

# Patojenik *Escherichia coli* suşlarının yeşil yapraklı bitkiler üzerinde biyofilm oluşturma kabiliyetleri

Hilal Samut\*, Şahin Namlı\*, Yeşim Soyer\*

\*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, Turkey, 06800

## GİRİŞ

- İnsan patojenleri, çiğ tüketilebilen yeşil yapraklı sebzelere tutunabileceğinden dünyada gıda kaynaklı salgınların yaygın nedenlerindedir.

- Hem yaprak yüzeyinde hem de tohum üzerinde bakteriyel bir bulaş olduktan sonra, bakteriler biyofilm halinde yaprak yüzeyine tutunduğundan her zamanki sanitasyon uygulamalarıyla uzaklaştırılmaları zordur.

## AMAÇ

- İnsanlarda ciddi hastalıklara yol açabilecek patojenik *Escherichia coli* suşlarının yeşil yapraklı bitkiler üzerinde bakteri ve biyofilm popülasyonlarının, hem bulaşının nereden kaynaklandığıyla (tohum ya da yaprak) hem de bulaşının meydana geldiği zaman dilimiyle nasıl değiştiğinin araştırılması

- Taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile yaprak yüzeyinde biyofilm yapılarının tespit edilmesi

## YÖNTEM

### 1. Bakteri konsantrasyonu ayarlama

BHI besiyerinde  $OD_{600} = 0.3$  (~ $10^8$  KOB/ml)

### 2. Tere Tohum sterilizasyonu

%12 NaClO'da 12 dk.

### 3. Kontaminasyon grupları

**Tohum kontaminasyonu**  
-Her bakteri için farklı grup  
-Çimlenme & gelişme: 15°C %65 RH

**Filiz kontaminasyonu**  
-Her bakteri ve 4 farklı kontaminasyon zamanı için farklı grup  
-Çimlenme: 20°C %65 RH  
-Gelişme: 15°C %65 RH

