



T.C.  
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KIYMADAN *ESCHERİCHIA COLI*  
İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ  
PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**SÜEDA NUR KERİMOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR**

**2026**



T.C.  
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KIYMADAN *ESCHERİCHIA COLI*  
İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ  
PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**SÜEDA NUR KERİMOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Belgin ERDEM**

**KIRŞEHİR**

**2026**

**KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI**  
**ETİK BEYANI**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

20/05/2026

Öğrenci  
Süeda Nur KERİMOĞLU

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	I
TEŞEKKÜR .....	III
ÖZET .....	IV
ABSTRACT.....	V
TABLolar DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Amaç.....	6
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>7</b>
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>15</b>
3.1. Materyal .....	15
3.1.1. Kıyma Örneklerinin Toplanması.....	15
3.1.2. Kullanılan Standart Bakterilerin Temini .....	15
3.1.3. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri.....	15
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik Disklerinin Temin Edilmesi .....	18
3.2. Metot .....	19
3.2.1. Ön Zenginleştirme .....	19
3.2.2. <i>E. coli</i> 'nin İzolasyonu.....	19
3.2.3. İzole Edilen <i>E. coli</i> 'nin Biyokimyasal Testlerle Doğrulanması.....	19
3.2.4. İzolatların Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Süresi (MALDI-TOF) Yöntemiyle Tanımlanması.....	19
3.2.5. İzole Edilen <i>E. coli</i> 'nin Proteaz Testi.....	20
3.2.6. İzole Edilen <i>E. coli</i> 'nin Lipaz Testi.....	20
3.2.7. İzole Edilen <i>E. coli</i> 'nin Hemoliz Testi.....	20
3.2.8. İzole Edilen <i>E. coli</i> 'lerin Farklı Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemiyle Belirlenmesi.....	20
3.2.9. İzole Edilen <i>E. coli</i> 'lerde Biyofilm Oluşumunun Araştırılması.....	22
3.2.9.1. İzole Edilen <i>E. coli</i> İzolatlarında Biyofilm Gelişiminin Kongo Red Agar Yöntemiyle Belirlenmesi .....	22
3.2.9.2. İzole Edilen <i>E. coli</i> İzolatlarında Biyofilm Gelişiminin UV-VIS Spektrofotometre İle Belirlenmesi.....	23
3.2.10. <i>Artemia salina</i> Kullanılarak Toksikite Testi.....	23
3.2.11. <i>Artemia salina</i> Kullanılarak Patojenite Testi .....	25

3.2.12. İstatiksel Analiz .....	25
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>27</b>
4.1. Bulgular.....	27
4.1.1. Bakterinin İzolasyonu.....	27
4.1.2. İzolatların MALDI-TOF MS ile Tanımlanması .....	30
4.1.3. İzolatların Proteinaz ve Lipaz Aktiviteleri .....	31
4.1.4. İzolatların Hemoliz Test Sonuçları.....	33
4.1.5. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları .....	35
4.1.6. İzolatların Biyofilm Test Sonuçları .....	38
4.1.7. Sitotoksosite Test Sonuçları .....	43
4.1.8. Patojenite Test Sonuçları .....	48
4.2. Tartışma.....	50
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>63</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>67</b>
<b>EK-1 .....</b>	<b>83</b>
<b>EK-2 .....</b>	<b>85</b>
<b>EK-3 .....</b>	<b>87</b>
<b>EK-4 .....</b>	<b>89</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>91</b>

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve deneyimleriyle tez çalışmama yön veren; bilimsel düşünce ve çalışma disiplinini kazanmamda önemli katkıları bulunan değerli danışmanım Prof. Dr. Belgin ERDEM'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın şekillenmesinde ve nihai hâline ulaşmasında değerli katkıları bulunan saygıdeğer jüri üyelerim Doç. Dr. Dilek YALÇIN'a ve Doç. Dr. Ebru ÇÖTELİ'ye teşekkür ederim.

Tezimi, kalbimdeki yerleri hiç değişmeyen, sevgileri ve öğretileriyle hayatıma daima yön veren, bıraktıkları güzel izlerle bugünlere gelmemi sağlayan sevgili annem Serap KERİMOĞLU'na ve sevgili babam Kenan KERİMOĞLU'na ithaf ederim. Bu süreçte desteklerini esirgemeyen abim Kürşat KERİMOĞLU'na ve ablam İklil KERİMOĞLU'na teşekkürlerimi içtenlikle sunarım. Yeni çalışmalarla hizmette olmak ümidiyle.

Mayıs, 2026

Süeda Nur KERİMOĞLU

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### KIYMADAN *ESCHERİCHIA COLİ* İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Süeda Nur KERİMOĞLU

#### KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman:** Prof. Dr. Belgin ERDEM  
Yıl: 2026 Sayfa:91  
**Jüri:** Prof. Dr. Belgin ERDEM  
Doç. Dr. Dilek YALÇIN  
Doç. Dr. Ebru ÇÖTELİ

Antibiyotik direnci, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olup, *Escherichia coli* suşlarının gıda kaynaklı patojen olarak rolü giderek artmaktadır. Bu çalışmada, Kırşehir ilindeki yerel market ve kasaplardan toplanan 100 adet kıyma örneğinden 30 adet *E. coli* izolatı elde edilmiştir. Örneklerin ön zenginleştirilmesi TSB besiyerinde yapılmış ve izolasyonlar MacConkey ve EMB agarlarda gerçekleştirilmiştir. İzolatların *E. coli* olduğu, fizyolojik ve biyokimyasal testler (indol, metil red, Voges-Proskauer, Simmons sitrat) ve Gram boyama ile doğrulanmıştır. Kesin tanı için ise MALDI-TOF MS yöntemi kullanılmış ve tüm izolatlar (%100) *E. coli* olarak tanımlanmıştır. Elde edilen izolatlarda proteaz ve lipaz aktiviteleri test edilmiş, bazı izolatların bu enzimleri ürettiği bulunmuştur. Hemoliz testlerinde izolatların %46.7'si kanlı agarda hemolitik aktivite göstermiştir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde tüm izolatlar ampisiline dirençli bulunmuş, bazı izolatlar diğer antibiyotiklere karşı orta duyarlılık veya direnç göstermiştir. MAR indeksi analizleri, bazı izolatların çoklu antibiyotik direnci (MDR) taşıdığını ortaya koymuştur. Biyofilm testlerinde 30 izolatın 14'ünde (%46.7) biyofilm oluşumu gözlenmiş, bunların bazıları güçlü, bazıları orta ve zayıf biyofilm geliştirmiştir. UV-VIS spektrofotometrik yöntemle yapılan biyofilm analizinde seçilen 5 izolatın tamamı biyofilm pozitif bulunmuştur. Sitotoksisite testlerinde *Artemia salina* larvaları farklı *E. coli* konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve LC<sub>50</sub> değerleri 23.00 – 129.37 µg/mL aralığında dağılmaktadır. Patojenite testleri ise %100 mortaliteye yol açarken, larvalarda morfolojik ve fizyolojik bozulmalar tespit edilmiştir. Bu bulgular, kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençli, enzim üretici, biyofilm oluşturabilen ve yüksek patojeniteye sahip olduğunu göstermekte; halk sağlığı açısından taşıdığı riski ve antibiyotik direnç profillerinin izlenmesinin önemini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Escherichia coli*, gıda patojeni, antibiyotik direnci, toksijenite, patojenite.

## ABSTRACT

### MASTER'S THESIS

#### ISOLATION OF *ESCHERICHIA COLI* FROM MINCED MEAT AND INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES

Sueda Nur KERİMOGLU

KIRSEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOLOGY

**Supervisor:** Prof. Dr. Belgin ERDEM  
Year: 2026 Pages:91  
**Juries:** Prof. Dr. Belgin ERDEM  
Assoc. Prof. Dr. Dilek YALCIN  
Assoc. Prof. Dr. Ebru COTELİ

Antibiotic resistance is significant public health issue globally, with *Escherichia coli* strains playing increasingly important role as foodborne pathogens. This successful study obtained 30 *E. coli* isolates from 100 samples collected from local markets and butcher shops in Kırşehir province. Preliminary enrichment of the samples was performed on TSB, and isolations were carried out on MacConkey and EMB agars. The isolates were confirmed as *E. coli* using current biochemical tests and Gram staining. MALDI-TOF MS was used for diagnosis, and all isolates were identified as *E. coli*. Protease and lipase activity was tested in the isolates, and some isolates were definitively found to possess these enzymes. Hemolysis tests showed that 46.7% of the isolates exhibited hemolytic activity on blood agar. Antibiotic exchange tests revealed that all isolates were ampicillin-resistant, with some showing moderate or severe resistance to other antibiotics. MAR index analyses reveal that some isolates exhibit multidrug resistance. In biofilm tests, biofilm formation was observed in 14 out of 30 isolates, some developing strong biofilms, others moderate and weak. Biofilm analysis using UV-VIS spectrophotometric methods, all 5 selected isolates showed biofilm-positive temperatures. Cytotoxicity tests, *Artemia salina* larvae were exposed to different *E. coli* compartments, and LC<sub>50</sub> values ranged from 23.00 to 129.37 µg/mL. Pathogenicity tests resulted in 100% mortality, while morphological and resistant deterioration was detected in the larvae. These findings demonstrate that *E. coli* strains isolated from curling are antibiotic-resistant, enzyme-producing, biofilm-forming, and highly pathogenic; highlighting the public health risks and the increasing prevalence of antibiotic resistance profiles.

**Key Words:** *Escherichia coli*, foodborne pathogen, antibiotic resistance, toxigenicity, pathogenicity.

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo 1.</b> MALDI-TOF skor değerleri. ....	20
<b>Tablo 2.</b> Antibiyogram testinde kullanılan antibiyotik diskleri. ....	21
<b>Tablo 3.</b> <i>E. coli</i> için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI)'nün önerdiği antibiyotik zon çapı sınır değerleri(mm) .....	21
<b>Tablo 4.</b> MAR skor değerleri .....	22
<b>Tablo 5.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının MALDI-TOF sonuçları. ....	31
<b>Tablo 6.</b> İzolatlarda proteaz ve lipaz aktivitesi <sup>a</sup> . ....	33
<b>Tablo 7.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotiklere duyarlı suş sayıları ve yüzde oranları [n(%)]. .....	35
<b>Tablo 8.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının seçilen antibiyotiklere göre duyarlılık durumları. ....	36
<b>Tablo 9.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının MAR indeksi sonuçları .....	37
<b>Tablo 10.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının biyofilm derecesi tablosu (%). ....	39
<b>Tablo 11.</b> Kongo Red Agar biyofilm testine göre izolatların biyofilm oluşturma güçleri. ....	40
<b>Tablo 12.</b> Biyofilm oluşumunun spektrofotometre kullanılarak değerlendirilmesi. ....	41
<b>Tablo 13.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının sitotoksosite aktiviteleri (Ölü Sayısı). ....	45
<b>Tablo 14.</b> <i>E. coli</i> izolatlarında LC <sub>50</sub> değerleri (µg/mL). ....	46
<b>Tablo 15.</b> <i>E. coli</i> izolatlarının <i>A. salina</i> üzerindeki 24 saatlik patojenite etkisi. ....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1. Risk değerlendirme basamakları. ....	2
Şekil 2. Antimikrobiyal direncin ortaya çıkmasının sonuçları ve önleme stratejileri .....	5
Şekil 3. <i>Artemia salina</i> yetiştirme kiti. ....	24
Şekil 4. İzole edilen <i>E. coli</i> 'nin MacConkey agardaki koloni morfolojisi. ....	27
Şekil 5. İzole edilen <i>E. coli</i> 'nin EMB agardaki koloni morfolojisi. ....	28
Şekil 6. A) Voges-Proskauer pozitif kontrol negatif suşlar.....	29
B) Metil red testi pozitif kontrol ve negatif suşlar.....	29
C) İndol testi pozitif kontrol ve negatif suşlar .....	29
D) Simmons citrate testi pozitif kontrol ve negatif suşlar .....	29
Şekil 7. İzole edilen <i>E. coli</i> 'nin mikroskop (1000X) görüntüsü.....	30
Şekil 8. <i>E. coli</i> izolatlarının Skim Milk ve Tributyrin agarlarda sırasıyla proteaz ve lipaz aktivitesi. ....	32
Şekil 9. <i>E. coli</i> suşlarında spot ekimde oluşan hemoliz.....	34
Şekil 10. <i>E. coli</i> suşlarında çizgi ekimde oluşan hemoliz. ....	34
Şekil 11. Antibiyotiklere dirençli, orta duyarlı ve duyarlı suş sayısı. ....	37
Şekil 12. Kongo red agar yöntemiyle biyofilm testinde siyah renk koloni morfolojisiyle pozitif sonuç (3+). ....	38
Şekil 13. Kongo red agar yöntemiyle biyofilm testinde pembe renk koloni morfolojisiyle negatif sonuç.....	39
Şekil 14. <i>E. coli</i> izolatlarında biyofilm oluşumunun spektrofotometre ile belirlenmesi.	41
Şekil 15. <i>E. coli</i> izolatlarında biyofilm oluşumu sonrası kristal viyole ile boyanan örneklerin spektrofotometre küvetindeki görünümü. ....	42
A) Negatif kontrol numune ( <i>S. epidermidis</i> ) .....	42
B) Kör numune (Metanol) .....	42
C) Biyofilm oluşturan izolat numune .....	42
D) Pozitif kontrol numune ( <i>E. coli</i> ATCC 8739) .....	42
Şekil 16. <i>Artemia salina</i> 'nın yumurtadan çıkışı. ....	43
Şekil 17. <i>Artemia salina</i> 'nın görüntüsü.....	44
Şekil 18. Sitotoksosite testi sonucunda <i>A. salina</i> 'lardaki morfolojik değişimler.....	47
Şekil 19. Patojenite testinde <i>A. salina</i> 'larda görülen morfolojik değişimler.....	49

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler Açıklama

<i>mg</i>	:	Miligram
<i>L</i>	:	Litre
<i>mL</i>	:	Mililitre
<i>g</i>	:	Gram
°C	:	Santigrat derece
<i>R</i>	:	Direnç
%	:	Yüzde

### Kısaltmalar Açıklama

<b>AMR</b>	:	Antimikrobiyal Direnç
<b><i>A. salina</i></b>	:	<i>Artemia salina</i>
<b>ATCC</b>	:	American Type Culture Collection
<b>CRA</b>	:	Congo Red Agar
<b>CLSI</b>	:	Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>EAEC</b>	:	Enteraggregative <i>Escherichia coli</i>
<b><i>E. coli</i></b>	:	<i>Escherichia coli</i>
<b>EHEC</b>	:	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>
<b>EIEC</b>	:	Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
<b>EMB</b>	:	Eozin Metilen Mavisı
<b>EPEC</b>	:	Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i>
<b>ETEC</b>	:	Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i>
<b>ESBL</b>	:	Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamases
<b>DAEC</b>	:	Diffusely Adherent <i>Escherichia coli</i>
<b>HC</b>	:	Hemorajik Kolit
<b>HÜS</b>	:	Hemolitik Üremik Sendrom
<b>MDR</b>	:	Multidrug-Resistant
<b>MRL</b>	:	Maximum Residue Limit
<b>PCR</b>	:	Polymerase Chain Reaction
<b>PH</b>	:	Hidrojen İyonu Konsantrasyonu
<b>TGK</b>	:	Türk Gıda Kodeksi
<b>TSA</b>	:	Trypticase Soy Agar
<b>TSB</b>	:	Trypticase Soy Broth
<b>MCA</b>	:	MacConkey Agar
<b>WHO</b>	:	Dünya Sağlık Örgütü

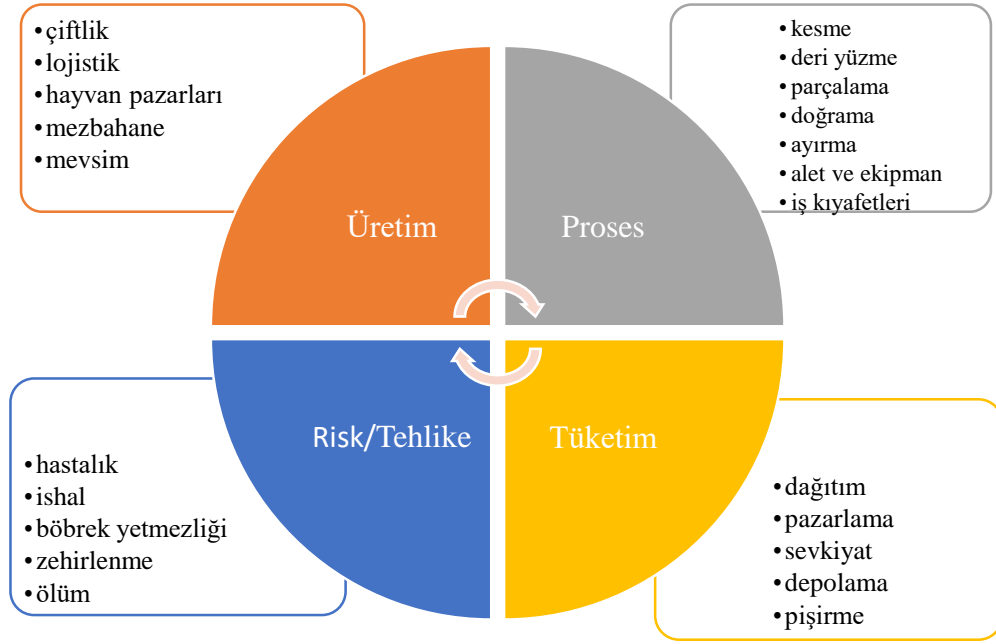
## 1. GİRİŞ

Et, insan beslenmesinde en değerli protein kaynaklarından biridir ve aynı zamanda yağ, B vitamini kompleksi, A ve D vitaminleri, bol miktarda demir, çinko ve diğer mineralleri içermektedir. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliğine göre; çiğ etler, farklı şekillerde işlenerek çeşitli ürünlere dönüştürülmektedir. Büyükbaş, küçükbaş veya kanatlı hayvan karkas etlerinin kemiklerinden ayrılarak kıyma makinesinden geçirilmesi ile elde edilen ürün 'kıyma' olarak tanımlanmıştır (TGK, 2019). Kıyma besleyici, pratik ve çeşitli şekillerde kullanılabilir olması yönünden en çok tüketilen et ürünü olarak karşımıza çıkarken beraberinde birçok problemi de getirmektedir.

Mikrobiyal kontaminasyon ve bozulma riskine karşı en hassas işlenmemiş et ürünlerinden birisi olan kıyma özellikle yüksek su aktivitesi, azotlu bileşikler ve pH gibi kimyasal ve fizyolojik özellikleri nedeniyle hızla bozulmaya meyilli olup, bu durum halk sağlığı açısından potansiyel bir tehdit oluşturabilmektedir. Taze et, kıyma makinesinden geçirilirken, etin iç dokularındaki hücre içi suyun dışarıya çıkması, mikroorganizmalar için ideal bir beslenme ortamı sağlamaktadır. Ortaya çıkan sıvının dış ortama geçmesiyle birlikte mikroorganizmalar, etin yüzeyine yayılmakta ve böylece ürün yapısında mikrobiyal bozulmalara neden olmaktadır.

Kesim öncesinde hijyenik koşullarda bulunan sağlıklı hayvanların etleri, kesim işlemi sonrasında mikrobiyal kontaminasyona açık hale gelmektedir. Özellikle parçalama, soyma ve ayırma gibi mekanik işlemler sırasında; dışkı, deri, personel teması, ekipman ve aletler başlıca kontaminasyon kaynakları olarak mikroorganizmaların ete bulaşmasına neden olabilmektedir.

Et ve et ürünleri üretim zincirinin farklı basamaklarında meydana gelen kontaminasyonlar, patojen mikroorganizmaların yayılımı için kritik bir zemin oluşturmaktadır (Şekil 1). Üretim aşamasındaki mikrobiyal yük; çiftlik koşulları, hayvan pazarları, lojistik süreçler, mezbahadaki uygulamalar ve mevsimsel değişkenler gibi temel faktörlerin etkisi altındadır (Sabla ve ark., 2021). Bunlara ek olarak; deri yüzme, parçalama ve ayırma gibi spesifik proses basamakları, kullanılan alet ve ekipmanların durumu ile personel hijyeni, kontaminasyon riskini doğrudan artıran unsurlar olarak öne çıkmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Risk değerlendirme basamakları (Ebel ve ark., 2004).

Mikroorganizmalar, özellikle gıda kaynaklı bakteriler, gıda güvenliği için en büyük tehdittir ve bu mikroorganizmalar veya toksinleri ile kirlenmiş hayvansal kaynaklı ürünlerin tüketiminden sonra insanlarda enfeksiyonlara veya zehirlenmelere neden olmaktadır (Hemalata ve Virupakshaiyah, 2016). Hayvansal kaynaklı gıdalarda, *Salmonella*, Şiga toksini üreten *Escherichia coli* (STEC), *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi patojenik (hastalığa neden olan) bakteriler hastalığa yol açmaktadır. Et kıyma işlemi sırasında patojenler mevcutsa, etin yüzeyinin daha büyük bir kısmı zararlı bakterilere maruz kalmaktadır. Ayrıca, kıyma işlemi yüzeyde bulunan bakterilerin etin her yerine karışmasına neden olmaktadır. Mezbahalardaki kötü uygulamalar, kontaminasyon veya tehlikeli atık suların oluşumu yoluyla insan sağlığı için risk oluşturabilmektedir. Güvenli uygulamalar, karkasların dışkı ile kontaminasyonunu en aza indirir ve mezbahalarda ve gıda üretiminde gıdaların hijyenik bir şekilde işlenmesi kontaminasyonu azaltabilmektedir (McMillan ve ark., 2019). *E. coli*, sağlıklı bireylerde bol miktarda bulunması ve Gram-negatif enterik bakteriler üzerinde antibiyotik kullanımının uyguladığı seçici baskıyı gösterme yeteneği nedeniyle, hayvancılıkta antimikrobiyal direnç için sıklıkla bir gözlemci mikroorganizma olarak kullanılmaktadır. *E. coli* 'de bulunan direnç mekanizmaları, doğrudan temas, et tüketimi veya dolaylı olarak çevre yoluyla insanlara yayılabilmektedir (Nguyen ve ark., 2015). Bu direnç normalde

farklı cinslere ait olabilen diğer bakterilerle yatay gen transferi yoluyla kazanılmaktadır. Ek olarak, direnç genetik mutasyonlar nedeniyle de ortaya çıkabilmektedir. Çoklu ilaç dirençli (MDR) bakteriler genellikle, antibiyotik direnç genlerini almalarını ve toplamalarını sağlayan integronların ve gen kasetlerinin varlığıyla kolaylaştırılan bir direnç genleri repertuarına sahiptir (McMillan ve ark., 2019). *Escherichia coli*, normal bağırsak mikrobiyotasının bir üyesidir, ancak bazı suşlar virülans genleri taşır ve virülans genlerine bağlı olarak enterik veya ekstraintestinal patojenler olarak sınıflandırılır (Donnenberg, 2013).

*E. coli*, insan ve hayvanların bağırsaklarında yaygın olarak bulunan gram negatif bir bakteridir. Gıdalarda dışkı kontaminasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Li ve ark., 2021; Yang ve ark., 2022). *E. coli* suşlarının çoğu patojenik değildir, ancak birkaçı çok patojeniktir ve sulu ve kanlı ishale neden olur; *E. coli* O157:H7, hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HÜS) ve trombotik trombositopenik purpura gibi yaşamı tehdit eden hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Rahman ve ark., 2017). Bu tür ellerde ve diğer yüzeylerde yaşayabilmekte ve gıdalara kolayca aktarılmaktadır (Ayamah ve ark., 2021).

*E. coli* 'nin et ve et ürünlerinden oluşan gıdaları kontamine ettiği bulunmuştur (Abebe ve ark., 2020). Gıda kaynaklı salgınların, bu ürünlerin, hazırlanması ve pazarlanması sonucu meydana geldiği bilinmektedir (Oje ve ark., 2018). Dünya çapında, *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisi, ilaca dirençli suşların artan yaygınlığı nedeniyle karmaşık hale gelmiştir (Sabaté ve ark., 2008). *E. coli* suşlarında antibiyotiğe karşı bulunan yeni direnç, tüketicilerin sağlığı için ciddi bir tehdittir (Trojan ve ark., 2016).

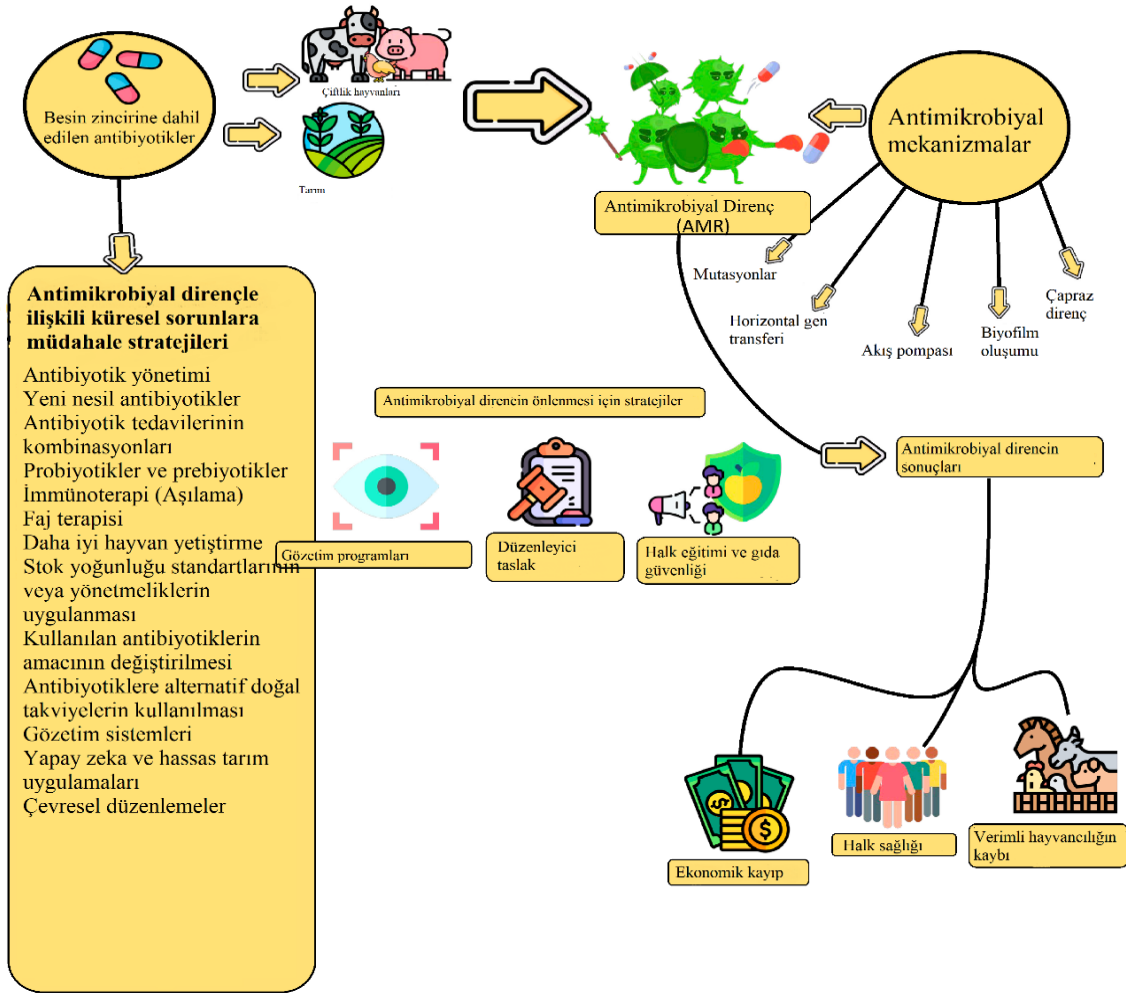
*E. coli* suşları, antimikrobiyal direnç genlerini edinme ve aktarma konusunda oldukça yeteneklidir (Jouini ve ark., 2009; Koo ve Woo, 2011). *E. coli* 'nin diğer bakteri türleriyle genetik materyal alışverişinde bulunduğu gösterilmiştir ve bu bakterinin, insanlarda hastalığa neden olan geçici bakteriyel patojenlere antibiyotik direnç genlerini geçirmesi mümkündür (Alexander ve ark., 2010). *E. coli* gıda ürünlerinde kolonize olabilmekte ve antimikrobiyal direnç genleri geliştirebilmektedir (Jouini ve ark., 2009). Antibiyotik direnci (Antimicrobial Resistance, AMR), Dünya Sağlık Örgütü tarafından küresel bir halk sağlığı krizi olarak tanımlanmakta olup, özellikle gram-negatif bakterilerde çoklu ilaç direnci (MDR) oranlarının artması ciddi endişe yaratmaktadır (WHO, 2023).

