

**KAYSERİ YÖRESİNDE SÜT SIĞIRLARINDA ESCHERICHIA COLI  
O157:H7'NİN KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI\***  
**Investigation with Conventional and Molecular Method of *Escherichia Coli*  
O157:H7 in Dairy Cattle in Kayseri Region**

**Fuat AYDIN<sup>1</sup>, Tuba İÇA<sup>2</sup>, Ayşegül YONTAR<sup>3</sup>**

**Özet:** Bu çalışmada, Kayseri ili ve ilçelerindeki kamu ve özel sektöre ait süt işletmelerindeki çeşitli yaş gruplarındaki sağlıklı hayvanların dışkı ve sütlerinde *E. coli* O157:H7'nin varlığının saptanması ve hayvansal risk faktörlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla çeşitli ilçelerden toplanan 500 adet dışkı ve 500 adet süt örnekleri çalışmada materyal olarak kullanıldı. Immuno Magnetik Seperasyon ve ardından Chorom agar ve Sorbitol MacConkey (SMAC) agara ekim yapıldı. Bu besiyerlerinde üreyen şüpheli koloniler seçildi ve bunlar serolojik yönden H ve O agglütinasyon testi ile incelendi. Moleküler yönden ise şüpheli izolatlar multipleks PCR (mPCR) ve unipleks PCR (uPCR) teknikleri ile incelendi. Bu işlemleri sonucunda 500 süt örneğinden 1 (% 2)'inde ve 500 dışkı örneğinden 6 (% 4,6)'sında O157:NM suşu tespit edilmiş olup örneklerin hiçbirinde flagella H antijenine rastlanmadı. Dışkıdan izole edilen O157:NM suşlarına yapılan mPCR' da bir örnekte Enterohemolysine genine (Ehly A) rastlanırken, 1 örnekte yalnızca Sitotoksin 2 (stx2) geni tespit edildi. Diğer dışkı örneklerinde virülens genlerinden hiçbirisine rastlanmadı. Süttten izole edilen bir adet O157:NM suşunda ise virülens genlerinden hiçbirisine rastlanmadı.

Sonuç olarak, Kayseri ili ve ilçelerindeki işletmelerdeki süt sığırlarının dışkısında ve sütlerinde *E. coli* O157 belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7 tespit edilmemiştir. Belirlenen kontaminasyon oranının düşük düzeylerde olduğunu, bununla birlikte Kayseri ilinde hijyen kurallarına dikkat edilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler :** Sığır dışkısı, çiğ süt, *E. coli* O157:H7, IMS, PCR

**Summary:** The objective of the present study is to investigate the animal risk factors related to the presence of *E. coli* O157:H7 in feces and milk samples collected from healthy cattle at differing ages in private and government dairy farms in Kayseri and its vicinity.

Five hundred fecal samples and 500 raw milk samples were collected from different locations in Kayseri, processed through immune Magnetic Separation, and inoculated Chorom medium and Sorbitol MacConkey medium. Suspicious colonies were selected from this medium, and they were examined serologically with H and O agglutination test. The molecular direction suspicious isolates were examined using multiplex with PCR (mPCR) and uniplex PCR (uPCR) techniques. The examination showed that only 1 (2 %) out of 500 raw milk samples and only 6 (4.6%) out of 500 fecal samples contained O157:NM strain, and none of the samples contained flagella H antigen. Through using mPCR, only one sample from O157:NM of isolated fecal samples contained Ehly A, whereas only one sample contained stx2 genes. None of the other fecal samples contained any virulence genes. Only one raw milk sample isolated from O157:NM strain did not have any virulence genes.

In conclusion, the raw milk and fecal samples collected from dairy farms in Kayseri region and its vicinity contain *E. coli* O157. Low levels of contamination rate was determined in the samples. However, it was concluded that due attention should be paid to hygiene rules in Kayseri.