### 4. Hasat (30. günde)

### 5. EMS ile biyofilm ve bakteri sayımı

### 6. SEM ile görüntüleme

## SONUÇLAR

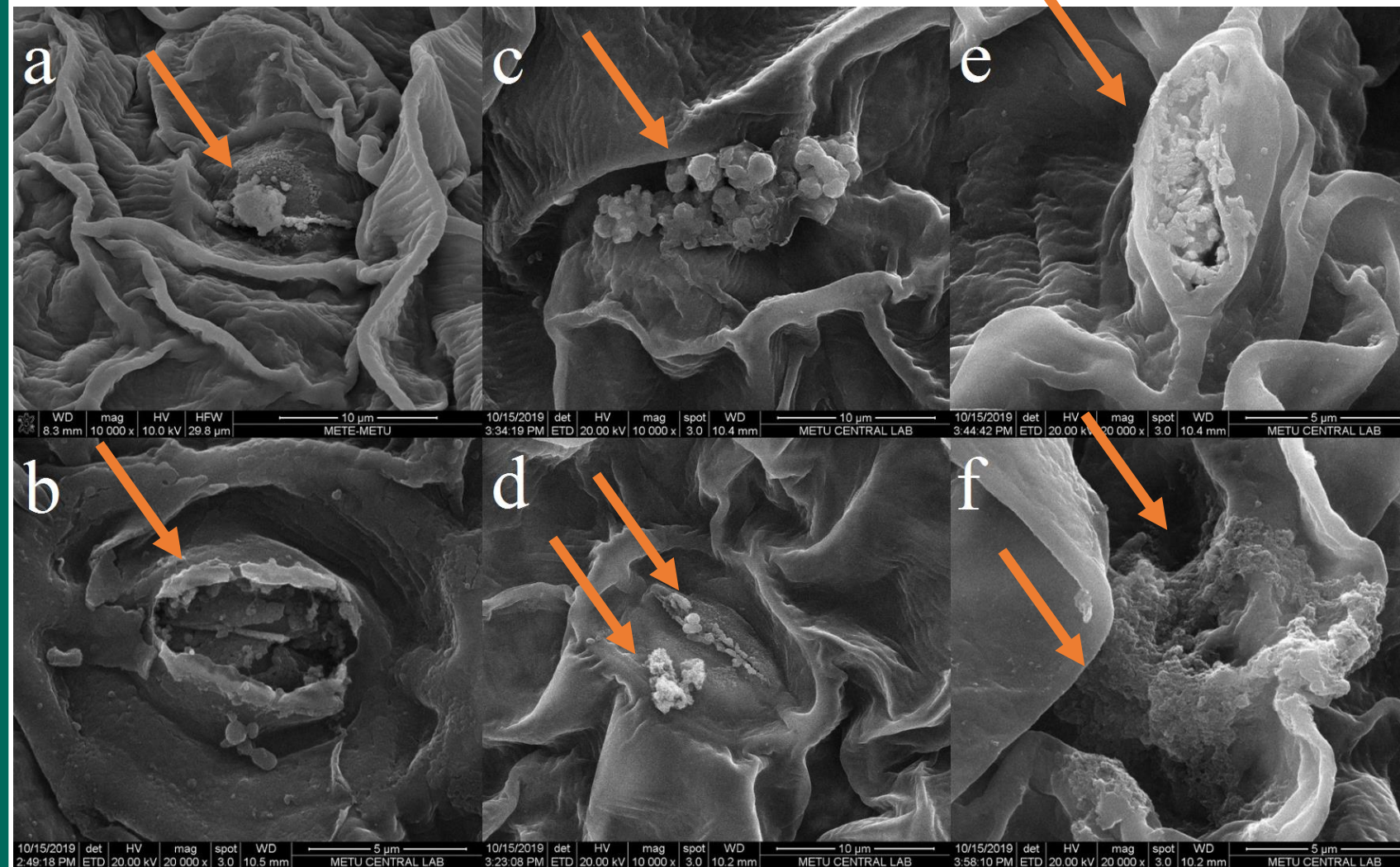
- Steril tohum kullanılarak optimum büyüme sıcaklığında (15°C) yetiştirilen filizler, 4 haftalık gelişim döngülerinde farklı haftalarda kontamine edilmiş ve patojenik *E. coli* suşlarının hasada kadar yaprak yüzeyinde varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir (Şekil 1, 2, 3).

- 8 log MPN/g konsantrasyonda kontamine edilmiş tohumdan yetiştirilen filizlerde, hasat zamanında yapraklarda patojenik *E. coli* suşlarının varlığını sürdürdüğü ve tutunmanın biyofilm şeklinde olduğu görülmüştür (Şekil 4).

