliştirebilmektedir ve bu oran süt içerisinde de bulunabilmektedir. *E. coli* O157:H7, Avrupa gıda güvenliği otoritesi raporuna göre (EFSA, 2009a), endişe duyulan başlıca *E. coli* serotip/serogrupları arasında yer almaktadır [6]. Dolayısıyla süt ve süt ürünlerinin elde edildiği hayvanlardan kaynaklı olarak fekal kontaminasyona maruz kalan su ve gıda maddeleri, gıda güvenliği için önemli bir tehdit unsuru olabilir [5]. Ayrıca, ülkemize ailesi ile tatile gelen iki yaşında İngiliz bir kız çocuğunun, *E. coli* O157 enfeksiyonuna bağlı olarak gelişen Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS) ile böbrek yetmezliği nedeniyle hayatını kaybetmesi basında geniş yer tuttu [7].

Dünya nüfusunun artmasıyla beraber çiğ süt ve çiğ süt ile yapılan peynir, tereyağı, dondurma ve kefir gibi ürünlere karşı tüketici talebi de artmaktadır. Dolayısıyla, pastörizasyon yapılmadan hazırlanıp tüketime sunulan pek çok peynir çeşidi bulunmaktadır. Günümüzde bu ürünlerin tüketimi ile patojenik mikroorganizmaların neden olduğu kontaminasyondan kaynaklanan hastalık risklerinin arttığı görülmektedir.

Süt ve süt ürünleri açısından kontaminasyon göstergelerinden biri; koliform bakteri grubunda yer alan *E. coli*'dir. *E. coli*'nin yukarıda bahsedilen birçok farklı serotipi vardır. Bu serotiplerden *E. coli* O157:H7 insan sağlığı için önemli morbidite ve mortalite nedeni olmasının yanında önemli bir de gıda patojenidir. Bu etkenin enfeksiyon dozunun da oldukça düşük olması önemini daha da arttırmaktadır.

E. coli O157:H7 sulu ishal gibi hafif enfeksiyonlardan hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom (HÜS) ve trombositopeni gibi ağır seyirli olabilen enfeksiyonlara kadar değişiklik göstermektedir [8]. *E. coli* O157:H7'nin çiftlik hayvanlarının bağırsak sisteminde yaygın olarak kolonize olduğu bildirilmektedir. Son zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda *E. coli* O157:H7'nin başlıca taşıyıcılarının süt sığırları olduğu belirtilmiştir. Dünya sağlık örgütünün 2018 raporuna göre *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının çoğunun az pişirilmiş et ve pastörize edilmemiş süt ürünleri ile çiftlik hayvanlarının dışkıyla ile kontamine olmuş sebzelerle ilişkili olduğu bildirilmiştir [9].

Dolayısıyla bu çalışmada, pek çok patojen etkenin bulaşmasında önemli bir rezervuar olabilen çiğ sütlerde *E. coli* O157:H7 prevalansının tespiti amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Mersin ilinde halk pazarında ve bakkalarda tüketime sunulan çiğ süt örneklerinden 01.04.2019-31.05.2019 tarihleri arasında aseptik koşullar altında yaklaşık 250 ml olacak şekilde steril taşıma kaplarına alınarak soğuk zincir altında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına getirildi. Steril pastör pipeti ile süt örneklerinden 25 ml alındı ve zenginleştirme işlemi için 225 ml olarak hazırlanan Tryptic Soy Broth'a inoküle edilerek 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Zenginleştirme işlemi sonrasında, MacConkey agar veya EMB agara kültüre edildikten sonra 37°C'de 48 saat süresince inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreyen metalik refle veren şüpheli koloniler IMVIC testi ile *E. coli* olarak doğrulandı. Ancak akabinde *E. coli* izolatlarının tanımlanmasında IMVIC testine ek olarak bu bakteriye ait biyokimyasal bazı özelliklerinin tespitine olanak tanıyan testler dikkate alınmıştır. Bu kriterler arasında MacConkey veya EMB agar besiyerinde metalik refle veren kolonilerin üremesinin yanında Triple Sugar Iron agar, Sulfide Indole Motility agar ve sitrat agar besiyerlerindeki karakterlerinin belirlenmesiydi. *E. coli* olarak tanımlanan izolatlar sonraki işlem basamakları için %20 gliserol içeren saklama besiyerinde -70°C'de saklandı.

