

Sorbitolü Fermente Eden ve Fermente Etmeyen Enterohemorajik *Escherichia Coli* 0157'nin Patolojik, Klinik ve Mikrobiyolojik Özellikleri

FERMENTING SORBITOL AND NON-FERMENTING SORBITOL ENTEROHEMORRHAGIC *ESCHERICHIA COLI* 0157 PATHOLOGICAL, CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES

Altan AKSOY*, Teoman Z. APAN*, Birgül KAÇMAZ**

* Yrd.Doç.Dr., Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, KIRIKKALE

**Uz.Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

Özet

Enterohemorajik *Escherichia coli* sığır, köpek, koyun gibi hayvanların gastrointestinal sistem florasında bulunmakta ve enfektif dozunun oldukça düşük olması sebebiyle önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom gibi klinik tablolar oluşturmaya yanında salgınlara da neden olmaktadır.

Bu derlemede sorbitolü fermente eden ve fermente etmeyen enterohemorajik *Escherichia coli* 0157'nin patolojik, klinik ve mikrobiyolojik özellikleri tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*, Sorbitol, Özellik

T Klin Mikrobiyoloji-Enfeksiyon 2004, 3:29-38

Summary

Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) is localised in the intestinal flora of the animals such as cattle, dogs, sheep etc. And EHEC has very low infectious dose. For these reasons, EHEC is an important public health problem. EHEC leads to outbreaks causing hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome.

In this review, pathological, clinical and microbiological properties of EHEC 0157, fermenting sorbitol and non-fermenting sorbitol, will be discussed.

Key Words: *Escherichia coli*, Sorbitol, Property

T Klin J Microbiol-Infec 2004, 3:29-38

Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC), gıda kaynaklı salgınlara neden olan zoonotik bir patojendir. EHEC'in, patojenik *E.coli* olarak kabulü iki epidemiyolojik gözleme dayanır. Bunlardan birincisi, Riley ve arkadaşları tarafından 1983 yılında ortaya konmuştur. Kramp şeklinde başlayan karın ağrısı ve sulu ishali takip eden kanlı ishal ile karakterize gastrointestinal hastalığın, hemorajik kolit (HC) tablosu gösterdiği ve fast food restoran zincirlerinde iyi pişmemiş hamburgerlerin yenilmesi sonucunda ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu hastaların gaita kültüründen izole edilen *E.coli* serotipinin O157:H7 olduğu belirtilmiştir (1). İkinci gözlem, Karmali ve arkadaşlarının hemolitik üremik sendromu (HÜS) bulunan hastaların gaitasından sitotoksin üreten *E.coli*'nin izole edildiğini bildirmesidir (2).

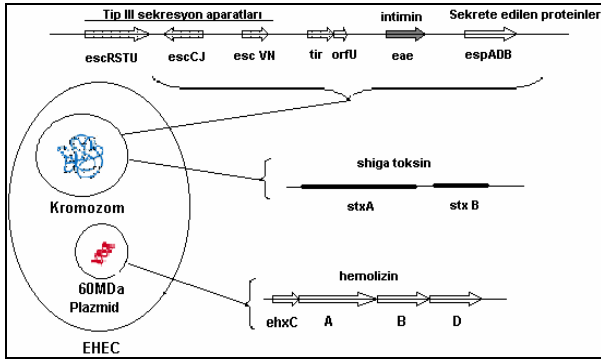
EHEC'nin salgıladığı sitotoksinin, vero hücrelerinde (Afrika yeşil maymun böbrek hücreleri)

irreverzibl sitopatik etki göstermesi nedeniyle bu toksine vero toksin adı verilmiştir. O'Brien ve arkadaşlarının, bu suşların oluşturduğu sitotoksik etkinin, Shigella dysenteria tip-1 toksinine karşı hazırlanan antitoksin tarafından nötralize edildiğini göstermesi sonucunda vero toksinin aslında shigella toksinine benzer bir toksin olduğu anlaşılmıştır (3).

EHEC 0157, shiga toksin (stx) üreten en önemli grup olmasına rağmen bu toksinin üretiminden sorumlu yaklaşık 100'den fazla *E.coli* serotipi tanımlanmıştır. Shiga toksin üreterek insanda HÜS ve kanlı diyare oluşturan en önemli serotipler O26:H11, O113:H21, O103:H2 ve O111:NM'dir (4, 5).

Patogenez

E.coli O157:H7'nin patojenik faktörlerinin tespiti için yapılan çalışmalar genellikle shiga toksin üzerinde odaklanmıştır.



Nataro JP. Clin Microbiol Rev (4)'den alınmıştır

Şekil 1. EHEC'nin patojenezinde rol alan genetik faktörler

Shiga Toksin: EHEC'in en önemli virülans faktörünün shiga toksin olduğu kabul edilmektedir. Shiga toksin ailesi, Stx-1 ve Stx-2 olarak isimlendirilen ve immunolojik olarak çapraz reaksiyon vermeyen iki ana gruba ayrılır. Tek bir EHEC suşu sadece Stx-1, sadece Stx-2 veya her iki toksini birlikte salgılayabildiği gibi Stx-2'nin çoğul formunu da salgılayabilir. Stx-1 oldukça stabil olmakla birlikte Stx-2'de sekans varyasyonları görülebilir. Stx-2c, Stx-2v, Stx-2vhb, Stx-2e, vb. gibi farklı varyantların Stx-2'de bulunduğu gösterilmiştir. EHEC'in salgıladığı Stx-1, *Shigella dysenteria* tip-1'in salgıladığı Shiga toksin ile benzer yapıdadır (6-7).

