EV MUTFAKLARINDA KULLANILAN BULAŞIK SÜNGERLERİNİN MİKROBİYOLOJİK İÇERİĞİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANILARAK İNCELENMESİ

Zehra Betül BAKIRCI

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
2023

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

EV MUTFAKLARINDA KULLANILAN BULAŞIK SÜNGERLERİNİN MİKROBİYOLOJİK İÇERİĞİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANILARAK İNCELENMESİ

(Investigation of the Microbiological Content of Dishwashing Sponges Used in Home Kitchens Using Molecular Methods)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zehra Betül BAKIRCI

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Erzurum

Ocak, 2023

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Zehra Betül BAKIRCI tarafından hazırlanan "Ev Mutfaklarında Kullanılan Bulaşık Süngerlerinin Mikrobiyolojik İçeriğinin Moleküler Yöntemler Kullanılarak İncelenmesi" başlıklı çalışması 17 / 03 / 2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Doç. Dr. Burak ALAYLAR *Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Özkan BALTACI *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü
Aslı Islak İmzalıdır

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında sunulan "Ev Mutfaklarında Kullanılan Bulaşık Süngerlerinin Mikrobiyal İçeriğinin Moleküler Yöntemler Kullanılarak İncelenmesi" başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	*7*	**30**
Kuramsal Temeller	*24*	**30**
Materyal ve Yöntem	*5*	**35**
Araştırma Bulguları ve Tartışma	*2*	**20**
Sonuç ve Öneriler	*1*	**20**
Tezin Geneli	*11*	**25**

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının* ***%5'den*** *büyük olmaması gerekir.*

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**
Zehra Betül BAKIRCI	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL
17.4.2023	**17.4.2023**
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve …… sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve …… sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim, bana inanan, engin bilgi ve deneyimleri ile bu yolda bana öncülük eden ve her türlü laboratuvar imkanını sağlayan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e,

Tez çalışmamın başından sonuna her alanında bana yardımcı olan hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Özkan BALTACI'ya,

Her koşulda yanımda olan, benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen hayat arkadaşım, yoldaşım, kıymetli eşim Ahmet Sefa BAKIRCI' ya,

Bir gülüşüyle tüm dünyamı aydınlatan ve varlığı ile bana güç veren, en değerlim canım güzel kızım Umay Zeynep BAKIRCI' ya,

Son olarak bu günlere gelmemi sağlayan, her zaman bana sonsuz güvenen, arkamdaki sağlam dağım canım annem ve babama, canımın içi tüm abilerime ve kardeşime teker teker teşekkürü borç bilirim.

Zehra Betül BAKIRCI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EV MUTFAKLARINDA KULLANILAN BULAŞIK SÜNGERLERİNİN MİKROBİYOLOJİK İÇERİĞİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANILARAK İNCELENMESİ

Zehra Betül BAKIRCI

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Amaç: Mutfaklarda kullanılan bulaşık süngerleri barındırdıkları zengin besin içeriği ve su sayesinde zararsız bakterilerin yanı sıra gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan patojenler için de mükemmel bir ortam oluşturur. Bu çalışmada ev mutfaklarından toplanan 150 farklı bulaşık süngerinin patojenik bakteri içeriğinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bulaşık süngerleri 7 gün, 15 gün ve 30 gün aralıklarla toplanarak -20^{o}C'de daha sonra incelenmek üzere muhafaza edilmiştir. Bulaşık süngerlerinde *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Camphylobacter jejuni* ve *Staphylococcus aureus* gibi patojenlerin varlığı Real-Time PCR yöntemi ile ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmaksızın araştırılmış ve PMAxx™ boyası kullanılarak, son zamanlarda yeni bir yöntem olarak literatüre giren, mikrobiyal canlılık testi yapılmıştır. Bulaşık süngerlerinde patojen içeriğinin kullanım sürelerine bağlı olarak değişimi ve bu mikroorganizmaların hayatta kalıp kalmadığı incelenmiştir.

Bulgular: Yapılan denemeler sonucunda, bulaşık süngerlerinin kullanım sürelerinin artmasıyla mikrobiyal içeriğinin de arttığı, fakat bu içeriğin kullanıcı kaynaklı olarak oldukça değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca tüm bulaşık süngerlerinde olmasa da büyük çoğunluğundaki patojen varlığının azımsanmayacak seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Toplanan bulaşık süngerlerinin % 18,6'sında *L. monocytogenes*, % 12'sinde *S. aureus*, % 14,6'sında *S. Typhimurium* ve % 5,3'ünde *C. jejuni*' tespit edilmiştir. Mikrobiyal canlılık testlerinin doğruluğu için kontrol deneyleri yapılmış ve bazı bulaşık süngerlerinde canlı patojen varlığına rastlanmıştır.

Sonuç: Tüm bu veriler göz önünde bulundurulduğunda; ön zenginleştirme var olan bakterilerin artmasına sebep olacağı için direkt Real-Time PCR yönteminin mikrobiyal içeriği belirlemede daha hızlı, spesifik, güvenilir, daha az masraf ve iş gücü gerektirdiği görülmüştür. Canlı patojen varlığının bulunması sebebiyle insan sağlığı açısından risk teşkil etmektedir. Çalışmamız, mikrobiyal canlılık testlerinin Real-Time PCR kombinasyonuyla bundan sonraki birçok çalışmada kullanılmasını sağlayarak çok sayıda sorunun aydınlatılmasının önünü açacaktır.

Anahtar Kelimeler: bulaşık süngeri, *Listeria monocytogenes, Salmonella Typhimurium, Camphylobacter jejuni., Staphylococcus aureus,* direkt Real-Time PCR, mikrobiyal

canlılık testi

Ocak 2023, 67 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

INVESTIGATION OF THE MICROBIAL CONTENT OF DISHWASHING SPONGES USED IN HOME KITCHENS USING MOLECULAR METHODS

Zehra Betul BAKIRCI

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ADIGUZEL

Purpose: Dishwashing sponges used in kitchens create an excellent environment for pathogens that cause foodborne diseases as well as harmless bacteria, thanks to the rich nutrient content and water they contain. In this study, it was aimed to determine the pathogenic content of 150 different dishwashing sponges collected from domestic kitchens by molecular methods.

Method: Dishwashing sponges were collected at intervals of 7 days, 15 days and 30 days and stored at -20^{o}C for later examination. The presence of pathogens such as *Listeria monocytogenes, Salmonella Typhimurium, Camphylobacter jejuni and Staphylococcus aureus* in dish washing sponges was invastigated by Real Time PCR method without pre-enrichment and DNA isolation, and microbial viability test which has recently entered the literature as a new method, was performed using PMAxx™ dye. The variation of the pathogen content in dish sponges depending on the duration of use and whether these microorganisms survived or not were investigated.

Findings: As a result of the experiments, it has been determined that the microbial content of the dishwashing sponges increases with the increase in the usage time, but this content varies considerably depending on the users. In addition, it has been observed that the presence of pathogens in the vast majority, if not all dish sponges, is at a substantial level. In the collected sponges, 18.6% *L. monocytogenesis*, 12% *S. aureus*, 14.6% *S. Typhimurium* and 5.3% *C. jejuni* were detected. Control experiments were carried out for the accuracy of microbial viability tests and the presence of live pathogens was found in some scouring sponges.

Results: Considering all these data; since pre-enrichment will cause an increase in the existing bacteria it has been seen that the direct Real-Time PCR method is faster, specific and reliable in determining the microbial content, and requires less expense and labor. Due to the presence of live pathogens, it poses a risk to human health. Our study will enable the use of microbial viability tests in combination with Real-Time PCR in many future studies and will pave the way for illuminating many problems.

Keywords: dishwashing sponge, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Camphylobacter jejuni*., *Staphylococcus aureus*, direct Real- Time PCR, microbial viability test

January 2023, 67 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU ii
TEŞEKKÜR iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vii
TABLOLAR DİZİNİ ix
ŞEKİLLER DİZİNİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xi
GİRİŞ 1
KURAMSAL TEMELLER 3
Ev Mutfaklarındaki Patojenik Bakteriler 3
Mutfakların Patojenik Yayıcıları Olarak Bulaşık Süngerleri 5
Staphylococcus aureus 7
Staphylococcus aureus'un mutfaktaki varlığı 9
Listeria monocytogenes 10
Listeria monocytogenes'in mutfaktaki varlığı 11
Salmonella spp. 13
Salmonella spp.'nin mutfaktaki varlığı 14
Camphylobacter jejuni 15
Campylobacter jejuni' nin mutfaktaki varlığı 17
Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenlerin Tespiti İçin Hızlı Yöntemler 18
Nükleik asit tabanlı yöntemler 20
Gıda Kaynaklı Patojen Tespitinde qPCR' ın kullanılması, avantajlar ve sınırlamalar 24
MATERYAL VE YÖNTEM 28
Materyal 28
Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Ekipmanları 28
Tez çalışmasında kullanılan maddeler 29
Tez çalışmasında kullanılan çözelti ve besiyerlerin hazırlanışı 29
Yöntem 30
Bulaşık süngerlerinin toplanması 30
Bulaşık süngerlerinin çalışma için hazırlanması 30
PMAxx™ boyası ile muamele 30

Direkt qPCR (Real-Time) işlemi 30
Standart bakterilerin elde edilmesi ve çoğaltılması 31
Bulaşık süngeri örneklerinden patojenik bakterilerin kantitatif analizi 32
Bulaşık süngeri örneklerindeki patojenlerin canlılık oranının hesaplanması 32
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 33
qPCR (Real- Time PCR) 33
Standart patojenik bakterilerin lineer- regresyon analizleri 33
Bulaşık süngerlerinde bulunan patojenik bakterilerin miktar analizi 34
SONUÇ VE ÖNERİLER 39
KAYNAKLAR 42
ÖZGEÇMİŞ 55

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tez Çalışmamızda Kullanılan Cihaz ve Laboratuvar Ekipmanları 28
Tablo 2. Tez çalışmamızda kullanılan besiyerleri, kitler ve kimyasallar 29
Tablo 3. Tespit Edilecek Patojenik Bakterilere Spesifik Primer Dizileri 30
Tablo 4. qPCR Programı 31
Tablo 5. 1 Hafta Süre İle Kullanılan Bulaşık Süngerlerine Ait Patojenik Bakterilerin Miktarı 35
Tablo 6. 15 Gün Süre İle Kullanılan Bulaşık Süngerlerine Ait Patojenik Bakterilerin Miktarı 36
Tablo 7. 30 Gün Süre İle Kullanılan Bulaşık Süngerlerine Ait Patojenik Bakterilerin Miktarı 37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kontaminasyonun kaynağı.....3

Şekil 2. (A) Gözenekli yapılarından ve su tutma kapasitesinden dolayı mutfak süngerleri mikroorganizmalar için ideal inkübatörlerdir. **(B)** Ölçek çubuğu: 1 mm. **(C)** 28 sünger örneğinin (sırasıyla 14 süngerin üst ve alt örnekleri) 16S rRNA gen kitaplıklarının pirosekanslama ile tespit edildiği şekliyle bakteriyel mutfak süngeri mikrobiyomunun taksonomik bileşimini gösteren pasta grafikler. Daha iyi anlaşılabilirlik için, yalnızca en sık bulunan 20 cins ve aile listelenmiştir.....6

Şekil 3. *S. aureus*' un Ct değerlerine ait standart grafiği 33

Şekil 4. *L. monocytogenes'* in Ct değerlerine ait standart grafiği 33

Şekil 5. *S. Typhimurium'un* Ct değerlerine ait standart grafiği.....34

Şekil 6. *C. jejuni'* nin Ct değerlerine ait standart grafiği 34

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	**:** Yüzde
°C	**:** Santigrat derece
AB	**:** Avrupa Birliği
ATCC	**:** Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
CDC	**:** Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
CNS	**:** Koagülaz negatif stafilokok
Ct	**:** Eşik Döngü Değeri
DALY	**:** Engelliliğe Ayarlanmış Yaşam Yılları
dH2O	**:** Deiyonize su
dk	**:** Dakika
DNA	**:** Deoksiribo Nükleik Asit
dsDNA	**:** Çift Zincirli Deoksiribo Nükleik Asit
EFSA	**:** Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EMA	**:** Etidium mono azid
g	**:** Gram
ml	**:** Mililitre
mm	**:** Milimetre
NaCl	**:** Sodyum Klorid
Nm	**:** Nanometre
NTS	**:** Tifoyidal olmayan salmonella
PCR	**:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	**:** Hidrojen Gücü
PMA	**:** Propidium mono azid
qPCR/RT PCR	**:** Real-Time PCR
RNA	**:** Ribonükleik Asid
rRNA	**:** Ribozomal RNA
spp.	**:** Türler
TSA	**:** Trytic Soy Agar
TSB	**:** Trytic Soy Broth
VBNC	**:** Canlı fakat kültürlenemeyen organizmalar
v-PCR	**:** Canlılık PCR testi
WHO	**:** Dünya Sağlık Örgütü
µm	**:** Mikrometre
µM	**:** Mikromolar

GİRİŞ

Mutfak gereçlerinin temizliği sırasında yemek artıklarının uzaklaştırılması için ön yıkama ve yıkama adımları genellikle sünger kullanılarak gerçekleştirilir. Bu süreçte bulaşıklardaki yiyecek artıklarından bir kısmı süngerlere yapışabilir ve zaman içinde nem ile birlikte bu yemek artıkları, bakterilerin büyümesi ve hayatta kalması için pozitif bir ortam oluşturur. Yapılan çalışmalar, yüksek oranda kirlenmiş süngerlerin, patojenik bakterilerin ev ortamına yayılmasına sebep olabileceğini göstermektedir (Speirs *et al.* 1995). Mutfak ortamlarındaki bakterilerin kontaminasyon riskinin önemi üzerine çalışmalar yaklaşık 40 yıl önce başlamıştır. İlk araştırmalara göre, mutfaktaki kirletici maddelerin başlıca nedeninin iyi pişmemiş malzemeler olduğu, ancak mutfaktaki bu materyallerin de bazı bakterilerin yaşamasına katkı sunduğu tespit edilmiştir. Buna göre yapılan çalışmalar, süngerlerin patojenlerin yayılmasında oldukça önemli olabileceğini göstermiş, bakterileri farklı yüzeylere ve mutfak gereçlerine aktarmak suretiyle gıdalarda çapraz kontaminasyona yol açabileceğini ortaya koymuştur (Finch *et al*. 1978).

Hijyenik olmayan mutfaklarda hazırlanan gıdalardan kaynaklanan gıda kökenli hastalıklar sıklıkla *Salmonella* ile ilişkilidir (Holah and Thorpe 1990). Kontamine mutfak ortamlarından kaynaklanan diğer bazı bakteriyel enfeksiyonlar ise; *Listeria, Campylobacter, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* ile bağlantılıdır (Kusumaningrum *et al.* 2003). *S. aureus,* kullanılan sentetik yıkama süngerlerinden %34,3 oranında izole edilen patojenik bakterilerden biridir (Tesfaye *et al.* 2015). Ojima ve çalışma arkadaşları (2002), mutfak süngerlerinin tüm ev içinde drenaj hatlarından sonra ikinci en yüksek koliform yüküne sahip olduğunu belirlemiştir. Daha ileri çalışmalarda, *Campylobacter* spp., *Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp. ve *Staphylococcus* spp. gibi bakteriler de dahil olmak üzere mutfak süngerlerinde spesifik patojenik bakterilerin varlığını göstermiştir. Yaygın olarak kullanılan bulaşık deterjanlarının veya kimyasal bileşiklerin mutfak süngerlerindeki mikrobiyal yükü önemli ölçüde azaltmadığı bilindiği için, bu bulgular çok fazla endişe uyandırmaktadır (Sharma *et al.* 2009). Mutfakta çapraz kontaminasyonun sıklıkla meydana geldiğini belirledikten sonra, bulaşık yıkamada hayatta kalan bakterilerin bulaşma potansiyelinin de araştırılması gerekmektedir (Mattick 2003).