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonların morbidite ve mortalitesini ve ekonomik etkisini en aza indirmek için uzun yıllardır insan ve veteriner hekimliğinde kullanılmaktadır. Ancak, *E. coli* bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç geliştirmiştir ve bu durum halk sağlığı endişelerini artırmıştır. Antibiyotiklerin gelişigüzel ve artan kullanımı, dirençli bakterilerin yüksek oranda bulunmasıyla bağlantılıdır. Örneğin, antibiyotiklerin hayvanları beslemek için uzun süreler boyunca düşük dozlarda kullanılması, besin zincirindeki diğer bakterilere karşı antibiyotik direncinin yayılmasına neden olabilmektedir (Lima ve ark., 2017).

Bir dizi ekolojik alanda (tarım, hayvanlar ve insanlar) antibiyotik ve diğer antimikrobiyal ajanlarının kullanımı, dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Karabasil ve ark., 2025). Hayvancılıkta antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı ve hayvan hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerin yanlış kullanımı, hayvanlarda antibiyotiğe dirençli *E. coli* suşlarının ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Antibiyotikler hastalıkların tedavisinde ve ölüm oranının azaltılmasında önemli rol oynamaktadır. Ancak bakteriler bu antibiyotiklere karşı etkili direnç mekanizmaları geliştirmiştir.

Gıda kaynaklı enfeksiyonlar, antibiyotiklere direnç kazanmış gıda kaynaklı bakteriyel patojenlerin artışı nedeniyle giderek daha sorunlu hale gelmektedir. Bu durum, tüketicilerde tedavisi zor ve karmaşık enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Kümes hayvanları ve sığır eti dahil olmak üzere çeşitli gıdalarda antibiyotik dirençli bakteriyel patojenlerin varlığı artmaktadır. Bu konu önemli ölçüde incelenmiş olsa da, et ve et ürünleri işletmelerinde AMR'nin ortaya çıkmasını kolaylaştırmadaki potansiyel rolü nedeniyle antibiyotik kullanımı en tartışmalı konu olmuştur.

Gıda zinciri bağlamında AMR'yi ele almak için etkili risk azaltma stratejileri, ulusal ve uluslararası düzeylerde sektörler arası iş birliğinin teşvik edilmesine dayanmaktadır. Ulusal düzeyde veterinerlik alanında, insan sağlığı için kritik öneme sahip antibiyotikler de dahil olmak üzere veterinerlik ilaçlarının onaylanması ve kontrolü için düzenleyici bir çerçeve oluşturulması gerekmektedir. İzlenebilirlik ve gözetimin entegre edilmesi, antimikrobiyal direnç sorununun başarıyla ele alınması için büyük önem taşımaktadır. Çiftliklerde ve mezbahalarda hastalık önleme (etkili aşıların kullanımı) ve iyi hijyen uygulamaları gibi biyogüvenlik önlemleri yoluyla hayvanları iyileştirmek hayvansal gıda üretim sistemlerinde antibiyotik ihtiyacını azaltmaktır.



**Şekil 2.** Antimikrobiyal direncin ortaya çıkmasının sonuçları ve önleme stratejileri (Kurubić ve ark., 2025).

Antimikrobiyal direnç genlerini gıda kaynaklı patojenlerde dahil olmak üzere diğer türlere aktarabilen patojen olmayan mikroorganizmaların yaygınlığından kaynaklanmaktadır. Direnci kodlayan genler, farklı bakteriler arasında ve ayrıca yatay gen transferi (yani, transformasyon, konjugasyon ve transdüksiyon) yoluyla gıda ve insanlardaki bakterilere bulaşabilmektedir (Verraes ve ark., 2013). İlaç direncinin kökeni yalnızca üretimle sınırlı tutulamaz, çünkü gıda zincirinin kendisi de direnç üretebilmektedir. Gıda üretiminde biyositlerin yaygın kullanımının (dezenfektanlar, koruyucular ve diğer kimyasallar veya gıda dağıtım zinciri boyunca uygulanan çevre ve işlem koşulları) oluşturduğu baskının, mikrobiyal popülasyonların geçici direnç geliştirerek seçici bağışıklık baskısından kaçmak için adaptasyona yönlendirdiği gösterilmiştir (Capita ve Alonso-Calleja, 2012; Händel ve ark., 2013).

Birçok gıda, özellikle hayvansal kökenli olanlar ve kanalizasyon kirliliğine maruz kalan gıdalar, patojenlerin insanlara yayılmasında araç olarak kabul edilmiştir (ICMSF, 2006). Bu nedenle, bu çalışma Kırşehir'deki yerel market ve kasaplardan alınan kıyma örneklerinden *E. coli* 'yi, izole etmeyi, tanımlamayı ve karakterize etmeyi amaçlamıştır. Kıymadan elde edilen *E. coli* 'de bulunan virülans özelliklerini, direnç profillerini ve genetik belirteçleri kapsamlı bir şekilde değerlendirmektir.

### **1.1. Amaç**

Mevcut tez çalışması, kasaplardan alınan kıymalardan izole edilen *E. coli* suşlarında bulunan virülans özellikleri, toksijenite, patojenite potansiyeli ile birlikte antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi ve gıda güvenliği ile halk sağlığı açısından risk oluşturan direnç mekanizmalarını analiz etmeyi hedeflemektedir. *E. coli* 'nin gıda kökenli hastalıklara yol açma potansiyelini değerlendirmek ve halk sağlığı üzerindeki etkilerini analiz etmektir. Tarım ve veterinerlik alanında antibiyotik kullanım önerilerinin gözden geçirilmesi ve böylece direnç sorununu önlemeye yönelik stratejilerin geliştirilmesidir. Toplumda *E. coli* ve genel olarak gıda güvenliği konusunda farkındalık oluşturmak, insanları bilgilendirmek ve güvenli gıda tüketimi konusunda eğitmektir. Elde edilen verilerin akademik ve endüstriyel araştırmalar için bir temel oluşturması, böylece *E. coli* araştırmalarına yönelik literatüre katkıda bulunmaktır. Bu hedefler doğrultusunda, gıda güvenliği ve antibiyotik direnci sorunuyla mücadelede önemli bir role sahip olması amaçlanmaktadır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mevcut tez çalışması ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar geçmişten günümüze incelenmiş ve elde edilmiş bulgu ve sonuçlar araştırılan konu etrafında yeniden değerlendirilmesi yapılmıştır.

*E. coli*, *Enterobacteriaceae* familyasına ait, Gram-negatif, fakültatif anaerob bir bakteri olup insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminde normal flora üyesi olarak bulunabilmektedir. Bununla birlikte bazı suşlar, sahip oldukları özgül virülans faktörleri nedeniyle patojen özellik göstererek ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Patojen *E. coli* suşları; enterotoksijenik (ETEC), enterohemorajik (EHEC/STEC), enteropatojenik (EPEC), enteroinvaziv (EIEC), enteroagregatif (EAEC) ve difüz adezyon gösteren (DAEC) gruplar altında sınıflandırılmaktadır. Bu gruplar arasında özellikle Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC), insan sağlığı açısından yüksek risk oluşturmakta ve gıda kaynaklı salgınlarla ilişkilendirilmektedir (Kolodziejek ve ark., 2022).

İnsanlarda *E. coli* enfeksiyonları başlıca gastrointestinal sistem hastalıklarıyla kendini göstermektedir. EHEC suşları, kanlı ishal ve hemorajik kolite neden olabilmekte, özellikle çocuklar ve yaşlılarda hemolitik üremik sendrom (HÜS) gibi hayatı tehdit eden komplikasyonlara yol açabilmektedir. HÜS patogenezinde, Shiga toksinlerinin (Stx1 ve Stx2) böbrek endotel hücrelerinde protein sentezini inhibe ederek hücre hasara neden olması önemli rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra *E. coli*, üriner sistem enfeksiyonları, neonatal menenjit, septisemi ve yara enfeksiyonları gibi ekstraintestinal enfeksiyonlardan da sorumlu tutulmaktadır (Elbarbary ve ark., 2025). Hayvanlarda ise *E. coli* enfeksiyonları özellikle genç hayvanlarda enteritis, ishal ve septisemi şeklinde görülmektedir. Ruminantlar, özellikle sığırlar, STEC suşları için doğal rezervuar olarak kabul edilmekte ve genellikle asemptomatik taşıyıcı durumundadır. Bu durum, patojen *E. coli* 'nin gıda zinciri aracılığıyla insanlara taşınmasında önemli bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır (Ayenew ve ark., 2021).

Kıyma gibi et ürünlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının tür düzeyinde tanımlanmasında MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) yöntemi günümüz mikrobiyoloji laboratuvarlarında hızlı ve güvenilir bir yaklaşım olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem, izolasyon sonrası elde edilen bakteriyel kolonilerden protein profilini ölçerek karakteristik kütle spektrumları oluşturur ve referans veri tabanıyla karşılaştırarak tür tanımlaması yapmaktadır. Crespi ve ark.

(2025) yapmış oldukları çalışmada Arjantin’de kıyma örneklerinden izole edilen 266 bakteri suşundan 97’si MALDI-TOF ile *E. coli* olarak doğrulanmıştır; bu doğrulama, geleneksel biyokimyasal testlere kıyasla daha hızlı ve spesifik sonuçlar sağladığı çalışmada raporlanmıştır (Crespi ve ark., 2025). Ayrıca farklı coğrafi bölgelerde yapılan çalışmalarda kıyma ve diğer et ürünlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının MALDI-TOF MS ile yüksek güvenilirlikte tanımlanabildiği bildirilmiştir (Khater ve ark., 2021). Bu teknik, gıda kaynaklı patojenlerin tespitinde özellikle hızlı geri bildirim gerektiren halk sağlığı izleme programlarında tercih edilmektedir (Jadhav ve ark., 2018).

*E. coli* ’nin patojenitesi büyük ölçüde sahip olduğu virülans faktörlerine bağlıdır. Shiga toksinleri, enterohemolizin (hlyA), adezinler, fimbrial yapılar, proteazlar, lipazlar ve biyofilm oluşturma yeteneği bu faktörler arasında yer almaktadır. Enterohemolizin, RTX (repeats in toxin) toksin ailesine ait olup hücre membranında porlar oluşturarak eritrositlerin lizisine ve doku hasarına neden olmaktadır. Özellikle EHEC (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*) suşlarında sık görülen bu faktör, bakterinin sitotoksik etkisini artırmaktadır (Pakbin ve ark., 2021).

*E. coli* suşlarında tanımlanan çeşitli proteazlar, konak dokuların yıkımına katkı sağlayarak kolonizasyonu ve invazyonu kolaylaştırmaktadır. Lipaz aktivitesi ise hücre zarının bütünlüğünü bozarak bakterinin yayılımını desteklemekte ve sitotoksiteyi artırmaktadır. Bu enzimatik virülans faktörlerinin, özellikle ekstraintestinal patojen *E. coli* (ExPEC) suşlarında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Suleiman, 2024).

Biyofilm oluşumu, *E. coli* ’nin çevresel koşullara, dezenfektanlara ve antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını sağlayan kritik bir adaptasyon mekanizmasıdır. Biyofilm üreten suşların gıda işleme yüzeylerinde ve hayvansal ürünlerde daha uzun süre canlı kalabildiği ve bu durumun gıda kaynaklı enfeksiyon riskini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca biyofilm yapısı, virülans genlerinin ekspresyonunu artırarak patojeniteyi güçlendirmektedir (Sasoon ve ark., 2025).

Tüm bakteriler, hastalık geliştirmek için belirli virülans faktörlerine sahiptir. Virülans faktörleri, bakterilerin konakçıyı hücresel düzeyde kolonize etmesine yardımcı olan moleküllerdir. Virülans faktörleri yüzeye bağlı, salgılanan veya hücre içi olabilmekte ve hastalığın patogenezinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Sharma ve ark., 2017).

Tuzlu su karidesi olan *Artemia salina*, kısa yaşam döngüsü, kolay elde edilebilmesi ve çevresel stres faktörlerine karşı duyarlılığı nedeniyle toksisite ve patojenite testlerinde yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Bu yaklaşımla test edilen toksik ajanların *Artemia* üzerindeki akut öldürücülük etkisi ölçülerek bakteri veya toksinlerin potansiyel virülansı hakkında ön bilgi elde edilebilir (Banti ve Hadjikakou, 2021). Özellikle mikrobiyal virülans çalışmalarında, *Artemia* 'lar farklı bakteriyel patojenlere karşı enfeksiyon modeli olarak da kullanılmıştır; örneğin *E. coli*, *Vibrio vulnificus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteri türlerinin *Artemia* üzerindeki öldürücü etkisi incelenmiş ve bakteriyel virülansa bağımlı olarak canlı organizma mortalitesini artırdığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2014). Bu tür modeller, gıda kaynaklı patojen *E. coli* izolasyonlarının toksin üretme potansiyeli ve patojenite derecesi hakkında hızla değerlendirme yapılmasına olanak tanımaktadır.

Genelde gıda kaynaklı *E. coli* izolasyonlarında virülans genlerinin varlığı moleküler yöntemlerle gösterilse de, *Artemia* gibi canlı model organizmalarda fonksiyonel etkinliğinin değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Ertas ve ark., 2013). Böylece, kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının toksijenite ve patojenite profillerini sadece genotipik göstergelerle değil, canlı organizmalarda mortalite oranlarıyla da değerlendirmek mümkün olur. Bu yaklaşım, özellikle ön çalışma veya toksin etki derecesi hakkında hızlı bilgi gerektiğinde tercih edilmektedir (Banti ve Hadjikakou, 2021; Lee ve ark., 2014).

Elde edilen sonuçlar, *E. coli* izolatlarının belirli konsantrasyonlarda *A. salina* larvalarında mortaliteye neden olabildiğini göstermektedir. Bu durum, özellikle gıdalardan izole edilen suşların yalnızca gastrointestinal sistemle sınırlı kalmayıp, farklı biyolojik sistemler üzerinde de stres oluşturabilecek potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir. Literatürde Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit (LPS) yapısının sucul organizmalarda toksik etki oluşturabileceği bildirilmektedir (Raetz ve ark., 2007). Bu bağlamda gözlenen mortalitenin, bakteriyel endotoksin varlığı ile ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Antibiyotikler hem insanlarda hem de hayvanlarda bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Granowitz ve Brown, 2008). Son zamanlarda, hayvanlarda antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımı halk sağlığı için büyük bir endişe haline gelmiştir. Hayvansal ürünlerin hasat edilmesinden veya pazarlanmasından önceki

geri çekilme sürelerinin göz ardı edilmesi nedeniyle, antibiyotik kalıntıları artık halk sağlığı için yükselen bir başka endişe kaynağıdır (Adzitey, 2020). Hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntıları antibakteriyel direnç gelişimi arttırmaktadır. Gıdalarda antibiyotiğe dirençli gıda kaynaklı patojenlerin varlığı, insanlarda gastrointestinal rahatsızlıklara yol açabilmektedir (Hossain ve ark., 2022). Diğer yandan, antibiyotiğe dirençli patojenler, geni dikey ve yatay iletim yoluyla diğer mikroorganizmalara aktarabilmektedir (Granowitz ve Brown, 2008; Javadi ve Khatibi, 2017) ve bu da antibiyotiklere dirençli patojenlerin yayılmasına neden olabilmektedir.

Yapılan çalışmalar, gıda zincirinde çok çeşitli kaynaklardan çoklu dirençli bakteriyel patojenlerin ortaya çıktığını göstererek hem veterinerlik hem de insan sağlığı sektörlerinde antibiyotiklerin doğru kullanımına olan ihtiyacı artırmıştır (Abolghait ve ark., 2020; Algammal ve ark., 2020; Enany ve ark.,2020). İlaça dirençli patojenler, tedavisi zor hastalıklara, artan ölüm oranlarına ve mali yüke neden olabilmektedir. Ayrıca, Dünya Sağlık Örgütü, ilaca dirençli patojenlerin neden olduğu enfeksiyonları büyük bir küresel halk sağlığı krizi olarak değerlendirmektedir. Çünkü etkili antibiyotiklerin keşfi, bakterilerin antibiyotik direncindeki artışla aynı hızda ilerlememiştir (de Mesquita Souza Saraiva ve ark., 2022).

Lechner ve ark. (2020) dirençli bakterilerin hayvansal kaynaklardan doğrudan temas, dolaylı olarak ise gıda veya su (çevre) yoluyla insan popülasyonuna bulaşabileceğini bildirmiştir. Bunlar arasında en baskın et kaynakları olarak kümes hayvanları, domuzlar ve sığırlar da yer almaktadır. Antibiyotik direnci, antibiyotiklerin çoğunlukla daha az dirençli bakteriyi öldürmesi, daha dirençli bakterilerin ise rekabet olmadan çoğalması ve direnç sağlayan genlerini aktarması nedeniyle gelişmektedir.

Parvin ve ark. (2020)'nın yapmış oldukları çalışmada Bangladeş'teki beş megakente dokuz süpermarketin 40 satış noktasından toplam 113 dondurulmuş tavuk eti örneği satın alınmış ve *E. coli* 'nin izolasyonu ve identifikasyonu, kültürel ve biyokimyasal özelliklerin yanı sıra Polymerase Chain Reaction (PCR) testine dayanarak yapılmıştır. Örneklerin %76.1'inin *E. coli* için pozitif olduğunu, bunların %86'sının genişletilmiş spektrumlu beta- laktamaz (ESBL) üreticisi olduğunu göstermiştir. Yüksek dirençli olarak oksitetrasiklin (%93) ve amoksisilin (%91.9) için gözlemlenmiştir, bunu ampisilin (%89.5), trimetoprim-sülfametoksazol ve pefloksasin (%88.4) ve tetrasiklin

(%84.9) izlemiştir. En önemlisi, izolatların %89.6'sı karbapenemlere dirençli olduğu gözlemlenmiştir.

Baghani ve ark. (2019) tarafından yürütülen çalışmada İran'da yıl boyunca toplam 41 sığır eti ve 41 tavuk eti örneği toplanmıştır. Örneklerden tetrasiklin ve siprofloksasin ekstrakte edilmiştir ve dolaylı rekabetçi enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile test edilmiştir. Genel olarak, sığır etinin %100'ü ve tavuk eti örneklerinin %95'inden fazlası siprofloksasin için pozitif bulunmuştur. Tavuk eti örneklerinden sadece birinde siprofloksasin konsantrasyonu maksimum kalıntı sınırından (MRL) yüksek bulunmuştur. Siprofloksasin için sığır eti örneklerinin hiçbiri MRL'yi aşmamıştır. Tetrasiklin için sığır etinin %75'i ve tavuk eti örneklerinin %58'i pozitif bulunmuştur. Tüm örneklerde tetrasiklin konsantrasyonları MRL'den düşük çıkmıştır. Tavuk eti örneklerinde her iki antibiyotik de sığır eti örneklerine göre daha yüksek seviyelerde olduğu ortaya çıkmıştır.

Sarkar ve ark. (2023), ABD'nin Tennessee eyaletinde, çiftçi pazarlarında "antibiyotiksiz" olarak pazarlanan sığır etindeki tetrasiklin, sülfonamid ve eritromisin kalıntılarını ölçtükleri bir çalışma yürütmüşlerdir. Tüm sığır eti örneklerinin bu antibiyotiklerin kalıntılarını içerdiğini bulmuşlardır. Tetrasiklin kalıntısının konsantrasyonu %51.75 µg/kg iken, sülfonamid ve eritromisin kalıntıları için konsantrasyonlar sırasıyla 3.50 µg/kg ve 3.67 µg/kg bulunmuştur. AMR'in yayılmasına yol açan olaylar zinciri, etkili nedenler olarak tanımlanabilmektedir. AMR ile ilişkili birincil mikroorganizmalardan biri *E. coli* 'dir.

Dsani ve ark. (2020) tarafından Gana'nın Büyük Accra bölgesindeki çiğ etler üzerinde yapılan bir çalışmada gentamisin (%97) ve siprofloksasin (%92) için yüksek duyarlılık oranları bildirilmiştir, ancak örneklerin %17'sinin sefuroksime dirençli olduğu ve *bla* TEM geninin vakaların %4'ünde tespit edildiği belirtilmiştir. Kassem ve ark. (2020) Lübnan'da çiğ kıymadan izole edilen *E. coli* izolatlarının %1.7'sinin sefotaksime, %2.5'inin ise gentamisine dirençli olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, izolatların %5.8'i kanamisine, %30'u ise streptomisine dirençliydi; ancak tüm izolatlar amoksisilin-klavulanik asit ve imipeneme duyarlı kalmıştır.

Musuka ve ark. (2025) tarafından yakın zamanda yapılan bir inceleme Güney Afrika sığır eti değer zincirinde, antimikrobiyal etken maddelerinin aşırı ve yanlış kullanımının, kusurlu üretim uygulamalarının, gayri resmi piyasa yapılarının ve yetersiz

çevre yönetiminin, AMR'nin artan tehdidine önemli ölçüde katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, gıda güvenliğini ve halk sağlığını tehdit eden dirençli patojenlerin ortaya çıkmasını ve yayılmasını kolaylaştırmıştır. Antimikrobiyal etken maddelerinin düzenleyici denetimini ve yönetimini iyileştirme potansiyeline sahip, entegre bir "Tek Sağlık" yaklaşımına acil ihtiyaç olduğunu vurgulamaktadır. Altyapı ve kapasitenin iyileştirilmesi ve piyasaların resmileştirilmesi, sığır eti endüstrisinin ve gıda güvenliğinin sürdürülebilirliğinin sağlanacağı acil çözümler gerektirmektedir.

Kumar ve ark. tarafından 2024 yılında yapılan araştırmaya göre, antibiyotiklere dirençli bakterilerdeki artış, kontamine gıda tüketiminden kaynaklanan hastalık sayısındaki artışa katkıda bulunmuştur. Dahası, gıdalardaki antibiyotik kalıntıları, alerjik reaksiyonlar, hepatotoksisite, mutajenite, kanserojenite, toksik etkiler, nefropati ve antibakteriyel direnç gelişimi dâhil olmak üzere bir dizi olumsuz etkiyle ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak, antibiyotik dirençli bakteriler ve bulaşıcı hastalıklar, tedavi başarısızlığı, hastalık süresinin uzaması, sağlık harcamalarının artması ve ölüm oranlarının yükselmesi risklerini artırır ve kamu sağlığı sistemlerine önemli bir yük oluşturmaktadır (Founou ve ark., 2018). Tedavi gecikmeleri veya başarısızlıkları, etkili antibiyotiklere sınırlı erişim, tedavi sırasında ilaca dirençli suşların devam etmesi ve direnç genlerinin bir arada bulunması ve artan virülansı gibi faktörler toplu olarak bu sorunu daha da kötüleştirmektedir.

Madhup ve ark. (2021) tarafından yapılan araştırmada, et örneklerindeki en bol mikroorganizma *E. coli* idi. Ayrıca, ilaç MDR'si en yaygın olarak *E. coli* 'de görülmüştür ve ampisilin, siprofloksasin ve gentamisine direnç göstermiştir. Hayvancılık endüstrisinde antibiyotiklerin daha kontrollü kullanımı ve et satıcılarında daha hijyenik bir ortam gereklidir. Et örneklerinde *E. coli* tespit edilirse, (düşük) gıda hijyeninin bir göstergesi olarak kullanılabilir ve *E. coli* 'nin AMR suşlarının varlığı insanlarda enfeksiyon riskini göstermektedir.

Gweshe ve ark. (2020) tarafından yürütülen diğer bir çalışmada 32 sığır polonisi dilimi, 32 sığır burger köftesi ve 32 fermente süt örneğinden oluşan 96 numune elde edilmiştir. *E. coli* örneklerin 20'sinde (%21) bulunmuş olup, resmi (%13) pazara göre gayri resmi (%29) pazarda daha yaygın olarak görülmüştür. *E. coli* izolatından 20 izolattan 6'sı (%30) Shiga toksin üreten *E. coli* iken geri kalanı (%70) virülans genleri açısından negatifti. *E. coli* 'nin baskınlığı et ürünlerinde (%25) olduğu belirlenmiştir.

Toplam *E. coli* sayıları resmi ve gayri resmi pazarlar arasında önemli ölçüde farklı olmadığı görülmüştür. Tüm *E. coli* izolatları MDR idi, AM direnç yaygınlığı Sülfametoksazol için %25'ten Penisilin ve Eritromisin için %100'e kadar değişmiştir. Gıdalarda *E. coli* varlığı dışkı kontaminasyonunu ve diğer enterik patojenlerin muhtemel varlığını göstermektedir. Gıdalarda virülans ve AMR *E. coli* suşlarının varlığı gıda güvenliğini ve halk sağlığını tehdit etmektedir. Her iki sektörden (resmi ve gayri resmi) gelen hazır tüketime yönelik hayvansal ürünler, düzeltici önlemler öngörülmediği ve alınmadığı takdirde AMR *E. coli* türlerinin yayılmasına yol açabilmektedir.

Adzitey (2020) Gana'daki Wa mezbahalarından almış olduğu 50 karaciğer, 50 böbrek ve 50 etten oluşan toplam 150 sığır eti örneği incelemiştir. *E. coli* insidansı karaciğerde en yüksek (%98) bulunmuştur, bunu böbrek (%92) ve et (%88) izlemiştir. İzole edilen *E. coli* teikoplanine karşı yüksek dirençliydi (%97.78). Amoksisilin/klavulanik asit, seftriakson, kloramfenikol, siprofloksasin, gentamisin ve sülfametoksazol/trimetoprim için  $\geq$ %80 duyarlılık gözlemlenmiştir. Çoklu antibiyotik direnç (MAR) indeksi 0.11 (bir antibiyotiğe dirençli) ile 0.56 (beş antibiyotiğe dirençli) arasında değişmiştir. İzolatların %26.66'sında çoklu ilaç direnci gözlemlenmiştir.

Adzitey ve ark. (2021) tarafından yapılmış olan diğer bir çalışmada ise incelenen 200 et örneğinin %38'inde *E. coli* pozitif bulunmuştur. Özellikle, *E. coli* çiğ sığır etinde en yüksek (%80) ve tüketime hazır domuz etinde en düşük (%0) seviyede bulunmuştur. Bu çalışmada, %50.1'inin MAR indeksi 0.3 ile 0.7 arasındaydı; bu da *E. coli* izolatlarının çoğunun antibiyotiklere ve bunların kullanımına maruz kalan kaynaklardan izole edildiği anlamına gelmektedir. *E. coli* 'nin çok daha yüksek bir yüzdesi çoklu ilaç direnci sergilemiştir. İki, üç, on ve sekiz *E. coli* izolatu sırasıyla altı, beş, dört ve üç farklı antimikrobiyal sınıfa dirençliydi. Çiğ etlerden, tüketime hazır etlerden ve/veya çevrelerinden elde edilen çoklu ilaç dirençli *E. coli* izolatları Zhou ve ark., (2022) ve Parvin ve ark., (2020) tarafından da bildirilmiştir .

Cordero-López ve ark., (2025) tarafından Meksika'nın Hidalgo eyaletindeki Huasca de Ocampo kasabasında satılan 10 adet kıyma örneğinden izole edilen *E. coli* MAR indeksleri 0.33 – 1.00 arasında değişmiş, bazı izolatlar 12 farklı antibiyotiğe karşı direnç göstererek MAR indeksi 1.0 olarak raporlanmıştır. Bu, et ürünlerinde hem yüksek düzey antibiyotik maruziyeti hem de güçlü bir direnç profili ortaya koymaktadır.

Kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotiklere dirençli olması, halk sağlığı açısından kritik bir öneme sahiptir. Antibiyotik dirençli *E. coli* 'nin gıda kaynaklı bulaşması, enfeksiyonların tedavisini zorlaştırarak hem bireysel hem de toplumsal sağlık açısından sorun teşkil etmektedir. Özellikle kıyma gibi çiğ tüketilebilecek veya yanlış pişirildiğinde bakteri barındırabilecek ürünlerde antibiyotik direnç genleri taşıyan *E. coli* varlığı, bu bakterilerin insanlara geçişini ve direnç genlerinin insan mikroflorasında veya patojenlerde yayılmasını kolaylaştırır. Bu durum; uygun antibiyotik tedavisinin başarısını düşürür, hastanede yatış süresini uzatır ve daha yüksek tedavi maliyetlerine yol açar. Ayrıca dirençli *E. coli* suşları, direnç genlerini yatay gen transferi ile diğer bakteri türlerine aktararak daha geniş bir antibiyotik direnç havuzu oluşturabilir ve toplumda çoklu ilaç direnci sorununu tetikleyebilir. Çeşitli araştırmalarda et ürünlerinden izole edilen *E. coli* 'nin geniş bir antibiyotik direncine sahip olduğunu ve bunların potansiyel bir halk sağlığı riski oluşturduğunu göstermiştir. Bu nedenle hijyenik gıda işleme uygulamalarının iyileştirilmesi, antibiyotik kullanımının sınırlandırılması ve direnç izleminin güçlendirilmesi kritik öneme sahiptir.

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kıyma Örneklerinin Toplanması**

Araştırmada kullanılan kıyma örnekleri Kırşehir ilinde faaliyet gösteren market ve kasaplardan satın alınmıştır. Toplanan 100 adet dana kıyma örnekleri steril poşetler içerisinde alınarak soğuk zincirde aynı gün içerisinde Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Biyoloji laboratuvarına getirilmiş ve analiz edilinceye kadar +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

##### **3.1.2. Kullanılan Standart Bakterilerin Temini**

Bu araştırmada, pozitif kontrol olarak *Escherichia coli* ATCC 8739, negatif grup olarak *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 kullanılmıştır. Tüm standart suşlar Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

##### **3.1.3. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri**

Besiyerlerinin tamamı üretici firmalarının tarifi üzerine hazırlanmıştır.

###### **3.1.3.1. İzolasyon Besiyerleri**

###### **Tryptic Soy Agar (TSA) Besiyerinin Hazırlanması**

Tryptic Soy Agar hazırlanırken 40 g TSA’ya (Merck, Germany) 1000 mL distile su eklenip çözdürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Önceden pastör fırında 180 °C’de steril edilmiş cam petrilere eklenip 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

###### **Trypticase Soy Broth (TSB) Besiyerinin Hazırlanması**

Tryptic Soy Broth hazırlanırken 30 g TSB’ye (Merck, Germany) 1000 mL distile su eklenip çözdürülmüştür. Tüplere 4’er mL eklenerek 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edildi. 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

###### **Eosin Metilen Mavisi (EMB) Agar Besiyerinin Hazırlanması**

Eosin Metilen Mavisi Agar hazırlanırken 36 g EMB’ye 1000 mL distile su eklenip çözdürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Önceden pastör fırında 180 °C’de steril edilmiş cam petrilere eklenip 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

### **MacConkey Agar Besiyerinin Hazırlanması**

MacConkey agar hazırlanırken 50 g MacConkey agara 1000 mL distile su eklenip çözdürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Önceden pastör fırında 180 °C’de steril edilmiş cam petrilere eklenip 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

#### **3.1.3.2. İdentifikasyon Besiyerleri**

### **Tributyryn Agar (TAB) Besiyerinin Hazırlanması**

Tributyryn Agar hazırlanırken 20 g agar üzerine 10 mL/L tributyrin eklenerek 990 mL distile su ile çözdürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra steril petri kaplarına dökülmüştür. 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

### **Skim Milk Agar (SMA) Besiyerinin Hazırlanması**

Skim Milk Agar hazırlanırken 20 g agar 1000 mL distile su ile çözdürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra steril petri kaplarına dökülmüştür. 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

### **Simmons Citrate Agar Besiyerinin Hazırlanması**

#### **Bileşimi:**

Magnezyum sülfat	0.2 g
Amonyum di hidrojen fosfat	0.2 g
Tuz (NaCl)	5 g
Sodyum amonyum fosfat	0.8 g
Tribazik sodyum sitrat	2 g
Brom timol mavisi	0.08 g
Agar	15 g

Hazırlanan karışımdan 23 g tartılarak ve 1 L saf su ile çözülmüştür. Süzgeç kâğıdından süzölmüştür. pH’sı 7.1 ±0.2 ayarlanmıştır. Test tüplerine 10 – 15 mL kadar dağıtılmıştır. Tüpler otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Otoklavlamadan sonra tüpler yatık olarak katılaştırılmıştır. 37 °C’de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

### **Metil Red- Voges Proskauer (Clark-Lubs) Besiyeri Hazırlanması**

#### Bileşimi:

Polipepton	7 g
Glukoz	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5 g
Distile su	1 L

Karışım yapılacak maddeler hafifçe ısıtılıp suda eritilmiştir. Süzgeç kâğıtlarından süzölmüştür. pH'sı 6.9'a ayarlanmıştır ve 1 L'ye tamamlanmıştır. Miktarı 5'er mL olacak şekilde steril tüplere taksim edilip 121 °C'de 15 dakika otoklavladıktan sonra 37 °C'de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

### **3.1.3.3. Biyofilm Üretiminde Kullanılan Besiyeri**

#### **Luria Bertani Broth Salinity (LBBS)**

#### Bileşimi:

Tripton	10 g
Maya Ekstraktı	5 g
NaCl	20 g

Hazırlanan karışımdan 35 g tartılıp 1 L distile su içerisinde çözdüröldükten sonra steril tüplere ayrılarak 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Kontaminasyon kontrolü için 37 °C'de 24-48 saat etüve kaldırılmıştır.

#### **Kongo Red Agar (CRA) Besiyerinin Hazırlanması**

Kongo Red Agar hazırlanırken 37 g kalp beyin infüzyonu, 15 g agar, 50 g sakkaroz, 0.8 g Kongo kırmızısı eklendi 1000 mL distile su ile çözdürölmüştür. 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra steril petri kaplarına dökölmüştür. 37 °C'de 24-48 saat kontaminasyon kontrolü için etüve kaldırılmıştır.

### 3.1.3.4. Çalışmada Kullanılan Ayıraçlar

#### İndol Ayıracı (Kovaks) Ayıracı

##### Bileşimi:

p-Dimetilaminobenzaldehit	10 g
İzoamil alkol	150 mL
HCl ( Konsantre)	50 mL

#### Metil Red Ayıracı

##### Bileşimi:

Metil Red	0.050 g
Etil Alkol (% 95 'lik)	150 mL
Distile su	100 mL

### 3.1.4. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik Disklerinin Temin Edilmesi

Çalışmada kullanılan izolatların antibiyogram testi için kullanılan antibiyotik diskleri Bioanalyse (Türkiye) firmasından temin edilmiştir.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Ön Zenginleştirme

Laboratuvara getirilen kıyma örneklerinden steril şekilde (1:10) oranında TSB'da ön zenginleştirme için 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir.

### 3.2.2. *E. coli* 'nin İzolasyonu

Steril bir öze ile TSB'da zenginleştirilmiş kıyma örneğinden alındı ve *E. coli* 'nin tanımlanması için ayırıcı ortam olarak MacConkey agar plakalarına tek koloni düşecek şekilde ekildi ve 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. İyi seçilmiş olduğu varsayılan tipik koloniler TSB'a alınarak 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Seçici ortam Eosin Methylene Blue (EMB) Agar'da tek koloni düşecek şekilde ekildi ve 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Morfolojik olarak tipik koloniler metalik parlaklık üreten saflığına inanılan *E. coli* kolonileri elde edildi. Elde edilen koloni TSB alınarak 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra besin agarına (TSA) tek koloni düşecek şekilde ekildi. İyi izole edilmiş bir koloni seçildi ve biyokimyasal doğrulama için kullanıldı.

### 3.2.3. İzole Edilen *E. coli* 'nin Biyokimyasal Testlerle Doğrulanması

Biyokimyasal testler için, 30 adet izole *E. coli* izolatlarının TSB'de üreyen 24-48 saatlik taze kültürlerinden alınmıştır. İndol, Metil kırmızısı, Voges-Proskauer (VP) ve Sitrat (IMViC) testleri gibi testler, test örneklerinde *E. coli* varlığını doğrulamak için yapılmıştır. Triptofan kullanımı (indol testi) için pozitif (kırmızı halka), Metil kırmızısı için pozitif, sitrat kullanımı için negatif (yeşil eğik) ve Voges-Proskauer (VP) testi için negatif olan koloniler, *E. coli* pozitif olarak kabul edilmiştir (Quinn ve ark., 2002). Ayrıca, bakteri kolonisinin Gram boyama işlemi yapılmıştır (Cheesbrough, 2005).

### 3.2.4. İzolatların Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Süresi (MALDI-TOF) Yöntemiyle Tanımlanması

İzolatlar, 37 °C'de 16-24 saat boyunca TSA üzerinde büyütülmüştür. Koloni materyali steril bir pipet ucuyla toplanmıştır ve MALDI hedef plakasına ince bir film halinde yayılmıştır. Hava ile kurutulduktan sonra, her numune 0,5 µL matris çözeltisi ( $\alpha$ -Siyano-4-hidroksisinnamik asit, CHCA) ile kaplanmıştır ve kurumaya bırakılmıştır. Spektrumlar, MALDI Biotyper sistemi (Bruker Daltonik, Bremer, Almanya) ile elde edilmiştir ve referans veritabanıyla (Bruker Daltonik) karşılaştırılmıştır. Çalışmada yapılan MALDI-TOF MS analizleri Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma

Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen SAG.A4.25.001 nolu proje kapsamında desteklenmiş olup, analizler ise Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 1.** MALDI-TOF skor değerleri.

Skor	Tanımlama	Sembol	Renk
2.300 ... 3.000	Yüksek olasılıkla tür düzeyinde tanımlama	(+++)	yeşil
2.000 ... 2.299	Kesin cins (genus) düzeyinde tanımlama	(++)	yeşil
1.700 ... 1.999	Olası tür düzeyinde tanımlama	(+)	sarı
0.000 ... 1.699	Güvenilir olmayan tanımlama	(-)	kırmızı

### 3.2.5. İzole Edilen *E. coli* 'nin Proteaz Testi

30 adet *E. coli* izolatlarının TSB'de üreyen 24-48 saatlik taze kültürlerinden skim milk agar besiyerine her izolatdan birer öze dolusu spot ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonrasında besiyerleri gözle incelenmiştir. İzolatların oluşturduğu zon miktarına göre 4+, 3+, 2+, + ve - olarak proteinaz aktiviteleri değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2009).

### 3.2.6. İzole Edilen *E. coli* 'nin Lipaz Testi

30 adet *E. coli* izolatlarının TSB'de üreyen 24-48 saatlik taze kültürlerinden tributyrin agar besiyerine her izolattan birer öze dolusu spot ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonrasında besiyerleri gözle incelenmiştir. İzolatların oluşturduğu zon miktarına göre 4+, 3+, 2+, + ve - olarak lipaz aktiviteleri değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2009).

### 3.2.7. İzole Edilen *E. coli* 'nin Hemoliz Testi

Test edilecek *E. coli* suşları TSB besiyerinde 37 °C'de 24 saat üretilmiştir. Her bir kültürden %5 insan kanı içeren kanlı agar petrilere çizgi ve spot ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Suşların hemolitik aktiviteleri bakteri etrafında oluşan berrak zon çapı ölçülerek kayıt edilmiştir. İnkübasyon sonucunda bakteri kolonisi etrafındaki saydam zon hemoliz aktivitenin göstergesi olarak kabul edilmiştir (Brenden ve Janda, 1987).

### 3.2.8. İzole Edilen *E. coli* 'lerin Farklı Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemiyle Belirlenmesi

Kıymadan izole edilen 30 adet *E. coli* izolatlarının Tryptic Soy Broth (TSB)'de 24-48 saat inkübasyonu sonrası taze kültürlerinden steril swap ile Tryptic Soy Agar

(TSA)'ya sürülerek ekim yapılmıştır. Disklerin yerleştirilmesinin ardından plaklar 37 °C'de 24–48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası disklerin etrafında oluşmuş zonların ölçümleri yapılarak değerlendirilmiştir. İnkübasyon sonrası disk etrafında oluşan inhibisyon zonları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020) kriterlerine göre yorumlandı. Çoklu antibiyotik direnç (MDR) izolatları, üç veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösteren izolatlar olarak kabul edildi (Magiorakos ve ark., 2012).

**Tablo 2.** Antibiyogram testinde kullanılan antibiyotik diskleri.

No	Antibiyotik
1	Ampisilin (AM-10 10 µg)
2	Amoksisilin (AMC-30 20/10 µg)
3	Kanamisin (K-30 30 µg)
4	Aztreonam (ATM-30 30 µg)
5	Sefiksim (CFM-5 5 µg)
6	Sefaleksim (CL-30 30 µg)
7	Sefotaksim (CTX-30 30 µg)
8	Kolistin (CT-10 10 µg)
9	Seftazidim (CAZ-30 30 µg)
10	Enrofloksasin (ENR-5 5 µg)
11	Seftriakson (CRO-30 30 µg)
12	Gentamisin (CN-10 10 µg)
13	Nalidiksik asit (NA-30 µg)
14	Oksitetrasiklin (T-30 30 µg)
15	Streptomisin (S-10 10 µg)

**Tablo 3.** *E. coli* için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI)'nin önerdiği antibiyotik zon çapı sınır değerleri(mm) (CLSI,2020).

Antibiyotikler	<i>Escherichia coli</i>		
	Duyarlı ≥	Orta Duyarlı	Dirençli ≤
Ampisilin (AM-10 10 µg)	17	14-16	13
Amoksisilin (AMC-30 20/10 µg)	18	14-17	13
Kanamisin (K-30 30 µg)	18	14-17	13
Aztreonam (ATM-30 30 µg)	21	18-20	17
Sefiksim (CFM-5 5 µg)	19	16-18	15
Sefaleksim (CL-30 30 µg)	15	–	14
Sefotaksim (CTX-30 30 µg)	26	23-25	22
Kolistin (CT-10 10 µg)	–	–	–
Seftazidim (CAZ-30 30 µg)	21	–	20
Enrofloksasin (ENR-5 5 µg)	21	17-20	16
Seftriakson (CRO-30 30 µg)	23	20-22	19
Gentamisin (CN-10 10 µg)	18	15-17	14
Nalidiksik asit (NA-30 µg)	19	14-18	13
Oksitetrasiklin (T-30 30 µg)	19	15-18	14
Streptomisin (S-10 10 µg)	15	12-14	11

\*Kolistin için disk difüzyon yöntemi önerilmediğinden duyarlılık sınır değerleri verilmemiştir (CLSI, 2020).

Ayrıca çoklu antibiyotik direnci (MAR) indeksi, Krumperman (1983) formülü kullanılarak hesaplandı; burada “a”, belirli bir izolatın dirençli olduğu antibiyotiklerin sayısını, “b” ise test edilen antibiyotiklerin toplam sayısını temsil etmektedir.

MAR indeksi =  $a/b$

a = İzolatın direnç gösterdiği antibiyotik sayısı

b = İzolata test edilen toplam antibiyotik sayısı

**Tablo 4.** MAR skor değerleri (Krumperman, 1983).

MAR değeri	Yorum
$\leq 0.2$	Düşük riskli kaynak
$> 0.2$	Yüksek antibiyotik baskısı olan ortam
$\geq 0.5$	Çoklu antibiyotik direnci (MDR) göstergesi

### 3.2.9. İzole Edilen *E. coli* 'lerde Biyofilm Oluşumunun Araştırılması

Bu çalışmada kıyma örneklerinden izole edilen toplam 30 adet *Escherichia coli* izolatı arasından, hemolitik aktivite gösteren ve aynı zamanda lipaz ve proteinaz üretimi pozitif bulunan 5 izolat ileri analizler için seçilmiştir. Bu izolatlar, potansiyel olarak daha yüksek virülans özellikleri sergileyebilecekleri düşünülerek biyofilm oluşturma kapasitesi, sitotoksinite (*Artemia salina* testi), ve patojenite açısından değerlendirilmiştir. Böylece, virülans faktörleri pozitif olan izolatlarda toksijenite, patojenite ve biyofilm oluşumu arasındaki ilişkinin daha net ortaya konması amaçlanmıştır.

Biyofilm oluşumu, Victoria ve ark. (2021) metoduna göre spektrofotometre küvetinde UV-VIS Spektroskopide 570 nm’de absorbans ölçümüne uyarlanmış formu ile yapılarak ve Freeman ve ark. (1989) tarafından tanımlanan Kongo Red Agar yöntemiyle değerlendirilmiştir.

#### 3.2.9.1. İzole Edilen *E. coli* İzolatlarında Biyofilm Gelişiminin Kongo Red Agar Yöntemiyle Belirlenmesi

Hazırlanmış ve sterilizasyon testi yapılmış kongo red agarlara, TSB’da 37 °C’de üreyen 24-48 saatlik 30 adet *E. coli* taze kültürlerinden ekim yapılmış ve biyofilm gelişimini test etmek için 37 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerleri tek tek gözle değerlendirilerek koyu kırmızı renk oluşturanlar (3+),

kırmızı renk oluşturanlar (2+), pembe renk oluşturanlar (+), beyaz kalanlar (-) olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.9.2. İzole Edilen *E. coli* İzolatlarında Biyofilm Gelişiminin UV-VIS Spektrofotometre İle Belirlenmesi**

Biyofilm gelişiminin değerlendirilmesinde (Victoria ve ark., 2021) tanımladığı metodun formunda farklılık yapılarak spektrofotometre kuvvetlerinde biyofilm gelişimi incelenmiştir. İzole edilen *E. coli* izolatları 37 °C'de 18 saat boyunca Luria Bertani besiyerinde büyütülmüş ve kültürler seyreltilmiştir (1:10). 190 ml LB içeren her küvete 100 µl'lik kültür eklenerek 37 °C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası küvet içeriği boşaltılıp steril distile su ile yıkanmıştır. Tüpler ters pozisyonda kuruma kâğıdına bırakılıp kurutulduktan sonra 2 ml %100 metanol (Sigma-Aldrich) 15 dakika sabitlenmiştir. Metanol boşaltılıp 2 ml %0.1'lik kristal viyole ile boyanıp 30 dakika bekletilmiştir. Sonrasında tüpler steril distile su ile yıkanıp tekrar kurutma kâğıdına ters pozisyonda kurumaya bırakılmıştır. Kurutulduktan sonra 2 ml %96 etanol eklenerek biyofilm oluşumu Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Biyoloji laboratuvarında bulunan Thermo Fisher Scientific-Evolution™60S marka UV-VIS Spektrofotometre ile 570 nm'de optik yoğunluk ölçülerek belirlenmiştir.

- OD < 0.17 = negatif
- 0.17 – 0.34 = zayıf pozitif
- 0.35 – 0.68 = orta pozitif
- > 0.68 = güçlü pozitif

### **3.2.10. *Artemia salina* Kullanılarak Toksikite Testi**

*Artemia* toksisite testi, biyolojik aktif bileşiklerin genel toksisite potansiyelini değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılan hızlı ve ekonomik bir biyotesttir. Bu çalışmada *Artemia salina* kullanılarak beş izole edilmiş *E. coli* suşunun farklı konsantrasyonlardaki sitotoksik etkileri, standart tuzlu su karidesi öldürücü biyolojik test protokolü (Meyer ve ark., 1982) izlenerek değerlendirilmiştir. Deney canlılarının elde edilmesi amacıyla öncelikle, *A. salina* yetiştirme kiti (MEÇ) laminer akışlı bir kabin içerisine yerleştirilmiş ve hava motoru bağlanmıştır (Şekil 3). Deniz suyu hazırlamak için 38 g deniz tuzu 1 L damıtılmış su içerisinde çözülerek otoklavlanmıştır. Hazne içerisine koyulan otoklavlanmış 500 mL yapay deniz suyuna 0.01g *A. salina* yumurtaları bırakılmıştır. Otoklavlanmış yapay deniz suyu içerisindeki *A. salina* canlıları, 25 °C'de

48 saat hava ve ışıklı bir ortamda bekletildikten sonra yumurtaları çatlayarak dışarı çıkmışlardır.



**Şekil 3.** *Artemia salina* yetiştirme kiti.

Çalışmada kullanılacak olan altı *E. coli* izolatu 37 °C'de 24 saat boyunca TSB'da taze inkübe edilmiş ve 10.000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı steril 22-µm milipore filtre kullanılarak süzölmüştür. Farklı konsantrasyonlarda gerçekleştirilen her seyreltme, *A. salina* 'lar üzerinde test edilmiş yedi konsantrasyon türüne sahip olacak şekilde 1000, 750, 500, 250, 125, 62.5 ve 31.25 µg/mL ve kontrol olarak ayarlanmıştır. Daha sonra, bu tüplerin her birinin içerisine on *A. salina* eklenmiştir. İçerisinde *A. salina* bulunan tüpler 28 °C'de 24 saat boyunca yedi farklı bakteri süspansiyonu konsantrasyonuna (31.25, 62.5, 125, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL) maruz bırakılmıştır. Otoklavlanmış yapay deniz suyunun içerisinde on *A. salina* tüpü negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Pozitif kontrol grubu için ise *E. coli* ATCC 8739 suşu kullanılmıştır. 24 saat inkübasyon sonrasında canlı ve ölü larvalar sayılmış ve mortalite yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen mortalite verileri kullanılarak %50 öldürücü konsantrasyon (LC<sub>50</sub>) değeri belirlenmiştir. LC<sub>50</sub> hesaplamasında iki konsantrasyon arasında kalan %50 mortalite değeri için sonuçlarından elde edilen doz–yanıt verilerine probit analizi uygulanmıştır (Finney, 1971). *Artemia* biyotesti, bitki ekstraktları ve doğal

ürünlerin biyolojik aktivitelerinin ön taramasında yaygın olarak kullanılan güvenilir bir yöntemdir (Meyer ve ark., 1982; Carballo ve ark., 2002).

### 3.2.11. *Artemia salina* Kullanılarak Patojenite Testi

Toksisite testinde kullanılmış olan *E. coli* izolatlarından geriye kalan natant kısmı steril bir şekilde alınarak patojenite testi için kullanılmıştır. 1 mL'sinde  $5 \times 10^8$  CFU/mL ve  $4 \times 10^8$  CFU/mL mikroorganizma bulunan 2 ayrı süspansiyon hazırlanarak bunlar 2 mL otoklavlanmış yapay deniz suyu ve 2 mL TSB bulunan tüplere eklenmiştir. İçerisine 10 adet canlı *A. salina* eklenerek tüpler 28 °C'de 24 saat gözlem altında tutulmuştur. Negatif kontrol grubu olarak otoklavlanmış yapay deniz suyu içerisinde 10 adet canlı *A. salina* kullanılmıştır. Pozitif grup için ise *E. coli* ATTC 8739 suşu kullanılmıştır. 24 saat bekletildikten sonra, canlı ve ölü *A. salina* sayısı büyüteç yardımıyla sayılmıştır. Ayrıca mikroskop altında makroskobik değişimler incelenmiştir.

### 3.2.12. İstatiksel Analiz

Sitotoksik aktivitenin değerlendirilmesinde *Artemia salina* larvaları üzerinde gerçekleştirilen Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sonuçlarından elde edilen doz–yanıt verilerine probit analizi uygulanmıştır (Finney, 1971). Probit analizi, biyolojik deney verilerinin istatistiksel olarak modellenmesinde, özellikle doz–yanıt ilişkisinin doğrusallaştırılmasında ve  $LC_{50}$  değerinin hesaplanmasında yaygın biçimde kullanılan bir yöntemdir. Analiz öncesinde, negatif kontrol grubunda (deniz suyu) gözlemlenen spontan mortalite Abbott (1925) formülü uygulanarak ham ölüm yüzdelerinden ayrıştırılmıştır:

$$\text{Düzeltilmiş Mortalite (\%)} = [(\text{Ham Mortalite \%} - \text{Kontrol Mortalite \%}) / (100 - \text{Kontrol Mortalite \%})] \times 100$$

Bu düzeltme, test maddesinin gerçek sitotoksik etkisinin ortam kaynaklı ölümlerden arındırılarak doğru biçimde tahmin edilmesini sağlamaktadır (Abbott, 1925). Probit dönüşümünde matematiksel tanımsızlığa yol açan %0 ve %100 mortalite değerleri, Finney (1971) tarafından önerilen uç değer düzeltmesiyle sırasıyla %5 ve %95 olarak yeniden kodlanmıştır (n = 10 için).

Düzeltilmiş mortalite yüzdeleri, standart normal dağılımın kümülatif yoğunluk fonksiyonunun tersi ( $\Phi^{-1}$ ) aracılığıyla probit değerlerine dönüştürülmüştür (Probit =  $\Phi^{-1}(p) + 5$ ). Her izolat için  $\log_{10}(\text{doz}) - \text{probit}$  değer çiftleri üzerinde en küçük kareler

yöntemiyle lineer regresyon uygulanmış (Probit =  $a \times \log_{10}[\text{Doz}] + b$ ) ve  $LC_{50}$  değeri Probit = 5 koşulu çözümlenerek elde edilmiştir:

$$LC_{50} = 10^{[(5 - b) / a]}$$

$LC_{50}$  değerleri için %95 güven aralıkları Fieller (1944) yöntemiyle, regresyonun artık ortalama kareler hatası (MSE) ve kareler toplamı (Sxx) kullanılarak hesaplanmıştır (df =  $n - 2 = 5$ ;  $t_{0.025,5} = 2.571$ ). Regresyon modelinin uyum iyiliği  $R^2$  katsayısı ile değerlendirilmiş;  $R^2 \geq 0.95$  değeri kabul edilebilir doz-yanıt doğrusal uyumu için yeterlilik ölçütü olarak benimsenmiştir. Toksikite sınıflandırması Meyer ve ark. (1982) kriterlerine göre yapılmıştır:  $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$  yüksek sitotoksik,  $100-500 \mu\text{g/mL}$  orta sitotoksik,  $500-1000 \mu\text{g/mL}$  düşük sitotoksik,  $> 1000 \mu\text{g/mL}$  sitotoksik değil. Tüm hesaplamalar  $\Phi^{-1}$  için Akima-Moshier rasyonel yaklaşımı kullanılarak yazarlar tarafından uygulanmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Bulgular

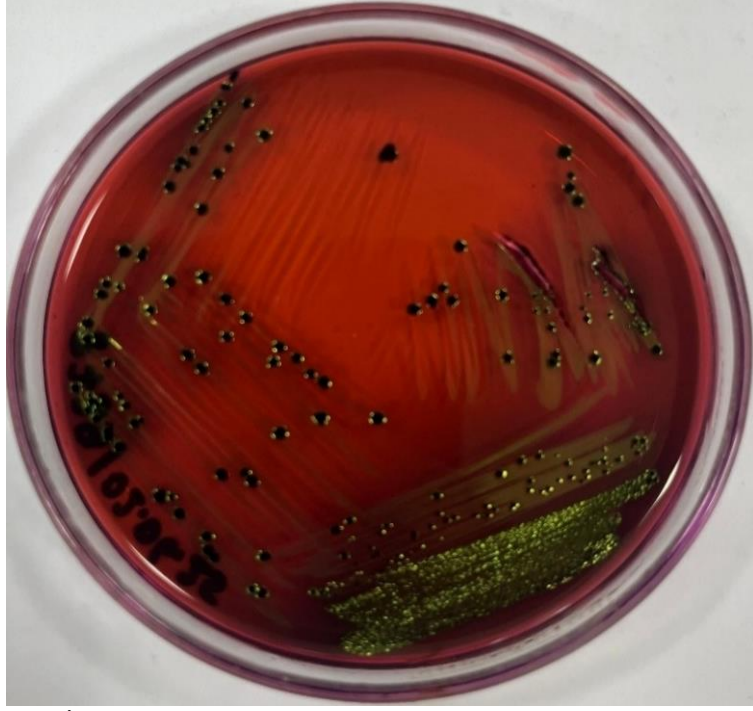
#### 4.1.1. Bakterinin İzolasyonu

Bu çalışmada Kırşehir ilindeki yerel market ve kasaplardan alınan 100 adet kıyma örneklerinden elde edilen 30 adet *E. coli* suşu kullanılmıştır. Toplanan örnekler ön zenginleştirme için TSB içerisinde 24 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. İlk izolasyonlar MacConkey Agar besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besi ortamlarındaki laktoz pozitif özellik gösteren (laktoz fermentörleri) pembe koloniler belirlenip, 24 saat süreyle 37 °C'de TSB besi ortamlarına alınarak inkübe edilmiştir (Şekil 4).



