

Kars ve Sarıkamış Çevresindeki İçme Suyu Kaynaklarından Membran Filtrasyon Yöntemi ile *Escherichia coli* İzolasyonu

Ekrem KİREÇÇİ^{1*}

Mustafa SAVAŞÇI²

Hakan USLU³

¹ Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ilıca/ Erzurum.

² B Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Sarıkamış/Kars.

³ Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

*e-posta: ekirecci@atauni.edu.tr

ÖZET: Bu çalışmada, Kars ve Sarıkamış askeri birliklerinde kullanılan içme sularının mikrobiyolojik kalitesi ve *Escherichia coli*'nin varlığı araştırıldı. Bu çalışmada, fekal indikatörler membran filtrasyon yöntemi ile izole edildi. Bu yöntem, sulardan fekal koliformların belirlenmesi için standart yöntemlere alternatif olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla, su kaynaklarından 6 ay süresince toplanan 1469 adet su numunesi çalışmaya alındı. Numuneler, 0.45µm por aralığına sahip sellüloz membran filtrelerden süzöldükten sonra her bir filtre Endo-NKS besiyerlerine yerleştirildi. Daha sonra her besiyeri 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Besiyerlerinde üreyen kırmızı renkli koloniler seçilerek biyokimyasal yöntemlerle *E.coli* identifikasyonu yapılmıştır. Sonuçta, 1469 adet su numunesinin %30'unda *E.coli* izole edildi. İçme sularındaki *E.coli* varlığı fekal bir kontaminasyonu gösterdiğinden, bu durumun su kaynaklı infeksiyonlara yol açabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Membran filtrasyon yöntemi, içme suyu, *Escherichia coli*

Isolation of *Escherichia coli* from Drinking Water in Kars and Sarıkamış Area by Membrane Filtration Method

SUMMARY: In this study, the microbiological quality of drinking water and the presence of *Escherichia coli* was investigated in the military troops of Kars and Sarıkamış area. In this investigation, faecal indicators (*E.coli*) were isolated by using membrane filtration methods. This method has been accepted as an alternative method for the detection of fecal coliform organisms comparing with the standard method. For this purpose, 1469 water samples were collected and analyzed during 6 months. The samples were filtered through 0.45µm pore size cellulose membrane filter. After filtration, each filter was aseptically placed on the Endo-NKS medium and incubated for 24h at 37 °C. Growing red colonies on the medium were taken and identified as *E.coli* by biochemical methods. In conclusion, *E.coli* was isolated in 439 of the (30%). Because the presence of *E.coli* in the water samples exhibited existence of fecal contamination in the drinking water of the troops regarding this state would cause infections with the water origin.

Key words: Membrane filtration method, drinking water, *Escherichia coli*

GİRİŞ

Su hayatın varlığı ve devamı için vazgeçilmez bir kaynaktır. Dünyada ve ülkemizde temiz suların önemi her geçen gün artmaktadır.

Toplumdaki portörlerin ya da aktif hastaların barsaklarındaki patojen mikroorganizmalar dışkı ile suya geçmekte ve sonuçta su, infeksiyon kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tür suların içilmesi, gıda hazırlamada kullanılması, banyo yapılması, hatta inhale edilmesiyle infeksiyon gelişebilmektedir (WHO,2004, Edberg ve ark. 2000). Sularla bulaşan infeksiyöz ishaller, dünyada tüm ölüm nedenleri içinde ikinci sırada yer almaktadır. Yılda yaklaşık 200 milyon insan su ile ilişkili hastalıklara yakalanmakta, iki milyon insanda hayatını yitirmektedir (WHO, 2004, Edberg ve ark.,2000). Su kaynaklarının kontaminasyonu ve mikrobiyolojik kalitesi çeşitli yöntemlerle belirlenebilmektedir (Evans ve ark.,1984, Tobin ve ark.,1980).

Bu amaçla hızlı sonuç verebilen, pratik ve tekrarlanabilirliği olan membran filtrasyon

yöntemi geliştirilmiştir (Rose ve ark., 1975). Sulardaki fekal kontaminasyonun belirlenmesinde indikatör mikroorganizmalardan *Escherichia coli*'nin izolasyonu önemli bir kriter kabul edilmektedir (Edberg ve ark.2000).

