

T. C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ



**HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN İÇME ve KULLANMA SULARININ
KOLİFORM ve FEKAL KOLİFORM KONTAMİNASYONUNUN KLASİK
ve MASS SPEKTROMETRE YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Ezzat Ameer RIFAAT**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR**

İSTANBUL - 2014

**T. C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ**

**HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN İÇME ve KULLANMA SULARININ
KOLİFORM ve FEKAL KOLİFORM KONTAMİNASYONUNUN KLASİK
ve MASS SPEKTROMETRE YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Ezzat Ameer RIFAAT**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR**

İSTANBUL - 2014



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği (Tezli) Yüksek Lisans Programı Y1213.040006 numaralı öğrencisi **Ezzat Ameer RİFAAT**' ın “**HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN İÇME VE KULLANMA SULARININ KOLİFORM VE FEKAL KOLİFORM KONTAMİNASYONUNUN KLASİK VE MASS SPEKTROMETRE YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 03.04.2014 tarih ve 2014/05 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından **oybirliği / oyçokluğu** ile Yüksek Lisans Tezi olarak **kabul** edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi : 18.04.2014

1) Tez Danışmanı : Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Bülent NAZLI

3) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Güner ÖZAY

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Halk Sağlığı Açısından İçme ve Kullanma Sularının Koliform ve Fekal Koliform Kontaminasyonunun Klasik ve Mass Spektrometre Yöntemleriyle İncelenmesi**” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR ‘ın sorumluluğunda tamamladığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 18/04/2014

(İmza)



Ezzat Ameer RIFAAT

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, çalışmanın düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesinde katkılarıyla Beni yönlendiren, yol gösteren ve destekleyen, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR' a; tezin her aşamasında yardımcı olan Dr. Esat BONABİ, İsmail Hakkı TEKİNER, İnci Gökçe URUCU, Yeliz ARSLANTEPELİ ve Nihan ÖZGÜN' e; hayatım boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Sevgili Babama, Anneme ve Kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

Ezzat Ameer RIFAAT

2014

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	3
BEYAN.....	4
ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
RESİM LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Su.....	3
2.1.1 Su Kaynaklarının Durumu	4
2.1.3 Su ve Gıda Güvenliği	5
2.1.4 Su Kaynaklı Hastalıklar	7
2.1.5 İçme Suyu Sektörü Durumu	9
2.1.6 Suların Nitelikleri ve İçme Suyu Kalite Standartları	15
2.2. Koliform Grubu Bakteriler	18
2.2.1 Fekal Koliform Grubu Bakteriler	18
2.2.2 <i>Escherichia (E) coli</i>	18
2.2.3 Sularda Koliform, Fekal Koliform Bakteriler ve <i>E. coli</i> İnsidansı	20
2.2.3.1 Yurtdışında Yapılan Araştırmalar	20
2.2.3.2 Türkiye’de Yapılan Araştırmalar	22
2.2.4. Sularda Koliform Bakteriler Tespit Yöntemleri	24
2.2.4.1 Referans Standartlar	24
2.2.4.2 Klasik yöntemler	25
2.2.4.3 Moleküler Yöntemler	28
2.2.4.4 Kütle Spektrometrisi (MASS SPEKTROMETRE)	29
3. MATERYAL ve METOT.....	32
3.1 Materyal.....	32

3.1.1 Örnek Alımı	37
3.2. Metot	
3.2.1 En Muhtemel Sayı (EMS) Yöntemi.....	38
3.2.1.1 Kullanılan Besiyerleri	38
3.2.1.2 Koliform Grup ve Fekal Koliform Grup Bakterilerinin İncelenmesi	41
3.2.1.3 <i>E. coli</i> Bakterilerin İncelenmesi.....	42
3.2.2 Kütle Spektrometrisi (MASS SPEKTROMETRE) Yöntemi	43
3.2.2.1 Kullanılan Kimyasallar ve Referans Suş:.....	43
3.2.2.2 Örnek Hazırlama	44
3.2.2.3 İdentifikasyon	44
4. BULGULAR.....	46
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
6. KAYNAKLAR.....	62
7. ÖZGEÇMİŞ	74
ÖZET	75
ABSTRACT	76

KISALTMALAR

%	: Yüzde
+	: Pozitif, artı
-	: Negatif, olumsuz, eksi
<	: Az
>	: Fazla
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AWWA	: Amerikan Su Çalışmaları Derneği
BM	: Birleşmiş Milletler
CMC	: Çevre Mühendisleri Odası
°C	: Santigrat (Celcius) Derece
µl	: Mikrolitre
CFU	: Koloni Oluşturan Birim
dk	: Dakika
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EC	: <i>E. coli</i>
EMS	: En Muhtemel Sayı
EU	: European Union
FAO	: Dünya Tarım Örgütü
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FKGB	: Fekal Koliform Grup Bakteri
g	: Gram
ISH	: <i>in-situ</i> hibridizasyon
kDa	: kiloDalton
KOB	: Koloni Oluşturan Birim

MALDI-TOF MS	: Matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry
MALDI-TOF-MS	: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon / iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi
Maks.	: Maksimum
MF	: Membran filtrasyon
Min.	: Minimum
ml	: Mililitre
MPS	: Most Probable Number
PCR	: Poymerase Chain Reaction
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
s	: Saat
sn	: Saniye
ssp.	: Subspecies
TKGB	: Toplam Koliform Grub Bakteri
US\$: ABD Doları
USPHS	: Amerikan Kamu Sağlığı Hizmetleri
ve ark.	: ve arkadaşları
WHO	: World Health Organization
WPCF	: Su Kirliliği Kontrol Federasyonu
WSSD	: World Summit on Sustainable Development

ŞEKİL LİSTESİ

- | | |
|-----------------|---|
| Şekil 1 | Suyun özellikleri |
| Şekil 2 | İnsanlar ve hayvanlarda fekal bulaşma yolları |
| Şekil 3 | 2003 yılı itibariyle içme suyu tüketimi |
| Şekil 4 | Avrupa Ülkesinde su kaynaklı salgın hastalık sayısı (2000-2007) |
| Şekil 5 | MALDI Yöntemi ilkesi |
| Şekil 6 | MALDI Analizi-Uçuş süresi |
| Şekil 7 | MALDI İdentifikasyon Aşamaları |
| Şekil 8 | Su örnekleri tür ve sayıları |
| Şekil 9 | Su örneklerinin türüne göre % dağılımı |
| Şekil 10 | Tüm su örneklerinde TKGB dağılımı |
| Şekil 11 | Tüm su örneklerinde FKGB dağılımı |
| Şekil 12 | Tüm su örneklerinde EC dağılımı |

TABLO LİSTESİ

Tablo 1	Suda bulunan başlıca maddeler ve kaynakları
Tablo 2	Yıllık içme suyu tüketimi mukayese tablosu
Tablo 3	İçme suyu ihracaatında önde gelen ülkeler
Tablo 4	İçme suyu ithalatında önde gelen ülkeler
Tablo 5	Bölgeler itibariyle içme suyu tüketimi
Tablo 6	Türkiye içme suyu talep tahmini
Tablo 7	Türkiye içme suyu sektörü
Tablo 8	Türkiye'nin içme suyu dış ticareti
Tablo 9	İçme ve kullanma suyu mikrobiyolojik nitelikleri
Tablo 10	İçme ve kullanma suyu kimyasal nitelikleri
Tablo 11	Su örneklerinin dağılımı
Tablo 12	Cam ve plastik şişe suları alım yeri
Tablo 13	Damacana sebil suları örnekleri alım yeri
Tablo 14	Çeşme suyu örnekleri alım yeri
Tablo 15	Depo suyu örnekleri alım yeri
Tablo 16	Kuyu suyu örnekleri alım yeri
Tablo 17	En Muhtemel Sayı (EMS) Yöntemi Değerlendirme Tablosu
Tablo 18	Cam ve plastik şişe sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz sonuçları (n=26)
Tablo 19	Damacana Sebil sularındaTKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=9)
Tablo 20	çeşme sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=41)
Tablo 21	Kuyu sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=8)
Tablo 22	Depo sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=8)
Tablo 23	Su örneklerinde TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=96)

RESİM LİSTESİ

- Resim 1** En Muhtemel Sayı yöntemi (EMS) fermentasyon tüpleri
- Resim 2** LTB tüpleri – Sağdaki Durham tüpünde gaz oluşumu
- Resim 3** BGL Broth-Sağdaki Durham tüpünde gaz oluşumu
- Resim 4** EC broth – Sağdaki Durham tüpünde gaz oluşumu
- Resim 5** EC brothda fekal koliform oluşumu
- Resim 6** TBX agarda *E. coli* kolonileri
- Resim 7** Endo agarda *E. coli* kolonileri
- Resim 8** VITEK MS-MALDI-TOF cihazı
- Resim 9** VITEK MS-MALDI-TOF sonuçları 1
- Resim 10** VITEK MS-MALDI-TOF sonuçları 2

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Su, canlı formlar için yaşamsal önemi olan ve yerine başka bir maddenin konulamayacağı mükemmel bir maddedir. Bu özelliğiyle su insan ve hayvanlar için hayati fizyolojik süreçlerin (sıvı homestazi) sürdürülebilmesinde vazgeçilmez olmaktadır. İnsan vücudu yaş ve cinsiyete göre değişiklik göstermekle birlikte, ortalama % 50-60 kadar su içermektedir (Özpinar, 2011; CMC, 2012).

Dünya nüfusu 20. yüzyılda 19. yüzyıla göre üç kat artış gösterirken; su kaynakları kullanımını ise altı katı yükselmiştir. Bu artışın doğal bir sonucu olarak; Dünyamız açısından su krizi ile yüzleşmek kaçınılmaz olmaktadır. İçme ve kullanım amaçlı su miktarı Dünya'daki toplam kullanılabilir su rezervlerinin yalnızca % 0,25' ine karşılık gelmektedir (Atvur, 2013).

Birleşmiş Milletler (BM) verilerine göre; Dünya'da sıhhi sudan mahrum 1,4 milyar insan yaşamakta, 470 milyon kişi su kıtlığı çeken bölgelerde yaşamakta, her yıl 250 milyon insan su kaynaklı salgın hastalıklara yakalanmakta ve yaklaşık 10 milyonu mikrobiyal infeksiyonlar sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Bu durum özellikle çocuklar açısından ürkütücü istatistikler ortaya koymaktadır. Kirli su kullanımına bağlı sebeplerden Dünya'da her gün 4 bin çocuğun öldüğü ve 400 milyonunun ise sıhhi su bulamamaktadır (Anonim, 2007). Son yapılan tahminler 2025 yılı itibariyle 3 milyarı aşkın insanın içme ve kullanım amaçlı yeterli ve sıhhi su sıkıntısı çekeceğini öngörmektedir (CMC, 2012; WSSD, 2002).

Sıhhi ve kaliteli su gıda güvenliği, beslenme ve halk sağlığının olmazsa olmaz koşullarından birisidir. Bu sebeple, içerisinde hastalık etmeni patojen mikroorganizmaların, kimyasal ve fiziksel bulaşanların olmadığı ve beslenme açısından dengeli mineral madde dağılımı ihtiva eden suyun insan sağlığı bakımından önemi çok sayıda araştırma ile kanıtlanmıştır. Sağlık açısından uygun suyun en önemli özelliği mikrobiyal niteliğidir. Dünya'da her yıl gayr-ı sıhhi su kullanımı sebebiyle; koleradan 30-40 bin, tifo ve paratifo'dan 25 bin, ishali hastalıklardan 4 milyon (özellikle 0-4 yaş çocuklar), poliomyelitten 25 bin, askariyazisden 20 bin, şistozomiyazisden 200 bin, sıtmadan 1-2 milyon ve onkoserkiyazisden 20-50 bin kişinin yaşamını kaybetmektedir (WHO, 2014).

İçme ve kullanma sularında en çok rastlanan ve sağlık açısından sorun teşkil eden mikroorganizmalar özellikle barsak flora bakterileri olan koliformlardır. Suyun mikrobiyal analizi de koliform bakterilerin sularda varlıklarının aranması esasına dayanmaktadır (Selin, 2004).

Koliform grup bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, gram negatif, spor oluşturmeyen, 35 °C' de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan, çubuk şeklindeki bakterilerdir. Genel karakteristik özelliklerine göre, toplam koliform veya fekal koliform olarak iki grupta sınıflandırılırlar. Fekal koliform bakteriler ve *Escherichia (E) coli* sularda fekal kontaminasyon göstergesi olarak kabul edilmektedirler. Özellikle *E. coli*' nin patojenik tipleri, insan ve hayvanlarda sonucu ölüme kadar giden ishallere, nefropatiye, menenjit, septisemi, arteriosklerosis, Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS), yara infeksiyonları ve çeşitli immünolojik hastalıklara sebep olabilmektedir. Bu nedenle, toplam ya da fekal koliform bakterileri içeren sular arındırılmadan insani tüketim ve kullanım amaçlı kullanılmamalıdır (Anonim, 2013).

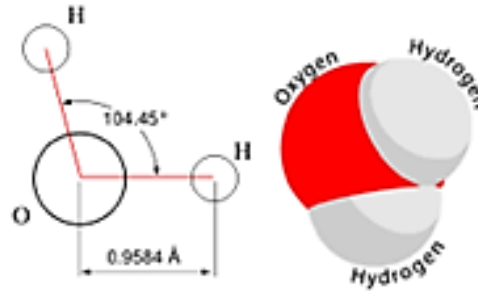
Bu çalışmada, İstanbul ili ve çevresinden toplanan içme amaçlı cam ve plastik şişe suları, içme amaçlı damacana sebil suları, kullanım amaçlı şehir şebeke çeşme suları, kullanım amaçlı depo suları ve kullanım amaçlı kuyu sularında toplam koliform grup bakteriler, fekal koliform grup bakteriler ve *E. coli* varlığını tespit etmek amacıyla klasik yöntem ve MASS SPEKTROMETRE kullanıldı.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Su

2.1.1 Su ve Önemi

Su canlı yaşamının temel öğelerinden birisi ve aynı zamanda önemli bir besin maddesidir. İnsan vücudunda bulunan su miktarı ortalama olarak bireyin vücut ağırlığının % 50-60'ı arasında bir değerdedir. Yetmiş kg ağırlığında yetişkin bir kişi için bu oran 42 litreye karşılık gelmektedir. İçerdiği mineral ve diğer bileşiklerle insan vücudundaki biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesinde önemli rol oynamakta, pH dengesini korumakta, besin öğelerinin hücrelere, organlara ve organellere dağıtılmasını sağlamakta ve atıkların vücuttan uzaklaştırılmalarında rol oynamaktadır. (Akın ve Akın, 2007; Demirci, 2007). Su tüketimi miktarının önemi yanında, sıhhi olması ve kalitesi de en önemli niteliklerinden yalnızca bir kaçıdır (ATO, 2012).



Bilimsel ismi:	Su
Alternatif isimler:	aqua, dihidrojen monoksit, hidrojen hidroksit
Moleküler formülü:	H ₂ O
Mol kütlesi:	18.0153 g/mol
Yoğunluk (Hallere göre):	1.000 g/cm ³ , sıvı 0.917 g/cm ³ , katı
Donma noktası:	0 °C (273.15 K) (32 °F)
Kaynama noktası:	100 °C (373.15 K) (212°F)
Özgül ısı kapasitesi (sıvı):	4184 J/(kg·K)

Şekil 1: Suyun Özellikleri (www.suder.org.tr)

2.1.1 Su Kaynaklarının Durumu

Dünya yüzeyinin % 70,8' i hidrosfer denilen sularla kaplıdır. Hidrosferin %98 'ini tuzlu sular (okyanuslar ve denizler) ve % 2 'sini ise tatlı sular (göller, nehirler, ırmaklar, yer altı kaynakları, bitki ve hayvan dokuları, kutuplardaki buzullar, atmosferdeki su buharı ve bulutlar ile yağmur ve kar) oluşturmaktadır. Birleşmiş Milletler (BM) 2012 yılı "*Su İstatistikleri Raporu*" 'unda veriler yeryüzündeki toplam su hacminin 1,4 milyar km³ olduğunu, bu miktarın yaklaşık 35 milyon km³ ünün tatlı su kaynaklarında oluştuğunu ve toplam tatlı su hacminin ise 350 bin km³ ünün (% 1) kullanılabilir niteliklerde bulunduğu bildirilmektedir (Gökdemir, 2002).

Sanayi Devrimi başlangıcı kabul edilen 18. yüzyılın son çeyreğinde Dünya nüfusu 1 milyar iken; 1950 yılında 2,5 milyara ve 2005 yılı sonunda ise 6,5 milyara ulaştı. Bir alanda su arzının kişi başı 1.700 m³/yıl' ın altına inmesi durumu su stresi ve 1000 m³/yıl' ın altına inmesi ise su kıtlığı olarak tanımlanmaktadır. Küresel su tüketimi 1990-1995 yılları arasında % 600 artmıştır. Az gelişmiş ülkelerde ortalama kişi başı su tüketimi gelişmiş bir ülkedeki miktarın yalnızca % 1-2' sine karşılık gelmektedir (BÜİDÇG, 2013).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO; DSÖ) 2025 yılında Dünya nüfusunun yarısının yetersiz su arzı ile karşı karşıya kalacağını, günümüzde bile gelişmekte olan ülkelerde 20 milyon hektar arazide atık sular kullanılarak tarım yapıldığını raporlamaktadır. Günümüzde 894 milyon insan güvenli suya erişimmemektedir. 2,5 milyar insan temel su arındırma hizmetlerinden mahrum yaşamakta, yetersiz ya da gayrisıhhi içme suları kullanımı yüzünden her gün 5 yaş ve altı 1.800 çocuk hayatını kaybetmektedir (Moe ve Rheingans, 2006; Atvur, 2013; Leblanc, 2014).

Hızlı nüfus artışına, sanayi ve teknolojinin hızlı gelişmesine rağmen, çevre bilinci maalesef aynı hızda gelişmemiştir. Netice olarak; kaynakların sorumsuzca kullanımı sebebiyle insanlar açısından içilebilir ve kullanılabilir su miktarı giderek azalmakta ve geri dönüşü mümkün olmayacak sorunlar yaşanmasına uygun ortam hazırlanmaktadır. Tahminler, artan su ihtiyacı ve azalan kullanılabilir su kaynaklarının olumsuz anlamda geri dönülemez olarak 2030 yılında kesişeceğini ve küresel krizlere sebebiyet vereceğini göstermektedir (Akın ve Akın, 2007).

Durumun ciddiyeti karşısında BM alınacak alt yapı ve diğer tedbirlerle sıhhi ve kaliteli su sıkıntısı çeken insan sayısının 2015 yılına kadar yarıya indirilmesi hedefini koymuş ve üye ülkeleri, uluslararası örgütleri ve tüm ilgililerin bu hedefe ulaşılması için Ulusal ve Uluslararası çaba göstermeleri çağrısında bulunmuştur. Aynı rapora göre; Türkiye 2025 yılında su sıkıntısı çekecek ülkeler arasında gösterilmektedir (Kılıç, 2006).

2.1.3 Su ve Gıda Güvenliği

İnsan için yaşamını devam ettirebilmek için oksijenden sonra en önemli madde su' dur. İnsani tüketim ve kullanım amaçlı niteliklerde güvenli suyun temini her yerde mümkün olmamaktadır (Bayhan ve Hançer, 1987; İnal ve ark. 1991).

Su kirletici etmenler çözünmüş oksijen, fekal koliform bakteriler, suspansiyonel sediment, çözünmüş katılar, fosfor ve patojen biyolojik etmenlerdir. Dünya' nın birçok bölgesinde patojen biyolojik etmenler en önemli su kirletici unsurlar olma özelliklerini hala sürdürmektedirler.

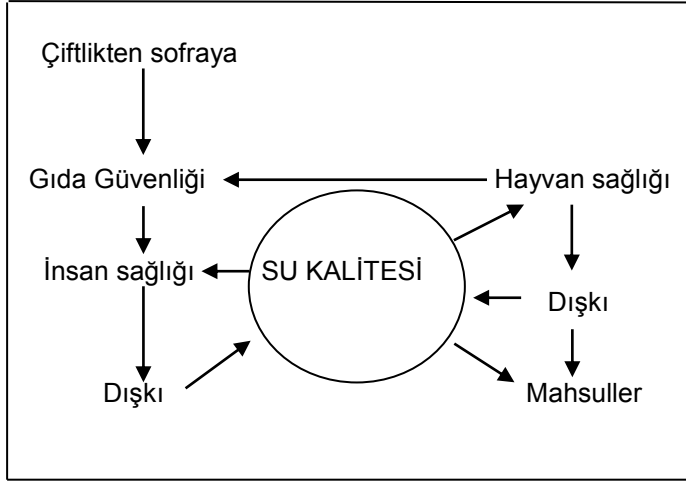
Bir infeksiyonun ortaya çıkışı karmaşık bir süreç olup; biyolojik, sosyal, çevreyle ilgili vd. pek çok etmenden kaynaklanmaktadır. Bradley (1977) fekal bulaşma yoluyla kirlenmiş suyun tüketilmesiyle ortaya çıkan hastalıkları kontrolü amaçlı çabaların su kalitesinin iyileştirilmesi ve hastalıkların önlenmesi bakımından önemine dikkat çekmiştir. Dünyada'da ölüm sebepleri arasında % 26 ile infeksiyöz hastalıklar gelmektedir. İnfekte olan kişilerin ise % 31' inin iş göremez hale geldiği bilinmektedir (Güler ve Çobanlıoğlu, 1997).