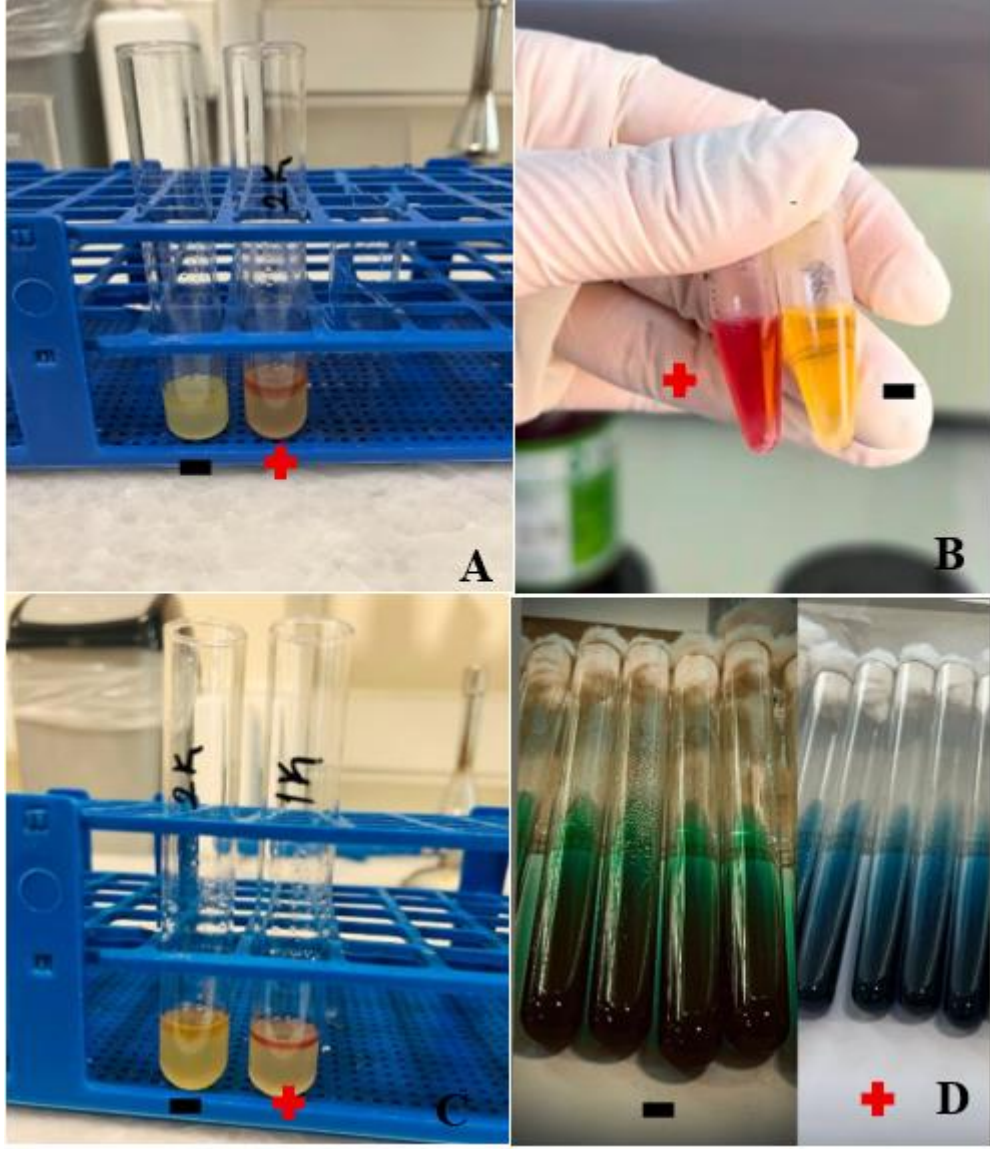
Şekil 4. İzole edilen *E. coli*'nin MacConkey agardaki koloni morfolojisi.

*E. coli* olduğu fizyolojik ve biyokimyasal testlerle belirlenen TSB besiyerindeki kültürler ikinci olarak selektif besiyeri olan EMB'ye çizgi ekim yöntemiyle ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinden sonra besiyerinde yeşil metalik parlak koloniler belirlenmiştir (Şekil 5). TSB besiyerine alınarak 24 saat süreyle 37 °C'de inkübe edilmiştir.



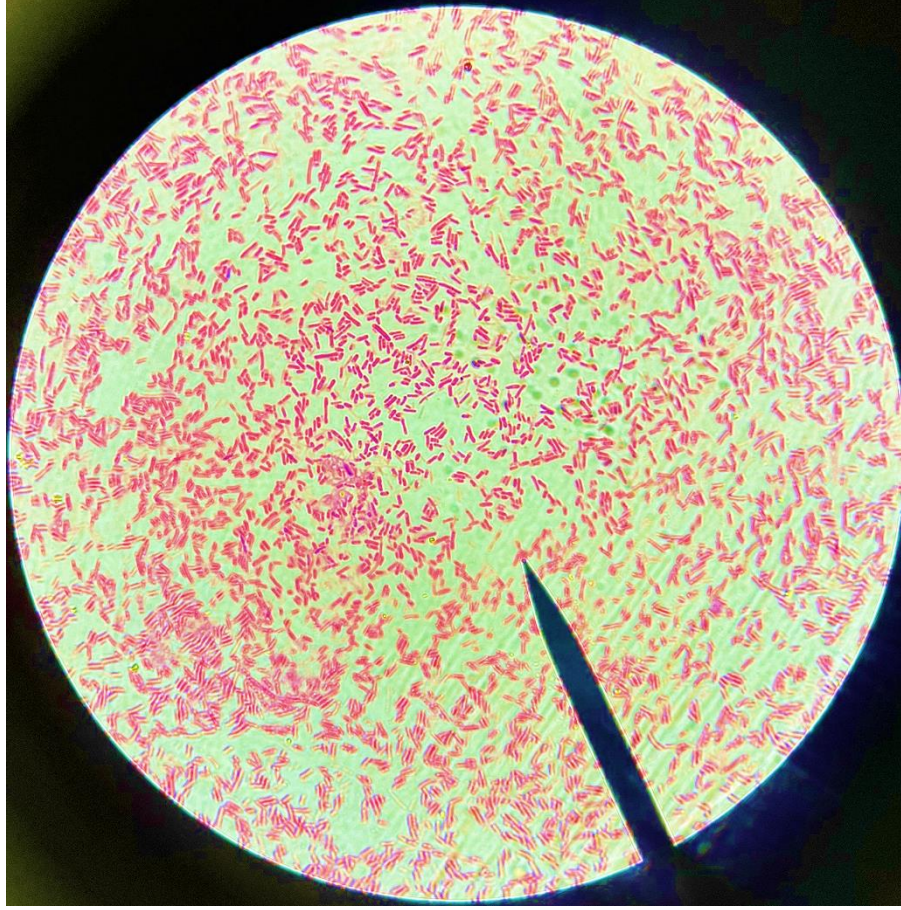
**Şekil 5.** İzole edilen *E. coli*'nin EMB agardaki koloni morfolojisi.

İzolatların seçimleri yapılırken koloni morfolojileri, fizyolojik ve biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bütün bu testler *E. coli* ATCC 8739 referans suşu için de yapılmış ve izolatların sonuçları ile mukayese edilmiştir. Bu testlerden indol pozitif, metil red pozitif, simmons citrate negatif ve Voges-Proskauer negatif sonuç veren örnekler *E. coli* pozitif olarak tespit edilmiştir (Şekil 6).



**Şekil 6.** A) Voges-Proskauer pozitif kontrol negatif suşlar  
B) Metil red testi pozitif kontrol ve negatif suşlar  
C) İndol testi pozitif kontrol ve negatif suşlar  
D) Simmons citrate testi pozitif kontrol ve negatif suşlar

Biyokimyasal testleri yapılan izolatlar için ayrıca gram boyamaları yapılarak çubuk şeklinde pembe renkli gram negatif koloni morfolojisine sahip *E. coli* oldukları tespit edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. İzole edilen *E. coli*'nin mikroskop (1000X) görüntüsü.

Mikrobiyolojik muayeneleri gerçekleştirilerek *E. coli* olduğu belirlenen TSB besiyerindeki izolatlar TSA besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekilerek 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra izolatların tanımlamalarının yapılması ve çalışmalarda kullanılabilmelerin için stokları hazırlanıp -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

#### 4.1.2. İzolatların MALDI-TOF MS ile Tanımlanması

Tanımlama işlemi için, TSA besiyerine tek koloni düşürme yöntemiyle ekilmiş 24 saatlik taze *E. coli* izolatları kullanılmıştır. Çalışmada yapılan MALDI-TOF MS analizleri Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen SAG.A4.25.001 nolu proje kapsamında desteklenmiş olup, analiz için gönderilen Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre tanımlanan; 30 adet izolatın hepsi (%100) *E. coli* olarak tanımlanmıştır.

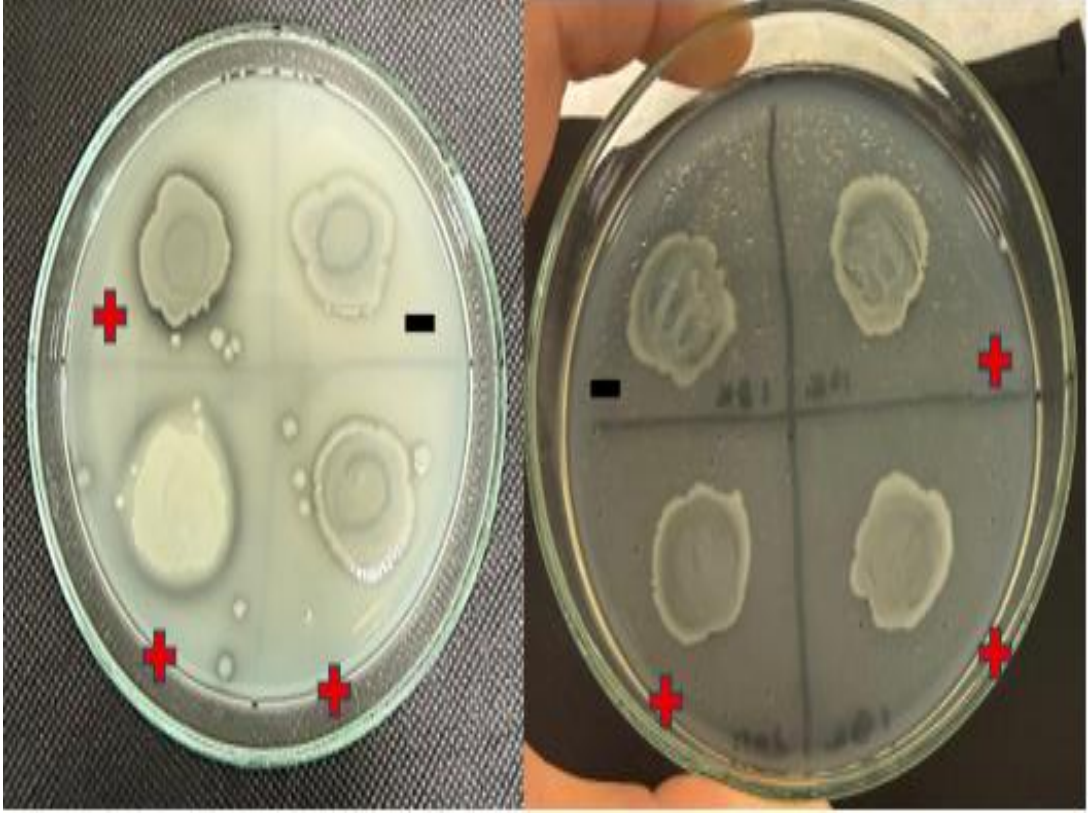
**Tablo 5.** *E. coli* izolatlarının MALDI-TOF sonuçları.

İzolat No	Tanımlama Sonucu	MALDI-TOF Skoru
1K	<i>Escherichia coli</i>	2.208
2K	<i>Escherichia coli</i>	2.423
3K	<i>Escherichia coli</i>	2.163
5K	<i>Escherichia coli</i>	2.253
7K	<i>Escherichia coli</i>	2.147
8K	<i>Escherichia coli</i>	2.059
9K	<i>Escherichia coli</i>	2.385
10K	<i>Escherichia coli</i>	2.035
11K	<i>Escherichia coli</i>	2.129
12K	<i>Escherichia coli</i>	2.015
13K	<i>Escherichia coli</i>	2.017
14K	<i>Escherichia coli</i>	2.059
16K	<i>Escherichia coli</i>	2.285
17K	<i>Escherichia coli</i>	2.179
18K	<i>Escherichia coli</i>	2.211
19K	<i>Escherichia coli</i>	2.156
20K	<i>Escherichia coli</i>	2.012
21K	<i>Escherichia coli</i>	2.399
22K	<i>Escherichia coli</i>	2.311
23K	<i>Escherichia coli</i>	2.027
24K	<i>Escherichia coli</i>	2.458
25K	<i>Escherichia coli</i>	2.351
26K	<i>Escherichia coli</i>	2.356
27K	<i>Escherichia coli</i>	2.251
28K	<i>Escherichia coli</i>	2.426
29K	<i>Escherichia coli</i>	2.316
30K	<i>Escherichia coli</i>	2.442
31K	<i>Escherichia coli</i>	2.223
32K	<i>Escherichia coli</i>	2.198
33K	<i>Escherichia coli</i>	2.035

#### 4.1.3. İzolatların Proteinaz ve Lipaz Aktiviteleri

Çalışmamızda kullandığımız 30 adet *E. coli* izolatların proteinaz aktivitesi için yapılan test sonucuna göre izolatların 5'i (16.7) 4+ yüksek derecede, 10'u (%33.3) 3+ orta derecede, 8'i (%26.7) 2+ düşük derecede proteinaz aktivitesi gösterirken 7'si (%23.3) proteinaz aktivitesi göstermemiştir. Şekil 8'de proteaz aktivitesi pozitif ve negatif olan

suşlar gösterilmiştir. Lipaz aktivitesi için yapılan test sonucuna göre izolatların 15'i (%50) 2+ düşük derecede lipaz aktivitesi gösterirken 15'i (%50) lipaz aktivitesi göstermemiştir. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 8739 suşu, negatif kontrol olarak ise Luria Bertani Broth kullanılmıştır.



**Şekil 8.** *E. coli* izolatlarının Skim Milk ve Tributyrin agarlarda sırasıyla proteaz ve lipaz aktivitesi.

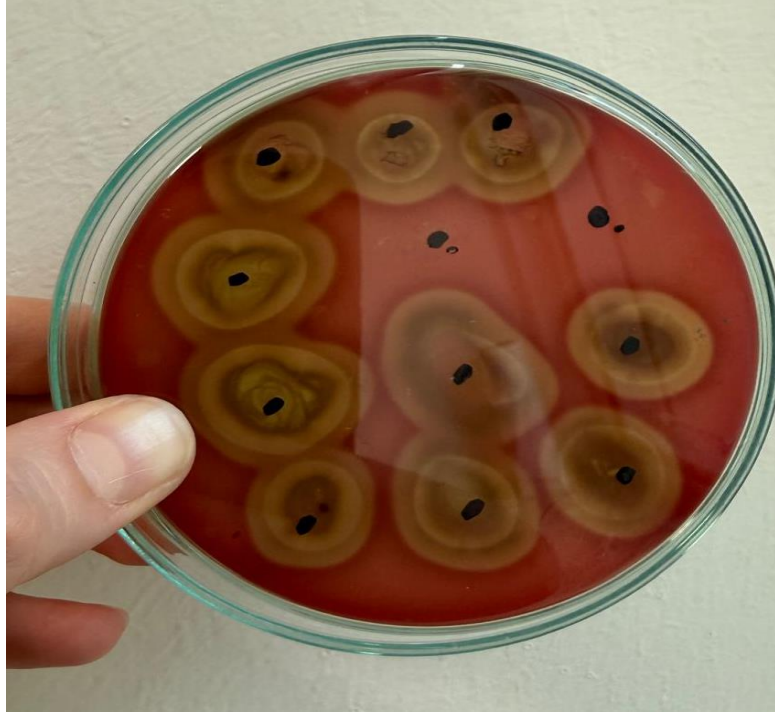
**Tablo 6.** İzolatlarda proteaz ve lipaz aktivitesi<sup>a</sup>.

İzolat No	Proteinaz Aktivitesi	Lipaz Aktivitesi
1	4+	2+
2	3+	–
3	2+	–
4	–	–
5	3+	–
6	2+	–
7	3+	2+
8	2+	–
9	2+	2+
10	4+	2+
11	–	–
12	3+	–
13	–	–
14	3+	2+
15	2+	2+
16	–	–
17	4+	–
18	3+	2+
19	–	2+
20	3+	2+
21	4+	2+
22	4+	2+
23	–	2+
24	3+	2+
25	2+	2+
26	–	2+
27	3+	–
28	2+	–
29	2+	–
30	3+	–

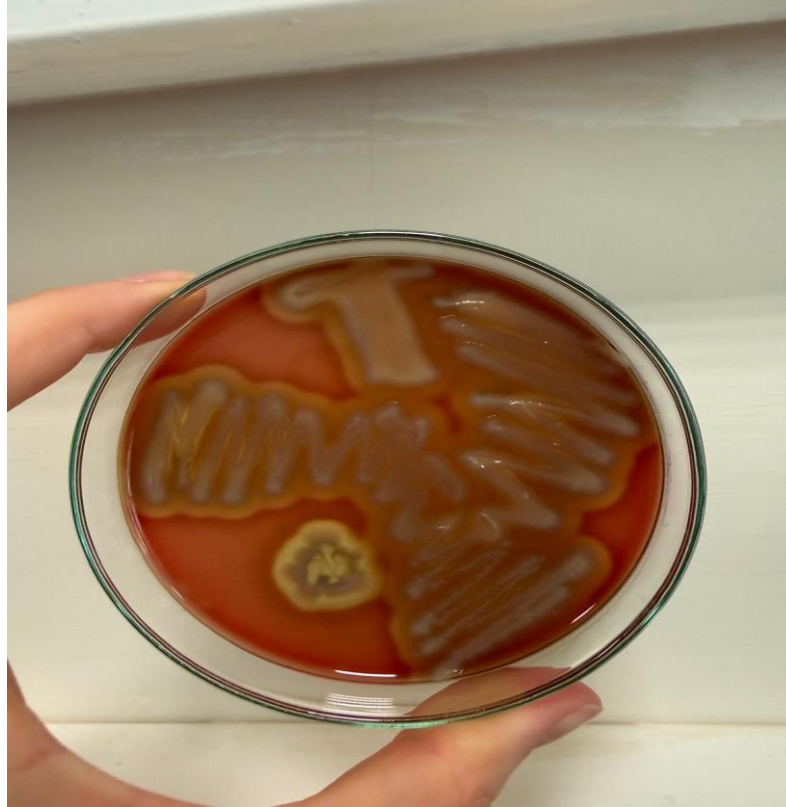
<sup>a</sup>Proteinaz ve Lipaz Aktivitesi: 4+ = Yüksek Derecede Var 3+ = Orta Derecede Var 2+ = Düşük Derecede Var, – = Yok

#### 4.1.4. İzolatların Hemoliz Test Sonuçları

Test edilen *E. coli* izolatlarının 14 (%46.7)'ü kanlı agarda hemolitik aktivite göstermiştir. Yöntem olarak spot ekim (Şekil 9) yanı sıra izolatların kanlı agara çizgi şeklinde ekimleri yapıp etraflarında oluşan şeffaflık incelenmiştir (Şekil 10).



**Şekil 9.** *E. coli* suşlarında spot ekimde oluşan hemoliz.



**Şekil 10.** *E. coli* suşlarında çizgi ekimde oluşan hemoliz.

#### 4.1.5. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları

Bu çalışmada, kıyma örneklerinden izole edilen toplam 30 adet *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık sonuçları, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020) tarafından önerilen kriterler doğrultusunda değerlendirilmiştir. *E. coli* izolatları antibiyotik duyarlılık sonuçları; çalışmaya alınan *E. coli* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle yapılan antibiyogram test sonuçlarına göre ampisiline %100 dirençli bulunmuştur. Amoksisiline karşı %93.33 duyarlı, %6.67 orta duyarlı bulunmuştur. Kanamisine karşı %40 duyarlı, %43.33 orta duyarlı ve %16.67 bulunmuştur. İzolatların %100'ü Aztreonama duyarlı bulunmuştur. Sefiksime %93.33 duyarlı, %3.33 orta duyarlı ve %3.33 dirençli bulunmuştur. Sefaleksine ise %30 duyarlı, %56.67 orta duyarlı ve %13.33 dirençli bulunurken sefotaksime %86.67 duyarlı, %10 orta duyarlı ve %3.33 dirençli bulunmuştur. CLSI (2020)'da kolistin referans değerleri disk difüzyon yönteminde tanımlanmamıştır. İzolatlar seftadizime karşı %96.67 duyarlı ve %3.33 dirençli bulunmuştur. Enrofloksasine karşı %3.33 duyarlı, %90 orta duyarlı ve %6.67 dirençli bulunurken seftriaksona karşı %10 duyarlı, %86.67 orta duyarlı ve %3.33 dirençli olduğu bulunmuştur. Gentamisin ise %10 duyarlı, %63.33 orta duyarlı ve %26.67 dirençli bulunmuştur. Nalidiksik aside %20 duyarlı, %76.67 orta duyarlı ve %3.33 dirençli olduğu saptanmıştır. Oksitetrasikline karşı %23.33 duyarlı, %46.67 orta duyarlı ve %30 dirençli bulunurken streptomisin karşı ise %13.33 duyarlı, %66.67 orta duyarlı ve %20 dirençli oldukları saptanmıştır.

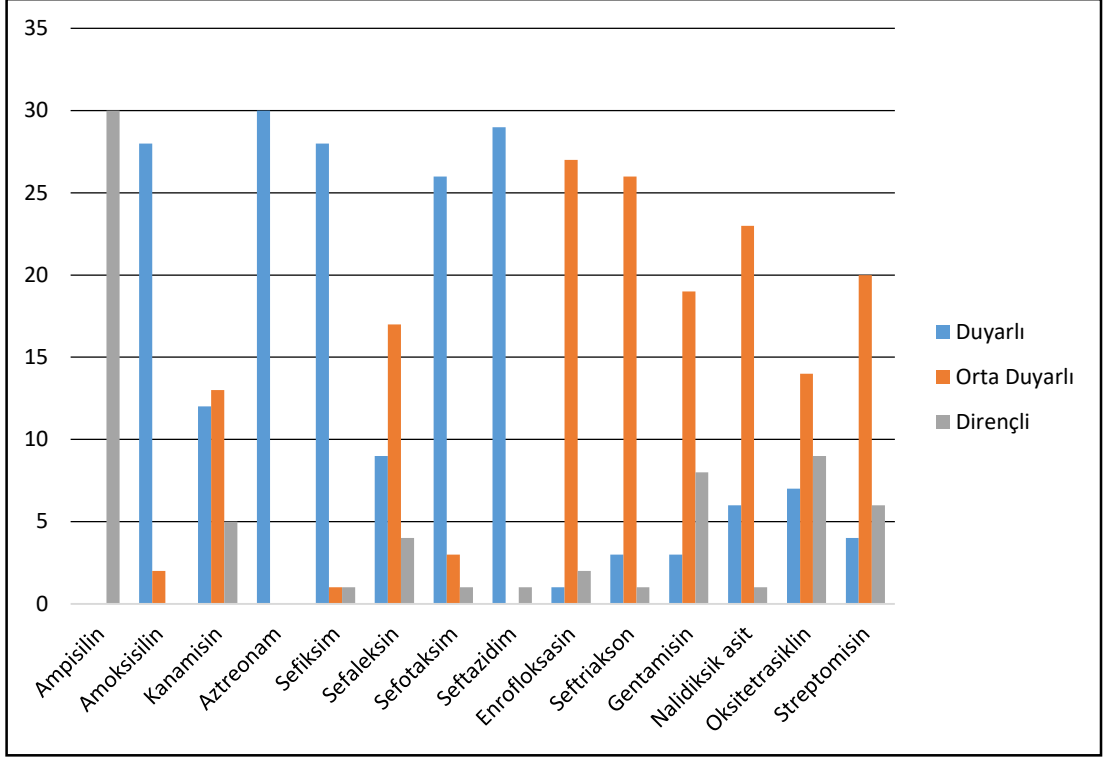
**Tablo 7.** *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere duyarlı suş sayıları ve yüzde oranları [n(%)].

Antibiyotik	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli	Suş Sayısı (N)
Ampisilin	0	0	30(%100)	30
Amoksisilin	28(%93,33)	2(%6,67)	0	30
Kanamisin	12(%40)	13(%43,33)	5(%16,67)	30
Aztreonam	30(%100)	0	0	30
Sefiksim	28(%93,33)	1(%3,33)	1(%3,33)	30
Sefaleksim	9(%30)	17(%56,67)	4(%13,33)	30
Sefotaksim	26(%86,67)	3(%10)	1(%3,33)	30
Kolistin	-	-	-	30
Seftazidim	29(%96,67)	0	1(%3,33)	30
Enrofloksasin	1(%3,33)	27(%90)	2(%6,67)	30
Seftriakson	3(%10)	26(%86,67)	1(%3,33)	30
Gentamisin	3(%10)	19(%63,33)	8(%26,67)	30
Nalidiksik asit	6(%20)	23(%76,67)	1(%3,33)	30
Oksitetrasiklin	7(%23,33)	14(%46,67)	9(%30)	30
Streptomisin	4(%13,33)	20(%66,67)	6(%20)	30

**Tablo 8.** *E. coli* izolatlarının seçilen antibiyotiklere göre duyarlılık durumları.

Antibiyoqram Testi Zon apları (mm)															
Suş No	Antibiyotik No														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	R	S	I	S	S	I	S	15	S	S	S	I	S	S	S
2	R	S	S	I	S	S	S	19	S	S	S	S	S	I	S
3	R	S	I	S	S	S	S	13	S	S	S	R	S	I	R
4	R	S	S	S	S	S	S	13	S	S	S	S	S	R	S
5	R	I	R	S	S	S	S	12	S	S	S	I	S	R	R
6	R	S	R	S	R	R	R	13	R	R	R	R	S	R	R
7	R	S	I	S	S	R	S	14	S	S	S	I	S	S	S
8	R	S	I	S	I	S	S	13	S	S	S	R	S	S	S
9	R	I	I	S	S	S	S	13	S	S	S	S	I	R	R
10	R	S	I	S	S	I	S	14	S	S	S	R	S	S	S
11	R	S	I	S	S	S	S	13	S	S	S	I	S	S	R
12	R	S	I	S	S	S	S	12	S	S	S	S	S	I	S
13	R	S	R	S	S	R	I	12	S	S	S	S	S	S	S
14	R	S	R	S	S	R	I	12	S	R	S	I	R	S	R
15	R	S	S	S	S	S	S	13	S	S	S	S	S	S	S
16	R	S	I	S	S	S	S	13	S	S	S	S	S	R	S
17	R	S	S	S	I	S	S	13	S	S	S	I	S	R	S
18	R	S	S	S	S	S	S	13	S	S	S	I	S	S	S
19	R	S	I	S	S	S	S	12	S	S	S	R	S	S	I
20	R	S	S	S	S	S	S	12	S	S	S	I	S	R	S
21	R	S	S	S	S	I	S	12	S	S	S	I	S	R	I
22	R	S	I	S	S	S	S	12	S	S	S	I	S	I	S
23	R	S	I	S	S	S	S	13	S	S	I	R	S	R	I
24	R	S	I	S	S	S	S	12	S	S	S	I	S	S	I
25	R	S	S	S	S	S	S	13	S	S	S	I	S	S	R
26	R	S	S	S	S	S	S	13	S	S	S	I	S	S	I
27	R	S	R	S	S	S	S	13	S	S	S	I	S	S	S
28	R	S	I	S	S	S	S	13	S	S	I	I	S	I	I
29	R	S	I	S	S	S	S	12	S	S	S	R	S	S	I
30	R	S	I	S	S	S	I	12	S	S	S	R	S	S	I

R: Dirençli, I: Orta Duyarlı, S: Duyarlı, 1. Ampisilin, 2. Amoksisilin, 3. Kanamisin, 4. Aztreonam, 5. Sefiksım, 6. Sefaleksın, 7. Sefotaksim, 8. Kolistin, 9. Seftezidim, 10. Enrofloksasin, 11. Seftriakson, 12. Gentamisin, 13. Nalidiksik asit, 14. Oksitetrasiklin, 15. Streptomisin



Şekil 11. Antibiyotiklere dirençli, orta duyarlı ve duyarlı suş sayısı.