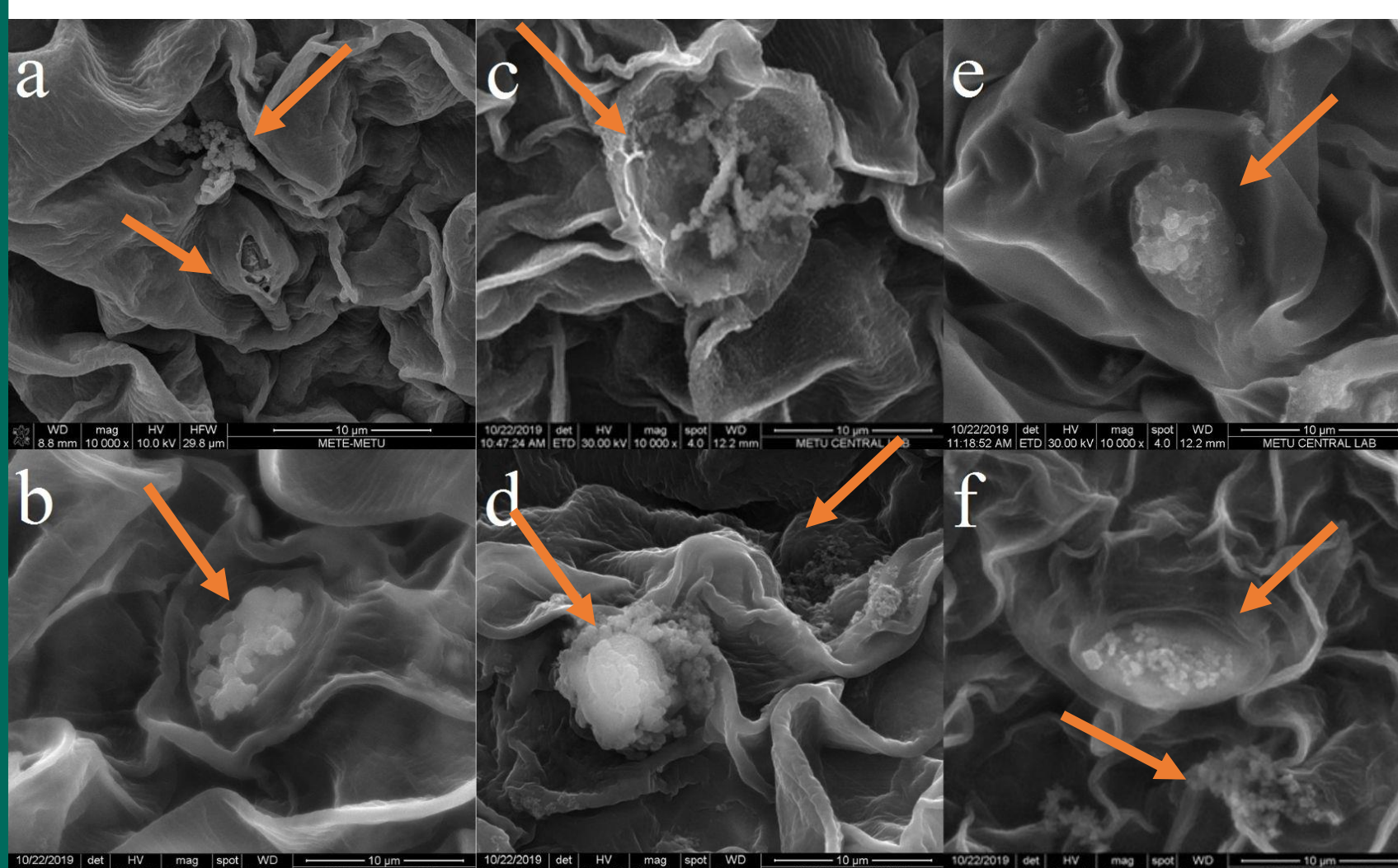
- Hem tohumdan hem filizden kontamine edilen yaprak örnekleri SEM ile incelendiğinde tutunan yapıların daha korunaklı olacakları yaprak kıvrımlarına ve bitki içerisine internalize olabilecekleri stoma gibi açıklıklarda toplandıkları gözlemlenmiştir (Şekil 1, 2, 3). Dolayısıyla, *E. coli* gibi normalde enterik patojen olan bakteriler bitki yüzeylerini kolonize edebilmekte ve normal sanitasyon metotlarıyla da yaprak yüzeyinden uzaklaştırılmaları zorlaşmaktadır.

- Sonuç olarak, hasat öncesi dönemde meydana gelebilecek bakteriyel kontaminasyon yaprak yüzeyinde uzun süre varlığını koruyabilir ve özellikle çiğ tüketilebilen sebzeler aracılığıyla önemli gıda kaynaklı salgınlara yol açabilir. Bundan dolayı, hasat öncesinde bakteriyel kontaminasyonu engelleyecek önlemlerin alınması oldukça önemlidir.

