

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ADLİ BİLİMLER ANA BİLİM DALI
ADLİ BİLİMLER



***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE *ESCHERİCHİA COLİ* BESİN
ZEHİRLENMESİ MODELLERİNDE ZAMANA BAĞLI
HİSTOLOJİK ETKİLER İLE NİTRİK OKSİT VE TOTAL
ANTİOKSİDAN KAPASİTE SEVİYELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Sare ULUBAY

Danışman

Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.SBF.1904.22.004 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır

27 /07/ 2023
Sare ULUBAY

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE *ESCHERİCHİA COLİ* BESİN ZEHİRLENMESİ MODELLERİNDE ZAMANA BAĞLI HİSTOLOJİK ETKİLER İLE NİTRİK OKSİT VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 27.07.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 22

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

27/07/ 2023
Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

ÖZET

STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE *ESCHERİCHİA COLİ* BESİN ZEHİRLENMESİ MODELLERİNDE ZAMANA BAĞLI HİSTOLOJİK ETKİLER İLE NİTRİK OKSİT VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Sare ULUBAY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Adli Bilimler Ana Bilim Dalı

Adli Bilimler

Yüksek Lisans, Eylül/2023

Danışman: Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

S. aureus ve *E. coli*'nin sebep olduğu besin zehirlenmeleri sonucunda gastrointestinal rahatsızlıklar, ateş, nörolojik bulguların yanısıra bazı vakalarda ölüm de görülebilmektedir.

Çalışmada *E.coli* O157:H7 ve *S. aureus*'un oral yolla alımından sonra rat dokuları üzerindeki olası histopatolojik etkileri ile total antioksidan kapasite ve nitrik oksit düzeylerini değerlendirmek amacıyla toplam 25 adet rat; Kontrol, EC1, EC2, SA1 ve SA2 grupları olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Hazırlanan *E. coli* süspansiyonu 10^9 cfu/ml ve *S. aureus* süspansiyonu 2×10^8 cfu/ml olarak ratlara gaval yoluyla verilmiştir. EA1 ve SA1 gruplarındaki ratlar uygulamadan 12 saat sonra ve EA2 ve SA2 gruplarındaki ratlar ise 24 saat sonra genel anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Elde edilen serum örneklerinden nitrik oksit (NO) ve total antioksidan kapasite (TAK) seviyelerinin belirlenmesi için ELİSA tekniği kullanılmıştır. Histopatolojik inceleme sonucu karaciğerde infiltrasyon açısından kontrol grubu ile tüm enfeksiyon grupları arasında anlamlı fark saptanırken ($p < 0,05$), sinuzoidlerde genişleme ve vakuolizasyon açısından sadece EC2 ve SA2 grupları ile kontrol arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bağırsakta infiltrasyon, goblet hücre sayısı, villus epiteli hasarı açısından tüm gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmış ancak sadece SA1 grubunda goblet hücre sayısındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). TAK ve NO seviyeleri açısından kontrol ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da, artışlar olduğu görülmüştür ($p > 0,05$).

Tüm bu sonuçların besin zehirlenmelerinde tanı için ek bilgi oluşturacağı kanısındayız. Ayrıca zehirlenme sonrası 12 ve 24. saatte histopatolojik hasar tespit edilmesi ile TAK ve NO seviyelerindeki artışlar kısa sürede tedavinin planlanması açısından oldukça önemlidir.

Anahtar Sözcükler: Besin zehirlenmesi, *S. aureus*, *E. coli*, Histoloji

ABSTRACT

DETERMINATION OF NITRIC OXIDE AND TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY LEVELS WITH TIME-DEPENDABLE HISTOLOGICAL EFFECTS IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *ESCHERICHIA COLI* FOOD POISONING MODELS

Sare Ulubay

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Forensic Sciences Programme

Master, September/2023

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

As a result of food poisoning caused by *E. coli* and *S. aureus*, gastrointestinal disorders, fever, and neurological findings can be seen, as well as death in some cases.

In the study, a total of 25 rats were divided into 5 groups as Control, EC1, EC2, SA1 and SA2 groups to evaluate the possible histopathological effects on rat tissues with total antioxidant capacity (TAC) and nitric oxide (NO) levels after oral ingestion of bacteria. The prepared *E. coli* suspension was given 10^9 cfu/ml and the *S. aureus* was 2×10^8 cfu/ml to the rats by gavage. The rats in the EA1 and SA1 groups were sacrificed 12 hours after of the application, and the rats in the EA2 and SA2 groups 24 hours later under general anesthesia. ELISA technique was used to determine nitric oxide and total antioxidant levels from serum samples. In the histopathological examination, there was a significant difference between the control and all infection groups in terms of liver infiltration ($p < 0.05$), while there was a significant difference between the EC2 and SA2 with the control in terms of enlargement in the sinusoids and vacuolization ($p < 0,05$). There was a significant difference between all groups and the control group in terms of intestinal infiltration, goblet cells, and epithelial damage ($p < 0,05$), but the increase in the number of goblet cells was not statistically significant only in the SA1. Although there was no statistically significant difference between the control and other groups in terms of TAC and NO levels, there were increases.

We believe that all these results will provide additional information for the diagnosis of food poisoning. In addition, detection of histopathological damage at 12 and 24 hours after poisoning and increases in TAC and NO levels are very important in terms of planning the treatment in a short time.

Keywords: Food poisoning, *S. aureus*, *E. coli*, Histology

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez yazım sürecim boyunca öncelikle maddi manevi desteğini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum değerli danışmanım Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT'e teşekkürlerimi sunuyorum. Bu süreçte her zaman özel ilgisiyle maddi manevi yanımda duran, histoloji laboratuvar çalışmalarım için desteğini aldığım sayın hocam OMÜ Fen Edebiyat Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Banu EREN'e, sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Çalışma sürecim boyunca yardımları ile bana kolaylık sağlayan çalışma arkadaşım Enes Furkan ARSLAN'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu zorlu ve uzun süreçte yine yoğun desteklerini aldığım canım eşim Ufuk ULUBAY ile oğlum Onur'a, canım annem Sevinç Solmaz, ablam Şeyda Solmaz'a sonsuz teşekkürler.

Çalışmanın deney hayvanları kısmı için DEHAM birimine ve Histoloji kısmı için Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminde PYO.SBF.1904.22.004 nolu proje ile desteklenmiştir. Verdikleri desteklerden dolayı kurum çalışanlarına da teşekkürlerimi sunarım.

Sare ULUBAY

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLOLAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. BESİN ZEHİRLENMELERİ	4
2.1. Bakteriyal Besin Zehirlenmeleri	4
2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Genel Özellikleri	4
2.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> Enfeksiyonu	7
2.1.3. <i>Escherichia coli</i> 'nin Genel Özellikleri	8
2.1.4. <i>Escherichia coli</i> Enfeksiyonu	9
2.2. Antioksidan Savunma Sistemi ve Oksidatif Stres	11
2.2.1. Nitrik Oksit	13
2.2.2. Total Antioksidan Kapasite	13
2.3. Besin Zehirlenmelerinin Adli Açıdan Değerlendirilmesi	15
2.4. Ölüm Sonrası Histolojik Değerlendirme ve Histopatoloji	16
3. MATERYAL ve METOD	18
3.1. Mikrobiyolojik Etkenlerin Elde Edilmesi	18
3.2. Hayvan Gruplarının Oluşturulması ve Etken Bakterilerin Verilmesi	18
3.3. Deneyin Sonlandırılması ve Serum Örneklerinin Elde Edilmesi	19
3.3.1. Total Antioksidan Kapasite ve Nitrik Oksit Seviyelerinin belirlenmesi	20
3.3.2. Histopatolojik işlemler	22
3.3.2.1. Parafin Doku Bloklarının Hazırlanması	22
3.3.2.2. Doku Kesitlerinin Alınması ve Histokimyasal Boyanması	23
3.3.2.3. Kesitlerin Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi	24
3.4. İstatistiksel Analizler	25
4. BULGULAR	26
4.1 Morfolojik Bulgular	26
4.1.1. Karaciğer Doku Kesitlerine Ait H-E Boyama Sonuçları	26
4.1.2. Bağırsak Doku Kesitlerine Ait H-E Boyama Sonuçları	31
4.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları	35
4.2.1. Histolojik Verilerin Analizi	35
4.2.1.1. Verilerin Kruskal Wallis Test Sonuçlarına Göre Değerlendirilmesi	35
4.2.1.2. Karaciğer Dokusuna Ait Hasar Sonuçlarının Mann-Whitney Test Sonuçlarına Göre Değerlendirilmesi	36
4.2.1.3. Bağırsak Dokusuna Ait Hasar Sonuçlarının Mann-Whitney Test Sonuçlarına Göre Değerlendirilmesi	38
4.2.2. Total Antioksidan Kapasite ve Nitrik Oksit Verilerinin İstatistiksel Analizi ..	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	43
KAYNAKÇA	49
EKLER	54
Ek 1. Etik Kurul Kararı	54
Ek 2 Gıda Zehirlenmeleri Vaka Bildirim Fişi.....	55
Ek 3. TCK Madde 186	56
ÖZGEÇMİŞ.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

EC	: <i>Escherichia coli</i>
HE	: Hematoksilen Eozin
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NO	: Nitrik Oksit
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SA	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SE	: Stafilokokkal Enterotoksin
SEA	: Stafilokokkal Enterotoksin A
SED	: Stafilokokkal Enterotoksin D
TAK	: Total Antioksidan Kapasite

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>E. coli</i> bulaş yolları	10
Şekil 3.1. Deney gruplarının oluşturulması	19
Şekil 3.2. Deneyin sonlandırılması ve kan örneklerinin alınması.....	20
Şekil 3.3. ELİSA işleminde kuyucuklara chromogen A ve Chromogen B solüsyonu eklendikten sonra oluşan renk değişimi.....	21
Şekil 3.4. ELİSA işleminde kuyucuklara stop solüsyonunun eklenmesi sonucu sarı renk oluşumu	22
Şekil 3.5. Doku takibi ve parafine gömülen dokulara ait görüntüler	23
Şekil 3.6. Hematoksilen-eozin boyama	24
Şekil 3.7. Lamel ile kapatılarak ışık mikroskopik inceleme için hazırlanmış doku preparatı örnekleri	24
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait karaciğer görüntüleri	26
Şekil 4.2. EC1 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri	27
Şekil 4.3. EC2 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri	28
Şekil 4.4. SA1 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri	29
Şekil 4.5. SA2 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri	30
Şekil 4.6. Kontrol grubuna ait bağırsak kesit görüntüleri.	31
Şekil 4.7. EC1 grubuna ait bağırsak kesit görüntüleri.	32
Şekil 4.8. EC2 grubuna ait bağırsak kesit görüntüleri.	33
Şekil 4.9. SA1 grubuna ait bağırsak kesit görüntüleri.	34
Şekil 4.10. SA2 grubuna ait bağırsak kesit görüntüleri.	34
Şekil 4.11. Grupların TAK seviyelerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.12. Grupların NO değerlerinin kıyaslanması	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>S. aureus</i> için tanımlayıcı özellikler .	5
Tablo 2.2. <i>S. aureus</i> 'un büyümesini ve enterotoksin üretimini etkileyen faktörler	6
Tablo 2.3. Antioksidan tipleri	14
Tablo 4.1. Deney gruplarının karaciğer dokusuna ait hasar skorları .	35
Tablo 4.2. Deney gruplarının bağırsak dokusuna ait hasar skorları	35
Tablo 4.3. Karaciğer ve bağırsak doku hasarı için grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis test sonuçları	36
Tablo 4.4. Kontrol grubu ile EC1 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları	37
Tablo 4.5. Kontrol grubu ile EC2 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları	37
Tablo 4.6. Kontrol grubu ile SA1 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları .	38
Tablo 4.7. Kontrol grubu ile SA2 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları	38
Tablo 4.8. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile EC1 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları.....	39
Tablo 4.9. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile EC2 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları.....	40
Tablo 4.10. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile SA1 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları.....	40
Tablo 4.11. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile SA2 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları.....	40
Tablo 4.12. Grupların TAK ve NO açısından karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları.....	41
Tablo 4.13. Grupların ortalama Total Antioksidan Kapasite (TAK) değerleri.....	41
Tablo 4.14. Grupların ortalama Nitrik Oksit (NO) değerleri	42

1. GİRİŞ

Besin zehirlenmelerine sebep olan çok sayıda etken bulunmakta olup mikrobiyal etkenler bunlardan biridir. Gıda maddelerinde mikroorganizmaların keşfi tam olarak bilinmemekte, ancak gıda üretimi 8-10 bin yıl önceye dayanmakta olduğundan gıdaların bozulması ve zehirlenmeler bu döneme rastlamaktadır.

Günümüzde 200'den fazla hastalık gıda aracılığıyla bulaşmakta, bunlardan en eskisi M.S. 943 yılında Fransa'da kaydedilmiştir. *Claviceps purpurea* (mantar) ile enfekte olan çavdarların tüketilmesiyle 40.000 kişinin öldüğü belirlenmiş, sonraki yıllarda mikroorganizma patojenlerinin insan sağlığı için önemli bir tehdit olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu zehirlenmeler sosyo-ekonomik durum, kültürel yapı ve besleme farklılığına göre değişiklik göstermektedir (Çakan ve Sinekbasan, 2020).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre; gıda kaynaklı hastalıklar, 'zehirli maddelerin sebep olduğu veya doğrudan besin ya da sudan kaynaklanan herhangi bir enfeksiyon ya da hastalık' olarak tanımlanmaktadır.

Besin zehirlenmesi sebeplerinin başında; gıda çeşidindeki artış ve uzun gıda zinciri, mikroorganizma virulansının ve patojenlerinin zamanla değişmesi, yeni gıda ürünleri ve yeni üretim süreçleri, katkı maddelerinin kullanımının artması, yoksulluğun artışı ve beslenme alışkanlıklarındaki farklılıklar, yem ticaretinin artışı gibi çeşitli faktörler yer alır.

Salgına sebep olan patojenlerin tespiti önemli bir adımdır. Çünkü adli olgu grubuna giren vakaların çözümlenebilmesi, salgınların kontrol altına alınması ve tedaviye hızla başlanabilmesi gerekmektedir. Tespit için, hasta ve kontrol gruplarından ve yenilen gıdalardan, kullanılan ekipmanlardan örnekler alınıp incelenmelidir (Çakan ve Sinekbasan, 2020).

Escherichia coli, gram negatif, kısa çomak şekilli, fakültatif anaerofilik bakteri olup, sıcakkanlı hayvanların ve insanların doğal bağırsak florasında bulunan bir bakteridir. bazı suşları peritrik flagelları ile hareketlidir. Ciddi hastalıklara neden olması ve enfeksiyon için çok düşük bir dozun yeterli olması nedeniyle gıda kaynaklı patojenler arasında önemli bir yeri vardır (Gordillo et al., 2011).

Staphylococcal gıda zehirlenmeleri ise enterotoksijenik stafilokok türlerinin gıdalarda üremeleri sırasında sentezledikleri, gastrointestinal sistem üzerine etkili olan enterotoksinlerin meydana getirdiği gıda kaynaklı intoksikasyonlardır. Patojen özellikteki cinsin en önemli üyesi olan *S. aureus*'un, optimum üreme sıcaklığı 37 °C, toksin oluşturabilme optimum aralığı ise 40-45 °C olarak tespit edilmiştir. *S. aureus*'un pek çok toksini bulunmakla birlikte özellikle Staphylococcal Enterotoksin A gıda zehirlenmelerinde oldukça sık karşılaşılan türdür (Günday, 2017).

Stafilokokal gıda zehirlenmesi kontamine besinlerin sebep olduğu zehirlenmelerin %14-20'sini oluşturur, bu oranla akut besin zehirlenmelerinin ikincisi olmaktadır. Amerika'da rapor edilmeyen besin zehirlenmelerinde 185.000 kişinin *S. aureus*'dan etkilendiği tahmin edilmektedir (Jones et al., 2002). DSÖ'ye göre 1993-1998 yılları arasında 42 ülkeyi dahil olduğu araştırmada 23.538 gıda zehirlenmesi vakasından *Salmonella* %77 ile en başta gelen etken olarak yer almakta, *Staphylococcus aureus* ise ikinci patojen olarak belirlenmiştir.

Literatürde besin zehirlenmesi etkeni olan bakterilerin farklı toksinlerinin oluşturduğu enfeksiyonları incelemek için çeşitli hayvan modelleri kullanıldığı çalışmalar gösterilmiştir (Rajkovic et al., 2020). Vaka ve deneysel çalışmaları kapsayan çeşitli araştırmalarda bakteriyel besin zehirlenmelerinde histolojik değerlendirmeler yapılmış ve bakteriyel etkenler tespit edilmiştir (Laganà et al., 2017; Yamaguchi et al., 2015; Ogata et al., 2009; Caserta et al., 2011). Otopsi çalışmalarında *Salmonella*'nın neden olduğu endokardit, enterit vakalarının histolojik değerlendirmesi mevcuttur. *S. aureus*'un tavşan bağırsağı üzerinde, *E.coli*'nin ise fare böbreğindeki etkileri incelenmiştir. Ancak *Staphylococcus aureus* ve *E. coli*'ye bağlı besin zehirlenmeleriyle ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır (Ezurike et al., 2007; Mohawk et al., 2010; Ali ve diğ., 2018; Hamza ve diğ., 2020).

Adli vaka olarak değerlendirilen bakteriyel gıda zehirlenmeleri sonucunda gastrointestinal rahatsızlıklar, ateş, nörolojik bulguların yanısıra bazı vakalarda ölüm de görülebilmektedir. Bu amaçla zamana bağlı olarak histolojik hasarın bilinmesi ve değerlendirmeye alacağımız nitrik oksit ve total antioksidan kapasite (TAK) ölçümlerinin bu hasarlarla olan bağlantısının zehirlenme vakalarında tedavinin kısa sürede planlanması için etkili olacağını düşünmekteyiz. Nitrik oksit seviyesi oksidatif stres belirteci olarak, total antioksidan kapasite (TAK) ise oksidatif stres ile mücadele eden antioksidan savunma sisteminin göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Nitrik oksit, dokuda hasara yol açan başlıca serbest radikal olan peroksinitritin üretimini artırmaktadır.

Buradan yola çıkarak yapacağımız araştırma ile *E. coli O157:H7* ve *Staphylococcus aureus* kaynaklı besin zehirlenmeleri sonucu oluşabilecek doku hasarı ile total antioksidan kapasite ve nitrik oksit seviyelerini iki farklı zaman dilimi için kıyaslayarak, bu konuda yapılan çalışmalara katkı sağlamak ve ölümlere sebep olabilen bakteriyal etkenlerin önemini vurgulamayı amaçlamaktayız.

Hipotezler;

H0: *S. aureus* ve *E. coli O157:H7* ile oluşturulan besin zehirlenmesi, sıçanlarda karaciğer ve bağırsak doku histolojisini olumsuz yönde etkiler.

H1: *S. aureus* ve *E. coli O157:H7* ile oluşturulan besin zehirlenmesi, sıçanlarda serum total antioksidan kapasite ve nitrik oksit seviyelerini değiştirir.

2. BESİN ZEHİRLENMELERİ

2.1 Bakteriyal Besin Zehirlenmeleri

Besin zehirlenmesi “herhangi bir katı ya da sıvı gıdanın tüketilmesinin ardından ortaya çıkan enfeksiyon veya intoksikasyon oluşumu” olarak tanımlanabilir. Genellikle sindirim ve sinir sisteminde belirtilere yol açar. İntoksikasyonda ise gıda ile taşınan mikroorganizmanın salgıladığı toksin insanı etkilemektedir. Burada önemli olan bakterilerin oluşturduğu toksinleri içeren gıdanın yutulmasıdır yani canlı mikroorganizmanın tüketilmesi gerekmemektedir. Mikrobiyal patojenlerde baş sırayı koruyan bakteriyal etkenler arasında gıda intoksikasyonuna sebep olanların en önemlileri *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp.*, *Salmonella spp.*, patojenik olan *E. coli*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica* gibi mikroorganizmalardır. Bunların neden olduğu gıda zehirlenmeleri sonucunda gastrointestinal rahatsızlıklar, ateş, nörolojik bulguların yanı sıra bazı vakalarda ölüm de görülebilmektedir (Çakan ve Sinekbasan, 2020).