Son 20 yılda zoonotik kaynaklı infeksiyon prevalansında % 75 artış olduğu WHO tarafından bildirilmektedir. Bu artışın su kaynakları bölgelerinde yaygın şekilde bulunan hayvan rezervuarlarının (çiftlikler ve besleme yerleri gibi) etkilerinin anlaşılması için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Dünya'da 2004 yılı itibariyle 1,2 milyar büyükbaş, 800 milyon domuz ve 12 milyar kanatlı hayvan bulunduğu; bu rakamların her yıl % 4,5 kadar arttığı ve artışın en yüksek Asya, Güney Amerika ve Kuzey Afrika bölgelerinde olduğu bildirilmektedir.

Tablo 1: Suda bulunan başlıca maddeler ve kaynakları (Sarı, 2004)

İYONİK ÇÖZÜNMÜŞ			Non-İYONİK ÇÖZÜNMÜŞ		
KAYNAĞI	(+) İYONLAR	(-) İYONLAR	ASKIDA KATI MADDE	KOLLOİDAL	GAZLAR
Mineraller Katılar ve Kayalar	Sodyum Kalisyum Magnezyum Potasyum Alüminyum Demir Manganez Bakır Çinko	Bikarbonat Karbonat Klorür Florür Nitrat Fosfat Hidroksitler Boratlar Silikatlar Sülfat	Kil kum ve diğer Inorganik katılar	Kil Sıllık Ferrikoksit Alüminyum oksit Magnezyum dioksit	Karbondioksit
Atmosfer	Hidrojen	Bikarbonat Klorür Florür	Toz-Polen		Karbondioksit Nitrojen Oksijen Sülfürdioksit
Organik Madde parçalanması	Amonyak Hidrojen Sodyum		Organik katı Organik atıklar	Humik madde içeren doğal organik bileş ikler .sebzeye rengini veren diğer organik atıklar	Amonyak Karbondioksit Hidrojin Hidrojin Metan Nitrojen Oksijen
Yaşayan Organizmalar			Alglar, Diatomlar, protozoa	Virüsler, Bakteriler Algler vb	Amonyak Karbondioksit Metan
Endüstriyel Alanlar	Ağır metaller içeren Inorganik iyonlar	Inorganik iyonlar Organik moleküller		Inorganikler, VOC içeren doğal ve sentetik organik bileşikler ,pestisitler virüsler bakteriler	Klorür Sülfürdioksit

Endüstriyel hayvancılık her yıl Dünya'ya 7 milyar ton atık bırakmakta olup; atık miktarında yıllık % 4 yükseliş görülmektedir. 2020 yılı itibariyle atık miktarının 18 milyar ton/yıl seviyesine ulaşacağı öngörülmektedir. Sonuçlar, fekal kirlenme göstergesi olan koliform ve *E. coli* mikroplarının su kaynakları için nasıl bir risk teşkil ettiğini göstermesi bakımından ayrıca önem taşımaktadır (Cotruva ve ark. 2004).



Şekil 2: İnsanlar ve hayvanlarda fekal bulaşma yolları (Bradley, 1977)

2.1.4 Su Kaynaklı Hastalıklar

Su kirliliğine etki eden unsurlar arasında başlıcaları sanayileşme, şehirleşme, nüfus artışı ve zirai mücadele ilaçları (pestisit) ile kimyasal gübreler gelmektedir. Suyun fiziksel özelliklerinin değişmesi (renk, koku, tat, saflık vs.) fiziksel kirliliğe neden olurken, ağır metaller ve inorganik atıklar atık suda kimyasal kirliliğe sebep olmaktadır

Sıhhi olmayan su, taşıdığı ve içerdiği birçok maddelerle çeşitli hastalıkların nedeni olabilmektedir. Su, yağış olarak yeryüzüne dönerken havada bir takım gazlar, inorganik maddeler ve radyoaktif elementleri içerisine alır. Toprak altına süzülürken de endüstriyel atıklar, yer üstü sızıntuları, tarım ve böcek ilaçları ile lağım suları bünyesine karışabilmektedir (Büyükıdan ve ark. 2008).

WHO 2013-2020 dönemini kapsayan “*Su Kalitesi ve Sağlık Stratejisi*” başlıklı raporunda; 58 Dünya ülkesinden toplam 589.854 adet su kaynaklı enfeksiyon vakası

bildirimi geldiğini ve 2010 yılına göre su kaynaklı infeksiyon prevalansında % 85 artış görüldüğünü bildirmektedir.

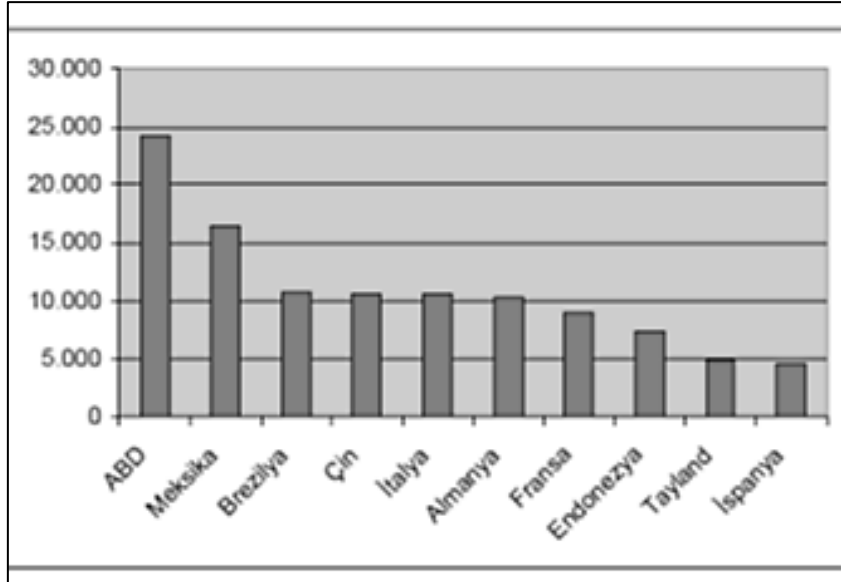
A.B.D' nde 1991-2000 yılları arasında su kaynaklı salgın hastalıklara yol açan mikroorganizmaların % 40' ının tanımlı olmadıkları; Avrupa Birliği (AB) Çevre Ajansı ise 15 üye ülkede yaşayan kişilerin % 12' sinin maksimum kabul edilebilir seviyelerin üzerinde su kaynaklı bulaşmaya maruz kaldıklarını rapor etmektedir (WHO, 2003; European Environment Agency 2003; WWF, 2014). Bu nedenle, su kaynaklı infeksiyonların etimiyolojisinin anlaşılması bakımından farklı coğrafyalarda farklı zamanlarda görülen salgın etmenlerinin incelenmesi ayrıca bir önem taşımaktadır.

Dünya üzerinde yetersiz ve sıhhi olmayan su kullanımı sebebiyle 300 milyar US\$' ı aşkın küresel maddi zararın gerçekleşmekte ve bu zararın 260 milyar US\$' ın Güney ve Doğu Asya Ülkeleri ile Sahara altı Afrika ülkelerinden kaynaklanmaktadır. Sıhhi içme ve kullanma suyu arzı için 2010 ve 2015 yılları arasında 23 milyar US\$/yıl olmak üzere; toplam 115 milyar US\$ yatırıma gerek duyulmakta ve bu toplam yatırım bedelinin % 54' ünün kırsal kesimlere yapılması gerekmektedir (WHO, 2012). Gelişmekte olan ülkelerde sıhhi içme ve kullanma suyu arzı için her yıl ortalama 18 milyar US\$ yatırım yapılması, mevcut su şebekeleri ve yatırımların bakım ve arındırma giderlerinin toplam 54 milyar US\$/yıl olduğu bildirilmektedir (Hutton ve Bartram, 2008).

Türkiye' nin içilebilir ve kullanılabilir su arzı için kentlerde 30,1 US\$/kişi-yıl ve kırsalda ise 58,7 US\$/kişi-yıl yatırım yapılması gerekmektedir. Arındırma hizmetleri için gerekli kanalizasyon yatırımının; kentlerde 11,6 US\$/kişi-yıl iken; kırsal kesimlerde ise 37,6 US\$/kişi-yıl olarak gerçekleşmesi gerekmektedir. 2010 yılında Türkiye'de sağlıklı su için 4.804.000 US\$ yatırım gerçekleştiği ve 4.748.000 kişiye hizmet götürüldüğü rapor edildi. Ancak, bu yatırımların olması gereken rakamların gerisinden kaldığı görülmektedir (WHO/HSE/WSH, 2012). Türkiye' nin demografik dağılımı ve nüfusu göz önüne alındığında, sağlıklı ve içilebilir su arzının mali boyutu ve ve mevcut dağıtım şebekelerinin yıllık bakım masraflarının eklenmesiyle birlikte, halk sağlığı bakımından olayın mali boyutu açık şekilde anlaşılmaktadır.

2.1.5 İçme Suyu Sektörü Durumu

Dünya’da içilebilir su miktarı tüm su kaynaklarının ancak % 1’ i kadardır. İçilebilecek tatlı su miktarının tüm Dünya üzerinde 1,4 milyar km³ olduğu ve % 8,5’ i (119 milyon km³) kullanılabilirdiği tahmin edilmektedir. 2000 yılı itibariyle su tüketimi ortalama 800 m³/kişi-yıl olarak verilmektedir (Tablo 2). Dünya nüfusunun ortalama 80 milyon kişi/yıl arttığı göz önüne alınırsa; içilebilir ve kullanılabilir su ihtiyacı da 64 km³/yıl artış göstermektedir. İçme amaçlı şişelenmiş su tüketiminin tün Dünya’ da son 30 yıl içinde yıllık % 7’ lik büyüme göstermiştir. 2003 yılı itibariyle pazar hacminin 89 milyar litre/yıl’ a ulaştığı bildirilmektedir (Sarı, 2004).



Şekil 3: 2003 yılı itibariyle içme suyu tüketimi (Milyon lt)

(www.bottledwater.org)

Tablo 2: Yıllık İçme Suyu Tüketimi (Milyon Lt.)

Ülkeler	1998	2003	Artış (%)
ABD	15.611,4	24.173,1	54,8
Meksika	10.859,9	16.458,1	51,5
Brezilya	4.728,8	10.735,2	127,0
Çin	3.532,8	10.602,9	200,1
İtalya	7.703,6	10.550,0	36,9
Almanya	8.198,8	10.308,1	25,7
Fransa	6.550,7	8.886,8	35,7
Endonezya	2.729,9	7.420,1	171,8
Tayland	3.832,9	4.921,6	28,4
İspanya	3.708,6	4.585,1	23,6
10 ülke	67.457,5	108.641,0	61,1
Diğer	20.185,2	35.070,8	73,7
Toplam	87.642,7	143.711,8	64,0

Tablo 3: İçme suyu İhracaatında önde gelen ülkeler (1.000 US\$)

(www.suder.org.tr)

Ülkeler	1998	1999	2000	2001	2002
Fransa	555.58	575.993	664.352	580.284	650.422
Çin	258.965	298.719	281.262	304.854	302.684
İtalya	107.715	114.999	127.441	155.878	191.090
Kanada	191.055	173.183	139.223	150.603	181.388
ABD	16.967	25.146	26.246	35.167	35.220
Almanya	24.760	28.329	22.479	21.104	28.553
Meksika	6.689	6.671	6.659	7.981	22.860
İngiltere	10.424	10.481	8.472	12.199	16.985
Slovenya	10.424	5.538	1.013	10.994	13.063
İspanya	6.664	6.963	8.015	8.874	9.203
Yunanistan	4.192	4.835	7.832	7.222	8.858
Portekiz	5.549	5.217	5.623	6.451	8.795
Avusturya	2.744	2.444	2.074	5.270	7.892
Türkiye	5.556	6.643	5.979	6.867	7.704
İrlanda	21.226	20.011	13.141	12.808	7.573
Norveç	1.479	1.458	2.790	2.951	7.203

Tablo 4: İçme suyu ithalatında önde gelen ülkeler (1.000 US\$)

(www.suder.org.tr)

Ülkeler	1998	1999	2000	2001	2002
ABD	335.135	329.909	322.616	326.487	335.112
Hong kong	209.712	315.493	288.602	324.889	324.553
Almanya	69.408	91.712	93.440	109.559	22.527
Belçika-lüks	112.345	113.664	136.992	136.372	148.597
Japonya	81.963	97.823	118.071	124.467	140.024
İngiltere	109.384	124.357	118.536	153.727	136.038
Fransa	43.101	47.850	46.917	49.644	62.741
İsviçre	48.311	51.583	50.735	56.615	60.549
Hollanda	36.391	39.670	29.975	36.160	49.185
Kanada	23.590	25.241	29.728	33.310	36.716
Rusya Fed	15.894	11.330	9.296	11.186	21.280
İrlanda	11.740	11.927	5.120	7.382	19.002
Singapur	10.048	10.603	10.958	12.472	11.874
Avusturya	4.889	5.545	4.494	7.461	10.833
İsrail	2.638	3.621	5.473	9.299	9.390

Türkiye içme suyu sektöründe 180 damacana su üreticisi, 80 PET su üreticisi ve 26 maden suyu üreticisi olmak üzere 300 kadar firma faaliyet göstermektedir. Bu firmalardan 4'ü % 100 yabancı sermayelidir (www.suder.org.tr).

Tablo 5: Bölgeler itibariyle içme suyu tüketimi
(www.suder.org.tr)

Bölge	Tüketim Oranı (%)
Marmara	48
Ege	19
İç Anadolu	14
Akdeniz	12
Karadeniz	4
Doğu Anadolu	3

Tablo 6: Türkiye içme suyu talep tahmini
(Tosun, 2005)

Yıllar	Nüfus Tahmini	Kisi başına Tüketim Miktarı (lt/yıl)	Yurtiçi Talep Tahmini (milyon lt)
2004	72.899.358	72.0	5.250
2005	74.231.958	74.9	5.560
2006	75.588.918	77.9	5.890
2007	76.970.068	81.0	6.235
2008	78.377.708	84.2	6.600
2009	79.810.452	87.6	6.990

Marmara Bölgesi Türkiye toplam su pazarının % 48' ini; Ege Bölgesi % 19' unu, İç Anadolu Bölgesi % 14' ünü, Akdeniz Bölgesi % 12' sini, Karadeniz Bölgesi % 4' ünü ve Doğu Anadolu Bölgesi % 3' ünü oluşturmaktadır. İller bazında İstanbul ve Ankara en önemli içme suyu pazarları olarak kabul edilmektedir (www.suder.org.tr).

Tablo 7. Türkiye içme suyu sektörü (www.suder.org.tr)

	2010	2011	2012	2013	2014 (Tahmini)
Toplam üretim (Milyar lt)	9.5	9.9	10.3	10.3	10.4
Damaca (Milyar lt)	6.4	6.5	6.5	6.2	5.86
PET üretim (Milyar lt)	3.1	3.4	3.8	4.2	4.58
Pazar Büyüklüğü (Milyar lt)	3.3	3.5	3.7	4.1	4.6
Kişi başı Tüketim (lt/yıl)	128	133	135	135	137
Büyüme %	6%	4.2%	3.1%	1.2%	1.0%
Toplam ihracat (Ton)	128.429	147.226	173.469	199.137	219.051
Toplam ihracat (US\$)	20.089.927	24.817.287	27.644.100	31.704.909	35.875.400

Tablo 8: Türkiye' nin içme suyu dış ticareti (US\$) (www.suder.org.tr)

Yıllar	ihracat	ithalat	Toplam	Fark
2000	5.086.593	182.825	5.269.418	+4.903.758
2001	6.038.357	13.699	6.052.056	+6.024.658
2002	6.808.121	31.181	6.839.302	+6.776.940
2003	16.525.299	18.283	16.543.582	+16.507.016
2004 Ocak	1.344.820	-	1.344.820	+1.344.820

2.1.6 Suların Nitelikleri ve İçme Suyu Kalite Standartları

İçme ve kullanma amaçlı suların nitelikleri “İçme Suyu Standartları TS 266” 'daki koşullara uygun, toplumun içme ve kullanma gereksinimleri için kullanıldığı şehir şebekeleri, kuyu, çeşme ve yine aynı amaçlarla kullanılmak üzere teknik usullerle arıtılmış dere, nehir ve göl, baraj suları ile kaynak suları olarak tanımlanmaktadır. İçme suları berrak, tortusuz, renksiz olmalı; çürük, yosun, küf, H₂S, amonyak, bataklik vb. kokular ile hastalık yapan mikroorganizmalar içermemelidir. Suların mikrobiyal özelliği halk sağlığı bakımından oldukça önem taşımaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Dünyada içme ve alıcı ortam suları ile ilgili çalışmalar yapan ve bu konuda standart geliştiren başlıca kuruluşlar aşağıda verilmektedir (Özay, 1996; Ataseven, 2011):

- Amerikan Kamu Sağlığı Hizmetleri (USPHS);
- Amerikan Su Çalışmaları Derneği (AWWA);
- Su Kirliliği Kontrol Federasyonu (WPCF);
- Dünya Sağlık Örgütü-Avrupa (WHO-E);
- Dünya Sağlık Örgütü-Uluslararası (WHO-I)

Türkiye’de içme suyu standardı “Gıda Maddeleri Tüzüğü” ve “TS 266” tarafından tanımlanmaktadır. Bu iki standart aynı zamanda Uluslararası Su Standardı olarak geçerli olan “WHO-*International Drinking Water Standards*” a da uygunluk taşımaktadır.

Sular doğada saf ve arınık şekilde bulunmamaktadırlar. Su bilinen en iyi çözücülerden birisi olduğu için, birçok maddeleri çözerek bileşimine almakta ya da çözemediklerini ise süspansiyon ve emülsiyon formunda taşımaktadır.

Bu maddelerin varlıkları, duyuşal organlarla, mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerle saptanmaktadır.

Suların içme ve kullanma referans kıstasları olarak Türk Gıda Kodeksi normlarına uyulmaktadır. Aynı zamanda içme ve kullanma suyunda yapılması gereken analizler ve bu analizlerin izin verilen değerleri “*İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelikte*” verilmektedir.

İçme ve kullanma sularının fiziksel (organoleptik) özellikleri; berrak, tortusuz, kendine has renkte ve kokusuz olmalarıdır.

Tablo 9: İçme ve kullanma suyu mikrobiyolojik nitelikleri (TS 266)

Özellik	Değer (maksimum)	
	Sınıf 1 ve Sınıf 2 Tip 1	Sınıf 2 Tip 2
<i>Escherichia Coli (E.Coli)</i>	0/250 ml	100/ml
<i>Enterococci</i>	0/250 ml	100/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/250 ml	-
Koloni sayısı, 22 °C	100/ml	-
Koloni sayısı, 37 °C	20/ml	-

- *Sınıf 1 - Kaynak (membra) suları.*
- *Sınıf 2 - Kaynak suları dışındaki insani tüketim amaçlı sular*
- *Tip 1 - İşlem görmüş kaynak (membra) suları,*
- *Tip 2- içme ve kullanma suları*

Lağım suları ile kirlenen sularda Fekal bakteri oranı artmaktadır. Pek çok tehlikeli bulaşıcı hastalıklar bu yolla yayılmakta ve salgın hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple sağlık kuruluşları suları düzenli olarak kontrol etmektedirler (Güler ve Çobanlıoğlu, 1997; Sarı, 2004).

Biyolojik yaklaşım su kalitesinin tayini için kimyasal analizleri tamamlayıcı olarak geliştirilmiştir (Güler, 2003; Ataseven, 2011). İçme ve kullanma sularının

mikrobiyolojik nitelikleri Tablo 9' da; kimyasal nitelikleri ise Tablo 10' da sunulmaktadır.

Tablo 10: İçme ve kullanma suyu kimyasal nitelikleri (TS 266)

Özellik	Değer (maksimum)		Birim
	Sınıf 1 ve Sınıf 2 Tip 1	Sınıf 2 Tip 2	
Antimon	5	50	µg/l
Arsenik	10	10	µg/l
Benzen	1	1	µg/l
Bar	1	1	µg/l
Bromat	10	10	µg/l
Kadmiyum	5	5	µg/l
Krom	50	10	µg/l
Bakır	100	2000	µg/l
Siyanür	50	50	µg/l
Florür	1	1,5	µg/l
Kurşun	10	10	µg/l
Cıva	1	1	µg/l
Nikel	20	20	mg/l
Nitrat	25	50	mg/l
Nitrit	0,10	0,50	µg/l
Pestisitler	0,10	0,10	µg/l
Toplam pestisit	0,50	0,50	µg/l
Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar	0,10	0,10	µg/l
Selenyum	10	10	µg/l

2.2. Koliform Grubu Bakteriler

Koliform grubu bakteriler, insan ve hayvan dışkıında çoğunluğu oluşturmakta ve fekal bulaşma indikatör oldukları için içme ve kullanma amaçlı sularda varlıkları aranmaktadır. Bir suyun koliform bakteri ve *E. coli* içermemesi demek; sıhhi açıdan kullanılabilir olduğu anlamına gelmektedir. Suda koliform bakteri varlığı insan sağlığı açısından potansiyle risk teşkil etmektedir. Bu familyaya ait *E. coli* nin bazı serotipleri insanlarda, özellikle çocuklarda ve de hayvanlarda apandisit, peritonitis, urogenital organ infeksiyonları ve gastroenteritis gibi hastalıkların etmeni olabilmektedir (Halkman, 2005).