Shiga toksin1 ve 2, 1A ve 5B subünitinden oluşur. Toksinin hücreye bağlanması B subüniti aracılığıyla gerçekleşir. A subüniti, 28S ribozomal ribonükleik asitin selektif yapısal modifikasyonu sonucunda 60S ribozomal subüniti inhibe ederek hücrenin protein sentezini durdurur (8). Shiga toksin proteolitik olarak kesildiğinde, A subünitinin (32kDa) birbirine disülfid bağlarıyla bağlı A1 (28kDa) ve A2 (4kDa) olarak adlandırılan iki peptide ayrıldığı görülür. A1 peptidi enzimatik aktiviteye sahipken A2 peptidi, A subünitinin pentamer yapıdaki B subünitine bağlanmasına yardımcı olur. B pentameri, toksini özel bir glikolipid reseptörüne (Gb₃ veya globotriaosylceramide) bağlar ve bu reseptörler ökaryot hücrelerin yüzeyinde bulunur. Gb₃, Stx için ana reseptör olarak görev yaparken, Stx-2e varyantı Gb₄ reseptörlerini kullanır. *E. coli* ve *S. dysenteria* tarafından oluşturulan Stx-1 üretimi

demir varlığında ve düşük sıcaklıkta baskılanır. Fakat Stx-2 salgılanması bu faktörlerden etkilenmez. Bazı *Citrobacter freundii* ve *Enterobacter* spp. türlerinin Stx-2 ürettiği ve bu suşlarda bulunan Stx-2 geninin *E.coli*'de bulunan gen ile yüksek düzeyde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (9,10).

Bağırsaklarda oluşan Stx'in kan akımına geçmesi sonucunda HÜS'ün geliştiği düşünülür. Fakat toksin, hiç bir zaman HÜS'lü hastaların kanında saptanamamıştır. Bağırsak epitelinin Stx, bakteriyel lipopolisakkaritler veya diğer enflamatuar mediyatörler tarafından hasarı aynı zamanda kan dolaşımındaki toksinin translokasyonuna yardımcı olur. Bu ihtimal *E. coli* O157:H7'ye bağlı gelişen kanlı ishali bulunan hastalarda desteklenmiştir ve bu durum daha ziyade HÜS gelişimiyle sonuçlanmıştır. Gb₃ reseptörleri insan böbrek dokusunda yüksek oranda bulunur ve Stx insan böbrek endotel hücrelerine in-vitro sitotoksik etki gösterir. Stx, glomerüler endotel hücrelerini hasara uğratarak glomerüle ait mikro damarlarda platelet ve fibrin birikimi sonucunda kapiller geçişi daraltır. Sonuç olarak glomerüler filtrasyon hızının azalması akut böbrek yetmezliğine neden olabilir ve bu durum HÜS için tipiktir. Eritrositlerin daralmış mikro damarlardan geçişi sırasında hasara uğraması sonucu parçalanmış hücrelerin görülmesi HÜS için karakteristiktir. Epidemiyolojik veriler HÜS oluşumunda Stx-2'nin Stx-1'den daha önemli olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca bazı çalışmalar bu olayın gelişiminde sitokinlerin de katkısı olduğunu göstermiştir. TNF- α ve IL-1, in-vitro olarak insan damar endotel hücrelerinde Stx'in sitotoksik etkisini artırmıştır (11).

Enterohemolizin: Enterohemolizin hemen hemen bütün 0157:H7 serotiplerinde bulunmakla beraber non-0157 Stx üreten *E. coli* türlerinde de oldukça yaygındır. Genetik olarak birbirinden farklı, enterohemolizin 1 ve 2 olarak adlandırılan iki ayrı tipi mevcuttur. Hemolizini kodlayan geni içeren 0157:H7 suşlarında 60-MDa plazmide sıklıkla rastlanır. Hemolizin üropatojenik *E. coli*, *Pasteurella haemolytica* ve diğer insan ve hayvan orjinli patojenler tarafından da salgılanabilir. Enterohemolizin, ekstraintestinal *E. coli* enfeksiyonlarıyla ilişkili bir virülans faktörü olarak kabul

edilmesine rağmen patogenezdaki rolü hakkında yeterli veri bulunmamaktadır (4,12).

İntestinal yapışma faktörleri: İn-vivo hayvan modellerinde bağırsaklardaki kolonizasyonda rolü olduğu gözlenen ve eae geni tarafından kodlanan tek *E.coli* yapışma faktörü intimidin. İntimidinin reseptöre bağlandığı kısımdaki sekanslar serotipler arasında farklılık gösterir ve bu sekans değişiklikleri Enteropatojenik *E.coli*'nin (EPEC) ince bağırsak patojeni ve EHEC'in de kalın bağırsak patojeni olduğunu göstermiştir (13).

E.coli O157:H7'nin fimbria oluşturduğu ve bunun intestinal yapışmaya yardımcı olduğu belirtilmiş olmasına rağmen hiçbir klonlanmış fimbria geni rapor edilmemiştir (13).

pO157 Plazmid: Tüm O157:H7 şuşları pO157 olarak adlandırılan ve yüksek oranda korunmuş plazmid içerir. Bu plazmidin enterohemolizini kodladığı Levin ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Plazmidin rolünün eksopolisakkarit üretimini baskılamak olduğu düşünülmektedir. İnsandan izole edilen şuşlarda yüksek oranda bulunmasına rağmen sığırlardan izole edilen non-O157:H7 Stx üreten şuşların sadece küçük bir bölümü bu plazmide sahiptir. Yine de, plazmidlerin herhangi birisine sahip olma ile klinik hastalık arasında bir ilişki tespit edilememiştir (14).

Demir transportu: *E. coli* O157:H7 özel bir demir transport sistemine sahiptir. Bu sistem mikroorganizmanın hem veya hemoglobini demir kaynağı olarak kullanmasını sağlar. Chu A geni tarafından kodlanan dış membran proteinleri hem veya hemoglobini yıkarak *E. coli*'nin üremesi için yeterli demiri temin eder. Chu A genine homolog olan bir gen *S. dysenteria* tip 1'de de mevcuttur. Fakat enteresan bir şekilde Stx oluşturan O26:H11 *E.coli* şuşlarında ve diğer *Shigella* spp.'lerde bu gene rastlanmamıştır. *E.coli* O157:H7'nin büyüme ve gelişmesi hem veya hemoglobin mevcudiyeti ile

uyarılır. Hemolizinin eritrositleri eritmesi ile demir kaynaklarının serbestleşmesi enfeksiyonun gelişimine yardımcı olur (15).

Diğer potansiyel virulans faktörleri: O157 lipopolisakkariti in-vitro ortamda insan damar endotel hücrelerinde Stx'in sitotoksik etkisini artırırken, in-vivo etkileri belirgin değildir (16).