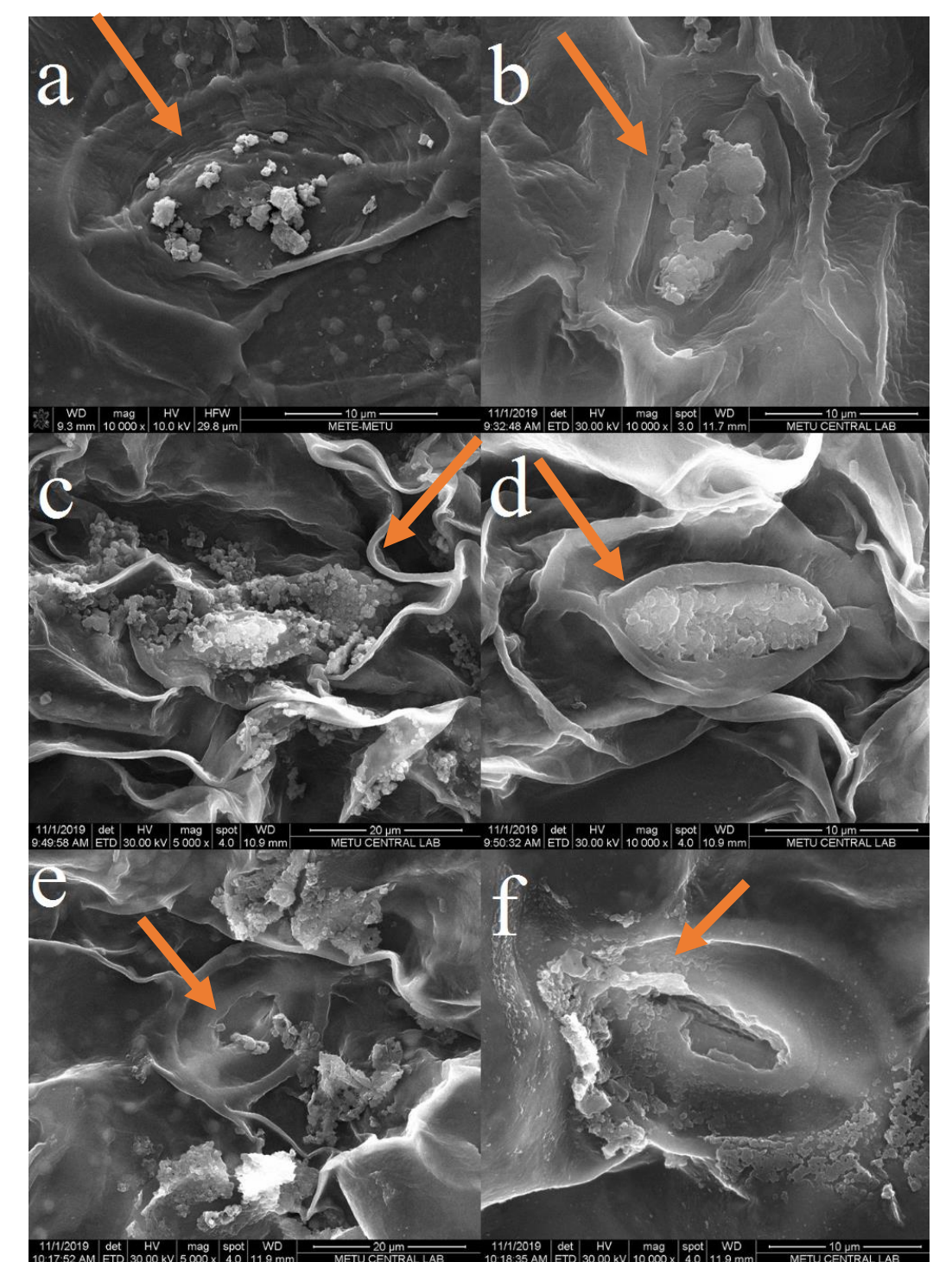
- *Escherichia coli*, yeşil yapraklı sebzeleri kolonize etmekte ve hasada kadar varlığını sürdürmektedir.