Koliform bakteriler *Enterobacteriaceae* familyasına ait olup; Gram negatif, fakültatif anaerob gelişme yeteneğinde olan, spor oluşturmeyen, 36 ± 2 °C sıcaklıkta inkübe edildiğinde 48 saat içerisinde asit ve aldehit üretmek suretiyle laktozu fermente edebilen ve β -galaktosidaz enzimine sahip bakterilerdir. Başlıcaları arasında; *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* bulunmaktadır. Koliform bakterilerin bazı türleri hafif infeksiyon kaynağı iken; bazı türleri ise su kaynaklı ağır infeksiyonlara sebep olmaktadır (Dinçer ve ark. 2001).

2.2.1 Fekal Koliform Grubu Bakteriler

Fekal koliform bakteriler, total koliform bakterilerin bir alt grubu olup, dışkı kaynaklı olan tüm üyeler "fekal koliform" olarak adlandırılır. Bu mikroorganizmalar ile kontamine olan içme suları ishal ve mide bulantısı ile seyreden mide-bağırsak hastalıklarına sebep olabilirler. Bu etkiler çok çeşitlidir ve özellikle çocuklarda, yaşlılarda ve immun sistemi zayıf kişilerde hayati tehlike söz konusudur. Koliform grup içinde fekal koliform olarak tanımlanan bakterilerin büyük çoğunluğu *E. coli* suşları oluşturmaktadır (Dinçer ve ark. 2001; Halkman, 2005).

2.2.2 *Escherichia (E) coli*

E. coli gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan başlıca mikrobiyal patojenler

arasında gelmektedir. Normal bağırsak florasına ait olup; *Enterobacteriaceae* familyasında yer almaktadır. İlk defa 1885 yılında Dr. Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarında bulunmuş ve *Bacterium coli commune* adı verilmiş ve 1920 yılından itibaren *E. coli* denilmeye başlanmıştır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0,1-0,5 µm çapındadır. *E. coli* Gram-negatif bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalmaktadır. *E. coli* sebep olduğu hastalıklara göre farklı patotiplere ayrılmaktadır. Her patotipin farklı virülans faktörleri farklı hastalık semptomlarına sebep olmaktadır. Bunların en ünlüsü sayılan hemolitik üremik sendrom (HÜS) etmeni O157:H7 adlı serotip kanlı ishale ve ölüme yol açabilmektedir. WHO 22 Temmuz 2011 tarihli raporunda 16 Avrupa Ülkesi ve Kuzey Amerika için 4.075 adet *E. coli* bulaşması ve HÜS vakası ile 50 ölüm vakası bildirmiştir (Marrs ve ark. 2005; Mora ve ark. 2011).

Başlıca patotipleri aşağıda sunulmaktadır:

- Enterotoksijen *E. coli* (ETEC) tipleri, enterotoksin üreterek hastalık yapar.
- Enteroinvazif *E. coli* (EIEC) tipleri, doku hücrelerinin içine girip çoğalırlar.
- Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) tipleri dokuya sıkıca bağlandıktan sonra bir enflamasyon reaksiyonu oluştururlar.
- Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) Bu grupta olanlar Enteropatojenik özellikler taşımaya ilaveten Shiga (*stx1* ve *stx2*) toksinleri salgırlar. Bu gruba ait en ünlüsü *E. coli* O157:H7' dir.
- EnteroAggregatif *E. coli* (EAEC), bağırsak epiteline bağlanıp tuğla gibi dizilmiş bakteriler şeklinde görünür.
- Diffusely Adherent *E. coli* (DAEC), bir yaştan küçük çocuklarda ishale yol açar.
- Üropatojenik *E. coli* (UPEC) İdrar yolu infeksiyonlarının % 90' ının nedenidir.

2.2.3 Sularda Koliform, Fekal Koliform Bakteriler ve *E. coli* İnsidansı

2.2.3.1 Yurtdışında Yapılan Araştırmalar

Müller ve arkadaşları (2001) Güney Afrika' da, 15 farklı bölgeden topladıkları 204 adet içme ve kullanma amaçlı su örneklerinde koliform, Fekal koliform ve *E. coli* saptamadıklarını bildirdiler.

Bharath ve arkadaşları (2002) Trinidad'da yaptıkları araştırmada, 262 adet yerli ve 82 adet ithal olmak üzere toplam 344 adet şişe su örneklerini incelediler. Yerli suların 18' inde (% 6,9) toplam koliform, 5' inde (% 1,9) *E. coli*, 26' sında (% 9,9) *Pseudomonas* spp bulurken; ithal sulardamikrobiyal yüke rastlanmadılar.

Okafo ve ark. (2003) Nijerya' da 196 adet sulama suyu ve bu su kaynakları kullanılarak yetiştirilen 326 adet sebze örneklerinin 39' unda (% 7,4) enteropatojenik *E. coli* saptadılar.

Clasen ve Bastable (2003) Sierra Leone'de 13 köyün toplam 100 hanesinden aldıkları depo sularının % 92,9' unda yoğun fekal bulaşma görüldüğünü raporladılar.

Marsalek ve Rochfort (2004) Kanada Ontario'da fırtına ve şiddetli yağışların kanalizasyon suları ile birleştiklerinde içme amaçlı su kaynakları için ciddi tehdit oluşturduğunu; bu sulardan alınan örneklerde *E. coli* yükünün 10^5 kob/100 ml olarak kabul edilebilir sınırın oldukça üzerinde bulunduğu bildirdiler.

Eja ve ark. (2006) Güneydoğu Nijerya'da yerleşik restoranların soğuk su sebillerinden topladıkları su örneklerinde yüksek fekal kontaminasyona işaret eden $0,2 - 0,6 \times 10^4$ kob/ml seviyelerinde *E. coli* tespit ettiler.

Oswald ve ark. (2007) Peru' nun başkenti Lima'da yemek pişirmek için depolanan toplam 93 adet su örneğinin 26' sının (% 28) fekal bulaşma yönünden pozitif sonuç verdiğini buldular.

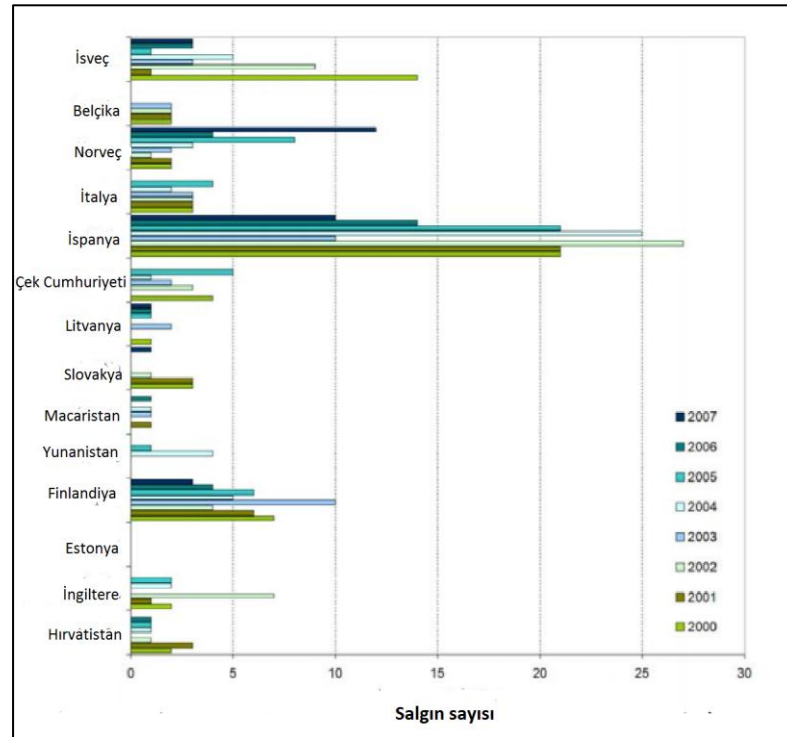
Lewin ve ark. (2007) Güney Afrika Cumhuriyeti'nde 2000 yılında rapor edilen 516.693 ölüm vakasının % 2,6' sının (n=13.434) su kaynaklı hastalıklar yüzünden gerçekleştiğini ve yaşa göre ilk sırayı 5 yaş ve altı çocukların % 9,3 (n=1249) ile aldığını saptadılar.

Reynolds ve ark. (2008) A.B.D' de 1971 ve 2002 yılları arasında 764 adet suyu kaynaklı infeksiyon vakası bildirildiğini; bu vakalarda 575.457 kişinin infekte olduğunu ve 79 ölüm gerçekleştiğini bildirdiler.

A.B.D' nin toplam kullanılabilir su kaynakları esas alındığında su kaynaklı hastalık sayısının ülke bazında 19,5 milyon kişi/yıl olarak tahmin edilmektedir (Reynolds ve ark. 2008).

Eshcol ve ark. (2009) Hindistan' ın Andhra Pradeş eyaletinde yaşayan insanların yetersiz altyapı sebebiyle içme ve kullanma sularını 48 saate ulaşan süreler için depolayarak kullandıklarını; içme ve kullanma sularını bu şekilde kullanan 50 hanenin depolarından aldıkları su örneklerinde yaptıkları koliform incelemesinde 18 (%36) depo suyu örneklerinin hijyenik açıdan uygun olmadığını tespit ettiler.

WHO Avrupa, 2000-2007 yılları arasında 14 Avrupa Ülkesinde tespit edilen içme suyu kaynaklı salgın sayılarını sunan çalışmasını 2009 yılında yayınladı. Seçilen bu 14 Avrupa ülkesinde su kaynaklı salgın hastalıklarla ilgili insidans verileri Şekil 4' te verilmektedir (WHO-E ENHIS, 2009).



Şekil 4: Avrupa Ülkelerinde su kaynaklı salgın hastalık sayısı (2000-2007)

(WHO-E ENHIS, 2009)

WHO 22 Temmuz 2011 tarihli raporunda 16 Avrupa Ülkesi ve Kuzey Amerika Bölgesi için *E. coli* ve Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS) vaka sayısını 4,074 ve ölüm sayısını 50 olarak bildirdi.

Jokinen ve ark. (2011) Kanada' da 43 kanalizasyon suyunun 2' sinde ve Oldman Nehri' nden alınan 342 su örneğinin 8' inde patojen *E. coli* O157:H7 saptadılar (Jokinen ve ark. 2011).

Palit ve ark. (2012) Hindistan' ın Kalküta şehrinde topladıkları 517 adet depo sularının % 58' inin (n=300), içme sularının % 28 (n=145) ve çeşme sularının % 8' inin (n=41) fekal koliform bakteri yönünden pozitif olduğunu buldular.

Moore ve ark. (2014) Haiti'de 2010 yılında başlayan ve 2013 yılı itibariyle 40.000 vaka sayısına ulaşan su kaynaklı salgının; Meksika' ya sıçradığını ve 2013 yılında 200 salgın vakasının rapor edildiğini ve salgının tüm bölge ülkeleri için potansiyel bir risk oluşturduğunu bildirdiler.

2.2.3.2 Türkiye'de Yapılan Araştırmalar

Yalçın ve ark (1988) Konya'da yürüttükleri araştırmada kuyular ve şehir şebekesinden aldıkları toplam 100 adet örneğin % 25' inde yüksek oranda (% 25) koliform grubu bakteri tespit ettiler.

Peker ve ark (1988) İstanbul ili Kadıköy ilçesinde yerleşik su istasyonlarından 550 adet, şişe sularından 30 adet, kuyu sularından 15 adet ve musluk sularından 25 adet örnekler topladılar. Su istasyonlarından alınan örneklerinde % 8,3 (n=45) ve kuyu suyu örneklerinde % 70,3 (n=11) oranında koliform grubu bakteri saptadılar.

Gönül ve Karapınar (1991) İzmir'de şehir şebeke suyu, kuyu suları, kaynak suları ve şişelenmiş içme sularından aldıkları toplam 100 adet örneğin % 15' inin (n=15) koliform bakteri ve bunlarında 5' inin (n=5) *E. coli* içerdiğini buldular.

Öz ve ark (1996) İstanbul ilinde mevcut su istasyonlarında satışa sunulan içme sularını mikrobiyolojik yönden değerlendirdiler. Buna göre; incelenen 669 kaynak suyu örneğinin 317' sinde (% 47,4) koliform grubu bakteri ve 99' unda (% 14,8) ise fekal koliform tespit ettiler.

Köksal (1999) İstanbul ilinde 11 farklı firmaya ait şişe sularında koliform grubu bakteri varlığına rastlamazken; 5 farklı firmaya ait damacana suları örneklerinde % 40 (n=2) ve 5 farklı firmaya ait restoran şişe suyu örneğinde ise % 20 (n=1) koliform grubu bakteri içerdiğini raporladılar.

Anar ve Gül (2000) Bursa il merkezinden topladıkları 100 adet içme ve kullanma suları örneklerinin % 7,1' inin mikrobiyolojik açıdan kontamine olduğunu bildirdiler.

Kenar ve Altındış (2001) Afyon' da içme ve kullanma suyu sağlayan kuyu, dağıtım yeri, su deposu, ev, işyeri, sokak çeşmesi ve özel işletme sondaj suyu gibi farklı yerlerden toplanan 30 adet su örneklerinden yalnızca birinin *E. coli* varlığı bakımından pozitif olduğunu saptadılar (Kenar ve Altındış, 2001).

Alkan ve ark (2005) Bursa ili içme suyu dağıtım sisteminden bakteriyel değişimleri incelemek amacıyla 10 gün arayla 3 defa aldıkları örneklerde heterofilik bakteri sayısını ortalama 100 kob/ml ve toplam koliform bakteri sayısını ise ortalama 1,6 kob/ml olarak buldular.

Gündüz ve ark (2006) Manisa kent merkezinden topladıkları 4176 adet içme ve kullanma suyu örneğinin % 21,6) mikrobiyal bulaşma olduğunu; uygunluk taşımayan örneklerin 308' inde (% 6,6) üst sınır olan 20 kob/100 ml' in 25 katı koliform grubu bakteri kolonisi saydıklarını raporladılar.

Kireççi ve ark (2006) Kars ve Sarıkamış askeri birliklerinde kullanılan içme sularından toplanan 1469 adet su numunesinin % 30' undan *E. coli* izole ettiler.

Avcı ve ark (2006) Tokat ilinde inceledikleri 2495 adet içme suyu örneğinin 342' sinde (% 12,7) koliform grubu bakteri tespit ettiler.

Şeker ve ark (2006) Ankara' da topladıkları 100 adet içme suyu örneğinde % 12,24 oranında *E. coli* buldular.

Akhan ve Çetin (2007) İstanbul ili Çatalca bölgesinde satışa sunulan damacana ambalaj içindeki içme sularının % 23,45' unun koliform grubu bakteri ve % 2,06' inin ise *E. coli* içerdiğini bildirdiler.

Öztürk (2003) İstanbul 80 adet kaynak suyu örneklerini ve dolun sonrası mikrobiyolojik değişimi incelediler. Elde edilen sonuçlara göre; Çatalca'dan 13 adet (% 62), Beykoz'dan 7 adet (% 47), Şile'den 6 adet (% 75), Eyüp'ten 19 adet (% 55) su örneklerinin mikrobiyal yük bakımından kabul edilebilir sınırlar içinde olduğunu saptadılar.

Toroğlu (2006) Kahramanmaraş ' ta akarsu kirliliği ile ilgili yapılan bir araştırmada Aksu Çayı ve kollarından alınan su örneklerinin % 67' sinde *E. coli* tespit edildiğini bildirdi.

Âlim ve ark (2008) Sivas'ta şebeke ve kaynak sularında yaptıkları çalışmalarında % 16,9 - % 39,5 toplam koliform ve % 6,4 - % 25,1 ısıya toleranslı koliform bulduklarını bildirdiler.

Alemdar ve ark (2009); Bitlis ilinde aldıkları toplam 164 adet içme suları örneklerinin % 8' inde *E. coli* varlığı buldular.

Avcı ve ark (2014) Malatya ili genelinden aldıkları toplam 1502 içme-kullanma suları örneklerinin % 30,2' sini (n=454) mikrobiyal bakımdan kullanılamaz düzeyde saptadılar.

2.2.4. Sularda Koliform Bakteriler Tespit Yöntemleri

2.2.4.1 Referans Standartlar

Dünya'da her yıl çoğunluğu gelişmekte olan ülkelerde olmak kaydıyla 2 milyon kişinin su kaynaklı hastalıklar sebebiyle hayatını kaybettiği bilinmektedir. Bu sebeple sularda sağlığı olumsuz etkileyen toplam ve fekal koliform bakterilerin hızlı ve düşük maliyetle tespiti gittikçe önem kazanmaktadır (Stauber ve ark, 2014). Avrupa Birliği (AB) mikrobiyolojik parametrelerin tespit yöntemlerini 3 Kasım 1998 tarihinde yayınladığı "*European Commission, Environment, Council Directive 98/83/EC*" ile belirlemiştir. Aynı yönetmelikte farklı analiz metotlarının da kullanılabileceğini ifade edilmektedir. Metot karşılaştırmalarında ise ISO 16140 standardı "*Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Protocol for the Validation of Alternative Methods, 2003*" ün takip edilmesi istenmektedir (Boubetra ve ark. 2011).

2.2.4.2 Klasik yöntemler

Su kalitesinde indikatör mikroorganizma olan koliform grubu bakteriler farklı yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Klasik metotlar farklı spesifik besiyerleri ve değişik inkübasyon şartları altında sıklıkla tercih edilmektedir.

Kontrol laboratuvarları *E. coli* enümerasyonunda referans metot olarak Laktoz TTC agar (LTTC), Colilert/18 sistemi, Laurysulphate Agar (LSA), Chromocult Koliform Agar and *E. coli* Direkt Ekim yöntemlerini kullanmaktadırlar.

Bu yöntemler arasında LTTC yöntemiyle LSA yöntemine göre daha fazla sayıda koloni sayıldığı bildirilmektedir. *E. coli* enümerasyonu için en ideal ve başarılı yöntemin direkt ekim (DP) olduğu raporlanmaktadır (Schets ve ark. 2002)

Klasik yöntemler arasında en çok rağbet görenler En Muhtemel Sayı (EMS) ve Membrane Filtrasyon (MF) teknikleridir. EMS yöntemi bir su örneğinin 100 ml'sinde var olan koliform sayısını hesaplamak için kullanılmaktadır. Bu yöntem ile toplam koliform bakteri sayısı ve *E. coli* enümerasyonu yapılmaktadır.

EMS ve MF (kob) yöntemleri fekal kaynaklı bakterilerin sularda sayılarının tahmininde kullanılan iki yöntemdir. Bu iki ampirik ve intrinsik yöntem arasında istatistiksel bir ilişki olup olmadığı araştırmacıların ilgisini çekmektedir. EMS yöntemi, MF yöntemine göre daha fazla sayıda değişken içerdiği için, bu yöntemle elde edilen sayım değerleri MF'a göre daha yüksek çıkmaktadır (Gronewold ve Wolpert, 2008).

EMS yönteminde sırasıyla 3 broth besiyeri kullanılmaktadır. Bu besiyerleri Lauryl Tryptose Broth (LTB), Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) Broth ve EC (*E. coli*) Broth' dur. LTB tüplerine azalan desimal dilüsyonlar şeklinde inoküle edilerek tüpler 35 ± 2 °C' de 48 saat inkübe edilirler (Resim 1).

İnkübasyon sonucunda Resim 2' de görüldüğü üzere gaz oluşumu görülen tüpler; BGLB içeren tüplere tekrar inoküle edilir ve 35 ± 2 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılır.

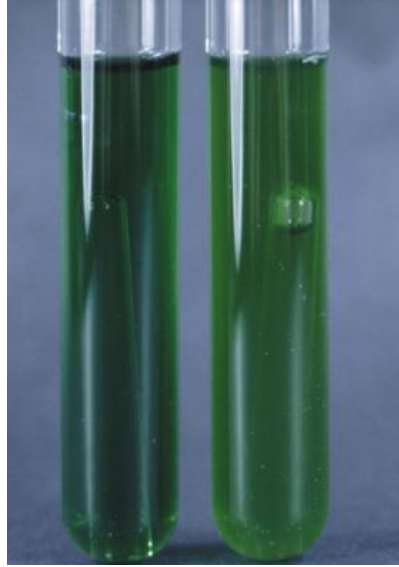
İnkübasyon sonunda gaz oluşumu görülen pozitif tüpler EC Brotha inoküle edilip; 45,5 °C' de 48 saat bir daha inkübe edilir ve gaz oluşumu görülen tüp (Resim 3 ve Resim 4) sayısı tespit edilir. Toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları ise FDA tarafından yayınlanan procedure göre ilgili tablo kullanılarak bulunur (Feng ve ark. 2002).