Bakteriyel toksinler protein içerikli büyük moleküllerdir. Genel olarak endotoksin ve ekzotoksin olarak ayrılırlar. Endotoksinler (lipopolisakkaritler); gram negatif bakterinin dış membranındaki önemli bileşikler olan antijenlerdir. Lizis ve hücre yıkımı gibi önemli olaylarda ortama salınırlar. Doku hasarı ve toksik şoka neden olabilirler. Endotoksin lipit A, çekirdek ve O zinciri kısmı olmak üzere üç bölümden oluşur. Ekzotoksinler ise yine protein orjinli makromoleküllerdir ve mikroorganizma tarafından ortama salınırlar. Ekzotoksinler hareket mekanizmasına bağlı olarak Tip I, Tip II ve Tip III toksinler olarak ayrılırlar; Tip I toksinler, konakçı hücrelerini değiştirir, *S. aureus* tarafından üretilen süperantijenler buna örnektir. Tip III toksinler ise hücre reseptörüne bağlanarak enzimatik aktivite ile hücre hasarı oluştururlar, *E. coli O157 H7* tarafından üretilen Shiga toksin buna örnektir (Hernandes Cortes et al., 2017: 34).

2.1.1. *Staphylococcus aureus*’un Genel Özellikleri

İlk kez 1882’de Sir Alexander Ogston tarafından mikroskop incelemelerinde üzüm salkımı görüntüsü ile keşfedilmiş ve bu anlama gelen *Staphylococcus* ismiyle adlandırılmıştır. İlerleyen zamanda Rosenbach tarafında bakterinin altın sarısı rengi sebebiyle *Staphylococcus aureus* olarak adlandırmıştır. *S. Aureus*, katalaz ve

koagülaz pozitif, hareketsiz, , gram pozitif, fakültatif anaerobik bir bakteridir (Tutuş ve ark., 2015).

S. aureus koloni morfolojisine bakıldığında sarı-portakal renkte, düzgün, hafif kabarık görünümündedir ve çoğunlukla kanlı agarda beta hemoliz oluşturur. Stafilocoklar gram pozitif ve sporsuz olup jelatini eritir ve nitrati nitrit ve amonyağa dönüştürürler. *S. aureus* suşları koagülaz pozitif özellik göstermektedir. Koagülaz testi *S.aureus*'un geleneksel bir ayırıcı olarak kullanılmakta olup bakteri bu enzim sayesinde, kendine özgü bir pıhtı oluşturur. Bu sayede konakçının immün savunmasından ve fagositik etkilerinden korunma özelliği gösterir. Ayrıca *S. aureus* suşlarının tümü lipaz enzimi üretirler. Lipaz, yağları hidrolize ederek stafilocokların vücut içerisindeki yağlı bölgelerde yaşamasına olanak sağlar. Stafilocoklar, bu enzim sayesinde, fronkül ve karbonkül gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır (Bilgehan, 2002; Washington et al., 2006).

S. aureus'un sahip olduğu termonükleaz enzimi ise yüksek derecedeki ısıya dayanıklılığı nedeniyle ısıl işlemleri uygulanan gıda maddelerinde karşımıza çıkar ve DNA, RNA'yı parçalama özelliği gösterir. Bu enzim *S. aureus*'ların tanımlanmasında doğrulayıcıdır (Gemmell and Lang, 2002).

Tablo 2.1. *S. aureus* için tanımlayıcı özellikler (Günday, 2017)

	Maltoz	Sükroz	N-	Acefilolisinemi	Rafinoz	Kümeleşme	faL-tri	Staphylokoagüla	7	Gelişim	Koloni	büyükluğu	Hemoliz	Katalaz	Termonükleaz	Modifiye	oksidaz	üreeaz
<i>S. aureus</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	Anaerobik /aerobik	> 6mm	+	+	+	+	-	Düşük	

S. aureus'ların % 90'dan fazlası hiyalüronidaz enzimi üretir. Bu enzim sayesinde *S. aureus*'un dokulara yayılımı kolaylaşır. Bağ dokusunun aselüler matriksindeki asit mukopolisakkaridler olan hiyaluronik asidi hidrolize eden enzimlerdir (Akan ve diğ., 2013).

Oksijen tercihlerine göre fakültatifler ancak aerobik ortamda daha iyi gelişim gösterirler. Gelişmeleri için gereken PH değerleri anaerobik ve aerobik ortamda değişiklik göstermekte, aerobik ortamda minimum PH 4.8 iken anaerobik ortamda bu değer 5.5 düzeylerindedir. %15-20 NACI %50-60 sakkaroz içeren ortamlarda bile

üreyebildikleri bildirilmiştir. Ayrıca stafilokokların fermentatif özellik göstermekte olduğu ancak gıdalarda herhangi bir kötü koku veya görüntü oluşturmadıkları gözlenmiştir (Sert, 2010).

Tablo 2.2. *S. aureus* büyümesini ve enterotoksin üretimini etkileyen faktörler (Tatini, 1993)

FAKTÖR	Organizmanın büyümesi		Staphylococcal enterotoksin üretimi	
	Optimum	Aralık	Optimum	Aralık
Sıcaklık	37	7-48	37-45	40-45
PH	6-7	4-10	7-8	4-9.5
Su aktivitesi	0.98	0.83—0.99	0.98	0.85-0.99
NaCl (%)	0	0-20	0	0-10
Redoks*	potansiyeli	<-200 mV	>+200mV	<-100mV
>+200mV		>+200mV		>+200mV
Ortam		Anaerobik-aerobik	Aerobik	Anaerobik-aerobik

S. aureus'un 6 farklı toksin tipi ürettiği bilinmektedir ancak bunlardan en sık gıda zehirlenmesi oluşturanı Tip A'dır. Stafilokoklardan salınan toksin sindirim sistemine etki ettiği için enterotoksin ismini almıştır (Sert, 2010).

Stafilokokkal toksinler çok sayıda enzim ve sitokin üretirler. Salgılanan bu enzim ve sitokinler [hemolizinler (alfa, beta, gamma, delta)], nükleazlar, proteazlar, lipazlar, hiyaluronidaz ve kollagenaz bulundurmaktadır. Bu proteinler konakçı üzerindeki dokuları, bakterinin gelişimine uygun hale getirmektedirler (Dinges et al., 2000).

Stafilokokkal enterotoksinlerin (SEs) çoğu tek zincirli basit proteinlerden oluşur. Hidroliz yoluyla 18 aminoasit üretmekte ve lizin, aspartik asit, glutamik asit ile tirozin içerirler. Molekül ağırlığı 28000–35000 Da arasındadır ve su ile tuzlu solüsyonlarda çözünebilirler. pH<2'de insan bağırsak sistemindeki enzimlere karşı direnç geliştirmişlerdir. SEs'lerin 100°C'de 1 saat aktif kalabildikleri bilinmektedir. Böyle bir termal dayanıklılığı toksinin saflığı, serolojik tipi, toksin miktarı, ısı işlemi uygulanan ortam ve pH değeri gibi kriterler etkiler. Besinlerdeki enterotoksinlerin pişirme, pastörizasyon gibi uygulamalarla tamamen inaktive edilemedikleri gösterilmiştir (Erol, 2004). Enterotoksin-A, kusmanın belirgin olduğu bir besin zehirlenmesi tablosuna yol açar. Merkezi sinir sistemi irritasyonuna sebep olmaktadır. Enterotoksin-B stafilokoksik enterokolite yol açar. Enterotoksin-C ve Enterotoksin-D süt ürünleriyle ilgili zehirlenmelerde öne çıkmaktadır (Dinges et al., 2000).

2.1.2. *Staphylococcus aureus* Enfeksiyonu

Staphylococcus aureus ortak bir bakteridir ancak bunun yanında önemli insan patojenidir. *S. aureus* özellikle nişasta ile protein bakımından zengin gıdalarda bulunurlar. Bu besinler arasında et/süt ürünleri, patates ve balık örnek gösterilebilir (Tükel ve Doğan, 2000).

Stafilokokkal gıda zehirlenmeleri gastrointestinal sistem üzerine etkili olan enterotoksinlerin meydana getirdiği gıda kaynaklı intoksikasyonlardır. Bu toksinler enterotoksijenik stafilokok türlerinin gıdalarda üremeleri sırasında sentezlenirler. Stafilokoklar arasında patojenitesi açısından en önemli üyesi olan *S. aureus*'un, optimum üreme sıcaklığı 37 °C, toksin oluşturabilme optimum aralığı ise 40-45 °C olarak belirlenmiştir. Ancak bazı türler 60 °C sıcaklığa 30 dk dayanabilmektedir. *S. aureus*'un pek çok toksini olup gıda zehirlenmelerinde en sık karşılaşılan türü Stafilokokkal Enterotoksin A'dır (Günday, 2017).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority-EFSA) ve Avrupa Hastalıklardan Korunma ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control-ECDC) tarafından 2012 mayıs raporlarında Amerika'da görülen zehirlenme vakalarının 274'ünde stafilokokların varlığı bildirilmiştir (Podkowik et al., 2013). Bunun dışında EFSA'nın raporlarına göre; Avrupa Birliği'nin 2012 yılına ait gıda kaynaklı salgınlarının %6,4'ünün stafilokok enterotoksinlerinden kaynaklandığı vurgulanmıştır (EFSA, 2014).

S. aureus'un da dâhil olduğu pek çok stafilokok türü insanların deri, boğaz ve burun florasında baskın olarak bulunduğu için gıda zehirlenmeleri açısından büyük bir risk oluşturur. Bu bakterinin gıdalara bulaşması çoğunlukla insanlar, hayvanlar ve mutfak aletleri aracılığıyla olmaktadır ancak iltihaba da sebep olan bu bakterinin taşıyıcılığında en önemli etkenin insanlar olduğu belirtilmiştir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

En az 20 ng enterotoksinin alınmasından 1-8 saat sonra bulantı, kusma, gastrointestinal kaslarında ağrılı kasılmalar görülür ve hastalık 24 saat içinde gerilemeye başlar. Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, birçok ülkede gıda zehirlenmelerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Pişirme işlemi ile stafilokoklar ölse bile, ısıya dirençli enterotoksinin etkisi devam edebilir (Podkowik et al., 2013).

En sık görülen belirti ishaldir. Stafilokokkal enterotoksinlerin intestinal hücreler üzerine direkt etkisi, *E.coli* enterotoksinleri ile kıyaslandığında daha belirsizdir. *S. aureus* kaynaklı intoksikasyonların ABD’de yıllık yaklaşık 1.5 milyar dolarlık maddi kayba neden olduğu bilinmektedir (Todd, 1989). Stafilokokkal intoksikasyon riski, koloni popülasyonu 10^5 kob/g değerine ulaştığında başlar (Bergdoll, 1991).

2.1.3. *Escherichia coli*’nin Genel Özellikleri

E. coli ilk kez 1885 de Theodore Esherich tarafından tanımlanmış olup, Enterobacteriaceae familyası içerisinde *Escherichia* genusuna bağlı gram negatif bakteridir. Endospor oluşturmadığından pastörizasyon ya da kaynatma işlemi ile ölmektedir. *E. coli*, 2-6 µm boyunda ve 1-1,5 µm eninde, düz çomak şeklinde, yuvarlak uçlu bir mikroorganizmadır (Baysal, 2004). *E. coli*; aerob ve fakültatif anaerob bir bakteridir. Üreme ısısı 15–45 °C arasında ancak optimal 37 °C’de üremektedir. Standart besiyerlerinde pH 7–7,2’de kolayca ürerler. Buillon ve pepton içeren suda sık üreyerek bulanıklık oluştururlar. Ağarda genellikle gri-beyaz renkte, düzgün kenarlı, S tipi koloniler oluştururlar ancak tekrarlanan pasajlarda kaba-mat ve granüler R tipi koloni görünümü mevcuttur. Hidrojen sülfür oluşturamazlar. Laktoz ve glikozu fermente ederek gaz oluştururlar. İndol, Metil red ve lizin dekarboksilaz pozitifdir (Wells et al., 1983; March and Ratnam, 1986; Terada, 1995; Easton, 1997; Desmarchelier et al., 1998; Park et al., 2010).

Escherichia coli O157, 1982’de insan patojeni olarak tanımlanan bir mikroorganizmadır (Mead and Griffin, 1998). İnsanlarda hastalık etmeni olan Shiga toksini üreten birkaç serotipten birisi olduğu bilinmektedir ve gıda, su ya da enfekte olmuş hayvan ve insan dışkılarından kontaminasyon yoluyla bulaşmaktadır. *E. coli* O157:H7 genellikle gıda kaynaklı bulaşlarla halk sağlığını tehdit etmektedir ve bu patojen sonuçları ölüme kadar varan sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (Mead and Griffin, 1998).

Klinik özelliklerine göre *E. coli*, diyarejenik (ishal etkeni) *E. coli*, üropatojenik *E. coli*, menenjit ve sepsisle ilişkili *E. coli*, kanatlı patojeni *E. coli* olmak üzere 3 tipe ayrılır. diyarejenik (ishal etkeni) *E. coli* virulans özelliklerine, patojenik mekanizmalarına ve klinik sendromlarına dayanarak tanımlanmış 6 patotipi bulunur. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Enteroinvasif *E. coli* (EIEC),

Diffusely Adherent *E. coli* (DAEC). *E. coli*'nin bu paratipleri O ve H antijenini paylaşan klonal gruplar gibi görülür.

EPEC; mikroorganizma, bir veya daha fazla adeziv fimbria kullanan ince bağırsağın yüzeyini kolonize eder ve ısıya duyarlı enterotoksin (LT) ve/veya ısıya dayanıklı enterotoksin (ST) üretir (Nataro and Kaper, 1998).

EPEC: bu mikroorganizma yapışan ve silinen lezyonlar olarak adlandırılan karakteristik bir ince bağırsak histopatolojisi oluşturur, öncelikli olarak bağırsak epitel hücrelerine bağlanır ve hücre iskeletindeki aktini yeniden düzenler (Yoon and Hovde, 2008).

EAEC; dünya çapında çocuk ve yetişkinlerde uzun süreli ishale sebep olur. Hastalık sebebi gıda orijinli olabildiği ancak bunun kanıtlanmadığı belirtilmiştir (Yoon and Hovde, 2008).

EIEC: *Shigella* spp.'ye benzer şekilde kansız ishal ve dizanteriye sebep olduğu ve kolon epitel hücrelerini istila edip burada çoğalabildiği belirtilmiştir ki bu özelliği biyokimyasal, genetik ve patofizyolojik olarak *Shigella* spp ile ilişkili olabildiği bildirilmiştir. Ayrıca salgınların çoğunun besin ve kirli su ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Nataro and Kaper, 1998).

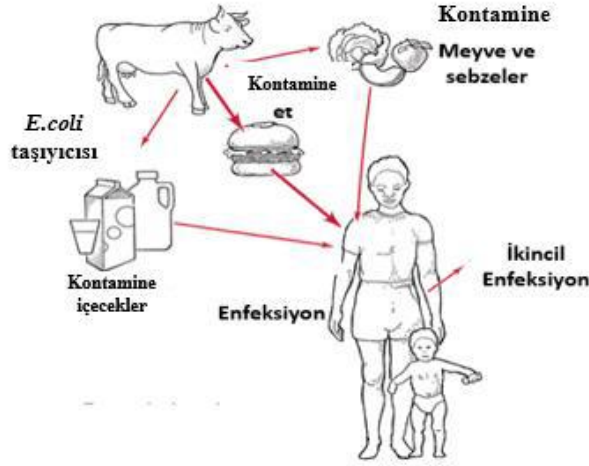
DAEC: 1-5 yaş arası genç çocuklarda ishale sebep olmakta olup daireyle patolojik ilişkisi çok az bilinir.

EHEC: Enterohemorajik *Escherichia coli* ise insan ve hayvanlarda hastağa sebep olan *E. coli* patotiplerindendir. Bilinen *E. coli* tipleri içerisinde ölümle sonuçlanabilecek gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu tutulan O157:H7 serotipi, insanlarda kolon mukoza hücrelerinin sitolizine (hemorajik kolitis (HC), hemolitik üremik sendroma (HUS) ve trombotik trombositopenik purpuraya (TTP) neden olarak toplum sağlığını tehdit etmektedir (Levinson, 2008). *E. coli* O157:H7'nin soğuk ya da dondurulmuş gıdalarda; su aktivitesinin düşük ya da asiditenin yüksek olduğu gıdalarda üreyebildiği ve bulunduğu şartlara kolaylıkla adapte olarak direnç geliştirdiği belirtilmektedir (Bekar, 2019)

2.1.4. *Escherichia coli* O157 H7 Enfeksiyonu

Geçtiğimiz 20 yılda ABD'de *E. coli* O157 H7 kaynaklı yaklaşık 73.000 vaka bildirilmiş ve bunların ortalama 60'ı ölümle sonuçlanmıştır. İnsanlar arasında bulaşmalar rapor ediliyor olsa da vakaların çoğu kontamine gıdalar veya sularla,

özellikle de sığır eti kaynaklı iyi pişirilmemiş/çiğ gıdaların tüketilmesiyle meydana gelmektedir (Bryne et al., 2003).



Şekil 2.1. *E. coli* bulaş yolları (Çakan, 2019)

EHEC suşları tarafından ortak paylaşılan ayırt edici biyokimyasal özellik yoktur ancak *E. coli* O157 H7'nin klinik örneklerden izolasyonu ve tanımlanmasını sağlayan bazı biyokimyasal özellikleri vardır. Bunlardan en önemlisi D-sorbitol fermentasyonunu geciktirmesidir (>24 h). Diğer *E. coli* suşlarının %75-%94' D-sorbitolu 24 saatten kısa sürede fermente eder (March and Ratnam, 1986; Nataro and Kaper, 1988). Ayrıca bu serotip β -glukuronidaz üretememekte, laboratuvar ortamında sentetik moleküllerle üretilebilmektedir. Bu durum test edilen *E. coli* O157 H7'nin %90'ından daha fazlasının diğer D-sorbitol negatif suşlarında tespit edilemeyen iki önemli biyokimyasal profilden birine sahip olduğu Gram negatif tanımlama sistemi ile gösterilmiştir (Abbott et al., 1994).

E. coli O157:H7'nin kaynağı genellikle genç sığırlar, geyik, kuzu, koyun, keçi, tavuk, domuz, kedi, köpek ve martı olarak verilebilir (Temelli, 2002). Patojenin dışkıdaki yaygınlığı %0-10 arasında değişmekte ve özellikle sığır dışkılarında 70 gün kadar sürede 5°C'de canlılığını koruyabildiği belirlenmiştir (Temelli, 2002). İnsanlara fekal kontaminasyon sonucu salgın şeklinde insanlara bulaşabilmekte (Çalışkan, 2019), asemptomatik taşıyıcı özelliği gösteren enfekte bireyler ile de yayılma gösterebilmektedir (Temelli, 2002).

E. coli O157:H7 serotipi, STEC (shigatoksin üreten *E. coli*) grubunda yer alır ve son yıllarda gıda patojeni olarak dünyada öne çıkan, insanlarda öldürücü etkili

enfeksiyona neden olan suştur. Gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebep olan bu patojene ait bildirilen ilk salgın 1982'de ABD'de ortaya çıkan 2 farklı vakadır.

Patojen *E. coli* suşları ishal, idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, sepsisemi gibi sağlık sorunlarına neden olmakta ve ölümcül olabilmektedir. *E. coli O157:H7* vakalarının ishale yol açtığı düşünüldüğünde özellikle çocuklarda patojen etkisi daha yoğun gözlenmektedir (Çiçek, 2008). Hastalıkla ilgili septomlar şiddetli karın ağrısıyla başlayarak kanlı ishale dönüşmektedir. *E. coli O157:H7* genellikle 2-4 gün süreyle kramplı karın belirtilerle ortaya çıkarken bazen herhangi bir belirti göstermeden şeklinde varlığını sürdürebilmektedir (Pedritis et al., 2002). *E. coli O157:H7* serotipi diyare haricinde insanlarda 3 çeşit semptom gösterir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Hemorajik Kolitis (HC): Enfeksiyonun başında kuvvetli karın ağrısı ve sulu ishal görülmekte sonrasında kanlı ishale dönüşmektedir. Enfeksiyon süresi yaklaşık 2-9 gündür (Ünlütürk ve Turantaş, 1998; Dunn, 2003; Boerlin et al., 1999).