Gıda güvenliğinde, gıda kalitesine yönelik tüm uluslararası standartlar, geleneksel kültür yöntemleri kullanılarak, patojenik mikroorganizmaların belirlenmesine dayanmaktadır.

Geleneksel kültür yöntemlerinde kullanılan ön zenginleştirme, var olan bakterilerin canlanmasına ve çoğalmasına sebebiyet vereceği için ortamdaki patojen sayısı hakkında yanıltıcı bilgiler verecektir. qPCR teknikleri; (çeşitli patojenlerin) güvenilir bir şekilde tespiti ve miktarının tayinine olanak sağladığı için mevcut standart kültür yöntemlerine göre mükemmel bir alternatif sunmaktadır. Ancak, qPCR'ye dayalı testlerin duyarlılığıyla ilgili çeşitli sınırlamalar vardır. DNA izolasyonu için örnekler genellikle başlangıç aşamasında çok düşük sayıda hedef bakteri içerdiğinden dolayı kültür yöntemlerinde, ön zenginleştirme işlemi ile bakterilerin sayısının arttırılması gerekmektedir (Rodriguez-Lazaro *et al*. 2013). Fakat DNA izolasyonu yapılmaksızın direkt Real Time PCR ile mikroorganizmaların tespitine yönelik araştırmalar daha önceki çalışmalarda da ortaya konulmuştur (Soejima 2016). qPCR kullanımı, işlenmemiş ve çiğ gıdalarda bakteri suşlarının tiplendirilmesi, antimikrobiyal direncin tanımlanması, saptanması ve muhtemelen miktarının belirlenmesi ile sınırlıdır. Bu sınırlama, Özellikle qPCR'nin kullanımındaki en önemli sınırlama; canlı ve ölü hücreler arasında ayrım yapamamasından kaynaklanmaktadır (Rodriguez-Lazaro *et al*. 2013). Bu sebeple kültür gerektirmeden canlılık tespitinin yapılacağı etkin bir yönteme ihtiyaç duyulmaktadır.

v-PCR (viability- canlılık), canlı organizmaların hassas ve hızlı tespiti için kültür adımı gerektirmeyen bir yöntemdir. Biotium şirketi 2006'dan beri, PMA (propidium monoazide) ve PMAxx™ v-PCR boya teknolojisinin geliştirilmesi ve bu esasa dayanan v-PCR alanına önemli katkılar sunmuştur. Bu ışığa duyarlı, membran geçirimsiz, DNA bağlayıcı boyalar, geleneksel kültür bazlı ve önceki EMA (etidyum monoazid) temelli v-PCR boyalarına kıyasla ölü hücreler için mükemmel seçicilik sergilemektedir. PMA, standart mikrobiyal örneklerdeki çok sayıda bakteri mantar ve viral suş için canlı ve ölü içeriğin tespit ve değerlendirme prosesinden başarı ile geçmiş ve endüstri liderleri tarafından tercih edilen bir v-PCR boyası haline gelmiştir.

Tez çalışmamızda; mutfaklarda sıklıkla kullandığımız bulaşık süngerlerinin patojenik içeriğinin moleküler yöntemler kullanılarak tespiti amaçlanmıştır. Aynı zamanda 50 farklı haneden farklı zaman aralıklarında 150 farklı sünger toplanarak patojenik çeşitliliğin nasıl değişim gösterdiği araştırılmıştır ve bu patojenlerin bulaşık yıkama sürecinde hayatta kalıp kalmadığı yeni bir yöntem olan mikrobiyal canlılık testi kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Ev Mutfaklarındaki Patojenik Bakteriler

Bakteriyel enfeksiyonlar, Amerika Birleşik Devletleri'nde, gıdalardan kaynaklı hastalıklardan dolayı hastaneye yatış ve ölüm oranlarının temel sebeplerinden biridir. E. coli, *S. aureus, L. monocytogenes* ve *Salmonella* spp. ve *Campylobacter* spp. bu hastaneye yatışların yüzde 92'si ve ölümlerin yüzde 85'inden sorumludur (Scallan *et al.* 2011). Evde hazırlanan yiyecekleri tüketmenin sebep olduğu enfeksiyonların oranı tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri,ev ortamının gıdalardan kaynaklı hastalık salgınlarına sebep olan ikinci en yaygın yer olduğunu bildirmektedir (Gould 2013). Patojenler ev ortamına doğal olarak bakterilerle kontamine olmuş çiğ gıdalar, çevreden aktarım (hayvanlar veya böcekler tarafından taşınır) veya insandan ortama transfer (fekal-oral kontaminasyon ve aerosolizasyon) yoluyla girebilir (Borrusso and Quinlan 2017).

Elden ele veya elden gıdaya temas	Soğuk algınlığı, grip ve gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan çoğu virüs ve bakteri, bu şekilde yayılır. *Hepatit A*, nörovirüsler, *Salmonella* veya stafilokok ve streptokok bakterileri olan kişiler, bu hastalıkları yiyeceklere dokunarak başkalarına bulaştırabilirler.
Çiğ et, kümes hayvanları ve balık	Bunlar birçok zararlı bakteri taşır. En ciddilerinden biri *E. coli*'dir. Bu çoğunlukla az pişmiş hamburgerde bulunan organizmadır. CDC'ye göre gıda kaynaklı hastalıkların en yaygın nedenlerinden biridir. Bu bakteri türür hemolitik üremik sendroma neden olur. Bu, çoğunlukla çocukları etkileyen genellikle ölümcül bir hastalıktır. Yaşlı yetişkinler de yüksek risk altındadır.
Tavuk, hindi ve kümes hayvanları	Bunlar *Shigella, Salmonella* ve *Campylobacter* ile bağlantılıdır. Bunlar ishale, kramplara ve ateşe neden olan bakterilerdir.Etlerin çoğu toksoplazmoz ile kontamine olabilir. Bu hem hamile kadınlar için hem de doğmamış bebekler için tehlikeli bir hastalıktır.
Deniz ürünleri, özellükle istiridye, deniz tarağı ve diğer kabuklu deniz canlıları	Bunlar ishale neden olan *Vibrio* bakteri türleri ile kontamine olabilir veya *Hepatit A* virüsü ile kontamine olabilirler.
Pastörize edilmemiş peynir ve etler	Bunlar insanlarda hastalığa neden olabilen bir bakteri türü (*Listeria monocytogenes*) ile kontamine olabilir. Ayrıca hamilelik sırasında gelişmekte olan bir bebeğin düşmesine veya zarar görmesine neden olabilir. *Listeria* genellikle brie gibi yumuşak peynirlerde bulunur. İthal peynirlerde ABD peynirlerinden daha sık bulunur. *Listeria* buzdolabı sıcaklığında büyüyebilen birkaç bakteriden biridir.
Kirlenmiş meyve ve sebzeler	Bunlar nerede büyüdüklerine ve işlendiklerine bağlı olarak birçok organizmayı ve paraziti taşıyabilir.

Şekil 1. Kontaminasyonun kaynağı (Barry Zingman *et al*. 2023)

Ev ortamı, *Salmonella* gibi gıda kaynaklı patojenlere en sık maruz kalınan yerdir (EFSA 2015). Ev mutfağında, buzdolabı, kapı kolları gibi el ile en çok temas edilen yüzeyler, düzenli bir şekilde kullanılmaması ve yeterli düzeyde temizlik yapılmaması nedeniyle sıklıkla patojenlerle kirlenmektedir. Ev mutfak ortamı ve ekipmanlarının daha önce *L. monocytogenes, S. aureus, Salmonella* spp. ve *C. jejuni* gibi gıda kaynaklı patojenlerle kontamine olduğu ortaya konmuştur (Haysom and Sharp 2005).

Ev mutfağındaki ıslak alanların kuru alanlara göre daha yüksek kirlilik seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir; bu nedenle, bu tür alanlar genellikle *Enterobacteriaceae, Staphylococcus* spp. ve *L. monocytogenes* dahil olmak üzere yüksek sayıda mikroorganizma ile kontamine olmaktadır (Duggan and Philips 1998). Evye ve musluk kulpları gibi el ile en çok temas eden yüzeylerin, ev mutfaklarında en çok kirlenen yerler olduğu gösterilmiştir (Meredith *et al.* 2001). Ayrıca, çiğ gıdalarla sürekli temas halindeki yüzeyler (kesme tahtaları, bıçaklar, gıda hazırlama kapları vb.), gıda kaynaklı patojenlerin yayılması için potansiyel araçlardır (Kuan *et al.* 2017). Örneğin Haysom ve Sharp (2005), aerobik mikroorganizmaların ve *Enterobacteriaceae*'nin kesme tahtalarından izole edildiğini, dolayısıyla kullanımsüresinin artması ile birlikte bakteri popülasyonlarının arttığını bulmuştur. *C. jejuni* ve *E. coli*'nin varlığı, çiğ et ve kümes hayvanı eti hazırlığından sonra kesme tahtalarının derinlemesine temizlenmemesi ile ilişkilendirilmiştir (Kennedy *et al.* 2011). Bulaşık bezleri ve bulaşık fırçaları gibi temizlik için kullanılan ürünlerin *E. coli, L. monocytogenes* ve *S. aureus* ile yoğun şekilde kontamine olduğu bildirilmektedir; sonuç olarak, ev mutfağındaki bulaşık bezleri organizmalar için bir araç ve rezervuar görevi görebilir ve gıda ile temas eden yüzeyleri kontamine edebilir (Hilton and Austin 2000).

Ev ortamlarının bu organizmalar için uygun koşullara sahip olması nedeniyle, bu organizmalar, uzun süre yaşama, gelişme, diğer yüzeylere yayılma ve yiyecekleri kontamine etme potansiyeline sahiptir (Borusso and Quinlan 2017). Ev ortamında bu tür patojenlere rastlanması, potansiyel olarak gıdalardan kaynaklı enfeksiyonların gelişmesine sebep olan mikrobiyal çapraz kontaminasyona yol açabilir (Evans and Redmond 2018). Bu veriler yararlı tahminlerdir ancak evlerle ilişkili gerçek hastalık oranlarını temsil etmemektedir; çünkü bu vakaların sporadik enfeksiyonlar olma olasılığı daha yüksektir (Medeiros *et al.* 2001).

Tüketicilerin yiyecekleri evde işleme uygulamaları, gıda kaynaklı hastalıklara karşı son savunma hattı olarak kabul edilmektedir (Redmond and Griffith 2013). Tüketiciler arasında gıda kaynaklı hastalıklara yol açabilecek yanlış gıda işleme ve bilgi eksikliğini belgeleyen çok sayıda araştırma olmasına rağmen, güvenli olmayan gıda işleme uygulamalarının veya

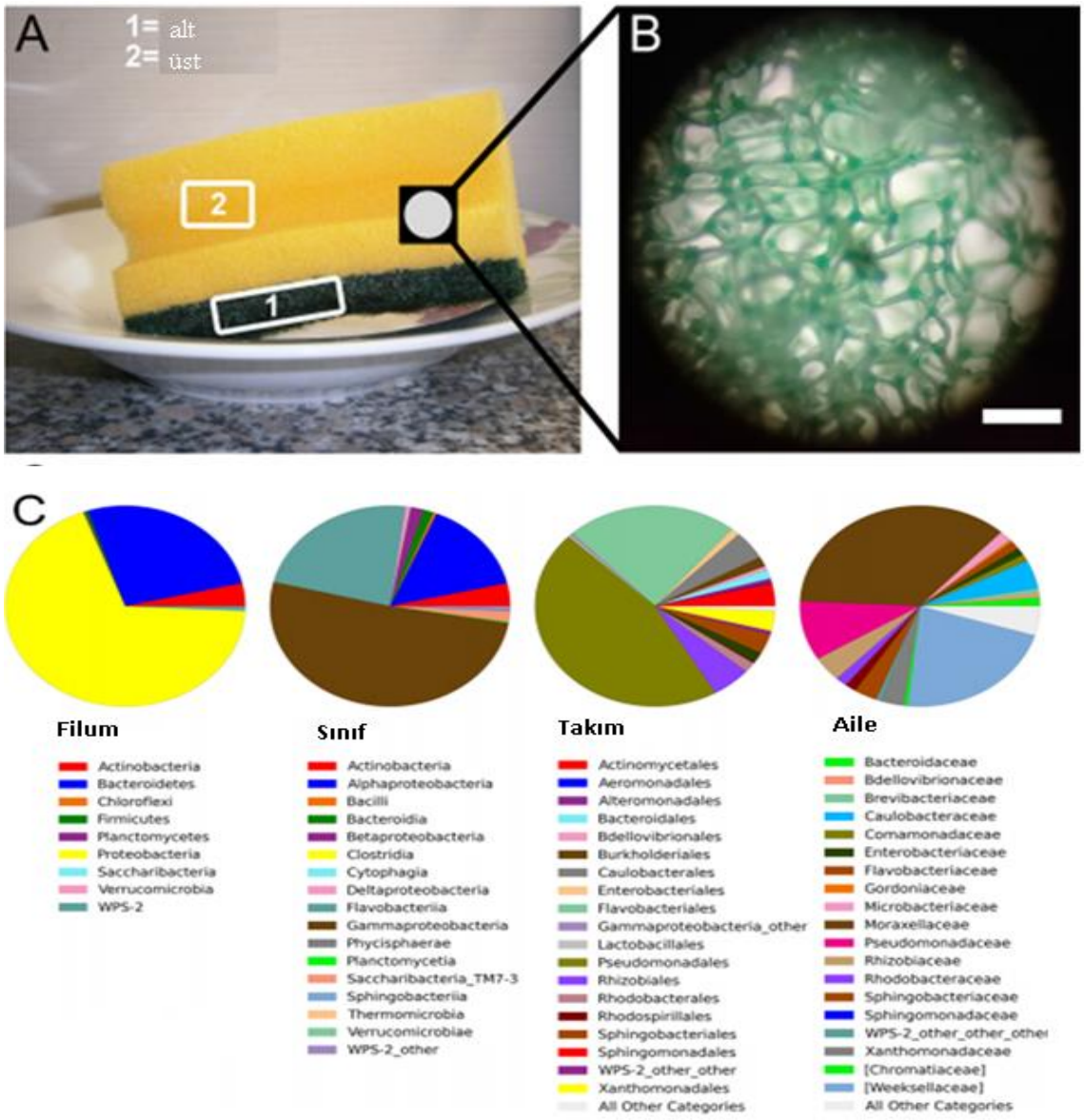
sanitasyon eksikliğinin ev mutfağının gıda kaynaklı patojenlerle kirlenmesine doğrudan katkıda bulunup bulunmadığını inceleyen sınırlı araştırma vardır (Josephson 1997).