**Keywords:** Cattle feces, raw milk, *E. coli* O157:H7, IMS, PCR

<sup>1</sup> Prof.Dr.Erciyes Ün.Vet.Fak.Mikrobiyoloji AD, Kayseri

<sup>2</sup> Yrd.Doç.Dr.Dumlupınar Ün.Fen-Ed.Fak. Kütahya

<sup>3</sup> Uzman Dr.Erc.Ün.Sağlık Bil.Ens.Vet.Mik.AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 29.12.2009 Kabul Tarihi : 01.12.2010

**\*Aynı adlı Doktora tezinden özetlenen bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBT-06-24 nolu proje ile desteklenmiştir.**

*E.coli*'ler Enterobacteriaceae ailesine bağlı Gram negatif bakterilerdir. Bu bakteriler evcil ve yabani hayvanların normal bağırsak florasında bulunmalarına karşın bazı türleri patojenik özellikler göstermektedir. *E.coli*'ler sahip oldukları patojenite mekanizmaları, ürettikleri toksin tipleri, neden oldukları klinik sendromlar, epidemiyolojileri ve O:H antijenlerine göre; Enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvazif (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difüz-adhering (DAEC), enteroagregatif (EAaggEC) olmak üzere altı ana grup altında toplanmaktadır (1- 3).

İlk *E.coli* O157:H7 salgınının yeterince ısı işlemine tabi tutulmamış sığır et ve süt ürünlerinin tüketilmesi sonucu gerçekleştiği bildirilmektedir (4). Bu laşma infekte sığır dışkıları ile kontamine gıdaların oral yolla tüketilmesi sonucu ve rezervuar sığırlara direkt temas yoluyla gerçekleşmektedir. Hastalık prevalansında, yaz aylarında ve sonbahar başlangıcında artış gözlemlendiği bildirilmektedir. *E.coli* O157:H7 için diğer rezervuar hayvanlar, koyun, keçi yabani geyikler, domuzlar ve kuşlardır. *E.coli* O157:H7'nin sığırlarda patojenik bir özellik gösterip göstermediğine ilişkin yeterli veri bulunmamakta ve adı geçen hayvanlar yalnızca rezervuar olarak kabul edilmektedirler (1, 3, 5).

EHEC'lere son yıllarda gıda kaynaklı infeksiyonlarda sıklıkla rastlanmaktadır. EHEC'ler içerisinde en önemli serotip, zoonoz olması açısından *E. coli* O157:H7 dir. Bu serotip insanlarda Hemolitik Üremik Sendrom (HUS), Trombotik Trombositopenik Purpura ve Hemorojik Kolitise neden olmaktadır (3).

Etkenin ortaya konmasında materyal olarak insanlarda dışkı, rezervuar hayvanlarda ise dışkıyla birlikte hayvansal ürünler kullanılmaktadır. Bu materyallerden bakterinin izolasyonu amacı ile İmmüno-manyetik Separasyon (IMS) işlemi uygulanmaktadır (6,7, 8). *E.coli* O157 çeşitli biyokimyasal ve

serolojik testler ile kesin olarak tanımlanmaktadır. Bu amaçla içerisinde CT (Cefixime Tellurite) supplement bulunan sorbitollü MacConkey Agar (CT-SMAC) ve CHROMagar O157 kullanılmaktadır. Aynı zamanda O157 ve H7 antiserumları ile de serolojik olarak doğrulanmakta ve verotoksin üretimleri de incelenebilmektedir (9).

Son yıllarda hızlı ve güvenilir moleküler tanı yöntemleri ile *E.coli* O157:H7'nin çeşitli gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak şüpheli bakteri DNA'ları Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile teşhis edilebilmektedir. Bu amaçla *rfb*O157 (O157 lipopolisakarit), *fliC* (H7 flagella) gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak etken tanımlanmaktadır. Ayrıca *aeaA*, *ehyA*, *Stx1*, *Stx2* gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak etkenin virülens genleri de (intimin, enterohemolizin, verotoksin 1 ve 2) saptanabilmekte ve etkenin hastalık oluşturma gücü incelenebilmektedir (3, 5, 6, 8,10).

Bu çalışmada, Kayseri ili ve ilçelerindeki kamu ve özel sektöre ait süt işletmelerindeki çeşitli yaş gruplarındaki sağlıklı hayvanların dışkı ve sütlerinde *E. coli* O157:H7'nin varlığının saptanması ve hayvansal risk faktörlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Numuneler:**Çalışmada, Kayseri'nin ilçe kamu ve özel sektöre ait süt sığır yetiştiriciliği yapılan 12 işletmeye ait sağlıklı sığırlardan bir yıllık süre içinde 500 adet dışkı ve 500 adet süt örnekleri toplandı

**Referans suş:** İzolasyon ve identifikasyon çalışmalarının her aşamasında kullanılan *E.coli* O157:H7 (RHFS 232) kontrol suşu Refik Saydam Hıfzısıhha Entitüsü'nden temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan primerler Tablo I'de belirtilmektedir.