Epidemiyoloji

EHEC, özellikle endüstrileşmiş toplumlarda önemli bir halk sağlığı sorunudur. Shiga toksin üreten *E.coli*'nin (STEC) epidemiyolojik olarak en önemli özelliği sığırların ve diğer hayvanların bu etkeni gastrointestinal sistemlerinde taşımasıdır. Özellikle Kuzey Amerika, Japonya, Avrupa ve daha az oranda Güney Amerika ve Avustralya'da gıda kaynaklı salgınlara neden olur (17).

Enfeksiyonları ılımlı sekretuar diyareden şiddetli hemorajik kolite kadar değişen çeşitli enterik hastalık tabloları şeklinde karşımıza çıkar. Bu hastalarda gelişen en önemli komplikasyon ise HÜS'dür. ABD'de her yıl yaklaşık olarak 20.000 kişinin EHEC O157:H7'ye bağlı gelişen diyare ve HÜS'e yakalandığı ve bu hastaların 250'sinin öldüğü bilinmektedir. Yine ABD'de görülen HÜS vakalarının % 25'den fazlasında O157 dışındaki serotiplerin sorumlu olduğu bulunmuştur (Tablo 1). Bu oran Güney Afrika, Avustralya ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde daha yüksektir. EHEC O157:H7'in izolasyon oranları ülkeden ülkeye değişmekle birlikte mevsimsel farklılıklar da gösterir ve sporadik vakalara daha çok yaz aylarında rastlanır. Fakat O157:H (hareketli olmayan) türler ise daha çok kışın enfeksiyon oluşturur (Tablo 2) (17-18).

E. coli O157 prevalansı üzerine ülkemizde yapılan çalışmalar oldukça sınırlı olmakla beraber geniş kapsamlı bazı çalışmalarda insanlardan izole edildiğine dair herhangi bir veriye rastlanmamıştır (Tablo-3). Bunun için daha hassas yön-

Tablo 1. *E.coli* O157'nin, HÜS'lü vakalardaki izolasyon oranlarının ülkelere göre dağılımı

	ABD	Belçika (1996)	Almanya (1996-98)	Fransa (1997-98)	İtalya (1996-98)
<i>E.coli</i> O157 (%) ⁽¹⁹⁾	85	69	61	58	38

Tablo 2. Sorbitolü fermente eden ve fermente etmeyen STEC suşlarının özellikleri

Epidemiyolojik özellikler	SF STEC 0157: H (hareketsiz)	STEC 0157: H7
Coğrafik dağılım	Avrupa kıtası	Tüm dünya
Sık görüldüğü dönem	Eylül-Nisan	Haziran- Ağustos
Yaş dağılımı	3 yaşın altındaki çocuklar	3 yaşın üstündeki çocuklar
Rezervuar	Sığır (tek yayın var) ve midilli (tek yayın var), insan?	Sığır ve diğer evcil veya vahşi hayvanlar (keçi, koyun, at, domuz, köpek, geyik, martı)
Bulaş	Kontamine gıda, hayvanlarla direk kontakt, insandan-insana?	Kontamine gıda ve su, hayvanlarla direk kontakt, insandan-insana
Enfekte edici doz	Bilinmiyor	Oldukça düşük (<50 organizma)
Fenotipik özellikler	Sorbitol (+), hemolizin genellikle (-), katalaz-peroksidaz (-), serin proteaz (-), tellürite duyarlı, hareketsiz	Sorbitol (-), hemolizin (+), katalaz- peroksidaz (+), serin proteaz (+), tellürite dirençli, hareketli

SF: Sorbitolü fermente eden, STEC: Shiga toksijenik *E.coli*, H⁻: Hareketli olmayan.
Karch H. J Clin Microbiol 2001 (18)'den değiştirilerek alınmıştır

temlerin kullanılması veya semptomlu hastalarda 0157 dışındaki serotiplerin araştırılması yararlı olabilir. Yine ülkemizde, sığırlardaki izolasyon oranları üzerine yapılan çalışmalarda farklı oranların bulunması mevsimsel ve coğrafik farklılıklardan kaynaklanabilir. Yılmaz A ve ark. yaptığı çalışmada kullanılan immunomanyetik ayırma yönteminin (İMA) insan veya hayvanlarda yapılan ve yukarıda belirtilen çalışmalarda kullanılan yöntemlere göre daha hassas bir yöntem olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada, genç (1-2 yaş) ve erkek sığırlardaki izolasyon oranlarının daha yüksek olduğu bulunmuştur (20). Avrupa'da en yüksek izolasyon oranı İngiltere'deki sığırlarda tespit edilmiştir (1995-96 yılı %15.7, 2001 yılı %12.9). Ülkemizdeki oranlar (%0-5) bir çok Avrupa ülkesinde tespit edilen oranlardan daha düşük olmakla birlikte ABD'de tespit edilenlerden daha yüksektir (Tablo 3).

SF STEC 0157:H (hareketli olmayan) türlerin β-glukuronidaz aktivitesine sahip olduğu (24 saat

sonra +) ve ilk olarak 1988 yılında Almanya'da görülen bir HÜS salgını sırasında tespit edildiği bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren Almanya'da HÜS ve diyareli hastalarda SF STEC 0157:H'i önemli bir enfeksiyon etkeni olarak kabul edilmektedir. Pulse field gel elektroforezi yardımıyla tespit edilen fenotipik ve genotipik karakterler bakımından SF *E.coli* 0157:H'nin, sorbitolü fermente etmeyen *E.coli* 0157 serogrubunun içinde yer alan yeni bir klon olduğu gösterilmiştir. Çek Cumhuriyeti'nde tespit edilen iki adet SF *E.coli* suşunun fenotipik ve genotipik karakterlerinin, 1988 ve 1996 yılları arasında Almanya'da tespit edilen 24 adet SF *E.coli* suşuna benzediği görülmüştür. Sadece tek bir istisna, Çek Cumhuriyeti'nde izole edilen iki suştan birinde izolasyondan sonraki bir ay içinde ve genetik olarak tespit edilmeden önce stx-2 üretiminin kaybolduğunun gösterilmesidir. Bu yeni fajın (faj tip88) daha önce Almanya ve Çekoslovakya'da tespit edilmiş olan SF STEC 0157:H izolatlarının faj paternlerine uymadığı görülmüştür (28).