Mutfakların Patojenik Yayıcıları Olarak Bulaşık Süngerleri

Ev ortamında, mutfak gereçleri ve yüzeyler çok sık olarak mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır (Flores 2013). Kullanılmış bulaşık süngerleri mutfaklarda bakteriyel kontaminasyona önemli ölçüde katkıda bulunur (Donofrio 2012). Yiyecekler hazırlandıktan sonra kapların ve yüzeylerin silinmesine ilişkin tipik aktivite, yiyecek artıklarının ve mikroorganizmaların bulaşmasına yol açabilir (Nielsen 2002). Bulaşık süngerleri kirlendiğinde, içerisindeki besin açısından zengin ve nemli ortam, süngerde bulunan bakterilerin büyümesi için ideal yaşam koşulları oluşturur (Wolde 2016; Gerba 2017). Bulaşık süngerleriyle ilgili yapılan çeşitli araştırmalar, zararsız çevresel bakterilerin yanı sıra mikrobiyomun üyeleri olarak potansiyel insan patojenlerinin de varlığını göstermiştir. Açıkçası, kontamine bir sünger kullanmak kapların, yüzeylerin ve yiyeceklerin (yeniden) kontaminasyonuna yol açarak enfeksiyon riskini artırabilir. Ayrıca mikroplar evdeki diğer ortamlara da yayılabilir (Jovanovska 2018).

Araştırmalara göre, mutfak lavabolarındaki süngerler, zatüre ve menenjite sebep olduğu bilinen bakterilerin yakın akrabaları da dahil olmak üzere zilyonlarca bakteriyi barındırmaktadır. Bu mikroplardan biri olan *Moraxella osloensis*, bağışıklık sistemi zayıflamış insanlarda enfektif hastalıklara neden olabilir ve aynı zamanda çamaşırların pis kokmasının sebebi olarak bilinir, muhtemelen süngerlerdeki garip kokunun sebebi de bu bakteridir. İlginç bir şekilde, bu süngerleri kaynatmak veya mikrodalgaya atmak bu mikropları öldürmemiştir. Gerçekten de, düzenli olarak sanitize edilen süngerler, hiç temizlenmemiş süngerlere göre daha yüksek oranda patojenik bakteri barındırmaktadır. Bilim insanlarına göre bunun sebebi, ilgili patojenlerin temizliğe karşı daha dirençli olması ve zayıf üyeleri tarafından terk edilen bölgeleri hızla tekrar kolonize etmeleri olabilir, aynı antibiyotik kullandıktan sonra bağırsaklarımızda dirençli bakterilerin artmasına benzer bir durumdur(Guglielmi 2017).

Araştırmacılar süngerleri mikroskopla incelediklerinde, tek bir santimetre küpün 5 x 10^{10}'dan fazla bakteriyle dolu olabileceğini keşfetmiştir, bu da Dünya'da üzerindeki insan sayısının yaklaşık yedi katına karşılık gelmektedir. Bilim adamlarının söylediğine göre bu tür bakteri yoğunlukları sadece dışkıda bulunmaktadır (Guglielmi 2017).



Şekil 2. (A) Gözenekli yapılarından ve su tutma kapasitesinden dolayı mutfak süngerleri mikroorganizmalar için ideal inkübatörlerdir. **(B)** Ölçek çubuğu: 1 mm. **(C)** 28 sünger örneğinin (sırasıyla 14 süngerin üst ve alt örnekleri) 16S rRNA gen kitaplıklarının pirosekanslama ile tespit edildiği şekliyle bakteriyel mutfak süngeri mikrobiyomunun taksonomik bileşimini gösteren pasta grafikler. Daha iyi anlaşılabilirlik için, yalnızca en sık bulunan 20 cins ve aile listelenmiştir (Cardinale 2017).

Mutfaklar var olan en kirli ev ortamları arasında yer almaktadır. Hatta bazı banyo alanlarından (klozet oturağı, kapı kolu, ışık anahtarı, klozet kolu) veya kalem, anahtar, cep telefonu, klavye vb. gibi sıklıkla kullanılan objelerden daha fazla kontamine olan ev ortamlarıdır (Donofrio *et al.* 2012). Ayrıca, 2014 yılında AB'de gıda kaynaklı hastalık salgınlarının %37,3'ü ev ortamındaki enfeksiyonlardan kaynaklandığı bildirilmiştir (EFSA 2015). Bu ifade, gıda kaynaklı patojenlerin, mutfaklarda kullanılan aletlerden, bezlerden, havlulardan, süngerlerden ve mutfak yüzeylerinden izole edilmesiyle desteklenmektedir. (Mattick *et al.* 2003). Bunlar arasında, bulaşık süngerleri evdeki en kirli materyallerden biridir.

Ayrıca gıda kaynaklı patojenler için potansiyel bir araç olmaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Donofrio *et al.* 2012). Ev ortamındaki mikrobiyal sıcak noktalar olduğu yakın zamanda kabul edilmiştir (Cardinale *et al.* 2017). Bulaşık süngerleri yalnızca bulaşıkları temizlemek için kullanılmazlar; aynı zamanda mutfaklardaki farklı yüzeyleri ve hatta buzdolabı raflarını temizlemek için bile sıklıkla kullanılırlar. Bu durum da çapraz kontaminasyon riskini artırmaktadır (Catellani *et al.* 2014). Süngerler, geniş yüzey/hacim oranları, sabit nemleri ve bakteri gelişimi için içerdikleri besin maddeleri sayesinde gerçekten de mikroorganizmalar için ideal bir yaşam alanıdır (*Cardinale et al.* 2017).

Mutfak süngerlerindeki mikrobiyal yükü kontrol edebilmek ve azaltmak için birçok farklı sanitasyon ve temizleme prosedürü önerilmiştir. Mikrodalga fırında kurutma, ev tipi bulaşık makinesinde veya çamaşır makinesinde yıkama da bu prosedürlere dahildir. Ikawa ve arkadaşları (1999) ile Sharma ve arkadaşları (2009), antropojenik olarak kontamine olmuş bulaşık süngeri örneklerinin mikrobiyal yükündeki azalmayı ölçerek süngerleri temizleme yöntemlerinden hangilerinin etkili olduğunu değerlendirmiştir. Her iki araştırma da, mikrodalga fırında kurutma yönteminin, mutfak süngerlerinin bakteri yükünü beş ila yedi log gibi önemli bir ölçüde azaltmanın etkili ve basit bir yolu olduğunu doğrulamıştır (Ikawa 1999; Sharma 2009). Evlerde bulaşık süngerlerinin hangi koşullarda kullanıldığı ve bu süngerleri temizlemek için hangi yöntemlerin ne şekilde kullanıldığı tamamen bilinmemektedir. Ev ortamından toplanan bulaşık süngerlerinin sanitize edilse de birçok mikroorganizma barındırdığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Cardinale 2017).

Staphylococcus aureus

S. aureus hücreleri gram pozitiftir ve küre şeklinde görünürler. Gram boyama sonrası ışık mikroskobunda gözlemlendiklerinde genellikle üzüm salkımına benzeyen salkımlar halindedirler. Adını ilk olarak İskoç cerrah Sir Alexander Ogston tarafından alan stafilokok 1881'de yara enfeksiyonunun nedeni olarak tanımlanmıştır. '*Staphylococcus*' adı, üzüm salkımı (*staphyle*) ve dut (*kokkos*) anlamına gelir ve Yunanca'dan türetilmiştir (Licitra 2013). Hücrelerin çapı 0,5 ila 1,0 μM gibi bir aralıkta değişiklik göstermektedir (Foster 1996). Hücrelerin transmisyon elektron mikroskopisi, kalın hücre duvarını, belirgin şekilde görünen sitoplazmik zarı ve amorf sitoplazmayı gösterir (Touhami 2004). *Staphylococcus aureus*, 15°C ila 45°C sıcaklık aralıklarında ve %15'e kadar artan tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterebilir. Çapraz bağlı peptidoglikan tabakasının yüksek seviyesi sayesinde, *S. aureus* yüksek ozmolariteye, deterjan varlığına ve alkole karşı dirençlidir (de Jonge *et al*. 1992). *S. aureus* 4,0-9,8 pH aralığında ve optimum 6-7 pH aralığında büyüyebilir. Büyüme için minimum pH değerleri, farklı çevresel faktörlerden etkilenir (Jay 2000). *S. aureus'*un büyümesi,

%0,1 asetik asit ve ayrıca düşük yağ asitlerinin varlığı ile inhibe edilir. Ayrıca *S. aureus* halotolerant bir mikroorganizma olmasına rağmen tuz konsantrasyonu arttığında asitleşmeye karşı daha duyarlıdır (Normanno 2007).

S. aureus, besin yönünden zengin agarda, büyük sarı veya beyaz koloniler oluşturur. Aerobik ve fakültatif anaerobik gelişme gösterebilen bir organizmadır (Liu 2005). Kolonilerin sarı renginin sebebi organizma tarafından üretilen karotenoidlerdir. *'Aureus'* kelimesi, altın rengi manasına gelen Latince'den türetilmiştir (Blair 1958). Organizma, dört tip hemolizin (alfa, beta, gama ve delta) ürettiği için kanlı agarda genellikle hemolitiktir (Dinges 2000). *S. aureus'*un neredeyse tüm izolatları, bir virülans faktörü olan koagülaz enzimi üretir. Bu da organizmanın tanımlanmasına yardımcı olur. Organizma tuza karşı toleranslıdır ve %7,5 sodyum klorür içeren manitol-tuzlu agar besiyerinde gelişebilir. Organizma katalaz pozitif ve oksidaz negatiftir (Brown 2005).

S. aureus farklı birçok potansiyel virülans faktörü üretmektedir;

1. Konak dokuların kolonize olmasını sağlayan yüzey proteinleri.
2. Fagositozu önleyen faktörler (kapsül, immünoglobulin bağlayıcı protein).
3. Konak dokularına hasar veren ve hastalık belirtilerinin oluşmasını sağlayan toksinler

Koagülaz üretmeyen stafilokoklar genellikle daha az virülenttir. Koagülaz negatif suşlar diğerlerine kıyasla daha az virülans faktörü üretir (Foster 1996).

S. aureus insanlarla hem kommensal yaşam sürer hem de bir patojendir. İnsan nüfusunun neredeyse %30'u *S. aureus* ile kolonize halde yaşamaktadır. (Wertheim 2005). *Staphylococcus* bakterileri, insanların ve diğer memelilerin patojenleridir. Plazmayı pıhtılaştırma yeteneklerine (koagülaz reaksiyonu) göre genellikle iki gruba ayrılırlar. Koagülaz pozitif *Staphylococci, S. aureus'*un en patojenik olanıdır. Koagülaz negatif stafilokokların (CNS) 30'dan fazla farklı türe sahip olduğu bilinmektedir. CNS, yaygın olarak deri üzerinde kommensal bir yaşam sürer, ancak bazı türleri enfeksiyona neden olabilir. Stafilokokların pozitif ve negatif koagülaz olarak ayrılmasının bazı durumlarda oldukça yanıltıcı olabilmektedir. Koagülaz, *S. aureus'*un bir belirtecidir. Ancak koagülazın virülans faktörü olduğunu gösteren kesin bir kanıt yoktur. Ayrıca, *S. aureus'*un bazı doğal izolatları koagülaz negatiftir. Bununla birlikte, hala klinik mikrobiyologlar bu terimi yaygın bir şekilde kullanmaktadır.

S. aureus tıbbi cihazlardan kaynaklı enfeksiyonların yaygın bir nedenidir (Foster 1996). Stafilokoklar farklı birçok enfeksiyona neden olabilir. *S. aureus* yüzeysel deri lezyonlarına (çıban, arpacık) ve diğer bölgelerde lokalize apselere neden olur (Bhakdi 1991). *S. aureus*,

osteomiyelit ve endokardit gibi derin enfeksiyonlara ve oldukça ciddi cilt enfeksiyonlarına (tüylü hastalık) neden olur (Easmon 1983). *S. aureus*, hastanede edinilen (hastane içi) cerrahi yara enfeksiyonlarının başlıca nedenlerinden biridir ve *S. epidermidis* tıbbi cihaz enfeksiyonlarından sorumludur (Foster 1996). *S. aureus* gıdaya enterotoksinlerini bırakarak gıda zehirlenmesine neden olur (Foster 1994). *S. aureus*, süper antijenleri kana salarak toksik şok sendromuna neden olur (Lyon 1987). *S. saprotrophi,* özellikle kızlarda rastlanan idrar yolu enfeksiyonlarının başlıca sebebidir (Prevost 1995). Diğer stafilokok türleri (*S. ludunensis, S. haemolyticus, S. warners, S. schleifer, S. intermedius*) oldukça nadir görülen patojenlerdir (Rupp 1994).

***Staphylococcus aureus*'un mutfaktaki varlığı**

Günümüzde doğrudan ve dolaylı olarak büyük zararlara yol açabilen kontamine gıdalar, farklı toplumlar arasında en ciddi sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilebilir. Küresel olarak, kirlenmiş gıdaların neden olduğu ishal vakalarının sayısının yılda 582 milyon vakaya çıktığı tahmin edilmektedir, bu da 25,2 milyon DALY'ye (Engelliliğe Ayarlanmış Yaşam Yılları) eşdeğerdir (Kirk *et al.* 2015). Her yıl, bu ölenlerin neredeyse 700.000 kadarı beş yaş altı çocuklardır (Walker *et al.* 2013). Ayrıca *Staphylococcus* spp. koagülaz pozitif suşlar (~%8), doğrulanmış salgınların sebebi olan ikinci en yaygın patojen olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, hastalığın seyrinin daha kısa olması ve görülen belirtilerin daha hafif olması nedeniyle, gerçek vaka sayısı bildirilenden daha yüksek olmalıdır (Chaves 2017).

Yüzeylerde yaşayan mikrobiyal türlerin incelenmesi, dünya çapında güncel bir araştırma konusu olmuştur. *Staphylococcus* spp. gibi patojenik mikroorganizmalar çevreden, insan ve diğer hayvanların vücutlarından izole edilebilmektedir (Götz *et al.* 2006). *S. aureus*, *Salmonella* ve *Campylobacter'*in çiğ etten çapraz kontaminasyonu Kennedy ve meslektaşları tarafından doğrulanmıştır (Kennedy *et al.* 2011). Elde edilen sonuçlara göre, tüm hazırlık aşamalarında kontaminasyon oluşabilmektedir ve en sık saptanan mikroorganizma *S. aureus* olmuştur.

Conrad N. Hilton'da doktora sonrası araştırmacı olan Zahra H. Mohammad'in yaptığı çalışma (2020), *E. coli, Salmonella* ve *S. aureus'*un süngerde 13 günden 16 güne kadar yaşayabildiğini göstermiştir (Mohammad 2020). *S. aureus, S. enteritidis* ve *C. jejuni* ile kontamine olmuş süngerlerden, patojenlerin ki -*S. aureus* 4 güne kadar hayatta kalmıştır- paslanmaz çelik yüzeylere geçerek bu tutunabildiği görülmüştür. Benzer şekilde, süngerlerle paslanmaz çelik yüzeylere geçen patojenlerin, daha sonra kesilmiş sebzeleri farklı oranlarda kontamine ettiği görülmüştür (Kusumaningrum *et al*. 2003). Bu da çapraz kontaminasyona en büyük kanıtlardan biridir.

