



Kanatlı Kesimi Aşamalarında *E. Coli* O157:H7 Varlığının IMS-PZR Yöntemleri ile İncelenmesi*

Ahmet GEÇER¹, Nurhan ERTAŞ ONMAZ¹✉

1. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
22.11.2017	30.03.2018	25.12.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Geçer A, Ertaş Onmaz N: Kanatlı Kesimi Aşamalarında *E. Coli* O157:H7 Varlığının IMS-PZR Yöntemleri ile İncelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13 (3): 285-292, 2018. DOI:10.17094/ataunivbd.356910

Öz: Bu çalışma, Samsun ilinde kanatlı kesim aşamalarından toplanan farklı örneklerde *Escherichia coli* (*E. coli*) O157: H7 prevalansını araştırmak ve virülans genlerini (*stx1* ve *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA*) belirlemek amacıyla yapıldı. Bu amaçla, 40 iç organ, 40 bağırsak içeriği, 20 haşlama tank suyu ve kanatlı kesimhanesinin farklı birimlerinden (tüy yolma makinesi, kesme tahtası, iç organ çıkarma ünitesi ve personel eli ve 40 broiler karkas örneği) alınan 100 swap örneği analiz edildi. Tüm örnekler, novobiosin içeren selektif modifiye Tryptic Soy Broth (mTSB+N)'da ön zenginleştirmenin ardından immünomanyetik seperasyon (IMS) ve Cefixim – Tellurite'li CHROM agara ekilmesi yoluyla *E. coli* O157: H7 açısından analiz edildi. Şüpheli koloniler O157 ve H7 antiserumları ile incelendi. *rfbO₁₅₇*, *fliC_{H7}*, *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genlerinin varlığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile belirlendi. Çalışmada, 2 (%1) bağırsak içeriği örneğinden *E. coli* O157 identifiye edilmesine karşın, H7 tespit edilemedi. Her iki izolata da *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* geni içerdiği tespit edildi. Bu çalışma sonucunda, broiler bağırsak içeriğinde düşük oranda tespit edilen *E. coli* O157: H7 izolatların hepsinin anılan toksin genlerini içermesinden dolayı insan sağlığı için önemli bir tehlike oluşturabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Broiler, *Escherichia coli* O157: H7, Kesimhane, Kontaminasyon.

Investigation of *Escherichia coli* O157:H7 By IMS-PCR Techniques in Poultry Slaughtering Stages

Abstract: The present study was conducted to investigate the prevalence of *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 and to determine its virulence genes (*stx1* and *stx2*, *eaeA* and *ehlyA*) in different samples collected from a poultry cutting stages in Samsun province, Turkey. For this purpose, 40 viscera, 40 intestinal content, 20 scalding tank water and 100 swap samples taken from various poultry processing units (plucking machine, cutting board, removing unit of intestinal organs and personnel hands and broiler carcass) were analysed. All samples were analyzed for the isolation of *E. coli* O157:H7 through pre-enrichment in modified tryptone soy broth supplemented with novobiocin (mTSB+N) followed by immunomagnetic separation (IMS) and selective plating on CHROM agar with Cefixim – Tellurite. Presumptive *E. coli* O157:H7 isolates were tested with anti-O157 and H7 antisera. Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed on isolates for the detection of *rfbO₁₅₇*, *fliC_{H7}*, *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes. In this study, two intestinal content (1%) isolates were identified as *E. coli* O157 while were found negative for H7. Both isolates contained *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA* genes. As a result of this study, it was concluded that *E. coli* O157 isolates detected at low levels in the broiler intestinal contents might constitute a significant hazard for human health due to the presence of toxin genes.

Keywords: Broiler, Contamination, *Escherichia coli* O157:H7, Slaughterhouse.

✉ Nurhan ERTAŞ ONMAZ

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni, Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

e-posta: nertas@erciyes.edu.tr

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL- TYL-2015-5810 kodlu proje ile desteklenen Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan kanatlı eti, besinsel kompozisyonu nedeniyle patojen ve apatojen mikroorganizmaların üremesi için oldukça uygun bir ortam oluşturmaktadır. Tavuk etlerine bulaşan patojen mikroorganizmalar ve/veya toksinleri, bu ürünlerin tüketilmesi ile insanlara geçebilmekte ve çeşitli enfeksiyonlara veya intoksikasyonlara neden olabilmektedir (1,2).