Resim 1: En Muhtemel Sayı yöntemi (EMS) fermentasyon tüpleri
(Leboffe ve Pierce, 2011)



Resim 2: LTB tüpleri – Sağdaki Durham tüpünde gaz oluşumu
(Leboffe ve Pierce, 2011)



Resim 3: BGL Broth-Sağdaki Durham tüpünde gaz oluşumu
(Leboffe ve Pierce, 2011)



Resim 4: EC broth – Sağdaki Durham tüpünde gaz oluşumu
(Leboffe ve Pierce, 2011)

Membran filtrasyon (MF) yöntemi mikroorganizmaları vakum desteğiyle por çapı daha küçük membranlar kullanarak süzme yoluyla sıvıdan ayırmaya dayalıdır. MF ile mikroorganizmalar, membran üzerinde tutulmuş olmakta ve bu yöntem ile

yapılan mikrobiyolojik analizlerde, normal analizlerde kullanılan örnek miktarından (1,0 - 2,0 ml) çok daha fazla miktarda örnek kullanılabilir (100,00 - 25,00 ml). Filtrasyonda kullanılan membran filtre bir besiyerinde uygun sıcaklık ve süre inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda üreyen koloniler değerlendirilir. Petride sayılan koloni sayısı (kob)/ filtreden geçirilen örnek ml'si olarak verilir (Diatek, 2014).

Koliformlar spesifik enzimatik aktivitelerine göre de tespit edilebilmektedir. Bu yöntemi yaklaşık 1 saat içinde sonuç alınması, bakterilerin enzimatik faaliyetleri, stress koşullarında kültür edilebilirliğinden daha uzun ömürlü olması ve inkübasyona gerek kalmadan sonuç alınması gibi avantajları sebebiyle tercih edilmektedir. Bu yöntemde kromojenik ve florojenik substratlar, beta-D galaktosidaz ve beta-D glukuronidaz enzimleri varlığında koliformları ve *E. coli* varlığını tespit ve enümerasyonu amaçlı kullanılmaktadır. Bakterilerin enzimatik aktivitelerini tespit zamanı kısaltmak için katı-faz sitometri yönteminden faydalanılmaktadır (Rompré ve ark. 2002; Fiksdal ve Tryland, 2008).

2.2.4.3 Moleküler Yöntemler

Kültür bazlı işlemlere gerek kalmadan sularda koliform varlığını tespit için DNA tabanlı moleküler tekniklere rağbet artmaktadır (Girones ve ark. 2010).

Moleküler teknikler arasında ise koliform bakterilere karşı gelişen antikorların tespitini kullanan immunolojik teknik, toplam koliform ve *E. coli*' de beta-galaktisidaz (lacZ) ve beta-D glukuronidaz (uidA) kodlayan genleri tespit ederek bulan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR/PZR) ve *in-situ* hibridizasyon (ISH) yer almaktadır. Moleküler teknikler için başlıca dezavantaj ise kantitasyon amaçlı çalışmalarda düşük hassasiyet ve yoğun metot oturtma süreçleridir (Rompré ve ark. 2002; Noble ve Weisberg, 2005).

Floresans spektrometresi tekniği ise içme sularında toplam koliformlar ve *E. coli* tespitinde triptofan ve indol floresans emisyonlarına karşılık gelen 280 nm eksitasyon/ 360 nm emisyon dalga boylarında floresans ışımaya almak üzerine kuruludur. Bu teknik sahada laboratuvar çalışmalarında kolaylık ve esneklik sağlamaktadır (Cumberland ve ark. 2012).

2.2.4.4 Kütle Spektrometrisi (MASS Spektrometre)

1980' li yıllarda protein bazlı analizde MASS SPEKTROMETRE yaygın şekilde kullanılmaya başlandı (Carbonnelle ve ark. 2011). Genom projesi sayesinde dizi incelemeleri yardımıyla genetik polimorfizimlerin tespiti, karmaşık hastalık mekanizmaları ve ilaç etkileşimlerinin anlaşılması bilim insanlarının başlıca hedeflerden biri oldu (Meyer ve Ueland, 2011).

Bu hedeflere ulaşmada organizmalar arasındaki genetik belirleyicilerin dizi farklılıklarının ortaya konulabilmesi için geleneksel yöntemlere göre daha hızlı, kullanışı kolay, geniş bir bantta tarama yapabilecek ve elde edilen verilerin saklanabileceği çağdaş teknikleri geliştirmek ve uygulamak üzerinde yoğunlaşıldı (Corono ve Toofoli, 2004; Wjst ve van den Boom, 2005).

Mikroorganizma türlerinin saptanması yaygın şekilde klasik yöntemler ile yapılmaktadır. Spesifik besiyeri kullanma, koloni morfolojisi, Gram boyama ve diğer biyokimyasal reaksiyonlara dayalı bu fenotipik analizler güvenilir ve kesin tanı koymakla birlikte; yüksek maliyet ve uzun zaman almaları gibi dezavantajları da barındırmaktadır (Akyar, 2011; O'Connor ve ark. 2014).

Anaerobik, zor (fastidious) ve yavaş gelişen bakterilerin konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonu karmaşık, pahalı ve zaman alıcıdır. Örneğin paratüberkülozun tespiti 12 hafta inkübasyon sonunda anlaşılabilir. Bu diyagnostik gerçekler yeni ve hızlı analiz yöntemlerinin geliştirilmeleri için temel itici etmen olmuştur. MASS SPEKTROMETRE yeni yöntemlerden birisi olarak diyagnostik amaçlı klinik ve mikrobiyolojik çalışmalarda yaygın şekilde kullanılmaya başlamıştır (Biswas ve Rolain, 2013).

MALDI-TOF-MS (***Matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight, Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi***) bu gelişmelerin sonucu olarak kütle spektrometrisine yansıyan bir ilerleme olarak ortaya çıkmıştır.

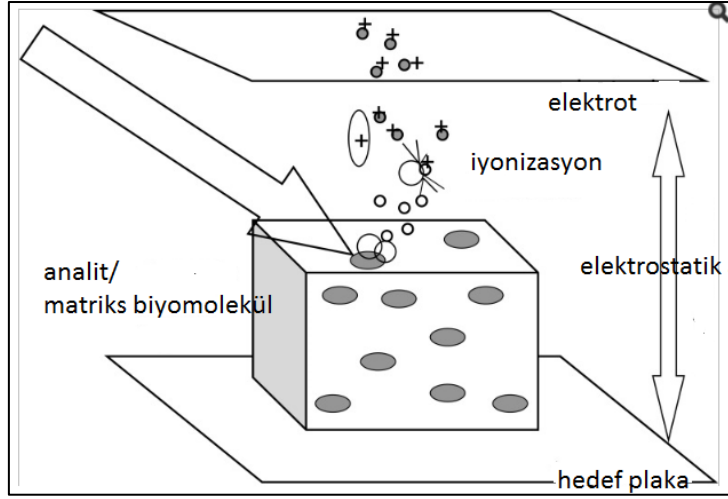
MALDI-TOF-MS 1-300 kDa aralığında proteinler, peptidler ve nükleik asitler gibi kolay iyonize olabilen ve miktarı fazla olan biyomoleküllerin genus ya da alt tür olarak yüksek sensitivite ve seçicilik ile tespitini mümkün kılmaktadır (Bonk ve Humeny, 2001; Akyar, 2011; Çetinkaya ve Ayhan, 2012).

MALDI-TOF-MS bakteriyel vejetatif hücrelerin veya sporların doğrudan saflaştırılmasını takiben, bakteri hücrelerinden protein profillerinin çıkarılması ve bu profillerin referans bir spektra ile karşılaştırılması ilkesine göre çalışmaktadır (van den Boom ve ark. 2013). Bakterilerin tanımlanmasında MALDI-TOF-MS cihazı ilk kez 1975 yılında Anhalt ve Fenselau tarafından kullanılmakla birlikte, rutin kullanıma girmesi çok yenidir. Son yıllarda, bu yöntem ile *Escherichia coli* ve *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyeleri gibi Gram negative basiller, *Staphylococcus aureus* ve streptokoklar gibi Gram-pozitif koklar; ve *Bacillus cereus* ve *Listeria* türleri gibi bazı Gram-pozitif basiller üzerinde çalışılarak farklı bakteri türlerini tanımlama nitelikleri araştırılmıştır (Akyar, 2011).

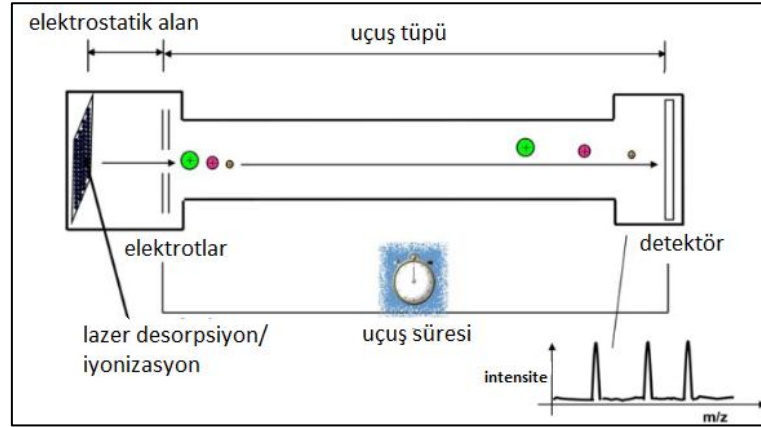
İşleyiş olarak MALDI-TOF-MS' de klasik yöntemle elde edilen hedef bakteri kolonisi metal bir plak üzerine sürülürerek, üzerine matriks solüsyonu konur ve havada kurutulur. MS aygıtı içine yerleştirilen örneğe lazer ışınları ile vuruşlar yapılır. Lazer ışınına maruz kalan örnek DNA veya protein molekülleri haline dönüştürülür ve tek yükü olan tek bir iyonize tür oluşur. Bu özelliği MALDI-TOF-MS' e geniş bir spektrum verme ve kullanım kolaylığı sağlamaktadır.

Bu sistem ile yapılan analizler 1 saatin altında sürmektedir. Bu sayede Gram boyama ve biyokimyasal reaksiyonlara dayalı fenotipik yöntemlere göre zaman ve maliyet avantajları getirmektedir (Seng ve ark. 2009; Akyar, 2011).

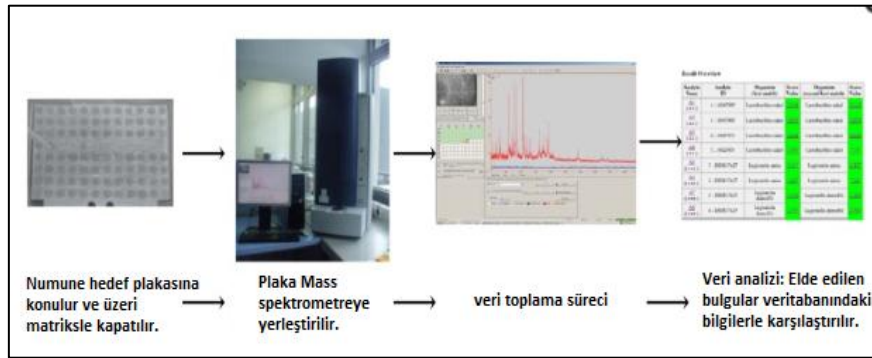
MASS SPEKTROMETRE manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük (m/z) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt ederek analizleme esasına göre çalışmaktadır. Bu özelliğiyle düşük konsantrasyon ve düşük molekül ağırlıklı proteinlerin yüksek özgüllük ve duyarlılıkta ayırımını ve tayinini mümkün kılmaktadır (Kurban ve Mehmetoğlu, 2010).



Şekil 5: MALDI Yöntemi ilkesi (Pavlovic ve ark. 2013)



Şekil 6: MALDI Analizi-Uçuş süresi (Pavlovic ve ark. 2013)



Şekil 7: MALDI İdentifikasyon Aşamaları (Pavlovic ve ark. 2013)

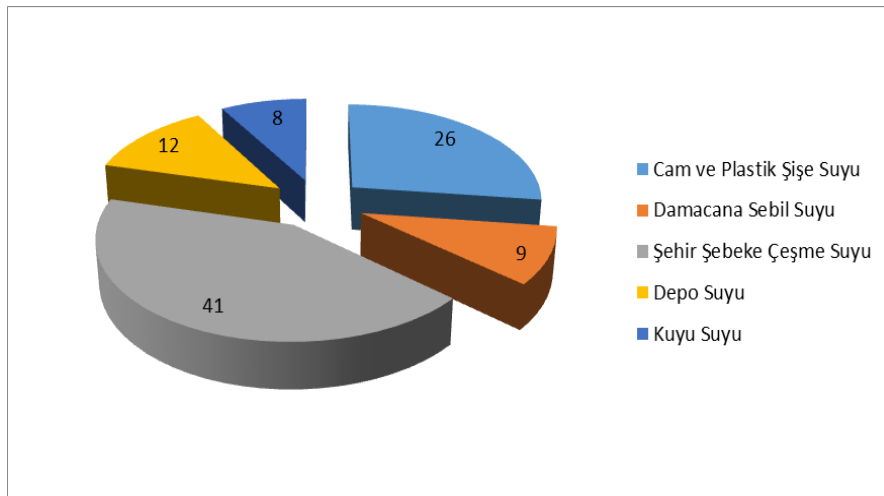
3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

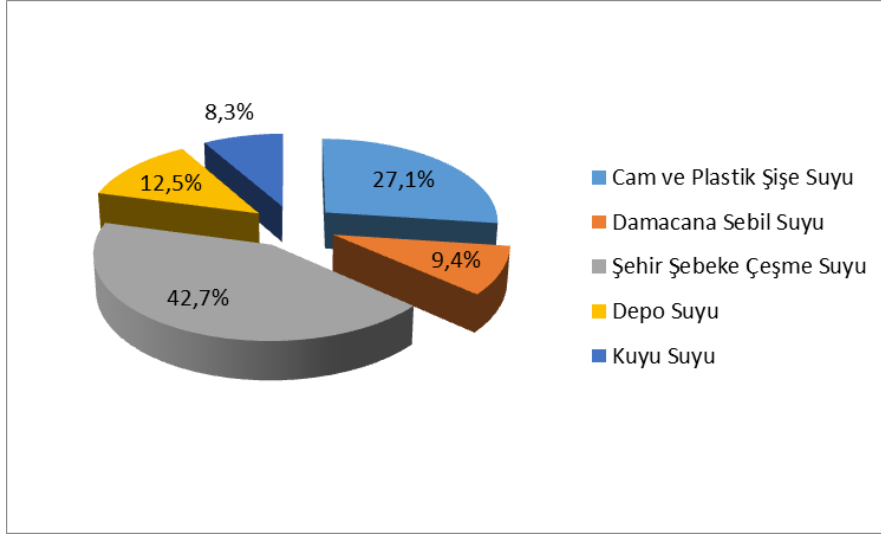
Bu çalışmada, İstanbul ili ve çevresinden içme amaçlı cam ve plastik şişe suları (n=26), içme amaçlı damacana sebil suları (n=9), kullanım amaçlı şehir şebeke çeşme suları (n=41), kullanım amaçlı depo suları (n=12) ve kullanım amaçlı kuyu suları (n=8) olmak üzere toplam 96 adet su örnekleri toplandı. Su örnekleri toplam koliform grup bakterileri (TKGB), fekal koliform grup bakterileri (FKGB) ve *E. coli* (EC) varlığı bakımından klasik yöntemle incelendi. *E. coli* pozitif olan numune materyallerde MASS SPEKTROMETRE (VITEK MALDI-TOF-MS) yöntemiyle doğrulama yapıldı.

Tablo 11: Su örneklerinin dağılımı

Örnek cinsi	Miktar (n=adet)	% Dağılımı
Cam ve plastik şişe suları	26	27,1
Damacana sebil suları	9	9,4
Çeşme suyu	41	42,7
Depo suları	12	12,5
Kuyu suları	8	8,3
Toplam	96	100,0



Şekil 8: Su örnekleri tür ve sayıları



Şekil 9: Su örneklerinin türüne göre % dağılımı

Tablo 12: Cam ve plastik şişe suları alım yeri (n=26)

No	Markası	Alım Tarihi	Alım Yeri
1	Sırma	17.09.2013	Beşyol
2	Hamidiye	17.09.2013	Beşyol
3	Sude Uludağ	17.09.2013	Beşyol
4	Nestle	17.09.2013	Beşyol
5	Erikli	17.09.2013	Sefaköy
6	Pınar	17.09.2013	Sefaköy
7	Damla	17.09.2013	Sefaköy
8	Hisar	07.10.2013	Sefaköy
9	Hayat	07.10.2013	Sefaköy
10	Carrefour	07.10.2013	Sefaköy
11	Güzel Pınar	07.10.2013	Sefaköy
12	Özkaynak	07.10.2013	Sefaköy
13	Aroma	07.10.2013	Sefaköy
14	Saka	07.10.2013	Sefaköy
15	Efem	06.11.2013	Tekirdag

16	Abant	06.11.2013	Çapa Şehremini
17	Kardelen	06.11.2013	Tekirdag
18	GürPınar	06.11.2013	Tekirdag
19	Buzdag	06.11.2013	Tekirdag
20	Elmacık	06.11.2013	Mecidiyeköy
21	Güvenpınar	06.11.2013	Tekirdag
22	Kay	06.11.2013	Sefaköy
23	Goktürk	06.11.2013	Tekirdag
24	Reina	06.11.2013	Mecidiyeköy
25	Assu	02.12.2013	Tekirdağ
26	Durusu	02.12.2013	Tekirdağ

Tablo 13: Damacana sebil suları örnekleri alım yeri (n=9)

No	Markası	Alım Tarihi	Alım Yeri
1	B-Blok Çeşme	17.09.2013	İ.A.Ü Florya
2	D-Blok Çeşme	17.09.2013	İ.A.Ü Florya
3	A-Blok Çeşme	17.09.2013	İ.A.Ü Florya
4	F-Blok Çeşme	17.09.2013	İ.A.Ü Florya
5	K-Blok Çeşme	18.09.2013	İ.A.Ü Florya
6	E-Blok Çeşme	18.09.2013	İ.A.Ü Florya
7	H-Blok Çeşme	18.09.2013	İ.A.Ü Florya
8	Bank Asya Sebili	02.12.2013	Çağlayan
9	Turkcell Bayii Sebili	02.12.2013	Çağlayan

Tablo 14: eşme suları örnekleri alım yeri (n=41)

No	Markası	Alım Tarihi	Alım Yeri
1	Besyol Bayraktar Camii eşme	23.09.2013	Florya
2	Yemek eşitleri Lokantası eşme	11.11.2013	Florya
3	İnegöl Köfte Lokantası eşme	11.11.2013	Sefaköy
4	Cengiz Topel Camii eşme	11.11.2013	Şirinevler
5	Sefaköy arşı Cami eşme	11.11.2013	Sefaköy
6	Umum Halk eşmesi	11.11.2013	Yenibosna
7	Palmiye Cafe eşme	11.11.2013	Bahçelievler
8	Ahmet Usta Lokantası eşme	11.11.2013	Bahçelievler
9	Adnan Toros Camii eşme	11.11.2013	Yenibosna
10	Metroport eşme	11.11.2013	Bahçelievler
11	Hacı Ahmet Camii eşme	18.11.2013	Küçükçekmece
12	Fotaki eşmesi	18.11.2013	Çatalca
13	Hacı Muhlis Camii eşme	18.11.2013	Şükrü bey
14	Manisa eşmesi	18.11.2013	Çatalca
15	akılıköy eşmesi	18.11.2013	Çatalca
16	İkizler Lokantası eşme	18.11.2013	Şükrü bey
17	Topuklu eşmesi	18.11.2013	Çatalca
18	Hacı Mahmut Camii eşme	18.11.2013	Çatalca
19	Ferhat Paşa Mahallesi eşme	18.11.2013	Çatalca
20	Yağcıoğlu Suyu eşme	18.11.2013	Cennet Mahallesi
21	Simit Sarayı eşme	25.11.2013	Zeytinburnu
22	Nakkaş eşmesi	25.11.2013	Çatalca
23	Nakkaş Köyü eşmesi	25.11.2013	Çatalca
24	anakça Köyü eşmesi	25.11.2013	Çatalca
25	Ganidi Cafe eşme	25.11.2013	Zeytinburnu
26	Fatih Camii eşme	25.11.2013	İncirli
27	Veysel Karani Camii eşme	25.11.2013	Merter