Hemolitik Üremik Sendrom (HUS): HUS belirtisi gösteren hastalarda akut renal yetmezlik, trombositopeni ve mikroanjipatik hemolitik aneminin ardından diyare meydana gelir ve % 5-10 oranında ölümlerle sonuçlanan olaylar gözlenebilmektedir (Dunn, 2003).

Trombotik Trombositopenik purpura (TTP) : Nörolojik belirtiler daha yüksektir, beyinde oluşan kan pıhtıları sebebiyle ölüm oranını yüksek olmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

2.2. Antioksidan Savunma Sistemi ve Oksidatif Stres

Organizmada oksijen radikallerin oluşmasını ve oksidatif stresin meydana getirdiği hasarı önlemek üzere özelleşmiş savunma sisteminin elemanları antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır (Chapman et al., 1992). Organizmada hassas dengede olan oksidan/antioksidan sistemin bozulmaması için antioksidanların görevi büyüktür. Dengenin bozulmasıyla doku hasarına neden olan oksidatif stres oluşmaya başlar (Koca ve diğ., 2008). Bununla birlikte antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemediğinde de oksidatif stres oluşur.

Serbest radikaller kısa ömürlü ve kararsız bileşikler olup kararlı yapıya ulaşmak ve dış orbitalindeki paylaşılmamış elektronu dengeli biçime dönüştürmek

için çevrelerindeki moleküllerle etkileşime girmeye meyillidirler. Serbest radikallerin oluşumu çeşitli içi ve dış faktörlere bağlıdır. Organizmada hidroksil, hidrojen peroksit, alkoksil, ozon, süper oksit, nitrik oksit, hipoklorit asit gibi oksijen ve azot çeşitli reaktif bileşik bulunmaktadır. Serbest radikaller reaktif yapılarından dolayı lipid, protein ve nükleik asitlere zarar verirler ve bu şekilde hücre yapısını bozarlar. Serbest radikal artışı sonucunda hücre içinde reaktif oksijen türleri de artar. Bu durumu etkileyen endojen faktörler içerisinde düzensiz ağır egzersiz, sedanter yaşam, ağır stres, yaşlanma, doku hasarı, besin alımı ile ilgili patolojik durumlar bulunmaktadır. Besinlerin içeriği ve yanlış beslenme sonucu serbest radikal artışıyla hücre içinde reaktif oksijen türlerini oluşumu tetiklenir, serbest radikaller lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre membranını bozar, mitokondride ATP sentezini inhibe ederek, DNA ve proteinlere oksidatif hasar verirler.

Oksidatif stresin artışı antioksidan sistem tarafından kontrol edilemezse böyle bir durum çok sayıda hastalığın ortaya çıkmasına zemin hazırlar. Bunun sonucunda da ölümcül etkiler ortaya çıkabilir.

Patojen saldırısından sonra ve enfeksiyonun erken aşamalarında, nötrofiller ve makrofajlar dahil olmak üzere fagosit hücreleri enfeksiyon bölgesine göç eder ve nitrik oksit gibi süperoksit anyonları üretir. Bu anyonlar ayrıca diğer moleküllerle reaksiyona girerek vücutta oksidatif stres indüksiyonuna neden olan hidrojen peroksit, proxynitrit ve hipoklorit gibi çeşitli reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturur (Wakabayashi and Cheng, 2012). Bağışıklık hücrelerinin vücuda giren patojenlere karşı temel mekanizması, H_2O_2 , NO gibi aktif oksijen ara maddelerinin yükselmesi ve vücuttaki oksidatif stresin artmasıdır. Bu durumda vücudun antioksidan savunma sistemi etkileri telafi etmeye çalışır, ancak bazen oksidan / antioksidan durumunu dengeleyemez ve dolayısıyla antioksidan faktörlerin seviyesi düşer (Wang et al., 2015).

NO ölçümü seviyeleri oksidatif stres durumunu değerlendirmek ve hastalıkların tanı ve tedavisi için bir parametre olabilir. Serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) çeşitli patolojik süreçlerde doku hasarında önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Nohl et al., 1996).

Oksidatif stres ve antioksidan durum göstergesi olan çok sayıda parametre sayılabilir. Bunlar; Superoksit dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon Transferaz (GST), Katalaz (CAT) gibi parametrelerdir. Bütün

parametreleri aynı anda ölçmek ve değerlendirmenin oluşturduğu zorluk genel durum göstergesi olabilecek laboratuvar parametresi arayışını oluşturmuştur. Geliştirilen metotlarla; Total Antioksidan Kapasite (TAK; TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOK; TOS) ölçümü yapılmaya başlanmıştır (Santiago et al., 2000).

2.2.1. Nitrik Oksit (NO)

NO 1772 yılında tanımlanmıştır. 1928 yılında ise klinik vazodilatator olarak kullanılmaya başlanmıştır. Endojen NO, yapısal olarak eksprese edilen bir enzim olan endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS, tip III NOS) tarafından vasküler endotel hücrelerinde üretilir (Gaston et al., 1994). NO, organizmada birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynamaktadır; nöronal iletimde, immün yanıtın verilmesinde, gastrointestinal mukoza bütünlüğünün korunmasında, solunum yolları siliyer aktivitesinde, böbrek aktivitesinde ve kavernöz kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Etkileri en fazla kardiyovasküler sistemde görülür. Endotel hücreleri tarafından NO üretilme hızı 1.1×10^{-18} m/hücre/dk olarak belirlenmiştir (Coburn, 1970).

Nitrik oksit sentezlenince hücreden dışına çıkıp komşu hücreleri etkileyebilir, hücredeki asıl hedefi guanilaz siklazdır. Nitrik oksit radikali normal fizyolojik koşullar altında olumlu etkiye sahiptir ancak fizyolojik şartlar bozulduğunda, fagositik lökositler aktive olur, nitrit (NO₂-) ve nitrat (NO₃-) üretimi hızla artarak reaktif nitrojen türlerine (RNS) dönüşmeye başlar. Nitrik oksidin, oksijen radikali ile reaksiyon hızı, oksijen radikali yakalayıcısı olan süperoksit dismutazın reaksiyon hızından fazla olduğu için antioksidan mekanizmanın yetersiz kalır ve sonucunda nitrik oksit radikali oksijen radikali ile daha hızlı tepkimeye girerek, RNS kaynaklı doku hasarlarına sebep olan, sitotoksik bir oksidan olan peroksinitritin üretimini artırır (Onat ve diğ., 2002).

NO, çok sayıda düzenleyici görevlerinin yanı sıra, ciddi toksik etkiler de göstermektedir ki bunlar; antioksidanların tüketilmesi, akonitaz, katalaz gibi bazı enzimlerin inhibisyonu, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu olarak sıralanabilir.

2.2.2. Total Antioksidan Kapasite

Dokuların farklı oranlarda oksijen tüketimi ve metabolik aktivitesi olduğundan; antioksidan kapasiteleri de farklılık gösterir.

Tablo 2.3. Antioksidan tipleri (Basmacı, 2017)

Enzimatik Antioksidanlar	Non-enzimatik Antioksidanlar
<i>Primer enzimatik antioksidanlar;</i>	Vitamin E
Glutasyon transferaz	Flavonoidler
Katalaz	Melatonin
Glutasyon peroksidaz	Albumin
Süperoksid dismutaz	Vitamin C
<i>Sekonder enzimatik antioksidanlar;</i>	Bilirubin
Glutasyon S-transferaz	Deferoksamin
NADPH-Kinon oksidoredüktaz	Likopen
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	Transferrin
Sulfonil transferaz	Seruloplazmin
Glukronil transferaz	P-karoten
Glutasyon redüktaz	Ubikinon
İzositrat dehidrogenaz	Ürat
6-fosfoglukonat dehidrogenaz	Haptoglobin

Organizmanın sahip olduğu karmaşık antioksidan savunma sistemi, eksojen ve endojen tipteki serbest radikallerin meydana getirdiği oksidatif stres ile mücadele eder. Antioksidan moleküller stres sonucu ortaya çıkan bu zararlı reaksiyonları engeller veya yok eder. Çeşitli tipteki bu antioksidanlar Tablo 2.3’de gösterilmiştir. Antioksidan bileşikler plazma içerisinde sürekli bir etkileşim halindedir birbirini dengeleyecek şekilde sinerji içindedir, bir antioksidanın seviyesinde düşüş diğer bir antioksidanın seviyesinde yükselme ile dengelenebilmektedir. Bu sinerjik hareketten sebebiyle daha etkili bir tepki ortaya çıkarmış ve bunun sonucu da total antioksidan kapasite kavramını oluşturmuştur (Erel, 2004).

Her antioksidanın serum veya plazmadaki seviyeleri tek tek ölçülebilir, ancak ölçümlerin zaman alması, karmaşık ve masraflı teknikler gerektirmesi yönünden dezavantajlıdır. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların ayrı ayrı ölçümünden daha kıymetlidir. Bu nedenle kanda antioksidan seviyesinin saptanmasında toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır.

2.3. Besin Zehirlenmelerinin Adli Açıdan Değerlendirilmesi

Besin zehirlenmeleri sonucu çok az etkili klinik belirtilere ouşabileceğı gibi, ölümcül ekiler de doğurabilir. Besin zehirlenmeleri diğerk tüm zehirlenme vakaları gibi adli vaka kapsamında değerlendirilmelidir Besin zehirlenme vakaları için TCK (Türk Ceza Kanunu) kapsamında adli raporlar hazırlanır.

Türk Ceza Kanunu'nun (TCK) 280. maddesinde “Görevini yaptığı sırada bir suçun işlendiğı yönünde bir belirti ile karşılaşmasına rağmen, durumu yetkili makamlara bildirmeyen veya bu hususta gecikme gösteren sağlık mesleğı mensubu cezalandırılır.” ifadesi bulunmaktadır. Bu nedenle, gıda zehirlenmelerinde öncelikli olarak adli olgu bildiriminin yapılması, tüm sağlık çalışanlarının yasal yükümlüğündedir. Ülkemizde 2007 yılı itibariyle uygulamadan kaldırılan “Gıda Zehirlenmeleri Formu” yeniden düzenlenerek, zehirlenmelerle ilgili istatistiklerin toplanması amacıyla “Zehirlenme Vaka Bildirim Formu” oluşturulmuştur. Genelgeye göre, doldurulan form tüm sağlık kurum ve kuruluşları tarafından 24 saat içinde Halk Sağlığı Müdürlükleri'ne yapılmaktadır. Bildirim yapılırken, bildirim yapan personel ve müdahaleyi yapan kurum bilgileri, formun düzenlenme tarihi, hastanın kimlik ve adres bilgileri ile zehirlenme bilgileri (başvuru zamanı, zehirlenmeye neden olan etken, zehirlenme yeri, zamanı, şikâyetler, şikâyetlerin başlama zamanı, ölüm gerçekleşmiş ise ölüm zamanı gibi) eksiksiz şekilde yazılmalıdır. Acil tedavi birimi hekimi, adli bir olayda öncelikle hastanın doğru tedavi edilmesine yönelik uygulama yapmalıdır. Ayrıca mağdur ya da şüpheliye ait delil niteliğı taşıyabilecek materyalin alınması, korunması, saklanması ve uygun şekilde gönderilmesinden de yine acil tedavi hekimi sorumludur (Öz ve diğ., 2014).

Acil tedavi biriminde görevli olan hekimin gıda zehirlenmesine sebep olan bakteriler hakkında bilgi sahibi olmasıyla tedavi sürecini doğru yönetebilir ve delil niteliğı taşıyan biyolojik ya da fiziksel materyalin kaybolmasını engelleyebilir.

Gıda kaynaklı hastalıklar ve ölümlerle ilgili verilerin düzenli olarak toplanması, sorunun çözümüne katkı sağlayan önemli faktörlerden olmasına rağmen, Türkiye’de rapor edilen gıda zehirlenmesi sayısı doğuyu yansıtmamaktadır. Çünkü bu durum basite indirgenmekte ve göz ardı edilmektedir. Halbuki sağlığı olumsuz yönde tehdit eden hatta ölümcül olabilen gıda zehirlenmelerinin adlimakamlara bildirilmesi ve zehirlenme nedeninin doğru olarak ortaya konması, bu zehirlenme olaylarının tekrar etmemesi ve gereken önlemlerin alınması açısından oldukça önemlidir.

Ülkemizde, zehirlenmelerin içerisinde, hastanelerde acil servi hizmetlerine yapılan başvurular içerisinde ilk sıradaki zehirlenme vakaları ilaç kullanımı ile ilgili olan vakalardır, ikinci sırada ise besin zehirlenmeleri yer alır. Besin zehirlenmeleri basit müdahalelerle giderilebilir ancak bazen yaşamsal tehlikelere de sebep olabilir. Hastalık Kontrol ve Engelleme Merkezi besin kaynaklı hastalıklardan Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 76 milyon kişinin etkilendiğini, bunlardan 5000'inin yaşamını yitirdiğini bildirmiştir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre ise, 1993-2005 yılları arasında gıda kaynaklı olarak 108.246 kişi hastaneye yatmış ve 1993-2002 yılları arasında 1702 ölüm vakası tespit edilmiştir (Öz ve diğ., 2014). Gıda zehirlenmesi olguları, acil tedavi birimlerinde karşılaşılan hastalar içinde önemli bir grubu oluşturmaktadır.

Besin zehirlenmeleri diğer ölüm sebepleri gibi cinayet, intihar ve kaza orijinli olabildiği için “adli vaka” olarak kabul edilir. Yani zehirlenme şüphesi olduğunda hem cezai hem hukuki yönden yaptırımı vardır. Türk Ceza Kanunu’nun 186. maddesine göre, gıdayı kişilerin hayatını ve sağlığını tehlikeye sokacak şekilde temin eden kişi veya kişilere 5 yıla kadar hapis ve adli para cezası verilmektedir (EK 3). Bu nedenle bu tür olguların adli olgular olduğu ve bildirim zorunluluğu gözden kaçırılmamalıdır. Gıda zehirlenmesi vakalarının adli olgu olarak takip edilebilmesi için ve istatistiki verilere katkı sağlamak amacıyla sağlık kurumlarından temin edilen ‘Gıda Zehirlenmeleri Vaka Bildirim Fişi’ hazırlanması ve İl Sağlık Müdürlüğü’ne iletilmesi beklenmektedir (Ek 2).

2.4. Ölüm Sonrası Histolojik Değerlendirme ve Histopatoloji

Günümüz adli tıp uygulamalarında histopatolojik incelemenin gerekliliği ile ilgili görüşler farklıdır. Bazı yazarlar mikroskopik incelemenin sadece gerektiğinde yapılmasını, rutin bir uygulama olmamasını savunurken bazıları adli otopsilerde makroskopik ve mikroskopik tanımlar arasında belirgin farklılıklar olabildiği için, histopatolojik incelemenin otopsi kalitesini etkilediğini, makroskopik bulguların doğrulanması veya dışlanması için önemli olduğunu savunmaktadırlar (Grandmaison et al., 2010).

Ölüm sonrası otopsi uygulamalarında ölüm sebebinin tespiti için toplanan biyolojik numunelerin bakteriyel, viral, mantar kaynaklı ve paraziter olup olmadığının incelenmesi gerekir. Özellikle ani ölümlerde ve diğer otopsi bulgularının

yetersiz kaldığı vakalarda ve biyolojik suçlarda mikroorganizmaların tespiti ölüm nedeninin saptanmasında belirleyici olabilmektedir.

Mikrobiyal etkenin tanımlanması için klasik tanı yöntemleri, moleküler yöntemler, histolojik yöntemler kullanılmaktadır. Klasik tanı yöntemleri numunenin uygun besiyerinde çoğaltılmasıyla başlar, fenotipik incelemelerin yapılması, makroskopik koloni morfolojilerinin incelenmesi, biyokimyasal analizler gibi oldukça yoğun aşamalarla devam eder. İleri tanıda kullanılabilecek yöntemler arasında ise polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı yöntemler ve DNA dizi analizleri örnek verilebilir. Ayrıca olarak çeşitli spektroskopik teknikler de kullanılmaktadır (Ziyade, 2012).

Adli histopatoloji, adli tıbbın başlangıcından bu yana tanıda önemli bir yere sahiptir. Adli otopsilerde ilk olarak rutin histopatolojik incelemeler yapılmalı, bu aşama diğer değerlendirmeleri yapabilmek için bir ön inceleme yöntemi olarak kullanılmalıdır. Bunun için öncelikle histolojik incelemeye bakacak olursak, dokuların mikroskopik incelemesine dayanan bu aşamada çeşitli boyalar kullanılmaktadır. Temel olarak bakterilerin dokuda gösterilmesi gerektiğinde rutin bir Gram boyama kullanılmakta, genel histopatoloji içinse hematoxilen-eozin boyası tercih edilmektedir.

Histopatoloji ölüm nedeninin saptanmasının dışında bazı yasal sorulara da cevap olmaktadır. Bunlar: hastalıkların histomorfolojik kronolojisi; canlılık bulgularının gösterilmesi; yara yaşının saptanması (myokard infarktüsü, cilt yaraları, subdural hematoma gibi olgularda); mikroskopik bulguların hastanın hikayesi, postmortem biyokimya, toksikolojik bulgular, suçla ilişkili incelemelerle sınıflandırılması, doku fragmanlarının mikroskopik tanımlanması; hücrelerin histolojik olarak saptanması (Cinsel saldırılarda spermatozoaların gösterilmesi gibi) (Dettmeyer, 2011).

İnceleme aşamasında farklı örnekleme alanlarından alınan kültür sonuçları otopsi bulguları ve histolojik sonuçlarla dikkatli bir şekilde kıyaslanmalıdır. Çünkü bu, hayattayken oluşmuş bir enfeksiyon ve ölüm sonrası kontaminasyon arasındaki ayrım için gereklidir. Yani ortaya çıkan enfeksiyon, ölüm sonrası bakteriyolojik kültürlerle kanıtlanabilir ve enfeksiyondan etkilenen dokuda hücresel yanıt, histopatolojik olarak tespit edilebilir (Parai and Milroy, 2018).

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Mikrobiyolojik Etkenlerin Elde Edilmesi

80 °C’de uygun stok solüsyonunda saklanan suşlardan, uygulama öncesi pasajlar alınarak MacConkey, MuellerHinton ve Kanlı agarda uygun sürelerde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında uygun yoğunlukta bakteri süspansiyonu McFarland bulanıklık sistemine göre hazırlanmıştır. Deiyonize su ile hazırlanan süspansiyonlar steril koşullar altında uygulamaya hazır hale getirilerek uygulama öncesi, +4’de muhafaza edilmiştir (Üstünova, 2012).

3.2. Hayvan Gruplarının Oluşturulması ve Etken Bakterilerin Verilmesi

E-68489742-604.02.03-269125 nolu etik kurul onayı alınan çalışmada aynı jenerasyondan olmalarına özen gösterilerek seçilen Wistar albino ratlar (200-240 g) kullanılmıştır (Üstünova, 2012). Çalışma kapsamında değerlendirilecek olan ratlar standart yem ile ad-libitum beslenmiş olup ve oda sıcaklığında 12 saat aydınlık 12 saat karanlık koşullar sağlanmıştır. Ratlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edilmiş, deneysel araştırmanın hayvanlarla ilgili kısmı burada gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada gıda zehirlenmelerinde bakteriyal etkenlerden olan *E.coli O157:H7* ve *Staphylococcus aureus*’un oral yolla alımından sonra rat dokuları üzerindeki olası histotoksik sonuçları ile total antioksidan kapasite ve nitrik oksit düzeylerini birbiriyle değerlendirmek amacıyla toplam 25 adet erişkin rat; kontrol (n=5), EC 1 (n=5), EC 2 (n=5), SA 1 (n=5) ve SA 2 (n=5) grupları olmak üzere 5 ana gruba ayrılmıştır (Şekil 3.1). Bu doğrultuda ratlara daha önceden pasajlanarak hazırlanan *E. coli* süspansiyonu 10^9 cfu/ml olarak (Evirgen ve diğ., 2011), benzer şekilde *Staphylococcus aureus* ratlara 2×10^8 cfu/ml olarak oral yoldan uygulanmıştır (Liao et al., 2021). Uygulamayı takiben; EC1 ve SA1 gruplarındaki ratlar uygulamadan 12 saat sonra ve EC2 ve SA2 gruplarındaki ratlar ise 24 saat sonra genel anestezi altında sakrifiye edilmişlerdir.