Escherichia coli (*E. coli*), kanatlılarda enfeksiyonlara neden olan etkenler arasında en çok izole edilenlerden biridir. Kanatlılardan genellikle, sadece kuşlar için patojen olan ancak insanlar için olmayan Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) suşunun izole edildiği bildirilmiştir (3,4). Kanatlıların insanlarda önemli enfeksiyonlara neden olan *E. coli* O157:H7 serotipine de oldukça duyarlı oldukları belirtilmektedir. Etken, kanatlıların kesimhanelere uygun olmayan koşullarda taşınması, yanlış kesim teknikleri, haşlama, tüy yolma ve soğutma aşamalarında meydana gelen çapraz kontaminasyonlarla karkas yüzeyinin tamamına yayılabilir (5,6). Bunların dışında kesimhanedeki alet ve ekipman, personel ve ürün ile temas eden yüzeyler de kontaminasyon kaynaklarıdır (7). *E. coli* O157:H7 serotipleri insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan virulans faktörlerini içerirler. Bu faktörlerden en önemlileri şigatoksinerler, hemolizin, intimin ve pO157 plazmidir. Ayrıca ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1) ve serinproteazlar da diğer virulans faktörleridir (8,9).

Shiga-benzeri toksinler (STX-1 ve STX-2); hemorajik kolitisi (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ile trombotik trombotik purpura (TTP) gibi semptomların ortaya çıkmasına neden olmaktadır ve *stx1* ve *stx2* genleri tarafından kodlanırlar (8,9). HUS görülen hastalardan genelde, böbrek endothelial hücrelerine daha fazla toksik olan STX-2 izole edilmektedir (9).

Barsak epitel hücrelerine yığılmayı sağlayan ve *eaeA* geni tarafından kodlanan intimin intestinal lezyonlara sebep olurken, *ehlyA* geni tarafından kodlanan enterohemolizin eritrositleri lize ederek

barsakta bakterinin canlı kalması için gerekli olan demir ihtiyacını karşılamaktadır (8,9).

Bu çalışmada; Samsun ilindeki bir broiler kesimhanesinde, tavuk etinin çapraz kontaminasyonunda önemli rolü olan haşlama tank suyu, tüy yolma makinesi, iç organlar, parçalama tahtası yüzeyi, iç organ çıkarma ünitesi, personel eli, broiler bağırsak içeriği ve karkas örneklerinde halk sağlığı açısından önemli bir patojen olan *E. coli* O157:H7 varlığını araştırmak amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Örnekler: Çalışmada, Ocak-Mayıs 2014 tarihleri arasında Samsun ilinde faaliyette bulunan kanatlı hayvan kesimhanesine 2'şer haftalık periyotlarla toplamda 10 kez yapılan ziyaretlerin her birinde 20'şer adet olmak üzere toplam 200 adet örnek materyal olarak kullanıldı (Tablo 1). Kesimhaneden her iki haftada bir 4 adet olmak üzere toplam 40 adet broiler karkas örneği, yine aynı kesimhanede her iki haftada bir 4 adet olmak üzere 40 adet tüm barsak (duodenum ve kloaka arası) örneği alındı. Kesim prosesinin farklı aşamalarından (20 tüy yolma makinesi, 10 kesme tahtası yüzeyi, 10 iç organ çıkarma ünitesi 20 personel eli, 40 broiler karkas örneği) 100 svap örneği temin edildi.

Tablo 1. Kesimhaneden alınan örnek çeşitleri ve sayıları

Table 1. Sample types and numbers taken from slaughterhouse.

Örnek	Sayı
Haşlama kazanı girişi su örneği	10
Haşlama kazanı çıkışı su örneği	10
Tüy yolma makinesi	20
İç organlar	40
Bağırsak içeriği	40
İç organ çıkarılma ünitesi	10
Kesme tahtası	10
Karkas	40
Personel	20
Toplam	200

Sıvap örnekleri kesme tahtası yüzeyleri ve iç organ çıkarma ünitesi, tüy yolma makinelerindeki plastik materyalden yapılmış parmakçıklardan, broiler karkas ve personelden alındı.