**Tablo I.** *E.coli* O157:H7 suşlarının m-PCR ve u-PCR'ında kullanılan primerlerin dizilimi (Inregrated DNA Technologies Inc. IDT, USA)

Çalışmada kullanılacak olan primer dizileri (5'-3')	Gen bölgesi	Virulens gen adı	Amplikon büyüklüğü (bp)
PF8 CGTGATGATGTTGAGTTG PR8 AGATTGGTTGGCATTACTG	rfbO157	LPS O157	420
Int Fc CCGGAATTCGGGATCGATTACCGTCAT Int Rc CCAAAGCTTTATTTAATCAGCCTTAATCTC	eaeA	İntimin	840
hly AF GCATCATCAAGCGTACGTTCC hly AR AATGAGCCAAGCTGGTTAAAGC	ehlyA	Enterohemolysin	534
LP 30 CAGTTAATGTCGTGGCGAAGG LP31 CACCAGACAATGTAACCGCTG	Stx 1	Verocytotoxin 1	348
LP43 ATCCTATTCCC GGGAGTTTACG LP44 GCGTCATCGTATACACAGGAGC	Stx 2	Verocytotoxin 2	584
H7 GCGCTGTTCGAGTTCTATCGAGC H7 CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC	fliC	H7	625

### Ön zenginleştirme ve İmmunomanyetik Separasyon

Alınan numuneler 20 mg/l novobiocinli TSB içerisine koyularak soğuk zincir altında laboratuara getirildi ve 37 °C 'de 6-18 saat inkübe edilerek ön zenginleştirmeye tabi tutuldu. İnkubasyon sonrasında immunomanyetik seperasyon işlemine geçildi. Immunomanyetik separasyon işlemi için dynabeads anti *E.coli* O157 boncukları kullanıldı (6). Immunomanyetik separasyon işleminden sonra sonra O157 Dynabead ve bakteri kompleksi içeren örneklerden 50 µl alınarak CT-SMAC agar ve CHROM agara ekildi ve 37 °C de 18-24 saat inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda sorbitolu fermente etmeyen pembe ve beyaz renkli kolonilere indol testi uygulandı. Pozitif kültürlerde O157 serogrubunun tanımlanması için lateks aglütinasyon testleri uygulandı (6).

### Moleküler İdentifikasyon

Bakteri DNA'sını elde etmek için GF-1 bakteri ekstraksiyon kiti (Fermatas, Litvanya) kullanılarak gerçekleştirildi.

### Multipleks PCR

Multipleks PCR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 50µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PCR buffer, 6 µl MgCl<sub>2</sub>, 1 µl 10 X dNTP, 0.25 µl int Fc, int Rc primerleri, 0.1 µl PF8, PR8, LP 30, LP 31 primerleri, 0.05 µl LP 43, LP 44 primerleri, 0.2 µl Taq polymerase şeklinde hazırlandı (6). DNA amplifikasyonu, 94 °C'de 5 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 94 °C'de 1 dk, 53 °C'de 1 dk, 72 °C'de 1 dk 30 siklusa ve 72 °C'de 5 dk son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi (6).

### Unipleks PCR

Çalışmada iki ayrı gen bölgesi için iki farklı unipleks PCR yapıldı. FliC gen bölgesi için, PCR reaksiyon karışımının final konsantrasyonu 50µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PCR buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP, her bir fliC primerinden 0.5 µM ve son olarak 1U Taq polymerase şeklinde hazırlandı (11). DNA amplifikasyonu, 94 °C'de 3 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 94 °C'de 1 dk, 65 °C'de