Tablo 3. *E. coli* 0157 prevalansı üzerine yapılan çalışmalardan örnekler

Ülkemizde, insanlarda yapılan çalışmalar	Erensoy MS. (1990, İzmir) (21)	Akça MÖ. (1994, Ankara) (22)	Hasçelik G ve ark. (1991, Ankara) (23)	Halepliler S ve ark. (1993) (24)
Çalışılan insan sayısı (%)	300 (0)	300 (0)	677 (0)	708 (0)
Ülkemizde, sığırlarda yapılan çalışmalar	Akuş F ve ark. (1996, Ankara) (25)	Yılmaz A ve ark. (2002, İstanbul) (20)	Çabalar M ve ark. (2001, Van) (26)	Arslan S. (2001, Van) (27)
Çalışılan sığır sayısı (%)	80 (5)	330 (4.2)	312 (1.3)	54 (0)
Bazı ülkelerde, sığırlarda yapılan çalışmalar (20)	İngiltere	İtalya	ABD	Fransa
Çalışılan sığır sayısı (%)	4800 (12.9)	450 (13.1)	11.881 (1.8)	851 (2.6)

(%): *E. coli* 0157 izolasyon yüzdesi

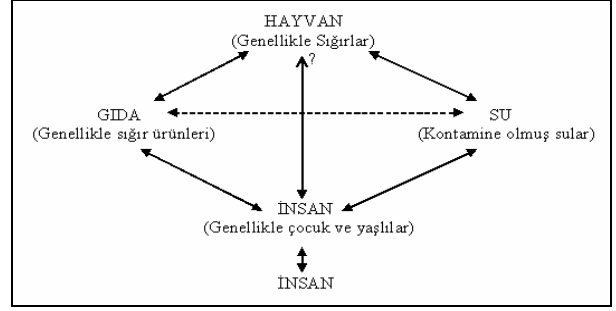
Çekoslovakya'da tespit edilen SF STEC 0157:H suşların orjini hakkında gerçek veriler bulunmamaktadır. Almanya'ya seyahat hikayesi bulunmayan bu kişilerin Almanya'dan ithal edilen gıdaları tüketmedikleri tespit edilmiştir (28).

SF STEC 0157:H'i genellikle sporadik enfeksiyona neden olmasına rağmen tespit edilen ilk salgın 1988 yılında, ikinci salgın ise 1995-96 yılları arasında yine Almanya'da görülmüştür. SF STEC 0157:H'i HÜS ve diyareli hastalarda tespit edilmiş olmasına rağmen rezervuarı ve bulaş zinciri konusunda yeterli veri bulunmamaktadır (29).

Bulaş Yolları

Enfeksiyon, temel olarak gıda, su (örneğin kontamine içme suyu) ve daha az oranda insandan insana bulaşmaktadır (5). İnsanlar için en önemli enfeksiyon kaynağı sığırlardır. STEC'nin sığırlardaki kolonizasyon oranı %0.1-16 arasında değişmektedir. Özellikle salgınlara, sığırların eti, sütü ve çıkartıları ile bulaşmış olan gıda ürünleri neden olur. Bunun yanında STEC'nin kaz, koyun, keçi, at, köpek, domuz, martı, tavuk ve geyik gaitalarından izole edildiği bildirilmiştir (30-31). İzolasyon oranı genç sığırlarda yaşlı sığırlara göre daha yüksektir ve non-0157 serotipi, 0157 serotipine göre daha fazla oranda tespit edilir. Buna rağmen STEC'ye bağlı gelişen salgınlardan çoğunlukla 0157 serotipine bağlı olarak gelişmesi, virulansın ve bulaşıcılığın diğer serotiplere göre daha fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir (4). ABD'de sığır eti ve sütündeki *E.coli* 0157:H7 izolasyon oranı % 0-2.8 arasında değişmektedir (4).

Su ve gıdaların fekal kontaminasyonu ile gıdaların hazırlanması esnasında yaşanan çapraz kontaminasyon enfeksiyonun bulaşmasını sağlayan en önemli faktörlerdir. Şimdiye kadar rapor edilmiş en büyük salgın Kuzey Amerika'da, 1992-1993 yılları arasında kontamine olmuş hamburgerlerin yenmesi sonucunda 732 kişinin etkilenmesi ile ortaya çıkmıştır (11). Bununla birlikte domuz eti, salam, sucuk, kuzu eti, çiğ süt, peynir, yoğurt, mayonez, elma suyu ve çiğ sebzelerin (turp, kıvrık vb.) bulaşta rol oynadığı gösterilmiştir (5,17,31). EHEC 0157:H7'nin, diğer mikroorganizmalara nazaran gıdalardaki düşük pH derecele-



Şekil 2. EHEC'nin bulaş zinciri

rinde (pH 4.4'de birkaç gün yaşayabilir) üreyebilir olması bulaşta önemli bir rol oynar (32).

Shigella'larda olduğu gibi EHEC 0157'nin enfeksiyöz dozu oldukça düşüktür (<50 organizma). Bu nedenle kontamine olmuş yiyecekler dışında insandan insana direk bulaş görülebilir. Çocuk yuvalarında ve bakım evlerinde yaşayanlar arasında direk (fekal-oral) geçiş olabileceği gösterilmiştir (5). Özellikle laboratuvar çalışmalarında biyogüvenlik kurallarına mutlaka uyulması gerekir. EHEC, İngiltere'de tip-2 biyogüvenlik grubundan tip-3 biyogüvenlik grubuna alınmıştır (4).

Erişkin asemptomatik taşıyıcılarda gaita ile bakteri atılımının olduğu dönem bir hafta veya daha az iken çocuklarda bu süre daha uzundur. Sağlıklı buzağılarda ise gaita ile bakteri atılımı 4-6 hafta devam eder (20,30).

ABD'de 1996 yılında ülke çapında yapılan değerlendirme sonucunda gıda kaynaklı salgın yapan etkenler arasında; *Campylobacter* spp. (25/100.000), *Salmonella* spp. (16/100.000), *Shigella* spp. (9/100.000)'den sonra dördüncü sırada *E.coli* 0157:H7 (3/100.000)'nin bulunduğu görülmüştür (4). Yine ABD'de 1982'den beri *E. coli* 0157'ye bağlı toplam 100'den fazla salgın rapor edilmiştir. Bu salgınlardan %52'si sığırlarla alakalı gıda ürünlerinden, %16'sı insandan-insana bulaştan, %14'ü meyve ve sebzelerden, %12'i sulardan ve %5'i çeşitli gıdalardan kaynaklanmıştır (31).