Karkastan örnekleme için, 25 mililitre % 0.1'lik steril peptonlu su ile nemlendirilen steril süngerler ve steril bir kalıp (13 × 10 × 0.25 cm) kullanıldı. Karkasın sol kanadı ve sol uyluğu arasındaki yüzeye kalıp sıkıca tutturularak nemli sünger ile 10 horizontal ve 10 vertikal sürtme hareketi ile yüzeye eşit basınç uygulamaya dikkat edilerek örneklendi (10).

Tahta ve içorgan çıkarma ünitesi yüzeyleri ve tüy yolma makinesinde örnekleme yüzeyini sınırlandırmak için 15 cm²'lik steril bir kalıp kullanıldı. Örnekleme 10 mL %0.1'lik steril peptonlu su içinde önceden nemlendirilmiş steril sıvaplar ile üç ayrı yöne

üç kez sürülerek yapıldı (10). Kesimhanede çalışan personelden sıvap örnekleri, çalışma saatleri boyunca tek bir ziyarette önceden bildirim yapılmaksızın toplandı. Elde sürüntü örnekleri, %0.1'lik peptonlu suda nemlendirilmiş steril sıvaplar kullanılarak iççilerin avuç içlerine ve parmaklara sürülerek toplandı (11).

Kesimi takiben aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara transfer edildi ve 1-2 saat içerisinde *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden analiz edildi.

Referans Suş: *E. coli* NCTC 12900 ve *E. coli* RHFS 232 referans suşları çalışmanın her aşamasında pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Primerler: Çalışma kapsamında kullanılan primer dizileri Tablo 2.'de belirtilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan virulans genleri ve primer dizilimleri.
Table 2. Virulence genes and primer sequences used in the study.

Çalışmada Kullanılan Primerlerin Dizilimi	Gen Bölgesi	Virulans Genin Adı	Amplikon Büyüklüğü (bp)
P8-F CGTGATGATGTTGAGTTG P8-R AGATTGGTTGGCATTACTG	<i>rfbO157</i>	O157	420
FLICH7-F GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC FLICH7-R CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC	<i>fliC_{H7}</i>	H7	625
SLT1-F TGTAAGTGGAAAGGTGGAGTATACA SLT1-R GCTATTCTGAGTCAACGAAAAATAAC	<i>Stx1</i>	Verocytotoxin1	210
SLTII-F GTTTTCTTCGGTATCCTATTCC SLTII-R GATGCATCTCTGGTCATTGTATTAC	<i>Stx2</i>	Verocytotoxin 2	484
AE-F ATTACCATCCACACAGACGGT AE-R ACAGCGTGGTTGGATCAACCT	<i>eaeA</i>	Intimin	397
MFS1-F ACGATGTGGTTTATTCTGGA MFS1-R CTTCACGTCACCATACATAT	<i>ehlyA</i>	Enterohemolysin	166

E. coli O157:H7 İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Ön Zenginleştirme ve İmmunomanyetik separasyon (IMS)

Çalışmada, karkas yüzeyinden 25mL tamponlanmış peptonlu su ile nemlendirilen süngerlerle alınan örnekler, haşlama kazanından alınan 25 mL su ve iç organlardan alınan 25 g örneklere 225 mL, 20 mg/L novobiocin içeren mTSB ilave edilerek 2 dk süreyle homojenize edildi. Aynı şekilde kesimhaneden alınan sıvap örnekleri 10 mL mTSB+N içine konularak 37°C'de 16-18 saat inkübe

edildi (12). Ön zenginleştirme işlemine tabi tutulan numuneler, Dynabeads anti-*E. coli* O157 (Dynabeads anti-*E. coli* O157, Dynal, İngiltere) kullanılarak üretici firma tarafından bildirilen yöntemle göre IMS'ye tabi tutulduktan sonra O157 Dynabead ve bakteri kompleksinden 50 µL alınarak Cefixim - Tellurite (CT) içeren CHROM agar'a ekildi ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda şüpheli kolonilere pozitif kontrol eşliğinde O157 ve H7 antiserumları (SSI, Danimarka) ile aglütinasyon testleri yapıldı (12).

fliC_{H7} ve *rfbO157* Geninin PZR ile Belirlenmesi

GF-1 (Vivantis, ABD) bakteri ekstraksiyon kit protokolüne göre elde edilen bakteri DNA'sında, *fliC_{H7}* geninin belirlenmesi için, final konsantrasyonu 50 µL olacak şekilde reaksiyon karışımı 5 µL DNA örneği, 5 µL 10 X PZR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 400 µM dNTPs, 0.5 µM her bir *fliC_{H7}* primerinden ve 1.5 U Taq polymerase'dan oluşturuldu. 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 ve 72 °C'de 10 dk son uzatma işlemi gerçekleştirildi (13). *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. Son uzatma işlemi 72 °C'de 5 dk gerçekleştirildi (14).