Bu çalışmada, Kars ve Sarıkamış garnizonundaki askeri birliklerde kullanılan içme suyu kaynaklarından *Escherichia coli*'lerin membran filtrasyon yöntemi ile izolasyonu araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Numunelerin toplanması

Kars ve Sarıkamış garnizonundaki askeri birliklerde, içme suyu olarak yararlanılan kaynaklardan 6 ay süresince (Temmuz-Aralık 2005) toplanan 1469 adet su numunesi çalışmaya alınmıştır. Kars ve Sarıkamış garnizonundan su örnekleri aseptik şartlarda ve standart numune alma tekniklerine uyularak alınmış ve B-Tipi Gıda kontrol müfreze komutanlığı mikrobiyoloji

laboratuvarında çalışılmıştır (Oğur ve Tekbaş, 2005).

Kontrol suşu

E.coli suşlarının identifikasyonu aşamasında kontrol suşu olarak standart *E.coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır (Du ve ark.,2004).

Membran filtrasyon sisteminde kullanılan araç ve gereçler

Besiyeri (Endo-NKS): Her biri steril olarak petri kaplarına yerleştirilmiş ve kurutulmuş selektif besiyerleri olup, *E.coli* ve koliform bakterilerini su numunelerinden izole etmek için standart metotlara göre formüle edilmiştir. Ayrıca bu set içerisinde steril olarak paketlenmiş 0,45µm gözenekli membran filtreleri (Sartorius, Germany) yer almaktadır (Grabow ve Preez,1979, Dufour ve ark.,1981).

Membran filtrasyon cihazı: Cihaz paslanmaz çelik üçlü vakum filtre tutucusu, paslanmaz çelik ön-filtre tutucusu, vakum pompası, emniyet şişesi, pens, dozajlama şırıngası, cam vakum erleni, minisart, silikon tıpa ve vakum hortundan oluşmaktadır.

Membran filtrasyon işlemi

Membran filtrasyon araçları sterilize edildi. Bu amaçla, paslanmaz çelik özellikli ekipmanın pratik olarak alkol ve beg alevi kullanılarak fiziksel yöntemle sterilizasyonu sağlandı. Kuru Endo-NKS besiyerlerine dozaj şırıngası ile 3.5 ml steril distile su ilave edildi. Daha sonra steril paketlerdeki membran filtre pens ile tutularak filtre destek kısmına yerleştirildi. Huni kapağı kaldırılarak su numunesi içerisine konuldu. Vakum pompası çalıştırılarak vakum musluğu

açıldı ve numune filtre edildi. Filtrasyon işlemi tamamlandıktan sonra vakum musluğu kapatıldı ve filtre pens ile alınarak daha önce steril su ile ıslatılmış Endo-NKS besiyerinin yerleştirildi. Petri kutuları, tabanları alta gelecek şekilde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı (Grabow ve Preez M,1979, Dufour ve ark.,1981, Evans ve ark.,1981).

Kültürlerin değerlendirilmesi ve *E.coli* suşlarının identifikasyonu

E.coli'lerin identifikasyonu, standart klasik yöntemlerle yapılmıştır (Farmer,1999). Bu amaçla; Endo-NKS besiyerlerinden izole edilen kırmızı renkli kolonilere biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bu testlerin sonucunda; Gram boyama ile Gram negatif, hidrojen sülfid, simmon sitrat, oksidaz ve üreaz testlerinde negatif, üçlü şeker (TSI agar; laktoz-glikoz-sukroz) ve indol testinde pozitif olan koloniler *E.coli* olarak tanımlanmıştır. Endo-NKS besiyerinde üreyen diğer koliform bakteriler çalışmaya alınmamıştır.

BULGULAR

Çalışmada kullanılan 1469 adet su numunesinin membran filtrasyon sistemi ile incelenmesi neticesinde; numunelerin 439 (%30)'undan *E.coli* izole edilirken, 1030 (%70)'unda üreme saptanmamıştır. Kars askeri birliklerinden alınan numunelerin 139 (%42)'undan *E.coli* izole edilirken, 194 (%58)'ünde etken izole edilememiştir. Sarıkamış askeri birliklerinde ise, 300 (%26,4) su numunesinden *E.coli* izole edilirken, 836 (%73,6) numunede üreme belirlenmemiştir (Tablo 1).