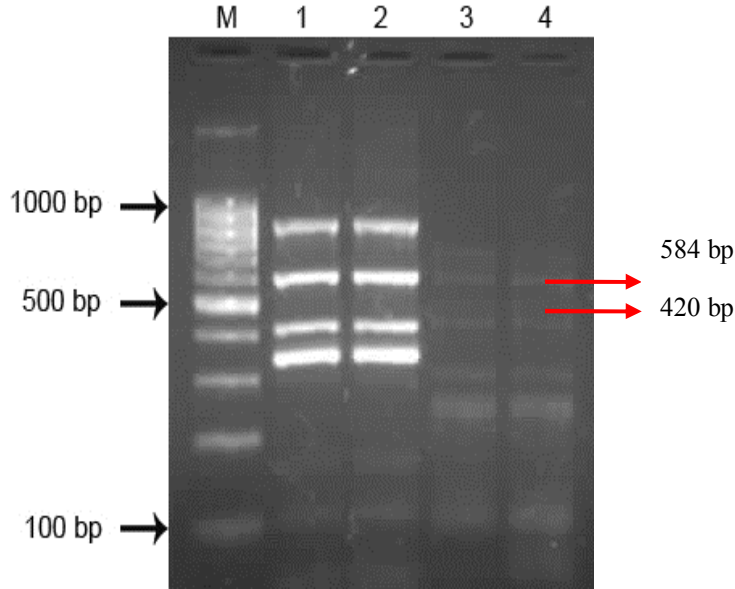
2 dk, 72°C'de 2 dk 35 siklusta ve 72°C'de 10 dk son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi (6).

EhlyA gen bölgesi için, final konsantrasyonu 50µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µl DNA örneği, 5 µl 10 X PCR buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP, her bir EhlyA primerinden 0.2 µM ve son olarak 1U Taq polymerase şeklinde hazırlandı (6). DNA amplikasyonu, 94 °C'de 5 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 94 °C'de 1 dk , 53 °C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk 30 siklusta ve 72°C'de 5 dk son uzatma olacak şekilde gerçekleştirildi .

Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünleri % 2'lik agaroz jelde 90 V gerilimde 45 dk elektroforez (ThermoEC250-90) işlemine tabi tutulduktan sonra, UVP jel dökümantasyon işlemi (Vilber Laorumat ) kullanılarak görüntülendi (6).

**İstatistiksel Metod:** Çalışmada süt ve dışkı numunelerindeki *E. coli* O157'nin varlığı Pearson Chi-Square ( $\chi^2$ ) testi ile değerlendirilmiştir (39).

## BULGULAR



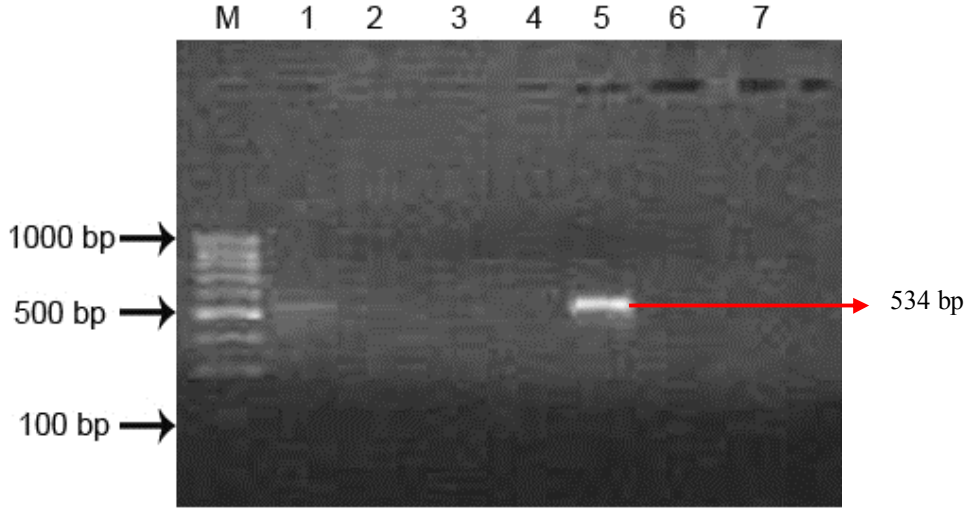
**Şekil 1.** *E.coli* O157:H7 pozitif kontrol suşu (RHS 232) ve sahadan izole edilen şüpheli suşlara uygulanan m-PCR işlemi. M. Marker, 1-2 pozitif kontrol, 3-4 dışkıdan izole edilen iki adet örnekte *rbfO157* ve *Stx2* genlerinin varlığı.