1. Kontrol grubu: Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir uygulama yapılmamış olup son bakteri grubuyla birlikte sakrifiye edilmişlerdir.
2. EC1 grubu: Bu gruba ait ratlara deiyonize su ile 10^9 cfu/ml olarak hazırlanan *E. coli* süspansiyonu oral olarak verilmiştir. Uygulamadan 12 saat sonra kan örnekleri alınmasının ardından sakrifiye edilmiştir.

3. EC2 grubu: Bu gruba ait ratlara deiyonize su ile 10^9 cfu/ml olarak hazırlanan *E. coli* süspansiyonu oral olarak verilmiştir. Uygulamadan 24 saat sonra kan örnekleri alınmasının ardından sakrifiye edilmişlerdir.
4. SA1 grubu: Bu gruba ait ratlara deiyonize su ile 2×10^8 cfu/ml olarak hazırlanan *S. aureus* süspansiyonu oral olarak verilmiştir. Uygulamadan 12 saat sonra kan örnekleri alınmasının ardından sakrifiye edilmişlerdir.
5. SA2 grubu: Bu gruba ait ratlar da deiyonize su ile 2×10^8 cfu/ml olarak hazırlanan *S. aureus* süspansiyonu oral olarak verilmiştir. Uygulamadan 24 saat sonra kan örnekleri alınmasının ardından sakrifiye edilmişlerdir.



Şekil 3.1. Deney gruplarının oluşturulması

3.3. Deneyin Sonlandırılması ve Serum Örneklerinin Elde Edilmesi

Hayvanlar uygulama sonrası 12. ve 24. Saatte 75 mg/kg Ketamin HCl+10 mg/kg Ksilazin anestezisi altında kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edilmişlerdir (Şekil 3.2). Kan örnekleri antikoagulant içermeyen biyokimya tüplerine alınmış ve 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar yedekli bir şekilde eppendorf tüplere transfer edilerek çalışılmak üzere -80°C 'de depolanmıştır.



Şekil 3.2. Deneyin sonlandırılması ve kan örneklerinin alınması

3.3.1. Total Antioksidan Kapasite ve Nitrik Oksit Seviyelerinin Belirlenmesi

Hayvanlardan 12. ve 24. saatte alınan kan örnekleri (5-8 ml/rat) 3000g'de 10 dakika santrifüjlenerek serum örnekleri elde edilmiştir. Nitrik oksit ve total antioksidan seviyeleri ticari ELİSA kitleri kullanılarak, kitlerin prospektüslerine uygun olarak absorbans değerleri okunarak, spektrofotometrik teknikle belirlenmiştir (Yazıcı, 2019). Biyokimyasal analiz için tüm reaktifler, standart solüsyonlar ve örnekler talimatlara göre hazırlanmıştır. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirilmiş ve çalışma oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

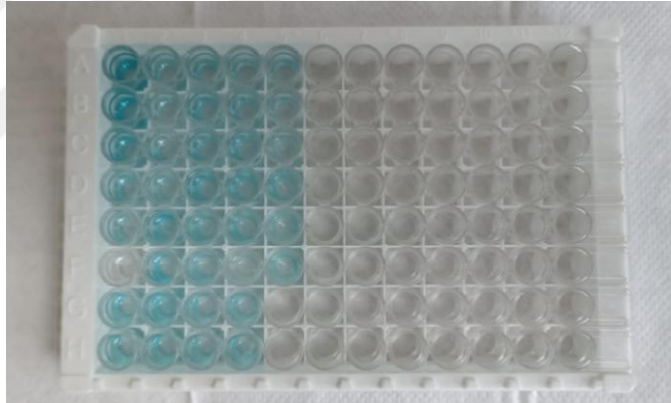
NO tayini:

Öncelikle farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 5 standart solüsyonu (200-100-50-25- 12,5 $\mu\text{mol/l}$) kuyucuklara 50 μl olacak şekilde ve ardından 50 μl Streptavidin-HRP eklenmiştir. Deney grubuna ait numuneler ise 40 μl numune+ 10 μl Biotin antikör+ 50 μl Streptavidin-HRP olacak şekilde belirlenen kuyucuklara eklenmiştir. Bir kuyucuk negatif kontrol olarak çalışıldı, numune eklenmemiş, total hacim 100 μl distile su ile tamamlanmıştır. 37°C'de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi sırasında antikora bağlanmamış serbest haldeki Streptavidin-HRP deney ortamından uzaklaştırılmıştır. Daha sonra tüm kuyucuklara Chromogen A ve Chromogen B solüsyonları 50'şer μl olacak şekilde eklenmiştir. Kuyucuklarda NO konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşmiştir. 37°C'de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik

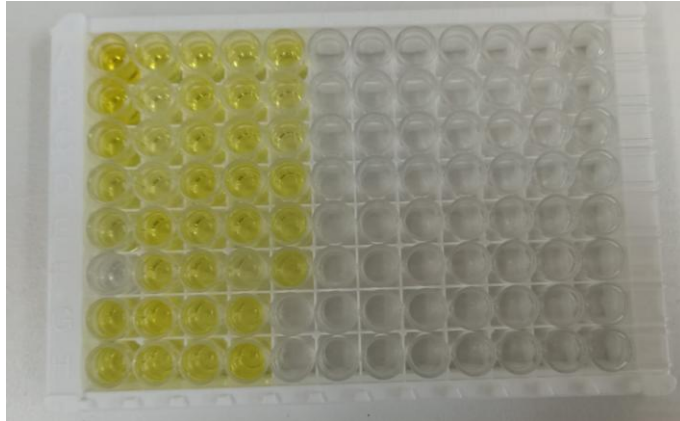
karakterli çözeltinin eklenmesi (stop solüsyonu) ile reaksiyon durdurulmuş ve 450 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

TAK tayini:

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 5 standart solüsyonu (32-16-8-4-2 U/ml) kuyucuklara 50 µl olacak şekilde ve ardından 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir. Deney grubuna ait numuneler ise 40 µl numune+ 10 µl Biotin antikor+ 50 µl Streptavidin-HRP olacak şekilde belirlenen kuyucuklara eklenmiştir. Bir kuyucuk negatif kontrol olarak çalışılmış, numune eklenmemiş, total hacim 100 µl distile su ile tamamlanmıştır. 37°C’de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi yapılmıştır (5 kez). Daha sonra tüm kuyucuklara Chromogen A ve Chromogen B solüsyonları 50’şer µl olacak şekilde eklenmiştir. Kuyucuklarda NO konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşmiştir (Şekil 3.3.) (Şekil 3.4). 37°C’de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik karakterli çözeltinin eklenmesi (stop solüsyonu) ile reaksiyon durdurulmuş ve 450 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. ELİSA işleminde kuyucuklara chromogen A ve Chromogen B solüsyonu eklendikten sonra oluşan renk değişimi



Şekil 3.4. ELİSA işleminde kuyucuklara stop solüsyonunun eklenmesi sonucu sarı renk oluşumu

3.3.2. Histopatolojik İşlemler

Sakrifikasyon işlemi sonrası incelenmek istenen bağırsak, karaciğer dokuları ratlardan uygun şekilde alınarak ışık mikroskopik inceleme için % 10'luk formaldehite koyularak ayrı ayrı etiketlenmiştir. Dokuların fiksasyonu sağlandıktan sonra rutin takip işlemi gerçekleştirilmiş ve dokular parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan 6µ kesitler alınarak histolojik inceleme için Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. Histopatolojik değişiklikler genel olarak hücresel vakuol oluşumu, çekirdek dejenerasyonu, epitel hasarı, infiltrasyon göz önüne alınarak değerlendirilmiş ve bu hasarlar 0 ile 3 arası skorlanmıştır. '0: yok; 1:hafif; 2: orta; 3:ciddi' olarak değerlendirilmiştir (Aydın ve diğ.; 2020; Eren ve diğ.; 2020). Deneyin bu aşamaları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Histoloji Laboratuvar'ında gerçekleştirilmiştir.

3.3.2.1. Parafin Doku Bloklarının Hazırlanması

Histolojik doku takibi

%10'luk nötral tamponlanmış formalin solüsyonunda yeterli süre bekletilen dokular için ışık mikroskopik inceleme yapılmak üzere fiksasyon işleminin ardından şu işlemlerden geçirilmiştir;

1- Akarsuda yıkama: Kasetlere yerleştirilen dokular, fiksatifin uzaklaşması için gün boyu yıkanmıştır.

2- Suyun uzaklaştırılması için hazırlanan alkollerden geçirilmiştir. Buna göre;

- %70 oranındaki alkolde 1 gece bekletilmiştir.

- Ertesi gün kasetler %80'lik alkole alınarak 1 saat bekletilmiş,

- Daha sonra %90 olarak hazırlanan alkolde 60 dakika,

- %96'luk alkolde 60 dakika,

- Absolut alkolde 60 dakika,

- İkinci bir absolut alkolde 1 saat bekletilmiştir.

3- Şeffaflaştırma işlemi için ksilen serisi kullanılmıştır. Bunun için;

- 1. Ksilende 30 dk,

- 2. Ksilende 30 dk,

- Ksilen+parafinde 30 dakika bekletilmiştir (60 °C'de).

4- 1. Parafinde oda ısısında bir gece, (60 °C'lik etüvde erimiş haldeki parafinin içerisine alınarak oda ısısına bırakılmıştır).

5. Katı haldeki parafinin yumuşaması/erimesi için 60 °C'deki etüvde bekletilmiştir.

6- Eriyen parafinden dikkatli bir şekilde çıkarılan doku kasetleri 2. parafinde 60 °C'lik etüvde 1 saat bekletilmiştir.,

7- 3. Parafinde 60 °C'lik etüvde 2 saat bekletilmiştir

8- Dokular L demire dökülen parafinlere gömülmüştür.

Hazırlanan parafin bloklar, Reichert-Jung 2030 Rotary mikrotom cihazı aracılığıyla 6 µm kesit alınmak üzere oda ısısında kapalı alanda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.5. Doku takibi ve parafine gömülen dokulara ait görüntüler

3.3.2.2. Doku Kesitlerinin Alınması ve Histokimyasal Boyanması

Hazırlanan parafin bloklardan Reichert-Jung 2030 Rotary mikrotom cihazı kullanılarak 6 µm kesitler alınmıştır. Karaciğer ve bağırsak dokularının genel histolojik değerlendirmesi için Hematoksilen-Eozin boyası kullanılmıştır. Bu boyamada hücre çekirdekleri mavi-mor, sitoplazmaları ve diğer doku bölümleri pembe boyanmaktadır.

Kesitlerin H&E ile boyanması

H&E boyamasına başlanmadan önce kesiti alınan dokular etüvde yarım saat bekletilerek parafin kalıntılarının yumuşaması sağlamıştır. Daha sonra kesitler;

1. Deparafinizasyon işlemi için 1. Ksilen ve 2. Ksilen olarak hazırlanan seride 15'er dk bekletilmiştir.

2. Kurutma işlemi yapılmıştır (3-5 dk) .
3. %100, %96, %90, %80, %70'lık olarak hazırlanan alkol serilerinden geçirilmiş, her birinde 3 dakika bekletilmiştir.
4. 5 dakika akar suda cam kap içerisinde yıkama işlemi yapılmıştır.
5. Hematoksilen solüsyonunda 3 dakika bekletilmiştir.
6. Akar suda (yaklaşık 45 sn) yıkama yapılmıştır.
7. %75 konsantrasyonda hazırlanan alkolde 2–3 saniye bekletildikten sonra,
8. Eosin solüsyonunda 5-6 saniye tutulmuştur.
9. İkinci bir alkol serisi hazırlanmış, kesitler %70'lık, %80'lik, %90'lık, %96'lık, %100'lük olarak hazırlanan bu alkollerden her birine daldırıp çıkarılmıştır.
10. Kurutma yapılmıştır (3-5 dk).
11. 3. Ksilende 1 saat bekletilmiştir.
12. Lamalar entallanla kapatılarak mikroskopik inceleme için hazır hale getirilmiştir (AFIP, 1992).



Şekil 3.6. Hematoksilen-eozin boyama



Şekil 3.7. Lamel ile kapatılarak ışık mikroskopik inceleme için hazırlanmış doku preparatı örnekleri

3.3.2.3. Kesitlerin Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi

Karaciğer ve bağırsak dokularının, x4 lük objektifte genel görünümleri incelendikten sonra x20 ve x40 lık büyütmede 5 kesit alanında (değerlendirmeye alınan her kesit için) hasar değerlendirmesi yapılarak, karaciğer için hücre

infiltrasyonu, vakuolisasyon (hücrel-sünozoidal), sünozoidal genişleme, hepatositler incelenmiş, bağırsak dokusu için ise goblet hücre sayısı, epitel hasarı, infiltrasyon düzeyi incelenmiş ve her iki dokuya ait görüntüler Leica DM 100 ışık mikroskobu kullanılarak fotoğraflanmıştır.

3.4. İstatistiksel Analizler

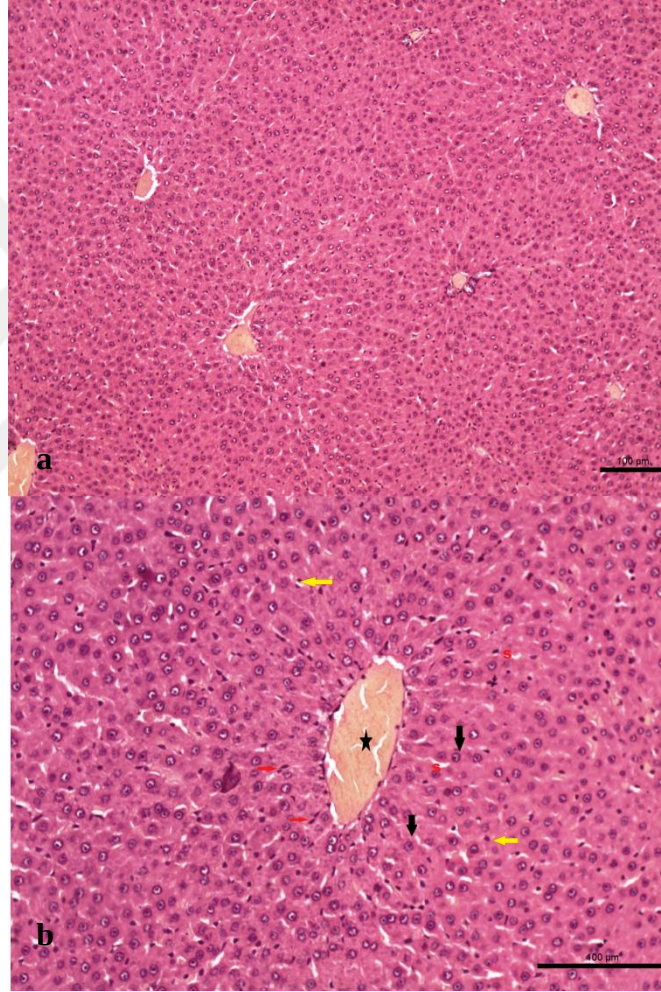
Deneyisel verilerin istatistiksel analizi için SPSS 23 Paket İstatistik Programı kullanılmıştır. İstatistiksel testler, "parametrik testler" ve "parametrik olmayan testler" olmak üzere ikiye ayrılır. Bu testlerden hangisinin yapılacağına karar vermek amacıyla belirlemek için ilk olarak normallik testi yapılmakta ve normal dağılım gösterdiğinde bahsedilen testlerden parametrik testler, veriler normal dağılmadığında parametrik olmayan testler uygulanmaktadır. Çalışmamızda verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini test etmek için 'Shapiro-Wilk' uygulanmıştır. "Shapiro-Wilk" testinin $p > 0.05$ 'den büyük olduğunda tüm gruplar için verilerin normal dağılım gösterdiği, $p < 0.05$ ise normal dağılım göstermediği kabul edilmektedir. Buna göre grupların normal dağılım göstermediği tespit edilmiş ve bu doğrultuda karaciğerde sinuzoidal genişleme, vakuolisasyon ve infiltrasyon verileri ile bağırsakta goblet hücre sayısındaki artış, villus epitel hasarı ve infiltrasyon verileri bakımından grupların karşılaştırılması için "Kruskal Wallis" testi yapılmıştır. Gruplar arasında fark bulunduğu durumda 'hangi gruplar arasında fark var?' sorusunun yanıtı için her bir grubun kontrol ile karşılaştırılması amacıyla "Mann-Whitney" testi uygulanmıştır. Buna ek olarak TAK ve NO seviyeleri için ise grupların normal dağılım gösterdiği tespit edilerek Tek Yönlü Varyans Analizi' (One Way ANOVA) uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

4.1.1. Karaciğer Doku Kesitlerine Ait H&E Boyama Sonuçları

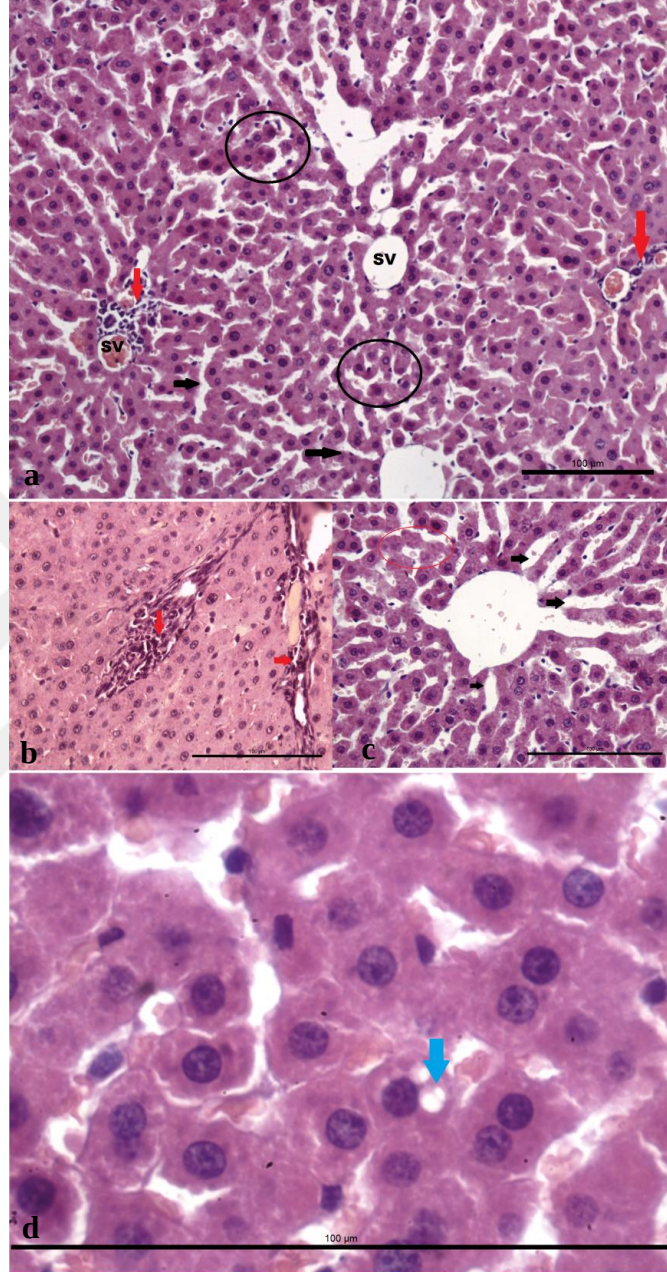
Kontrol grubuna ait karaciğer kesitleri incelendiğinde santral veni çevreleyen karaciğer hücreleri ile dōşeli olduğu, normal sünozoidal yapının görüldüğü gözlenmiştir. Genel olarak sıralı hücrelerin merkezinde hepatosit denilen hücre çekirdekleri ile bazal kenarlarda kuppfer hücreleri ile endotelial hücrelerin bulunduğu, normal histolojik görünümün hakim olduğu izlenmiştir (Şekil 4.2).