Multipleks PZR ile Virulans Faktörlerin Belirlenmesi

Çalışmada elde edilen izolatlar, *E. coli* O157:H7 serotipinde bulunabilecek virulans faktörlerine ait gen bölgeleri (*stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hlyA*) açısından spesifik primerler (Tablo 2) kullanılarak analiz edildi (13). PZR reaksiyon karışımı, final volümü 50 µL olacak şekilde 5 µL DNA örneği, 5 µL 10 X PZR buffer, 3 mM MgCl₂, 400 µM dNTPs, her bir primerden 0.5 µM ve 1.5 U Taq polymerase olacak şekilde hazırlandı. PZR, 94 °C'de 2 dk ön denatürasyondan sonra 36 siklus olarak 94 °C'de 20 s, 54 °C'de 1 dk ve 72 °C'de 1dk olarak gerçekleştirildi ve son uzatma 72 °C'de 10 dakika olarak tamamlandı (13). Çalışmada, elde edilen ampliconlar % 1.5'luk agaroz jelde elektroforeze (EC250-90; Thermo, Pittsburgh, PA, ABD) tabi tutuldu ve sonuçlar jel dokümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat, Marne La Vallee, Fransa) görüntülendi (13, 14).

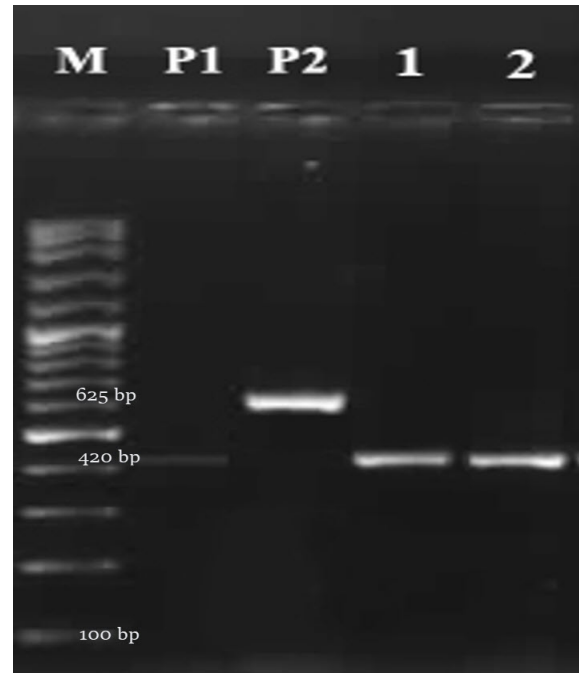
BULGULAR

Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları: Çalışmada fenotipik testler sonucunda incelenen örneklerin 18'i (%9) *E. coli* O157:H7 şüpheli pozitif olarak

değerlendirildi. İzolatların 4'ünün (%22.2) karkasa, 2'sinin (%11.1) personele, 4'ünün (%22.2) iç organlara, 3'ünün (%16.6) haşlama tank suyu ve 5'inin (%27.7) bağırsak içeriğine ait olduğu belirlendi. O ve H antiserumu ile yapılan lateks aglütinasyon testi sonucunda 18 pozitif örnekten sadece 2'sinin O157 antijeni yönünden pozitif olduğu ve örneklerin tamamının H7 antijeni açısından negatif olduğu saptandı.

Moleküler Analiz Sonuçları

PZR analizi sonucunda serolojik testlere paralel olarak incelenen örneklerin sadece 2'inde (%1) *rfbO157* geni tespit edilirken *fliC_{H7}* genine rastlanılmadı. *E. coli* O157 olarak tanımlanan 2 izolatın bağırsak içeriğine ait olduğu belirlendi (Şekil 1) ve bu 2 izolatta *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *ehlyA* genleri belirlendi (Tablo 3, Şekil 2).