E. coli O157:H7 araştırılması için -70°C'de tutulan *E. coli* izolatları SMAC agar üzerine inoküle edildi. 37°C'de en az 24 saat inkübasyon sonunda sorbitol negatif koloniler *E. coli* O157:H7 olarak tanımlandı. Sorbitol-negatif koloniler ayrıca O157 antiserumu ile doğrulandı [10, 11].

Sorbitol negatif *E. coli* suşları antimikrobiyal direnç profilleri tespiti için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzlarına göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Bu amaçla; ampisilin (10 µg), gentamisin (10 µg), sefuroksim (30 µg), tetrasiklin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), nalidiksik asit (30 µg), ve kloramfenikol (30 µg) (Oxoid, İngiltere) antibiyotikleri kullanıldı. Sonuçlar CLSI (2016) kriterlerine göre yorumlandı. Negatif standart suş olarak *E. coli* O157: H7 ATCC 43888, pozitif standart suş olarak *E. coli* O157: H7 ATCC 43895 ve ATCC 43889 kullanıldı.

3. Bulgular

'Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations, (FAO)) standartları göz önünde bulundurularak 60 adet çiğ süt örneğinin 20'sinde *E. coli* izole edildi. İzole edilen *E. coli* izolatları *E. coli*'ye ait önemli bir serotip olan *E. coli* O157:H7 açısından incelendiğinde ise iki (n=2) izolatın (%3,3) *E. coli* O157:H7 olarak tespit edildiği görüldü (Tablo 1).

Çiğ sütte tespit edilen *E. coli* O157:H7 izolatının ikisi de ampisilin ve kloramfenikole karşı dirençliydi. Gentamisin ve siprofloksasine ise yalnızca biri dirençli iken diğeri duyarlıydı. Ayrıca her iki izolatın da tetrasiklin, nalidiksik asit ve sefuroksime karşı duyarlı olduğu bulundu (Tablo 2).

Tablo 1: Çiğ sütlerde *E.coli* O157:H7 varlığı

Örnek tipi	Örnek Sayısı	<i>E.coli</i> O157:H7	%
Çiğ Süt	60	2	%3.3

Tablo 2: Çiğ sütte tespit edilen *E.coli* O157:H7 izolatının Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotikler	Duyarlı izolat sayısı	Dirençli izolat sayısı
Ampisilin (10 mg)	-	2
Gentamisin (10 mg)	1	1
Sefuroksim (30 mg)	2	-
Tetrasiklin (30 mg)	2	-
Siprofloksasin (5 mg)	1	1
Nalidiksik Asit (30 mg)	2	-
Kloramfenikol (30 mg)	-	2

4. Tartışma ve Sonuç

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü 2015 yılında, dünya süt üretiminin 724 milyon tona ulaştığını yayınlamıştır (FAO, 2015) [12]. Dolayısıyla bu oran süt ürünleri tüketimi ve ticaretinde muazzam bir artış olduğu bilgisini de beraberinde getirmiştir. Ayrıca bu kadar yüksek süt tüketim oranları süt kaynaklı gıda patojenlerinin güvenliği ve kontrolü/önlenmesi halk sağlığı için birincil öneme sahip olduğunu da gözler önüne sermektedir. Çiftlik hayvanları, süte geçebilen önemli patojen rezervuarları barındırır. Süt ve süt ürünleri ile insan bulaşı yüksek olabilen bakteriyel patojenler arasında *Salmonella spp*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Campylobacter spp* ve patojenik *E. coli* önemli bir yere sahiptir. Çiğ süt bu bakteriler için potansiyel bir büyüme ortamı sağlar [3].

Çiğ süt açısından değerli bir diğer bilgi ise et ve et ürünlerinden sonra *E. coli* O157:H7 enfeksiyonuna neden olan ikinci önemli gıda grubunda olmasıdır. Çiğ süt ile ilk *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu 1986 yılında Amerika Birleşik Devleti'nde görülmüş olup [13], yine benzer tarihlerde Kanada'da çiğ süt tüketen bir kreşteki çocuklarda da rastlanmıştır [14]. İlerleyen yıllarda ise İskoçya'da *E. coli* O157:H7 ile kontamine pastörize süt tüketen 100 kişinin enfeksiyonuna neden olduğu bilgisine Lancet dergisinde yer verilmiştir [15]. Çiğ sütlerin bu enfeksiyon etkenine karşı önemli bir rezervuar olabileceği bilgisinin gün yüzüne çıkmasından sonra bu konu hakkında ülkemizde ve dünyada pek çok araştırma yapılmıştır.