Tablo1. Membran filtrasyon yöntemi ile izole edilen *E.coli* suşlarının ve su numunelerinin alındığı bölgelere göre dağılım oranları.

Numunelerin alındığı yer	Sarıkamış			Kars		
	Numune sayısı	<i>E.coli</i> izolasyonu		Numune sayısı	<i>E.coli</i> izolasyonu	
		(+)	(-)		(+)	(-)
Temmuz	56	10	46	59	15	44
Ağustos	193	37	156	60	13	47
Eylül	268	63	205	32	9	23
Ekim	251	73	178	70	36	34
Kasım	232	83	149	69	29	40
Aralık	136	34	102	43	37	6
Toplam	1136	300	836	333	139	194
Genel toplam	1469	439	1030			

TARTIŞMA

Membran filtrasyon sisteminin; sulardan izole edilen bakterilerin subkültürüne ve identifikasyonuna gerek duyulmadan 24 saat içerisinde sonuç veren, bir çok numunenin kolayca çalışılabildiği pratik ve tekrarlanabilir standart bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Evans ve ark.,1984, Rose ve ark., 1975, Evans ve ark.,1981, Mcfeters ve Stuart,1972, Green ve ark.,1977).

Su kaynaklarından ve atıklardan mikrobiyolojik inceleme yaparken birçok araştırmacı membran filtrasyon yöntemini kullanmış ve diğer yöntemlerle kıyaslamışlardır (Evans ve ark.,1984, Rose ve ark., 1975, Grabow ve Preez 1979, Dufour ve ark.,1981, Evans ve ark.,1981, Evans ve ark.,1981, Mcfeters ve Stuart 1972, Green ve ark.,1977).

Bu çalışmada, diğer çalışmalarla uyumlu olarak membran filtrasyon sistemi kullanılmış, ayrıca izole edilen *E.coli* suşlarının identifikasyonunda standart biyokimyasal testler kullanılmıştır. Bu sistemde, çok sayıda numune ile çalışılırken yöntemin pratik olduğu görülmüştür. İngiltere’de yapılan bir araştırmada, su kaynaklı gelişen infeksiyöz hastalıklarda etiyojik sebebin patojen *E.coli*’ler olduğu tesbit edilmiştir (Said ve ark.,2003). Aynı çalışmada, su kaynaklarından %42 oranında *E.coli* izole edilmiştir (Said ve ark.,2003). Bangladesh’de, infeksiyöz çocuk diyarelerinin içme sularından kaynaklandığı belirlenmiş, sulardan major patojen olarak; rota virus, enterotoksijenik *E.coli*, enteropatojenik *E.coli* ve *Campylobacter jejuni* identifiye edilmiştir (Albert ve ark.1999). Licence ve ark. (2001), yapmış oldukları araştırmada İskoçya’da su kökenli salgınlarda vakaların %52’sinden *Campylobacter sp.* izole ederken sadece bir vakada *E.coli* O157 suşunu tespit etmişlerdir. Payment ve ark. (1997), ise infeksiyöz gastroenteritlerde hastalığın en fazla fekal-oral-su yoluyla geliştiğine dikkat çekmişlerdir. Rusya’da içme su kaynaklarının mikrobiyolojik kalitesi üzerinde yapılan araştırmada, *E.coli*’ler fekal biyolojik indikatör olarak değerlendirilmiştir (Nedachin ve ark.,2005).

Bu çalışmada, araştırmacılarla (Said ve ark.,2003, Albert ve ark.,1999) uyumlu olarak önemli oranda *E.coli* (%30) izole edilmiştir. Bu araştırmada, mikrobiyolojik kalite yönünden incelenen sularda *E.coli* fekal indikatör olarak değerlendirilmiş, ancak diğer patojenler ve fekal-oral infeksiyon zinciri araştırılmamıştır. Çalışma sonuçlarına göre, numuneleri alınan su kaynaklarında infeksiyonlar açısından riskli düzeylerde fekal kontaminasyon tespit edilmiştir.