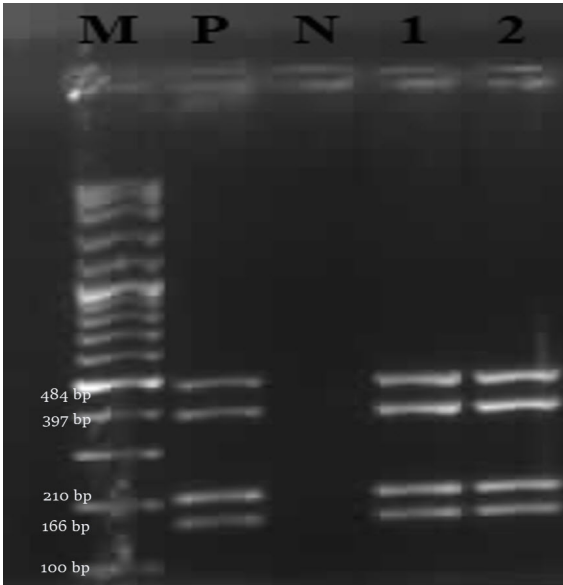
Şekil 1. *fliCh7* ve *rfbO157* genleri için PZR sonuçları; M: Marker (100bp), P1: Pozitif kontrol (O157: 420 bp), P2: Pozitif kontrol (H7: 625 bp), 1-2 Nolu bandlar: *E. coli* O157 (bağırsak içerik numunesi).

Figure 1. PCR results for *fliCh7* and *rfbO157* genes; M: Marker (100bp), P1: Positive control (O157: 420 bp), P2: Positive control (H7: 625 bp), Line 1-2: *E. coli* O157 (intestinal content sample).

Tablo 3 Örneklerden izole edilen *E. coli*.**Table 3.** *E. coli* isolated from samples.

Örnek	Örnek sayısı	Fenotipik test sonucunda <i>E. coli</i> O157:H7 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>
Karkas	40	4 (22.2)	-	-	-	-	+	+	+	+
İç organ çıkarılma ünitesi	10	-	-	-	-	-				
Kesme tahtası	10	-	-	-	-	-				
İç organ	40	4 (22.2)	-	-	-	-				
Haşlama suyu	20	3 (16.6)								
Tüy yolma makinası	20									
Bağırsak içeriği	40	5 (27.7)	2 (5)	-	2 (5)	-	+	+	+	+
Personel eli	20	2 (11.1)	-	-	-	-				
Toplam	200	18 (9)	2(1)	-	2(1)	-				

O157:H7 serotipi dağılımı.



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

Figure 2 Demonstration of virulence genes as a result of PCR; M: Marker (100bp), P1: Positive control (*ehlyA*; 166 bp, *stx1*:210 bp, *eaeA*:397bp *stx2*: 484), Line 1-2: positive samples (*stx1*, *stx2*, *eaeA* and *ehlyA*)

TARTIŞMA ve SONUÇ

E. coli O157:H7 serotipinin insanlara taşınmasında sığırlar önemli bir rezervuar olmasına rağmen, son dönemlerde yapılan bazı çalışmalar kanatlı ve ürünlerinin de etkenin taşınmasında önemli rol oynadığını göstermiştir (9,15,16). Gıdalarla alınan etkenin çok düşük sayılarda (10-100 hücre) bile hastalık oluşturabileceği bildirilmiştir (17). Bu durum halk sağlığı açısından *E. coli* O157: H7'nin önemini göstermektedir.

Bu çalışmada incelenen örneklerden 2 bağırsak içeriğinde (%1) *E. coli* O157 tespit edildi. Bu çalışma sonuçlarından farklı olarak, Heuvelink ve ark. (18), Jo ve ark. (19), Kalın ve ark. (20), ve Abay ve ark. (21) inceledikleri broiler dışkı örneklerinin hiçbirinde etkeni tespit edememişlerdir.

Raji ve ark. (22) 120 tavuk bağırsak içeriğinin 11 (%9.6)'inde, Sekmen ve Kaya (23) inceledikleri broiler kloakal svab örneğinin 32 (%6.40)'sinde *E. coli*

O157:H7 identifiye etmişlerdir. Yine, Tabatabaei ve ark. (24) 350 broiler dışkı örneğinin 14 (%4)'ünde, shiga toxigenic *E. coli* (STEC) tespit etmişlerdir.