Çalışmada, 500 adet dışkı numunesinden 128'sinde (% 25,6) ve 500 adet süt numunesinin ise 107'sinde (% 21,4) *E. coli* O157 tespit edildi. İzolatlara uygulanan lateks aglütinasyon testi sonucunda bu örneklerin 7'sinde O157 antijeni tespit edilirken, örneklerin hiçbirinde H7 antijenine rastlanmadı (Tablo II, III).

mPCR reaksiyonu sonucunda ise m-PCR işlemi sonucunda 128 adet sığır dışkı izolatınının 6'sı (% 4,6), 107 süt izolatınının 1'si (% 2) *E.coli* O157 :NM olarak tanımlanmıştır (Tablo 3, Şekil 1). U-PCR reaksiyonu sonucunda incelenen örneklerde H7 antijenine ait gen tespit edilemedi. Ancak örneklerden bir tanesinde enterohemolizin geni, 2 tanesinde Stx2 geni tespit edildi (Şekil 2). *E. coli* O157'nin numunelerdeki bulunma sıklığı istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ( $p<0,05$ ) (Tablo III).

## TARTIŞMA

*Escherichia coli* O157, etken ile kontamine hay-



**Şekil 2.** *E. coli* O157:H7 pozitif kontrol suşu (RHS 232) ve sahadan izole edilen şüpheli suşlara uygulanan u-PCR işlemi (*EhlyA*). M. Marker, 1. Pozitif kontrol, 5. Bir dışkı örneğinde *EhlyA* geninin varlığı.

**Tablo II.** Sığır dışkı ve sütlerinden izole edilen şüpheli *E. coli* O157:H7 suşlarına uygulanan m-PCR ve u-PCR sonuçları ve virülens genlerin suşlar arasındaki dağılımı

Örnek no	İlçe ve köyler	Virülens genlerin varlığı					
		m-PCR				u-PCR	
		<i>rbfO157</i>	<i>eaeA</i>	<i>Stx1</i>	<i>Stx2</i>	<i>ehlyA</i>	<i>fliC</i>
S1 (dışkı)	Elagöz	+	-	-	+	+	-
S2 (dışkı)	Elagöz	+	-	-	-	-	-
S3 (dışkı)	Güneşli	+	-	-	+	-	-
S4 (dışkı)	Güneşli	+	-	-	-	-	-
S5 (dışkı)	Güneşli	+	-	-	-	-	-
S6 (dışkı)	Yeşilhisar	+	-	-	-	-	-
S7 (süt)	Hasanarpa köyü	+	-	-	-	-	-

**Tablo III.** Dışkı ve süt numunelerinde *E. coli* O157'nin Prevalansı

Numune	İzole edilen Bakteri <i>E. coli</i> O157				$\chi^2$	P
	Klasik Yöntem		PCR			
	Sayısı	%	Sayısı	%		
Dışkı (n= 500)	128	25,6	6	4,6		
Süt (n= 500)	107	21,4	1	2	2,84	-
Total (n= 1000)	235	47	7	8,6		

vansal ürünlerin tüketilmesine bağlı olarak insanlarda HC, HÜS ve TTP gibi klinik tablolar oluşturması sebebiyle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir (12).

Çalışmada, 500 adet dışkı numunesinden 128'sinde (% 25,6) ve 500 adet süt numunesinin ise 107'sinde (% 21,4) *E.coli* O157 tespit edildi. Lateks aglutinasyon testi sonucunda bu örneklerin 7'sinde O157 antijeni tespit edilirken, H7 antijenine rastlanmadı. *E.coli* O157:NM mPCR reaksiyonu sonucunda ise m-PCR işlemi sonucunda 128 adet sığır dışkı izolatinın 6'sı (% 4,6), 107 süt izolatinın 1'i (% 2) *E. coli* O157 olarak identifiye edildi. U-PCR reaksiyonu sonucunda incelenen örneklerde H7 antijenine ait gene rastlanmaz iken örneklerden bir tanesinde enterohemolizin geni tespit edildi. Çalışmada *E. coli* O157'nin numunelerdeki bulunma sıklığı istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ( $p<0,05$ ) (Tablo 3).

Etkenin hayvanlardaki prevalansını ortaya koymaya yönelik olarak dünyada ve Türkiye'de pek çok çalışma yapılmıştır. *E.coli* O157 izolasyon oranlarının ülkeler arasında farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir

Chapman ve ark. (13) 4800 sığır dışkısının % 15,7'sinin, Heuvelink ve ark. (14), 540 sığır dışkısı örneğinin %10,6'sının *E. coli* O157 ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Hancock ve ark. (15) ABD'de 11.881 sığırın % 1.8'inde, Chapman ve ark. (11) İngiltere'de 4800 sığırın %12.9 'unda,

Bornardi ve ark. (16) İtalya'da 450 sığırın % 13.1'inde Rogerie ve ark.(17) Fransa'da 851 sığırın % 2.6'sında *E.coli* O157 'nin bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada 500 adet sığır dışkısının % 4,6'sında *E. coli* O157 tespit edilmiştir. Sığır dışkı örneklerinden elde edilen değerler araştırmacıların çalışmaları ile kıyaslandığında Hancock ve ark. (15) ile Rogerie ve ark. (17)'nin bulgularından yüksek iken diğer araştırmacıların (Caphman, Heuvelink, Bornardi) bulgularından düşüktür. Bunun nedeni numunelerin alındığı işletmelerdeki hijyenik durumları ile ilgili olabilir.