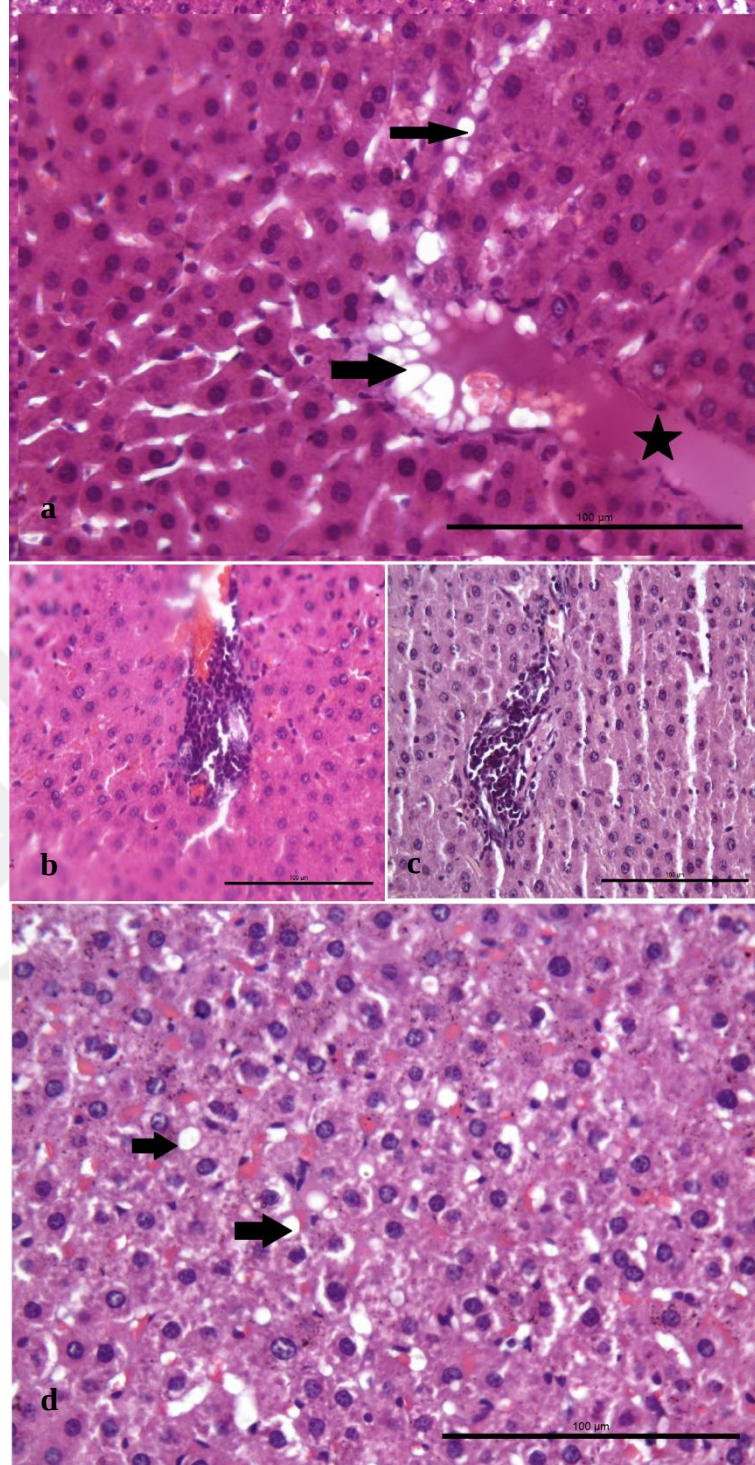
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait karaciğer görüntüleri. a.x10, b.x20 büyütme. Yıldız; santral ven, siyah ok; hepatositler, sarı ok kupffer hücresi, kırmızı ok; endotelial hücre. H&E boyaması.

Enfeksiyon gruplarında karaciğer dokusuna ait bazı kesitlerde sinuzoidlerde belirgin genişleme olduğu izlenmiştir. Ayrıca sitoplazmik şişmeyi gösteren vakuollerin dışında hücrelerarası alanlarda yer yer vakuolizasyon dikkati çekmiştir (Şekil 4.2). Tüm gruplarda neredeyse incelenen tüm kesitlerde

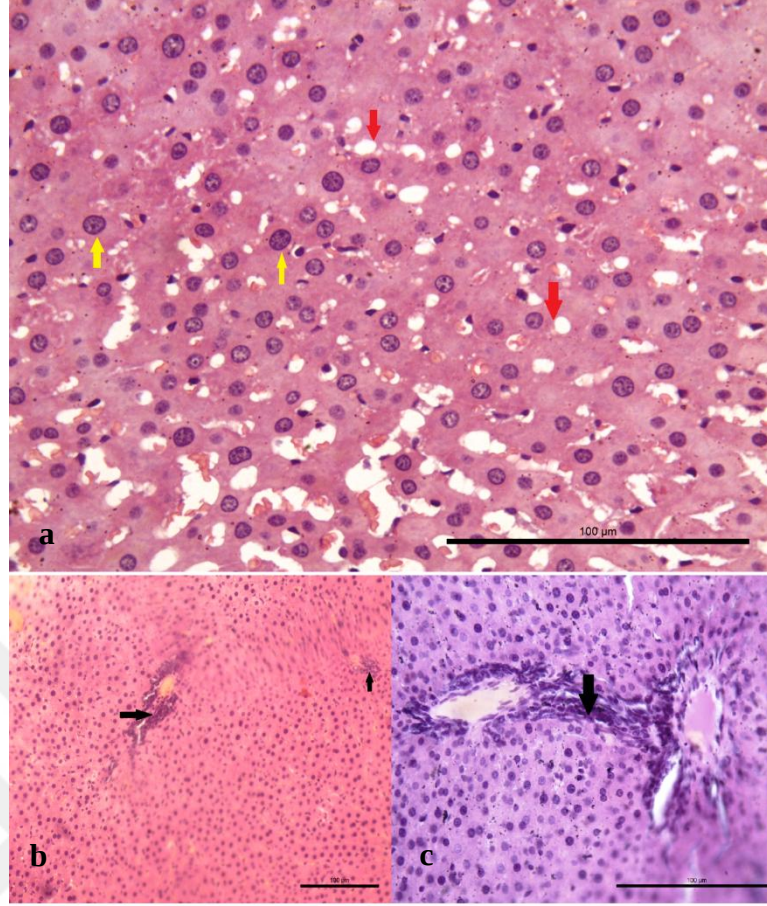
yoğun infiltrasyon alanları (Şekil 4.3) ile birlikte santral vende inflamasyon hücrelerinin varlığı ile tıkanmalar, hücresel dejenerasyon ile çekirdeklerini kaybetmiş hücrelerin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4) (Şekil 4.5).



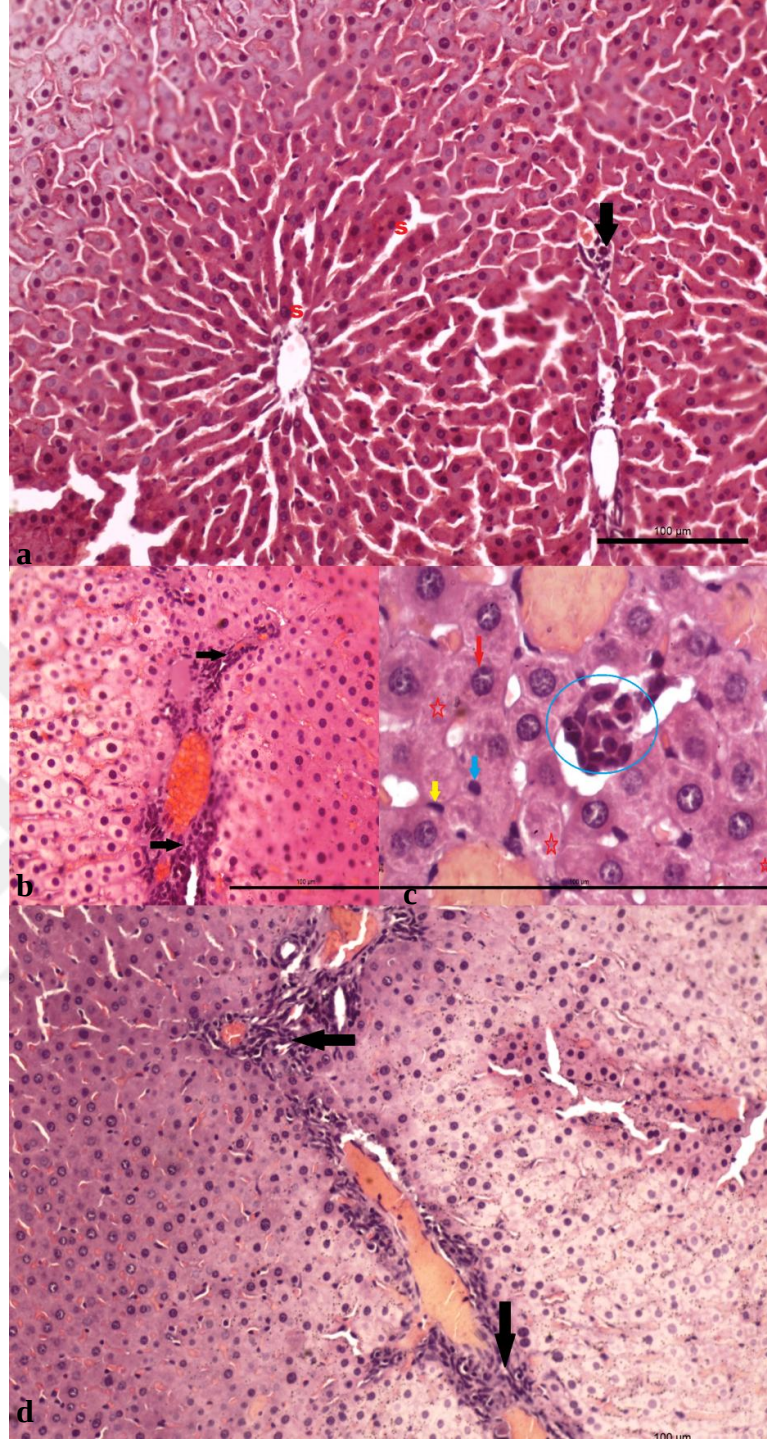
Şekil 4.2. EC1 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri. a. x20 büyütme karaciğerde ciddi dejenerasyonla birlikte bazı alanlarda hücre infiltrasyonu (kırmızı ok), dejeneratif hücreler (daire), genel görüntüde sinuzoidlerde genişleme (siyah ok). b. x40 büyütme, santral ven ve hücresel alanda yoğun infiltrasyon.c. x40 büyütme, sinuzoidlerde genişleme sonucu santral vende dejenerasyon. d.x100 büyütme, hücresel vakuolisasyon (mavi ok). H&E boyaması.



Şekil 4.3. EC2 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri. a. x40 büyütme, vakuolizasyon (siyah ok) ve konjesyon (yıldız), b. c., x40 büyütme, inflamator hücrelerin yoğun infiltrasyonu, d. x40 büyütme, ileri düzeyde vakuolizasyon. H&E boyaması.



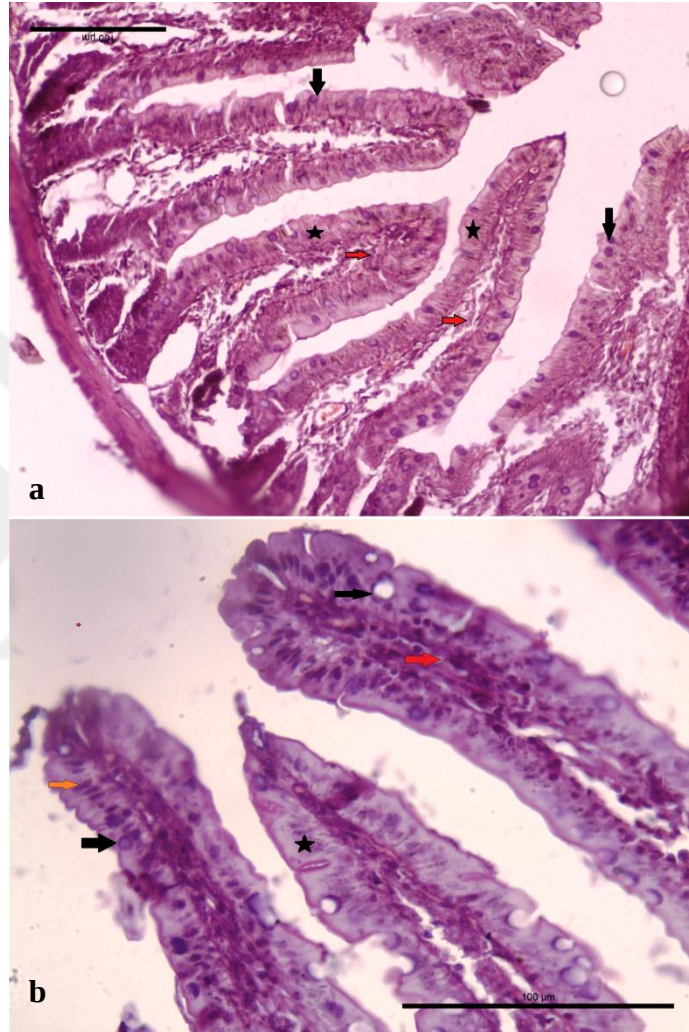
Şekil 4.4. SA1 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri.a.,c. x40 büyütme, b. x10 büyütme,sarı ok; hepatositler, kırmızı ok; hücrelerarası vakuoller, siyah ok; inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu. H&E boyaması.



Şekil 4.5. SA2 grubuna ait karaciğer kesit görüntüleri. a. x20 büyütme, s; sinuzoidler b. x40 büyütme, siyah oklar infiltrasyon alanları, c. x100 büyütme, mavi halka kümeleşmiş mononükleer hücreler (inflamasyon), mavi ok; kupffer hücresi, sarı ok; endotelial hücre, kırmızı ok; hepatosit, yıldız; çekirdeklerini kaybetmiş hücreler. H&E boyaması.

4.1.2. Bağırsak Doku Kesitlerine Ait H&E Boyama Sonuçları

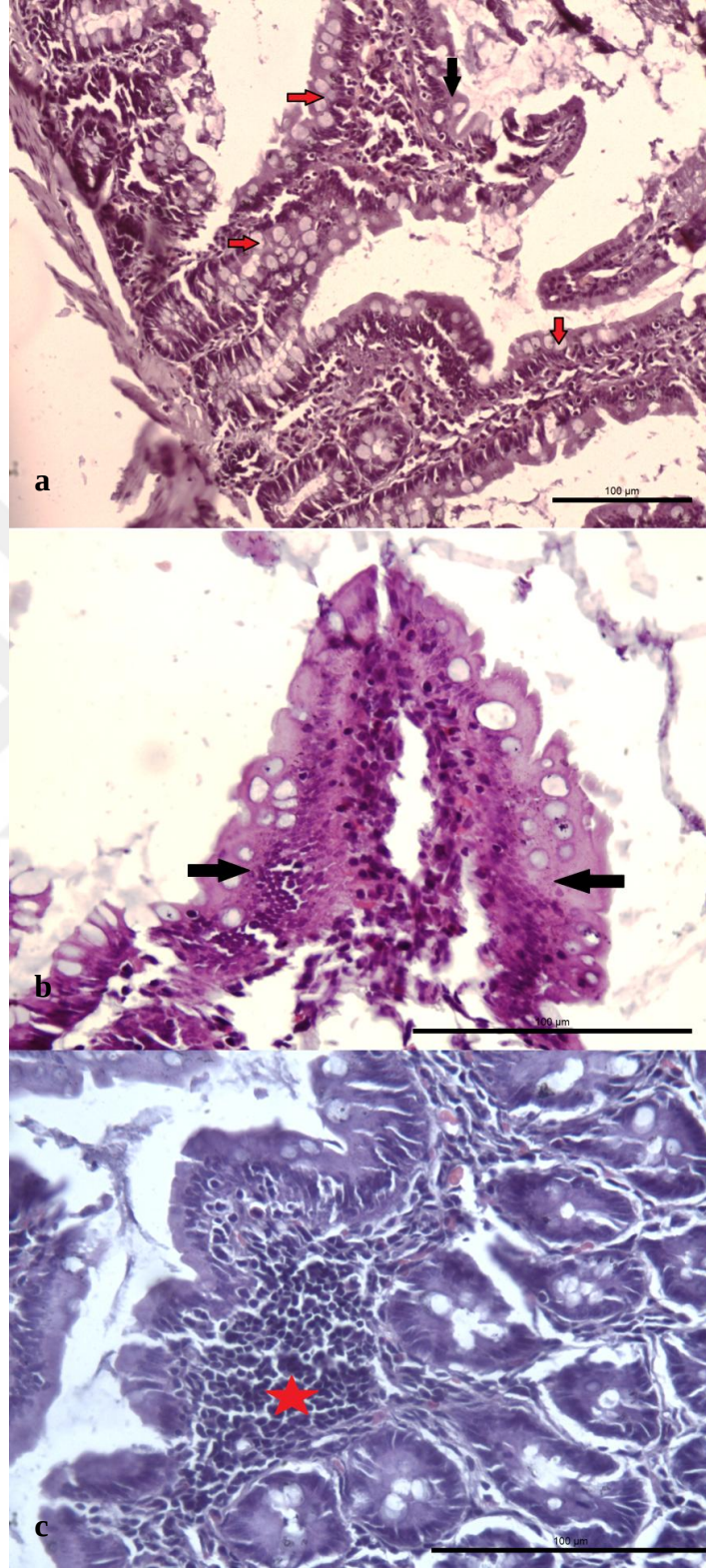
Bağırsak doku kesitleri incelendiğinde normal histolojik görünüme sahip olduğu, bu kapsamda lümeni uzanan villuslar, silindirik hücrelerden oluşan düzenli villus epiteli olduğu gözlenmiştir. Epitel doku hücreleri orta konumlu ve silindirik şekilde, yer yer goblet hücrelerinin varlığı izlenmiştir (Şekil 4.6).



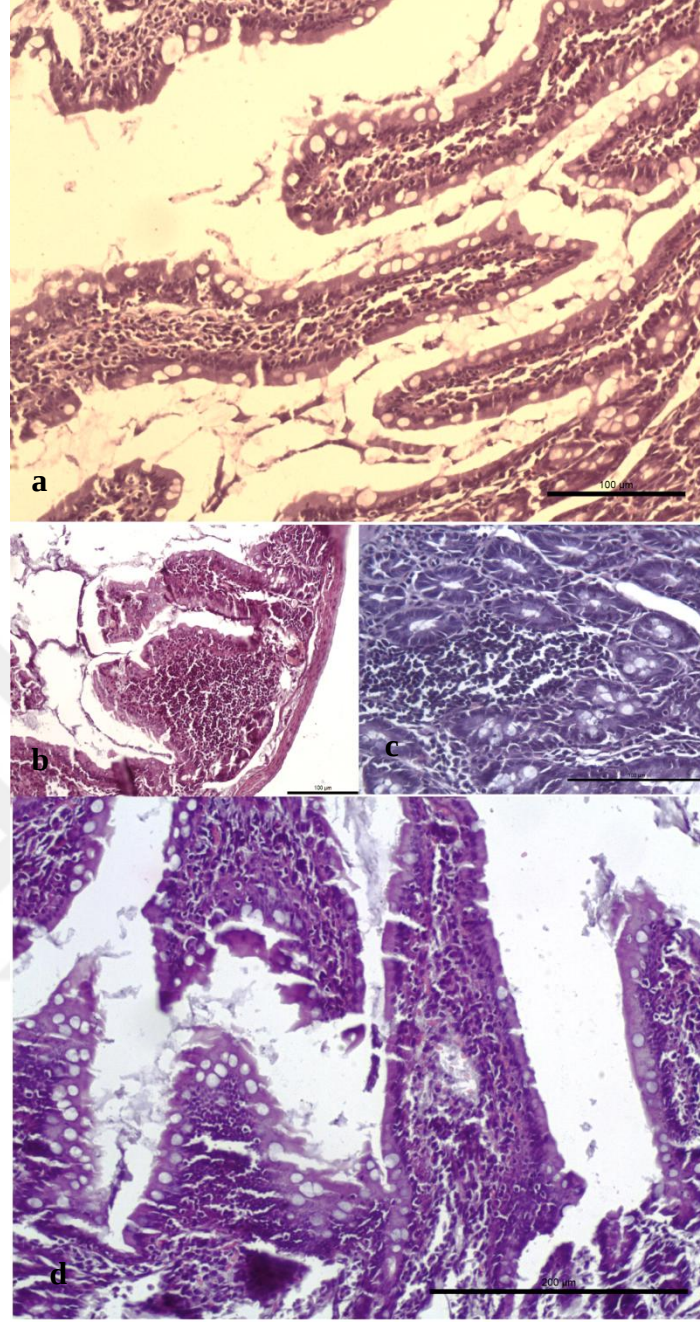
Şekil 4.6. Kontrol grubuna ait ince bağırsak kesit görüntüleri. a.x20, b. x40 büyütme. Siyah ok; goblet hücresi, kırmızı ok; lamina propria, turuncu ok; epitel hücre çekirdeği. H&E boyaması.