Bu çalışma sonucu ve kanatlı dışkısından *E. coli* O157:H7 izole edilen diğer çalışma sonuçları (22-24) etkenin sekumda kolonize olup uzun süre boyunca dışkıyla saçılacağı ve kontaminasyonlara neden olabileceğini göstermektedir. Beery ve ark. (25)'nin civcivlerin oral yolla etken ile kontaminasyondan 5 ay sonrasında kadar dışkılarında 10^8 kob/g civarında *E. coli* O157:H7 serotipinin bulunduğunu bildirmeleri de kanatlıların bu etken yönünden rezervuar olarak dikkate alınmaları gerektiğini göstermektedir.

Bu çalışmada, kesimhanedeki karkas örneklerinin hiçbirinden etken izole edilmemiştir. Benzer şekilde, Abay ve ark (21), Baran ve Gülmez (26) Kalın ve ark (20) ve Balpetek (27) inceledikleri kanatlı karkas sıvap örneklerinin hiç birisinin *E. coli* O157 ile kontamine olmadığını bildirmişlerdir. Fakat, Doyle ve Schoeni (15), Akkaya ve ark. (28) ve Olatoye ve ark. (29) inceledikleri tavuk eti örneklerinin sırası ile 4 (%1.52), 2(%1.05), 58 (%14.5)'ünde *E. coli*O157:H7 izole etmişlerdir. Sonuçlardaki farklılıklar *E. coli* suşlarındaki serotipik dağılımın bölgesel ve ülkesel olarak değişebilmesi (22,24,30) ve kullanılan farklı izolasyon metotları, örnekleme metodundaki farklılıklar (12,30) ve hayvanların kesimi esnasındaki hijyenik koşullara bağlanabilir.

Bu çalışmada, izole edilen *E. coli* O157 serotiplerinin her birinin *stx1*, *stx2*, *eaeA* ve *hlyA* genlerinin hepsini içerdiği belirlendi. Bu genlerin bir örnekte kombine bir şekilde bulunması, genellikle hayli güçlü bir virulent genetik karışımı olarak kabul edilir (31). Ayrıca incelenen izolatlarda *stx1* ve *stx2* geninin bulunması HUS açısından önemlidir. Çünkü *stx1* ve *stx2* toksinini üreten suşların HUS oluşumunda daha etkin rol aldığı belirtilmiştir (8,32).

Sonuç olarak, bu çalışmada Samsun ilindeki bir kanatlı kesimhanesinde kesilen broilere ait dışkı örneklerinin %1'inde *E. coli* O157 kontaminasyonu belirlenmiştir. Bununla birlikte, elde edilen izolatların hepsinde *aeA* ve *ehlyA*, *stx1* ve *stx2* genlerini birlikte içermeleri göz önüne alındığında bu ilde

kesilen kanatlıların insanlarda HUS, HC, TTP gibi şiddetli enfeksiyon ve bazen de ölümlere neden olan patojenik *E. coli* O157 serotipi için önemli bir rezervuar olduklarını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Adu-Gyamfi A., Torgby-Tetteh W., Appiah V., 2012. Microbiological quality of chicken sold in accra and determination of D10-value of *E. coli*. *Food Nutr Sci*, 3, 693-698.
2. Alvarez-Astorga M., Capita R., Alonso-Calleja C., Moreno B., Garcia-Fernandez MC., 2002. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Meat Sci*, 62, 45-50.
3. Caya F., Fairbrother JM., Lessard L., Quessy S., 1999. Characterization of the risk to human health of pathogenic *Escherichia coli* isolates from chicken carcasses. *J Food Prot*, 62, 741-746.
4. Amara A., Badoum M., Faid M., Bouzoubaa K., 2002. Microbial contamination of poultry slaughtered in traditional shops in Morocco. *Microbiol Aliments Nutr*, 1994, 12, 323-327.
5. Tonbak F., Atasever M., Çalıcıoğlu M. 2017. Kanatlı etlerinde salmonella riski. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 12, 90-98.
6. Abdissa R., Haile W., Fite AT., Beyi AF., Agga GE., Edao BM., Tadesse F., Korsa MG., Beyene T., Beyene TJ., De Zutter L., Cox E., Goddeeris BM., 2017. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle at slaughter and beef carcasses at retail shops in Ethiopia. *BMC Infect Dis*, 17, 277-283.
7. Gill CO., Jones T. 2002. Effects of wearing knitted or rubber gloves on the transfer of *Escherichia coli* between hands and meat. *J Food Prot*, 65, 1045-1048.
8. Posse 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.
9. Guran HS., Vural A., Erkan ME., Durmusoglu H., 2017. Prevalence and some virulence genes of *Escherichia coli* O157 isolated from chicken meats and giblets. *Ann Anim Sci*, 17, 555-563.
10. Sweum WH., Moberg LJ., Rude RA., Frank JF., 1992. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: "Compendium of methods for the microbiological examination of foods", Eds., C Vanderzant, DF Splittstoesser, 3rd ed., 51-74, American Public Health Association, D.C. Washington.
11. Okareh OT., Erhahon OO., 2015. Microbiological assessment of food and hand-swabs samples of school food vendors in Benin City, Nigeria. *Food and Public Health*, 5, 23-28.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Doyle MP., Schoeni JL., 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol*, 53, 2394-2396.
16. Hızlısoy H., Al S., Onmaz NE., Yıldırım Y., Gönülalan Z., Gümüşsoy KS., 2017. Antimicrobial resistance profiles and virulence factors of *Escherichia coli* O157 collected from a poultry processing plant. *Turk J Vet Anim Sci*, 41, 65-71.
17. Hessain AM., Al-Arfaj AA., Zakri AM., El-Jakee JK., Al-Zogibi OG., Hemeg HA., İbrahim IM., 2015. Molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 recovered from meat and meat products relevant to human health in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci*, 22, 725-729.