Tablo 9. *E. coli* izolatlarının MAR indeksi sonuçları (Krumperman, 1983).

Suş No	MAR indeksi	Yorum
3	0.2	Düşük riskli kaynak
5	0.26	Düşük riskli kaynak
6	0.73	Çoklu antibiyotik direnci (MDR) göstergesi
9	0.2	Düşük riskli kaynak
13	0.2	Düşük riskli kaynak
14	0.4	Yüksek antibiyotik baskısı olan ortam
23	0.2	Düşük riskli kaynak

MAR indeksi sonucuna göre 5 adet izolat antibiyotiklerin nadiren kullanıldığı çevresel veya doğal kaynaklı düşük riskli kaynak olarak değerlendirilmiştir. MAR indeksi 0.4 olan izolat birden fazla antibiyotik sınıfında dirençli olduğu için yüksek antibiyotik baskısı olarak değerlendirilirken ayrıca Adzitey ve ark. (2020) değerlendirdiği gibi 0.4 ve üzeri MAR indeksi görülen izolatlar insan dışkısı kontaminasyonu ilişkili olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir. MAR indeksi 0.4'ün altında olanlar insan dışkısı

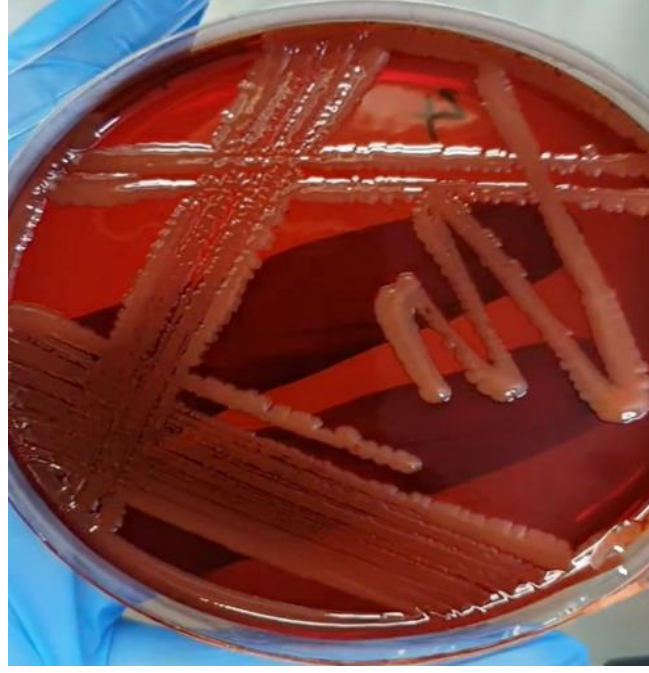
kontaminasyonu ile ilgili değildir olarak değerlendirmişlerdir (Adzitey ve ark., 2020). 6 numaralı izolatta ise MDR göstergesi tespit edilmiştir.

#### 4.1.6. İzolatların Biyofilm Test Sonuçları

Çalışmada izolatların biyofilm testi tüm izolatların kongo red agar yöntemi ile yapılırken yapılan testler sonucunda en güçlü biyofilm oluşumu gözlenen 5 izolat seçilerek UV-VIS spektroskopik yöntemi çalışmamıza uyarlanarak biyofilm testi yapılarak çalışmaya seçilen 5 izolat ile devam edilmiştir. Kongo red agar yöntemiyle yapılan test sonuçlarına göre 14 (%46.66) izolatta biyofilm oluşumu gözlenirken 16 (%53.33) izolatta biyofilm oluşumu gözlenmemiştir. Biyofilm oluşumu gözlenen 14 izolattan 8 (%57.1) izolat güçlü biyofilm, 4 (%28.6) izolat orta derecede biyofilm oluşumu gözlenirken 2 (%14.3) izolatta ise zayıf biyofilm oluşumu gözlemlenmiştir.



**Şekil 12.** Kongo red agar yöntemiyle biyofilm testinde siyah renk koloni morfolojisiyle pozitif sonuç (3+).



**Şekil 13.** Kongo red agar yöntemiyle biyofilm testinde pembe renk koloni morfolojisiyle negatif sonuç (-).

**Tablo 10.** *E. coli* izolatlarının biyofilm derecesi tablosu (%).

Biyofilm Şiddeti	Kongo Red Agar Yöntemiyle (N=30)
-	N=16 (%53.33)
+	N=2 (%6.67)
2+	N=4 (%13.33)
3+	N=8 (%26.67)

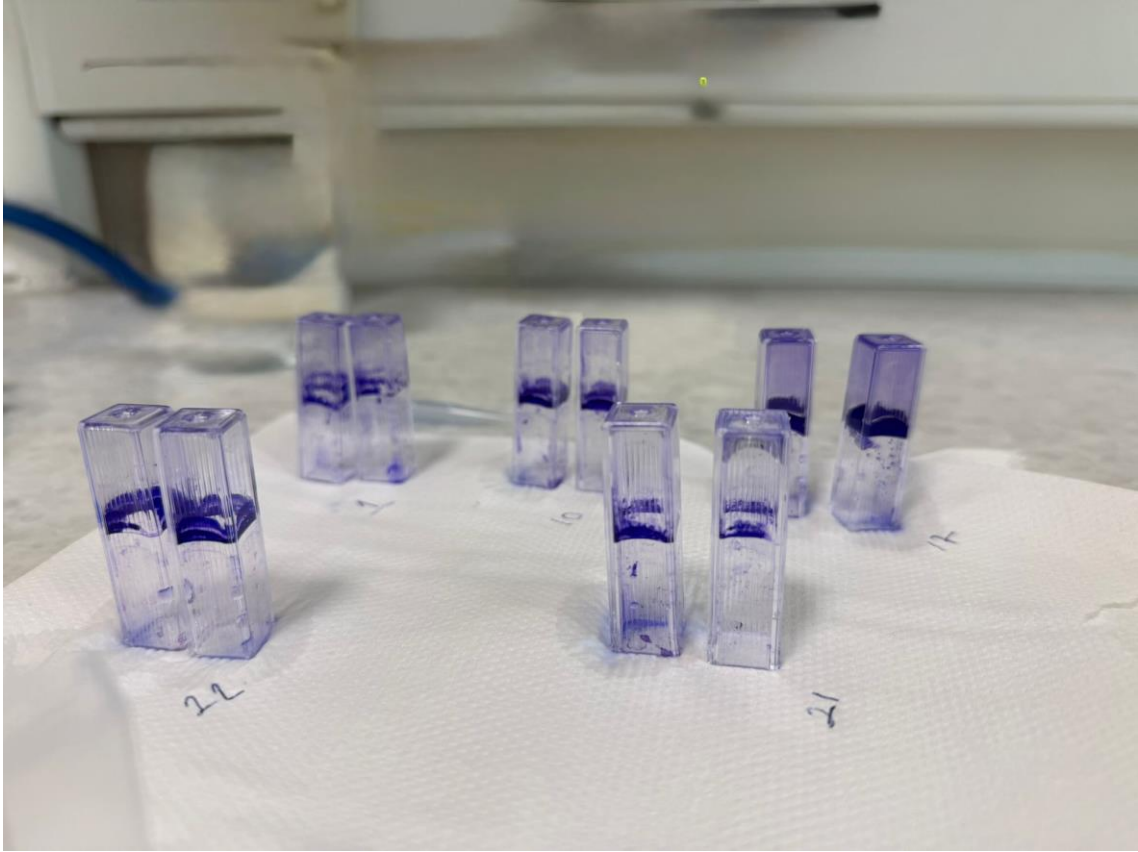
(-) : Biyofilm negatif (+) : Zayıf biyofilm (2+) : Orta derede biyofilm (3+) : Güçlü biyofilm

**Tablo 11.** Kongo Red Agar biyofilm testine göre izolatların biyofilm oluşturma güçleri.

İzolat No	Kongo Red Agar Yöntemiyle
1	3+
2	+
3	3+
4	-
5	-
6	2+
7	+
8	-
9	2+
10	3+
11	-
12	-
13	3+
14	-
15	2+
16	-
17	3+
18	-
19	2+
20	-
21	3+
22	3+
23	-
24	-
25	-
26	3+
27	-
28	-
29	-
30	-
S.Ş	3+

S.Ş: *E. coli* ATCC 8739 standart suşu

En güçlü biyofilm oluşumu görülen 5 izolat için UV-VIS spektroskopi yöntemiyle yapılan biyofilm test sonuçlarına göre 5 (%100) izolatta biyofilm pozitif bulunurken negatif bulguya rastlanmamıştır. İzolatlardan 2 (%40) tanesi orta derecede biyofilm geliştirirken 3 (%60) tanesi güçlü biyofilm geliştirmiştir.



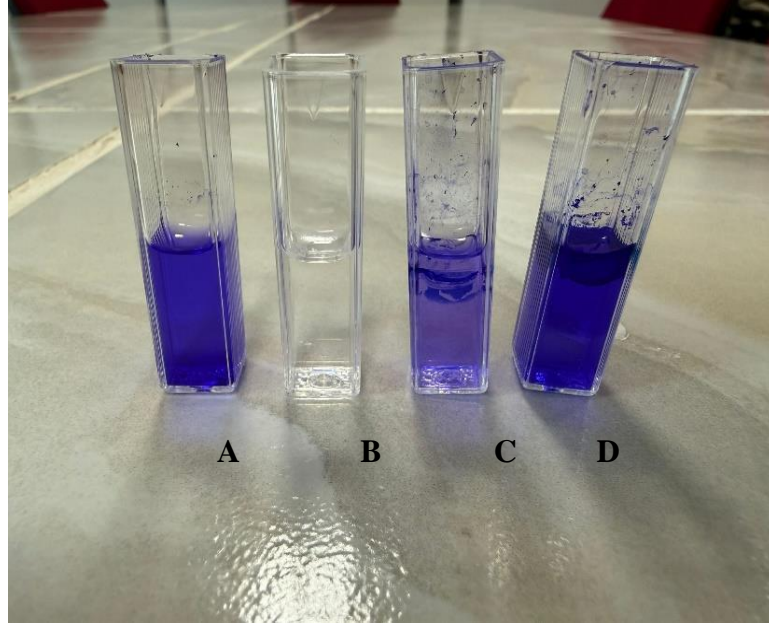
**Şekil 14.** *E. coli* izolatlarında biyofilm oluşumunun spektrofotometre ile belirlenmesi.

**Tablo 12.** Biyofilm oluşumunun spektrofotometre kullanılarak değerlendirilmesi.

Spektrofotometre İle Biyofilm Testi		
İzolat No	Absorbans Değeri (OD570)	Biyofilm Derecesi
1K	0.669	Orta Derece
10K	0.680	Güçlü
17K	2.257	Güçlü
21K	0.546	Orta Derece
22K	1.492	Güçlü
<i>E. coli</i> (+)	0.680	Güçlü
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (-)	0.002	Negatif

OD < 0.17 = negatif , 0.17 – 0.34 = zayıf pozitif, 0.35 – 0.68 = orta pozitif, > 0.68 = güçlü pozitif

Negatif kontrolün eşit ve altında absorbands verenler "negatif", güçlü biyofilm oluşturduğu bilinen pozitif kontrolün eşit ve üzerinde absorbands verenler "güçlü", her iki kontrol grubu arasında absorbands verenler "orta derece" olarak değerlendirilmiştir (Victoria ve ark. 2021).

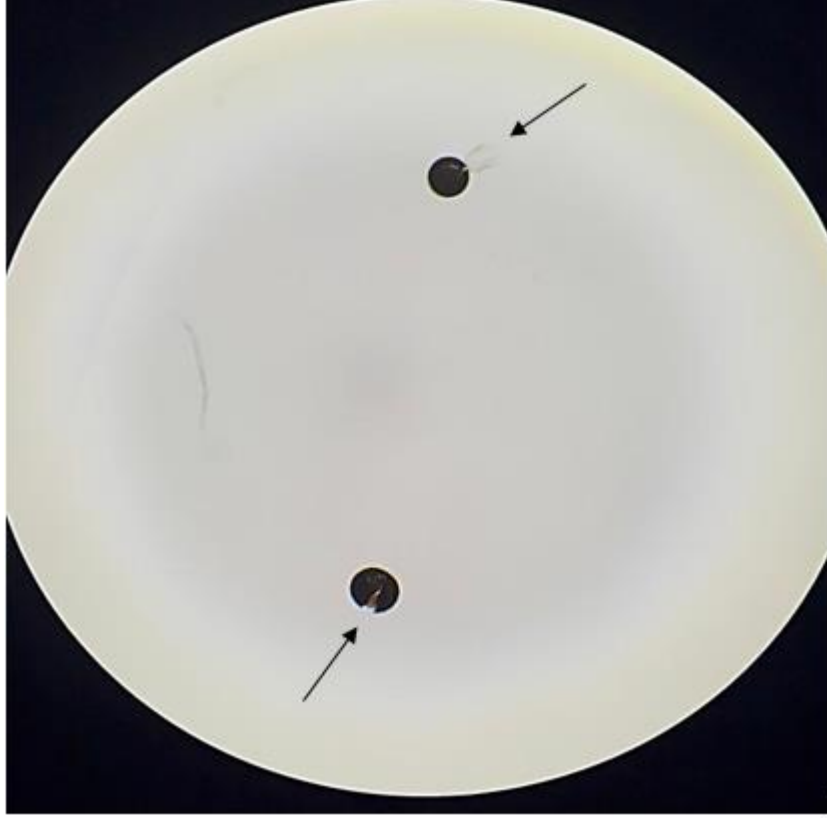


**Şekil 15.** *E. coli* izolatlarında biyofilm oluşumu sonrası kristal viyole ile boyanan örneklerin spektrofotometre küvetindeki görünümü.

- A) Negatif kontrol numune (*S. epidermidis*)
- B) Kör numune (Metanol)
- C) Biyofilm oluşturan izolat numune
- D) Pozitif kontrol numune (*E. coli* ATCC 8739)

#### 4.1.7. Sitotoksisite Test Sonuçları

Çalışmada kullanılan *A. salina*'ların kistleri 25 °C 'de 48 saat hava ve ışıklı bir ortamda inkübe edildikten sonra kistlerin açıldığı ve serbest yüzebilen *Artemia* 'ların elde edildiği gözlenmiştir. (Şekil 16). Elde edilen *A. salina*'ların büyük çoğunluğunun aktif yüzme davranışı sergilediği ve morfolojik olarak normal gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Sitotoksisite analizlerinde yalnızca canlı, aktif ve fototaktik yanıt veren bireyleri kullanılmıştır (Şekil 17).



Şekil 16. *Artemia salina*'nın yumurtadan çıkışı.



**Şekil 17.** *Artemia salina* 'nın görüntüsü.

Tablo 13'de, *Artemia salina* Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sonuçlarına göre altı *E. coli* suşunun tümü test koşullarında sitotoksik aktivite sergilemiştir. Probit analizi ile elde edilen  $LC_{50}$  değerleri 23.00 – 129.37  $\mu\text{g/mL}$  aralığında dağılmaktadır (Tablo 14). Bu değerlerin büyük çoğunluğu, Meyer ve ark. (1982) tarafından belirlenen yüksek sitotoksikite eşiği olan 100  $\mu\text{g/mL}$ 'nin altında kalmakta olup söz konusu izolatların güçlü bir sitotoksik potansiyele sahip olduğuna işaret etmektedir.

Regresyon modellerinin uyum iyiliği incelendiğinde, 10K ( $R^2 = 0.9796$ ), 17K ( $R^2 = 0.9805$ ), 22K ( $R^2 = 0.9766$ ) ve ATCC 8739 ( $R^2 = 0.9723$ ) izolatlarında  $R^2 > 0.97$  değerleri elde edilmiş; bu durum doz–yanıt ilişkisinin probit modeliyle güçlü biçimde açıklandığını ortaya koymaktadır. 1K ( $R^2 = 0.8799$ ) ve 21K ( $R^2 = 0.8461$ ) izolatlarında gözlemlenen görece düşük  $R^2$  değerleri, söz konusu izolatların doz–yanıt eğrisinin tam doğrusal bir örüntü izlemediğine ve biyolojik değişkenliğin daha belirgin olduğuna işaret etmektedir. Nitekim 21K izolatında 750  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda (%80) gözlemlenen mortalite oranının, 500  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonundaki değer (%90) altında seyretmesi, muhtemelen deneysel varyasyondan kaynaklanan lokal bir doz–yanıt tutarsızlığına işaret etmekte ve bu durum regresyon uyumunu olumsuz etkilemektedir.

**Tablo 13.** *E. coli* izolatlarının sitotoksikite aktiviteleri (Ölü Sayısı).

<i>A. salina</i> Ölüm Oranı (%) (n=10)						
Kontrol Mortalitesi (%)	%10	%20	%10	%30	%20	%10
Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )	1K	10K	17K	21K	22K	<i>E. coli</i> ATCC 8739 (+)
1000 $\mu\text{g/mL}$	%100	%100	%100	%100	%100	%100
	10	10	10	10	10	10
750 $\mu\text{g/mL}$	%90	%100	%100	%80	%90	%100
	9	10	10	8	9	10
500 $\mu\text{g/mL}$	%80	%90	%90	%90	%90	%100
	8	9	9	9	9	10
250 $\mu\text{g/mL}$	%70	%80	%80	<b>%70</b>	%80	%90
	7	8	8	<b>7</b>	8	9
125 $\mu\text{g/mL}$	<b>%60</b>	%70	%70	<b>%60</b>	%70	%80
	<b>6</b>	7	7	<b>6</b>	7	8
62,5 $\mu\text{g/mL}$	<b>%60</b>	<b>%60</b>	<b>%60</b>	%50	<b>%60</b>	%70
	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	5	<b>6</b>	7
31,25 $\mu\text{g/mL}$	<b>%50</b>	%50	<b>%50</b>	%50	%50	<b>%60</b>
	<b>5</b>	5	<b>5</b>	5	5	<b>6</b>
Kontrol (Deniz suyu) ( $\mu\text{g/mL}$ )	%10	%20	%10	%30	%20	%10
	1	2	1	3	2	1

Tabloda verilen değerler, *Artemia salina* bulunan ortama belirli konsantrasyonlardaki izole edilen *E. coli* 'lerin uygulanması sonucunda gözlemlenen ham mortalite yüzdeleri göstermektedir. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 8739 suşu, negatif kontrol olarak deniz suyu kullanılmıştır. Her konsantrasyon için n = 10 *A. salina* larvası test edilmiştir. Koyu renk ile vurgulanan değerler LC<sub>50</sub> hesabına esas interpolasyon bölgesini (Abbott-düzeltilmeli %38–%62 mortalite aralığı) göstermektedir.

17K izolatu en düşük LC<sub>50</sub> değerini (48.35  $\mu\text{g/mL}$ ; 95% CI: 35.38–66.08) sergileyerek test edilen klinik izolatlar arasında en yüksek sitotoksik aktiviteyi göstermiştir. Bunu sırasıyla 1K (59.75  $\mu\text{g/mL}$ ), 22K (62.92  $\mu\text{g/mL}$ ) ve 10K (63.33  $\mu\text{g/mL}$ ) izolat izlemiştir. Bu dört izolatu LC<sub>50</sub> değerleri 100  $\mu\text{g/mL}$  eşliğinin belirgin biçimde altında kalarak yüksek sitotoksik sınıfta yer almaktadır. Güven aralıklarının bu izolatlar için görece dar olması, LC<sub>50</sub> tahminlerinin istatistiksel güvenilirliğini desteklemektedir.

21K izolatu, 129.37  $\mu\text{g/mL}$  (95% CI: 67.92–246.41) LC<sub>50</sub> değeriyle diğer klinik izolatlardan belirgin biçimde ayrılmakta ve orta sitotoksik sınıfına girmektedir. Bu

izolatın geniş güven aralığı, yüksek tahmin belirsizliğine ve düşük regresyon uyumuna ( $R^2 = 0.8461$ ) paralel olup söz konusu suşun sitotoksik potansiyelinin diğerlerine kıyasla anlamlı ölçüde zayıf olduğuna işaret etmektedir. Bu farklılık, 21K izolatının diğer klinik izolatlardan virülans faktörü içeriği veya toksin üretim kapasitesi bakımından ayrıştığını düşündürmekte; ancak bu hipotezin aydınlatılması moleküler karakterizasyon çalışmalarını gerektirmektedir.

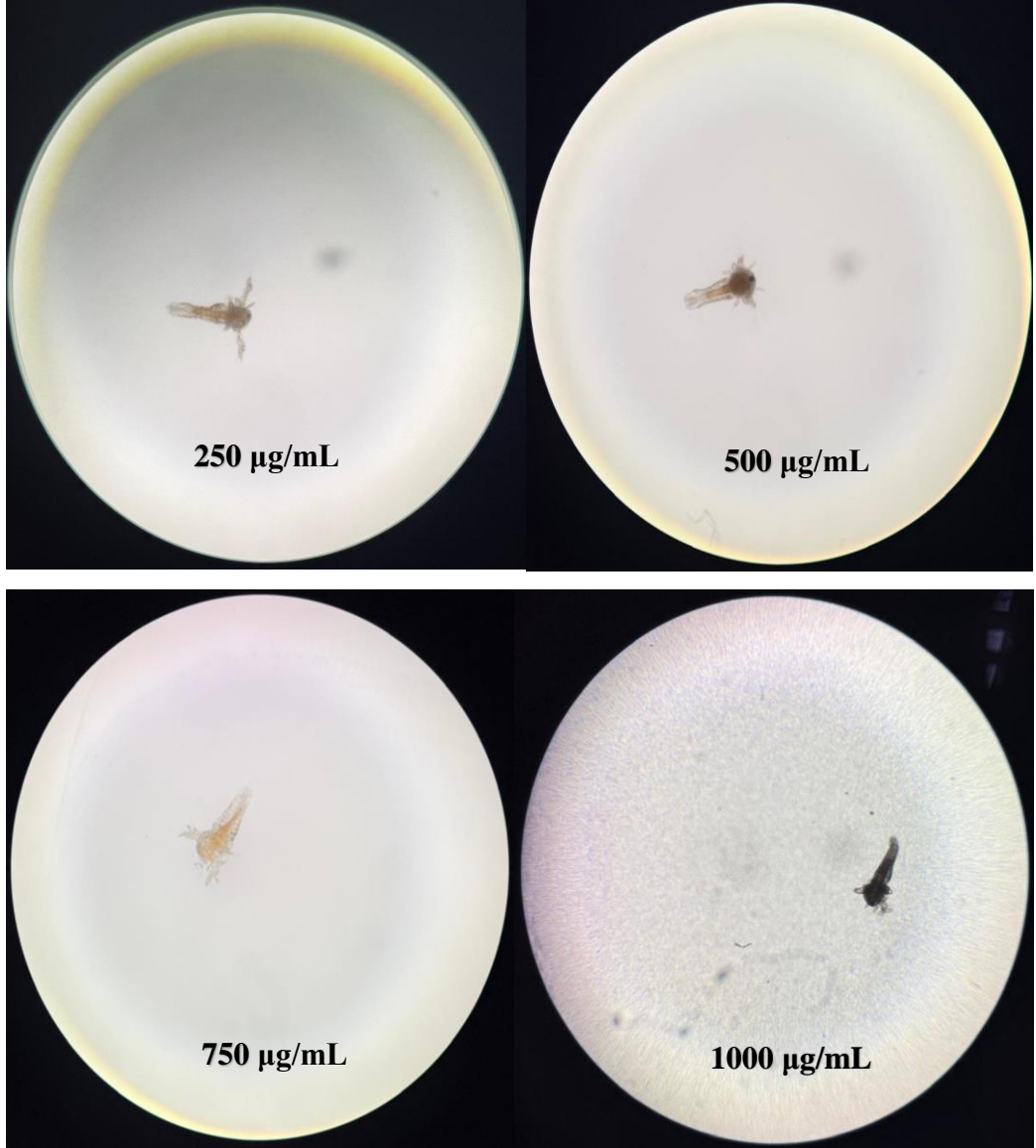
Pozitif kontrol olarak kullanılan *E. coli* ATCC 8739, 23.00 µg/mL (95% CI: 14.02–37.13)  $LC_{50}$  değeriyle test edilen tüm suşlar arasında en düşük  $LC_{50}$  değerine sahip olmuştur. Referans suşun klinik izolatlardan daha güçlü sitotoksik aktivite sergilemesi, deneyin iç geçerlilik kriterini karşılamakta ve pozitif kontrolün beklenen davranışıyla örtüşmektedir.

**Tablo 14.** *E. coli* izolatlarında  $LC_{50}$  değerleri (µg/mL).

Suş	n	$LC_{50}$ (µg/mL)	95% Güven Aralığı (µg/mL)	$R^2$
1K	10	59.75	28.21 – 126.58	0.8799
10K	10	63.33	47.56 – 84.32	0.9796
17K	10	48.35	35.38 – 66.08	0.9805
21K	10	129.37	67.92 – 246.41	0.8461
22K	10	62.92	46.26 – 85.59	0.9766
<i>E. coli</i> ATCC 8739	10	23	14.02 – 37.13	0.9723

$LC_{50}$  değerleri, Abbott (1925) kontrol mortalite düzeltmesi uygulanmış verilerden probit analizi yöntemiyle hesaplanmıştır (Finney, 1971). Probit dönüşümü için %0 ve %100 değerleri sırasıyla %5 ve %95 olarak düzeltilmiştir ( $n = 10$ ). Regresyon denklemi  $Probit = a \times \log_{10}(Doz) + b$  biçiminde kurulmuş;  $LC_{50} = 10^{[(5 - b)/a]}$  formülüyle hesaplanmıştır. 95% güven aralıkları Fieller (1944) yöntemiyle elde edilmiştir ( $t_{0.025,5} = 2.571$ ). Toksikite sınıflandırması Meyer ve ark. (1982) kriterlerine göre:  $LC_{50} < 100$  µg/mL: yüksek sitotoksik; 100–500 µg/mL: orta sitotoksik.

İncelemeler ve sayımlar mikroskop altında gerçekleştirilmiştir (Şekil 18). 24 saat içinde ölen *A. salina* 'larda incelemeler sonucunda dibe çöktükleri ve morfolojik bozuklukların meydana geldiği görülmüştür. Baş kısmında şekil bozukluklarının meydana gelmesi, gözlerinin parçalanması, gözleri üzerinde yer alan sap uzantıların parçalanması ve yer yer kopması, uzuvlarının hasar görmesi ve parçalanması gibi vücut bütünlüğünde bozulmalar, renk değişimleri, bağırsak bölgesinin kararması incelemeler sonucunda belirlenmiştir.