Türkiye'de Aslantaş ve ark. (6), 565 adet sığır dışkı örneklerinden 77'sinde (%13,6) *E.coli* O157 saptamışlardır. İstanbul bölgesinde 330 sığırda yapılan araştırmada % 53,9 oranında *E.coli* O157:H7 bulunduğu bildirilmiştir (18). Yılmaz ve ark. (19) 330 sığırın % 4.2 'sinde *E.coli* O157:H7 pozitifliği tespit edilmiş olup genç ve erkek sığırlardaki izolasyon oranlarının daha yüksek olduğu nu bildirmiştir. Coia ve ark. (20), inceledikleri 500 çiğ süt örneğinde *E. coli* O157 varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Massa ve ark.'nın (21) 100 çiğ süt örneğinde *E. coli* O157:H7 izolasyonunun gerçekleştirilemediği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Picozzi ve ark. (22) 1011 çiğ süt örneğinin hiç birinden VTEC O157 izolasyonu yapılamadığı belirtilmiştir Abdul-Raouf ve ark.'nın (23) 50 inek sütünün 3'ünde izolasyonun gerçekleştirildiği belirtilmiştir. Bu çalışmada ise incelenen 500 adet çiğ süt örneğinin sadece 1 tanesinden (% 2) *E. coli* O157 tespit edildi. Süt

örneklerinden elde edilen sonuçlar kıyaslandığında Coia ve ark. (20), Massa ve ark. (21)'nin değerlerinden yüksek, Picozzi ve ark. (22) değerleri ile paralel iken Abdul-Raouf ve ark.'nın (23) bulduğu değerlerden daha düşük oranda olduğu görülmektedir.

Türkiye'de Öksüz ve ark. (24) çiğ süt ve çiğ süttten yapılmış peynirlerde yaptıkları bir çalışmada 100 çiğ süt örneğinden sadece 1'inde *E. coli* O157 tespit edildiği bildirilmiştir. Bunun sebebini etkenin izole edildiği hayvanın meme başının etken ile kontamine olmasına bağlayabiliriz. Çiğ süt ve peynir örneklerinde enterohemorajik *E. coli*'ye rastlanma sıklığının araştırıldığı bir başka çalışmada, incelenen 20 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *E. coli* O157:H7'nin saptanamadığı belirtilmiştir (25). Bu çalışmada incelenen süt numunelerinin bulguları, Öksüz ve ark. yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Bu çalışma ile ülkemizde ve dünya ülkelerindeki sığırlardaki ve sütlerdeki *E. coli* O157 izolasyon oranlarının belirlenmesine yönelik araştırmalar kıyaslandığında farklı oranların bulunması, kullanılan izolasyon yöntemlerindeki farklılık, coğrafik, hayvanların beslenmesi ve süt sağım esnasındaki hijyenik koşullarının farklılığı yada işletmelerdeki personel hijyene yeterince dikkat etmemesi gösterilebilir. Yine bu çalışmadan farklı olarak incelenen hayvanların yaş grupları ve cinsiyetleri de oransal değişimde etkili olabilir.

Sonuç olarak, Kayseri ili ve çevresindeki işletmelerdeki süt sığırlarının dışkılarında ve sütlerinde *E. coli* O157 belirlenmiştir. Belirlenen kontaminasyon oranının düşük düzeylerde olduğunu, bununla birlikte Kayseri ilindeki süt işletmelerinde *E. coli* O157:H7 tespit edilmemiştir.