Türkiye’de süt örneklerinde *E. coli* O157:H7 prevalansı konusunda; Öksüz ve ark [16] tarafından 2004 yılında çiğ süt ve peynir örneklerinde %1 ila %4 oranında; Aslantaş ve Yıldız [17] tarafından 100 çiğ süt örneğinden 2 (%2)’sinde; Aksu ve ark [18] tarafından 100 çiğ süt örneğinin 2’sinde (%2); İnat ve ark [18] tarafından 2017 yılında çiğ inek sütünün 1’inde (%0,66), Akkaya ve ark [20], 100 adet çiğ süt örneğinden 3’ünde (%3) ve 1 (%1) taze beyaz peynir örneğinde; Şeker ve Yardımcı [21] tarafından 2008 yılında, 213 çiğ süt örneğinin 3’ünde (%1,4); *E. coli* O157:H7 tespit ettikleri görülmüştür. Sancak ve ark [22] ise 2015 yılında; çiğ inek sütü örnekleri ile gerçekleştirdikleri çalışmada *E. coli* O157:H7 izole etmediklerini bildirilmiştir. Farklı ülkelerde gerçekleştirilen çalışmalarda ise; örneğin Amerika Birleşik Devletlerinin farklı eyaletlerinde Padhye ve Doyle [23] 115 çiğ süt örneğinden 11 (%10)’inde; Abdul-Raouf ve ark [24] 50 adet çiğ süt örneğinden 3’ünde (%6); Wells ve ark, [25] 23 adet çiğ süt örneğinden 1’inde (%4,34) Arimi ve ark [26] 2005 yılında Kenya’da gerçekleştirdikleri çalışmada 264 adet süt örneğinin ikisinde (%0,76), Dontorou C ve ark [27] 2003 yılında Yunanistan’da 100 adet koyun, inek ve keçi sütü örneğinin birinde (%0,33) ve Reuben A ve ark [28] Kosta rika’da ise 100 çiğ süt örneğinin ikisinde (%2) *E. coli* O157:H7 tespit edildiği görülmüştür. Mevcut çalışmada çiğ sütlerde tespit edilen %3.3 *E. coli* O157:H7 oranının yukarıda yer verilen çalışmaların bazıları ile benzer birkaçından yüksek birkaçından da düşük olduğu görülmüştür. Etken mikroorganizmanın farklı prevalanslarda bulunması; bölgesel ve mevsimsel farklılıklar ile süt toplama ve sağım alanlarındaki hijyenik koşulların farklılığından kaynaklanıyor olabileceğini göstermektedir.

Enfeksiyon etkeni mikroorganizmalar süt içerisine memeden direkt bulaşabileceği gibi hayvanın deri ve mukoz membalarından, süt sağım aletlerinden, kontamine olabilen sağım kaplarından, sütlerin toplandığı tanklardan, biyolojik vektör olarak önemli bir yere sahip olan böcekler ve kemirgenlerden ve fiziksel olarak kir ve dışkıdan da bulaşabilmektedir [20].

Ülkemizin birçok bölgesinde çiğ süttten peynir yapma alışkanlığı yaygın olarak devam etmektedir. Bu patojenin çiğ süttten tüketime sunulan peynirlerde bulunması durumunun peynirin çeşidine, pH değerine, tuz konsantrasyonuna, laktik asit konsantrasyonuna ve laktik asit florasının metabolik aktivitesine bağlı olduğu düşünülmektedir [29]. Günümüzde ticari olarak da bireysel tüketim amaçlı olarak da hijyen kurallarını göz önünde bulundurmaksızın geleneksel yöntemlerle yaygın olarak peynir üretimi ve tüketiminin gerçekleşmekte olduğu düşünüldüğünde tüketime sunulan peynirlerin halk sağlığı açısından risk taşıdığı görülmektedir [30].