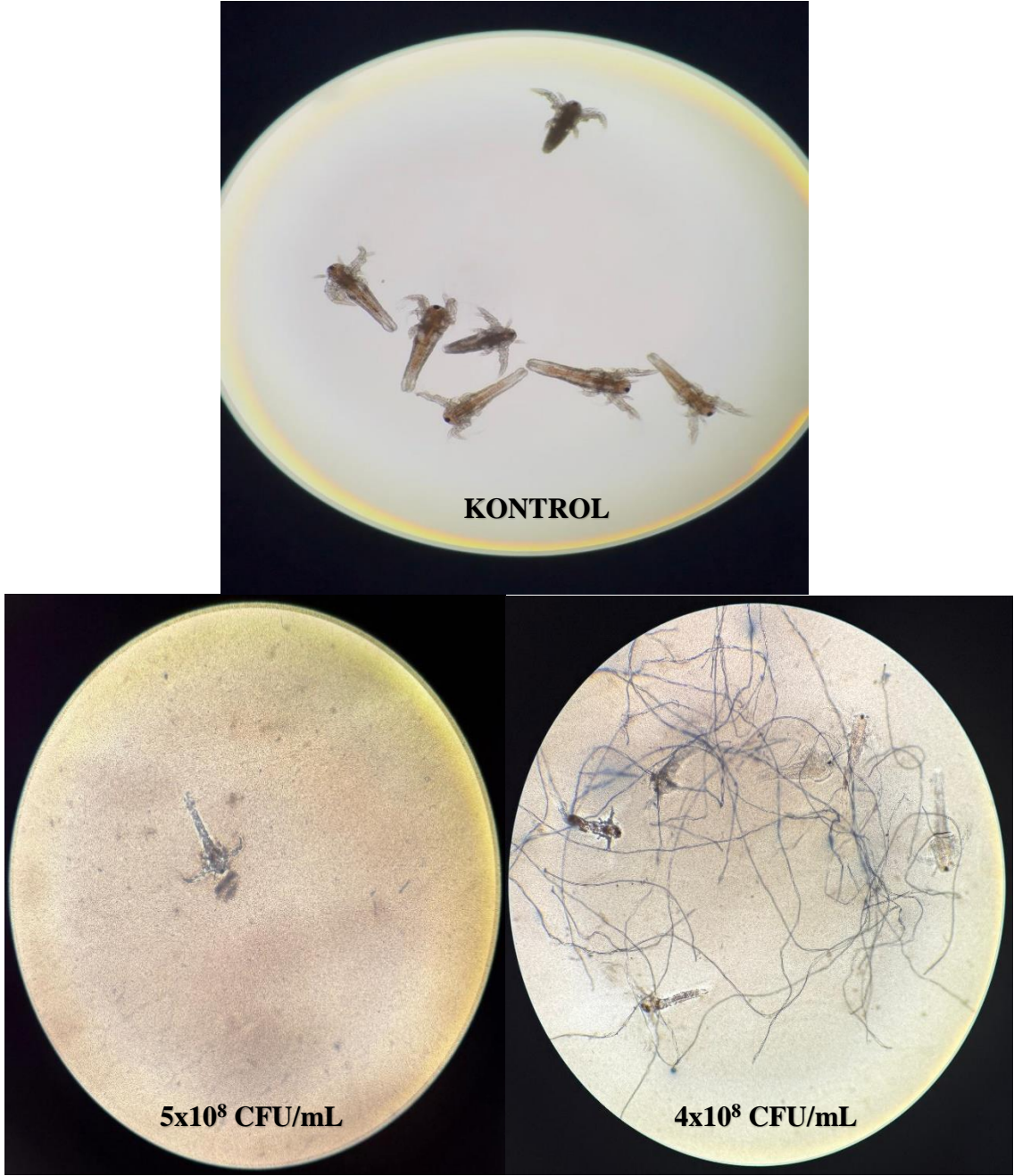


**Şekil 18.** Sitotoksisite testi sonucunda *A. salina* 'lardaki morfolojik değişimler.

#### 4.1.8. Patojenite Test Sonuçları

Patojenite test sonucuna göre 24 sonrasında, canlı ve ölü *A. salina* sayısı büyüteç yardımıyla sayılmıştır. Ayrıca mikroskop altında morfolojik değişimler incelenmiştir. Deneme ve kontrol grupları karşılaştırılarak mortalite oranları ve morfolojik bozulmalar incelenmiştir. İncelemeler sonucunda  $5 \times 10^8$  CFU/mL ve  $4 \times 10^8$  CFU/mL mikroorganizma bulunan 2 ayrı süspansiyonda, 24 saat itibarıyla kontrol grubuna kıyasla belirgin bir mortalite artışı gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda mortalite izlenmemesine karşın, deneme gruplarında %100 oranında ölüm meydana gelmiştir. Bu durum, gözlenen letal etkinin çalışmamızda izole edilen *E. coli* suşlarına bağlı olduğunu göstermektedir. Mortaliteye ek olarak, larvalarda çeşitli fizyolojik ve morfolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Patojenitenin ilerlemesi ile birlikte larvaların yüzme aktivitelerinde belirgin bir yavaşlama ve dibe çökme davranışı ortaya çıkmıştır. Morfolojik incelemede, *A. salina* 'ların özellikle bağırsak bölgesinde opaklaşma, vücut bütünlüğünün belirgin özelliğini kaybetme gibi yapısal değişiklikler gözlemlenmiştir (Şekil 19). Bazı larvalarda vücut yüzeyinde şeffaflığın azalması, karın bölgesinde kararma, dokularda şişme ve uzuv kopmaları tespit edilmiştir. Elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde kullanılan iki ayrı süspansiyondaki *E. coli* izolatlarının *A. salina* üzerinde belirgin bir patojenik profile sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Deneme gruplarında %100 mortalite, kontrol grubunda ise mortalite gözlenmemesi nedeniyle gruplar arasında patojenite açısından belirgin bir fark olduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 19. Patojenite testinde *A. salina* 'larda görülen morfolojik değişimler.

**Tablo 15.** *E. coli* izolatlarının *A. salina* üzerindeki 24 saatlik patojenite etkisi.

Grup	Mikroorganizma	Doz (CFU/mL)	Başlangıç Larva Sayısı	Canlı (24s)	Ölü (24s)	Mortalitenin %
Kontrol (-)	Deniz suyu	-	10	10	0	0
Kontrol (+)	<i>E. coli</i> ATCC8739	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 1K	<i>E. coli</i>	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 10K	<i>E. coli</i>	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 17K	<i>E. coli</i>	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 21K	<i>E. coli</i>	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 22K	<i>E. coli</i>	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
Kontrol (+)	<i>E. coli</i> ATCC8739	4×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
Kontrol (-)	Deniz suyu	-	10	10	0	0
İzolat 1K	<i>E. coli</i>	5×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 10K	<i>E. coli</i>	5×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 17K	<i>E. coli</i>	5×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 21K	<i>E. coli</i>	5×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100
İzolat 22K	<i>E. coli</i>	5×10 <sup>8</sup>	10	0	10	100

## 4.2. Tartışma

*Escherichia coli* izolatları sıklıkla hayvansal kaynaklı gıdaları kontamine eder; araştırmamızda, bu mikroorganizma test edilen 100 kıyma örneğinin 30'unda (%30) tespit edilmiş ve izolatların çoğu antibiyotiklere çoklu direnç göstermiştir. Bu çalışmada, MALDI-TOF yöntemi kullanılarak kıymadan izole edilen *E. coli* izolatlarının virülans özellikleri (proteaz, lipaz, hemoliz ve biyofilm oluşumu) ile *Artemia salina* üzerindeki sitotoksinite/patojenite etkileri değerlendirilmiş; aynı zamanda antibiyotik direnç profilleri ve çoklu antibiyotik direnç (MAR) indeksi ortaya konmuştur.

Son yıllarda ve insan yaşamında hayvansal protein içeren kolayca hazırlanabilen kıymaların tüketiminde büyük ölçüde artış söz konusu olmuştur. Heybet ve ark., (2024) tarafından yapılan çalışmada 50 kıyma örneğinde %28 *E. coli* izole edilmiş olup bu oranın bizim çalışmamızdan nispeten daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Crespi ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada 109 kıyma örneğinden 97 adet *E. coli* izole edilmiş olup ayrıca sonuçlar MALDI-TOF MS ile tanımlanması doğrulanmıştır. Mevcut çalışmada, çalışmamızın sonucundan daha yüksek bir sonuç bulunmuştur.

Bu çalışmada kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının MALDI-TOF MS ile tanımlanması hızlı ve etkin bir yöntem olarak doğrulanmıştır. MALDI-TOF MS'in

referans veri tabanıyla karşılaştırma yaparak kısa sürede tür tanımlaması sağlayabilmesi, geleneksel biyokimyasal testlere göre önemli bir avantaj sunmaktadır (Kaynar Mursaloğlu ve Numanoğlu Çevik, 2021). Benzer şekilde, diğer çalışmalarda MALDI-TOF MS'in, *Enterobacteriaceae*'nin içinde bulunduğu karmaşık mikrobiyal ortamlarda bile *E. coli* 'yi yüksek doğrulukla tanımladığı bildirilmiştir; bu sonuçlar özellikle fenotipik testlerde görülebilecek yanlışların azaltılmasına katkı sağlamıştır (Rodrigues ve ark., 2016). Bu bağlamda MALDI-TOF MS'in biyokimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında yüksek duyarlık ve özgüllük sağladığı, tanımlanan suşların genotipik doğrulamalarla da uyumlu olduğu gösterilmiştir (Rodrigues ve ark., 2016).

Elabbasy ve arkadaşlarının (2021) yürüttüğü çalışma, kesimhane ortamında ve sığır karkaslarından izole edilen *E. coli* suşlarının MALDI-TOF MS ile tanımlanmasının yalnızca tür belirlemekle kalmayıp aynı zamanda çoklu antibiyotik direnç profili ve virülans özelliklerini değerlendirmişleridir. Ayrıca çalışma, MALDI-TOF MS profillerinin farklı *E. coli* suşları arasındaki ilişki ve ayırımı ortaya koyabildiğini, özellikle de birbirine yakın ilişkili izolatlarla ilişkili olmayan izolatlar arasındaki ayırımı gösterebildiğini bildirmiştir (Elabbasy ve ark., 2021).

Kıyma örneklerinde yüksek *E. coli* kontaminasyon oranının, bu ürünlerin kontaminasyona yol açabilecek üretim süreçlerinden kaynaklanabileceği ortaya koymuştur. Kıyma örneklerinde *E. coli* 'nin yaygınlığı üretim zincirinde daha iyi hijyenik uygulamalara ihtiyaç duyulduğunu düşündürmektedir. Kabul etmek gerekir ki, çiğ kıymanın hijyenik uygulamalarını ve olası kontaminasyon kaynaklarını sürdürülebilir bir şekilde değerlendirmek zor olabilir. Birçok ülkede sağlıklı ve hijyenik gıdalar üzerine yapılan çalışmalarda *E. coli* 'nin gıda zehirlenmesinde önemli bir nedeni olduğu gösterilmiştir (Momtaz ve Jamshidi 2013).

Biyofilm oluşturma kapasitesi, *E. coli* suşlarının çevresel stres koşullarına karşı dayanıklılığını artıran en önemli virülans özelliklerinden biridir. Önceki çalışmalarda, çoklu antibiyotik dirençli (MDR) *E. coli* suşlarının büyük bir bölümünün aynı zamanda biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Sasoon ve ark., 2025). Biyofilm yapısı, bakterileri hem dezenfektanlara hem de antibiyotiklere karşı koruyarak antimikrobiyal ajanların biyofilm matrisi içerisine nüfuzunu sınırlandırmaktadır. Bu nedenle biyofilm oluşturabilen suşlarda antibiyotik direnç fenotiplerinin güçlenmesi beklenen bir durumdur. Gıda işletmelerinde yüzey kontaminasyonunun kalıcı hâle

gelmesi de büyük ölçüde bu biyofilm yapısının varlığıyla ilişkilendirilmektedir (Tao ve ark., 2022).

*E. coli*, çeşitli ortamlarda biyofilm oluşturabilen en yaygın bakterilerden biri olarak tanımlanmıştır. Biyofilm oluşturma kapasitesi, hem çevresel bağlamlarda hem de konak organizmalar içinde *E. coli* 'nin kalıcılığını ve hayatta kalmasını artırabilir. Ek olarak, konağın bağışıklık tepkilerine karşı koruma sağlarlar. Bizim çalışmamızda toplam 30 adet *E. coli* izolatı, modifiye kongo kırmızısı agar besiyeri kullanılarak ve spektrofotometre yöntemi kullanılarak biyofilm oluşturma yetenekleri açısından değerlendirildi. Araştırmamızda, iki farklı metodoloji kullanılarak değerlendirilen *E. coli* 'deki biyofilm oluşumu yüzdesi oldukça benzer sonuçlar vermiştir. Bulgularımız, *E. coli* izolatlarında Kongo kırmızısı yöntemi kullanılarak biyofilm oluşum oranlarını belgeleyen Skyberg ve ark. (2007) ve Rodrigues ve ark. (2019) ile büyük ölçüde örtüşmektedir.

Barilli ve ark., (2020) yapmış oldukları çalışmadan (domuz, tavuk, sığır eti ve kıyma dahil) izole edilen 182 *E. coli* suşunun biyofilm oluşturma kapasitesi incelenmiştir. İzolatların yaklaşık %25'i biyofilm yapabilmekte olup, biyofilm genleri ve antibiyotik direnç profilleri incelenmiştir. Biyofilmler, patojenleri hijyen ve sterilizasyon işlemlerinden koruyarak çapraz kontaminasyonda önemli bir rol oynamaktadır. Biyofilmler, her türlü cansız veya canlı yüzeyde oluşabilir ve gıda, denizcilik, toprak ve biyomedikal alanlarda ciddi sorunlara yol açabilmektedir.

Analiz sonuçlarına göre, kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının belirli bir yüzdesinin biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğu saptanmıştır. Literatürde, et ve kıyma örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının yaklaşık %40–70'inin biyofilm pozitif olduğu bildirilmektedir. Bu pozitif izolatların çoğunluğunun zayıf veya orta düzey biyofilm üreticisi olduğu, daha sınırlı bir kısmının ise güçlü biyofilm oluşturma yeteneği sergilediği rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2013; Amini ve ark., 2017).

Elde edilen bulgular, kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının önemli bir bölümünün biyofilm oluşturabildiğini göstermektedir. Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların gıda işleme ortamlarında yüzeylere tutunmasını kolaylaştırmakta ve çevresel stres faktörlerine karşı direnç kazanmalarına olanak sağlamaktadır. Bu durum, biyofilm oluşturan *E. coli* suşlarının temizlik ve dezenfeksiyon uygulamalarına karşı daha

dirençli hale gelmesine ve gıda zincirinde persistan kontaminasyon kaynağı oluşturmalarına neden olabilmektedir (Wang ve ark., 2013).

Ayrıca biyofilm oluşumunun, *E. coli* 'de antibiyotik direnci ve virülens faktörleri ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Bu bağlamda, biyofilm pozitif izolatların varlığı yalnızca gıda bozulması açısından değil, aynı zamanda halk sağlığı riski açısından da önem taşımaktadır. Kıyma gibi çiğ veya az pişmiş tüketilebilen ürünlerde biyofilm oluşturan *E. coli* suşlarının bulunması, bu mikroorganizmaların gıda ortamında uzun süre canlı kalabilmesine ve çapraz kontaminasyon riskinin artmasına yol açabilir (Amini ve ark., 2017).

Gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin yanı sıra, *E. coli* izolatlarının patojenite potansiyelini belirleyen diğer önemli faktörler arasında hemolitik aktivite ile lipaz ve proteinaz gibi çeşitli ekstraselüler enzimlerin üretimi yer almaktadır. Biyofilm oluşumu bakterilerin çevresel dayanıklılığını ve gıda işleme ortamlarında kalıcılığını artırırken, bu virülans faktörleri konak dokulara zarar verme potansiyelini doğrudan etkilemekte ve gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarının insan sağlığı açısından oluşturduğu riski daha da artırmaktadır. Hemolitik aktivite ile lipaz ve proteinaz gibi ekstraselüler enzimlerin üretimi, *E. coli* suşlarının virülans ve patojenite potansiyelini belirleyen temel faktörler arasında yer almaktadır. Bu enzimler, konak dokulara zarar verme, besin maddelerini hidrolize etme ve enfeksiyon sürecinde bakterinin hayatta kalmasını kolaylaştırma gibi önemli roller üstlenmektedir.

Bu çalışmada etten izole edilen *E. coli* izolatlarının hemolitik aktivite, lipaz ve proteinaz üretim potansiyelleri değerlendirilmiş ve elde edilen bulgular, bakterilerin virülans özellikleri açısından önemli sonuçlar ortaya koymuştur. Hemolitik aktivite, bakterilerin eritrositleri lizise ederek konak dokulara zarar verme ve enfeksiyon sürecinde konak savunma mekanizmalarını aşma potansiyelini yansıtan önemli bir virülans faktörüdür.

Hemoliz testi sonuçları, bazı *E. coli* izolatlarının eritrositleri lizise uğratabilme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Literatürde özellikle  $\beta$ -hemolitik *E. coli* suşlarının, enterotoksin ve hemolizin gibi virülans faktörleri ile ilişkili olduğu ve bu suşların daha yüksek patojenite potansiyeli taşıdığı bildirilmektedir (Ochoa ve Contreras, 2011). Çalışmamızda gözlenen hemolitik aktivite, bu suşların gıda yoluyla bulaşması

durumunda sağlık sorunlarına yol açabilecek potansiyel risk oluşturduğunu düşündürmektedir.

Hemolitik aktivite, *E. coli* 'nin virölans faktörlerini değerlendirmek için fenotipik bir belirteç olarak işlev görme potansiyeline sahiptir. Yapılan araştırmalar sonucunda *E. coli* 'nin sırasıyla %37.03, %100, %44.6 ve %53.3 izolatlarda yüksek oranda hemolizin ürettiğini bildiren Fakruddin ve ark. (2013), Malik ve ark. (2012), Al-Saiedi ve Al-Mayah (2014) tarafından elde edilen bulgularla çalışmamızda bulunan 30 izolattan 14 (%46.67) izolatta hemolitik aktivite örtüştüğü görülmektedir. Farklı tipte hemolizinlerin üretimi, bağırsak ve bağırsak dışı hastalıklardan kaynaklanan *E. coli* 'ye sıklıkla katkıda bulunmuştur.

Çalışmalarda alfa hemoliz (hlyA) geni tespit edilen izotlaların varlığı gıda kaynaklı virölansla ilişkilendirilmektedir (Nahla ve ark., 2023). Hemoliz pozitif ve negatif suşların et ürünlerindeki dağılımı çalışmada raporlanmış olmakla birlikte dağılımların yüzdelik detayları çalışmalar arasında değişmektedir; bazı çalışmalarda hemolitik gen taşıyan suşlar kıymada uygulanabilir oranda saptanmıştır (Nahla ve ark., 2023; He ve ark., 2025).

*E. coli* 'nin lipaz ve proteaz enzimleri bakterinin metabolik kapasitesini ve çevresel uyumunu göstermektedir; bazı suşlar proteolitik veya lipolitik aktivite sergileyerek besin kaynaklarını kullanmaktadır. Bu aktivitelerin varlığı hem çevresel adaptasyon hem de belirli patogeneze mekanizmalarına katkı sağlamaktadır. *E. coli* lipaz çalışmaları enzimin pH tercihi ve substrat özgülüğüne dair özellikler bildirmiştir.

Lipaz aktivitesi, patojen bakterilerin konak dokulardaki lipidleri hidrolize ederek yayılımını, gıda ortamlarında kalıcılığını ve patojenite potansiyelini artıran önemli bir virölans faktörüdür. Lipaz aktivitesi açısından değerlendirildiğinde, izolatların bir kısmının tribütirin agar üzerinde belirgin hidroliz zonları oluşturduğu gözlemlenmiştir. Lipazlar, bakterilerin lipit yapılı hücre membranlarını ve gıdalardaki yağ fraksiyonlarını parçalayarak hem besin elde etmesini hem de konak dokularına penetrasyonunu kolaylaştırmaktadır. Gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarında lipaz üretiminin, özellikle et ürünlerinde bakterinin çevresel dayanıklılığını artırdığı daha önce rapor edilmiştir (Chand ve ark., 2022). Bu durum, çalışmamızda lipaz pozitif bulunan izolatların gıda ortamlarında daha uzun süre canlı kalabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Proteolitik aktivite varlığı, koloninin çevresinde oluşan hidroliz zonları ile gösterilir; bu zonların genişliği izolatların ekstrasellüler proteaz üretim potansiyelinin bir göstergesidir.

Gundogan ve ark. (2006) yapmış oldukları araştırmada kıyma ve et ürünlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının bir kısmında proteolitik aktivite saptamıştır: *E. coli* izolatlarının yaklaşık %21.2'si proteaz aktivitesi göstermiştir ki bu bulgu kıyma kaynaklı *E. coli* 'lerde proteolitik potansiyelin varlığını desteklemektedir. Bu sonuç, *E. coli* 'nin yalnızca bir kontaminasyon göstergesi olmadığını, aynı zamanda protein yapıları parçalayabilen enzimler üretme kapasitesine sahip olabileceğini göstermektedir. Proteolitik aktivite, gıdada organik yapıyı bozarak raf ömrünü kısaltma ve enzim-bağımlı kalite bozulmasına yol açma potansiyeline sahiptir. Özellikle kıyma gibi proteince zengin ortamlarda, bu tür enzimatik aktiviteler bozulmayı hızlandırabilir ve organoleptik özelliklerde olumsuz etki yaratabilir.

Kıyma ve benzeri et ürünlerinde *E. coli* 'nin lipaz ve proteaz aktiviteleri ürün kalitesi, raf ömrü ve gıda güvenliği değerlendirmesinde doğrudan etkili olabilir; bu nedenle hem mikrobiyolojik kontaminasyon hem de enzimatik aktiviteler izlenmelidir. Çalışmalar kıymada proteolitik ve lipolitik bakterilerin belirli düzeylerde bulunduğunu ve bu aktivitelerin ürün bozulmasında rol oynadığını göstermiştir (Can ve ark., 2017; Sharma ve ark., 2007)

Proteaz aktivitesi ise bazı *E. coli* izolatlarında belirgin olup ortam ve fermentasyon koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir; üretim ve aktiviteler casein gibi protein substratları kullanılarak saptanmıştır. Proteazlar, patojenin hayatta kalmasına ve bağışıklık sisteminden kaçmasına yardımcı olan virülans önemli bir rol oynamaktadır (Nanda ve Nayak, 2020). Kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarında proteaz aktivitesinin varlığı, bakterilerin konak dokulardaki proteinleri parçalayarak besin elde etme ve dokulara zarar verme potansiyelini göstermektedir. Bu özellik, *E. coli* 'nin patojenite kapasitesini artıran önemli bir virülans faktörüdür.

Proteinaz (proteaz) aktivitesi, çalışmamızda skim milk agar üzerinde değerlendirildiğinde, bazı *E. coli* izolatlarının kazein hidrolizi gerçekleştirebildiği belirlenmiştir. Proteazlar, konak proteinlerini parçalayarak bakterinin invazyon yeteneğini artıran önemli virülans faktörleri arasında yer almaktadır. Literatürde proteaz üretiminin, epitel bariyer bütünlüğünün bozulmasına ve inflamatuvar yanıtın

tetiklenmesine katkı sağladığı bildirilmektedir (Pukatzki ve ark., 2002). Bu bağlamda, proteinaz pozitif izolatların daha yüksek patojenite potansiyeline sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Hemoliz, lipaz ve proteinaz aktivitelerinin birlikte değerlendirilmesi, çalışmamızdaki *E. coli* izolatlarının yalnızca antibiyotik direnci açısından değil, aynı zamanda çoklu virülans faktörleri açısından da risk oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle bu enzimlerin biyofilm oluşturan suşlarda daha sık gözlenmesi, biyofilm-virülans ilişkisini desteklemektedir. Biyofilm matriksi içinde üretilen bu enzimler, hem bakterinin çevresel streslere karşı korunmasını sağlamakta hem de konak hücrelerle etkileşimini güçlendirmektedir (Flemming ve ark., 2016).

Bu çalışmada *A. salina* kullanılarak yapılan sitotoksosite ve patojenite testleri, izolatların virülans düzeylerini değerlendirmede etkili bir yöntem sunmuştur. *Artemia*, toksisite araştırmalarında yaygın olarak kullanılan düşük maliyetli bir model organizmadır ve patojenlerin ürettiği toksinlere duyarlıdır (Rodríguez-Molina ve ark., 2020). Çalışmamızda MDR ve güçlü biyofilm üreticisi *E. coli* suşlarının *Artemia* larvalarında daha yüksek mortaliteye yol açması, bu suşların sadece dirençli değil aynı zamanda yüksek virülans potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, literatürde de proteaz, lipaz ve diğer virülans faktörlerinin *Artemia* mortalitesini artırdığı rapor edilmiştir (Rodríguez-Molina ve ark., 2020).

Literatürde proteaz ve lipaz gibi hidrolitik enzimlerin *Artemia* larvalarında doku bütünlüğünü bozarak mortaliteyi artırdığı bildirilmiştir (Rodríguez-Molina ve ark., 2020). Çalışmamızda hemoliz, lipaz, proteinaz ve biyofilm pozitif *E. coli* izolatlarının *Artemia* mortalitesini daha hızlı artırması, bu enzimlerin toksisite ve patojenite mekanizmalarında rol oynadığını desteklemektedir.

Çalışmamızda, farklı *E. coli* izolatlarının *A. salina* üzerindeki etkileri arasında belirgin heterojenite gözlenmiştir. Bazı izolatlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı mortalite artışı göstermiş; bu da bu izolatların ürettiği olabilecekleri toksik ürünlerin veya virülans faktörlerinin model canlılar üzerinde letal etki yaratabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuç, *A. salina* letalite testinin toksik ajanların ön değerlendirmesi için güvenilir bir araç olduğunu vurgulayan çalışmalardaki bulgularla paralellik arz etmektedir (Banti ve Hadjikakou, 2021).

Uygulanan  $4 \times 10^8$  ve  $5 \times 10^8$  CFU/mL konsantrasyonlarında 24 saat sonunda %100 mortalite gözlenmiştir. Bu nedenle doz-yanıt ilişkisi oluşturulamamış ve  $LC_{50}$  değeri hesaplanamamıştır. Elde edilen sonuçlar izolatların *A. salina* üzerinde yüksek derecede patojenik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Uygulanan iki doz arasında mortalite açısından belirgin bir fark gözlenmemiştir.  $LC_{50}$  değerinin belirlenebilmesi için daha düşük konsantrasyonlarda ek dozların uygulanması gerekmektedir.

Bu çalışmada elde edilen *A. salina* letalite test sonuçları, kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının genel toksisite potansiyelini ortaya koymuş ve model organizma üzerine etkisinin değerlendirilmesinde *A. salina*'nın etkinliğini desteklemiştir. *A. salina* larvaları, acil toksisite değerlendirmelerinde yaygın olarak kullanılan ve 24 saatlik mortalite ölçümü ile toksik etkiyi hızlı ve düşük maliyetle belirleyen bir biyolojik test sistemi olarak kabul edilmektedir. Bu metodun avantajları arasında basit protokol, düşük maliyet ve yüksek tekrarlanabilirlik yer almaktadır ki bu bulgular güncel metodolojik değerlendirmelerle de uyumludur (Salay ve ark., 2024)

*Artemia* üzerindeki mortalite oranlarının, bakterilerin biyofilm kapasitesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çünkü biyofilm üreten suşlarda toksik metabolitlerin salınımı daha yüksektir ve bu durum *Artemia*'da akut toksisite belirtilerine neden olabilir. Bu bulgu, gıda kaynaklı *E. coli* 'nin çevresel dayanıklılığı ile virülansının birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Metodolojik açıdan, çalışmada antibiyotik duyarlılık testleri, biyofilm kantitatif ölçümleri ve *Artemia* mortalite analizlerinin birlikte kullanılması çok yönlü bir değerlendirme sağlamaktadır. Benzer şekilde, gıda kaynaklı bakterilerde AMR değerlendirmelerinin biyofilm kapasitesi ve toksisite sonuçlarıyla birleştirilmesi gerektiği literatürde de vurgulanmaktadır (Tao ve ark., 2022; Somda ve ark., 2023). Bununla birlikte *Artemia* testlerinde bakteri yoğunluğu, tuzluluk, sıcaklık gibi parametrelerin mortalite sonuçlarını etkileyebileceği unutulmamalıdır.

Çalışmada değerlendirilen izolatların antibiyotik direnç profilleri dikkate alındığında, özellikle çoklu antibiyotik dirençli (MAR) *E. coli* suşlarının, *A. salina* üzerinde daha yüksek mortalite oranları ile ilişkili olabileceği görülmektedir. Antibiyotik direnci, bakterilerin çevresel stres faktörlerine adaptasyon yeteneğinin bir göstergesi olarak kabul edilmekte ve direnç genlerini taşıyan suşların metabolik esnekliklerinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bu durum, dirençli izolatların toksik metabolit üretme

veya model organizmalar üzerinde biyolojik etki oluşturma potansiyelini artırabilmektedir (Poirel ve ark., 2018; Van Boeckel ve ark., 2019).