18. Heuvelink AE., Zwartkruis-Nahuis JT., Van den Biggelaar FL., Van Leeuwen WJ., De Boer E., 1999. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int J Food Microbiol*, 52, 67-75.
19. Jo MY., Kim JH., Lim JH., Kang MY., Koh HB., Park YH., Yoon DY., Chae JS., Eo SK., Lee JH., 2004. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157 from major food animals in Korea. *Int J Food Microbiol*, 95, 41-49.
20. Kalin R., Öngör H., Çetinkaya B., 2012. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 from broiler and human samples. *Foodborne Paht Dis*, 9, 313-318.
21. Abay S., Aydın F., Ertaş N., Hizlisoy H., Erdoğan S., Gönülalan Z., 2014. Kanatlılardan *Escherichia coli* O157 izolasyonu üzerine çalışmalar. *Erc Univ Vet Fak Derg*, 11, 1-6.
22. Raji MA., Minga UM., Machang'u RS., 2006. Prevalence and characterization of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 isolated from local chicken in Morogoro, Tanzania. *J Anim Vet Advan*, 5, 952-958.
23. Sekmen SGD., Kaya O., 2010. Broiler piliçlerden *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 37, 19-31.
24. Tabatabaei M., Mokarizade A., Foad-Marashi N., 2011. Detection and molecular characterization of sorbitol negative shiga toxigenic *Escherichia coli* in chicken from northwest of Iran. *Vet Res Forum*, 2, 183-188.
25. Beery JT., Doyle MP., Schoeni JL., 1985. Colonization of chicken caeca by *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol*, 49, 310-315.
26. Baran F., Gülmez M., 2003. The occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in the ground beef and chicken drum sticks. *Internet J Food Safety*, 2, 13-15.
27. Balpetek D., Gürbüz Ü., 2010. Bazı et ürünlerinde *E. coli* O157:H7 varlığının araştırılması. *Eurasian J Vet Sci*, 26, 25-31.
28. Akkaya L., Atabay HI., Kenar B., Alisarlı M., 2006. Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 on chicken carcasses sold in Turkey. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50, 513-516.
29. Olatoye IO., Amosun EA., Ogundipe GA., 2012. Multidrug resistant *Escherichia coli* O157 contamination of beef and chicken in municipal Abattoirs of Southwest Nigeria. *Nat Sci*, 10, 125-132.
30. Ojo OE., Ajuwape ATP., Otesile EB., Owoade AA., Oyekunle MA., Adetosoye Al., 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.
31. Murinda SE., Nguyen LT., Landers TL., Draughon A., Mathew AG., Hogan JS., Smith LK., Hancock DD., Oliver SP., 2004. Comparison of *Escherichia coli* isolates from humans, food, and farm and companion animals for presence of shiga toxin-producing *E. coli* virulence markers. *Foodborne Pathog Dis*, 1, 181-184.
32. Etcheverria AI., Padola NL., Sanz ME., Polifroni R., Krüger A., Passucci J., Rodriguez 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.