28	Oklava Cafe Çeşme	25.11.2013	İncirli
29	Cennet Mahallesi Çeşmesi	25.11.2013	Cennet Mahallesi
30	Allı Börek Cafe Çeşme	02.12.2013	Cevizlibağ
31	Topkapı Ticaret Merkezi Çeşme	02.12.2013	Topkapı
32	Edirnekapı Mezarlık Çeşmesi	02.12.2013	Edirnekapı
33	Sakızağa Camii Çeşme	02.12.2013	Edirnekapı
34	Maltepe Mezarlık Camii Çeşme	02.12.2013	B.aşa / Maltepe
35	Muradiye Camii Çeşme	02.12.2013	Okmeydanı
36	Topkapı Halk Çeşmesi	02.12.2013	Topkapı
37	Buket Lokantası Çeşme	02.12.2013	Mecidiyeköy
38	Mercimek Lokantası	02.12.2013	Çağlayan
39	Konyalı Camii Çeşme	02.12.2013	Mecidiyeköy
40	Hüsniye Omurtak Çeşme	02.12.2013	Edirnekapı
41	Mescid Lokantası Çeşme	02.12.2013	Okmeydanı

Tablo 15: Depo suları örnekleri alım yeri (n=12)

No	Markası	Alım Tarihi	Alım Yeri
1	Otopark Depo	23.09.2013	Florya
2	Yunus Otomotiv Depo	23.09.2013	Florya
3	Polaris Depo	23.09.2013	Florya
4	Insaat Depo	23.09.2013	Florya
5	Cengiz Topel Camii Depo	11.11.2013	Şirinevler
6	Yavuz Selim Camii Depo	18.11.2013	Cennet Mahallesi
7	Hacı Ahmet Camii Depo	18.11.2013	Küçükçekmece
8	Fatih Camii Depo	25.11.2013	İncirli
9	Akalan Köyü Depo	25.11.2013	Çatalca

10	Kalfa Köyü Depo	25.11.2013	Çatalca
11	Çağlayan Camii Depo	02.12.2013	Çağlayan
12	Konyalı Camii Depo	02.12.2013	Mecidiyeköy

Tablo 16: Kuyu suları örnekleri alım yeri (n=8)

No	Markası	Alım Tarihi	Alım Yeri
1	Çoban Kuyu Suyu	11.11.2013	Yeni bosna
2	Çakılköy Kuyu Suyu	18.11.2013	Çatalca
3	Çatalca Kuyu Suyu 1	18.11.2013	Çatalca
4	Yavuz Selim Camii Kuyu Suyu	18.11.2013	Cennet Mahallesi
5	Çatalca Kuyu Suyu 2	18.11.2013	Çatalca
6	Örçunlu Köyü Kuyu Suyu	25.11.2013	Çatalca
7	Değyenice Köyü Kuyu Suyu	25.11.2013	Çatalca
8	Kestanelik Köyü Kuyu Suyu	25.11.2013	Çatalca

3.1.1 Örnek Alımı

Örnek alınacak çeşme ise musluğu alev ile yakıldı ve su 2 dk süresince akıtıldı. Otoklavda 121 °C' de sterilize edilmiş 250 ml' lik şişeler şişenin ağzı alkol alevinden geçirilerek su örneği içerisine alındı ve steril kapak ile kapatıldı. Şişe üzerine numunenin cinsi, alınış tarihi ve saati, alım noktası ve markası etiket üzerine yazılarak yapıştırıldı. Alınan örnekler kapalı taşıma kaplarında laboratuvara getirilerek bekletilmeden analize alındı (ISO 9308-1, 2004).

Su numunelerinde koliform grubu bakteriler, fekal koliform grubu bakteriler ve *E. coli* nin tespiti için "FDA BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria - Ten tube MPN coliform test" prosedüründe verilen En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemi izlendi. *E. coli* pozitif örneklerden alınan koloniler VITEK MALDI-TOF-MS sistemiyle karakterize edilerek doğrulaması yapıldı.

3.2 Yöntem

3.2.1 En Muhtemel Sayı (EMS) Yöntemi

En Muhtemel sayı (EMS) yöntemi için U.S Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual Chapter 4 “*Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria*” prosedürü takip edildi.

Tablo 17: En Muhtemel Sayı (EMS) Değerlendirme Tablosu
(FDA, 2002)

Pozitif tüp sayısı	EMS/100ml	Min.	Maks.
0	<1.1	–	3.3
1	1.1	0.05	5.9
2	2.2	0.37	8.1
3	3.6	0.91	9.7
4	5.1	1.60	13.0
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.9	33
9	23	8.1	53
10	>23	12	–

3.2.1.1 Kullanılan Besiyerleri

Lauryl Sulfate Tryptose (LST) Broth.

Bu çalışmada LAB 196 Lauryl Tryptose Broth (LAM M Ltd. Lancashire UK) kullanıldı. Gerekli miktarda hazırlanan besiyeri kullanımdan önce 121 °C’de 15 dk otoklavlanıp; 47 °C’ ye soğutulup kullanıma kadar soğutucuda saklandı.

<u>Bileşimi</u>	<u>Miktarı (g/L)</u>
Tryptose	20,0
Lactose	5,0
NaCl	5,0
Sodium Lauryl Sulfate	0,1
K ₂ HPO ₄	2,75
KH ₂ PO ₄	2,75

Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB)

EMS yöntemi ile yapılan koliform grup bakteri sayımında LST Broth pozitif tüplerin doğrulanması için BGLB Broth'a ekim yapılmalıdır. Bu çalışmada LAB 051 Brilliant Green Bile % 2 Broth (LAM M Ltd. Lancashire UK) kullanıldı. Gerekli miktarda hazırlanan besiyeri kullanımdan önce 121 °C'de 15 dk otoklavlanıp; 47 °C' ye soğutularak kullanımına kadar soğutucuda saklandı.

<u>Bileşimi</u>	<u>Miktarı (g/L)</u>
Pepton	10,0
Lactose	10,0
Ox-bile	20,0
Brillant green	0,0133

EC Medium

Bu çalışmada LAB 171 EC Medium (LAM M Ltd. Lancashire UK) kullanıldı. Gerekli miktarda hazırlanan besiyeri kullanımdan önce 121 °C'de 15 dk otoklavlanıp; 47 °C' ye soğutularak kullanıma kadar soğutucuda saklandı.

<u>Bileşimi</u>	<u>Miktarı (g/L)</u>
Tryptone	20,0
Lactose	5,0
Bile salts No.3	1,5
Di Pot Phos	4,0
Pot Di Phos	1,5
NaCl	5,0

Endo Agar

Bu çalışmada LAB 60 Endo Agar Base (LAM M Ltd. Lancashire UK) kullanıldı. Gerekli miktarda hazırlanan besiyeri kullanımdan önce 121 °C'de 15 dk otoklavlanıp; 47 °C' ye soğutularak kullanıma kadar soğutucuda saklandı.

<u>Bileşimi</u>	<u>Miktarı (g/L)</u>
Balanced peptone No.1	10,0
Lactose	10,0
K ₂ HPO ₄	3,5
Na ₂ SO ₃	2,5
Agar No.1	15,0

Tripton Bile X-Glukoronid Agar (TBX)

Bu çalışmada HAL003 (LAM M Ltd. Lancashire UK) kullanıldı. Gerekli miktarda hazırlanan besiyeri kullanımdan önce 121 °C'de 15 dk otoklavlanıp; 47 °C' ye soğutularak 12,5' er ml steril petri kaplarına döküldü. Donduktan sonra kullanıma kadar soğutucuda sakladı.

<u>Bileşimi</u>	<u>Miktarı (g/L)</u>
Peptone	20,0
Bile salts No.3	1,5
X-β-D-glucuronide	0,075
Agar	15,0

Kanlı Agar

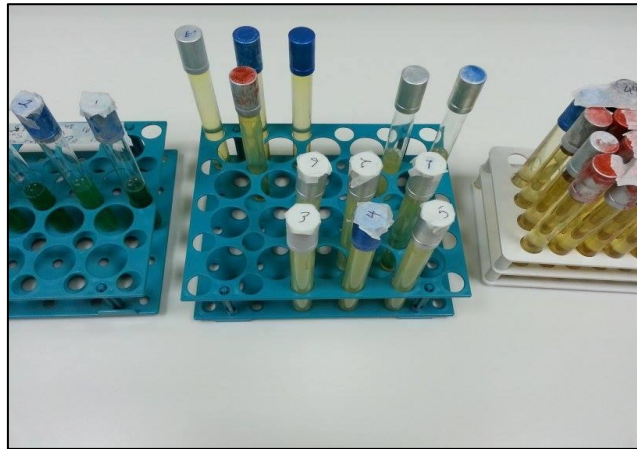
Başta zor gelişenler olmak üzere mikroorganizmaların geliştirilmesi ve hemoliz reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla Kanlı Agar ve Kaynamış (Chocolate) Kanlı Agar hazırlanması için kullanılan katı besiyeridir. Bu çalışmada Blood Agar Base No. 2 LAB 015 ya da Blood Agar Base LAB 028 (LAM M Ltd. Lancashire UK) kullanıldı.

<u>Bileşimi</u>	<u>Miktarı (g/L)</u>
Beef extract	10,0
Balanced pepton No.1	10,0
NaCl	5,0
Agar No.2	12,0

3.2.1.2 Koliform Grup ve Fekal Koliform Grup Bakterilerinin İncelenmesi

Toplam 100 ml su örneği alındı. Çift kuvvetli LST Broth reçetesine göre hazırlanarak, her bir örnek için 10' ar 10 ml olmak kaydıyla cam tüplere konuldu ve 121 °C' de 15 dk otoklavda steril edildi. Otoklavlanan besi yerleri oda koşullarında soğuyana kadar bekletildi. Soğuyan su örneğinden 10' ar ml paralel olacak şekilde toplam 10 adet LST broth besiyerine pipetlenerek ekim yapıldı.

Ekim yapılan tüpler 35 °C' de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. 24. saatin sonunda bulanıklık ve gaz oluşması görülmeyen tüplerin inkübasyonu bir 24 saat daha uzatılarak toplam 48 saate çıkarıldı. Bu süre sonunda bulanıklık ve gaz oluşumu görülmeyen tüpler için teste son verildi. Bulanıklık ve gaz oluşumu görülen tiplerin Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGBL)'a ekim aşamasına geçildi. Bulanıklık ve gaz çıkışı görülen tüplerden 3-3,5 mm prob ucu olan steril öze yardımıyla Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGBL)'a ekim aşamasına geçildi Aynı zamanda fekal koliform bakterilerinin tespiti için pozitif LST Broth besiyerinden 3-3,5 mm prob ucu olan steril öze yardımıyla bir daldırma alınarak EC Broth'a ekim yapıldı.



Resim 5: EC brothda fekal koliform oluşumu

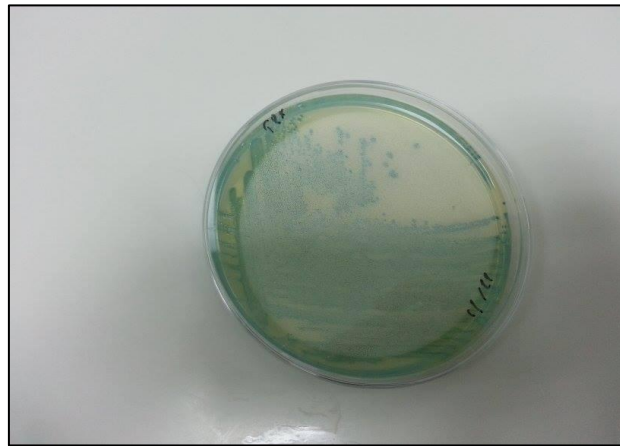
Ekimi yapılan Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) besiyerleri 35 °C' de 48 ± 2 saat inkübasyona konuldu. Ekimi yapılan EC Broth besiyerleri ise 44,5° ± 0,2°C'de 24 ± 2 saat su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüplerde gaz oluşumu ve bulanıklık olup olmadığı kontrol edildi.

BGLB Broth tüplerinin tümünde gaz oluşumu ve bulanıklık görülmesi durumunda, LST Broth'ta pozitif alınan koliform grup bakterileri sayısı doğrulanmış oldu. Belli bir kısmında gaz oluşumu ve bulanıklık görülen EC Broth tüpleri olması durumunda ise, EC Broth negatif tüpler toplam koliform grubu bakterilerin hesaplanmasına Tablo 17' ye göre dâhil edilmedi.

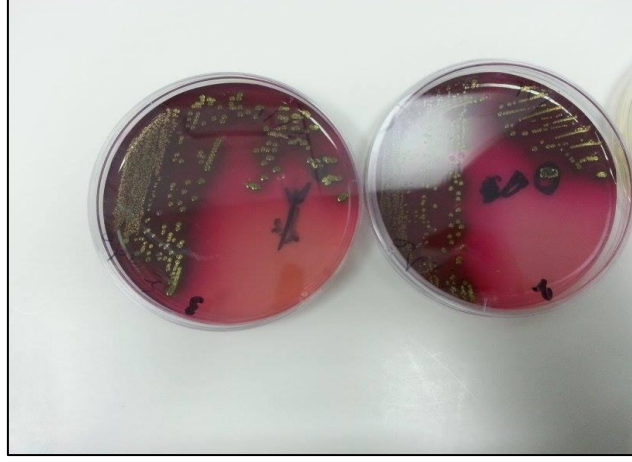
EC Broth Besiyerinde izlenen gaz ve bulanıklık oluşumu da Tablo 17' ye göre hesaplanarak fekal koliform grup bakteri miktarı tayin edildi.

3.2.1.3 *E. coli* Bakterilerin İncelenmesi

Fekal koliform grup bakteri pozitif tüplerden Endo ve TBX agara paralel olarak azaltarak ekim yöntemiyle ekim yapıldı. Endo agarda 37 °C' de 24 ± 2 saat, TBX agar 44 °C' de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası Endo agarda kırmızı renkli metalik parlak veya TBX agarda mavi – yeşil renkte olan *E. coli* şüpheli tipik koloniler bulunduran petriyeler Tablo 17' ye göre hesaplanarak *E. coli* miktarı tayin edildi.



Resim 6: TBX agarda *E. coli* kolonileri



Resim 7: Endo agarda *E.Coli* kolonileri

Miktar tayini yapıldıktan sonra, eğer tek tip koloni görülmez ya da karışık kültür üremesi olduğu düşünülürse, bu durumda aynı petriden koloni alınarak saflaştırma amacıyla aynı tip besiyeri olması kaydıyla Endo veya TBX besiyerlerinden birisine inoküle edilerek TBX agarlar 44 °C' de 24 ± 2 ve Endo agarlar 37 °C' de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda pasaj kültürden TBX'te mavi – yeşil, Endo'da kırmızı renkli metalik parlak *E. coli* şüpheli tipik bir koloni steril öze yardımıyla alındı ve kanlı agara ekim yapılarak; 37 °C' de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda *E. coli* varlığını doğrulama amacıyla MS-MALDI-TOF analizine geçildi.

3.2.2 Kütle Spektrometrisi (MASS SPEKTROMETRE) Yöntemi

“Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF) yöntemi tüm bakteri hücrelerinden protein profillerinin çıkarılmasında kullanılabilecek bir yöntemdir. Bu profillerin referans bir spektra ile karşılaştırılması sonucu ile bakteriler kolaylıkla tanınabilmektedirler.

E. coli şüpheli kolonilerin varlığını doğrulamak için bioMérieux firmasından VITEK MALDI-TOF-MS kullanıldı (Resim 8).

3.2.2.1 Kullanılan Kimyasallar ve Referans Suş:

- Pipet (0,1 – 2,5 µl) ve filtresiz uçları

- Öze 1 µl
- VITEK MS-DS Hedef Slaytları 48 kuyu ref 410893
- Kalibrant: *E. coli* ATCC 8739
- Matriks: VITEK MS-CHCA ref 411071
- Formik asit %25 VITEK MS-FA ref 411072

3.2.2.2 Örnek Hazırlama

Slayt (Plate) Hazırlığı

Tek kullanımlık kasetlerde 48 kuyucuk bulunmaktadır. FlexiMass MALDI Slayt (kaset) üç ayrı bölümden oluşmaktadır. Her bölümde 16 adet çalışma kuyucuğu ve bir adet kontrol (kalibrasyon) kuyucuğu bulunmaktadır. Matriks kuruma ve pullanmayı engellediği için 48 saat süresince cihazdan okuma alabilme olanağı sunmaktadır.

Slaytı oluşturan kuyucuklara Endo besi yerinden kanlı ağara geçilen şüpheli tipik kolonilerden 1-10 µl hacimlik steril öze ucuyla bir ya da iki koloni sürüldü. Pozitif (internal) kontrol kuyucuğuna *Escherichia coli* ATCC 8739 referans suşu 1 – 10 µl hacimli steril öze ucuyla sürüldü.

Bu işlemi takiben, kuyucuklara 1 µl matriks solüsyonu (saturated solution of α-cyano-4-hydroxycinnamic acid in 50% acetonitrile and 2.5% trifluoroacetic acid) mikropipetlendi. Matriks oda koşullarında 1- 2 dakika kuruyana kadar bekletildi. Tüm bu işlemler 2. Sınıf Biyogüvenlik kabini içinde yapıldı.

3.2.2.3 İdentifikasyon

Hazırlama İstasyonu İşlemi

Kaset VITEK MALDI-TOF-MS cihazına yerleştirildi. VITEK MALDI-TOF-MS Hazırlama İstasyonunda hedef slayd barkodlandı. Plaktaki lab no'su kodlandı. Bakteri fonksiyonu seçildi. Kuyu işaretlendi. Bakteri süspansiyonunun McF' si hazırlandı. VITEK®2 barkodu tarandı ve ve kart kasete yerleştirildi. F4 tuşu ile onaylama yapıldı.



Resim 8: VITEK MALDI-TOF-MS Cihazı

Slayt Bileşimi

Yazılım ana menüye giriş yapıldı. Slayd kapısı açıldı. Hedef slaydın barkodu tarandı. VITEK MALDI-TOF-MS hedef slaydın bilgisini alındı. VITEK MALDI-TOF-MS' e hedef slayd yüklenerek okuma başlatıldı. Okuma bitince sonuç alındı.

Sonuçların gözden geçirilmesi

Yazılım ana menü girişinden VITEK®MS Review fonksiyonu ile sonuçların gözden geçirme süreci başlatıldı. Kullanıcı tarafından seçilen tanımlama sonuçları onaylanarak, VITEK MALDI-TOF-MS ve LIS' e gönderildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, İstanbul ili ve çevresinden tek kullanımlık cam ve plastik şişe suları (n=26), içme amaçlı damacana sebil suları (n=9), şehir şebeke çeşme suları (n=41), kullanım amaçlı depo suları (n=12) ve kuyu suları (n=8) olmak üzere toplam 96 adet su örnekleri toplandı. Su örnekleri toplam koliform grup bakterileri, fekal koliform grup bakterileri ve *E. coli* varlığı bakımından klasik yöntemle incelendi. *E. coli* pozitif olan materyallerde MASS SPEKTROMETRE (VITEK MALDI-TOF-MS) yöntemiyle doğrulama yapıldı.

İçme amaçlı cam ve plastik şişe suları örneklerinde ve damacana sebil suları örneklerinde EMS yöntemine izlenerek yapılan incelemede KGB, FKGB ve EC saptanmadı. Bununla ilgili sonuçlar Tablo 18 ve Tablo 19' da sunulmuştur.

Tablo 18: Cam ve Plastik Şişe Sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=26)

Mikrobiyolojik Parametre	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml
TKGB	0	< 1,1
FKGB	0	< 1,1
EC	0	< 1,1

TKGB : Toplam Koliform Grup Bakteriler
FKGB : Fekal Koliform Grup Bakteriler
EC : *E. coli*

Tablo 19: Damacana Sebil Sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=9)

Mikrobiyolojik Parametre	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml
TKGB	0	< 1,1
FKGB	0	< 1,1
EC	0	< 1,1

TKGB : Toplam Koliform Grup Bakteriler
FKGB : Fekal Koliform Grup Bakteriler
EC : *E. coli*

Kullanım amaçlı 41 adet şehir şebekesi çeşme suyu örneklerinde EMS yöntemi izlenerek yapılan incelemede 5 örnekte TKGB, FKGB ve EC ile bulaşma saptandı. Pozitif örnekler içinde % 60' ında (n=3) yüksek seviyede TKGB; % 40' ında (n=2) yüksek seviyede FKGB ve % 20' sinde (n=1) ise yüksek seviyede EC tespit edildi. Bununla ilgili sonuçlar Tablo 20' de sunulmuştur.

Tablo 20: Çeşme sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz sonuçları (n=41)

Örnek	TKGB		FKGB		EC	
	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml
Manisa Çeşmesi Çatalca	9	23	4	5,1	3	3,6
Topuklu Çeşmesi, Çatalca	9	23	10	>23	5	6,9
Hacı Mahmut Camii Çeşmesi, Çatalca	10	>23	10	>23	10	>23
Nakkaş Köyü Çeşmesi, Çatalca	6	9,2	6	9,2	6	9,2
Çanakça Köyü Çeşmesi, çatalca	6	9,2	8	16	5	6,9

TKGB : Toplam Koliform Grup Bakteriler
FKGB : Fekal Koliform Grup Bakteriler
EC : *E. coli*

Çatalca ve İstanbul Yenibosna ve Cennet Mahallelerinden toplanan kullanım amaçlı 8 adet kuyu suları örneklerinde EMS yöntemi izlenerek yapılan incelemede; 4 örnekte TKGB, FKGB ve EC ile bulaşma saptandı. Pozitif örneklerin Çatalca bölgesinden alındığı; bu örnekler arasında 3 örneğin TKGB ve 1 örneğin FKGB varlığı bakımından yüksek seviyede kontamine olduğu görülürken; 2 örnekte ise EC tespit edildi. Bununla ilgili sonuçlar Tablo 21 de sunulmuştur.