Etten izole edilen *E. coli* suşlarında antibiyotik direncinin yaygınlığı, halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Gıda zinciri aracılığıyla insanlara taşınabilen dirençli bakteriler, enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmakta ve antibiyotik direncinin toplumda yayılmasına katkı sağlamaktadır. Bu bağlamda, *A. salina* testinde gözlenen letal etkiler, yalnızca toksisite açısından değil, aynı zamanda potansiyel patojenite ve direnç özellikleriyle birlikte değerlendirilmesi gereken bir risk göstergesi olarak ele alınmalıdır (WHO, 2023).

Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, gıda kaynaklı *E. coli* suşlarının antibiyotik direncinin tek başına bir risk olmadığını; biyofilm üretimi ve canlı model bazlı virülans sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde risk seviyesinin çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Özellikle MDR ve biyofilm oluşturan suşların *Artemia* üzerinde belirgin patojenite göstermesi, bu bakterilerin gıda zincirinde insan sağlığı için ciddi bir tehdit olduğunu desteklemektedir (Elbehiry ve ark., 2025; Sasoon ve ark., 2025).

Kıymadan izole edilen *E. coli* çalışmalarında izolatların çok büyük kısmı en az bir antibiyotiğe direnç gösterirken alt gruplarda çoklu ilaç dirençli (MDR) oranları değişmektedir. Sıklıkla direnç görülen antibiyotikler çalışmalarda yüksek oranda trimethoprim-sülfametoksazol, tetrasiklin, streptomisin ve ampisilin direnci raporlanmıştır; örneğin Nekouei ve ark., (2018) yapmış oldukları çalışmada hazır tüketim kırmızı et örneklerinden izole edilen suşlarda bu ajanlara karşı direnç sıklıkları sırasıyla ~80%, ~73% ve ~67% olarak bulunmuştur.

Dünya genelinde gıda patojenlerinde antibiyotik direncinin giderek artması, özellikle çoklu ilaç dirençli (MDR) *E. coli* suşlarının yaygınlaşmasıyla birlikte halk sağlığını tehdit etmektedir (Elbehiry ve ark., 2025). Et ve et ürünlerinden izole edilen *E. coli* suşlarında %25–30 arasında MDR oranları bildirildiği ve bu suşların özellikle tetrasiklin ve ampisilin gibi yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterdiği raporlanmıştır (Elbehiry ve ark., 2025). Bizim çalışmamızda tüm izolatlar dirençli bulunmuştur. Her çalışmanın bölgesi ve örnekleme/analiz yöntemleri farklı olduğundan direnç frekansları arasında varyasyon gözlenmektedir.

Stavroulaki ve ark. (2022) Yunanistan'ın Girit pazarından rastgele elli dört çiğ et (sığır eti, tavuk ve domuz eti kas, karaciğer ve böbrekleri) toplayarak dört grup antibiyotik (sülfonamidler-SAs, tetrasiklinler-TCs, streptomisinler-STr ve kinolonlar-QNLs) kullanarak antibiyotik direnç seviyelerini belirlemişlerdir. ELISA yönteminden elde edilen sonuçlara göre, et örneklerinin sadece %2'si antibiyotiksiz, %2'sinde 4 antibiyotik tespit edilmiş olup örneklerin büyük çoğunluğunda (%87) 2 ila 3 antibiyotik tespit edilmiştir.

Zelalem ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışma, Etiyopya'daki et ve et ürünlerinden izole edilen bazı bakteriyel patojenlerin yaygınlığını ve AMR profilini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Veriler, 7828 et örneği içeren toplam 27 orijinal çalışmadan alınmış ve sistematik incelemeye ve meta-analize dahil edilmiştir. Veri analizi, sığır eti, koyun, keçi ve diğer hayvan etlerinde *E. coli* O157:H7 yaygınlığının sırasıyla %6, %6, %3 ve %21 olduğunu ortaya koymuştur. *E. coli* O157:H7 için mezbaha, kasap dükkânı ve pazardaki yaygınlık sırasıyla %5, %6 ve %8'dir. Bakteriyel izolatlar seçilen ilaçlara karşı farklı AMR profilleri göstermiştir. Sonuç, bakteriyel patojenlerin kümülatif yaygınlığının diğer ülkelerle karşılaştırıldığında nispeten yüksek olduğunu ve sektörde et güvenliğini sağlamak için bir müdahalenin önerildiğini göstermektedir.

Kassem ve ark., (2020) yapmış oldukları çalışmada perakende kıyma tüketiminin antibiyotik dirençli *E. coli* maruziyeti oluşturduğu riskine dair değerlendirmeler yapılmıştır; örneğin kıyma üzerinde yapılan risk değerlendirmeleri dirençli *E. coli* maruziyetini ortaya çıkarmıştır. Çalışmalar perakende, işleme ve satıcı hijyen durumunun kontaminasyon düzeyini ve MDR suşların yayılmasını etkilediğini raporlamıştır; belirli çalışmalarda perakende satışların izolatların MDR olma olasılığını artırdığı bildirilmiştir (Abdel-Atty ve ark., 2023). Birçok çalışma, et ürünlerinden izole edilen dirençli suşların hayvansal antibiyotik uygulamalarıyla ilişkili olduğunu öne sürerek hayvanlarda antibiyotik kullanımının kontrolünü önermiştir; bu bağlamda çalışmalar düzenleme ve gözetim çağrısı yapmıştır (Abdel-Rhman ve ark., 2015; Nekouei ve ark., 2018; Sornsenee ve ark., 2021)

Bu çalışmada disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik duyarlılık sonuçlarına ek olarak, izolatların MAR indeksleri hesaplanmış ve birçok izolatın 0.2'nin üzerinde MAR değerine sahip olduğu belirlenmiştir. MAR indeksinin 0.2'den yüksek olması, söz konusu bakterilerin antibiyotiklerin yoğun ve kontrolsüz kullanıldığı

ortamlardan kaynaklandığını göstermekte ve bu izolatların yüksek riskli direnç profiline sahip olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda ampisilin, tetrasiklin ve gentamisin gibi yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı saptanan yüksek direnç oranları, MAR indeks sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde, izolatların önemli bir kısmının çoklu antibiyotik direnci taşıdığını ortaya koymaktadır. Literatürde, gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarının en yüksek direnci  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı gösterdiği sıklıkla bildirilmektedir. Türkiye’de gerçekleştirilen geniş çaplı bir çalışmada, gıda kökenli *E. coli* suşlarının %60–90 oranında ampisilin ve amoksisiline dirençli olduğu belirlenmiştir (Yılmaz ve ark., 2025). Bu çalışmada elde edilen yüksek MAR indeksleri, söz konusu direnç eğilimleriyle uyumludur.

Tetrasiklin direncinin gıda patojenlerinde en yaygın görülen direnç türlerinden biri olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Bangladeş’te sokak gıdalarından izole edilen *E. coli* suşlarında yüksek MAR indeksleri ile birlikte tetrasiklin direncinin yaygın olduğu bildirilmiş ve bu durum antibiyotiğin hayvancılıkta uzun süreli ve yaygın kullanımına bağlanmıştır (Chowdhury Meem ve ark., 2024). Çalışmamızda tetrasiklin direnci ile yüksek MAR indeksleri arasındaki uyum, gıda zincirinde bu antibiyotiğe karşı artan seçim baskısını desteklemektedir.

Güncel küresel antibiyotik direnç raporlarında da ampisilin ve tetrasiklin direncinin tüm bölgelerde yüksek oranlarda seyrettiği, buna karşın karbapenemler ve bazı üçüncü kuşak sefalosporinlerin daha düşük direnç oranlarıyla öne çıktığı ifade edilmektedir (WHO, 2025). Bu çalışmada sefalosporinlere karşı gözlenen değişken direnç düzeyleri ve buna eşlik eden MAR indeksleri, küresel direnç artış eğilimiyle paralellik göstermektedir.

Antibiyotiklere karşı direnç oranlarıyla birlikte yüksek MAR indeksine sahip izolatların varlığı gıda güvenliği açısından önemli bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır. Bu durum, gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarının çoklu antibiyotik direnç genlerini taşıyabileceğini ve bu dirençlerin gıda zinciri yoluyla yayılabileceğini göstermektedir. Özellikle yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç ve MAR indekslerinin birlikte saptanması, mevcut tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, bu çalışmada belirlenen antibiyotik direnç profilleri ve MAR indeks sonuçları hem bölgesel hem de küresel literatürle uyum göstermekte olup, kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının önemli bir kısmının çoklu antibiyotik direnç potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, gıda zincirinde dirençli bakterilerin halk sağlığı açısından oluşturduğu riski vurgulamakta ve antibiyotik kullanım politikalarının yeniden düzenlenmesi gerekliliğini desteklemektedir.

Antibiyotik direnç profilleri, gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç durumunu tanımlarken; bu izolatların gıda işleme ortamlarında uzun süre canlı kalabilmesini sağlayan faktörler de büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda biyofilm oluşturma kapasitesi, direnç gelişimi ve gıda güvenliği açısından önemli bir virülans özelliği olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları, gıda kaynaklı *E. coli* suşlarının çoklu ilaca direnç, biyofilm üretimi ve virülans zelliklerinin *Artemia*-temelli sitotoksiste ve patojenite testleri ile birlikte izlenmesi desteklemektedir. Gıda güvenliği için sadece antibiyotik direnç taraması yapılması yeterli değildir; biyofilm ve virülans profilleri de düzenli olarak değerlendirilmelidir. Bu yaklaşım hem zoonotik bulaş yollarını hem de çevresel persistansı anlamak açısından önemlidir. Bu nedenle gelecekteki araştırmaların Tek Sağlık (One-Health) yaklaşımıyla antibiyotiklere direnç, biyofilm ve toksisiteyi bütüncül bir Şekilde incelemesi gerekmektedir (Tao ve ark., 2022; Somda ve ark., 2023).



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profilleri, biyofilm oluşturma kapasiteleri, hemoliz, lipaz ve proteinaz aktiviteleri ile *A. salina* üzerinde patojenite etkileri bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, gıda zincirinde yer alan *E. coli* suşlarının yalnızca antibiyotik direnci açısından değil, aynı zamanda çoklu virülans özellikleri bakımından da önemli bir halk sağlığı riski oluşturduğunu ortaya koymuştur.

Disk difüzyon yöntemiyle elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları, izolatların özellikle ampisilin, tetrasiklin ve gentamisin gibi yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu durum, gıda kaynaklı *E. coli* suşlarının birinci basamak tedavi seçeneklerini sınırlayabilecek bir direnç rezervuarı oluşturduğunu düşündürmektedir. Antibiyotik direncinin yaygınlığı, gıda üretimi ve hayvancılıkta antibiyotik kullanımına bağlı etkisini açıkça yansıtmaktadır.

Biyofilm analizleri, izolatların önemli bir bölümünün biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Biyofilm üreten suşların antibiyotiklere ve çevresel stres faktörlerine karşı daha dirençli olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda biyofilm oluşumu, gıda işleme yüzeylerinde kalıcı kontaminasyonun ve antibiyotik direncinin devamlılığında kritik bir rol oynamaktadır.

Virülans faktörleri açısından yapılan değerlendirmelerde, bazı izolatların hemolitik aktivite, lipaz ve proteinaz üretme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu enzimler, konak dokularında hasara yol açabilen, bakterinin invazyon ve yayılımını kolaylaştıran önemli patojenite göstergeleridir. Enzim pozitif suşların, aynı zamanda biyofilm oluşturma eğilimi göstermesi, virülans ve çevresel dayanıklılık arasında güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur.

*A. salina* kullanılarak gerçekleştirilen patojenite testleri, izolatların biyolojik etkilerinin değerlendirilmesinde etkili bir model sunduğunu göstermiştir. Özellikle antibiyotik dirençli, biyofilm oluşturan, lipaz, proteinaz ve hemolitik aktiviteye sahip *E. coli* suşlarının *Artemia* larvalarında daha yüksek mortaliteye neden olması, bu bakterilerin toksik ve patojenik potansiyelini desteklemektedir. Bu bulgu, *Artemia* modelinin gıda kaynaklı bakterilerin virülans değerlendirilmesinde pratik ve güvenilir bir biyotest aracı olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada *E. coli* 'nin % 30 oranında bulunması kıymada bu organizmanın varlığı halk sağlığı açısından bir sorun teşkil edebilir ve bazı örneklerde çoklu ilaç dirençli (MDR) suşlar bulunmuştur. Mevcut tez çalışması, Kırşehir'de piyasaya sürülen kıymada *E. coli* 'nin varlığına dair yapılan ilk çalışmadır ve elde edilen verilerin patojenik *E. coli* 'nin küresel epidemiyolojisi hakkındaki bilgilere katkıda bulunması beklenmektedir.

Yüksek MAR indeksi, *E. coli* 'nin sadece gıda kaynaklı patojen olmaktan öte insanlara direkt veya indirekt yolla direnç genlerini taşımada potansiyel bir araç olduğunu göstermektedir: MAR değeri yüksek izolatlar, tedavi seçeneklerini daraltabilir ve gıda kaynaklı enfeksiyonların tedavisini zorlaştırabilir. Gıdalardan izole edilen MDR (multi-drug resistant) suşlar, gıda tüketimi ile birlikte gastrointestinal kolonizasyon ve sistemik enfeksiyon riskini artırabilir.

Genel olarak elde edilen sonuçlar, kıymadan izole edilen *E. coli* izolatlarının çoklu antibiyotik direnci, biyofilm üretimi ve enzimatik virülans faktörleri ile birlikte değerlendirildiğinde, insan sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda aşağıdaki öneriler sunulmaktadır:

1. Gıda güvenliği izleme programlarında, antibiyotik direnç testlerinin biyofilm ve virülans analizleriyle birlikte rutin olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Sadece antibiyotik duyarlılık testleri, patojenite riskini tam olarak yansıtmak için yeterli değildir.

2. Ampisilin ve tetrasiklin gibi yaygın kullanılan antibiyotiklerin, gıda kaynaklı enfeksiyonların tedavisindeki etkinliği yeniden gözden geçirilmeli ve antibiyotik kullanım politikaları güncellenmelidir.

3. Gıda üretim ve işleme alanlarında biyofilm oluşumunu önleyici hijyen ve sanitasyon stratejileri güçlendirilmelidir. Özellikle biyofilm üreten *E. coli* suşlarının yüzeylerde kalıcılığı dikkate alınmalıdır.

4. *A. salina* ile yapılan patojenite testleri, etik, ekonomik ve pratik avantajları nedeniyle gıda kaynaklı bakterilerin virülans değerlendirilmesinde alternatif bir ön tarama yöntemi olarak kullanılabilir.

5. Gelecek çalışmalarda, antibiyotik direnci ve biyofilm üretimi ile enzimatik virülans faktörleri arasındaki moleküler ilişkilerin (rneğin gen ekspresyon düzeyleri) incelenmesi önerilmektedir.

6. Ayrıca, yeşil sentezli antimikrobiyal ajanlar ve alternatif kontrol stratejilerinin (bitkisel ekstraktlar, nanopartiküller vb.) dirençli ve biyofilm oluşturan *E. coli* suşları üzerindeki etkilerinin araştırılması gıda güvenliği açısından önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada kıymadan izole edilen *E. coli* suşlarının gıda zincirinde çok boyutlu bir risk profiline sahip olduğunu ortaya koymakta ve antibiyotik direnci, biyofilm oluşumu ve virülans faktörlerinin birlikte değerlendirilmesinin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından kritik önem taşıdığını vurgulamaktadır.



## 6. KAYNAKLAR

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267.
- Abdel-Atty, N. S. ., Abdulmalek, E. M. ., Taha, R. M. ., Hassan, A. H. ., & Adawy, A. A. (2023). Predominance and Antimicrobial Resistance Profiles of Salmonella and *E. coli* From Meat and Meat products. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 13(4), 647-655.
- Abdel-Rhman, S. H., Khalifa, S. M., Galil, K. H. a. E., & Barwa, R. M. (2015). Prevalence of Toxins and Antimicrobial Resistance among *E. coli* Isolated from Meat. *Advances in Microbiology*, 05(11), 737–747.
- Abebe, E., Gugsa, G., & Ahmed, M. (2020). Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. *Journal of Tropical Medicine*, 2020, Article 4674235.
- Abolghait, S. K., Fathi, A. G., Youssef, F. M., & Algammal, A. M. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from chicken meat and giblets often produces staphylococcal enterotoxin B (SEB) in non-refrigerated raw chicken livers. *International journal of food microbiology*, 328, 108669.
- Abudoleh, S. M., & Mahasneh, A. M. (2017). Anti-quorum sensing activity of substances isolated from wild berry associated bacteria. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 9(1), 23–30.
- Adzitey, F. (2020). Incidence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from beef (meat muscle, liver and kidney) samples in Wa Abattoir, Ghana. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1).
- Adzitey, F., Assoah-Peprah, P., Teye, G. A., Somboro, A. M., Kumalo, H. M., & Amoako, D. G. (2020). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Various Meat Types in the Tamale Metropolis of Ghana. *International journal of food science*, 2020, 8877196.
- Adzitey, F., Huda, N., & Shariff, A. H. M. (2021). Phenotypic Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* from Raw Meats, Ready-to-Eat Meats, and Their Related Samples in One Health Context. *Microorganisms*, 9(2), 326.
- Alexander, T. W., Inglis, G. D., Yanke, L. J., Topp, E., Read, R. R., Reuter, T., & McAllister, T. A. (2010). Farm-to-fork characterization of *Escherichia coli* associated with feedlot cattle with a known history of antimicrobial use. *International journal of food microbiology*, 137(1), 40–48.

- Algammal, A. M., Mabrok, M., Sivaramasamy, E., Youssef, F. M., Atwa, M. H., El-Kholy, A. W., Hetta, H. F., & Hozzein, W. N. (2020). Emerging MDR-*Pseudomonas aeruginosa* in fish commonly harbor oprL and toxA virulence genes and bla<sub>TEM</sub>, bla<sub>CTX-M</sub>, and tetA antibiotic-resistance genes. *Scientific reports*, *10*(1), 15961.
- Al-Saiedi, R.L., & Al-Mayah, A.A. (2014). Pathogenicity Testing of Several APEC Isolates Obtained from Naturally Infected Broiler Birds Reared in Basrah. *International Journal of Poultry Science*, *13*, 374-378.
- Amini, K., Salehi, T. Z., Nikbakht, G., & Ranjbar, R. (2017). Molecular characterization and biofilm formation of *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *18*(3), 172–176.
- Ayamah, A., Sylverken, A. A., & Ofori, L. A. (2021). Microbial load and antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat (RTE) kebab sold on a university campus and its environs in Ghana. *Journal of Food Quality*, *2021*, Article 8622903.
- Aynew, H. Y., Mitiku, B. A., & Tesema, T. S. (2021). Occurrence of Virulence Genes and Antimicrobial Resistance of *E. coli* O157:H7 Isolated from the Beef Carcass of Bahir Dar City, Ethiopia. *Veterinary medicine international*, *2021*, 8046680.
- Baghani, A., Mesdaghinia, A., Rafieiyan, M., Soltan Dallal, M. M., & Douraghi, M. (2019). Tetracycline and ciprofloxacin multiresidues in beef and chicken meat samples using indirect competitive ELISA. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, *40*(3), 328–342.
- Bagumire, A. & Karumuna, R. (2017). Bacterial contamination of ready-to-eat meats vended in highway markets in Uganda. *Afr. J. Food Sci.*, *11*(6): 160–170.
- Banti, C. N., & Hadjidakou, S. K. (2021). Evaluation of Toxicity with Brine Shrimp Assay. *Bio-protocol*, *11*(2), e3895.
- Barilli, E., Vismarra, A., Frascolla, V., Rega, M., & Bacci, C. (2020). *Escherichia coli* Strains Isolated from Retail Meat Products: Evaluation of Biofilm Formation Ability, Antibiotic Resistance, and Phylogenetic Group Analysis. *Journal of food protection*, *83*(2), 233–240.
- Bilgehan, H. (2009). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi.
- Brenden, R., & Janda, J. M. (1987). Detection, quantitation and stability of the beta haemolysin of *Aeromonas* spp. *Journal of medical microbiology*, *24*(3), 247–251.

- Can, H. Y., & Elmali, M. (2017). Seasonal Distribution and Virulence Properties of *Escherichia coli* O157, *Escherichia coli* O157:H7 Isolated from Minced Meat and Traditional Cheese Samples. *Kocatepe Veterinary Journal*, 10(4), 256-263.
- Capita, R., & Alonso-Calleja, C. (2012). Antibiotic-Resistant Bacteria: A Challenge for the Food Industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(1), 11–48.
- Carballo, J. L., Hernández-Inda, Z. L., Pérez, P., & García-Grávalos, M. D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*, 2, 17.
- Chand, R., Neelam, K., & Singh, D. (2022). Lipase production and its role in virulence of foodborne pathogens. *Journal of Food Safety*, 42(3), e13001.
- Cheesbrough, M. (2005). *District Laboratory Practice in Tropical Countries* (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Chowdhury Meem, F., Shourove, J. H., Raihan, T., Azad, A. K., & Islam, G. R. (2024). Antibiotic resistance of ESBL-producing *E. coli* and other gram-negative bacteria isolated from street-vended foods in Bangladesh. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 13(6), e9429.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (30th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
- Cordero-López, A. P., Vega-Sánchez, V., Martínez-Juárez, V. M., Olave-Leyva, J. I., Anda, F. R. G., & Reyes-Rodríguez, N. E. (2025). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Ground Beef in Huasca de Ocampo, Hidalgo, Mexico. *Tropical Animal Science Journal*, 48(1), 75–82.
- Crespi, E., Ghiglione, B., Blanco Crivelli, X., Cundon, C., Figueroa Espinosa, R., Penzotti, P., Nuske, E., Broglio, A., Ambros, L., Rumi, M. V., Albarelllos, G., D Conza, J., & Bentancor, A. (2025). Analysis of *Escherichia coli* isolated from minced meat: Implications for public health in Tierra del Fuego, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 57(4), 399–407.

- de Mesquita Souza Saraiva, M., Lim, K., do Monte, D. F. M., Givisiez, P. E. N., Alves, L. B. R., de Freitas Neto, O. C., Kariuki, S., Júnior, A. B., de Oliveira, C. J. B., & Gebreyes, W. A. (2022). Antimicrobial resistance in the globalized food chain: A One Health perspective applied to the poultry industry. *Brazilian Journal of Microbiology*, *53*(1), 465–486.
- Donnenberg, M. (2013). *Escherichia coli: Pathotypes and principles of pathogenesis*. Academic Press.
- Dsani, E., Afari, E. A., Danso-Appiah, A., Kenu, E., Kaburi, B. B., & Egyir, B. (2020). Antimicrobial resistance and molecular detection of extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* isolates from raw meat in Greater Accra region, Ghana. *BMC Microbiology*, *20*(1), 126.
- Ebel, E., Schlosser, W., Kause, J., Orloski, K., Roberts, T., Narrod, C., Malcolm, S., Coleman, M., & Powell, M. (2004). Draft risk assessment of the public health impact of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *Journal of Food Protection*, *67*(9), 1991–1999.
- Elabbasy, M. T., Hussein, M. A., Algahtani, F. D., Abd El-Rahman, G. I., Morshdy, A. E., Elkafrawy, I. A., & Adeboye, A. A. (2021). MALDI-TOF MS based typing for rapid screening of multiple antibiotic resistance *E. coli* and virulent non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* isolated from the slaughterhouse settings and beef carcasses. *Foods (Basel, Switzerland)*, *10*(4), 820.
- Elbarbary, N. K., Rhouma, N. R., Abdelhafeez, M. M., Maher, A., Sherkawy, H. S., Nageeb, H. M., Hadad, G., El-Hawary, S. F., Hassan, W. S., Darwish, W. S., & Shaala, E. K. A. (2025). *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in Upper Egypt: Impacts on food safety and human health, with a protection trial using natural antibacterial *Piper cubeba*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, *41*(11), 453.
- Elbehiry, A., Marzouk, E., Abalkhail, A., Edrees, H. M., Ellethy, A. T., Almuzaini, A. M., Ibrahim, M., Almujaidel, A., Alzaben, F., & Alqrni, A. (2025). Microbial food safety and antimicrobial resistance in foods: A dual threat to public health. *Microorganisms*, *13*(7), 1592.

- Ema, F. A., Arif, M., Islam, M. A., & Khatun, M. M. (2018). Isolation and identification of duck egg-borne bacteria and their antibiogram profile. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 5(2), 110–116.
- Enany, M. E., Algammal, A. M., Nasef, S. A., Abo-Eillil, S. A. M., Bin-Jumah, M., Taha, A. E., & Allam, A. A. (2019). The occurrence of the multidrug resistance (MDR) and the prevalence of virulence genes and QACs resistance genes in *E. coli* isolated from environmental and avian sources. *AMB Express*, 9(1), 192.
- Ertas, N., Gonulalan, Z., Yildirim, Y., Karadal, F., Abay, S., & Al, S. (2013). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 using immunomagnetic separation and mPCR in Turkish foods of animal origin. *Letters in Applied Microbiology*, 57(4), 373–379.
- Fakruddin, M., Mazumdar, R. M., Chowdhury, A., & Mannan, K. S. (2013). A preliminary study on virulence factors & antimicrobial resistance in extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) in Bangladesh. *The Indian Journal of Medical Research*, 137(5), 988–990.
- Fieller, E. C. (1944). A fundamental formula in the statistics of biological assay and some applications. *Quarterly Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 17, 117–123.
- Finney, D. J. (1971). *Probit analysis* (3. baskı). Cambridge University Press.
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575.
- Frank, C., Werber, D., Cramer, J. P., Askar, M., Faber, M., an der Heiden, M., Bernard, H., Fruth, A., Prager, R., Spode, A., Wadl, M., Zoufaly, A., Jordan, S., Kemper, M. J., Follin, P., Müller, L., King, L. A., Rosner, B., Buchholz, U., ... HUS Investigation Team (2011). Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *The New England Journal of Medicine*, 365(19), 1771–1780.
- Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8), 872–874.
- Founou, L. L., Founou, R. C., & Essack, S. Y. (2018). Antibiotic resistance in the food chain: A developing country-perspective. *Journal of Infectious Diseases and Treatment*.

- Gaulin, C., Levac, E., Ramsay, D., Dion, R., Ismaïl, J., Gingras, S., & Lacroix, C. (2012). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to raw milk cheese in Quebec, Canada: Use of exact probability calculation and casecase study approaches to foodborne outbreak investigation. *Journal of Food Protection*, 75(5), 812–818.
- Granowitz, E. V., & Brown, R. B. (2008). Antibiotic adverse reactions and drug interactions. *Critical Care Clinics*, 24(2), 421–xi.
- Gundogan, N., Devren, A., & Citak, S. (2006). Incidence, protease activity and antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* isolated from meat, chicken and meatball samples. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 57(4), 113–117.
- Gweshe, W. M., Muteveri, T., Gufe, C., Marumure, J., & Hodobo, T. C. (2020). Antimicrobial-resistant Shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated from ready-to-eat meat products and fermented milk sold in the formal and informal sectors in Harare, Zimbabwe. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(2), 1157–1165.
- Händel, N., Schuurmans, J. M., Brul, S., & ter Kuile, B. H. (2013). Compensation of the metabolic costs of antibiotic resistance by physiological adaptation in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(8), 3752–3762.
- He, Y., Wang, Y., He, Y., Hu, H., Hu, Y., Hua, Q., Wu, Y., Li, D., & Liu, Z. (2025). Unraveling the antibacterial mechanism of eucalyptol against *Escherichia coli* O157:H7 through transcriptomics and its application in beef broth. *International Journal of Food Microbiology*, 448, 111580.
- Hemalata, V. B., & Virupakshaiah, D. B. (2016). Isolation and identification of food borne pathogens from spoiled food samples. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5, 1017–1025.
- Heybet, Z., Ozkaya, Y., Gundog, D. A., Gungor, C., & Onmaz, N. E. (2024). Animal-originated foods as potential sources of multidrug-resistant diarrheagenic *E. coli* pathotypes in Kayseri, Türkiye. *Food Control*, 164, 110586.
- Hodgson, E., & Levi, P. E. (2000). *Modern toxicology*. McGraw-Hill Companies.
- Hossain, M. T., Rafiq, K., Islam, M. Z., Chowdhury, S., Islam, P., Haque, Z., Samad, M. A., Sani, A. A., Ferdous, M. R. A., Islam, M. R., Ahmed, N., Hossen, M. I., Khasruzzman, A. K. M., Bhuiyan, M. K. J., & Hossain, M. T. (2022). A survey on knowledge, attitude, and practices of large-animal farmers towards antimicrobial use, resistance, and residues in Mymensingh division of Bangladesh. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(4), 442.

- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (2006). *Microorganism in foods, microbial ecology of food commodities* (2. baskı). Kluwer Academics/Plenum Publishers.
- Jadhav, S. R., Shah, R. M., Karpe, A. V., Morrison, P. D., Kouremenos, K., Beale, D. J., & Palombo, E. A. (2018). Detection of foodborne pathogens using proteomics and metabolomics-based approaches. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3132.
- Jarantow, S. W., Pisors, E. D., & Chiu, M. L. (2023). Introduction to the use of linear and nonlinear regression analysis in quantitative biological assays. *Current Protocols*, 3(6), e801.
- Jaroni, D., Ravishankar, S., & Juneya, V. (2010). Microbiology of ready-to-eat foods. In A. Hwang & L. Huang (Eds.), *Ready-to-eat foods: Microbial concerns and control measures* (s. 1–6). CRC Press.
- Javadi, A., & Khatibi, S. A. (2017). Effect of commercial probiotic (Protexin®) on growth, survival and microbial quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Nutrition & Food Science*, 47(2), 204–216.
- Jouini, A., Ben Slama, K., Sáenz, Y., Klibi, N., Costa, D., Vinué, L., Zarazaga, M., Boudabous, A., & Torres, C. (2009). Detection of multiple-antimicrobial resistance and characterization of the implicated genes in *Escherichia coli* isolates from foods of animal origin in Tunis. *Journal of Food Protection*, 72(5), 1082–1088.
- Kanagasabhpathy, M., Yamazaki G, Ishida A, Sasaki H, Nagata S. (2009). Presence of quorum-sensing inhibitors-like compounds from bacteria isolated from the brown alga *Colpomenia sinuosa*. *Letters in Applied Microbiology*, 49(5), 573–579.
- Karabasil, N., Mirković, M., Vičić, I., Perić, I., Zlatković, N., Luković, B., & Gajić, I. (2025). Antimicrobial resistance in diverse ecological niches—One Health perspective and food safety. *Antibiotics*, 14(5), 443.
- Kassem, I. I., Nasser, N. A., & Salibi, J. (2020). Prevalence and loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Foods*, 9(11), 1543.
- Khater, D. F., Lela, R. A., El-Diasty, M., Moustafa, S. A., & Wareth, G. (2021). Detection of harmful foodborne pathogens in food samples at the points of sale by MALDI-TOF MS in Egypt. *BMC Research Notes*, 14(1), 112.
- Kochakkhani, H., Dehghan, P., Moosavi, M.H. and Sarmadi, B. (2016). Occurrence, molecular detection and antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* O157:H7

- isolated from ready-to-eat vegetable salads in Iran. *Pharmaceutical Sciences*, 22(3), 195–120.
- Kolodziejek, A. M., Minnich, S. A., & Hovde, C. J. (2022). *Escherichia coli* O157:H7 virulence factors and the ruminant reservoir. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 35(3), 205–214.
- Koo, H. J., & Woo, G. J. (2011). Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 145(2-3), 407–413.
- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 165–170.
- Kumar, V., Ahire, J. J., & Taneja, N. K. (2024). Advancing microbial food safety and hazard analysis through predictive mathematical modeling. *The Microbe*, 2, 100049.
- Kurčić, V. S., Munjić, M. D., Dmitrić, M. P., Živković, S., Stajić, S. B., & Tomasevic, I. (2025). Bacterial antimicrobial resistance in meat products—Current concepts. *Foods*, 14(16), 2792.
- Lechner, I., Freivogel, C., Stärk, K. D. C., & Visschers, V. H. M. (2020). Exposure pathways to antimicrobial resistance at the human-animal interface—A qualitative comparison of Swiss expert and consumer opinions. *Frontiers in Public Health*, 8, 345.
- Lee, M. N., Kim, S. K., Li, X. H., & Lee, J. H. (2014). Bacterial virulence analysis using brine shrimp as an infection model in relation to the importance of quorum sensing and proteases. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 60(5), 169–174.
- Li, X., Rensing, C., Vestergaard, G., Arumugam, M., Nesme, J., Gupta, S., Brejnrod, A. D., & Sørensen, S. J. (2022). Metagenomic evidence for co-occurrence of antibiotic, biocide and metal resistance genes in pigs. *Environment International*, 158, 106899.
- Lima, C. M., Souza, I. E. G., dos Santos Alves, T., & Leite, C. C. (2017). Antimicrobial resistance in diarrheagenic *Escherichia coli* from ready-to-eat foods. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3612–3619.
- Madhup, S. K., et al. (2021). Prevalence of pathogenic bacteria in meat products and their antimicrobial resistance pattern. *Annals of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 4(1), 13–19.

- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, *18*(3), 268–281.
- Malik, S., Verm, A. K., Kumar, A., Gupta, M. K., & Sharma, S. D. (2012). Incidence of calf diarrhea in cattle and buffalo calves in Uttar Pradesh, India. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, *7*(10), 1049–1054.
- McCollum, J. T., Williams, N. J., Beam, S. W., Cosgrove, S., Etestad, P. J., Ghosh, T. S., Kimura, A. C., Nguyen, L., Stroika, S. G., Vogt, R. L., Watkins, A. K., Weiss, J. R., Williams, I. T., & Cronquist, A. B. (2012). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with in-store sampling of an aged raw-milk Gouda cheese, 2010. *Journal of Food Protection*, *75*(10), 1759–1765.
- McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., & Anderson, J. E. (1998). The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal*, *32*(2), 513–524.
- McMillan, E. A., Gupta, S. K., Williams, L. E., Jové, T., Hiott, L. M., Woodley, T. A., Barrett, J. B., Jackson, C. R., Wasilenko, J. L., Simmons, M., Tillman, G. E., McClelland, M., & Frye, J. G. (2019). Antimicrobial resistance genes, cassettes, and plasmids present in *Salmonella enterica* associated with United States food animals. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 832.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, *45*(5), 31–34.
- Mokhtar, A., & Karmi, M. (2021). Surveillance of food poisoning *Escherichia coli* (STEC) in ready-to-eat meat products in Aswan, Egypt. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, *52*(6), 41–50.
- Momtaz, H., & Jamshidi, A. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from chicken meat in Iran: Serogroups, virulence factors, and antimicrobial resistance properties. *Poultry Science*, *92*(5), 1305–1313.
- Kaynar Mursaloğlu, P., & Numanoğlu Çevik, Y. (2021). Microbiological evaluation of ready-to-eat foods by conventional methods and MALDI-TOF MS. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *72*(2), 2825–2832.

- Musuka, G., Machakwa, J., Mano, O., Iradukunda, P. G., Gashema, P., Moyo, E., Nsengimana, A., Manhokwe, S., Dhliwayo, T., & Dzinamarira, T. (2025). Antimicrobial resistance and its impact on food safety determinants along the beef value chain in Sub-Saharan Africa—A scoping review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, *10*(3), 82.
- Nahla, E., Mostafa, A., & Hala, A. (2023). Assessment and evaluation of bacteriological hazards from critical points in meat shops concerning some toxigenic and biofilm-forming bacteria. *Assiut Veterinary Medical Journal*, *69*(176), 65-75.
- Nanda, A., & Nayak, S. (2020). Virulence factors and drug resistance of gastrointestinal *Escherichia coli* isolated from different animals. *Indian Journal of Animal Health*, *59*(2), 159–168.
- Nekouei, O., Checkley, S., Waldner, C., Smith, B. A., Invik, J., Carson, C., Avery, B., Sanchez, J., & Gow, S. (2018). Exposure to antimicrobial-resistant *Escherichia coli* through the consumption of ground beef in Western Canada. *International Journal of Food Microbiology*, *272*, 41–48.
- Nguyen, V. T., Carrique-Mas, J. J., Ngo, T. H., Ho, H. M., Ha, T. T., Campbell, J. I., Nguyen, T. N., Hoang, N. N., Pham, V. M., Wagenaar, J. A., Hardon, A., Thai, Q. H., & Schultsz, C. (2015). Prevalence and risk factors for carriage of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* on household and small-scale chicken farms in the Mekong Delta of Vietnam. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *70*(7), 2144–2152.
- Nithya, C., Aravindraja, C., & Pandian, S. K. (2010). *Bacillus pumilus* of Palk Bay origin inhibits quorum-sensing-mediated virulence factors in Gram-negative bacteria. *Research in Microbiology*, *161*(4), 293-304.
- Ochoa, T. J., & Contreras, C. A. (2011). Enteropathogenic *Escherichia coli* infection in children. *Current Opinion in Infectious Diseases*, *24*(5), 478–483.
- Oje, O. J., Ajibade, V. A., Fajilade, O. T., & Ajenifuja, A. (2018). Microbiological analysis of RTE foods vended in mobile outlet catering units from Nigeria. *Advance Journal of Food Science and Technology*, *5*(1), 15–19.
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. A. (2021). Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(18), 9922.

- Parvin, M. S., Talukder, S., Ali, M. Y., Chowdhury, E. H., Rahman, M. T., & Islam, M. T. (2020). Antimicrobial resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from frozen chicken meat in Bangladesh. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(6), 420.
- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017.
- Pukatzki, S., Kessin, R. H., & Mekalanos, J. J. (2002). The human pathogen *Vibrio cholerae* uses a type VI secretion system to infect amoebae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(23), 15220–15225.
- Quinn, P. J., Carter, M., Markey, B., & Carter, G. (2002). *Clinical veterinary microbiology*. Elsevier Health Sciences.
- Rahman, M. A., Rahman, A. K. M., Islam, M. A., & Alam, M. M. (2017). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from milk, beef and chicken meat in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 15(2), 141–146.
- Raetz, C. R., Reynolds, C. M., Trent, M. S., & Bishop, R. E. (2007). Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. *Annual Review of Biochemistry*, 76, 295–329.
- Rodrigues, N. M. B., Bronzato, G. F., Santiago, G. S., Botelho, L. a. B., Moreira, B. M., Da Silva Coelho, I., De Souza, M. M. S., & De Mattos De Oliveira Coelho, S. (2016). The Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) identification versus biochemical tests: A study with enterobacteria from a dairy cattle environment. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(1), 132–138.
- Rodrigues, S. V., Laviniki, V., Borges, K. A., Furian, T. Q., Moraes, H. L. S., Nascimento, V. P., & Salle, C. T. P. (2019). Biofilm formation by avian pathogenic *Escherichia coli* is not related to in vivo pathogenicity. *Current Microbiology*, 76(2), 194–199.
- Rodríguez-Molina, D., González-Muñoz, M. J., & Ramos-Cormenzana, A. (2020). *Artemia salina* as a model for toxicity and pathogenicity assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188, 109888.
- Sabaté, M., Prats, G., Moreno, E., Ballesté, E., Blanch, A. R., & Andreu, A. (2008). Virulence and antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from human and animal wastewater. *Research in Microbiology*, 159(4), 288–293.

- Sabla, R. F., Usui, M., Tamura, Y., & Abd-Elghany, S. M. (2021). Prevalence of colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 in raw beef and ready-to-eat beef products in Egypt. *Food Control*, *119*, 107436.
- Salay, G., Lucarelli, N., Gascón, T. M., Carvalho, S. S., Veiga, G. R. L. D., Reis, B. D. C. A. A., & Fonseca, F. L. A. (2024). Acute toxicity assays with the *Artemia salina* model: Assessment of variables. *Alternatives to Laboratory Animals: ATLA*, *52*(3), 142–148.
- Sarkar, S., Souza, M. J., Martin-Jimenez, T., Abouelkhair, M. A., Kania, S. A., & Okafor, C. C. (2023). Tetracycline, sulfonamide, and erythromycin residues in beef, eggs, and honey sold as “antibiotic-free” products in East Tennessee (USA) farmers’ markets. *Veterinary Sciences*, *10*(4), 243.
- Sasoon, A., Nikkhahi, F., Javadi, A., Sabzi, S., Deilamani, M. O., Kiaheyrati, N., Karampour, A., Peymani, A., & Fardsanei, F. (2025). Biofilm formation and antibiotic resistance genes of *Escherichia coli* from poultry farms and clinical samples. *Veterinary Medicine and Science*, *11*(5), e70510.
- Secim, Y., & Ucar, G. (2017). Evaluation of the desserts, which are hosmerim, cheese halva, Kunafah produced in Turkish cuisine-in aspect of tourism. *International Journal of Social and Economic Research*, *3*(5), 1478–1484.
- Serwecińska, L. (2020). Antimicrobials and antibiotic-resistant bacteria: A risk to the environment and to public health. *Water*, *12*(12), 3313.
- Sharma, A. K., Dhasmana, N., Dubey, N., Kumar, N., Gangwal, A., Gupta, M., & Singh, Y. (2017). Bacterial virulence factors: Secreted for survival. *Indian Journal of Microbiology*, *57*(1), 1–10.
- Silva, V., Nunes, J., Gome, S. A., Capita, R., Alonso-Calleja, C., Pereira, J. E., Torres, C., Igrejas, G., & Poeta, P. (2019). Detection of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains: Can fish commonly used in raw preparations such as sushi and sashimi constitute a public health problem? *Journal of Food Protection*, *82*(7), 1130–1134.
- Sivakumar, M., Abass, G., & Vivekanandhan, R. (2021). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing and multidrug-resistant *Escherichia coli* in street foods: A public health concern. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(4), 1247–1261.
- Skyberg, J. A., Siek, K. E., Doetkott, C., & Nolan, L. K. (2007). Biofilm formation by avian *Escherichia coli* in relation to media, source and phylogeny. *Journal of Applied Microbiology*, *102*(2), 548–554.

- Somda, N. S., Tankoano, A., Métuor-Dabiré, A., Kaboré, D., Bonkougou, J. O. I., Kpoda, D. S., Sambe-Ba, B., Dabiré, Y., Saba, C. K. S., Ouoba, I. L., Sawadogo-Lingani, H., & Savadogo, A. (2023). A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance of foodborne pathogenic bacteria in West Africa between 2010 and 2020. *Journal of Food Protection*, *86*(3), 100061.
- Sornsenee, P., Chimplee, S., Arbubaker, A., Kongchai, S., Madimong, H., & Romyasamit, C. (2021). Occurrence, antimicrobial resistance profile, and characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from minced meat at local markets in Thailand. *Foodborne Pathogens and Disease*, *19*(3), 232–240.
- Spencer, K. C. (2005). Modified atmosphere packaging of ready-to-eat foods. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* (pp. 185–203). Elsevier.
- Stavroulaki, A., Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Katsikantami, I., Renieri, E., Vakonaki, E., Avgenaki, M., Alegakis, A., Stan, M., Kavvalakis, M., Rizos, A. K., & Tsatsakis, A. (2022). Antibiotics in raw meat samples: Estimation of dietary exposure and risk assessment. *Toxics*, *10*(8), 456.
- Suleiman, R. Z. (2024). A comparative approach to understanding bacterial pathogenicity: The role of enzymatic and hemolytic virulence factors. *Journal of Medical Genetics and Clinical Biology*, *1*(6), 150-161.
- Tao, Q., Wu, Q., Zhang, Z., Liu, J., Tian, C., Huang, Z., Malakar, P. K., Pan, Y., & Zhao, Y. (2022). Meta-analysis for the global prevalence of foodborne pathogens exhibiting antibiotic resistance and biofilm formation. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 906490.
- Türk Gıda Kodeksi. (2019). *Türk Gıda Kodeksi et, hazırlanmış et karışımları ve et ürünleri tebliği* (Tebliğ No: 2018/52). Resmî Gazete (Sayı: 30670, 29 Ocak 2019).
- Trojan, R., Razdan, L., & Singh, N. (2016). Antibiotic susceptibility patterns of bacterial isolates from pus samples in a tertiary care hospital of Punjab, India. *International Journal of Microbiology*, *2016*, 9302692.
- Wang, H., Ye, K., Wei, X., Cao, J., Xu, X., & Zhou, G. (2013). Occurrence, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Escherichia coli* isolated from meat. *Food Control*, *31*(2), 344–350.
- World Health Organization. (2023). *Red and processed meat in the context of health and the environment: Many shades of red and green: Information brief*. World Health Organization.

- World Health Organization. (2025). *Global antibiotic resistance surveillance report 2025*. World Health Organization.
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N. G., Gilbert, M., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2019). Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science*, *365*(6459), eaaw1944.
- Verraes, C., Van Boxstael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., De Schaetzen, M.-A., Van Huffel, X., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., De Block, J., Dewulf, J., & Herman, L. (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *10*(7), 2643–2669.
- Victoria, V. M., Rocío, C., Silvina, E., Inés, E. A., & Lía, P. N. (2021). Biofilm formation by LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Microbial Pathogenesis*, *157*, 105006.
- Yang, S., Deng, W., Liu, S., Yu, X., Mustafa, G. R., Chen, S., He, L., Ao, X., Yang, Y., Zhou, K., Li, B., Han, X., Xu, X., & Zou, L. (2020). Presence of heavy metal resistance genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates and analysis of resistance gene structure in *E. coli* E308. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *21*, 420–426.
- Yılmaz, A., Beyzi, E., Külahcı, M. B., & Çıtak, S. (2025). Hayvansal gıdalardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. bakterilerinin genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz üretimi ve çoklu antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, *6*(2), 330–342.
- Younis, K. M., Usup, G., & Ahmad, A. (2015). Secondary metabolites produced by marine *Streptomyces* as antibiofilm and anti-quorum sensing inhibitor of uropathogen *Proteus mirabilis*. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(5), 4756–4767.
- Zelalem, A., Sisay, M., Vipham, J. L., Abegaz, K., Kebede, A., & Terefe, Y. (2019). The prevalence and antimicrobial resistance profiles of bacterial isolates from meat and meat products in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Food Contamination*, *6*(1), 1.
- Zhou, L., Lin, Z., Zhou, H., Ma, J., Lin, L., Zheng, H., Wang, Y., Wu, Z., Dong, H., Jiang, Y., Yang, Y., Tang, B., & Yue, M. (2022). Antimicrobial resistance and genomic characterization of *Escherichia coli* from pigs and chickens in Zhejiang, China.

Zhou, T. (2010). Methods of estimating LC50. In *Numerical comparisons of bioassay methods in estimating LC50* (s. 5–30). Kansas State University.



# EK-1

## İTHENDİCATE RAPORU

### 10% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.




#### Filtered from the Report

- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text
- ▶ Cited Text
- ▶ Small Matches (less than 15 words)
- ▶ Abstract
- ▶ Methods and Materials

#### Exclusions


- ▶ 1 Excluded Match

#### Top Sources

- 5%  Internet sources
- 9%  Publications
- 0%  Submitted works (Student Papers)

#### Integrity Flags

##### 1 Integrity Flag for Review

-  **Hidden Text**  
31 suspect characters on 1 page  
Text is altered to blend into the white background of the document.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.



## Sn. Süeda Nur Kerimoğlu

"Serüven Yayınevi" tarafından 2024 Aralık ayında yayımlanacak olan, "Biyolojik Bilimlerde Güncel Yaklaşımlar ve Araştırmalar - Aralık 2024" isimli, birbirinden bağımsız bölümlerden oluşacak kitap için yazmış olduğunuz, "Gıda Patojeni Olan *Escherichia coli* ve İklim Değişikliği" başlıklı yazınızın editör değerlendirmesi tamamlanmış, kabul edilerek yayınlamasına karar verilmiştir.

"Serüven Yayınevi" Üniversitelerarası Kurul Başkanlığı (UAK)'nın Doçentlik Başvuru Şartlarında belirttiği tanıma göre "Tanınmış Uluslararası Yayınevi" statüsündedir. UAK söz konusu tanıma şu şekilde yapmıştır: "Tanınmış Uluslararası Yayınevi: En az beş yıl uluslararası düzeyde düzenli faaliyet yürüten, yayınladığı kitaplar dünyanın bilinen üniversitelerinin kataloglarında yer alan ve aynı alanda farklı yazarlara ait en az 20 kitap yayınlamış olan yayınevi"dir. (<http://www.uak.gov.tr/?a=mode/85#2018N>)

Aynı zamanda akademisyen yazarlarımızca yayınevimize sıklıkla başvurulduğu üzere, "Akademik Teşvik Odenegi" yönetmeliğinde belirtilen tanıma göre beş (5) yıl şartını sağlıyor olup, kurulduğu 2001 yılından itibaren uluslararası düzeyde, düzenli basım ve 20' den fazla ülkede dağıtım faaliyetlerini yürütmektedir. 17 Ocak 2020 tarihinde güncellenmiş Akademik Teşvik Yönetmeliği'ndeki tanıma göre de tüm temel alanlarda "Tanınmış Uluslararası Yayınevi" statüsündedir. "Akademik Teşvik Odenegi Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik" (17 Ocak 2020, Resmî Gazete Sayı: 31011, Karar Sayısı: 2043) yayımlanmıştır. Adı geçen Yönetmelikte 3. maddenin 1. fıkrasının (I) bendine "düzenli faaliyet yürüten", ibaresinden sonra gelmek üzere "Türkçe dışındaki dillerde" ibaresi eklenmiştir. Yayınevimizin "TÜRKÇE DIŞINDAKİ DİLLERDE" tüm temel alanlarda en az 20 (YIRMİ) adet yayını bulunmaktadır.

"Serüven Yayınevi" 2001 yılında kurulmuş olup, kuruluşundan bu yana düzenli faaliyet yürütmektedir. Yayınevimiz 1300'ün üzerinde kitap yayınlamıştır. Serüven Yayınevi tarafından yayımlanan kitaplar Princeton Üniversitesi, Columbia Üniversitesi, Harvard Üniversitesi, Oxford Üniversitesi, Halle Wittenberg Üniversitesi, Toronto Üniversitesi, Britanya Üniversitesi, Stanford Üniversitesi, Kaliforniya Üniversitesi, Duke Üniversitesi, Chicago Üniversitesi ve Amerika Birleşik Devletleri Kongre Kütüphanesi gibi dünyanın önde gelen üniversite ve kamu kütüphanelerinin kataloglarında yer almaktadır.

**SERÜVEN**  
YAYINEVİ

Cansın Cansu Selin Temana  
Genel Yayın Yönetmeni



## Sn. Süeda Nur KERİMOĞLU

"Serüven Yayınevi" tarafından 2025 Aralık ayında yayımlanacak olan, "International Compilation of Research and Studies in Chemistry - December 2025" isimli, birbirinden bağımsız bölümlerden oluşacak kitap için yazmış olduğunuz, "USING ESSENTIAL OILS AS SUSTAINABLE FOOD PRESERVATIVES: THEIR CHEMICAL STRUCTURE AND SAFETY CONSIDERATIONS" başlıklı yazınızın editör değerlendirmesi tamamlanmış, kabul edilerek yayımlanmasına karar verilmiştir.

"Serüven Yayınevi Üniversitelerarası Kurul Başkanlığı (ÜAK)'nın Doçentlik Başvuru Şartlarında belirttiği tanıma göre "Tanınmış Uluslararası Yayınevi" statüsündedir. ÜAK söz konusu tanımı şu şekilde yapmıştır: "Tanınmış Uluslararası Yayınevi: En az beş yıl uluslararası düzeyde düzenli faaliyet yürüten, yayımladığı kitaplar dünyanın bilinen üniversitelerinin kataloglarında yer alan ve aynı alanda farklı yazarlara ait en az 20 kitap yayımlanmış olan yayınevi"dir. (<http://www.uak.gov.tr/?a=node/85&2018N>)

Aynı zamanda akademisyen yazarlarımızca yayınevimize sıklıkla başvurduğunuz üzere, "Akademik Tesvik Ödeneği" yönetmeliğinde belirtilen tanıma göre beş (5) yıl şartını sağlıyor olup, kurulduğunuz 2001 yılından itibaren uluslararası düzeyde, düzenli basım ve 20' den fazla ülkede dağıtım faaliyetlerini yürütmektedir. 17 Ocak 2020 tarihinde gündelenmiş Akademik Tesvik Yönetmeliği'ndeki tanıma göre de tüm temel alanlarda "Tanınmış Uluslararası Yayınevi" statüsündedir. "Akademik Tesvik Ödeneği Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik" (17 Ocak 2020, Resmî Gazete Sayı: 31011, Karar Sayısı: 2043) yayımlanmıştır. Adı geçen Yönetmelikte 3. maddenin 1. fıkrasının (I) bendine "düzenli faaliyet yürüten", ibaresinden sonra gelmek üzere "Türkçe dışındaki dillerde" ibaresi eklenmiştir. Yayınevimizin "TÜRKÇE DIŞINDAKİ DİLLERDE" tüm temel alanlarda en az 20 (YİRMİ) adet yayını bulunmaktadır.

"Serüven Yayınevi" 2001 yılında kurulmuş olup, kuruluşundan bu yana düzenli faaliyet yürütmektedir. Yayınevimiz 1300'ün üzerinde kitap yayımlanmıştır. Serüven Yayınevi tarafından yayımlanan kitaplar Princeton Üniversitesi, Columbia Üniversitesi, Harvard Üniversitesi, Oxford Üniversitesi, Halle Wittenberg Üniversitesi, Toronto Üniversitesi, Britanya Üniversitesi, Stanford Üniversitesi, Kaliforniya Üniversitesi, Duke Üniversitesi, Chicago Üniversitesi ve Amerika Birleşik Devletleri Kongre Kütüphanesi gibi dünyanın önde gelen üniversite ve kamu kütüphanelerinin kataloglarında yer almaktadır.

Eda ALTUNEL  
Genel Yayın Yönetmeni

SERÜVEN  
YAYINEVİ





# CERTIFICATE OF PARTICIPATION

THIS IS TO CERTIFY THAT

## Süeda Nur KERİMOĞLU

attended the 2<sup>nd</sup> Munzur International Scientific Research and Innovation Congress  
held on July 24-26, 2025 / Tunceli, Türkiye  
with an oral presentation entitled  
INVESTIGATION OF THE ANTBACTERIAL EFFECT OF SILVER  
NANOPARTICLES OBTAINED FROM THYMUS SERPYLLUM  
ON THE FOOD PATHOGEN ESCHERICHIA COLI

**ASSOC. PROF. DR. ÖZLEM ÜLGER**  
Member of Organizing Committee  
[www.ubakkongre.com](http://www.ubakkongre.com)

EK-4

KONGRE SERTİFİKA



## ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı:	Süeda Nur KERİMOĞLU
Uyruğu:	T.C.
Orcid Numarası:	0009-0001-3461-9560

EĞİTİM BİLGİLERİ	
<b>Lisans</b>	
Üniversite:	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fakülte:	Mühendislik Fakültesi
Bölümü:	Gıda Mühendisliği
Mezuniyet Yılı:	2019
<b>Yüksek Lisans</b>	
Üniversite:	Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü:	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı:	Biyoloji
Mezuniyet Yılı:	2026

Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler	
<p><b>Uluslararası Hakemli Kitaplarda Yayımlanan Kitap Bölümü</b> Kerimoğlu, S. N., &amp; Erdem, B. (2024, Aralık). Gıda patojeni olan <i>Escherichia coli</i> ve iklim değişikliği. In O. Yazıcıoğlu (Ed.), <i>Biyolojik bilimlerde güncel yaklaşımlar ve araştırmalar</i> (s. 39). Serüven Yayınevi. Kerimoğlu, S.N. (2025, Aralık). Using Essential Oils As Sustainable Food Preservatives: Their Chemical Structure And Safety Considerations. In E. Çöteli (Ed.), <i>International Compilation of Research and Studies in Chemistry</i> (s. 61). Serüven Yayınevi.</p> <p><b>Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler</b> Kerimoğlu, S. N., &amp; Erdem, B. (2025, Temmuz). <i>Thymus serpyllum</i>'dan elde edilen gümüş nanopartikülün gıda patojeni olan <i>Escherichia coli</i> üzerindeki antibakteriyel etkisi. In Ö. Uçar (Chair), <i>2. Munzur Uluslararası Bilimsel Araştırmalar ve İnovasyon Kongresi</i>, Uluslararası Kongre ve Konferanslar Platformu, Tunceli, Türkiye.</p>	