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes, 1926'da gerçekleşen tavşanları ve kobayları etkileyen bir salgın sonrasında keşfedilmiştir (Murray 1926). Daha sonra yabani hayvanları ve insanları hasta ettiği gözlemlenmiş ve 1986'da gıda kaynaklı bir patojen olarak kabul edilmiştir (Schlech *et al.* 1983). *Listeria* spp. gram-pozitif çubuk şeklindedir(0,5–4 μm çapında ve 0,5–2 μm uzunluğunda). Spor oluşturmazlar, fakültatif anaerobiktirler ayrıca katalaz pozitif ve oksidaz negatif organizmalardır. *Listeria*, peritrik kamçı nedeniyle 20–25°C'de yuvarlanma hareketi yapar. *L. monocytogenes'*in optimum büyüme sıcaklığı 30–37°C olsa da 0 ila 45°C arasında yaşamını sürdürebilme yeteneğine sahiptir. *L. monocytogenes*, buzdolabı sıcaklığında çoğalabilir, dezenfektanlara dayanıklıdır ve çeşitli yüzeylere yapışır (Meloni 2014). İşleme tesislerine girdikten sonra, olumsuz koşullar altında uzun süre hayatta kalabilmektedir. *L. monocytogenes*, 6,0 ila 7,0 arasında değişen pH'larda gelişim göstermektedir (Tessema *et al.* 2012). Ancak asidik ortamlar, konakçının dışında (örneğin asitli gıdalar ve toprak) veya içinde (örneğin makrofajların midesi ve fagozomları) *Listeria'*nın karşılaştığı yaygın durumlardır (Cotter and Hill 2003; Gray *et al.* 2006). Bu durum, *L. monocytogenes'*in 4,3'ten 9,4'e kadar geniş bir pH aralığında büyüme yeteneği geliştirmesine sebep olmuş olabilir (Te Giffel and Zwietering 1999).

L. monocytogenes doğada yaygın olarak bulunan bir organizmadır ve başlıca konakçıları toprak ve yemlerdir. Aynı zamanda, hem sağlıklı insan ve hayvanlardan hem de hasta olan evcil ve vahşi hayvanlardan izole edilmiştir (Liu 2007).

L. monocytogenes, yutulması halinde septisemi, menenjit, kürtaj ve ölü doğumlara yol açan hastalıklara neden olabilir. 1985 yılında Kaliforniya'da meydana gelen bir salgın, 48 ölümle sonuçlanan 142 vakaya sebep olmuştur (ICMSF 1996). Çalışmalar, *L. monocytogenes'*in yılda yaklaşık 260 ölüme sebep olarak, Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kaynaklı hastalıkların sebep olduğu üçüncü en yaygın ölüm nedeni olduğunu göstermiştir. *L. monocytogenes* enfeksiyonu ile ölüm oranları yaklaşık %15'tir ancak hastaların durumuna ve komorbiditelere bağlı olarak daha da artabilir (Zeinali 2015). Gebeliğe bağlı vakaların yaklaşık %25'i, fetal ölüm dahil olmak üzere kötü sonuçlara sahiptir (Liu 2007).

Listeria genellikle gençlerde (yenidoğanlarda), yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış hasta popülasyonunda menenjite neden olur. *L. monocytogenes* ile enfekte olmuş sağlıklı bireylerde tipik olarak ateş ve ishal ile kendini gösteren bir gastrointestinal enfeksiyon geliştirir. *Listeria* ailesi, insanlarda en tutarlı şekilde bulunan *L. monocytogenes'*e sahip 10 farklı türden oluşur. *L. monocytogenes'* in farklı türde flagellar ve yüzey antijenlerine sahip 13 farklı serotipi bulunmaktadır. Bununla birlikte, bunlardan yalnızca 3 serotipi insanlarda hastalık

oluşturmaktadır. Genel olarak, *L. monocytogenes'*in enfeksiyöz dozu büyüktür, yani klinik enfeksiyona neden olmak için kişinin çok sayıda yutması gerekir, ancak büyüme ve bölünme buzdolabı sıcaklıklarında devam edebildiğinden, tipik gıda saklama önlemlerine rağmen bu seviyelere ulaşılabilir. Konağın bağışıklık düzeyi de bulaşma oranını etkileyebilir. *L. monocytogenes'*in mideden geçişi ve bağırsak hücrelerinin invazyonu, proton pompası inhibitörleri veya diğer gastrik asit baskılama yöntemleri kullanılarak kolaylaştırılır (Ranjbar ve Halaji 2018).

L. monocytogenes, insanlarda görülen listeriozisin en temel nedenidir. Nadiren, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* tarafından gıda kaynaklı enfeksiyonlar bildirilmiştir (Liu 2007). *L. monocytogenes* suşlarının bazıları çok öldürücüyken diğerleri bulaşıcı olmadığından değişen patojenik potansiyele sahiptir. *L. monocytogenes'*in patojenik potansiyelinin araştırılması, gıda güvenliğinde ve halk sağlığında önemli bir yere sahiptir (Zeinali 2015). Virülan suşların tanımlanması, *L. monocytogenes'* in patojenitesi ile doğrudan ilişkili bazı genlerin izlenmesi yoluyla elde edilebilir (Sabet 2005).

Listeria monocytogenes'in mutfaktaki varlığı

Yiyecek hazırlama, mutfaklardaki birçok alanın bakteriler tarafından çapraz kontaminasyonuna yol açabilir. Bazı çalışmalar, domuz eti, kuzu eti, sığır eti ve deniz ürünlerinin de içinde olduğu birçok gıda ürününün *Listeria* açısından önemli mikrobiyal kontaminasyon kaynakları olduğunu bildirmiştir (Whyte *et al.* 2004) . Süt, et, balık, un ve taze peynir gibi birçok ürün ciddi hastalık yapan birçok gıda kaynaklı patojenin kaynağıdır ve *L. monocytogenes* ise bu patojenlerin başında gelir (Mena *et al.* 2004). Yiyecek hazırlarken, herhangi bir patojen, kesme tahtası ve bıçak gibi pişirme gereçlerini, mutfak yüzeylerini, bulaşık bezi ve süngeri gibi yüzeyleri temizlemek için kullanılan ekipmanları kontamine edebilir (Beumer and Kusumaningrum 2003). Bakterilerin bu malzemelere yapışması, hastalıkların bulaşmasını sağlayan bir kontaminasyon kaynağıdır. Kabul edilebilir dezenfeksiyon prosedürleriyle bile bakterilerin "ekipman yüzeylerinde kalabileceği" iyi bilinmektedir (Dunsmore *et al.*1981; Austin and Bergeron, 1995). Bu nedenle, evsel ve endüstriyel mutfakların gıda kaynaklı enfeksiyonların yayılmasında önemli bir kontaminasyon kaynağı olduğu sonucuna varılabilir.

L. monocytogenes, gıda endüstrisinde büyük bir endişe yaratan gıda kaynaklı bir patojendir (Wong 1998). *L. monocytogenes*, hareket edebilen biyofilm oluşturabilir (Colagiorgi 2017). *L. monocytogenes'*in virülans faktörleri, aktin polimerizasyonu yoluyla hücre içi hareketliliği ve buzdolabı sıcaklıklarında çoğalma yeteneğine sahiptir. Bu durum, gıda endüstrisinin kontrolünü zorlaştırmaktadır. *L. monocytogenes,* buzdolabı sıcaklıklarında (1,5

°C kadar düşük) ve su aktivitesinin oldukça düşük olduğu ortamlarda (Mena *et al.* 2004), %30'a kadar tuz konsantrasyonlarında ve 5,0'ın altında bulunan pH değerlerinde gelişebilir. (Bacon and Sofos 2003). Bu gibi özellikler, genellikle gıdalardaki patojenlerin büyümesini engellemek için oluşturulan koşullar altında hayatta kalmasına katkıda bulunur. Bakteriyel bulaş, en yaygın olarak soğuk şarküteri etleri ve pastörize edilmemiş süt ürünlerindeki patojenlerin fekal-oral yolla bulaşmasıyla gerçekleşir (Rogalla and Bomar 2022).

*Listeria'*nın ana taşıyıcıları; organizmanın etrafa yayılmasını sağlayan kümes hayvanları sürüleri ve hijyenik olmayan koşullarda işlenen kümes hayvanı karkaslarıdır (Dhama 2013). *Listeria,* tavuk gibi kümes hayvanlarının dışkısından da izole edilmiştir. *Listeria* spp. çeşitli kümes hayvanı ürünlerinde tespit edilmiştir (Elmali 2015). Diğer çalışmalara göre, kümes hayvanı ürünleri %8 ila %99 oranında *Listeria* spp. ile kontamine olmuştur. *L. monocytogenes'*in daha önce çiğ ürünlerden pişmiş ürünlere kadar farklı kümes hayvanı ürünlerinde görüldüğü rapor edilmiştir. Schäfer ve ark. (2018), tavuğun göğüs örneklerinde %8,64 oranında ve but örneklerinde ise %44,19 oranında kontaminasyon olduğunu göstermiştir.

L. monocytogenes toprakta, suda ve çürüyen bitki örtüsü gibi birçok ortamda bulunabileceği için her yerde bulunabilir. Bu bakteri ayrıca insanların sindirim sisteminde bulunabilir. *L. monocytogenes*'in bulunması sebebiyle hastalığa neden olan gıdalar şunları içerir:

- Çiğ filizler
- Pastörize edilmemiş süt
- Yumuşak peynirler
- Soğuk şarküteri etleri
- Soğuk sosisli sandviçler
- Füme deniz ürünleri

Sonuç olarak, gıda güvenliği açısından bakıldığında, kanatlı et ve ürünlerinde *L. monocytogenes'*in varlığı çok yönlü potansiyel bir tehlikedir. Bunun nedeni, ilk olarak, nihai ürünlerde *L. monocytogenes'* in hayatta kalmasına yol açabilecek tavuk eti bazlı bazı mangalda pişirilmiş ve kızartılmış gıdalar ve ikinci olarak, antibiyotik direncini topluma aktaran çoklu ilaç direnci izolatlarının varlığıdır. Ayrıca Beumer ve arkadaşlarının (1996) yaptığı araştırmalara göre *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerine mutfak bezlerinden, fırçalarına evin birçok alanında rastlanmıştır. Önceki çalışmalar mutfak süngerlerinin ve mutfak bezlerinin çapraz kontaminasyona sebep olduğunu gösterdiğinden, *L. monocytogenes* gibi patojenlerin insanlara bulaşarak hastalık yapma ihtimali oldukça yüksektir.

***Salmonella* spp.**

1885 yılında Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Hayvan Endüstrisi Bürosunda , Theobald Smith ve Daniel Elmer Salmon tarafından keşfedilmiştir (Salmon and Smith 1886). *Salmonella,* adını 1884 yılında domuz bağırsağından bakteriyi ilk kez izole eden Amerikalı bakteriyolog D. E. Salmon'dan almıştır.

Salmonella, Enterobacteriaceae ailesinin üyelerinden biridir. Organizmalar gram ve oksidaz negatiftir ve hareketlidir (peritriköz kamçı varlığından dolayı), çubuk şeklinde olup spor oluşturmayan ve fakültatif anaeroblardır (Lertworapreecha 2013). *Salmonella* türlerinin boyutları yaklaşık 2-3 x 0,4-0,6µm'dir (Yousef and Carlstrom 2003).

Salmonella, ortamdaki oksijen varlığına bağlı olarak aerobik ya da anaerobik olarak gelişebilir. 37°C (98,6°F) sıcaklık ve 6,5 ila 7,5 pH optimum olsa da, 2°C (36°F) ila 54°C (129°F) arasındaki sıcaklıklarda değişen birçok koşulda farklı suşlar gelişir ve pH değerleri 4,0 ile 9,5 arasındadır (Li *et al.* 2013). *Salmonella,* dondurulmuş ette bir yıl veya daha uzun süre hayatta kalabilir (Muller *et al.* 2012).

White Kauffmann-Le Minor tarafından 2600'den fazla farklı *Salmonella* serotipi rapor edilmiştir. Bunlardan 1600'ü enterica alt türüne aittir (Elnekave *et al.* 2020). Organizmanın 200'den fazla türünün insanlarda hastalık yaptığı bildirilmiştir (Xu 2021). Kauffmann-White şeması, cinsin iki ana türü olarak *S. enterica* ve *S. bongori'*yi bildirmiştir (Popoff and Le Minor 1997). Bildirilen diğer sınıflandırma biçimleri, biyokimyasal özelliklere (*S. Cholerasuis, S. Typhi ve S. Enteritidis*) ve konak tercihine dayanmaktadır. (*S. Typhi* ve *S. Paratyphi* insanların konukçusu, *Salmonella* spp. belirli hayvanların konukçusu; *S. Cholerasuis* domuzun konukçusu, *S. Pullorum/S. Gallinarum* kümes hayvanlarının konukçusu ve *S. Dublin* sığırın konukçusudur ve *Salmonella* spp. herhangi bir konukçuya adapte edilmemiştir) (Carter and Wise 2004).

Dünya çapında, *Salmonella*'nın neden olduğu gıda kaynaklı hastalıklardan dolayı, *Salmonella* bir yüzyıldan fazla bir süredir halk sağlığını ilgilendirmektedir (Worku *et al*. 2022). *Salmonella* hastalıkları, tifosal salmonelloz (enterik ateş) ve tifo dışı *Salmonella* (NTS) ile ilişkili enfeksiyonlar olarak gruplandırılır. *S. enterica* serovar *Typhi* tifo ateşinin temel sebebidir. *S. Paratyphi* A, B ve C insan konakçı kısıtlı paratifo ateşine neden olur (Akinyemi 2021). NTS enfeksiyonlarının temel sebebi bazı *S. enterica* serovarlarıdır (Ngogo 2020). *S. enteritidis, S. cholerasuis ve S. Typhimurium,* gıda ve gıda ürünlerinin bu patojenlerle kontamine olması ve kontamine gıdaların yutulması yoluyla insanlarda hastalığa neden olan serovarlardan bazılarıdır (Thung 2018). İnvaziv tifosalmonelloz ise enterik ateş, gastroenterit ve bakteriyemiye neden olur (Lauteri 2022) Nontifoidal salmonelloz, gözle görülür klinik

semptomlar olarak diyare, karın krampı ve kusma ile ileum ve kolonu etkileyen gastroenteriti gösterir (Gong 2022).

Amerika Birleşik Devletleri gibi gelişmiş ülkelerde, *Salmonella*'dan kaynaklı hastalıkların en yaygın şekli gastroenterit ve enterokolit olarak kendini göstermektedir. ABD'de her yıl 1 milyondan fazla NTS vakası görülmektedir. Enterik ateş, Amerika Birleşik Devletleri'nde oldukça nadir görülür ve genellikle ülke dışından gelmektedir (Ajmera and Shabbir 2022). Bununla birlikte, yılda 20 milyondan fazla yeni enfeksiyon ve yılda 200.000' den fazla ölümle küresel bir endişe kaynağıdır (Dekker and Frank 2015). Tifo insidansı Güney Asya'da ve Sahra altı Afrika'da yüksektir ve yılda 100.000 kişide 100'den fazlaya ulaşmaktadır (Crump *et al.* 2015). Bu bölgelerde, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde, enfekte insan dışkısının sebep olduğu kontamine yiyecek ve su kaynaklarının yetersiz sanitasyonu nedeniyle enfeksiyon insidansı ve riski yüksektir (Ajmera and Shabbir 2022).