Tablo 21: Kuyu Sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=8)

Örnek	TKGB		FKGB		EC	
	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml
Çakılıköy Kuyu Suyu, Çatalca	5	6.9	5	6.9	1	1,1
Çatalca Kuyu Suyu 1	10	>23	5	6.9	5	6,9
Çatalca Kuyu Suyu 2	10	>23	7	12	0	<1.1
Örçunlu Köyü Kuyu Suyu, Çatalca	10	>23	10	>23	5	6.9

TKGB : Toplam Koliform Grup Bakteriler
FKGB : Fekal Koliform Grup Bakteriler
EC : *E. coli*

İstanbul ili ve Çatalca bölgelerinden toplanan 12 adet depo sularında EMS yöntemi izlenerek yapılan incelemede 5 örnekte TKGB ve 4 örnekte ise FKGB ve EC ile bulaşma saptandı. Bununla ilgili sonuçlar Tablo 22' de sunulmuştur.

Tablo 22: Depo Sularında TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=12)

Örnek	TKGB		FKGB		EC	
	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml	Pozitif Tüp Sayısı	EMS/100 ml
Otopark Depo, Florya	8	16	2	2,2	2	2,2
Yunus Otomotiv Depo, Florya	9	23	0	0	1	1,1
Insaat Depo, Florya	1	1,1	1	1,1	3	3,6
Cengiz Topel Camii Depo, Şirinevler	5	6.9	1	1,1	2	2,2
Akalan Köyü Depo, Çatalca	0	<1.1	2	2,2	-	-

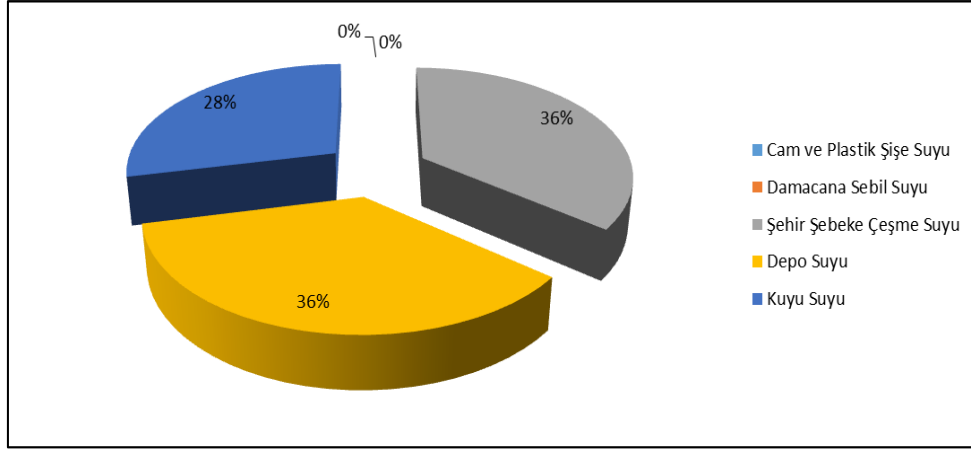
TKGB : Toplam Koliform Grup Bakteriler
FKGB : Fekal Koliform Grup Bakteriler
EC : *E. coli*

Toplanan tüm su örneklerinde (n=96) EMS yöntemiyle yapılan incelemede içme amaçlı cam, plastik ve damacana sularında TKGB, FKGB ve EC varlığına rastlanmazken; genel amaçlı kullanılan çeşme suları, depo suları ve kuyu sularından 14 örneğin TKGB, 13 örneğin FKGB ve 12 örneğin ise EC ile bulaştığı saptandı. Analiz sonuçları Tablo 23’de sunulmuştur. TKGB bulaşan 14 adet su örneklerinden 7’ sinde; FKGB bulaşan 13 adet su örneklerinden 3’ ünde ve EC bulaşan 12 adet su örneklerinden 1’ inde bulaşma oranının kabul edilebilir üst sınır olan 20 EMS/100 ml değerinin üzerinde oldukları bulundu.

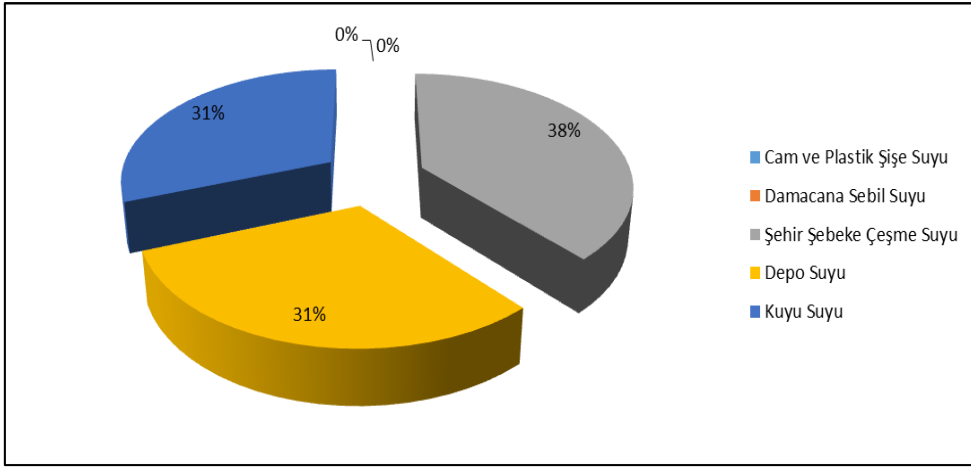
Tablo 23: Su Örneklerinde TKGB, FKGB ve EC Analiz Sonuçları (n=96)

Örnek	TKGB		FKGB		EC	
	Pozitif Örnek Sayısı	%	Pozitif Örnek Sayısı	%	Pozitif Örnek Sayısı	%
Cam ve Plastik Şişe İçme Suyu	0	0	0	0	0	0
Damacana Sebil İçme Suyu	0	0	0	0	0	0
Şehir Şebekesi Çeşme Kullanım Suyu	5	5,2	5	5,2	5	5,2
Depo Kullanım Suyu	5	5,2	4	4,2	4	4,2
Kuyu Kullanım Suyu	4	4,2	4	4,2	3	3,1
Toplam	14	14,6	13	13,5	12	12,5

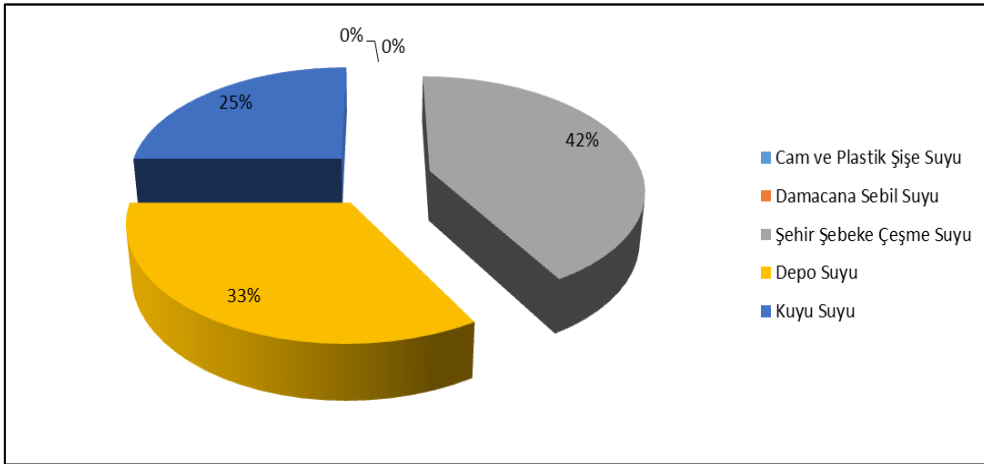
TKGB : Toplam Koliform Grup Bakteriler
FKGB : Fekal Koliform Grup Bakteriler
EC : *E. coli*



Şekil 10: Tüm su örneklerinde TKGB dağılımı



Şekil 11: Tüm su örneklerinde FKGB dağılımı



Şekil 12: Tüm su örneklerinde EC dağılımı

EMS yöntemiyle tespit edilen EC pozitif su örneklerinden (n=12) alınan tipik kolonilerin VITEK MA-MALDI-TOF sistemi kullanılarak doğrulaması yapıldı. VITEK MS-MALDI-TOF doğrulaması sonucunda; 1 koloni tanımlanamazken (% 8,3), 1 koloni % 50 EC ve % 50 *P. quereuogenius* (% 8,3); 1 koloni % 99,9 *Enterobacter asburiae* (% 8,3) olarak karakterize edilirken; kalan 9 koloni ise (% 75) genus seviyesinde EC olarak identifiye edildi.

Result ID	Result Adı	Category ID	Numune Tanı	Organizma İsmi	Güvenlik Değeri	Güvenlik Seviyesi	Gözden Geçirme Durumu	Beklenen Durumu
	B2-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B3p-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B3p-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B3-1			Pseudomonas aeruginosa	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B4-1			Pseudomonas aeruginosa	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B5p-1					✗	Gözden Geçirildi	Beklenildi

Resim 9: VITEK MS-MALDI-TOF Sonuçları 1

Result ID	Result Adı	Category ID	Numune Tanı	Organizma İsmi	Güvenlik Değeri	Güvenlik Seviyesi	Gözden Geçirme Durumu	Beklenen Durumu
	B6-1			Pseudomonas aeruginosa	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B6p-1			Pseudomonas aeruginosa	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B1-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	A-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B5-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B4p-1			Escherichia coli	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B4p-1			Pseudomonas aeruginosa	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi
	B5p-1			Pseudomonas aeruginosa	99,9	✓	Gözden Geçirildi	Beklenildi

Resim 10: VITEK MS-MALDI-TOF Sonuçları 2

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sular kaynaklarından tüketiciye gelene kadar kalite ve güvenilirliklerini riske atan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyal bulaşmalara maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle, içme ve kullanma sularının Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO), ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), Avrupa Birliği (EU) ve Türk Standartları Enstitüsü, TSE 266 İçme Suyu Standardı'nda belirtilen özellikleri taşımaları gerekmektedir (Süphandağ ve ark. 2007).

İçme-kullanma sularında mikrobiyal patojenlerin varlıklarının hızlı ve kesin tespiti su kaynaklı hastalıklara bağlı hastalıklar ve ölümlerin azaltılması bakımından halk sağlığının korunmasına dönük öncelikli tedbirlerdendir. Bu bağlamda, içme-kullanma sularının daha sağlıklı olmalarını sağlayacak her türlü tedbir Türkiye ve Dünya için artı bir değer yaratacaktır (Avcıl ve ark. 2014).

Dünya üzerinde su kaynaklı hastalıkların sayısında 2010 yılına göre % 85 artış olduğu ve su kaynaklı hastalıkların sebep olduğu küresel maliyetin ise 300 milyar US\$'ı aştığı WHO' nun 2013-2020 "Su Kalitesi ve Sağlık Stratejisi" başlıklı raporunda ifade edilmektedir.

Sularda mikrobiyal bulaşma insan sağlığı açısından ciddi risk oluşturmaktadır. Bu durum gelişmiş, gelişmekte olan ve özellikle az gelişmiş ülkeler açısından nüyük önem taşımaktadır. A.B.D' nde su kaynaklı bakteriler sebebiyle infekte olan kişi sayısının 19,5 milyon/ yıl' dır (Reynolds ve ark. 2008).

Su kaynaklı hastalıklar Güney Afrika Cumhuriyeti'nde yıllık bazda gerçekleşen toplam ölüm vakalarının % 2,6' sını teşkil etmekte ve ilk sırayı 5 yaş ve altı çocuklar % 9,3 oranı ile almaktadır (Lewin ve ark. 2007).

Avrupa bölgesi ülkeleri arasında içme suyu kaynaklı salgınlara en yüksek oranda İspanya, Belçika, Norveç ve Finlandiya' da rastlandı (WHO-E ENHIS, 2009). 16 Avrupa Ülkesi ve Kuzey Amerika Bölgesi için *E. coli* ve Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS) vaka sayısı 4,074 ve ölüm sayısı 50 olarak bildirildi (WHO, 2011).

Haiti'de 2010 yılında başlayan ve 2013 yılı itibariyle 40.000 vaka sayısına ulaşan kolera salgınının Meksika'ya sıçradığı ve salgının bölgedeki diğer Latin ülkeler için risk teşkil ettiği raporlandı (Moore ve ark. 2014).

Türkiye için su kaynaklı hastalıkların epidemiyoloji ve etimiyolojisi hakkında çalışmaların, yetersiz olduğu görülmektedir. Bu duruma en güncel kanıtlardan birisi VIROCLIME (Virology Water and Climate Change; <http://www.viroclime.org>) Mart 2011 tarihli “*Systematic review of waterborne disease outbreaks following extreme water events*” başlıklı raporudur. Bu rapora göre Avrupa bölgesinde toplam 97 bilimsel makalede rapor edilen 16 adet su kaynaklı salgından yalnızca 1’i “*waterborne outbreak of cryptosporidiosis with Cyclospora co-infection in Turkey*” başlıklı çalışmadır (Aksoy, 2007).

AB FP7 destekli ENVIROGRID projesi (<http://www.envirogrids.cz/turkey>) Türkiye’ nin 41 ilinde su kaynaklı hastalıkların insidansı üzerine yapılmış geniş kapsamlı bir araştırmadır. T. C. Sağlık Bakanlığı ve Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) veri bankalarından istifade edilen çalışmada; 2000 yılında en yüksek insidansın $>20 / 100.000$ ile Samsun, Akdeniz, Çukurova ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde iken; 2008 yılında ise Samsun, Çanakkale, İç Anadolu ve kısmen Doğu Anadolu illerinde olduğu saptandı. Bu çalışmada su örneklerinin toplandığı İstanbul için ise insidans değeri $<10 / 100.000$ kişi olarak bildirildi.

Bu çalışmada İstanbul ilinde ve çevresinde toplanan içme amaçlı cam, plastik ve damacana su sebillerinden toplanan su örneklerinde EMS yöntemi izlenerek yapılan klasik incelemede TKGB, FKGB ve EC tespit edilmedi. Elde edilen bulgular Peker ve arkadaşlarının (1988) İstanbul Kadıköy ilçesi, Gönül ve Karapınarın (1991) İzmir ili ve Köksal’ ın (1999) İstanbul merkezinden topladıkları şişe suların analiz sonuçları ile de desteklenmektedir.

Ancak, bazı yurtdışı kaynaklı incelemelerde şişe sularda koliform bakteriler bulunduğu bildirildi. Bharath ve arkadaşları (2002) Trinidad’da toplam 344 şişe suyu analiz ettiler ve yerli marka suların 18’ inde (% 6,9) toplam koliform ve 5’ inde (% 1,9) *E. coli*, tespit ettiler. Ancak, ithal 82 adet şişelenmiş suda mikrobiyal yüke rastlanmadılar. Eja ve ark. (2006) Güneydoğu Nijerya’da restoranlardaki su sebillerinde *E. coli*, Oswald ve ark. (2007) Peru’ nun başkenti Lima’da içme sularında fekal kontaminasyon buldular.

Şehirli nüfus tarafından sıklıkla tüketilen marka şişelenmiş suların çok aşamalı filtrasyon, ultraviyole (UV) ışıkla arıtım, ters osmoz, aktif karbon filtrasyonu, son

filtrasyon ve ozonlama işlemlerinden geçirilerek temizliği güvence altına alınmakla birlikte; esas tehlikenin kaynağı belli olmayan kuyu ve depo suları olabileceği dikkat çekmektedir (Süphandağ ve ark. 2007).

Özellikle su sektöründe sağlık koşullarına uymayan firmaların yarattığı haksız rekabet, damacana kaçak dolun yapılması ve evlerin su depolarının sağlığı tehdit etmesine özellikle dikkat çekilmektedir (Sarı, 2004). Bu açıklamaları destekleyen Ulusal araştırmalar bulunmaktadır. Peker ve arkadaşları (1988) ile Öz ve arkadaşlarının (1996) İstanbul ilinde ve Gönül ve Karapınar'ın (1991) İzmir ilinde yerleşik su istasyonlarından; Köksal'ın (1999), Akhan ve Çetin (2007) İstanbul ilindeki damacana sularından aldıkları örneklerde Sarı'nın (2004) sektör raporunda belirttiği sorunları destekleyen bulgular elde edildiği görülmektedir. Bu nedenle, içme amaçlı cam, plastik ve damacana sebil sularından farklı bölgelerde ve daha fazla sayıda örnek toplanarak analizlerin geniş kapsamlı tekrarlanması gerekmektedir.

Bu çalışmada İstanbul ili ve çevresinden toplanan kullanım amaçlı şehir şebekesi çeşme suyu örneklerinin EMS yöntemi izlenerek % 12,2' si (n=5) TKGB, FKGB ve *E. coli* varlığı bakımından pozitif bulundu. Pozitif örnekler içinde Çatalca bölgesi köylerinden toplanan çeşme sularının % 60' ında (n=3) yüksek seviyede TKGB; % 40' ında (n=2) yüksek seviyede FKGB ve % 20' sinde (n=1) ise yüksek seviyede EC tespit edildi. Türkiye'de farklı tarihlerde ve farklı bölgelerde yapılan incelemelerde Yalçın ve ark (1988) Konya şebeke sularının % 25' inin; Anar ve Gül (2000) Bursa il merkezinde çeşme sularının % 7,1' inin; Gündüz ve ark (2006) Manisa kent merkezinden topladıkları içme ve kullanma sularının % 21,6' sında; Kireççi ve ark (2006) Kars ve Sarıkamış bölgelerindeki askeri birliklerin içme ve kullanma suşlarının % 30' unda; Avcı ve ark. (2006) Tokat ilindeki içme sularının % 12,7' sinde; Şeker ve ark (2006) Ankara'da içme sularının % 12,24' ünde, Alim ve ark. (2008) Sivas'ta şebeke ve kaynak sularında yaptıkları çalışmalarında % 16,9 - % 39,5 arasında değişen oranda; Alemdar ve arkadaşları (2009) Bitlis ilinde içme suları örneklerinin % 8' inde ve Avcıl ve ark (2014) Malatya içme-kullanma suları örneklerinin % 30,2' toplam ve fekal koliform bakteriler ile *E. coli* varlığını tespit ettiler.

Dünya ülkelerinde yürütülen benzer kapsamlı çalışmaların da ülkemiz ile yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. Palit ve ark. (2012) Hindistan'ın Kalküta şehrinde kullanım amaçlı çeşme sularında fekal koliform bakteriler, Clasen ve Bastable (2003)

Sierra Leone'de 13 köydeki 100 hanenin şebeke sularında yoğun fekal bulaşma tespit ettiler.

Araştırmamız şebeke çeşme sularında fekal kirlenmeye işaret eden kontaminasyon olduğunu göstermiştir. Ulusal tabanlı yapılan diğer araştırmaların elde ettikleri bulgular da bizim araştırma sonuçlarımızı desteklemektedir. Şebeke sularının son tüketiciye/kullanıcıya gelene kadar arındırma, altyapı sağlamlığı ve bakım hizmetlerinin yeterli seviyede verilmesi; çeşme sularında gerçekleştirilecek mikrobiyal bulaşmalara karşı sürveyan ve hızlı tespit yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Bu araştırmada Çatalca ve İstanbul Yenibosna ve Cennet Mahallelerinden toplanan kullanım amaçlı kuyu suları örneklerinde EMS yöntemi izlenerek yapılan incelemede % 50 ' si (n=4) TKGB ve FKGB ile % 37,5' u (n=3) EC varlığı bakımından pozitif bulundu. Pozitif kuyu suyu örneklerinin Çatalca bölgesinden alınan sular olduğu; % 75'inin (n=3) TKGB ve % 25' inin (n=1) FKGB varlığı bakımından yüksek seviyede kontamine olduğu görüldü. Türkiye'de yapılan diğer araştırmalarda ise; Yalçın ve ark (1988) Konya'da kuyu sularının % 25' inin koliform grubu bakteri içerdiğini, Kenar ve Altındış (2001) Afyon' da kullanma suyu sağlayan kuyularda *E. coli* ' ye rastlandığını, Öztürk (2003) İstanbul Çatalca, Beykoz, Şile ve Eyüp ilçelerindeki kuyu suşlarının koliform bakteriler ile kontamine olduğunu, Aydın (2007) Edirne ve Çanakkale bölgeleri yer altı sularında koliform bakteriler ve *E. coli* seviyelerinin AB ve Türk İçme Suları kriterlerinin iki katından fazla olduğunu (44 kob/ml) tespit ettiler.