Bir çok laboratuvar gaita kültüründe rutin olarak *E.coli* 0157:H7'yi araştırmadığından gerçek insidans tam olarak yansıtılmamaktadır. Bazı araştırmalar EHEC'e bağlı gelişen enfeksiyonların sadece %50-80'inden 0157:H7'inin sorumlu

olduğunu, diğer serotipler rutin olarak araştırılmadığı için EHEC enfeksiyonlarının insidansını tespit etmenin zor olduğunu belirtmiştir (11).

Klinik

EHEC farklı organ ve sistemleri tutmasına rağmen göze çarpan sendromlar, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendromu kapsar. Klinik olarak 0157 ile non-0157 serotiplerini birbirinden ayırt etmek mümkün olmamakla beraber non-0157 serotipleri daha az oranda kanlı ishal ve HÜS'e neden olur. İnkübasyon periyodu 5-8 gün kadar uzun olabileceği gibi 1-2 gün kadar kısa olabilir. Başlangıçta, kansız ishal ve kramp şeklinde abdominal ağrı gözlenen hastalarda bazen kusma gelişebilir. Bir veya iki gün içinde ishal kanlı bir hal alır ve abdominal ağrıda artma görülebilir. Bu dönem yaklaşık 10 gün kadar devam eder. Diyarenin başlangıcından sonraki ilk 2 gün içerisinde eğer kültür yapılırsa, 3. günden sonra yapılan kültüre göre izolasyon şansı oldukça artar. Zamanla fekal bakteri atılımı azalacağından HÜS gelişen hastalarda etkenin izolasyonu için daha hassas yöntemlerin kullanılması gerekir (5, 7).

Hastaların yaklaşık %5-10'unda HÜS gelişir. HÜS triadı, mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut renal hasarı içerir. Kanlı ishal, ateş, lökosit sayısının artması, oldukça genç veya yaşlı hastalar ve antitotilite preparatları kullananlarda HÜS gelişme riski artar. HÜS gelişen hastalarda mortalite oranı %5 (salgınlarda %50), kronik renal hastalık gelişme oranı ise %10-30'dur. HÜS her yaş gurubunda görülmekle beraber immün sistemi yeterince gelişmemiş olan bebeklerde ve erken çocukluk döneminde daha sık görülür. Stx-2 üreten *S. dysenteriae* tip-1 ve *Citrobacter freundii* ile stx-1'e benzer toksin üreten *Aeromonas hydrophila* ve *Aeromonas caviae*'nin diyare ve HÜS'e neden olabileceği belirtilmiştir (4, 11,31).

Tam

Kültür: *E.coli* 0157, 24 saat içerisinde sorbitolü fermente edemez. Halbuki gaitada bulunan *E.coli* türlerinin %95'i sorbitolü bu süre zarfında fermente etmektedir. Fakat sorbitolü fermente eden *E. coli* 0157 türlerinin de bulunduğu

unutmamak gerekir. Sorbitol MacConkey agar (SMAC), standart MacConkey agarda bulunan laktozun yerine %1 oranında D- sorbitol katılarak hazırlanır. Sorbitolü fermente etmeyen en az 3 renksiz koloni mevcudiyetinde *E.coli* 0157 için selektif testlerin uygulanması gerekir. SMAC agar, 0157:H7 serotipi dışında kalan ve Stx üreten *E.coli* türlerinin izolasyonu için genellikle kullanılmaz. Çünkü Stx üretimi ve sorbitol fermentasyonu arasında genetik bir bağlantı yoktur. Bununla birlikte bir çalışmada HÜS etkeni olan sorbitol negatif, stx üreten 026, 0111 ve 055 türleri tespit edilmiştir (11, 32).

E.coli 0157:H7'nin izolasyon oranı eğer ön zenginleştirme yapılırsa daha da artacaktır. Bunun için GN broth hagna veya trypticase soy broth'a sefiksim (50 ng/ml) ve vankomisin (40 µg/ml) katılarak hazırlanan selektif besiyerine konan numune dört saat ile bir gece arasında bekletilirse ön zenginleştirme yapılmış olur (4). Sefiksim, *Proteus* spp.'ye karşı oldukça etkili bir antibiyotiktir (33).

SMAC agarın seçiciliğinin artırılması için çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. SMAC agara sefiksim ve tellürit katılmasıyla elde edilen cefixime- tellürit SMAC agar (CT-SMAC), Stx üreten *E.coli* 0157:H7 ve *Shigella sonnei*'nin üremesine izin verdiği halde diğer *E.coli* türlerini inhibe eder. Bu besiyerine novobiosin katılarak seçicilik artırılabilir. SF STEC 0157:H türleri, yüksek tellürit konsantrasyonuna hassas olduklarından CT-SMAC agar besiyerlerinde üreyemezler (28, 34).

EHEC 0157:H7 dışında kalan *E.coli* türlerinin %60'ı ramnozu fermente ettiği halde 0157:H7 ramnozu fermente etmez. Fakat ramnoz fermentasyonunun test edildiği agar yöntemlerinden farklı olarak standart tüp şeker fermentasyon testi uygulandığında 0157 EHEC türlerinin ramnozu 1 gün içerisinde fermente ettiği gösterilmiştir. Ramnoz ile sorbitol içeren ve içerisine sefiksim katılarak seçiciliği artırılan cefixime-rhamnose SMAC agar (CR-SMAC) izolasyon için kullanılabilir. Bununla birlikte son yıllarda yapılan bir çalışmada Stx pozitif 0157:NM (non-motil) türlerin bu besiyerinde üremediği gösterilmiştir (5, 33).

Çekoslovakya'da insan ve ineklerden izole edilen SF STEC 0157, immunomagnetik ayırma yöntemine göre izole edilmiştir. SMAC agarda 50'den fazla sorbitolü fermente eden koloni bulunması durumunda değerlendirme anti-0157 slayt aglutinasyon testi kullanılarak yapılmıştır. Aglutinasyon veren *E. coli* kolonilerinin β -glukronidaz aktivitesi, hemolizin salgılaması ve biyokimyasal özellikleri test edilmiştir. Stx-2 tipinde toksin ürettiği tespit edilen suşlarda toksinin tipi latex aglutinasyon testi ile belirlenmiştir (Verotox-F; Denka Seiken Co. Tokyo, Japan) (29).