E. coli ve *S. aureus* enfeksiyon gruplarına ait bağırsak dokusu kesitleri incelendiğinde bağırsak villus epitelinde dejenerasyon (Şekil 4.7) (Şekil 4.8) ve dökülmeler saptanmış (Şekil 4.9) ve hasarın kademeli şekilde ilerlediği yani maruziyet süresi arttıkça bu hasarın morfolojik olarak arttığı gözlenmiştir. Ayrıca goblet hücrelerinde yer yer genişleme olmasına rağmen özellikle sayısında artış olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.7) (Şekil 4.8). Tüm gruplarda infiltrasyon oluşumu

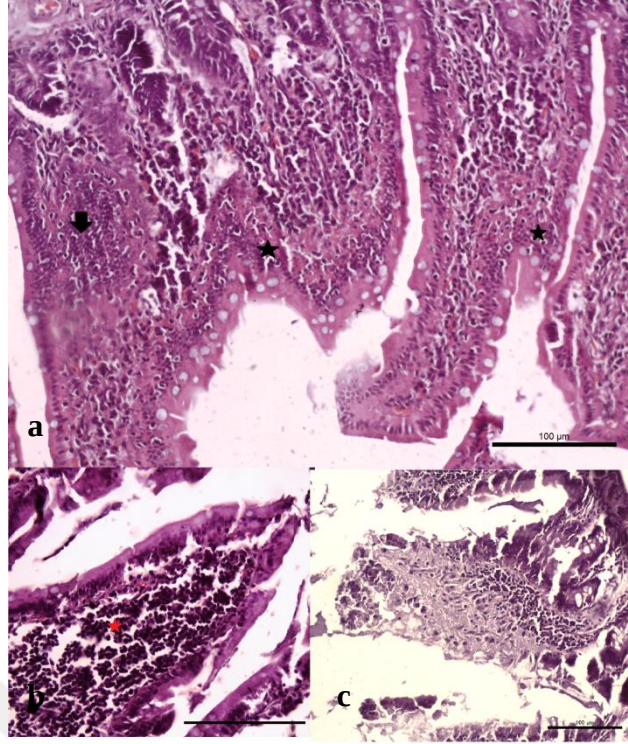
saptanmış ancak bu hasarın özellikle lamina propria alanında yoğunlaştığı görülmüştür.



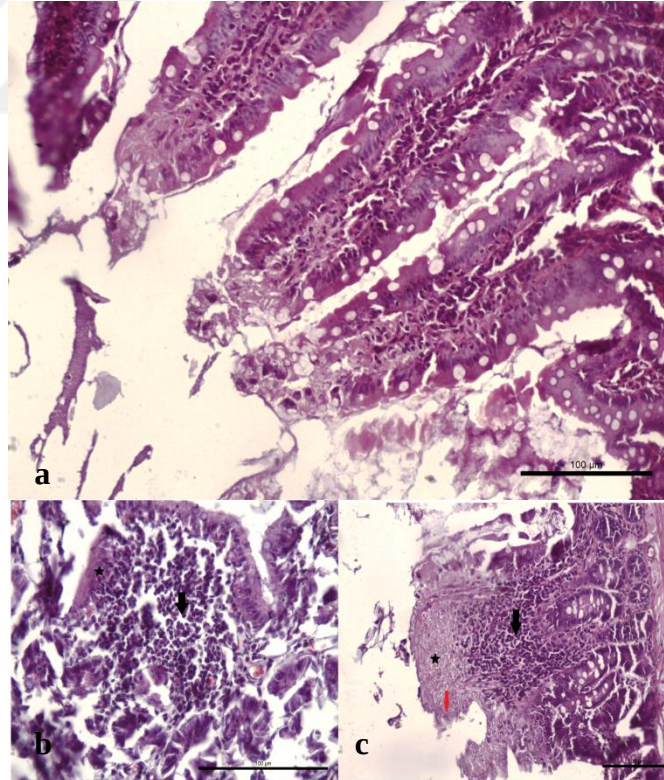
Şekil 4.7. EC1 grubuna ait bağırsak kesiti görüntüleri. a. x20 büyütme, goblet sayısında dikkat çeken artış ve epitel dejenerasyonu, b. x40 büyütme, villus epitelinde dejenerasyon, c.x40 büyütme, yıldız; inflamasyon hücrelerin infiltrasyonu. H&E boyaması.



Şekil 4.8. EC2 grubuna ait bağırsak dokusu kesit görüntüleri. a. x20 büyütme, goblet hücrelerin sayısında farkedilir artış, b.c. x20 büyütme, inflamasyon hücrelerin oluşturduğu infiltrasyon alanları, d.x40 büyütme, villus epitelinde dejenerasyon görüntüsü. H&E boyaması.



Şekil 4.9. SA1 grubuna ait bağırsak kesiti görüntüleri. a. x20 büyütme, yıldız; villus epitelinde dejenerasyon, ok; lamina propria dejenerasyonu. H&E boyaması.



Şekil 4.10. SA2 grubuna ait bağırsak kesit görüntüleri. a. x20 büyütme. Villus epitelinde ileri düzeyde bozulma, goblet sayısında artış görünümü. b. x40 büyütme c. x20 büyütme. Kırmızı ok; epitelde dökülme, siyah ok; infiltrasyon alanı, yıldız; yoğun epitel dejenerasyonu. H&E boyaması.

4.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları

4.2.1. Histolojik Verilerin Analizi

Tablo 4.1. Deney gruplarının karaciğer dokusuna ait hasar skorları

Ortalama±standart sapma			
Grup	Hücre infiltrasyonu	Sinuzoidal genişleme	Hücresel/Sinüzoidal vakuolizasyon
Kontrol	0,20±0,44	0,60±0,54	0,60±0,54
EC1	2,00±0,00	1,40±0,54	1,40±0,54
EC2	3,00±0,00	2,60±0,54	2,40±0,54
SA1	1,20±0,44	1,00±0,00	1,20±0,44
SA2	3,00±0,00	2,20±0,44	2,00±0,00

Tablo 4.2. Deney gruplarının bağırsak dokusuna ait hasar skorları

Ortalama±standart sapma			
Grup	Hücre infiltrasyonu	Goblet hücresi sayısında artış	Villus epiteli dejenerasyonu
Kontrol	0,00±0,00	0,40±0,54	0,40±0,54
EC1	1,20±0,44	1,20±0,44	1,80±0,44
EC2	2,60±0,54	1,80±1,09	2,60±0,54
SA1	1,40±0,54	1,00±0,70	2,00±0,00
SA2	3,00±0,00	1,80±0,44	2,60±0,54

4.2.1.1. Verilerin Kruskal Wallis Test Sonuçlarına Göre Değerlendirilmesi

Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığını göstermek amacıyla Kruskal Wallis Testi yapılmıştır. Karaciğer dokusu için infiltrasyon, sinuzoidlerde genişleme ve vakuolizasyon kriterleri açısından Kontrol, EC1, EC2, SA1 ve SA2 grupları arasında önemli farklılık gözlemlendiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bağırsak dokusu için infiltrasyon, goblet hücre sayısı artışı ve epitel dejenerasyonu değerlendirilmiş ve yine gruplar arası karşılaştırma yapıldığında Kontrol, EC1, EC2, SA1 ve SA2 grupları arasında anlamlı fark olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Karaciğer ve bağırsak doku hasarı için grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Test sonuçları ($p<0,05$; anlamlı fark)

KARACİĞER	İnfiltrasyon	Sinuzoidal genişleme	Hücrel/Sinüzoidal vakuolizasyon
Kruskal Wallis Test	23,182	19,147	17,181
df	4	4	4
p	,000	,001	,002
BAĞIRSAK	Hücre infiltrasyonu	Goblet hücresi sayısında artış	Villus epiteli dejenerasyonu
Kruskal Wallis Test	21,566	10,556	17,902
df	4	4	4
p	,000	,032	,001

4.2.1.2. Karaciğerde Hasar Sonuçlarının Mann-Whitney Test Sonuçlarına Göre Değerlendirilmesi

Mann-Whitney Test'ine göre yapılan değerlendirilmede kontrol ile diğer grupların karşılaştırılması ele alınmıştır.

Kontrol grubuna ait karaciğer dokusun histolojik olarak normal düzende olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde infiltrasyon değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $0,20\pm0,44$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). *E. coli* ile enfekte olan gruplar incelendiğinde EC1 grubuna ait doku örneklerinde infiltrasyon değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $2,00\pm0,00$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). Buna göre Kontrol grubu ile kıyaslandığında infiltrasyon açısından anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.4). EC2 grubunda infiltrasyon skor ortalaması $3,00\pm0,00$ olarak saptanmış ve yine Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.5). *S. aureus* ile enfekte olan deney gruplarına bakıldığında SA1 grubuna ait infiltrasyon skor ortalaması $1,20\pm0,44$ olarak, SA2 grubuna ait skor ortalaması $3,00\pm0,00$ olarak bulunmuş olup her iki grup da Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.6) (Tablo 4.7).

Kontrol grubuna ait doku örneklerinde sinuzoidal genişleme değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $0,60\pm0,54$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). *E. coli* ile enfekte olan gruplara incelendiğinde EC1 grubuna ait doku örneklerinde sinuzoidal genişleme değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $1,40\pm0,54$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Buna göre Kontrol grubu EC1 grubu kıyaslandığında sinuzoidal genişleme açısından anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.4). EC2 grubunda sinuzoidal genişleme skor ortalaması $2,60\pm0,54$ olarak saptanmış

ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 4.5). *S. aureus* ile enfekte olan deney gruplarına bakıldığında SA1 grubuna ait sinuzoidal genişleme skor ortalaması $1,00\pm0,00$ olarak, SA2 grubuna ait skor ortalaması $2,20\pm0,44$ olarak bulunmuş olup SA1 grubu Kontrol ile kıyaslandığında anlamlı fark olmadığı gözlenirken ($p>0,05$) (Tablo 4.6), SA2 grubu ile Kontrol arasında bir fark saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.7).

Kontrol grubuna ait doku örneklerinde vakuolizasyon değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $0,60\pm0,54$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). *E. coli* ile enfekte olan gruplar incelendiğinde EC1 grubuna ait doku örneklerinde vakuolizasyon değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $1,40\pm0,54$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). Buna göre Kontrol grubu ile kıyaslandığında vakuolizasyon açısından anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.4). Buna karşın EC2 grubunda vakuolizasyon skor ortalaması $2,40\pm0,54$ olarak saptanmış ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.5). *S. aureus* ile enfekte olan deney gruplarına bakıldığında SA1 grubuna ait vakuolizasyon skor ortalaması $1,20\pm0,44$ olarak, SA2 grubuna ait skor ortalaması $2,00\pm0,00$ olarak bulunmuş olup, SA1 grubu Kontrol ile kıyaslandığında anlamlı fark olmadığı gözlenirken ($p>0,05$) (Tablo 4.6), SA2 grubu ile Kontrol arasında bir fark saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.4. Kontrol grubu ile EC1 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Sinuzoidal genişleme	Hücresel/Sinüzoidal vakuolizasyon
Mann-Whitney U	,000	4,500	4,500
Wilcoxon W	15,000	19,500	19,500
Z	-2,887	-2,694	-1,897
p	,004	,058	,058

Tablo 4.5. Kontrol grubu ile EC2 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Sinuzoidal genişleme	Hücresel/Sinüzoidal vakuolizasyon
Mann-Whitney U	,000	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000
Z	-2,887	-2,694	-2,694
p	,004	,007	,007

Tablo 4.6. Kontrol grubu ile SA1 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Sinuzoidal genişleme	Hücrel/Sinüzoidal vakuolizasyon
Mann-Whitney U	2,000	7,500	6,000
Wilcoxon W	17,000	22,500	21,000
Z	-2,425	-1,500	-1,678
p	,015	,134	,093

Tablo 4.7. Kontrol grubu ile SA2 grubunun karşılaştırılması için Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Sinuzoidal genişleme	Hücrel/Sinüzoidal vakuolizasyon
Mann-Whitney U	,000	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000
Z	-2,887	-2,739	-2,835
p	,004	,006	,005

4.2.1.3. Bağırsak Dokusuna Ait Hasar Sonuçlarının Mann-Whitney Test Sonuçlarına Göre Değerlendirilmesi

Kontrol grubuna ait bağırsak dokusu normal histolojik görünümdeydi. Kontrol grubuna ait doku örneklerinde infiltrasyon değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $0,00 \pm 0,00$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). *E. coli* ile enfekte olan gruplar incelendiğinde EC1 grubuna ait doku örneklerinde infiltrasyon değerlendirilmesi yapıldığında skor ortalaması $1,20 \pm 0,44$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). Buna göre Kontrol grubu ile kıyaslandığında infiltrasyon açısından anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 4.8). EC2 grubunda infiltrasyon skor ortalaması $2,60 \pm 0,54$ olarak saptanmış ve yine Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 4.9). *S. aureus* ile enfekte olan deney gruplarına bakıldığında SA1 grubuna ait infiltrasyon skor ortalaması $1,40 \pm 0,54$ olarak, SA2 grubuna ait skor ortalaması $3,00 \pm 0,00$ olarak bulunmuş olup her iki grup da kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 4.10) (Tablo 4.11).

Kontrol grubuna ait doku örneklerinde goblet hücrelerinin sayısındaki artış için skor ortalaması $0,40 \pm 0,54$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). *E. coli* ile enfekte olan gruplar incelendiğinde EC1 grubuna ait doku örneklerinde goblet hücre sayısı nispeten artış gösterdiği görülmüş ve skor ortalaması $1,20 \pm 0,44$ olarak bulunmuştur

(Tablo 4.1). Buna göre Kontrol grubu ile kıyaslandığında goblet hücre sayısındaki artış açısından anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.8). EC2 grubunda goblet hücre sayısındaki artışın skor ortalaması $1,80\pm1,09$ olarak belirlenmiş ve yine Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.9). *S. aureus* ile enfekte olan deney gruplarına bakıldığında SA1 grubuna ait goblet hücre sayısı skor ortalaması $1,00\pm0,70$ olarak, SA2 grubuna ait skor ortalaması $1,80\pm0,44$ olarak bulunmuş olup, SA1 ile Kontrol grubu arasında anlamlı fark olmamakla birlikte (Tablo 4.10), SA2 grubu ve Kontrol arasında anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.11).

Kontrol grubuna ait doku örneklerinde villus epitelindeki dejenerasyon için hasar skor ortalaması $0,40\pm0,54$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). *E. coli* ile enfekte olan gruplar incelendiğinde EC1 grubuna ait doku örneklerinde dejenerasyon skor ortalaması $1,80\pm0,44$ olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). Buna göre Kontrol grubu ile kıyaslandığında epitel dejenerasyonu açısından anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0.05$) (Tablo 4.8). EC2 grubunda dejenerasyon skor ortalaması $2,60\pm0,54$ olarak saptandı ve yine Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.9). *S. aureus* ile enfekte olan deney gruplarına bakıldığında SA1 grubuna ait epitel dejenerasyonu skor ortalaması $2,00\pm0,00$ olarak, SA2 grubuna ait skor ortalaması $2,60\pm0,54$ olarak bulunmuş olup her iki grubunda Kontrol grubu ile arasında anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.10) (Tablo 4.11).

Tablo 4.8. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile EC1 grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Goblet hücresi sayısında artış	Villus epiteli dejenerasyonu
Mann-Whitney U	,000	4,000	1,000
Wilcoxon W	15,000	19,000	16,000
Z	-2,887	-2,032	-2,545
p değeri	,004	,042	,011

Tablo 4.9. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile EC2 grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Goblet hücresi sayısında artış	Villus epiteli dejenerasyonu
Mann-Whitney U	,000	3,500	,000
Wilcoxon W	15,000	18,500	15,000
Z	-2,835	-1,972	-2,694
p değeri	,005	,049	,007

Tablo 4.10. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile SA1 grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Goblet hücresi sayısında artış	Villus epiteli dejenerasyonu
Mann-Whitney U	,000	6,500	,000
Wilcoxon W	15,000	21,500	15,000
Z	-2,835	-1,386	-2,835
p değeri	,005	,166	,005

Tablo 4.11. Bağırsak dokusu için Kontrol grubu ile SA2 grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test sonuçları

	Hücre infiltrasyonu	Goblet hücresi sayısında artış	Villus epiteli dejenerasyonu
Mann-Whitney U	,000	1,000	,000
Wilcoxon W	15,000	16,000	15,000
Z	-3,000	-2,545	-2,694
p değeri	,003	,011	,007

4.2.2. Total Antioksidan Kapasite ve Nitrik Oksit Verilerinin İstatistiksel Analizi

Verilerin ANOVA testi (tek yönlü varyans analizi) sonuçlarına göre değerlendirilmesinde Kontrol ile EC1, EC2, SA1 ve SA2 grupları karşılaştırıldığında TAK ve NO seviyeleri açısından kontrol ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamasına rağmen her iki parametrede de artışlar olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.12).

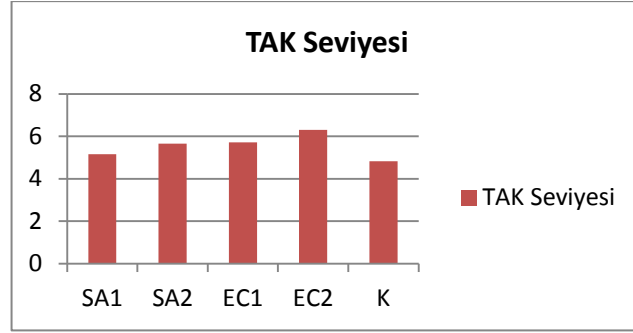
Tablo 4.12. Grupların TAK ve NO açısından karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları (* p<0.05 olarak kabul edildi)

		Kareler		Kareler	
		Toplamı	df	Ortalaması	p
Total Antioksidan Kapasite	Gruplar arası	6,432	4	1,608	,166
	Grup içi	17,765	20	,888	
	Toplam	24,197	24		
Nitrik Oksit Seviyesi	Gruplar arası	92,945	4	23,236	,753
	Grup içi	977,573	20	48,879	
	Toplam	1070,518	24		

Araştırmaya dahil edilen kontrol grubundaki ratlara ait serum örnekleri çalışıldığında total antioksidan kapasite ortalaması $4,83 \pm 1,09$ olarak bulunmuştur. *E. coli* ve *S. aureus* uygulanan ve iki farklı zamanda sakrifiye edilen enfeksiyon gruplarında ise TAK değerleri kısmı bir artış göstermiştir. SA1 ve SA2 gruplarına ait ortalama TAK seviyeleri sırasıyla $5,16 \pm 0,62$ ile $5,65 \pm 0,89$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler Kontrol grubu ile kıyaslandığında, *S. aureus* ile enfeksiyondan 12 ve 24 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermemesine rağmen TAK değerlerinde artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.11) Aynı şekilde EC1 ve EC2 grubuna ait ratlarda çalışılan serum örneklerinde TAK seviyeleri belirlenmiş ve sırasıyla $5,72 \pm 0,76$ ve $6,31 \pm 1,20$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.13). *E. coli* gruplarındaki TAK değerlendirmesi Kontrol ile kıyaslandığında anlamlı bir artış olmadığı görülmüş ancak artışlar olduğu ve bu artışların da *S. aureus* grubuna kıyasla fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil. 4.11).