Uluslararası yapılan diğer çalışmalardan elde edilen bulgular da kuyu sularının gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler içinde halk sağlığı bakımından mikrobiyal bulaşma içerdiği için tehdit oluşturduğunu göstermektedir. Okafo ve ark. (2003) Nijerya' da sulama suşlarının ve bu su kaynaklarıyla sulanan sebzelerin enteropatojenik *E. coli* içerdiğini, Marsalek ve Rochfort (2004) Kanada Ontario'da fırtına ve şiddetli yağışların kanalizasyon suları ile birleşerek su kaynakları için ciddi tehdit oluşturduğunu; bu sularda *E. coli* mikrobiyal yükünün 10^5 kob/100 ml mertebelerine yükseldiğini bildirdiler.

Araştırmamızda kuyu sularında koliform bakterilerin varlıklarının daha yüksek olduğu görüldü ve bu tespit yurtiçi ve yurtdışı kaynaklı diğer incelemelerce de doğrulanmaktadır. Özpınar ve ark. (2013) İstanbul ilindeki çeşitli semt pazarlarında satışa sunulan sebzelerin *E. coli* pozitif tespit edildiğini ve patojen *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerini taşıdığını bularak, kuyu suları kullanımının su kaynaklı ciddi hastalıklara davet çıkardığını ve bu nedenle halk sağlığını tehdit ettiği sonucuna vardılar. Kuyu sularının kullanım ve/veya tarım amaçlı kullanılmasıyla birlikte halk sağlığı açısından patotip *E. coli* içerme olasılığının son derece yüksek olduğu yerli ve yabancı araştırmacılar tarafından ortaya konul ve araştırmamızın kapsamını desteklemiştir.

Bu çalışmada İstanbul ili ve Çatalca bölgelerinden toplanan kullanım amaçlı depo suları örneklerinde EMS yöntemi izlenerek yapılan incelemede % 41,6 ' sının (n=5) TKGB, % 33,32 nün (n=4) FKGB ve EC varlığı bakımından pozitif olduğu saptandı. 1 örnekte (% 25) ise yüksek seviyede TKGB varlığı tespit edildi. Kullanım amaçlı istifade edilen depoların periyodik yıllık bakım ve sıhhi temizliklerinin yapılması resmi otoriteler tarafından istenmekte ve takip edilmektedir. Depo sularının yüksek seviyelerde koliform bakteriler içermesi ile insani amaçlı genel kullanımı beraberinden bazı tehlikelere yol açmaktadır. Eshcol ve ark. (2009) Hindistan' ın Andhra Pradeş eyaletindeki 50 hanenin depo sularında toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* görüldüğünü raporladılar. Uluslararası araştırma sonuçları ile tez çalışmamızda bulunan veriler birbirleriyle yakın benzerlikler göstermektedir. Bu sebeple, depo sularının farklı bölgelerde ve daha fazla örnek sayısı ile kontrolü, halk sağlığına dönük önleyici tedbirler bakımından ciddi destek veren çalışmalar olacaktır. Bu çalışmaların resmi ve tüzel otoriteler tarafından teşvik ve takip edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada toplanan tüm su örneklerinde (n=96) EMS yöntemiyle yapılan incelemede içme amaçlı cam, plastik ve damacana sularında TKGB, FKGB ve EC varlığına rastlanmadı. Ancak, kullanım amaçlı şehir şebekesi çeşme suları, depo kullanım suları ve kuyu kullanım sularının sırasıyla % 16,6' sı (n=14) TKGB, % 13,5' u (n=13) FKGB ve % 12,5' u (n=12) EC varlığı bakımından pozitif bulundu. TKGB pozitif su örneklerinin % 50' sinin (n=7); FKGB pozitif su örneklerinin % 23,1' inin (n=3) ve EC pozitif su örneklerinin ise % 8,3' ünün (n=1) kabul edilebilir üst sınır olan 20 EMS/100 ml değerinin üzerinde yüksek oranda kontamine oldukları tespit edildi. Bu değerler yurtiçi ve yurtdışı yapılan çalışmalarla oran ve yöntem açısından büyük

benzerlikler göstermektedir. Suyun insan yaşamındaki önemi göz önüne alındığında, koruyucu halk sağlığı politikaları bakımından tüm su kaynaklarının, hazır içme sularının, kullanım amaçlı suşların mikrobiyal arınlık ve kalite bakımından mutlaka takip edilmesi gerekmektedir.

Literatürde çok sayıda çalışma EMS yöntemi ve diğer konvansiyonel yöntemlerin koliform bakteriler ve fekal koliform bakterilerin, EC' de dahil, tespit performansını anlamak için yapıldı. Garcia ve ark. (2007) EMS yöntemi ve direkt ekim yöntemlerini fekal koliform ve *E. coli* sayımı amaçlı karşılaştırdılar ve *E. coli* ve fekal koliform bakteri sayısı arasında 0,77 oranını hesapladılar.

Cho ve ark. (2010) Çin' in Yeongsan nehir havzasından topladıkları su örneklerinde EMS yöntemiyle *E. coli* sayım değerinin MF tekniğiyle elde edilen değerlerden oldukça yüksek çıktığını bularak, Gronewold ve Wolpert (2008)' in çalışmasını doğruladılar.

Hachich ve ark. (2012) membrane filtrasyon tekniğini kullanarak; içme sularında fekal bakterileri ve *E. coli*' yi iki farklı besiyeri kullanarak 1000 fekal koliform bakterinin 800 *E. coli* kolonisine karşılık geldiğini belirlediler.

Benzer şekilde, membran filtrasyon yöntemi yerine bag filter yöntemi geliştiren Stauber ve ark. (2014); membrane filtrasyon yöntemine alternatif olarak geliştirdikleri bag filter yöntemi ile sularda *E. coli* varlığını % 94,9 sensitivite ve % 96,6 spesifite ile tespit ettiler.

E. coli ve toplam koliform bakterilerin kromojenik/flojojenik membrane filtrasyon tekniği ya da konvansiyonel membrane filtrasyon tekniğiyle tespiti sıklıkla kullanılmaktadır. Son çalışmalar kromojenik ve flojojenik yöntemlerin hassasiyet ve seçicilik bakımlarından konvansiyonel yöntemine göre daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır (Van Poucke ve Nelis, 2000).

Prats ve ark. (2008) Küba adasında kaynak sularından topladıkları örneklerde *E. coli* varlığının tespitini EMS ve kromojenik ve flojojenik agar besiyerleri kullanarak

performansları bakımından karşılaştırdılar. En yüksek spesifiteyi % 95,7 oranı ile chromocult agarda elde ettiler.

Benzer şekilde Valente ve ark. (2010) MF tekniğiyle enzim-substrat yöntemini toplam koliform bakteriler ve *E. coli* enümerasyonu amacıyla topladıkları su örneklerinde ISO 17994:2004 standardına göre karşılaştırdılar ve enzim-substrat yönteminin daha spesifik, rantabl ve standart metodolojiden daha basit olduğunu teyit ettiler.

Bu araştırmada kullanılan FDA referanslı EMS yöntemi klasik yöntemler arasında sıklıkla tercih edilen yöntemlerden birisidir. Ancak, özellikle tiplendirme bakımından daha ileri ve hassas tekniklere gereksinim duyulmaktadır.

MASS SPEKTROMETRE yöntemi kullanarak pozitif EC izolatlarının identifikasyonunun/ doğrulamasının yapılmasının sebebi EMS yönteminin bazı dezavantajlar içermesidir. Bu dezavantajlardan başlıcaları uzun inkübasyon süresi, antagonistic organizmaların sebep olacakları enterferans, düşük seçicilik ile yavaş gelişen ya da görünür fakat kültür edilemeyen mikroorganizmaların tespitinde zayıflık olarak sayılabilir (Rompré ve ark. 2002; Feng ve ark. 2002; Leboffe ve Pierce, 2011).

MASS SPEKTROMETRE rutin mikrobiyal amaçlı olarak MALDI-TOF-MS yöntemi adıyla konvansiyonel fenotipik biyokimyasal yöntemlere ve moleküler tekniklere, sağladığı hız ve kesinlik ile yaygın şekilde kullanılmaktadır. Rutin laboratuvar incelemelerinde kültür bazlı çalışma yapmak gerekmektedir. Ancak bundan sonraki işlemler ve süreler MALDI-TOF-MS ile çok kısalmakta ve izole edilen tek bir koloni bile olsa çalışma olanağı bulunmaktadır. MALDI-TOF-MS ileri inceleme yöntemleri arasına girmiş ve mikrobiyolojide yerini almıştır (Akyar, 2011).

MALDI-TOF-MS uygulama kolaylığı ve spektrumun kolayca anlaşılabilmesi nedeniyle bakteriyel vejetatif hücrelerin veya sporların doğrudan saflaştırılmasını takiben bakteri hücrelerinden protein profillerinin çıkarılması ve bu profillerin referans bir spectra ile karşılaştırılması sonucu bakterilerin kolaylıkla tanımlanabilmektedir (van den Boom ve ark. 2013).

Bu sistem ile yapılan analizler 1 saatin altında sürmekte olup; Gram boyama ve biyokimyasal reaksiyonlara dayalı fenotipik yöntemlere göre maliyet avantajı getirmektedir. Bu nedenle mikrobiyolojide artan şekilde kullanım alanı bulmaktadır (Seng ve ark. 2009; Akyar, 2011).

Bakteriyel türlerin identifikasyonundan artan şekilde kullanılmaya başlayan MALDI-TOF-MS' in tek ön koşulu hedef mikroorganizmadan bir koloni zole etmektedir. Yöntemin rutin şekilde kullanılabilmesi için araştırmacıların önüne iki soru çıkmaktadır. Çalışılan numune materyalin kendine özgü doğası (matriksi) ve birden fazla tür bakteri içermesidir. Bu iki durumun aşılması için MALDI-TOF-MS tekniğini seçicilik ve hassasiyetinin artırılması açısından destekleyen yöntem geliştirmeye gereksinim duyulmaktadır (Mahé ve ark. 2014).

Gıdaya bağlı bakterilerin gıda işleme süreçlerinde ve gıda güvenliği kapsamlı incelemelerde hızlı ve doğru şekilde tespiti önem taşımaktadır. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarları ve Gıda Endüstrisinin farklı yerlerinde MALDI-TOF-MS tekniğinin kullanılmasının getireceği avantajlar klinik bilimlerin konuya ilgileri ve hakim oluşları göz önüne alındığında ayrıca önem taşımaktadır (Pavlovic ve ark. 2013).

EMS yöntemiyle tespit edilen EC pozitif su örneklerinden (n=12) alınan tipik kolonilerin VITEK MA-MALDI-TOF sistemi kullanılarak doğrulaması yapıldı. VITEK MS-MALDI-TOF doğrulaması sonucunda; 1 koloni tanımlanamazken (% 8,3), 1 koloni % 50 EC ve % 50 *P. qurreuogenious* (% 8,3); 1 koloni % 99,9 *Enterobacter asburiae* (% 8,3) olarak karakterize edilirken; kalan 9 koloni ise (% 75) genus seviyesinde EC olarak identifiye edildi.

Sularda koliform bakteriler ve *E. coli* identifikasyonuna dönük MALDI-TOF-MS yöntemiyle yapılan çalışmalarda tez araştırmamıza yakın sonuçlar bulundu. Seng ve ark. (2009) 1660 bakteri izolatını % 95,4 doğrulukla MALDI-TOF-MS ile identifiye ettiler. İdentifiye edilen bakteri izolatlarının % 84,1' i genus seviyesinde tanımlandı. İzolatların % 2,8' i identifiye edilemedi ve % 1,7' si hatalı okuma sonucu verdi. Eksik değerlendirmelerin sebebi olarak cihazın very tabanının yetersizliği gösterildi.

Bizzini ve ark. (2010) konvansiyonel yöntemlerle izole ettikleri 1.371 izolatın 1.278' ini (% 93,2) MALDI-TOF-MS kullanarak karakterize ettiler. Analiz edilen izolatların 73'ünü (% 5,3) genus seviyesinde ve 63' ünün (% 4,9) tür seviyesinde mevcut veritabanı yetersizliği ve hatalı okuma sebebiyle tanımlayamadıklarını raporladılar.

Emami ve ark (2012) su kaynaklı bakterilerin yüksek oranda identifikasyonu için mevcut MALDI-TOF-MS very tabanlarının yetersiz kaldığını; bunları geliştirilmeleri gerektiğini ve ancak bu şekilde insanlarda hastalıklara sebep olan patojen mikroorganizmaların erken ve hızlı şekilde önlenbilmesinin mümkün olacağını vurguladılar.

Gemmell ve Schmidt (2013) Güney Afrika Cumhuriyeti,' nin Msunduzi nehrinden aldıkları sulama ve kullanım amaçlı su örneklerinde 13 ay süresince toplam koliform bakteriler, fekal koliform bakteriler ve *E. coli* varlığını EMS yöntemiyle incelediler ve elde ettikleri sonuçları MALDI-TOF-MS kullanarak konfirme ettiler.

Sogawa ve ark. (2013) 92 türden izole ettikleri 468 suşun % 91,7'sini (429/468) tür; % 97,0' ını (454/468) genus seviyesinde identifiye ederek; mevcut veri tabanının geliştirilmesi yönünde tavsiyede bulundular.

Šedo ve ark. (2013) 7 günü aşan ekim sürelerinin MALDI-TOF-MS' in sinyal performansını son derece olumsuz yönde etkilerken, identifikasyon performansını düşürdüğünü buldular. Benzer şekilde Balážová ve ark. (2014) Besiyeri cinsi ve 5 farklı ekim süresinin MALDI-TOF-MS' in identifikasyon performansına etkisini incelediler. İnceleme neticesinde kültür şartlarının optimum koşullarda tutulması gerektiğini; uzun ekim sürelerinin MALDI-TOF-MS identifikasyon performansını olumsuz yönde etkilediğini raporladılar.

Rodríguez-Sánchez ve ark. (2014) konvansiyonel fenotipik yöntemlerle identifiye ettikleri 150 adet bakteri izolatını; MALDI-TOF-MS yöntemi ile karakterize ettiler. İnceleme sonucunda 29 izolatın identifiye edilemediğini, kalan 121 (% 80,7) izolat için 103' ünün MALDI-TOF-MS tarafından tanımlandığını raporladılar.

Sonuç olarak; bu çalışmada içme amaçlı kullanılan cam, plastik ve damacana sebil sularında koliform bakteriler, fekal koliform bakteriler ve *E. coli* üremeleri

görülmüdü. Ancak, kullanım amaçlı çeşme suları, depo suları ve kuyu sularında fekal bulaşmaya işaret eden koliform bakterilere rastlandı. Kontaminasyon oranı bazı su örneklerinde kabul edilebilir sınırların üzerinde çıktı. Koliform grubu bakterilerin bulaştığı su kaynaklarının içme, kullanım ve sebzelerin yetiştirilmeleri ve yıkanmalarında kullanılması durumunda insanları infekte olacağı kesin bilinmek durumundadır. Türkiye’de diyaliz tedavisi gören hasta sayısının 55 bini aştığı ve 2020 yılında iki katına çıkacağıın öngörülmektedir. Bu durumun ekonomiye ve devlete ilaç dâhil toplam maliyetinin 2 milyar doları aşacağı ifade edilmektedir (www.medical-tribune.com.tr). Koliform ve fekal bakterilerin, özellikle patotip *E. coli* türlerinin diyaliz hasta sayısının artmasında önemli rolü ve etkileri olduğu göz ardı edilmemelidir. Devletin yasal görevlerinden birisi de halka sağlıklı ve güvenli gıda temini için gereken tedbirler bütünü almasıdır. Ayrıca bu çalışmada su kaynaklı koliform bakterilerin ve özellikle *E. coli* nin hızlı tespiti için MASS SPEKTROMETRE (VITEK MALDI-TOF-MS) kullanılmıştır. Bu yöntem gelişmiş ülkelerde mikroorganizmaların hızlı tespitinde yaygın şekilde tercih edilmektedir. Türkiye’ de de bu yöntemin gıda güvenliği ve halk sağlığını korumaya dönük araştırmalarda kullanımının yaygınlaştırılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

Akhan, M., Çetin, Ö., 2007, Bir kaynak suyu tesisinde olası mikrobiyal kontaminasyonun incelenmesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 37 (4): 213-220.

Akın M. ve Akın G., 2007, Su'nun Önemi, Türkiye'de Su Potansiyeli, Su havzaları ev Su Kirliliği. Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi 47 (2): 105-118.

Akyar, I., 2011, Kütle Spektrometrisinin Mikrobiyolojide Kullanımı. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2 (4): 177-183.

Alemdar, S., Kahraman, T., Ağaoğlu, S., Aışarlı, M., 2009, Bitlis ili içme sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri. Ekoloji, 19 (73): 29-38.

Alkan, U., Teksoy, A., Acar, Ö., 2005, İçme suyu şebekesinde bakteriyel yeniden çoğalmayı etkileyen faktörlerin belirlenmesi. itüdergisi/e su kirlenmesi kontrolü, 15 (1-3): 43-55.

Anar, Ş ve Günsel, U., 2000, Bursa il merkezindeki içme ve kullanım suşlarının hijyenik kalitesi. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 7 (1): 31-33.

Anonim., 2013, Sularda *E.coli*, Koliform Grubu Bakteriler ve Fekal Koliformlar, (<http://labsan-laboratuvar.ticiz.com/a2055-sularda-ecoli-koliform.html>).

Anonim. Dünya'daki Suyun Dağılımı Ve Su Tüketimi, (<http://www.cevreonline.com/su/dunyada%20suyun%20dagilimi.htm>) (Erişim tarihi: 2007).

Ataseven, Y., 2011, Tarımsal faaliyetlerin içme suyu havzalarındaki etkilerinin araştırılması: Ankara ili örneği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Ankara.

ATO - Ankara Tabip Odası: Sıvı ve Su Tüketimi İle Sağlık İlişkisi, <http://ato.org.tr/bilgi/hekimler-icin-guncel-tibbi-bilgiler/detay/9> (Erişim tarihi: 16 Mart 2012).

Atvur, S., 2013, Küresel Su Politikalarında Temel Tartışmalar. C.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi, 14 (1): 315-334.

Avcı, HH., Pehlivan, E., Avcı, S., Selçuk, EB., 2014, Malatya İli İçme Suyu Kontrol İzlemesi Sonuçlarının Halk Sağlığı Açısından Değerlendirilmesi, J Turgut Ozal Med Cent , 1 (1): 21-26.

Avcı, S., Bakıcı, M.Z., Erandaç, M., 2006, Tokat ilindeki içme sularının koliform bakteriler önünden araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 28 (4): 107-112.

Aydin, A. 2007, The Microbiological and Physico-Chemical Quality of Groundwater in West Thrace, Turkey. Polish J. of Environ. Stud, 16 (3): 377-383.

Balážová,T., Makovcová, J., Sedo, O., Slaný, M., Faldyna, M., Zdráhal, Z., 2014, The influence of culture conditions on the identification of Mycobacterium species by MALDI-TOF MS profiling. FEMS Microbiol Lett, doi: 10.1111/1574-6968.12408 [Epub ahead of print].

Bayhan, M., N, Hançer., 1987, Biyokimya ve Besin Kimyası. Devlet Kitapları. İstanbul.

Bharath, J., Mosodeen, M., Motilal, S., Sandy, S., Sharma, S., Tessaro, T., Thomas, K., Umamahewaran, M., Simeon, D., Adesiyun, A.A., 2002, Microbial quality of domestic and imported brands of bottled water in Trinidad. International Journal of Food Microbiology, 81; 53-62.

Biswas, S., Rolain, JM., 2013, Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. J Microbiol Methods, 92 (1): 14-24.

Bizzini, A., Durussel, C., Bille, J., Greub, G., Prod'hom, G., 2010, Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for

identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*, 48 (5): 1549-54.

Boğaziçi Üniversitesi İklim değişikliği Çalışma Grubu – BÜİDÇG: Gelişmekte olan ülkeler için yaşamsal tehdit: İklim değişikliği <http://iklimbu.wordpress.com/2013/07/03/gelismekte-olan-ulkeler-icin-yasamsal-tehdit-iklim-degisikligi-nazan-an/> (Erişim tarihi: 3 Temmuz 2013).

Bonk, T., Humeny, A., 2001, MALDI-TOF-MS analysis of protein and DNA. *Neuroscientist*, 7 (1): 6-12.

Boubetra, A., Le Nestour, F., Allaert, C., Feinberg, M., 2011, Validation of alternative methods for the analysis of drinking water and their application to *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*, 77 (10): 3360-7.

Bradley, D., 1977, Health aspects of water supplies in tropical countries. In *Water, Wastes and Health in Hot Climates* (ed. R. Feachem, M. McGarry, and D. Mara), pp. 3–17, John Wiley & Sons, London.

Carbonnelle, E., Mesquita, C., Bille, E., Day, N., Dauphin, B., Beretti, JL., Ferroni, A., Gutmann, L., Nassif, X., 2011, MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. *Clin Biochem*, 44 (1): 104-9.