Gıda ve su numunelerinden izole edilen *E.coli*'nin fekal kaynaklı olduğunun gösterilebilmesi için bu suşun 44-45,5 °C'de üreyebilme özelliğinden yararlanır. Fakat 0157:H7 serotipinin bu ısı derecelerinde üremediği gösterilmiştir. *E. coli* 0157'i gıda ve su numunelerinde genellikle düşük konsantrasyonda bulunduğundan (<10 cfu/g) selektif zenginleştirme prosedürlerinin uygulanması gerekir. İMA yöntemi kullanılmadan önce ön zenginleştirme yapılırsa 1.7×10^1 , direk İMA yöntemi kullanılırsa 3×10^2 , direk kültür yöntemi kullanılırsa 1.7×10^4 ve ön zenginleştirme işleminden sonra kültür yapılırsa 3.4×10^1 bakteri tespit edilebilir. Gıda numuneleri zenginleştirici broth besiyerine 25 g/ml oranında konulmalı, su numuneleri ise işleme tabi tutulmadan önce filtre edilmelidir (19).

Escherichia hermanii serolojik ve biyokimyasal özellikleri bakımından *E.coli* 0157'ye benzer yapıdadır. Sorbitolü fermente etmediğinden besiyerinde karışıklığa neden olabilmekle birlikte gaitada nadiren bulunmaktadır. Ayırıcı tanıda, sellobiyoz fermentasyonu (*E.coli* negatif, *E.hermanii* pozitif) ve potasyum siyanid'de (*E.coli* üremez, *E.hermanii* ürer) üreme özelliklerine bakılabilir. Ayrıca Stx üreten *E. hermanii* bildirilmemiştir (7).

Sorbitolü fermente etmeyerek SMAC agar'da karışıklığa neden olan diğer bakteriler: 0157 dışındaki *E.coli* türleri, *Proteus spp.*, *Morganella morganii*, *Hafnia spp.*, *Providencia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, *Klebsiella ozaenae* vb (33).

β -glukronidaz: *E.coli* 0157:H7'nin diğer bir karakteristik özelliği β -glukronidaz aktivitesinin

bulunmamasıdır. β -glukronidaz, 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronid (MUG)'i hidrolize eden bir enzimdir. Bununla birlikte MUG kullanılarak β -glukronidaz aktivitesinin ölçümü *E.coli* 0157:H7 için yetersiz kalabilmektedir. Bu substratın besiyerine katılması ile hazırlanan Rainbow agar 0157 (Biolog Inc, Hayward, Calif) ve Fluorocult *E.coli* 0157 agar (Merck, Darmstadt, Germany) besiyerleri mevcuttur. Rainbow agar, içerdiği kromojen aracılığıyla β -glukronidaz ve β -galaktozidaz aktivitesini tespit ettiğinden renk değişikliğine bakılarak *E. coli* 0157:H7, 026:H11 ve diğer Stx üreten ve üretmeyen *E.coli* türleri ayırt edilebilir. β -glukronidaz enzimi tarafından MUG'un parçalanması sonucunda oluşan ve floresan veren bileşikler bir çok farklı yöntemle tespit edilebilir (35).

Enterohemolizin aktivitesinin tespiti: STEC 0157 standart kanlı agarda hemoliz oluşturmaz. Fakat α -hemoliz oluşturan bazı *E.coli* türlerinin enterohemolizin oluşturan türlerden ayırt edilebilmesi için Tryptose blood agar base içerisine 10 mM CaCl₂ ve üç kere PBS (pH:7,2) ile yıkanmış %5'lik defibrine koyun kanı ilave edilerek hazırlanan özel besiyeri kullanılabilir. Bu besiyerinde enterohemoliz salgılayan bakteriler 18-24 saat sonra küçük, bulanık bir α -hemoliz zonu oluştururlar. Özel besiyerine veya standart kanlı agara yapılan pasajdan 3-4 saat sonra belirgin, geniş bir α -hemoliz zonu oluşturan koloniler enterohemolitik aktiviteye sahip değildir. Bu koloniler işaretlenerek elendikten sonra α -hemoliz zonu oluşturmayan koloniler özel besiyerinde 37°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra tekrar kontrol edildiğinde bulanık, küçük bir α -hemoliz zonu oluşturan kolonilerin enterohemolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiş olur (7,11,36).

İmmünolojik Yöntemler: İmmünolojik olarak O ve H antijenleri ile shiga toksin tespit edilebilir. SMAC agarda üremiş olan koloniler 0157 lipopolisakkaridi için geliştirilmiş antiserumlarla muamele edilerek O antijeninin varlığı gösterilebilirken, H antijeninin tespiti için H antiserumu ile test yapılmadan önce SMAC agarda üremiş olan kolonilerden mutlaka bir motilite besiyerine pasaj yapılmalıdır. Genellikle flagellar H antijeni,

motilite besiyerine ardarda yapılan pasajlardan sonra gösterilebilir. 0157 lipopolisakkaridi ve H antijeninin tepiti için ELISA (SafePath test), latex aglutinasyonu, koloidal altın bileşikleriyle işaretlenmiş antikorlar (Reveal test) ve daha bir çok yöntem kullanılabilir. Ticari antiserumlardan bazıları, *Citrobacter freundii*, Salmonella O grup N, *Yersinia enterocolitica* serotip 09 ve *E. hermannii* ile çapraz reaksiyon vererek yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Remel, Richmond Hill ve Oxoid'in ürettiği 0157 antiserumuyla Remel'in ürettiği H7 antiserumunun CDC'nin referans serumu ile %100 uyumlu olduğu belirtilmiştir (4, 36).

E.coli 0157 antijenlerinin direk olarak gaitadan ELISA yöntemi ile tespit edilmesinin SMAC agarın kullanılmasına göre daha sensitif olduğu belirtilmiş olmasına rağmen bazı yayınlarda spesifitenin yüksek olmasına rağmen sensitivitenin düşük olduğu belirtilmiştir. ELISA testi ile elde edilen şüpheli sonuçların kültür, shiga toksin tespiti veya PCR ile doğrulanması gerekir (36).