Salmonella spp.'nin mutfaktaki varlığı

Gıda kaynaklı salmonellozun temel sebeplerinden biri de yumurta ve çiğ yumurta ürünlerinin tüketilmesidir (Whiley and Ross 2015). *Salmonella* serotipi *enteritidis* salgınları, defalarca çiğ ve az pişmiş yumurta tüketimi ile ilişkilendirilmiştir (Delarocque-Astagneau 1998). Yumurtalar oluşum sürecinde ve daha sonra işlenme ve paketlenme süreçlerinin farklı aşamalarında kontamine olabilir. Tavuğun yumurtalıkları enfekte olduğunda yumurta oluşumu sırasında yumurtaların dikey veya transovaryan kontaminasyonu olabilir (De Reu 2006). Yumurtalar kontamine bir ortamda kontamine olursa yatay bulaşma oluşabilir. Daha önceki çalışmalara göre, düşük kabuk kalitesine sahip bütün yumurtaların *Salmonella* ile kontamine olma olasılığı yüksektir ve yumurta ağırlığı ve sürü yaşı da *Salmonella* spp'nin yumurtaların kabuğuna ve zarlarına nüfuz etme kabiliyetini etkiler (Berrang 1998). Ayrıca, *S. enteritidis* tarafından yumurtlamanın başından sonuna kadar yumurta kabuğu penetrasyon insidansının arttığı ve sürü yaşlandıkça *Salmonella* bulaşma riskinin arttığı bulunmuştur (Nascimento 1992).

Yer fıstığı, sığır eti, domuz eti ve tavuk gibi birçok gıda maddesi salmonelloz salgınlarıyla ilişkilendirilmiştir fakat sıklıkla yumurta ve yumurta kullanılarak hazırlanan gıda ürünleri, hastalığın sebebi olarak görülen gıdalardır. Çiğ yumurta, hamur işlerinde, ev yapımı dondurmalarda ve mayonez gibi birçok gıdada kullanılmaktadır. Isıl işlem görmemiş ve kontamine olmuş bu yumurtalar halk sağlığı açısından oldukça önemli bir risk oluşturmaktadır. Ayrıca, *S. enteritidis* salgınları birçok kez çiğ veya az pişmiş yumurtalarla ilişkilendirilmiştir (de Oliveira 2015). Çiğ yumurtanın kullanıldığı ürünler arasında, evlerde çiğ yumurta ile yapılan mayonez, salmonelloz salgınlarıyla en sık ilişkilendirilen besinlerden birisidir. Halihazırda birçok ülkede *Salmonella* kontaminasyonunun olmadığı garanti edilen yumurtalar

üretmek malesef mümkün değildir, bu sebeple yumurtaları toplama sonrası ve gıda işleme sırasında kullanılan kontrol mekanizmaları halk sağlığını korumak için gereklidir (CDC 1995).

Bakteriler genellikle un, baharatlar, kuruyemişler, fındık ezmesi, kuru tozlar, çikolata vb. gibi düşük su aktivitesine sahip gıdalarda üremez (Young *et al.* 2015). Fakat, *Salmonella* gibi gıda kaynaklı patojenlerin bu tür gıda ürünlerinde hayatta kaldığı rapor edilmiştir (Tsai *et al.* 2019). Mikrobiyal bozulmayı önlemek için bir lezzet arttırıcı veya koruyucu olarak gıdalarda yaygın olarak kullanılan tuz, temel olarak düşük su aktivitesi nedeniyle genellikle mikrobiyolojik olarak güvenli bir ürün olarak kabul edilse de, son zamanlarda, çeşitli Avrupa ülkelerinde *Salmonella* kontaminasyonu nedeniyle bitki çeşnili bir tuzun büyük oranda piyasadan geri toplatılması, bu patojenin bu tür gıdalarda da yaşayabildiğini göstermektedir. Ayrıca Alves ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, gönüllüler eldivenli elleriyle tavuk örneklerini tuttuktan sonra ellerinin *Salmonella* ile kontamine olduğu ve elleri yıkamadan marulların tuzlanmasıyla *Salmonella*'nın marul yapraklarına geçerek çapraz kontaminasyonun gerçekleştiği gösterilmiştir (Alves et. al., 2012). Ek olarak, *S. enterica* yapay olarak kirlenmiş tuzda (su aktivitesi 0,49 olan) en az 146 gün hayatta kalmayı başarmıştır. Gıda kaynaklı patojenler pişirme tuzunda uzun süre hayatta kalabilme yeteneği geliştirdikleri için, yemek hazırlarken hijyen kurallarına dikkat edilmezse, pişirme tuzu çapraz bulaş için iyi bir araç haline gelebilir.

Wolde ve Bacha (2017) çeşitli restorantların mutfaklarından topladıkları 201 bulaşık süngerlerinin %11,9'unda *Salmonella*'ya rastlamıştır. İzolatların 5 tanesinin ilaca dirençli olduğu tespit edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri merkezli bir çalışma, tüm izolatlar seftriakson ve siprofloksasine duyarlı kalmasına rağmen, çoklu ilaç direnci (MDR) ve nalidiksik asit dirençli *Salmonella* sayısında uluslararası düzeyde bir artış olduğunu göstermektedir (Ackers *et al.* 2002). Son yıllarda ilaca dirençli *Salmonella* ürkütücü bir şekilde arttığı için, bu durum yüksek dirençli *Salmonella'*ya sahip olma eğiliminde olan birçok ülkede bir sorun haline gelmiştir (Wolde *et al.* 2016). *Salmonella* için bildirilen bu ilaç duyarlılığındaki varyasyonlar ve dirençli türlerinin mutfaklarda kullanılan bulaşık süngerlerindeki varlığı, mutfak hijyeninin sağlanmasında bulaşık süngerlerine önem verilmesi gerektiğini göstermektedir.

Camphylobacter jejuni

C. jejuni, Campylobacteraceae familyasından mikroaerobik, spor oluşturmayan, gram negatif bir bakteridir. 0,2-0,9 μm genişliğinde ve 0,5-5 μm uzunluğunda hareketli, spiral şekilli çubuklar oluştururlar ve tirbuşon benzeri bir hareketle hareket ederler (Borriello 2005). Bakteriye ince bir "S" şekli veren, hücrenin ucunda (veya her iki ucunda) kılıfsız bir polar kamçı

bulunur ve bu sarmal görünüm onun en ayırt edici özelliğidir. *C. jejuni* kültürde oldukça yavaş gelişen bir patojendir ve en iyi 42°C sıcaklıkta gelişim gösterir (Allos 2001). *C. jejuni'*nin büyümesi için optimum pH 6,5–7,5 aralığındadır, ancak tüm suşlar pH 5,5–8,0'da iyi gelişir (Doyle and Roman 1981). Yaşlı veya uzun süre havaya maruz kalan kültürler genellikle küresel veya kokoid olma eğilimindedir (Fitzgerald ve Nachamkin 2007).

Campylobacteriosis bir hastalık antitesi olarak ilk kez 1886'da Theodor Escherich tarafından çocuklarda intestinal *Campylobacter* enfeksiyonlarının semptomları "kolera infantum" veya "yaz şikayeti" olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, organizmalar kolayca kültürlenememiştir veya karakterize edilememiştir, bu da 1970'lere kadar başlıca hastalık nedenleri olarak tanınmalarını engellemiştir.

Campylobacter, insanlarda bakteriyel ishal hastalığının en yaygın nedenlerinden biridir. Adı "bükülmüş çubuk" anlamına gelir ve Yunanca campylos (bükülmüş) ve baktrondan (çubuk) türetilmiştir. Birçok farklı türü olmasına rağmen, *Campylobacter'*in üç türü insan enfeksiyonunun ana kaynaklarını temsil etmektedir. *C.jejuni, C. coli* ve *C. larry,* bu enfeksiyonlara sebep olan en yaygın 3 türdür.

Campylobacter, özellikle sağlıksız ve hijyenik olmayan koşullarda zoonotik hastalığa neden olan önemli bir organizmadır ve bu hayvanların kesimleri sırasında dışkı yoluyla et ve et ürünlerine bu organizma bulaşmaktadır. Bu organizma genellikle insanların bağırsak mukozasında, çiftlik hayvanlarının, vahşi hayvanların, evcil hayvanların ve kuşların mide-bağırsaklarında bulunur. Campylobacteriosis, tüm dünyada yaygın olarak insanlara doğrudan veya dolaylı olarak bulaşan zoonotik bir hastalık olarak bildirilmektedir. Tüm insan campylobacteriosis vakalarının yaklaşık yüzde sekseni, dünya çapında kontamine kümes hayvanı (tavuk) eti tüketiminden kaynaklanmaktadır (Hermans *et al.* 2012; Bahrndorff *et al.* 2013).

C. jejuni, en yaygın semptomu 2-10 gün süren ishal (bazen kanlı) ve ayrıca hafif ile şiddetli karın ağrısı, ateş, halsizlik, mide bulantısı ve kusma olan gastroenterite neden olur (Shakespeare 2002). Semptomlar yaklaşık bir hafta sürer ancak tedavi edilmeyen vakaların %5-10'unda nüks görülür. Çok sayıda *Camphylobacter* enfeksiyonu asemptomatik ve hafif olmasına rağmen, küçük çocuklarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda bakteriyemi, hepatit, kolesistit, pankreatit, kürtaj, miyokardit ve menenjit gibi birçok komplikasyon bildirilmiştir (Allos 2001). *C. jejuni,* en yaygın olarak Guillain-Barré sendromu ve reaktif artrit olmak üzere enfeksiyöz sekeller ile ilişkilendirilmiştir.

*C. jejuni'*nin virülansından sorumlu faktörler şunlardır: Flagellar hareket, bağırsak mukozasına bakteri afinitesi ve istilacı özellik (Dasti 2010). *Campylobacter* ince bağırsakta

kolonize olmak için flagellasını kullanır ve daha sonra flagellası yardımıyla kolona hareket eder (Snelling *et al.* 2005). Kolonizasyondan sonra, *C. jejuni* bağırsak mukozal hücrelerine bağlanır. *C. jejuni'*nin patojenitesi, özellikle *C. lari, C. fetus C. coli, C. jejuni* ve *C. upsaliensis, (*Johnson ve Lior 1988) tarafından sitotoksisiteye neden olan termo kararsız bir enterotoksin üretimi ile ilişkilidir. Bu bakteri tarafından üretilen sitotoksinler hücresel enflamasyona neden olarak bağırsak emilimini etkiler (Van Deun *et al.* 2007). Bu apoptoza yol açar. Bu toksinlerin üretimi, bağırsak mukozal hücrelerinin apoptoz süreciyle ölümüne neden olur ve böylece ishale (kanlı veya sulu) yol açar.

ABD Hastalık Kontrol Merkezlerine göre, *Campylobacter* yılda yaklaşık 1,3 milyon enfeksiyona sebep olmaktadır. Bu, Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık 1,3 ila 6,8 milyar dolar arasında çok büyük bir ekonomik maliyete yol açmaktadır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının, genellikle çiğ süt, az pişmiş kümes hayvanları ve kirli su tüketiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Morbidite, mortalite ve uzun süreli hastalık açısından en yüksek risk grubu immün sistemi baskılanmış ve yaşlı hastalardır. Hayvan rezervuarlarında tedavi ve eradikasyonun mevcudiyetine rağmen, dünyanın hem gelişmiş hem de az gelişmiş bölgelerinde vakalar önemli ölçüde artmıştır (Kaakoush 2015).

Campylobacter jejuni' nin mutfaktaki varlığı

Artık gelişmiş ülkelerde zoonotik organizmaların insanlara bulaşmasında en sık söz konusu olan araç yediğimiz gıdalardır. Kanatlı etleri genellikle *Campylobacter* spp. ile kontamine olmaktadır. Kanatlı etinin *Campylobacter* enfeksiyonunun birincil kaynağı olduğunu söyleyen önemli epidemiyolojik kanıtlar vardır (Sahin ve ark. 2002). Perakende kümes hayvanı ürünlerinden izole edilen *Campylobacter* spp. seviyeleri, ABD'de perakende pazar piliçlerinden %69 *C. jejuni* (Willis and Murray 1997), Japonya'da perakende kümes hayvanı örneklerinden %71,2 *C. jejuni* (Saito *et al.* 2005), İspanya'da perakende tavuk etinden %49,5 termofilik *Campylobacter* ve (Dominguez *et al.* 2002) İrlanda' da perakende tavuk etinde %65 *Campylobacter* spp. izolasyonu (Cloak *et al.* 2001) ile büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Başka bir İrlanda araştırmasında, 2391 perakende gıdadan oluşan bir havuzda çiğ tavukta %42, ördekte %37.5 ve hindide %31.8 *C. jejuni* seviyeleri bulunmuştur (Whyte *et al.* 2004).

Tüketilen diğer hayvan etlerindeki *Campylobacter* oranının, kümes hayvanlarında bulunan *Campylobacter* oranından daha düşük olma eğiliminde olduğu rapor edilmiştir. Sığır eti, domuz eti ve kuzu eti de dahil olmak üzere bu etlerin daha çok enfeksiyona sebep olduğu düşünülürken (Kramer *et al.* 2000), kabuklu ve kabuksuz deniz ürünleri bir dizi salgınla

ilişkilendirilmiştir (Wilson and Moore 1996). Bazı vakalar tanımlanmış olmasına rağmen, sebzeler genellikle enfeksiyonla ilişkili değildir (Jacobs-Reitsma 2000).

Bazı çalışmalarda, taze veya dondurulmuş tavuğun hazırlandığı mutfak yüzeylerinin patojenlerle hangi oranlarda kirlendiği incelenmiştir (Dawkins *et al.* 1984). Bir üniversite, hastane, pişirme-dondurma işletmesi mutfakları ve ticari bir mutfaktaki *Campylobacter* kontaminasyon düzeylerini karşılaştırılmıştır. Ticari mutfakta, diğer işletmelerde olduğundan iki kat daha fazla bölüm *Campylobacter* pozitiftir. Diğer araştırmalar (de Boer and Hahné 1990; Cogan *et al.* 1999), doğal olarak kontamine olmuş tavuklar hazırlandığında *Campylobacter* sppç'nin mutfak yüzeylerine kolaylıkla yayılabileceğini göstermiştir.

Kantin hijyeni araştırmalarının, kantin çalışanlarının çiğ tavuğa dokunduklarında ellerinin *Campylobacter* ile kontamine olduğunu göstermesi belki de şaşırtıcı değildir. Dawkins ve ark. (1984), *C. jejuni'*yi mutfak çalışanlarının 2/45'inin (%4,4) el sürüntüsünden izole etmiştir. Cogan ve ark. (1999), incelenen tüketici grubunun %15'inin haşlanmış tavuk hazırladıktan sonra ellerinde *Campylobacter* pozitif olduğunu bulmuşlardır. Coates ve ark. (1987), *Campylobacter*'in, ellerden sabun ve suyla yıkayarak giderilebileceğini göstermiştir.

Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenlerin Tespiti İçin Hızlı Yöntemler

Gıda kaynaklı hastalıkların oranı yıllar içinde artmış ve küresel olarak büyük bir halk sağlığı sorununa yol açmıştır. Gıda kaynaklı patojenler, çeşitli gıdalarda bulunur ve gıda kaynaklı patojenlerin tespiti, gıda güvenliğini sağlamak ve gıda kaynaklı hastalıkları önlemek için büyük önem taşır. Gıda kaynaklı patojenleri tespit etmeye yönelik geleneksel yöntemler, genellikle çok zaman alıcıdır ve oldukça yoğun bir emek gerektirir. Bu nedenle, birçok gıda analizinde de ihtiyaç duyulduğu gibi, gıda kaynaklı patojenleri hızlı tespit edebilmek için çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen hızlı tespit yöntemleri, nükleik asit bazlı yöntemler, biyosensör bazlı yöntemler ve immünoloji bazlı yöntemler olarak 3 bölüme ayrılabilir. Genel olarak, hızlı tespit yöntemlerinde aranan kriterler; zamandan tasarruf, hassasiyet, özgüllük ve emek tasarrufudur. Hızlı tespit yöntemlerindeki gelişmeler, gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için çok büyük bir öneme sahiptir.