Çalışmada, membran filtrasyon yöntemi ile su kaynakları *E.coli* yönünden incelenmiş ve bu yöntemde, çok sayıda su numunesinin zamandan ve enerjiden tasarruf edilerek çalışılabildiği görülmüştür. Sonuç olarak, suların mikrobiyolojik niteliğinin takibinde membran filtrasyon sistemi kullanımının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Albert MJ, Faruque ASG, Faruque SM, Sack RB, Mahalanabis D, 1999. Case-control study of enteropathogens associated with childhood diarrhoea in Dhaka, Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 37 (11), 3458–3464.
- Dufour A, Strickland ER, Cabellit VJ, 1981. Membrane Filter Method for Enumerating *Escherichia coli*. *App. Environ. Microbiol.* 5, 1152-1158.
- Du X, Chun İ, Shen J, Wu B, Shen Z, 2004. Characterization of florfenicol resistance among calf pathogenic *Escherichia coli*. *FEMMS Microbiology Letters.* 236: 183-189.
- Edberg SC, Rice EW, Karlin RJ, Allen MJ, 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Symposium Series, Society for applied microbiology.* 29, 106-116.
- Edberg SC, Rice EW, Karlin RJ, Allen MJ, 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* 88, 106–116.
- Evans TM, Waarvick CE, Seidler RJ, Lechevallier MW, 1981. Coliform Species Recovered from Untreated Surface Water and Drinking Water by the Membrane Filter, Standard, and Modified Most-Probable-Number Techniquet. *App. Environ. Microbiol.* 41(3), 657-663.
- Evans TM, Waarvick CE, Seidler RJ, Lechevallier MW, 1981. Failure of the Most-Probable-Number Technique to Detect Coliforms in Drinking Water and Raw Water Suppliet. *App. Environ. Microbiol.* 41(1), 130-138.
- Evans TM, Seidler RJ, Lechevallier MW, 1981. Impact of Verification Media and Resuscitation on Accuracy of the Membrane Filter Total Coliform Enumeration Techniquet. *App. Environ. Microbiol.* 41(5), 1141-1151.
- Farmer J, 1999. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, (Eds). *Manuel of Clinical Microbiology.* ASM Pres., 442-459.
- Grabow EK, Preez M, 1979. Comparison of m-Endo LES, MacConkey, and Teepol Media for Membrane Filtration Counting of Total Coliform Bacteria in Water. *App. Environ. Microbiol.* 38 (3), 351-358.
- Green BL, Clausen EM, Litsky W, 1977. Two-Temperature Membrane Filter Method for Enumerating Fecal Coliform Bacteria from Chlorinated Effluents. *App. Environ. Microbiol.* 33(6), 1259-1264.
- Licence KR, Oates BA, Reid TMS, 2001. An outbreak of *E. coli* O157 infection with evidence of spread from animals to man through contamination of a private water supply. *Epidemiol. Infect.* 126, 135–138.

- Mcfeters GA, Stuart DG, 1972. Survival of Coliform Bacteria in Natural Waters: Field and Laboratory Studies with Membrane-Filter Chambers. *App. Environ. Microbiol.* 24(5), 805-811.
- Nedachin AE, Artemova TZ, Dmitrieva RA, Doskina TV, Talaeva IG, 2005. Problems of epidemic safety of drinking water use by the population of Russia. *Gig. Sanit.* 6, 14-8.
- Oğur R, Tekbaş ÖF, 2005. Temel Su Analiz Teknikleri. Aydın Matbacılık. Ankara, 32-40.
- Payment P, Siemiatycki J, Richardson L, Renaud G, Franco E, Prevost M, 1997. A prospective epidemiological study of gastrointestinal health effects due to the consumption of drinking water. *International Journal of Environmental Health Research.* 7(1), 5-31.
- Rose R, Geldreich E, Litsky W, 1975. Improved Membrane Filter Method for Fecal Coliform Analysis. *App. Environ. Microbiol.* 29(4), 532-536.
- Said B, Wright F, Nichols GL, Reacher M, Rutter M, (2003). Outbreaks of infectious disease associated with private drinking water supplies in England and Wales, 1970-2000. *Epidemiol. Infect.* 130(3), 469-479.
- Tobin RS, Lomax P, Kushner DJ, 1980. Comparison of Nine Brands of Membrane Filter and the Most-Probable-Number Methods for Total Coliform Enumeration in Sewage-Contaminated Drinking Water. *App. Environ. Microbiol.* 40(2), 186-191.
- World Health Organisation (WHO, 2004). Guidelines for Drinking-Water Quality (3rd ed), Geneva.