Tablo 4.13. Grupların ortalama Total Antioksidan Kapasite (TAK) değerleri (U/ml)

Grup	Ort. değer±standart sapma	n
Kontrol	$4,83 \pm 1,09$	5
SA1	$5,16 \pm 0,62$	5
SA2	$5,65 \pm 0,89$	5
EC1	$5,72 \pm 0,76$	5
EC2	$6,31 \pm 1,20$	5

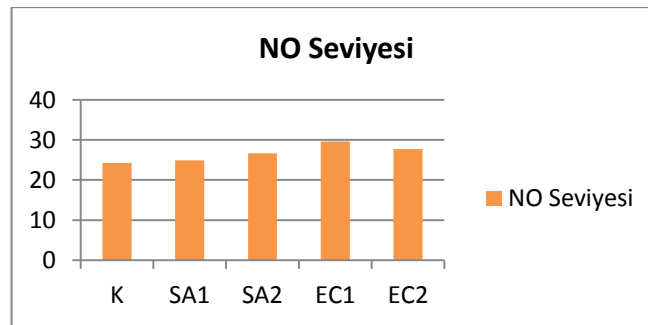


Şekil 4.11. Grupların TAK seviyelerinin karşılaştırılması (U/ml)

Çalışmada kontrol grubundaki ratlara ait serum örneklerinde NO seviyeleri $24,25 \pm 7,45$ olarak bulunmuştur. *E. coli* ve *S. aureus* uygulanan ve iki farklı zamanda sakrifiye edilen enfeksiyon gruplarında ise NO değerleri kısmı bir artış göstermiştir. SA1 ve SA2 gruplarına ait ortalama NO seviyeleri sırasıyla $24,88 \pm 7,26$ ile $26,63 \pm 5,82$ olarak bulunmuştur. Bu değerler Kontrol grubu ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, NO değerlerinde artışlar olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde EC1 ve EC2 grubuna ait ratlarda çalışılan serum örneklerinde NO seviyeleri belirlenmiş ve sırasıyla $29,59 \pm 7,26$ ve $27,68 \pm 7,01$ olarak bulunmuştur. *E. coli* gruplarındaki NO değerlendirmesi Kontrol ile kıyaslandığında anlamlı bir artış olmadığı belirlenmiş (Tablo 4.12) ancak *S. aureus* grubuna kıyasla NO seviyelerinin yüksek olduğu izlenmiştir (Şekil 4.12).

Tablo 4.14. Grupların ortalama Nitrik Oksit (NO) değerleri ($\mu\text{mol/l}$)

Grup	Ort. değer $\pm$ standart sapma	n
Kontrol	$24,25 \pm 7,45$	5
SA1	$24,88 \pm 7,26$	5
SA2	$26,63 \pm 5,82$	5
EC1	$29,59 \pm 7,26$	5
EC2	$27,68 \pm 7,01$	5



Şekil 4.12. Grupların NO değerlerinin kıyaslanması

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Besin zehirlenmeleri hafif klinik etkiler oluşturabileceği gibi, ölümcül etkilere de sebep olabilir. Besin zehirlenmeleri diğer zehirlenme vakaları gibi adli vaka olarak değerlendirilmelidir. Mikrobiyal patojenlerden gıda intoksikasyonuna sebep olan bakteriler arasında *Staphylococcus aureus*, patojenik olan *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica* gibi mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bunların neden olduğu gıda zehirlenmeleri sonucunda gastrointestinal rahatsızlıklar, ateş, nörolojik bulgular ve ayrıca bazı vakalarda ölüm de görülebilmektedir.

Escherichia coli, kısa çomak şekilli, gram (-), fakültatif anaerofilik bakteri olup, insanlar ve sıcakkanlı canlıların doğal bağırsak florasında yer alan bir mikroorganizmadır. Bazı suşları peritrik flagelları ile hareketlidir. Ciddi hastalıklara sebep olması ve enfeksiyon oluşturmaları için çok küçük bir dozun etkili olması nedeniyle besin kaynaklı patojenler arasında önemli bir yeri vardır (Gordillo et al., 2011). Kaynağı genellikle genç sığırlar, geyik, kuzu, koyun, keçi, tavuk, domuz, kedi, köpek ve martı olarak verilebilir (Temelli, 2002). Patojenin dışkıdaki yaygınlığı %0-10 arasında değişmekte ve özellikle sığır dışkılarında 70 gün kadar sürede 5°C’de canlılığını koruyabildiği belirlenmiştir (Temelli, 2002)

Staphylococcal gıda zehirlenmeleri ise enterotoksijenik stafilokok türlerinin gıdalarda üremeleri sırasında sentezledikleri, gastrointestinal sistem üzerine etkili olan enterotoksinlerin meydana getirdiği gıda kaynaklı intoksikasyonlardır. Patojen özellikteki cinsin en önemli üyesi olan *S. aureus*'un, optimum üreme sıcaklığı 37 °C, toksin oluşturabilme optimum aralığı ise 40-45 °C olarak tespit edilmiştir. *S. aureus*'un pek çok toksini bulunmakla birlikte özellikle *Staphylococcal Enterotoksin A* gıda zehirlenmelerinde oldukça sık karşılaşılan türdür (Günday, 2017).

E. coli O157:H7 kullanılarak enfekte edilen ratlarda hepatorenal etkilerin gösterildiği bir çalışmada ratlara 1.0×10^9 cfu/mL dozunda hazırlanan solüsyon oral yolla verilmiş ve deney sonunda karaciğerde hepatositler dejenerasyon ve buna bağlı olarak yağlanma olduğu gözlenmiştir (İsmail, 2022). Tüm bu histopatolojik sonuçlar biyokimyasal verilerle birlikte değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda da aynı dozda etken gavaj yoluyla uygulanmış ve karaciğerde ileri düzeyde dejenerasyon tespit edilmiştir. Ayrıca yer yer vakuol oluşumu belirlenmiş ve literatürde bu

oluşumun yağlanma ile karıştırılabileceği yer aldığı için değerlendirme sınırlı tutulmuştur.

Çalışmamızla uyumlu olarak 2018’de yapılan bir araştırmada *E. coli* uygulamasının ardından ratlarda zamana bağlı değişimlerin histopatolojik etkisi 21 güne kadar farklı zaman aralıklarında değerlendirilmiştir. Gün geçtikçe bakterinin dokudaki varlığının azaldığı görülmüş, karaciğerde konjesyon oluşumundan, nötrofil infiltrasyonu ve sentral vende nekroz oluşumuna kadar hasarın ilerlediği gözlenmiştir (Ali ve diğ., 2018). Sonuçların bizim verilerimizle benzer olduğu görülmüş olup çalışmamızda tüm enfeksiyon gruplarında özellikle karaciğer infiltrasyon düzeyindeki değerlendirmede hasar boyutunun zamana bağlı olarak arttığı tespit edildi.

Çalışmamızda karaciğer ve bağırsak dokusunda iki zaman diliminde meydana gelen histopatolojik hasarlar değerlendirilmiş ve ayrıca total antioksidan kapasite nitrik oksit düzeyleri tespit edilmiştir. Nitrik oksit seviyesi oksidatif stres belirteci olarak, total antioksidan kapasite (TAK) ise oksidatif stres ile mücadele eden antioksidan savunma sisteminin göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Nitrik oksit, dokuda hasara yol açan başlıca serbest radikal olan peroksinitritin üretimini artırmaktadır. Histopatolojik değerlendirmede karaciğer ve bağırsakta 24 saatlik gruba (EC2-SA2) ait hasarlar 12 saat (EC1-SA1) grubuna kıyasla nispeten artmış durumdaydı. Çalışmamızda kısa süreli uygulama olsa da bu sürede hücre düzeyindeki hasarlar saptanmıştır. Ayrıca deney gruplarına ait serum örneklerinde belirlenen total antioksidan kapasite ve nitrik oksit seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen tüm gruplarda kontrole göre artışlar saptanmıştır.

Evirgen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çalışmamıza benzer şekilde 1.0×10^9 cfu/mL *E. coli* ile enfekte edilen ratlarda oksidatif DNA hasarını gösteren parametre olan MDA değeri ile böbrek histopatolojisi üç zaman diliminde (24,48,72 sa) değerlendirilmiş, MDA değerinde düşüşle birlikte ileri düzeyde renal dejenerasyon olduğu gösterilmiştir (Evirgen ve diğ., 2011). Bu çalışma histopatolojik hasarla oksidatif stres parametresinin zamanla kıyaslanması açısından çalışmamızla benzerlik oluşturmaktadır.

Asahara ve arkadaşlarının 2004’ deki çalışmasında da *E. coli* 0157:H7 suşunun 5×10^3 cfu miktarı oral olarak uygulandığında (12-18-24 sa) böbrek dokusunun tübüler endotelial hücrelerinde nekrotik alanlar gösterilmiştir (Asahara et al., 2004).

Düşük doz uygulamada bile ileri düzey doku hasarının gösterilmesi bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Bu çalışmadan farklı olarak karaciğer ve bağırsak histopatolojisinin gösterildiği çalışmamızda 12 ve 24 saat sonra doku hasarları tespit edildi ve her iki dokuda da dejenerasyona bağlı negrotik alanlar tespit edilmiştir.

Kaymak ve arkadaşlarının 2008’ de yaptıkları bir çalışmada *E. coli* ile deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda 6.,12. ve 24. saatlerde total antioksidan seviyeleri değerlendirilmiş, gruplar arası kıyaslamada 24. saat sonuçları diğer gruplara göre anlamlı şekilde düşüş göstermiştir. Ayrıca karaciğerde bakteriyolojik değerlendirme sonucu da pozitifdir (Kaymak ve diğ., 2008). Bu çalışma bizim çalışmamızla süre ve çalışılan parametre açısından benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda *E.coli* uygulamasını takiben 12 ve 24 saat sonra TAK seviyeleri değerlendirilmiş enfeksiyon gruplarına ait sonuçlar bu çalışmanın aksine artış göstermiştir.

Literatürde besin zehirlenmesi etkeni olan bakterilerin farklı toksinlerinin oluşturduğu enfeksiyonları incelemek için çeşitli hayvan modelleri kullanıldığı çalışmalar gösterilmiştir (Rajkovic et al., 2020). Vaka ve deneysel çalışmaları kapsayan çeşitli araştırmalarda bakteriyal besin zehirlenmelerinde histolojik değerlendirmeler yapılmıştır (Laganà et al., 2017; Yamaguchi et al., 2015; Ogata et al., 2009; Caserta et al., 2011). Ancak *Staphylococcus aureus* ve *E. coli*'ye bağlı besin zehirlenmeleriyle ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır (Ezurike et al., 2007; Mohawk et al., 2010; Ali ve diğ., 2018; Hamza ve diğ., 2020).

Adli histopatoloji, adli tıbbın başlangıcından bu yana tanıda önemli bir yere sahiptir. Adli otopsilerde ilk olarak rutin histopatolojik incelemeler yapılmalı, bu aşama diğer değerlendirmeleri yapabilmek için bir ön inceleme yöntemi olarak kullanılmalıdır. Temel olarak bakterilerin dokuda gösterilmesi gerektiğinde rutin bir Gram boyama kullanılmakta, genel histopatoloji içinse hematoksilen-eozin boyası tercih edilmektedir. Bu çalışmada histopatolojik hasar değerlendirmesi Hematoksilen –Eosin boyası kullanılarak yapılmıştır. Karaciğer ve bağırsak dokusunda oluşan genel hasarlar skorlama yöntemiyle tespit edilmiştir.

Histopatoloji ölüm nedeninin saptanmasının dışında bazı yasal sorulara da cevap olmaktadır. Bunlar; hastalıkların histomorfolojik kronolojisi; canlılık bulgularının gösterilmesi; yara yaşının saptanması (myokard infarktüsü, cilt yaraları, subdural hematom gibi olgularda); mikroskopik bulguların hastanın hikayesi, postmortem biyokimya, toksikolojik bulgular, suçla ilişkili incelemelerle

sınıflandırılması, doku fragmanlarının mikroskopik tanımlanması; hücrelerin histolojik olarak saptanması (Cinsel saldırılarda spermatozoaların gösterilmesi gibi) (Dettmeyer, 2011). Biz de çalışmamızın besin zehirlenmesi modeli oluşturarak kısa sürede bile doku hasarı oluştuğunu ve zehirlenme süphesi olan hastalarda uygun tedavinin kısa zamanda planlanması için bir belirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

2018’de yapılan bir araştırmada *S. aureus* enfeksiyonu sonucu rat karaciğerindeki histopatolojik değişiklikler biyokimyasal parametrelerle birlikte değerlendirilmiş, sentral vende tıkanıklık ve konjesyon, hepatositlerde vakuol oluşumu, hepatosit dejenerasyonu, damarlar arası infiltrasyon gibi çeşitli patolojik hasarlar belirlenmiştir. Çalışmalarımızla Elkomy’nin sonucu paralellik oluşturmaktadır (Elkomy et al.,2018).

S. aureus’un neden olduğu organ histopatolojisinin araştırıldığı başka bir çalışmada akciğer hasarına ek olarak yine ileri düzey karaciğer hasarının olduğu saptanmıştır (Fauzi et al., 2012). Bu çalışmada 1×10^2 dozunda intraperitoneal olarak uygulamadan sonra karaciğerde nekroz ile mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da en belirgin hasarlardan birisi hücre infiltrasyonu olarak saptanmıştır. Bu anlamda bu araştırma da çalışmamıza katkı sağlamaktadır. Ancak bu araştırmadan farklı olarak bizim araştırmamız, besin zehirlenmesini taklit edecek şekilde oral yolla bakteri uygulaması yapılması yönünden daha etkin bir model oluşturmaktadır.

Nassar ve arkadaşlarının 2018’de yaptıkları bir araştırmada ratlara 10^8 cfu/rat dozunda *S. aureus*, hem oral hem de intraperitoneal olarak uygulanmış ve biyokimyasal parametrelerle birlikte histolojik değerlendirme yapılmıştır. Uygulama şekline bağlı olarak histolojik hasar düzeyinde ve bazı parametrelerde farklılık gözlenmiştir (Nassar et al., 2018). Bu da etkenin uygulanma şeklinin önemini göstermektedir. Yaptığımız araştırma, bu açıdan bakıldığında oral uygulamanın gerçekçi bir yaklaşım olduğunu desteklemektedir.

2021’de yapılan bir araştırmada 2 doz intraperitoneal *S. aureus* uygulamasını takiben karaciğer, dalak, akciğer ve böbrekler histolojik olarak incelenmiş ve karaciğer doku örneklerinde bizim çalışmamıza benzer histopatolojik bulgular saptanmış ve hasar düzeyleri skorlama yöntemiyle belirlenmiştir (Hassanen and Ragab, 2021).

Araştırmamıza temel olacak şekilde yaptığımız literatür taramasında besin zehirlenmesi etkenleri olan patojenik *E. coli* ve *S. aureus* ile oluşturulan deneysel modellerde histopatolojik hasarlar ile çeşitli biyokimyasal, inflamatuvar belirteçlerin kıyaslandığı görülmüştür (Li et al., 2021; Prasad et al., 2011; Bette et al., 2003; Radwan et al., 2021; Widianingrum and Salasia, 2021). Ancak histopatolojik hasara ek olarak NO ve TAK seviyelerinin birlikte değerlendirildiği literatürlere az rastlanmıştır (Bali ve diğ., 2016; Elbaz ve diğ., 2020). Çalışmamızda bu verilerden yola çıkarak önemli gıda zehirlenmesi patojeni olan ve adli vakalara konu olan *E. coli* ve *S. aureus* için özellikle oral olarak alımından sonra 12 sa ve 24 sa gibi kısa sürelerde ne derece patolojik sonuçlar doğuruyor?’ ve ‘NO ile TAK seviyesi bu zehirlenmeler için ilk 24 saatte ne derece değişiyor?’ sorularına yanıt aramak için bu tez konusunu belirlenmiştir. Nitrik oksit seviyesi oksidatif stres belirteci olarak, total antioksidan kapasite (TAK) ise oksidatif stres ile mücadele eden antioksidan savunma sisteminin göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

E. coli’nin deneysel enfeksiyonunda akciğer hasarı incelenmiş ve ek olarak içerisinde total antioksidan kapasitenin de yer aldığı çeşitli oksidatif stres parametreleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada enfeksiyondan 24 saat sonra elde edilen serum örneklerinde TAK seviyesinin kontrole kıyasla nispeten düştüğü görülmüştür (Bali ve diğ., 2016). Bizim çalışmamızda da TAK seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır. Bunun dışında 2020’deki bir çalışmada da *E. coli* enfeksiyonunun karaciğerde oluşturduğu hasara ek olarak nitrik oksit seviyesi değerlendirilmiş ve bizim çalışmamızla uyumlu olarak NO seviyesinde artış olduğu bulunmuştur (Elbaz ve diğ., 2020). Çalışmamızda *E. coli* O157-H7 oluşturulan modelde karaciğerde 12. ve 24. saatte oluşan çeşitli hasarlar gösterilmiş ve kontrole kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 4.2.) (Şekil 4.3) (Tablo 4.4) (Tablo 4.5). Ayrıca NO seviyesindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olmasına rağmen Kontrol grubuyla kıyaslandığında uygulama süresine bağlı olarak artış olduğu gözlenmiştir.

Araştırmamızda elde edilen sonuçlar tüm dünyada büyük bir sağlık sorunu olan besin zehirlenmelerinde tedavinin kısa sürede doğru şekilde planlanabilmesi ve ölüm sonrası araştırmalarda ölüm sebebinin araştırılmasında ek bilgi sağlanabilmesi açısından önem taşımaktadır.

Besin zehirlenmesini takiben 24 saat içerisinde ciddi doku hasarının ortaya çıkması bu konunun önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda bu sürede serum TAK ve NO düzeylerinde hafif artışın gözlenmesi, oluşan oksidatif stresin 24 saatte oluşmaya başladığını ve buna bağlı olarak vücudun toplam antioksidan kapasitesinin artmış olabileceğini gösterebilir.

Ayrıca araştırmamızda besin zehirlenmesi etkenleri olan *S. aureus* ve *E. coli* O157H7'nin gavaj yoluyla uygulanmış olması ve 12 ile 24 saat sürede sonuçların değerlendirilmesi yönünden etkin bir besin zehirlenmesi modeli oluşturulmuştur.