E. coli O157:H7 çiğ süt örneklerinde düşük yaygınlık oranına sahip olmasına rağmen, minimum enfeksiyon dozunun düşük olması, hastalık oluşturma yeteneğinin yüksek olması, çapraz kontaminasyon riskinin olması, yüksek asiditeye karşı toleransının yüksek olması *E. coli* O157:H7’nin hijyen ve halk sağlığı açısından tehdit edici boyutta olduğunu bir kez daha gözler önüne sermektedir [20]. Ayrıca bu patojenin asidik koşullara yüksek uyum sağlama yeteneğine sahip olması ve bu nedenle fermente süt ürünlerinde dahi uzun süre canlılığını koruyor olması hijyen kurallarına karşı özverinin daha da artırılması gerekliliğini göstermektedir [31].

E. coli O157:H7 kontamine gıda numunelerinde düşük miktarlarda bulunduğundan, konvansiyonel yöntemlerle teşhiste problemler ve sınırlamalar olabilir. Etkenin tespiti için kültür testleri ve antijen-antikor tepkimelerine dayalı serolojik testler gibi farklı yöntemler kullanılsa da günümüzde *E. coli* O157:H7’nin doğru ve hızlı teşhisi açısından altın standart kabul edilen PCR’a dayalı moleküler tekniklerin kullanılmaması çalışmamızın kısıtlılığını oluşturmaktadır.

Sonuç olarak; bu araştırma ile çiğ sütlerin *E. coli* O157:H7 ile bulaşında önemli bir kaynak olabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle çiğ süt ve süt ürünleri tüketimi ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Hijyenik olmayan üretim koşullarının bu patojenin sofralara ulaşmasında önemli faktörlerden biri olduğu göz önüne alındığında; çiğ süt elde edim aşamaları açısından hayvanların barındığı yerlerin hijyeninden başlayarak, özellikle süt sağım alet ve kaplarına dışkı bulaşmasının önüne geçilmesi, peynir yapımında pastörizasyon işleminin öneminin bilinmesi, çapraz kontaminasyon riskinin göz önünde bulundurulması gibi çiğ süttten süt ve süt ürünlerinin üretiminden paketlenmesine kadar tüm süreçlerde özen gösterilmesi halk sağlığı açısından oldukça değerlidir. Tüm bu kritik süreçlerde;

Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktaları (HACCP) kurallarının uygulanması ile çiğ süt ve süt ürünlerinin kontaminasyon risklerinin önlenmesi sağlanabilir.

Teşekkür

Deneylerin gerçekleştirilmesi için laboratuvar imkanlarından faydalanmamıza yardımcı olan Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fatih KÖKSAL'a teşekkür ederiz.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

Kaynakça

- [1] Tamang, M. D., Gurung, M., Nam, H. M., Kim, S. R., Jang, G. C., Jung, S. C., et al. 2014. Short communication: genetic characterization of antimicrobial resistance in *Acinetobacter* isolates recovered from bulk tank milk. *J. Dairy Sci.* 97, 704–709. doi: 10.3168/jds.2013-7403.
- [2] Nahla, A. Abou El-Roos; Ebtesam M. Mazid; Eman M. Zakary and Kayrı F. Abou El Yazid. 2013. Molecular Characterization of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Milk. *Assiut Vet. Med. J.* 59, 139.
- [3] Claeys, W., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K. 2013 Raw or Heated Cow Milk Consumption: Review of Risks and Benefits. *Food Control*, 31:251e262.
- [4] Ekici K., Bozkurt, H., Isleyici, O. Isolation of some pathogens from raw milk of different milk animals. 2004. *Pak J Nutr*, (3), 161–162.
- [5] Tchaptchet, S., and Hansen, J. 2011. The Yin and Yang of host-commensal mutualism. *Gut Microbes*, 2,347–352.
- [6] European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority (ECDPC/EFSA) (2011): Shiga toxin/verotoxin- producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/ EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).
- [7] <https://uk.news.yahoo.com/british-girl-dies-e-coli-poisoning-turkey-holiday-133106151.html>
- [8] Ameer, M. A, Wasey, A, Salen, P. *Escherichia coli* (*E coli* O157 H7). 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29939622.
- [9] World Health Organization. *E.coli*. 2018. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- [10] Feng, P., Weagant, S.D. 2011. Diarrheagenic *Escherichia coli*. U.S.A. Food and Drug Administration.
- [11] March, S.B., Ratnam, S. 1989. Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol*, 27, 1675–1677.
- [12] World milk production. (2015): FAO data shows. <http://dairy.ahdb.org.uk/market-information/supply-production/milk-production/world-milk-production/#.Vmff47iLSUk>. (9 December 2015).
- [13] Martin, M. L., Shipman, L. D., Wells, G. J. 1986. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with to cases of hemolytic uremic syndrome, *Lancet* ii, 1043.