## KAYNAKLAR

1. Naylor SW, Gally DL, Low JC. Enterohaemorrhagic *E. coli* veterinary medicine. *Int. J Food Microbiol* 2005;295: 419-441
2. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 142-201.
3. Park S, Worobo R, Durst R. *Escherichia coli* O157:H7 As an Emerging Foodborne Pathogen: A Literature Review. *Crt. Rev. Food Sci Nutrition* 1999; 39(6): 481- 502.
4. Borczyk AA, Karmali MA, Lior H, et al. Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 1. 1987; 8542:98
5. Kuhnert P, Dubosson CR, Roesch M, et al. Prevalance and risk- factor analysis of Shiga toxinogenic *Escherichia coli* in fecal samples of organically and conventionally farmed dairy. *Veterinary Microbiology* 2005; 109:37-45
6. Aslantaş Ö, Erdoğan S, Cantekin Z, ve ark. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from Turkish cattle. *Int. J Food Microbiol* 2006;106:338-342
7. Chapman PA, Wright DJ, Siddons CA. A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *E. coli* O157 from bovine faeces. *J. Med. Microbiol* 1994;40:424-427
8. Johsen G, Wasteson Y, Heir E, Gerget OI, Herikstad H. *Escherichia coli* O157:H7 faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *Int. J. Food Microbiol* 2001; 65:193 - 200
9. Halkman A. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. 2005; 1. Baskı. Başak Matbaacılık. Ankara
10. Kobayashi H, Shimada J, Nakazawa M, et al. Prevalance Characteristics of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Healthy Cattle in Japan *Appl. Environ. Microbiol* 2001; .484-489

11. Chapman PA, Malo ATC, Elin M, et al. *E.coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and raw beef and lamb products in South Yorkshire UK, *Int. J. Food Microbiol* 2001; 64: 139-150.
12. Warburton DW, Austin JW, Harrison BH, et al. *Survival and Recovery E.coli* O157:H7 in Inoculated Bottled Water. *J. Food Protect* 1998; 61(8): 948-952
13. Chapman PA, Malo ATC, Siddons CA, et al. *Use of commercial enzyme immunoassays and immunomagnetic separation systems for detecting Escherichia coli* O157 in bovine fecal samples. *Appl. Environ. Microbiol* 1997; 63: 2549-2553.
14. Heuvelink AE, Bleumink B, Van Den Biggelaar FL, et al. *Occurrence and survival of verocytotoxin-producing Escherichia coli* O157 in raw cow's milk in Netherlands. *J. Food Protect* 1998; 61: 1597-1601.
15. Hancock DD, Besser TE, Rice DH, et al. *Epidemiology of Escherichia coli* O157 in feedlot cattle. *J Food Protect* 1997; 60: 462-465.
16. Bornardi S, Maggi E, Pizzin G, et al. *Feecal carriage of verocytotoxin producing E.coli* O157 and carcass contamination in cattle at slaughter in Northern Italy, *Int. J. Food Microbiol* 2001; 66: 47-53.
17. Rogerie F, Marecat A, Gombade S, et al. *Lange M. Characterization of shiga toxin producing E.coli and E.coli* O157 serotype *E.coli* isolated in France from healthy domestic cattle. *Int. J. Food Microbiol* 2001; 63: 217-223.
18. Yılmaz A, Gün H, Turan N. Manda ve Manda Karkaslarında *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının araştırılması. VI. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ 2004.
19. Yılmaz A, Gün H, Yılmaz H. *Frequency of Escherichia coli* O157:H7 in Turkish cattle. *J Food Protect* 2002; 10: 1637-1640.
20. Coia JE. *Clinical, microbiological and epidemiological aspects of Escherichia coli* O157 infection. *FEMS Immun. Med. Microbiol* 1998; 20: 1- 9.
21. Massa S, Goffredo E, Altieri C, et al. *Fate of Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized milk stored at 8 °C. *Let. Appl. Microbiol.* 1999; 28: 89-92.
22. Picozzi C, Foschino R, Heuvelink A, et al. *Phenotypic and genotypic characterization of sorbitol-negative or slow-fermenting (suspected O157) Escherichia coli* isolated milk samples in Lombardy region. *Let. Appl. Microbiol* 2005; 40: 491-496.
23. Abdul-Raouf UM, Ammar MS, Beuchat LR. *Isolation of Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. *Int. J. Food Microbiol* 1996; 29: 423-426.
24. Öksüz Ö, Arici M, Kurultay S, Gümüş T. *Incidence of Escherichia coli* O157 in raw milk and pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control* 2004; 15: 453 - 456.
25. Gönül SA, Karapınar M. *Escherichia coli* patojenitesi ve gıdalardaki önemi. *Tr. J. Biology* 1994; 18: 47- 60.