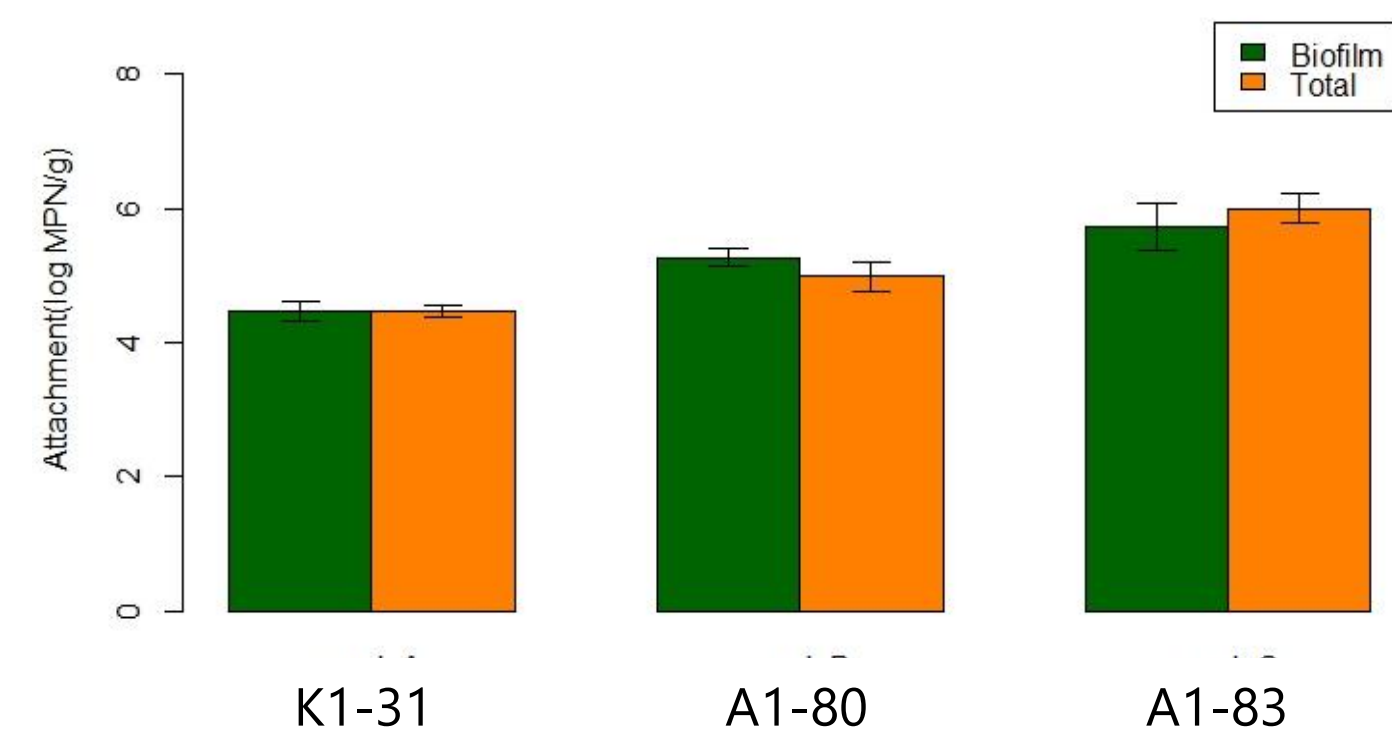
Şekil 1: K1-31 ile kontamine edilmiş yaprak örneklerinin SEM görüntüleri. a: Tohum kontaminasyonu, b: 2. hafta, c, d: 3. hafta, e, f: 4. hafta filiz kontaminasyonu.



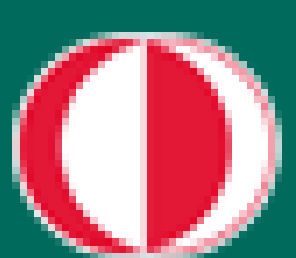
Şekil 2: A1-80 ile kontamine edilmiş yaprak örneklerinin SEM görüntüleri. a: Tohum kontaminasyonu, b: 2. hafta, c, d: 3. hafta, e, f: 4. hafta filiz kontaminasyonu.



Şekil 3: A1-83 ile kontamine edilmiş yaprak örneklerinin SEM görüntüleri. a: Tohum kontaminasyonu, b: 2. hafta, c, d: 3. hafta, e, f: 4. hafta filiz kontaminasyonu.



Şekil 4: Tohumdan kontamine edilmiş yaprak örneklerinde patojenik *E. coli* suşlarında toplam ve biyofilm sayım sonuçları (log MPN/g)



## Teşekkür

1180673 numaralı projesinde finansal desteği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkür ederiz.