- [14] Duncan, L., Mai, V., Carter, A., Carlson, J. A. K, Borczyk, A., Karmali, M. A. (1987. Outbreak of gastrointestinal disease, Ontario. Can. Dis. Weekly Rep., 13(2), 5-8.
- [15] Upon, P., Coia, J. E. 1994. Outbreak of *Escherichia coli* O157 infections associated with pasteurized milk supply. Lancet, 334: 1015.
- [16] Öksüz, Ö., Arici, M., Kurultay, S., et al 2004. Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. Food Control, 15, 453-456.
- [17] Aslantaş, Ö., Yıldız, P. 2002. Kars yöresinde hayvansal kaynaklı gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu, *Vet Bil Derg*, 18, 1-2, 107-111.
- [18] Aksu, H., Arun, Ö. Ö., Aydın, A., Uğur, M. 1999.: *Escherichia coli* O157:H7'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı, *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 30(2), 77- 81.
- [19] İnat, G., Sırıken, B., Pamuk, Ş. 2017. *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in Raw Cow Milk. *Animal Health Prod and Hyg*, 6(1), 481 – 486.
- [20] Akkaya, L., Alişarlı, M., Kara, R., Telli, R.. 2007. Afyonkarahisar'da Tüketime Sunulan Çiğ Süt ve Peynirlerde *E. coli* O157:H7 Varlığının Belirlenmesi. *Yyü Vet Fak Derg*, 18(1), 1-5.
- [21] Şeker E., Yardımcı H. 2008.: First isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from faecal and milk specimens from Anatolian water buffaloes (*Bubalus bubalus*) in Turkey. *Journal of the South African Veterinary Association*, 79, 167-170.
- [22] Sancak, Y.C., Sancak, H., Isleyici, O., Durmaz, H. 2015. Presence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in raw milk and Van herby cheese. *Bull Vet Inst Pulawy*, 59, 511-514. DOI:10.1515/bvip-2015-0076.
- [23] Padhye, N. V., Doyle, M. P. 1992. *Escherichia coli* O157:H7 epidemiology pathogenesis and methods for detection in food, *J Food Prot*, 55(7), 555-565.
- [24] Abdul-Raouf, U.M., Ammar, M.S., Beuchat, L.R. 1996.: Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 423-426.
- [25] Wells, J. G., Shipman, L. D., Greene, K. D., Sowers, E. G. 1991. Isolation *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga like toxin producing *E. coli* from dairy cattle, *J Clin Microbiol*, 29(5), 985-989.
- [26] Arimi, S.M., Koroti, E., Kang'ethe, E.K., Omoro, A.O., McDermott, J.J. 2005. Risk of infection with *Brucella abortus* and *Escherichia coli* O157:H7 associated with marketing of unpasteurized milk in Kenya. *Acta Trop*, 96, 1–8.
- [27] Dontorou, C., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Economou, V., Apostolou, I., Zakkas, G., Salamoura, A., Kansouzidou, A., Levidiotou, S. 2003. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. *Int J Food Microbiol*, 82, 273–279.
- [28] Reuben, A., Treminio, H., Arias, M.L., Chavez C. 2003. Presence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in food from animal origin in Costa Rica. *Arch Latinoam Nutr.*, 53, 389–392.
- [29] Lekkas, C., Kakouri, A., Paleologos, E., Voutsinas, L.P., Kontominas, M.G., Samelis, J. 2006. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Galotyri cheese stored at 4 and 12°C. *Food Microbiol*, 23, 268–276.
- [30] McLauchlin, J., Aird, H., Elliott, A., Forester, E., Jørgensen, F., Willis, C. 2020. Microbiological quality of raw drinking milk and unpasteurised dairy products: results from England 2013–2019. *Epidemiology and Infection*, 148, e135, 1–12. [https://doi.org/ 10.1017/S0950268820001016](https://doi.org/10.1017/S0950268820001016).
- [31] Tosun, H., Seckin A.K., Gonul, S.A. 2007. Acid adaptation effect on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in fermented milk products. *Turk J Vet Anim Sci*, 31, 61–6.