Gıda kaynaklı hastalıklar, son 20 yılda önemli ölçüde artış göstermiştir ve bu da gıda kaynaklı hastalıkları dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu haline getirmiştir (Oliver ve ark. 2005). Gıda kaynaklı hastalıkların küresel boyutunu tahmin etmek zordur ve özellikle gelişmekte olan bazı ülkelerde vakalar eksik bildirilmektedir. Buna rağmen dünyanın birçok yerinde gıda kaynaklı hastalık oranlarının gün geçtikçe arttığı bildirilmiştir (Van de Venter 2000). Örneğin, Tayvan'da gıda kaynaklı hastalık salgını 1995'te 121'den 1996'da 177'ye

yükselmiştir. Ayrıca o zamandan beri hastalıkların görülme oranları da artmaya devam etmektedir (Chiou *et al.* 2000). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin (CDC) raporuna göre, Amerika Birleşik Devletleri dünyanın en güvenli gıda kaynaklarına sahip olmasına rağmen, Amerika Birleşik Devletleri' nde yılda yaklaşık 48 milyon kişi hastalanmakta, 128.000 kişi hastaneye kaldırılmakta ve gıda kaynaklı hastalıklar nedeniyle 3.000 kişi ölmektedir (CDC 2011). Ayrıca, bugün dünya nüfusunun yaklaşık dörtte biri, gıda kaynaklı hastalık açısından daha yüksek risk altındadır (Oliver *et al.* 2005).

Gıda kaynaklı hastalıklara, genellikle patojenler veya bu patojenlerin ürettiği toksinler ile kontamine olmuş gıda veya su tüketimi neden olur. Gıdaların tüketimi ile hastalığa sebep olan mikroorganizmalara genellikle gıda kaynaklı patojenler denir. Bakteri, virüs, mantar ve parazitleri içerir (Zhao *et al.* 2014). Amerika Birleşik Devletleri' nde otuz bir gıda kaynaklı patojen tanımlanmıştır ve virüslerin hastalıkların önde gelen nedeni olduğu, bakterilerin ise hastaneye yatış ve ölümlerin önde gelen nedeni olduğu tahmin edilmektedir (Scallan *et al.* 2011). Gıda kaynaklı hastalık salgınlarına sebep olduğu bilinen gıda kaynaklı patojenler; *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7, *S. aureus, S. enterica, Bacillus cereus, Vibrio* spp, *C. jejuni, Clostridium perfringens* ve Shiga toksin üreten *E. coli'dir* (Oliver *et al.* 2005; Scallan *et al.* 2011; Zhao *et al.* 2014).

Sokak gıdaları ve minimum düzeyde ısıl işlem görmüş hazır tüketim ürünlerine yönelik artan talep, gıda güvenliği konusunda halk sağlığı kurumlarını endişelendirmeye başlamıştır (Lee *et al.* 2014). Gıda kaynaklı patojenler genellikle herhangi bir işlem görmeden tüketilen meyve, sebze ve tüketime hazır ürünler gibi çeşitli gıdaların içerisinde bulunmaktadır (Chung *et al.* 2010; Lee *et al.* 2014). Bu durum, gıda güvenliği için gerekli kurallara dikkat edilmezse gıda kaynaklı hastalıklara yol açabilir. Gıda kaynaklı hastalıkların özellikle deniz ürünleri, et ve kümes hayvanları gibi çiğ veya az pişmiş gıdaların tüketiminden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Omurtag *et al.* 2013). Bu nedenle, güvenli bir gıda tedariki sağlamak ve gıda kaynaklı hastalık oranlarını düşürebilmek için gıdaların patojen içeriğini iyi analiz etmek kritik öneme sahiptir.

Gıdalardaki gıda kaynaklı bakteriyel patojenleri tespit etmek için kullanılan geleneksel yöntemler, mikroorganizmaların agar plakalarında kültürlenmesi ve kültüre edildikten sonra standart biyokimyasal tanımlama yapmaya dayanmaktadır (Mandal *et al.* 2011). Kullanılan geleneksel yöntemler genellikle oldukça ucuz ve basittir. Fakat bu yöntemler mikroorganizmaların ön zenginleştirme ortamı, seçici zenginleştirme ortamı gibi çeşitli ortamlarda büyüme yeteneğine bağlıdır, bu sebeple de zaman alıcı olabilir. Genellikle, konvansiyonel yöntemler ön tanımlama için 2-3 gün gibi bir süre gerektirir. Ayrıca patojen

bakterilerin doğrulanması için bir haftadan fazla zaman gerekmektedir (Zhao *et al.* 2014). Geleneksel yöntemler, kültür ortamının hazırlanması, plakaların aşılanması ve koloni sayımı gibi bir sürü işlem gerektirdiği için oldukça zahmetlidir (Mandal *et al.* 2011). Ayrıca, düşük hassasiyete sahip olmaları nedeniyle geleneksel yöntemlerde ciddi sınırlamalar mevcuttur (Lee *et al.* 2014). Yaşayan ancak kültürlenemeyen (VBNC) patojenler, yanlış negatif sonuçların meydana gelmesine sebep olabilir. Gıda kaynaklı patojenleri tespit edememek, bu patojenlerin insanlara bulaşma riskini artırır.

Son yıllarda, gıda kaynaklı patojen bakterilerin tespit edilmesi ve tanımlanması için geleneksel yöntemlerin dezavantajlarının üstesinden gelmek için yüksek hassasiyet ve özgüllük sağlayan çeşitli hızlı yöntemler geliştirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar, canlı hücrenin *in situ* analizi ve ayrımı için hız, duyarlılık, özgüllük ve uygunluk açısından iyileştirmeler içeren yeni yöntemler geliştirmeye devam etmektedir (Zhao *et al.* 2014). Hızlı saptama yöntemleri, çiğ ve işlenmiş gıdalardaki patojenlerin varlığını eş zamanlı tespit edebildikleri için gıda endüstrisinde kullanımları özellikle önemlidir. Bu yöntemler, gıdada az miktarda bulunan patojenleri tespit edecek derecede hassastır. Duyarlılık önemlidir çünkü gıdada bulunan tek bir patojenin dahi enfekte etme özelliğine sahip olması risk teşkil etmektedir. Hızlı yöntemler diğer yöntemlere nazaran çok daha verimlidir, iş yükünden tasarruf sağlar ve insan hatasını azaltır (Mandal *et al.* 2011). Ancak, her hızlı yöntemin kendine özgü avantajları olmakla birlikte kendi sınırlamaları da vardır. Genel olarak, hızlı tespit yöntemleri nükleik asit bazlı yöntemler, biyosensör bazlı yöntemler ve immünoloji bazlı yöntemler olarak sınıflandırılmaktadır (Zhao *et al.* 2014).

Nükleik asit tabanlı yöntemler

Nükleik asit bazlı yöntemler, spesifik DNA veya RNA dizilerini saptamaya yönelik çalışır. Bu işlem, hedef nükleik asit dizisinin, bu diziye tamamlayıcı olan sentetik oligonükleotitlerle (problar veya primerler) hibritlenmesiyle gerçekleştirilir (Zhao *et al.* 2014). Gıda kaynaklı hastalıklara neden olan toksinler ürettiği bilinen birçok bakteriyel patojen vardır (Son *et al.* 2014). Bu toksinlerin üretiminden sorumlu genler, nükleik asit bazlı yöntemler kullanılarak tespit edilebilmektedir (Zhao *et al.* 2014). Ayrıca, hippurik asit negatif *C. jejuni* suşları gibi belirsiz fenotipik özellikler gösteren patojenler, nükleik asit bazlı yöntemler kullanılarak belirlenebilir ve doğrulanabilir (Adzitey *et al.* 2012). Nükleik asit bazlı yöntemler, belirsiz veya yanıltıcı sonuçlar önleyerek spesifik genleri tespit edebilir. Son zamanlarda açıklanan nükleik asit bazlı yöntemler; basit polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (mPCR), gerçek zamanlı/kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), nükleik asit dizisi bazlı amplifikasyon, döngü aracılı izotermal amplifikasyon mikrodizi teknolojisidir.

Polimeraz zincir tepkimesi (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu(PCR), gıda kaynaklı bakteriyel patojenlerin tespiti için en fazla kullanılan moleküler tabanlı yöntemlerden biridir. PCR yaklaşık 40 yıl önce icat edilmiştir. PCR, belirli bir hedef DNA dizisini saptayarak gıdada bulunan tek bir bakteriyel patojenin saptanmasını sağlayabilir (Velusamy *et al.* 2010). PCR, belirli bir hedef DNA dizisini, üç aşamalı bir döngü süreci içerisinde çoğaltarak çalışır (Mandal *et al.* 2011). Öncelikle, yüksek sıcaklıkta hedef çift iplikli DNA denatüre olarak, tek iplikli DNA' ya dönüşür. Daha sonra ise hedefe spesifik primerler DNA şeritlerine bağlanır. Bunu, tek sarmallı DNA' yı tamamlayan primerlerin, deoksiribonükleotitlerin ve termostabil bir DNA polimerazın ortamda bulunması ile DNA' nın uzatıldığı polimerizasyon işlemi izler. PCR amplifikasyon ürünleri etidyum bromür ile boyanarak elektroforez jeli üzerinde bantlar halinde görselleştirilir (Zhao *et al.* 2014). PCR, *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7, *S. aureus, C. jejuni, Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. gibi çok sayıda gıda kaynaklı patojenin tespitinde kullanılmıştır (Cheah *et al.* 2008; Lee *et al.* 2008; Alves *et al.* 2012; Chiang *et al.* 2012; Zhou *et al.* 2013).

Multiplex PCR (mPCR)

Multiplex PCR, çoklu gen hedeflerini aynı anda amplifiye ederek basit PCR'den daha hızlı saptama sağlar. mPCR' nin genel olarak geleneksel PCR'ye benzer. Bununla birlikte, mPCR testinde birkaç spesifik primer seti kullanılırken, geleneksel PCR testinde yalnızca bir spesifik primer seti kullanılır. Primer setlerinin başarılı bir mPCR tahlili üretmek için benzer bağlanma sıcaklıklarına sahip olması gerektiğinden, primer tasarımı mPCR'nin geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir (Zhao *et al.* 2014). Ayrıca primer konsantrasyonu da mPCR'de oldukça önemlidir..Çünkü, mPCR' deki çoklu primer setleri arasında primer dimerleri oluşabilir. Güvenilir PCR ürünlerinin üretimini sağlamak için primer konsantrasyonunun iyi ayarlanması gereklidir (Zhao *et al.* 2014). Bir mPCR testinin başarılı olabilmesi için PCR tampon konsantrasyonu, magnezyum klorür ve deoksiribonükleotid konsantrasyonları arasındaki denge, DNA şablonu miktarı, döngü sıcaklığı ve Taq DNA polimeraz diğer önemli faktörlerdir (Markoulatos *et al.* 2002; Cheah *et al.* 2008; Khoo *et al.* 2009).

Daha önce, mPCR yalnızca yaklaşık iki veya üç patojeni tespit etmek için kullanılmaktaydı. Son zamanlarda ise, mPCR oldukça geliştirilmiştir. Aynı anda beş veya daha fazla patojeni saptayabilecek kapasiteye sahiptir. Ryu ve ark. (2013), altı *Listeria* türünü aynı anda tek bir tüpte yüksek doğrulukla tespit edip ayırt edebilen yeni bir mPCR testi geliştirmiştir. Başarılı bir şekilde tanımlanan *Listeria* türleri, *L. monocytogenes, L. griseus, L. ivanti, L. innocua, L. weideri* ve *L. hirai*' dır. Karışık genomik DNA için mPCR saptama sınırı 7,58 x 10^4 kopyadır.

Gerçek zamanlı veya kantitatif PCR(RealTime PCR, qPCR)

Gerçek zamanlı PCR veya kantitatif PCR, PCR ürünlerini tespit etmek için agaroz jel elektroforezi gerektirmez ve basit PCR'dan farklıdır. Bu yöntem, belirli çift etiketli problar veya araya giren boyalar tarafından üretilen floresan sinyalini ölçerek tüm reaksiyonda sürekli olarak PCR ürünleri oluşumunu izleyebilir. Floresan yoğunluğu, PCR ürünlerinin artması ile doğru orantılı artmaktadır (Omiccioli *et al.* 2009; Zhao *et al.* 2014).

qPCR için farklı floresan sistemleri geliştirilmiştir. En çok kullanılan floresan sistemleri arasında SYBR green, TaqMan probları ve moleküler işaretçiler bulunmaktadır. SYBR green, çift zincirli bir DNA (dsDNA)'ya bağlanan floresan boyadır (Hein *et al.* 2001). Bu sekansa özgü olmayan interkalasyon boyası çok az floresan yayar ve floresan sinyali, DNA çift sarmalının küçük oluğuna bağlandığında artar (Fukushima *et.al.,* 2003; Levin, 2005; Singh *et.al.,* 2009).

TaqMan probları ve moleküler işaretçiler, SYBR green boyalarına alternatiflerdir. Çift boya probları olarak da bilinen TaqMan probları, 5' uçta raportör boya ve 3' uçta sönümleme boyası olarak bir florofor içeren oligonükleotitlerdir (Hein *et al.* 2001; Levin 2005). Raportör boya ve sönümleme boyası birbirine yakın bulunur ve bu durum da, raportörden yayılan floresanı engellemiş olur (Levin 2005). TaqMan probu, her iki primerde de bulunan spesifik bir nükleotit sekansından birirnin tamamlayıcısıdır. Bu sistem, florofor sinyali oluşturmak için probu bölen ve her iki boyayı ayıran Taq DNA polimerazın 5'-3' eksonükleaz aktivitesine bağlıdır. (Patel *et al.* 2006).

Moleküler işaretleyiciler, saç tokası/gövde ve ilmek yapısına sahip oligonükleotit problardır; burada hedef diziyi tamamlayıcı dizi, ilmek kısmında bulunur ve gövde, iki tamamlayıcı kol dizisini birleştirerek oluşturulur. Probun bir ucuna raportör boya, diğer ucuna söndürücü boya takılır. İki boya birbirine çok yakındır ve hibrit tarafından korunur, böylece floresan yaymazlar (Levin 2005). Moleküler işaret, probun amplikondaki tamamlayıcı nükleotit dizisi ile hibrit oluşturması ile floresan sinyali üretir. Hibridizasyon sırasında prob, iki boyayı birbirinden ayıran konformasyonel bir değişime uğrar ve böylece floresan oluşumu sağlanır (Liming and Bhagwat 2004).