Belirlediğimiz bu iki zaman dilimi, zehirlenmedeki ilk 24 saatte etkilerin görülmesi ile hastaneye başvuru sonrası yapılacak müdahale için dokuların ne düzeyde etkilendiğinin bilinmesi açısından da önem taşımaktadır. Bu nedenle daha uzun zaman dilimlerinde değerlendirilmek üzere konunun daha detaylı bir şekilde araştırılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbott, S.L., Hanson, D.F., Felland, T.D., Connell, S., Shum, A.H., Janda, J.M. (1994). *Escherichia coli* O157:H7 generates a unique biochemical profile on MicroScan conventional gram-negative identification panels. *J Clin Microbiol.*, 32, 823-824.
- Akan, M., Diker, K.S., Çarlı, T., Yardımcı, H., Şen, A., Sareyyüpoğlu, B. (2013). *Veteriner Mikrobiyolojisi ve Epidemiyolojisi*. Açıköğretim Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Ali, I.H., Jabir, M.S., Al-Shmgani, H.S.A. , Sulaiman, G.M., Sadoon, A.H. (2018). Pathological And Immunological Study On Infection With *Escherichia Coli* In ale BALB/c mice. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series* 1003. 012009.
- Asahara, T., Shimizu, K., Nomoto, K., Hamabata, T., Ozawa, A., Takeda, Y. (2004). Probiotic Bifidobacteria Protect Mice from Lethal Infection with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157:H7. *Infection And Immunity*, 72(4), 2240–2247.
- Bannerman, T.L. and Peacock, S.J. (2007). *Staphylococcus, Micrococcus* and other catalase positive cocci. (s. 390-411). In, P.R., Murray, E.J., Baron, J.H., Jorgenson, M.L., Landry, M.A.(eds.). *Manuel of Clinical Microbiology* (9th ed.). Washington D.C: ASM Press.
- Bali, Ç., Altıntaş, N., Özmete, Ö., Gelincik, İ., Yabanoglu, H., Tekin, N., Altınsoy, B., Turan, B.C., Ariboğan, A. (2016). Protective Effect of Curcumin on Carbapenem-Resistant *Escherichia coli*-Induced Lung Injury in Rats. *Int Surg.*, 101, 304–312.
- Basmacı, N. (2017). *Ratlarda İntestinal İskemi / Reperfüzyon Modelinde Propofol, Tiyopental, Tiyopentale Eklenen NAC veya Lidokainin; Total Oksidatif Stres, Total Antioksidan Durum ve Histopatolojik Açıdan Karşılaştırılması*. Abant İzzet Baysal Üni., Tıp Fak., Anesteziyoloji e Reanimasyon ABD, Uzmanlık Tezi.
- Baysal, B. (2004). “*Escherichia coli*”. T. Cengiz, A. Mısırlıgil ve M. Aydın (editörler). *Tıp ve dış hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji*. (s. 454- 458). Ankara: I.B. Güneş Kitabevi.
- Bekar, E. (2019). Etlerde *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), Kars.
- Bergdoll, M.S. (1991). *Staphylococcus aureus*. *Journal-Association of Official Analytical Chemists*, 74, 706-710.
- Bilgehan, H. (1992). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Ankara: I. B. Fakülteler Kitabevi.
- Boerlin, P., Mceven, S. A., Petzold, F. B., Wilson, J. B., Jhonson, R. P., Gyles, C. L. (1999). Associations Between Virulence Factors of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Disease in Humans. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(3), 497-503.
- Bryne, C.M., Erol, İ., Call, J.E., Kaspar, W., Buege, D.R., Hiemke, C.J., Feodarka-Cray, P.J., Benson, A.K., Wallace, F.M., Lunhansky, J.B. (2003). Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from Downer and Healthy Dairy Cattle in the Upper Midwest Region of the United States. *Applied And Environmental Microbiology*, 69(8), 4683–4688.
- Caserta, J.A., Robertson, S.L., Saputo, J., Shrestha, A., McClane, B.A., Uzal, F.A. (2011). Development and Application of a Mouse Intestinal Loop Model To Study the In Vivo Action of *Clostridium perfringens* Enterotoxin. *INFECTION AND IMMUNITY*, p. 3020 -3027 Vol. 79, No. 8.,
- Chapman, P.F., Atkins, C.M., Allen, M.T., Haley, J.E., Steinmetz, J.E. (1992). Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning. *Neuroreport: An*

- Coburn, R.F. (1970). The carbon monoxide body stores. *Ann N Y Acad Sci*, 174, 11-22.
- Çakan, H., Sirekbasan, S. (2020). *Adli Bilimlerde Gıda Zehirlenmeleri*. Gündoğmuş Ün (ed.). Adli Mikrobiyoloji. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; p.19-25.
- Çalışkan, Z. (2019). *Lavanta esansiyel yağlarının köftede Escherichia coli O157:H7 ile köftenin duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine olan etkisi*. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Burdur.
- Çiçek, E. (2008). *Ege bölgesindeki sığırların süt ve dışkı örneklerinden Escherichia coli O157:H7 izolasyonu ve verotoksinlerinin belirlenmesi*. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- de la Grandmaison, G.L., Charlier, P., Durigon, M. (2010). Usefulness of systematic histological examination in routine forensic autopsy. *J Forensic Sci*. 55(1), 85-8.
- Dettmeyer, R.B. (2011). Introduction. Forensic Histopathology: Fundamentals and Perspectives. 1st ed. Berlin: Springer-Verlag. p.1-14.
- Dinges, M.M., Orwin, P.M. (2000). Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus. *Clinical Microbiology Reviews*. 13(1), 16-34.
- Dunn, J. R. (2003). The Epidemiology of Shiga – Toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Louisiana Dairy Cattle, Beef Cattle and White – Tailed Deer.
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) (2014). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. 12- 3547.
- Elbaz, H.S., Hamed, M.F., Abdelhamid, F.M., Abdalla, O.A. (2020). Effect of cefepime on hematological, immunological and oxidant/antioxidant parameters in rats experimentally infected with E. coli ATCC 25922. *Mansoura Veterinary Medical Journal* 21-1, 36-45.
- Elkomy, A.A., , Elshafae R.M., Mohamed M.H., Elsayed F.I., Elshafae, S.M. (2018). Some Pharmacological Adverse Effects of Moxifloxacin and Staphylococcal Aureus in Rats. *Benha Journal of Applied Sciences (BJAS)*. 3, 2; 49-63.
- Eren, B. , Ulubay, S. , Sağır, D. , Demirel Yılmaz, B. , Mercan, S. Adverse effects of high-dose paracetamol on thyroid gland of female rats. (2020). *ADYÜ Sağlık Bilimleri Derg.*, 6(3): 311-319.
- Erol, İ., İşeri, Ö. (2004) Stafilokokal enterotoksinler. *AÜ Vet.Fak Derg.* 51, 239-45.
- Evirgen, O., Gökçe A., Ozturk O.H et al. (2011). Effect of Thymoquinone on Oxidative Stress in Escherichia coli–Induced Pyelonephritis in Rats. *Current Therapeutic Research*, 72-5.
- Ezurike, O.A., Ezeonu, I.M., Chah, K.F., Shoyinka, S.V. (2007). Histopathological Changes Induced By Staphylococcal Enterotoxin Produced In Yoghurt. *Animal Research International*, 4(1), 587 – 590.
- Fauzi, A., Setiawan, I., Ariyanti F. (2012). The Effect of Virgin coconut oil (VCO) on Staphylococcus aureus Infection in Mice (Mus musculus) Observed from different Organ Histopathology. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(2),1168-1173.
- Gaston, B., Drazen, J.M., Loscalzo, J., Stamler, J.S. (1994). Hava yollarındaki nitrojen oksitlerin biyolojisi. *Am J Respir Crit Care Med*,149-538.

- Gemmell, C. G., Lang, S. (2002). Coagulase-Negative Staphylococci and Their Role in Infection. (s.889–899). In Max Sussman (Ed.), *Molecular Medical Microbiology*. USA: Elsevier.
- Gordillo, R., Córdoba, J.J., Andrade, M.J., Luque, M.I. and Rodríguez, M. (2011). Development of PCR assays for detection of *Escherichia coli* O157: H7 in meat products. *Meat Science*, 88, 767-773.
- Güven, S. (1972). Anaerob mikroorganizmaların ve bakteriyolojik muayene metotları. *Pendik Vet Kontr Araşt Enst Yay*, 4, 13-76.
- Handayani, L., Faridah, D. N., Kusumaningrum, H. D. (2014). Staphylococcal Enterotoxin A Gene-Carrying *Staphylococcus aureus* Isolated from Foods and Its Control by Crude Alkaloid from Papaya Leaves. *Journal of Food Protection*, 77(11), 1992-1997.
- Hamza, D.A., Abd-Elsalam, M.R., Nader, S.M., Elhariri, M., Elhelw, R., El-Mahallawy, H.S. (2020). Pathways of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Animal Model: New Insights Regarding Public Health. *Infect Drug Resist*, 13, 1593 -1600, doi: 10.2147/IDR.S252332.
- Hassanen, E.I., Ragab E. (2021). In Vivo and In Vitro Assessments of the Antibacterial Potential of Chitosan-Silver Nanocomposite Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*-Induced Infection in Rats. *Biological Trace Element Research*, 199, 244–257.
- Hernandes, Cortes, C., Palma, Martinez I., Gonzales, Avila, L.U., Guerrero, Mandujano, A., Solis, R.C., Castro, Escarpulli G. (2017). Food Poisoning Caused by Bacteria (Food Toxins). Malangu, N. *Poisoning: From Specific Toxic Agents to Novel Rapid and Simplified Techniques for Analysis*, 3; 33-40.
- Ismail, H.T.H. (2022). The ameliorative efficacy of *Thymus vulgaris* essential oil against *Escherichia coli* O157:H7-induced hematological alterations, hepatorenal dysfunction and immune-inflammatory disturbances in experimentally infected rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 41476–41491.
- Jones, T.F., Kellum, M.E., Porter, S.S., Bell, M., Schaffner, W. (2002). An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis.*, 8(1), 82-4.
- Kaymak, C., Kadioglu, E., Ozcagli, E., Osmanoglu, G., Izdes, S., Agalar, C., Basar, H., Sardas, S. (2008). Oxidative DNA damage and total antioxidant status in rats during experimental gram-negative sepsis. *Human & Experimental Toxicology*, 27, 485–491.
- Koca, C., Altan, N., Dincel, A.S., Kosova, F. (2008). Tip 1 ve Tip 2 Diyabetik Hasta Serumlarında Oksidatif Stres ve Leptin Düzeylerinin incelenmesi, 100.
- Laganà, P., Delia, S., Dattilo, G., Mondello, C., Spagnolo, E.V. (2017). A case of Infective Endocarditis due to *Salmonella enterica* phagetype 35. *First report. Clin Ter*, 168, 6-397-400. doi: 10.7417/T.2017.2041.
- Levinson, W. (2008). *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*. Ankara: Öncü Basımevi.
- Li, H., Wang ,Z., Li, X. (2021). G-CSF as a potential early biomarker for diagnosis of bloodstream infection. *J. Clin. Lab. Anal.*, 35, 23592.
- Lucey, B.P., Grover, M.H. (2004). William H. Welch, MD, and the discovery of *Bacillus welchii*. *Arch Pathol Lab Med.*, 128, 1193-5.
- March, S.B., Ratnam, S. (1986). Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol*, 23, 869-872.

- Mohawk, K.L, Melton-Celsa, A.R., Zangari, T., Carroll, E.E., O'Brien A.D. (2010). Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 strain 86-24 following oral infection of BALB/c mice with an intact commensal flora. *Microb Pathog.*, 48(3-4), 131–142.
- Nassar, S. A. (2018). Oral and intraperitoneal administration of β -glucan and its immunomodulatory effect against *Staphylococcus aureus* infection in rats . *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research (eIJPPR)*, 8(2),1-7.
- Nataro, J.P., Kaper, J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.*, 11, 142-201.
- Nohl, H., Esterbauer, H., Evans C.R. (1996). Free radicals in the environment, medicine and toxicology: critical aspects and current highlights. *Free Radical Biology & Medicine*, 20; 765-766.
- Ogata, N., Ago, K., Ago, M., Nakashima, H., Hayashi, T. (2009). Food poisoning due to *Salmonella enteritidis* - A case report. *Legal Medicine*, 11, S533 -S534.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y. (2002). *İnsan biyokimyası*. Palme yayıncılık, 666.
- Öz, V., Karadayı, Ş., Çakan H., Karadayı, B., Kaya A. (2014). Acil tedavi birimlerinde gıda zehirlenmeleri. *Marmara Medical Journal*, 27, 89-95.
- Pedritis, H., Kidder, G., Ogram, A. (2002). *E.coli* O157:H7, A potential health concern. University of Florida. 1-4.
- Podkowik, M., Park, J.Y., Seo, K.S., Bystron, J. and Bania, J. (2013). Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Food Microbiology*, 163, 34–40.
- Prasad, O.H., Navya, A., Vasu, D., Chiranjeevi, T., Bhaskar, M., Sreedhar, Babu, K.V., Sarma, P.V.G.K. (2011). Protective effects of *Prosopis juliflora* against *Staphylococcus aureus* induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharm Biomed Res.*, 2(3), 172-178.
- Radwan, M., Elzoghby, R., Amin, A., Abo-Sakaya, R., Hamouda, F.A. (2021). Experimental Infection with *E. coli* O157 in Rats and Its Toxic Effect, Biochemical and Histopathological Changes with Reference to Modern Therapy. *Ann Microbiol Immunol.* 4(1), 1024.
- Rajkovic. A. et al. (2020). Detection of toxins involved in foodborne diseases caused by Gram-positive bacteria. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*. DOI: 10.1111/1541-4337.12571.
- Santiago, C.M., Fernandes, C.H., Nogueira, M.S., Veiga, E.V., Cárnio E.C. (2000). Utilização do óxido nítrico como terapêutica: implicações para a enfermagem. *Revista Latino-americana de Enfermagem*, 8; 76-82.
- Smith, L.D., Holdeman, L. (1968). The pathogenic anaerobic bacteria. Publisher; Springfield, III, Thomas.
- Tatini, S.R. (1973). Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *J Milk Food Technol*, 36, 559–563.
- Temelli, S. (2002). Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157: H7 ve önemi. *Uludağ University Journal of Faculty of Veterinary Medicine*, 21, 133-138.
- Todd, E.C.D. (1989). Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. *Journal of Food Protection*, 52, 595-601.
- Tutuş, C., Börekçi, D., Parcıklı, G., Temel, F., Sucaklı, M.B. (2015). 2013 yılında Muğla ili Marmaris ilçesinde görülen *Staphylococcus aureus* enterotoksin kaynaklı gıda zehirlenmesinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 73(2): 131 – 138.

- Tükel Ç, Doğan HB. Staphylococcus aureus. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. s357-366.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F. (1998). *Gıda Mikrobiyolojisi*, 1. Basım, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Wakabayashi, J.Y., Cheng, D.(2015). PerR-Mediated oxidative stress response in staphylococcus aureus. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 5(3), 443-9.
- Wang, Y., Hougaard, A.B., Paulander, W., Skibsted, L.H., Ingmer, H., Andersen, M.L. (2015). Catalase expression is modulated by vancomycin and ciprofloxacin and influences the formation of free radicals in staphylococcus aureus cultures. *Appl Environ Microbiol*, 81(18), 6393-8.
- Washington, C.W., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. V., Schreckenberger, P. C., Woods, G. L. (2006). Gram-positive cocci. In *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (6th edition). USA: Lippincott Williams and Wilkins, 623-671.
- Widianingrum, D.C.1, Salasia, S.I.O. (2021). Immunomodulatory Effect of Virgin Coconut Oil in Wistar Rats Infected with Staphylococcus aureus. *JITV*, 26 (1),31-38.
- Yamaguchi, R., Makino, Y., Chiba, F., Motomura, A., Inokuchi, G., Yajima, D., Iwase, H. (2015). Fatal Clostridium perfringens septicemia suggested by postmortem computed tomography: A medico-legal autopsy case report. *Forensic Science International*, 253, 4-9, ISSN 0379-0738.
- Yazıcı, Y. (2019). *Hipotiroidizm Oluşturulan Ratlarda Koenzim Q10'un Kan Plazması Nitrik Oksit Ve Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri Üzerine Etkisi*. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, YL Tezi.
- Yoon, J.W., Hovde, C.J. (2008). All blood, No stool: enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 infection. *J. Vet. Sci.*, 9(3), 219-231.
- Ziyade, N. (2012). Postmortem Mikrobiyolojik Analizler: Güncel Yaklaşım. *Adli Tıp Bülteni*, 17(1), 32-42.

EKLER

Ek 1: Etik Kurul Kararı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-68489742-604.02.03-269125
Konu : Hadyek izni hk

DOÇ. DR. MEHTAP ÜNLÜ SÖĞÜT
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT'tan 2022/26 Kabul nolu "Staphylococcal Enterotoksin A ve Clostridium perfringens Enterotoksini ile oluşturulan Besin Zehirlenmesi Modelinde Zamana Bağlı Histolojik ve İnflamatuvar Etkilerin Araştırılması" başlıklı projesi 23.06.2022 tarihli Kurul toplantısında OMU-HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Bülgelerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Ek: ETİK KURUL KARARI 2022-26 M. ÜNLÜ SÖĞÜT

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : 852K-8V118-084Y Belge Doğrulama Adresi : <https://sbysmorga.omu.edu.tr>

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü

Telefon No: 0362 312 19 19

e-Posta : omu@omu.edu.tr

Fax No : 0362 457 60 91

İnternet Adresi : <http://www.omu.edu.tr/>

Bilgi için :Hayriye ÇELİK

Varı Giriş Personeli

Telefon No:



Ek 2: Gıda Zehirlenmeleri Vaka Bildirim Fişi

FORM 018/C ZEHİRLENME VAKA BİLDİRİM FORMU	
..... İl Sağlık Müdürlüğüne	
BİLDİRENİN	
Adı Soyadı	:
Mesleği	:
Kurum Adı Adresi	:
Tarih	:/..../..
HASTANIN KİMLİK BİLGİLERİ	
T.C.Kimlik Numarası	
Soyadı	
Adı	
Baba Adı	
Yaşı	
Cinsiyeti	E ☐ K ☐
Mesleği	
HASTANIN ADRES BİLGİLERİ	
İli	
İlçesi	
Mahallesi	
Sokağı	
Apartman Numarası	
Daire Numarası	
Ev / Cep Telefonu	
ZEHİRLENME BİLGİLERİ	
Başvuru Zamanı	Tarih:/..../.. Saat: ..:..
Zehirlenmeye Neden Olan Etken	
Zehirlenmenin Olduğu Yer	
Olay Zamanı (İlk Maruziyet)	Tarih:/..../.. Saat: ..:..
Maruz Kalma Süresi	Gün SaatDakika
Şikâyetler	
Şikâyetlerin Başladığı Zaman	Tarih:/..../.. Saat: ..:..
Antidot Adı	
Ölüm Zamanı	Tarih:/..../.. Saat: ..:..
Düşünceler	

TÜRK CEZA KANUNU	
<u>Kanun No. 5237</u>	<u>Kabul Tarihi : 26.9.2004</u>
İKİNCİ KİTAP Özel Hükümler	
ÜÇÜNCÜ KISIM Topluma Karşı Suçlar	
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM Kamunun Sağlığına Karşı Suçlar	
Bozulmuş veya değiştirilmiş gıda veya ilaçların ticareti	
MADDE 186. - (1) Kişilerin hayatını ve sağlığını tehlikeye sokacak biçimde bozulmuş, değiştirilmiş her tür yenilecek veya içilecek şeyleri veya ilaçları satan, tedarik eden, bulunduran kimseye bir yıldan beş yıla kadar hapis ve binbeşyüz güne kadar adli para cezası verilir.	
(2) Bu suçun, resmi izne dayalı olarak yürütülen bir meslek ve sanatın icrası kapsamında işlenmesi hâlinde, verilecek ceza üçte bir oranında artırılır.	

ÖZGEÇMİŞ

Ankara Ulubey Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden 2012 yılında mezun oldu. Aynı bölümde 2016 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. Mezuniyetinden sonra bir süre özel bir laboratuarda biyolog olarak görev aldı. 2020 yılında adli bilimler yüksek lisans programına girdi. İyi derecede İngilizce bilmektedir.

İletişim bilgileri

ORCID: [0000-0001-7930-7264](https://orcid.org/0000-0001-7930-7264)

Çalışmalar:

Eren, B. , **Ulubay, S.** , Sağır, D. , Demirel Yılmaz, B. , Mercan, S. Adverse effects of high-dose paracetamol on thyroid gland of female rats. (2020). ADYÜ Sağlık Bilimleri Derg., 6(3): 311-319.

Büyüktanır Yaş, Ö., Yaş, B., Yurdusev, N., Genç, O., **Solmaz, S.** ‘‘Mobil tanı sistemine dayalı hızlı, kantitatif Brusella tanı modelinin geliştirilmesi’’. 5.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. 28 Ekim-01 Kasım 2019, İzmir.

Genç, O., Serdar, G., Genç, E., **Solmaz S.** ‘‘Göz içi B abortus S19 aşısı uygulanan sığırlarda in vitro hücrel ve humoral immün yanıt takibi’’ 8 / 2016 [Uluslararası]

Genç, O., Genç, E., **Solmaz S.** ‘‘*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis* ve *B. canis* türlerinin tanımlanması ve aşı suşları ayırımı amacıyla multipleks PZR uygulamaları ve klinik izolatların tanımlanması’’2015 Van Gıda Kongresi.