Shiga toksin tespiti bakteri kültüründen, gıda ve gaita örneklerinden yapılabilir. Toksin, hücre kültürü, latex aglutinasyonu ve ELISA [VTEC-RPLA test (Oxoid), Premier EHEC (Meridian Diag), LMD (LMD Laboratories)] yöntemleriyle tespit edilebilir. ELISA, kolay uygulanan, sensitif ve 0157 dışındaki *E.coli* türlerinin tespiti için oldukça kullanışlı olmakla birlikte masraflı bir yöntemdir (4,11).

İmmünomanyetik Ayırma Yöntemi: Bu yöntemin prensibi, manyetik veya manyetize olablen süper-paramanyetik taşıyıcılar üzerine bağlanmış antikorların hedef mikroorganizmaya tutunması esasına dayanır. İMA yönteminde kullanılan partiküller ticari olarak temin edilebilir (Dynabeads anti-*E.coli* 0157; Dynal, Inc, Lake Success NY) (38). İMA yönteminin gıda ve su numuneleri ile sığır gaitalarından *E.coli* 0157 izolasyonunda altın standart bir yöntem olduğu kabul edilmektedir. İnsan gaitasından 0157 izolasyonunda ön zenginleştirme için vankomisin (8mg/l), sefiksım (0,05 mg/l) ve sefsulodin (10mg/l) katılmış GN broth hajna veya buffered pepton water besiyerleri kullanılabilir. Bu besiyerine gaita örneği ve anti-*E.coli* Dynabeads manyetik topları kona-

rak bakteriler ile kompleks oluşumu sağlanır ve bu toplar SMAC agar, CT-SMAC agar veya CR-SMAC agara yerleştirildikten sonra oluşan sorbitol negatif koloniler değerlendirilir (38).

Serolojik Yöntemler: Hasta serumundan immün cevabın tespiti diyare yapan diğer *E.coli* türlerinin bulunması nedeniyle kullanışlı bir yöntem değildir. 0157 lipopolisakkaridine karşı geliştirilen antikorlar *E. coli* 044, 055, Salmonella spp., *Yersinia enterocolitica*, *Brucella abortus* ve *V. Cholerae* non-01'in lipopolisakkarit antijenleri ile çapraz reaksiyon verebilir (39).

İntimin proteinine karşı meydana gelen antikorların EPEC ile çapraz reaksiyon verdiği gösterilmiştir. Serolojik yöntemler, HÜS'ü bulunan ve fekal bakteri atılımı bulunmayan hastalarda yararlı olabilir (40).

DNA PROB ve PCR: Temel olarak shiga toksini kodlayan genin tespitini sağlamakla beraber pO157 plazmidi, hemolizin geni ve H7 antijenini kodlayan fli C geni tespit edilebilir. Bakteri kolonileri kullanılarak uygulanan PCR tekniği oldukça spesifik ve sensitif olmasına rağmen direk gaita örnekleri kullanıldığında sensitivite düşmektedir (41-42).

Tedavi

EHEC'in neden olduğu enfeksiyonlarda destek tedavisi uygulanır. Japonya'da gözlenen salgın sırasında erken dönemde kullanılan fosfomisin'in HÜS gelişme riskini azalttığı belirtilmiştir. Fakat bazı retrospektif çalışmalarda, antibiyotik kullanımının HÜS gelişme riskini arttırdığı gösterilmiştir. Antibiyotik kullanımı, bakteride oluşan lizis sonucu toksin salınımında artmaya neden olduğu gibi kolonda bulunan *E.coli* dışındaki bakterilerin ölmesine neden olarak toksinin sistemik absorpsiyonunu arttırdığından tavsiye edilmemektedir. Antimotilite ajanlar HÜS gelişme riskini arttıracığından kullanmaktan kaçınmak gerekir. Diyaliz uygulaması sonucunda HÜS'e bağlı mortalite oranında önemli oranda düşüş görülmüştür (7,43).

Son yıllarda 0157 ve diğer STEC izolatlarının streptomisin, sulfonamidler ve tetrasikline yüksek oranda direnç geliştirdiği tespit edilmiştir (7).

Sularda 1.1 mg/L serbest klor ve 1.2 mg/L total klor bulunması durumunda, bir dakika içerisinde patojenik ve nonpatojenik *E.coli* şuşlarının konsantrasyonunda önemli oranda düşüş görülür (44).