Cho, KH., Han, D., Park, Y., Lee, SW., Cha, SM., Kang, JH., Kim, JH., 2010, Evaluation of the relationship between two different methods for enumeration fecal indicator bacteria: colony-forming unit and most probable number. *J Environ Sci (China)*, 22 (6): 846-50.

Clasen, TF., Bastable, A., 2003, Faecal contamination of drinking water during collection and household storage: the need to extend protection to the point of use. *J Water Health*, 1 (3): 109-15.

Cumberland, S., Bridgeman, J., Baker, A., Sterling, M., Ward, D., 2012, Fluorescence spectroscopy as a tool for determining microbial quality in potable water applications. *Environ Technol*, 33 (4-6): 687-93.

Çetinkaya, E. Ayhan, K., 2012, Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi /Karaelmas Science and Engineering Journal*, 2 (1): 53-62.

Çevre Mühendisleri Odası – CMC., 2012, Su ve Yaşam Raporu, ISBN: 978-605-5867-66-9, Ankara, Türkiye.

Diatek., 2014, Membran Filtrasyon Yöntemi ile Mikrobiyolojik Analizler (http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-Analizler/Membran-Filtrasyon-Yontemi-ile-Mikrobiyolojik-Analizler_242.htm) (Erişim tarihi: 2014).

Eja, ME., Etok, CA., Asikong, BE., Mboto, Cl., Arikpo, GE., 2006, Incidence of enteric bacterial pathogens in water found at the bottom of commercial freezers in calabar, southeastern Nigeria. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 37 (2): 394-9.

Emami, K., Askari, V., Ullrich, M., Mohinudeen, K., Anil, AC., Khandeparker, L., Burgess, JG., Mesbahi, E., 2012, Characterization of bacteria in ballast water using MALDI-TOF mass spectrometry. *PLoS One*, 7 (6): e38515.

Eshcol, J., Mahapatra, P., Keshapagu, S., 2009, Is fecal contamination of drinking water after collection associated with household water handling and hygiene practices? A study of urban slum households in Hyderabad, India. *J Water Health*, 7 (1): 145-54.

European Environment Agency., 2003, Indicator Fact Sheet (WEU10) Drinking Water Quality.

Feng, P., Weagant, SD., Grant, MA., Burkhardt, W., 2002, FDA Bacteriological Analytical Manual: Chapter - 4 Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria, (<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>, Erişim tarihi: Şubat 2014).

Fiksdal, L., Tryland, I., 2008, Application of rapid enzyme assay techniques for monitoring of microbial water quality. *Curr Opin Biotechnol*, 19 (3): 289-94.

Garcia-Armisen, T., Prats, J., Servais, P., 2007, Comparison of culturable fecal coliforms and *Escherichia coli* enumeration in freshwaters. *Can J Microbiol*, 53 (6): 798-801.

Gemmell, ME., Schmidt, S., 2013, Is the microbiological quality of the Msunduzi River (KwaZulu-Natal, South Africa) suitable for domestic, recreational, and agricultural purposes?. *Environ Sci Pollut Res Int*, 20 (9): 6551-62.

Girones, R., Ferrús, MA., Alonso, JL., Rodriguez-Manzano, J., Calgua, B., Corrêa Ade, A., Hundesa, A., Carratala, A., Bofill-Mas, S., 2010, Molecular detection of pathogens in water--the pros and cons of molecular techniques. *Water Res*, 44 (15): 4325-39.

Gökdemir M., 2002, Dünya'da ve Türkiye' de Su: Barajlar ve Kültürel Miras. *Türkiye Mühendislik Haberleri*, Sayı: 420-421-422, 4-5-6: 155-159.

Gönül, Ş.A., Karapınar, M., 1991, The microbiological quality of drinking water supplies of Izmir City: The incidence of *Yersinia enterocolitica*. *International Journal of Food Microbiology*, 13 (1): 69-73.

Gronewold, AD., Wolpert, RL., 2008, Modeling the relationship between most probable number (MPN) and colony-forming unit (CFU) estimates of fecal coliform concentration. *Water Res*, 42 (13): 3327-34.

Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997, Su Kalitesi, T. C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, 1. Baskı No: 43, Ankara, Türkiye.

Güler, D., 2003, Su Kalitesi Araştırmalarında Hidrobiyolojik ve Mikrobiyolojik Metotlar. Türkiye'nin Kıta İçi Su Kaynaklarında Kirlilik Etkileri ve Çözüm Önerileri Bildirileri, DSİ Genel Müdürlüğü İçme Suyu ve Kanalizasyon Dairesi Başkanlığı, Ankara.

Gündüz, T., Çimen, S., Arı, A., Etiz, S., Tay, Z., 2006, Manisa kent merkezi içme ve kullanma sularının bakteriyolojik analizi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 36 (2); 99-102.

Hachich, EM., Di Bari, M., Christ, AP., Lamparelli, CC., Ramos, SS., Sato, MI., 2012, Comparison of thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* densities in freshwater bodies. Braz J Microbiol, 43 (2): 675-81.

Halkman, AK., 2005, Mikroorganizma Analiz Yöntemleri. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. S 89-124. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.

Hutton, G., Bartram, J., 2008, Global costs of attaining the Millennium Development Goal for water supply and sanitation. Bulletin of the World Health Organization, 86 (1): 13-19.

İnal, T., Nazlı, B., Ergün, Ö., 1991, Türkiye’de Su ve Su Ürünlerinin Bakteriyel Kirlenmesi ve Sağlık Açısından Yarattığı Sorunlar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 3 (2).

Kenar B., Altındış M., 2001, Afyon İl merkezi içme ve kullanma sularında hijyenik kalite araştırması. Kocatepe Tıp Dergisi, 2: 269-274.

Kılıç N. : Su Kaynakları Yetersizliği Düşündürüyor. http://www.izto.org.tr/portals/0/iztogenel/dokumanlar/su_kaynaklari_yetersizligi_dusunduruyor_n_kilic_26.04.2012%2022-05-57.pdf (Erişim tarihi: Ekim 2006).

Kireççi, E., Savaşçı, M., Uslu, H., 2006, Kars ve Sarıkamış çevresindeki içme suyu kaynaklarından membran filtrasyon yöntemi ile *Escherichia coli* izolasyonu. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 1 (1-2); 29-32.

Kurban, S., Mehmetoğlu, İ., 2010, Proteomik. Yeni Tıp Dergisi, 27: 70-75.

Lewin, S., Norman, R., Nannan, N., Thomas, E., Bradshaw, D; South African Comparative Risk Assessment Collaborating Group., 2007, Estimating the burden of

disease attributable to unsafe water and lack of sanitation and hygiene in South Africa in 2000. *S Afr Med J*, 97 (8 Pt 2): 755-62.

Köksal, F., 1999, İstanbul'un su kaynaklarının patojen barsak bakterileri bakımından değerlendirilmesi. Doktora Tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Leblanc, M., 2014, Striving for success in sanitation, hygiene, and water supply. *Rev Environ Health*, doi: 10.1515/reveh-2014-0018 [Epub ahead of print]. Leboffe, MJ., Pierce, BE. *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory*, 4th edition Morton Publishing, 2011.

Mahé, P., Arsac, M., Chatellier, S., Monnin, V., Perrot, N., Mailler, S., Girard, V., Ramjeet, M., Surre, J., Lacroix, B., van Belkum, A., Veyrieras, JB., 2014, Automatic identification of mixed bacterial species fingerprints in a MALDI-TOF mass-spectrum. *Bioinformatics*, [Epub ahead of print].

Marrs CF., Zhang L., Foxman B., 2005, *Escherichia coli* mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes? *FEMS Microbiol Lett.* 252(2):183-190.

Marsalek, J., Rochfort, Q., 2004, Urban wet-weather flows: sources of fecal contamination impacting on recreational waters and threatening drinking-water sources. *J Toxicol Environ Health A*, 67 (20-22): 1765-77.

Meyer, K., Ueland, PM., 2011, Use of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for multiplex genotyping. *Adv Clin Chem*, 53:1-29.

Moe, CL., Rheingans, RD., 2006, Global challenges in water, sanitation and health. *J Water Health*, 4 (1): 41-57.

Moore, SM., Shannon, KL., Zelaya, CE., Azman, AS., Lessler, J., 2014, Epidemic risk from cholera introductions into Mexico. *PLoS Curr*, doi:10.1371.

Müller EE., Ehlers MM., Grabow WOK., 2001, The occurrence of E. coli O157:H7 in South African water sources intended for direct and indirect human consumption. Water Research, 35 (13): 385-388.

O'Connor, C., Fitzgibbon, M., Powell, J., Barron, D., O' Mahony, J., Power, L., O'Connell, NH., Dunne, C., 2014, A commentary on the role of molecular technology and automation in clinical diagnostics. Bioengineered, 5 (3) [Epub ahead of print].

Noble, RT., Weisberg, SB., 2005, A review of technologies for rapid detection of bacteria in recreational waters. J Water Health, 3 (4): 381-92.

Okafo CN., Umoh VJ., Galadima M., 2003, Occurrence of pathogens on vegetables harvested from soils irrigated with contaminated streams. Science of The Total Environment, 311 (1-3): 49-56.

Oswald, WE., Lescano, AG. Bern, C., Calderon, MM., Cabrera, L., Gilman, RH., 2007, Fecal contamination of drinking water within peri-urban households, Lima, Peru. Am J Trop Med Hyg, 77 (4): 699-704.

Öz, V., Köksal, S., Çelik, Ş., Toprak, N., Erginöz, E., Cengiz, S., Erginöz, H., 1996, İstanbul'da su istasyonlarında satışa sunulan içme sularının mikrobiyolojik yönden değerlendirilmesi. 5. Ulusal Halk Sağlığı Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Bildiri Kitabı, 447-458.

Özpinar, H., Applegate, L., 2011, Beslenme ve Diyet: Temel İlkeleri, 1. Baskı ISBN - 978-9944-211-93-2, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye.

Özpinar, H., Turan, B., Tekiner, İH., Tezmen, G., Gökçe, İ., Akineden, Ö., 2013, Evaluation of Pathogenic *Escherichia coli* Occurrence in Vegetable Samples from District Bazaars of İstanbul Using Real Time PCR. Letters in Applied Microbiology, 57 (4): 362-7.

Öztürk, M., 2003, İstanbul'da dolum sonrası kaynak sularının mikrobiyolojik incelenmesi. Doktora Tezi, İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.

Palit, A., Batabyal, P., Kanungo, S., Sur, D., 2012, In-house contamination of potable water in urban slum of Kolkata, India: a possible transmission route of diarrhea. *Water Sci Technol*, 66 (2): 299-303.

Pavlovic, M., Huber, I., Konrad, R., Busch, U., 2013, Application of MALDI-TOF MS for the Identification of Food Borne Bacteria. *Open Microbiol J*, 7: 135-41.

Peker, İ., Çiloğlu, F., Öz, V., Birbir, M., 1988, Drinking water analyses of Kadıköy district in İstanbul. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 55 (2); 113-120.

Prats, J., Garcia-Armisen, T., Larrea, J., Servais, P., 2008, Comparison of culture-based methods to enumerate *Escherichia coli* in tropical and temperate freshwaters. *Lett Appl Microbiol*, 46 (2): 243-8.

Reynolds, KA., Mena, KD., Gerba, CP., 2008, Risk of waterborne illness via drinking water in the United States. *Rev Environ Contam Toxicol*, 192: 117-58.

Rodríguez-Sánchez, B., Marín, M., Sánchez-Carrillo, C., Cercenado, E., Ruiz, A., Rodríguez-Crèixems, M., Bouza, E., 2014, Improvement of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry identification of difficult-to-identify bacteria and its impact in the workflow of a clinical microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis*, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.01.021 [Epub ahead of print].

Rompré, A., Servais, P., Baudart, J., de-Roubin, MR., Laurent, P., 2002, Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *J Microbiol Methods*, 49 (1): 31-54.

Sarı, S. : İçme Suyu Sektör Profili Raporu, İstanbul Ticaret Odası Etüt ve Araştırma Şubesi (<http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-44.pdf>) (Erişim tarihi: Mayıs 2004).

Schets, FM., Nobel, PJ., Strating, S., Mooijman, KA., Engels, GB., Brouwer, A., 2002, EU Drinking Water Directive reference methods for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* compared with alternative methods. *Lett Appl Microbiol*, 34 (3): 227-31.

Šedo, O., Vávrová, A., Vad'urová, M., Tvrzová, L., Zdráhal, Z., 2013, The influence of growth conditions on strain differentiation within the *Lactobacillus acidophilus* group using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry profiling. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 27 (24): 2729-36.

Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, PE., Rolain, JM., Raoult, D., 2009, Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis*, 49 (4): 543-51.

Sogawa, K., Watanabe, M., Nomura, F., 2013, Rapid identification of microorganisms using MALDI-TOF mass spectrometry. *Rinsho Byori*, 61 (1): 44-51.

Stauber, C., Miller, C., Cantrell, B., Kroell, K., 2014, Evaluation of the compartment bag test for the detection of *Escherichia coli* in water. *J Microbiol Methods*, 99: 66-70.

Süphandağ, ŞA., Uyguner, CS., Bekbölet, M., 2007, İstanbul'da tüketilen ticari ve şebeke bazlı içme sularının kimyasal ve spektroskopik profilleri. *itüdergisi/e su kirlenmesi kontrolü*, 17 (2); 23-35.

Şeker, S., Er, B., Yentür, G., Uraz, G., Yılmaz, E., 2006, Ankara bölgesinden sağlanan içme sularında *E. coli* ve koliform bakterilerin araştırılması. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Bildiri Kitabı, İstanbul, Türkiye, pp. 436-441.

Toroğlu, E., 2006, Aksu Çayı' nda (Kahramanmaraş) Akarsu Kirliliği. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 4 (1): 93-103.

Tosun, M., 2005, İçme ve Maden Suyu sektör Araştırması. Türkiye kalkınma Bankası A.Ş, Araştırma Müdürlüğü Şubat 2005, Ankara.

TS 266. Sular: İnsani Tüketim Amaçlı Sular. Nisan 2005, Türk Standartları Enstitüsü-TSE Ankara, Türkiye.

Valente, MS., Pedro, P., Alonso, MC., Borrego, JJ., Dionísio, L., 2010, Are the defined substrate-based methods adequate to determine the microbiological quality of natural recreational waters?. J Water Health, 8 (1): 11-9.

Van den Boom, D., Wjst, M., Everts, RE., 2013, MALDI-TOF mass spectrometry. Methods Mol Biol, 1015: 71-85.

Van Poucke, SO., Nelis, HJ., 2000, Rapid detection of fluorescent and chemiluminescent total coliforms and Escherichia coli on membrane filters. J Microbiol Methods, 42 (3): 233-44.

WHO, 2003 Emerging Issues in Water and Infectious Diseases, p13.

WHO-E ENHIS., 2009, Outbreaks of waterborne disease. Fact Sheet 1.1 Code: RPG1_WatSan_E1.

WHO/HSE/WSH., 2012, Global costs and benefits of drinking-water supply and sanitation interventions to reach the MDG target and universal coverage (Erişim: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75140/1/WHO_HSE_WSH_12.01_eng.pdf?ua=1)

WSSD., 2002, World Summit on Sustainable Development, Implementation Report, Johannesburg, 26 Ağustos – 3 Eylül 2002. Güney Afrika, www.johannesburgsummit.org.

Wjst, M., van den Boom, D., 2005, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. Methods Mol Biol, 311: 125-37.

WWF Fresh Water Programme. Rich Countries & Poor Water,(Erişim: http://awsassets.panda.org/downloads/rich_countries_poor_water_final_170706.pdf)

Yalçın, S., Tekinşen, O.C., Nizamliođlu, M., 1988, Konya il merkezindeki içme ve kullanma sularının hijyenik kalitesi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 4 (1); 83-89.

7. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ezzat Ameer RIFAAT
Doğum Yeri ve Tarihi : Erbil – IRAK; 11.04.1982
Adresi : İskan Mahallesi Erbil - IRAK
e-Posta : izzetamir@yahoo.com

EĞİTİM DURUMU

Lisans : Selahettin Üniversitesi Ziraat fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü; 2005, Erbil - IRAK
Yüksek Lisans : İstanbul Aydın Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul - TÜRKİYE
Lise : Özel Erbil Işık Koleji Erbil - IRAK

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce, Arapça, Türkçe ve Kürtçe

BİLGİSAYAR BECERİSİ

Microsoft Office Programları

HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN İÇME ve KULLANMA SULARININ KOLİFORM ve FEKAL KOLİFORM KONTAMİNASYONUNUN KLASİK ve MASS SPEKTROMETRE YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, İstanbul ili ve çevresinden içme amaçlı cam ve plastik şişe suları (n=26), içme amaçlı damacana sebil suları (n=9), kullanım amaçlı şehir şebeke çeşme suları (n=41), depo suları (n=12) ve kuyu suları (n=8) olmak üzere toplam 96 adet su örnekleri toplandı. Su örnekleri toplam koliform grup bakterileri (TKGB), fekal koliform grup bakterileri (FKGB) ve *E. coli* (EC) varlığı bakımından En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemiyle incelendi. İnceleme sonunda *E. coli* pozitif örneklerden alınan kolonilerin Kütle Spektrometrisi (MASS SPEKTROMETRE) ile doğrulaması yapıldı. Klasik yöntemle yapılan incelemede cam, plastik ve damacana sularında TKGB, FKGB ve EC varlığına rastlanmazken; 41 adet çeşme su örneğinin 14'ünde, 8 adet depo su örneğinin 5'inde ve 8 adet kuyu su örneğinin 4'ünde TKGB, FKGB ve EC bulundu. EC pozitif su örneklerinden alınan tipik kolonilerin MASS SPEKTROMETRE (MALDI-TOF-MS) kullanılarak doğrulaması yapıldı. Doğrulama sonucunda; 1 koloni tanımlanamazken, 1 koloni % 50 EC ve % 50 *P. qureauogenicus* ve 1 koloni % 99,9 *Enterobacter asburiae* olarak karakterize edildi. Kalan 9 koloni ise genus seviyesinde EC olarak doğrulandı.

Sonuç olarak; bu çalışmada içme amaçlı cam, plastik ve damacana sebil sularında koliform ve fekal koliform bakteriler ile *E. coli* tespit edilmemesine rağmen; çeşme suları, depo suları ve kuyu sularında fekal bulaşmaya işaret eden koliform bakteriler, fekal koliform bakteriler ve *E. Coli* varlığına rastlandı. İnsan sağlığı bakımından özellikle *E. Coli*'nin bulaştığı su kaynaklarının tüketimi yolu ile Türkiye'de artan diyaliz hasta sayısı arasındaki ilişki dikkat alınmalıdır. Ayrıca bu çalışmada *E. coli*'nin hızlı tespiti için Kütle Spektrometrisi (MASS SPEKTROMETRE) kullanıldı. Ülkemizde de bu yöntemin gıda güvenliği ve halk sağlığını korumaya dönük araştırmalarda yaygınlaşarak kullanımının geliştirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Su, Koliform, *E. coli*, En Muhtemel Sayı, MALDI-TOF-MS, Halk Sağlığı.

INVESTIGATION of COLIFORM and FEACAL COLIFORM BACTERIA CONTAMINATION in POTABLE AND GENERAL-PURPOSE WATERS USING TRADITIONAL and MASS SPECTROMETER METHODS for PUBLIC HEALTH

ABSTRACT

In this study, glass and plastic bottled water samples (n=26), water samples from drinking dispensers (n=9), tap water samples (n=41), water samples from wells (n=8), and water samples from storage tanks (n=12), which make a total of 96 water samples were collected from the different districts of Istanbul. The occurrences of total coliform bacteria (TCGB), fecal coliform bacteria (FCGB) and *E. coli* (EC) in the water samples were initially examined using the method of Most Probable Number (MPN). Subsequently, the colonies from EC positive water samples were further subjected to MASS SPECTROMETER analysis for confirmation and characterization. TCGB, FCGB, and EC were not found in the glass and plastic bottled water samples and those from drinking dispensers whereas 14 of tap water samples, 13 of storage water samples, and 12 of well water samples were contaminated with TCGB, FCGB, and EC, respectively. Following that, MASS SPECTROMETER (MALDI-TOF-MS) analysis was applied for the characterization of the colonies from EC positive water samples, resulting in that 1 colony could not be identified, 1 colony read as 50 % EC ve 50 % *P. qureuogenious*, and 1 colony identified as % 99,9 *Enterobacter asburiae* whereas 9 colonies were confirmed as EC at the genus level.

In conclusion, the water samples for drinking purpose did not include any total coliform bacteria, fecal coliform bacteria and *E. coli* whereas general purpose waters such as tap, storage and well ones were contaminated with them. Evidently, as a public health concern the correlation between increasing incidence of the kidney diseases in Turkey and consumption of *E. coli* contaminated waters should be absolutely considered in this manner. In addition, MASS SPECTROMETER (MALDI-TOF-MS) was also used for fast identification of *E. coli*. The extensive use of this method in Turkey should be promoted for further food safety studies and Public health protection.

Keywords: Water, Coliform, *E. coli*, Most Probable Number, MALDI-TOF-MS, Public Health.