KAYNAKLAR

- Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N Engl J Med 1983; 308: 681-5.
- Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic uremic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet 1983; i: 619-20.
- O'Brien AD, Lively TA, Chen ME, Rothman SW, Formal SB. *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a Shigella dysenteriae 1 (Shiga) like cytotoxin. Lancet 1983; i: 702.
- Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 142-201.
- Karch H, Mittmann CJ, Aleksic S, Datz M. Isolation of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains from patients with haemolytic uremic syndrome by using immunomagnetic separation, DNA based methods, and direct culture. J Clin Microbiol 1996; 34: 516-9.
- Calderwood SB, Acheson DWK, Keusch GT, Barrett TJ, Griffin PM, Strockbine NA, Swaminathan B, Kaper JB, Levine MM, Kaplan BS, Karch H, O'Brien AD, Obrig TG, Takeda Y, Tarr PI, Wachsmuth IK. Proposed new nomenclature for SLT (VT) family. ASM News 1996; 62: 118-9.
- Bopp CA, Brenner FW, Wells JG, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*. In: Murray PR ed. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: AMS Pres. 1999: 459-76.
- Karmali MA. Infection by verocytotoxin producing *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1989; 2: 15-38.
- Pierard D, Huyghens L, Lauwers S, Lior H. Diarrhoeae associated with *Escherichia coli* producing porcine oedema disease verotoxin. Lancet 1991; 338: 762.
- Thomas A, Cheasty T, Chart H, Rowe B. Isolation of verocytotoxin producing *Escherichia coli* serotypes O9ab:H- and O101:H- carrying VT2 variant gene sequences from a patient with haemolytic uremic syndrome. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 1074-6.
- Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and Diagnosis of Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 450-79.
- Bauer ME, Welch RA. Characterization of an RTX toxin from Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. Infect Immun 1996; 64: 167-175.
- Ashkenazi S, Larocco M, Murray BE, Cleary TG. The adherence of verocytotoxin producing *Escherichia coli* to rabbit intestinal cells. J Med Microbiol 1992; 37: 304-9.
- Schmidt H, Karch H, Beutin L. The large-sized plasmids of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains encode hemolysins which are presumably members of the *E. coli* alfa hemolysin family. FEMS Microbiol Lett 1994; 117: 189-96.
- Mills M, Payne SM. Genetics and regulation of heme iron transport in *Shigella dysenteriae* and detection of an analogous system in *Escherichia coli* O157:H7 J Bacteriol 1995; 177: 3004-9.
- Oelschlaeger TA, Barrett TJ, Kopecko DJ. Some structures and processes of human epithelial cells involved in uptake of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 strains. Infect Immun 1994; 62: 5142-50.
- Bower JR. Foodborne Diseases: Shiga toxin producing *E. coli* (STEC). Pediatr Infect Dis J 1999; 18: 909-10.
- Karch H, Bielaszewska M. Sorbitol fermenting shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H strains: Epidemiology, phenotypic and molecular characteristics and microbiological diagnosis. J Clin Microbiol 2001; 39: 2043-9.
- Hess RD, Lieske R, Weber B. The 2nd International Symposium of European study group on Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Acta Clinica Belgica 1999; 54: 33-52.
- Yılmaz A, Gün H, Yılmaz H. Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish cattle. J Food Prot 2002; 65: 1637-40.
- Erensoy MS. İzmir ve çevresindeki sürgün olgularında EPEC ve EHEC kökenlerinin araştırılması. Ege Üni. Tıp Fak. 1990: (Uzmanlık tezi) İzmir.
- Akça MÖ. Gastroenteritli olgularda etken olarak *E. coli* O157:H7 Araştırılması. Gazi Üni. Tıp Fak. 1994: (Uzmanlık tezi) Ankara.
- Hasçelik G, Akan ÖA, Diker S, Baykal M. Campylobacter and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated gastroenteritis in Turkish children. J Diarrheal Dis Res Dec 1991; 9: 315-7.
- Halepliler S, Babür C. Gastroenteritli çocuk ve erişkin yaş guruplarında *E.coli* O157:H7 serotipinin (EHEC) araştırılması. Türk Hij Biyol Der 1993; 6: 9-15.
- Akkuş F. Hazır sığır kıymasında verotoksin oluşturan *E.coli* O157:H7 izolasyonu A. Ü. Sağlık. Bil. Ens. 1996: (Doktora tezi) Ankara.
- Çabalar M, Boynukara B, Gülhan T, Ekin İH. Prevalance of Rotavirus, *Escherichia coli* K99 nad O157:H7 in healthy dairy cattle herd in Van, Turkey. Turk J Vet Amin Sci 2001; 25: 191-6.
- Arslan S. Van ve yöresinde ishalleri buzağularda *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığı üzerine araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üni. Sağlık. Bil. Ens. 2001: (Yüksek lisans tezi) Van.
- Bielaszewska M, Schmidt H, Karmali MA, Khakhria R, Janda J, Blahova K, Karch H. Isolation and characterization of sorbitol fermenting shiga toxin (verocytotoxin) producing *Escherichia coli* O157: H strain in the Czech Republic. J Clin Microbiol 1998; 36: 2135-7.
- Bielaszewska M, Schmidt H, Liesegang A, Prager R, Rabsch W, Tschape H, Cizek A, Janda J, Blahova K, Karch H. Cattle can be a reservoir of sorbitol fermenting shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H strains and a source of human diseases. J Clin Microbiol 2000; 38: 3470-3.

30. <http://www.who.int/inf-fs/en/fact125.html>.
31. <http://www.who.int/fsf/ehec.htm>.
32. Smith HR, Scotland SM. Isolation and identification methods for *Escherichia coli* O157 and other vero cytotoxin producing strains. *J Clin Pathol* 1993; 46: 10-7.
33. Chapman PA, Christine A, Siddons A, Zadik PM, Jewes L. An improved selective medium for the isolation of *Escherichia coli* O157 *J Med Microbiol* 1991; 35: 107-10.
34. Zadik PM, Chapman PA, Siddons CA. Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol* 1993; 39: 155-8.
35. Szabo RA, Todd EC, Jean A. Method to isolate *E. coli* O157:H7 from food. *J Food Prot* 1986; 10: 768-72.
36. Power CA, Johnson RP, McEven SA, McNab WB, Griffiths MW, Osborne WR, DeGrandis SA. Evaluation of the reveal and safepath rapid *Escherichia coli* O157 detection tests for use on bovine feces and carcasses *J Food Prot* 2000; 63: 860-6.
37. Aytaç SA, Mercanoğlu B, Özbaş ZY. Tampon çözeltide immunomanyetik ayırma ve ATP biyoluminesans yöntemleri ile *Escherichia coli* O157:H7 sayımı. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2001; 58: 49-52.
38. Chapman PA, Siddons CA, Manning J, Cheetman C. An outbreak of infection due to verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 in four families: the influence of laboratory methods on the outcome of the investigation. *Epidemiol Infect* 1997; 119: 113-9.
39. Yamada S, Kai A, Kudoh Y. Serodiagnosis by passive hemagglutination test and verotoxin enzyme linked immunosorbent assay of toxin producing *Escherichia coli* infections in patients with hemolytic uremic syndrome. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 955-99.
40. McKee ML, O'Brien AD. Truncated enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 intimin (EaeA) fusion proteins promote adherence of EHEC strains to HEp-2 cells. *Infect Immun* 1996; 64: 2225-33.
41. Gannon VPJ, D'Souza S, Graham T, King RK, Rahn K, Read S. Use of the flagellar H7 gene as a target in multiple PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 656-62.
42. Gannon VPJ, Rashed M, King RK, Thomas EJG. Detection and characterization of the *eae* gene of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* by using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1268-74.
43. Cimolai N, Basalyga S, Mah DG, Morrison BJ, Carter JE. A continuing assessment of risk factors for the development of *Escherichia coli* O157:H7 associated hemolytic uremic syndrome. *Clin Nephrol* 1994; 42: 85-9.
44. <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no3/rice.htm>.

Geliş Tarihi: 17.04.2003

Yazışma Adresi: Dr. Altan AKSOY
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji AD, KIRIKKALE
altanaksoy@mynet.com