Taze kesilmiş meyve ve sebzelerde *Salmonella'*nın istilayla ilişkili genini (iagA) hedef alan moleküler işaretçinin qPCR ile saptanması ilk olarak Liming ve Bhagwat (2004) tarafından rapor edilmiştir. Tespit limiti, zenginleştirmeden sonra yaklaşık 4 CFU/25 g ürün olmuştur. Tyagi ve ark. (2009), tropikal kabuklu deniz hayvanlarında patojenik tdh-pozitif *Vibrio parahaemolyticus'*un tespiti için hassas ve yüksek oranda tekrarlanabilir bir SYBR green qPCR testi geliştirmiştir. qPCR'daki diğer ilerlemeler, çiğ sütte enterotoksin gen kümesini barındıran

S. aureus suşlarını tanımlamak ve kantitatif olarak tespit etmek için TaqMan ve SYBR Green qPCR'ın geliştirilmesini içermektedir. SYBR green ile qPCR ile yaklaşık 1×10^3 CFU/mL *S. aureus*, çiğ sütte ise TaqMan qPCR ile 1×10^4 CFU/mL *S. aureus* tespit edilmiştir (Fusco *et al.* 2011).

Birden fazla gıda kaynaklı patojenin eş zamanlı tespiti ve miktarının belirlenmesi için multipleks qPCR testi geliştirilmiştir. Fratamico ve ark. (2011), Shiga toksinleri, intimin ve wzx genlerini hedefleyen primerlerle multipleks qPCR kullanarak kıymada Shiga toksini üreten *Escherichia coli* serogrupları O26, O45, O103, O111, O121 ve O145'i saptamak için bir çalışma gerçekleştirmiştir. Farklı florofor kombinasyonlarına sahip Taqman probu, PCR başına yaklaşık 50 CFU tespit limiti ile multipleks qPCR ürününü tespit etmek için kullanılmıştır.

qPCR için tartışılan floresan sistemleri arasında, SYBR green basit ve TaqMan probları veya moleküler işaretçilere kıyasla daha az maliyetlidir (Fukushima *et al.* 2003; Levin 2005). Ayrıca SYBR green kullanmanın avantajlarından biri de amplifiye edilen ürünlerin Tm değerlerinin hesaplanması ile birlikte PCR sonrası DNA erime eğrisinin oluşturulabilmesidir. Primer - dimer oluşumu ile hedef ürünleri ayırt etmek için bu oldukça gereklidir. Primer - dimer ürünleri, amplikonlardan daha düşük Tm değerlerine sahiptir (Levin 2005). SYBR green özgül değildir ve tüm çift sarmallı DNA'lara bağlanabilir. Bu nedenle herhangi bir PCR ürününü saptamak için kullanılabilir. (Levin 2005; Madani *et al.* 2005). Bununla birlikte, SYBR green boyası, primer dimerlerini içeren ve spesifik olmayan diğer reaksiyon ürünlerine de bağlanacaktır (Madani *et al.* 2005). TaqMan probları ve moleküler işaretçiler ise, bunlar sadece hedef sekanslarına bağlanma özgüllüğüne sahiptir. Bu nedenle primer-dimerler ayırt edilemez (Levin 2005). TaqMan tabanlı qPCR'ın, SYBR green veya moleküler işaretçi tabanlı qPCR'a göre daha hassas olduğunu gösteren birkaç çalışma vardır (Hein *et al.* 2001; Klerks *et al.* 2004). Aynı zamanda, PCR tabanlı yöntemlerin duyarlılığı, prob seçiminden daha çok primer özgüllüğü, primer sekansı ve bağlanma sıcaklığından etkilenir (Klerks *et al.* 2004). Genel olarak, qPCR, geleneksel PCR'dan daha yüksek hassasiyete sahip olduğu için çapraz kontaminasyon riskini en aza indirir (Omiccioli *et al.* 2009).

Konvansiyonel PCR ve multipleks PCR, PCR ürünlerini tespit etmek için agaroz jel analizi gerektirir, bu da külfetli ve zaman alıcıdır, bu da onları yüksek verimli analizler için uygunsuz ve otomatikleştirilmesi zor hale getirir (Zhou *et al.* 2013). qPCR için, PCR sonrası işlem gerekli değildir. Bu, daha az çapraz kontaminasyon riski, yüksek verimli analiz ve otomasyon sağlar (Fricker *et al.* 2007). qPCR'ın avantajları, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 ve *Campylobacter* (Maurer 2011) gibi gıda kaynaklı

patojenlerin daha hızlı tespit edilebilmesi için çeşitli ticari qPCR kitlerinin geliştirilmesine sebep olmuştur.

Gıda Kaynaklı Patojen Tespitinde qPCR' ın kullanılması, avantajlar ve sınırlamalar

Gıdaların mikrobiyolojik analizi, gıda zincirindeki mikrobiyolojik güvenlik yönetiminin ayrılmaz bir parçasıdır. Gıda kaynaklı patojenlerin izlenmesi ve kontrol edilmesi, geleneksel olarak kontrol laboratuvarlarında ve özel şirketlerde kültüre bağlı yaklaşımlara dayanan geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle gerçekleştirilir. PCR, mikrobiyal analizde devrim yaratmıştır. Geleneksel DNA izolasyonu ve tanımlama yapılmaksızın, gıdalardaki patojenlerin saptanmasını sağlamaktadır. Ayrıca, şu anda, PCR ve qPCR, gıda kaynaklı patojenler alanında çalışan araştırmacıların kullandığı temel analitik araçlardır (Chapela 2005).

qPCR, DNA'nın spesifik bir dizisini çoğaltabildiği için patojen teşhisinde kullanılmıştır. Dizileme verileri her geçen gün arttığından dolayı, ilgili her mikroorganizma için qPCR deneyleri tasarlamak tam anlamıyla mümkündür. qPCR'ın en büyük avantajları, farklı matrislerdeki hedef DNA dizilerinin hızlı ve yüksek verimli bir şekilde saptanabilmesini ve miktarının belirlenmesini sağlamasıdır. Yeni oluşan DNA dizilerinin eş zamanlı amplifikasyonuyla, PCR'daki amplifikasyonun süresinin kısalması sağlanır. Ayrıca qPCR, çapraz kontaminasyonların önlenmesi açısından çok daha güvenlidir. Çünkü amplifikasyondan sonra örnekler için başka bir işlem gerekli değildir. Kantifikasyon için geniş bir dinamik aralığı ve birkaç hedefin amplifikasyonunun tek bir reaksiyona çoklanması, qPCR'ın diğer avantajlarıdır (Klein 2002). Çoklama seçenekleri, mevcut amplifikasyon kontrollerinin eklenmesine bağlı tanısal qPCR testlerinde, saptama ve miktar tayini için gereklidir. (Yang and Rothman 2004; Kubista *et al.* 2006; Bustin *et al.* 2009).

qPCR analizi yalnızca saptama için değil, aynı zamanda suşların ve izolatların tiplendirilmesi, antimikrobiyal direnç analizi, toksin üretimi vb. gibi belirli genlerin ve alellerin varlığını belirlemek için de kullanılır. Ancak, yalnızca dirençten sorumlu genlerin varlığı antimikrobiyal bileşiklere veya mantar toksini üretimine, bunların otomatik olarak ekspresyonu veya üretimi anlamına gelmez. Bu nedenle, qPCR tabanlı testler çok hızlı sonuç verse de elde edilen sonuçlar fenotipik ve biyokimyasal testlerle uyumlu olmak zorundadır (Levin 2012; Osei Sekyere *et al.* 2015).

Hedef (DNA veya RNA), kültürlenebilirlik, sonuçların yorumlanması ve qPCR sonuçlarının klinik önemi, mikrobiyal teşhiste viral, bakteriyel ve parazitik ajanların saptanması ve miktarının belirlenmesindeki önemli hususlardır.

Viral patojenlerin saptanması, miktarının belirlenmesi ve tiplendirilmesinde, qPCR'ın kullanımının önemi büyüktür. Bunun nedeni, klinik ve veterinerlik açısından önemli virüslerin kültür yöntemleri kullanılarak tespit edilmesinin zaman alıcı veya imkansız olması, buna karşın ELISA testlerinin evrensel olarak mevcut olmaması ve nispeten düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmasıdır. qPCR, RNA virüslerinin teşhisi için ters transkripsiyon dahil olmak üzere uygun hassasiyet ve özgüllüğe sahiptir (Hoffmann *et al.* 2009). Ayrıca, (RT)-qPCR ile belirlenen viral yük, antiviral tedaviye yanıtın bir göstergesi olarak kullanılmıştır (Watzinger *et al.* 2006). Bu nedenlerden dolayı qPCR, viral tanılamanın vazgeçilmez bir aracı olmuştur (Yang and Rothman 2004).

Bağırsaklardaki protozoonların tanısında da durum benzerdir. (Rijsman *et al.* 2016). Protozoon ajanların tespiti için altın standart teknik olan dışkının mikroskobik incelemesi zahmetli, zaman alıcıdır ve özel olarak eğitilmiş personel gerektirir. ELISA testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür (Rijsman *et al.* 2016). Bu nedenle, qPCR artık bağırsak parazitik protozoanın rutin tespiti, miktarının belirlenmesi ve tiplendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Viral ve protozoan saptama ve miktar tayininin aksine, klinik, veterinerlik ve gıda güvenliği açısından önem taşıyan birçok bakteri kültürlenebilir. Bu sebeple kültür yöntemleri, bakterilerin tespiti ve miktarının belirlenmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak bulaşıcı hastalıklar için kritik ve zamanında müdahale edilmesinin gerekli olduğu durumlarda geleneksel, yavaş ve çok adımlı kültür teknikleri makul sürede sonuç veremez. Bu sınırlama, güç üreyen patojenlerin kültürlenmesi ve ek testler (tür tayini, virülans faktörlerinin tanımlanması ve antimikrobiyal direnç) gerekliliği ile daha da artmaktadır. qPCR, gerekli bilgileri kısa sürede sağlayabilir; ancak bakteri izolatlarından fenotipik ve biyokimyasal özelliklerin doğrulanması gerekir (Yang and Rothman 2004).

Gıda güvenliğinde, gıda kalitesine yönelik tüm uluslararası standartlarda, gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar geleneksel kültür yöntemleri kullanılarak belirlenmektedir. qPCR teknikleri, (çeşitli patojenler için) güvenilir saptama ve miktar tayini sağlamalarının yanısıra birçok farklı avantaja sahip oldukları için mevcut standart kültür yöntemlerine mükemmel bir alternatiftirler. Ancak, qPCR'a dayalı testlerin hassasiyeti sınırlıdır. DNA izolasyonu için örnekler genellikle başlangıç aşamasında çok düşük sayıda hedef bakteri içerdiği için kültür yöntemlerinde, kültür öncesi işlemler (ön zenginleştirme) sırasında bakterilerin çoğaltılması gerekmektedir (Rodriguez-Lazaro *et al.* 2013). Bu sınırlama, qPCR'ın en önemli dezavantajlarından biri olan canlı ve ölü hücreler arasında ayrım yapamamasına yol açmaktadır. Bu nedenle qPCR'ın kendisinin kullanımı, işlenmemiş ve çiğ gıdalarda bakteri suşlarının

tiplendirilmesi, antimikrobiyal direncin tanımlanması, saptanması ve muhtemelen miktarının belirlenmesi ile sınırlıdır. Gıdadaki mevcut patojenik bakterilerin tümü devitalize edilse ve gıda maddesi tüketim için mikrobiyolojik olarak güvenli sayılsa bile, işlenmiş gıdaların yine de çoğaltılabilir DNA içerebileceğini not etmek gerekir (Rodriguez-Lazaro *et al.* 2013). Böyle bir problemi önlemek için, qPCR'dan önce kültür ortamında bir ön zenginleştirme yapılabilir. Bu adım, tamponlu peptonda ya da spesifik seçici ortamda bakteriyi zenginleştirme ile gerçekleştirilebilir. Bu prosedür, esas olarak, aşağı akış qPCR saptaması için bakterilerin yeniden canlandırılmasına/iyileştirilmesine ve buna müteakip çoğalmasına izin vermeyi amaçlamaktadır; ikinci avantaj, numunede bulunan olası PCR inhibitörlerinin (tuzların, koruma maddelerinin vb. varlığı) seyreltilmesi ve ortadan kaldırılmasıdır. DNA' yı kültür ortamından ekstrakte etmek, bileşim açısından çok daha heterojen olan gıda örneklerinden ekstrakte etmekten çok daha kolaydır (Margot *et.al.,* 2015). Fakat bu avantajların olmasına rağmen, bakterilerin ön zenginleştirme aşaması, bakterilerin canlanmasına sebebiyet vereceğinden ortamdaki bakterilerin ne kadarının canlı ne kadarının ölü olduğunu anlamaya engel teşkil edecektir.

qPCR'ın kendisi canlı ve ölü hücreler arasında ayrım yapamasa da, qPCR'ı canlılık tespiti için uyarlamak için girişimlerde bulunulmuştur. RNA'ların düşük kararlılığa sahip olduğu için canlı olmayan hücrelerde dakikalar içinde parçalanması gerektiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, uygun bir amplifikasyona dayalı analitik yöntemin daha geleneksel kültür teknikleri yerine kullanılmasının benimsenebilmesinden önce, hücre canlılığının nükleik asit türlerinin kalıcılığı ile korelasyonunun belirli bir durum için iyi karakterize edilmesi gerekir (Birch *et al.* 2001). Ayrıca, gıda, dışkı veya çevresel numuneler gibi örneklerden RNA izolasyonu yapmakla ilgili zorluklar, özellikle hedef hücreler düşük miktarlarda beklendiğinde yanlış negatif sonuçlar verebilir.

qPCR kullanılarak bakterilerin yaşayıp yaşamadığının belirlenmesi için bir başka seçenek, propidyum monoazid (PMA) ve etidyum monoazid (EMA; Nocker and Camper, 2009) gibi PCR'da DNA'nın arasına giren floresan boyaların kullanılmasıdır. Bu yöntemlerde, mikroorganizmanın zar bütünlüğü, canlılık tayini için en önemli kriterdir. Tam zar bütünlüğüne sahip metabolik olarak aktif hücreler (kültürlenebilirliklerinden bağımsız olarak), boyaları hücrelerin dışında tutar ve bu nedenle canlı olarak kabul edilir. Bununla birlikte, hücre zar bütünlüğü kaybettiğinde boya nüfuz ederek ölü hücrelerin dışında bulunan serbest DNA ile reaksiyona girer. Etiketli DNA daha sonra qPCR ile çoğaltılamaz. qPCR'ın sonuçlarındaki boyalı ve boyasız DNA'lar arasındaki fark, örneklerdeki canlı hücrelerin oranını gösterir. Bu yöntemin sınırlaması, boyanın DNA' ya interkalasyonu ışığa maruz kalmayı gerektirdiğinden,

hücrelerin ışık geçirgen bir matriste, örneğin su numunelerinde, hücre kültürlerinde vb. olması gerekliliğidir. Bu nedenle, yeterli ışık geçirgenliğine sahip olmayan örnekler bu boyaların uygulanmasına izin vermez. EMA'nın canlı bakteri hücrelerinin zarlarına nüfuz ettiği gösterildiğinden, EMA'ya göre PMA tercih edilmektedir (Nocker *et al.* 2006).

qPCR teknolojisi, mikrobiyal teşhiste güçlü bir aracı temsil eder. Viral ve parazit tespiti, miktarının belirlenmesi ve tiplendirilmesinde bu tekniğin uygunluğu şüphesizdir; bakteriyel teşhis alanında, özellikle hızlı ve hassas teşhis testleri gerektiğinde, kültür tekniklerinin yerini alabilir. qPCR'ın rutin mikrobiyal teşhisin farklı alanlarına yayılması ve qPCR'ın temel fonksiyonel parametrelerinin belirlenmesi için standart prosedürlerin bulunmaması, yöntemlerin standardizasyonunun farklı laboratuvarlar tarafından farklı kurallara göre yapıldığı bir senaryoya yol açmıştır. Bu sorun, MIQE yönergelerinin yayınlanmasıyla birlikte tamamen olmasa da çözülmüştür (Bustin *et al.* 2009); ancak klinik, veterinerlik ve gıda güvenliği alanlarında qPCR testlerinin standardizasyonuna yönelik tutumlar çeşitlilik gösterir. Standardizasyon ve validasyon prosedürlerinin birleştirilmesi, mikrobiyal tespit, miktar tayini ve tiplendirme konusunda qPCR analizlerinin kalitesini oldukça artıracaktır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi qPCR'ın, mikrobiyal canlılık testleri ile birleştirilmesi, gıda güvenliğinde patojenik teşhise büyük katkı sağlayacaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Tez çalışmamızda kullanılan 150 adet bulaşık süngeri Erzurum ili merkez ilçelerinde bulunan ve rastgele seçilen 50 farklı haneden toplanarak laboratuvarımıza getirilmiştir. Süngerlerin kullanımına ilişkin detaylı bilgi ("Süngerler ne sıklıkla temizleniyor veya temizleniyor mu?", "Çamaşır suyu veya hangi tip deterjanlar kullanılıyor?", "Süngerler yiyecek hazırlamanın hangi aşamalarında kullanılıyor?") mevcut değildir.

Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Ekipmanları

Tez çalışmamızda kullanılan cihaz ve laboratuvar ekipmanları **Tablo 1**'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tez Çalışmamızda Kullanılan Cihaz ve Laboratuvar Ekipmanları

Cihazlar		
BagMixer* 400 P Stomacher Cihazı:		Interscience
Steril Kabin	**:**	Telstar AV -100
Real-Time PCR Cihazı	**:**	Qiagene
Spektrofotometre	**:**	Bechman Coulter DU''730 Life sicence UV/Vi spektrofotometer
Çalkalamalı İnkübatör	**:**	Midıi Dual 14
İnkübatör	**:**	Binder
Manyetik Karıştırıcı	**:**	Stirrer HS31
Hassas Terazi	**:**	Ohaus Pioneer
Saf Su Cihazı	**:**	Bamstead Pure Easy
Buzdolabı (+4°C/-20°C)	**:**	Vestel
Otoklav	**:**	Hicvale Hv-50L
Vortex	**:**	WiseMix
Fusion görüntüleme cihazı	**:**	Quantum Vilber Lournat
15 ml'lik tüpler ve raklar		
2 ml'lik Ependorf tüpler		
Mikropipet Takımı		

Tez çalışmasında kullanılan maddeler

Tez çalışmamızda kullanılan besiyerleri, kitler ve kimyasallar **Tablo 2.**'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Tez çalışmamızda kullanılan besiyerleri, kitler ve kimyasallar

Kimyasallar	**Firma**
Triptic Soy Agar (TSA)	Oxoid
Triptic Soy Broth (TSB)	Oxoid
NaCl	Sigma-Aldrich
Real-Time PCR Kiti	Qiagene
PMAxx™	Biotium

Tez çalışmasında kullanılan çözelti ve besiyerlerin hazırlanışı

- **TSA (Triptic Soy Agar)**

Kimyasal İçerik	**gr/L**
Soya pepton	5,0
Agar	15,0
Tripton	15,0
Sodyum klorid (NaCl)	5,0

Ticari olarak satın alınan Triptic Soy Agar besiyeri hassas terazide 6 gr tartıldı, 150 ml dH_2O içerisinde çözüldükten sonra, 121°C'de 15 dk otoklavlandı. Hazırlanan besiyeri, steril kabin içerisinde petrilere aktarıldı.

- **TSB (Triptic Soy Broth)**

Kimyasal İçerik	**gr/L**
Kazein	17,0
Soya Pepton	3,0
Sodyum klorid (NaCl)	5,0
Dipotasyum hidrojen fosfat	2,5
Glikoz	2,5

Ticari olarak satın alınan Triptic Soy Broth besiyeri hassas terazide 4,5 gr tartıldı, 150 ml dH_2O içerisinde çözüldükten sonra, 121°C'de 15 dk otoklavlandı.

Yöntem

Bulaşık süngerlerinin toplanması

Tez çalışmamızda kullanılan 150 adet bulaşık süngeri 50 farklı haneden 7, 15 ve 30 gün aralıklarla farklı zaman dilimlerinde toplanmış ve steril poşetlere aktarılarak laboratuvara getirilmiştir ve daha sonra çalışılmak üzere -20ºC'de buzdolabında saklanmıştır.

Bulaşık süngerlerinin çalışma için hazırlanması

Dolaptan çıkarılan bulaşık süngerleri filtreli stomacher poşetlerinin içine alınarak içerisine 200ml steril fizyolojik su eklendi ve 5 dk süre ile BagMixer stomacherde en yüksek hızda çalkalandı. Bu işlem sünger içerisindeki mikrobiyal yükün fizyolojik suya geçmesini sağladı. İşlem sonrasında tek kullanımlık steril pipetler yardımı ile sıvıdan 1ml alınarak ependorf tüplere aktarıldı. Örneklerin bir kısmı PMAxx™ ile muamele edildi bir kısmı boya eklenmeksizin direkt qPCR aşamasına geçildi.

PMAxx™ boyası ile muamele

Biotium firmasının PMAxx™ boyası için hazırladığı protokol takip edilerek, hazırlanan sıvıdan 400µl örnek alındı ve 1µl PMAxx™ boyası karanlık ortamda eklendi ve hazırlanan örnekler aliminyum folyo ile sarılarak 10dk süre ile çalkalayıcıda bekletildi. Bu işlem sonrasında örnek ve boya karışımı Quantum Vilber Lournat cihazında beyaz led ışık altında 15dk süre ile bekletilerek, direkt qPCR aşamasına geçildi.

Direkt qPCR (Real-Time) işlemi

Bulaşık süngerlerinde bulunan patojen mikroorganizmalarının tespit edilmesi için 4 farklı patojenik bakteriye ait spesifik primerler kullanılarak direkt qPCR işlemi gerçekleştirildi. Real-Time PCR işleminde kullanılan primerlere ait diziler **Tablo 3**'de verilmiştir.

Tablo 3. Tespit Edilecek Patojenik Bakterilere Spesifik Primer Dizileri

Bakterinin Adı	**Primer Dizisi**
Staphylococcus aureus	CGATTGATGGTGATACGGTT GCACTTGCTTCAGGACCAT
Listeria monocytogenes	TGGCTTTCAGCTGGGCATAACCAA GCGGTCAGTGTAAAAAGTGGCACA
Salmonella Typhimurium	TGATACTGTGTCTGCGTCC CGGAGCGGATAAACGGAGTT
Camphylobacter jejuni	TGCACCAGTGACTATGAATAACGA TCCAAAATCCTCACTTGCCATT

Real-Time PCR işleminde kullanılacak 20µl'lik karışım:

- Maxima SYBR Green/ ROX qPCR Master Mix (2x) : 10 µl
- Steril su: 3 µl
- Forward Primer: 1 µl
- Reverse Primer: 1 µl
- Homojenizasyon sıvısı (kalıp DNA) : 5 µl

Bulaşık süngerlerinden elde edilen hazırlanan homojenizasyon sıvılarının boya (PMAxx^{TM}) içeren ve içermeyen formlarının üzerine yukarıdaki kimyasallar eklenerek, ayrı ayrı mastermix karışımı hazırlandı. Çalışma her biri için 3 tekerrür olacak şekilde yapıldı. Daha sonra Thermal cycler qPCR (QIAGENE, ROTOR GENE Q) cihazı ile **Tablo 4.**'te gösterilen qPCR işlem döngüsüne göre ayarlandı. Hazırlanan boyalı ve boyasız örnekler kıyaslama yapabilmek için aynı anda cihaza yerleştirildi.

Tablo 4. qPCR Programı

İŞLEM	**SICAKLIK(°C)**	**SÜRE(dk,sn)**	**Döngü sayısı**
Hazırlık	50	2 dk	1
Ön Denatürasyon	95	5 dk	1
Denatürasyon	95	15 sn	40
Primerlerin Bağlanması	57	30 sn	40
Uzama	72	20 sn	40

qPCR işlemi sonucunda, örneklerde *S. aureus, L. monocytogenes, S. Typhimurium* ve *C. jejuni* patojenlerinin olup olmadığı, canlı olup olmamaları Ct (Cycle threshold) değerlerine bakılarak incelendi.

Standart bakterilerin elde edilmesi ve çoğaltılması

Pozitif kontrol amacıyla kullanıdığımız standart bakteriler (*L. monocytogenes* ATCC 7644, ve *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. aureus* ATCC 29213, *C. jejuni* ATCC 29428) ATCC kültür koleksiyonundan satın alındı.

Bakterilerden, steril kabin içerisinde TSA katı besiyerine çizgi ekim yapıldı. Bir gün boyunca 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra petrilerde gelişen bakteri kolonileri, steril kabin içerisinde TSB sıvı besiyerine steril öze ile inoküle edildi. Hazırlanan örnekler 37°C'de bir gün boyunca inkübe edildi. Bu süre sonunda bakteri sayısının belirlenebilmesi için OD600nm'de spektrofotometre ile absorbsiyon ölçümü yapıldı. Kör olarak hazırladığımız steril

besiyerleri kullanıldı. Her bir bakteri (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *C. jejuni*) için 10^0- 10^7 dilüsyon hazırlanarak, qPCR işlemi yapıldı. Real-Time PCR sonrası elde edilen Ct değerleri kullanılarak, Poisson- regresyon modeli oluşturuldu ve Graphpad Prism software programı ile bakterilere ait standart grafikler çizildi.

Bulaşık süngeri örneklerinden patojenik bakterilerin kantitatif analizi

Süngerlerin homojenizasyon sıvılarının boyalı ve boyasız örneklerinin analizleri sonucunda elde ettiğimiz Ct değerleri, oluşturduğumuz standart bakteri grafiklerinin doğru denklemlerine göre hesaplanarak, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* ve *C.jejuni'* nin miktarları kantitatif olarak belirlendi.

Bulaşık süngeri örneklerindeki patojenlerin canlılık oranının hesaplanması

Biotium'un PMAxx™ boyası için yayınladığı protokole göre canlı bakteri miktarı, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmış ve bu formülle örneklerdeki canlı bakterilerin yüzdesel oranı tespit edilmiştir.

$$dCt_{örnek} = Ct_{(boyalı\ örnek)} - Ct_{(boyasız\ örnek)}$$

$$\text{PMA/PMAxx}^{TM} \text{ ile seyreltme kat sayısı} = 2^{\text{örneğin dCt' si}}$$

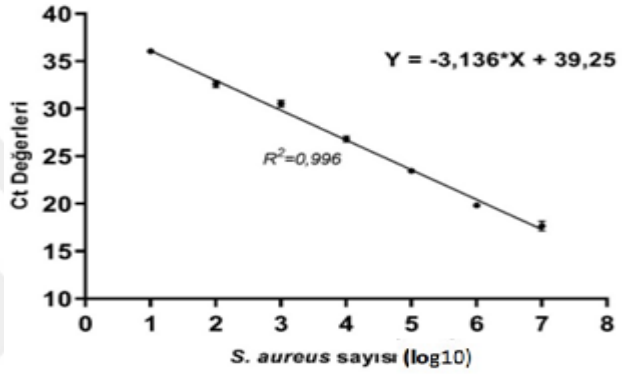
$$\%\ \text{canlılık} = 100/\text{seyreltme kat sayısı}$$

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

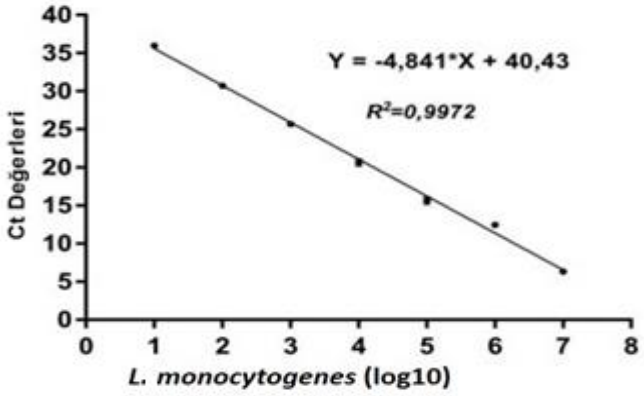
qPCR (Real- Time PCR)

Standart patojenik bakterilerin lineer- regresyon analizleri

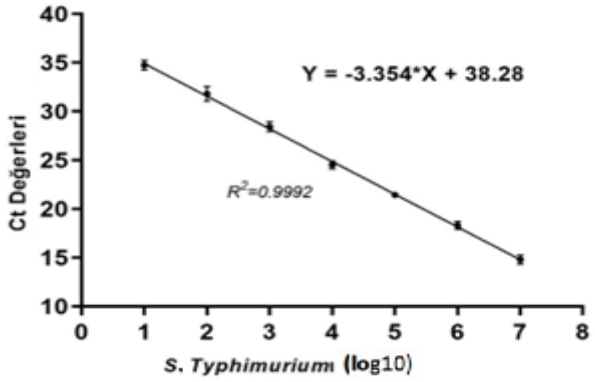
Toplanan bulaşık süngeri örneklerindeki patojenik bakterilerin miktarlarını belirlemek için standart bakterilere (*L. monocytogenes, S. aureus, C. jejuni ve S. Typhimurium*) qPCR yapılarak lineer-regresyon grafikleri çizildi (**Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5, Şekil 6).**



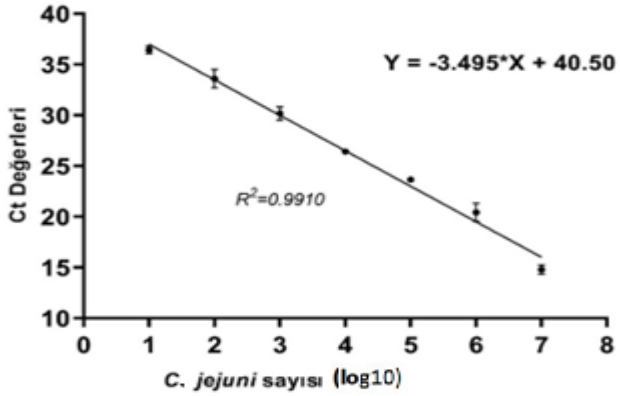
Şekil 3. *S. aureus*' un Ct değerlerine ait standart grafiği



Şekil 4. *L. monocytogenes'* in Ct değerlerine ait standart grafiği



Şekil 5. *S. Typhimurium'un* Ct değerlerine ait standart grafiği



Şekil 6. *C. jejuni'* nin Ct değerlerine ait standart grafiği

Yaklaşık 150 adet bulaşık süngeri örneğine ait qPCR sonucunda elde edilen Ct değerleri ve yukarıda gösterdiğimiz standart bakteri grafiklerinden elde ettiğimiz doğru denklemleri kullanılarak çalışmamızdaki patojenik bakterilerin miktarları tespit edilmiştir.

Bulaşık süngerlerinde bulunan patojenik bakterilerin miktar analizi

Toplamda 150 adet süngerin 28 tanesinde *L. monocytogenes*, 18 tanesinde *S. aureus*, 22 tanesinde *S. Typhimurium* ve 8 tanesinde de *C. jejuni* patojenik bakterileri saptanmıştır.

1 hafta süre ile kullanılan bulaşık 50 bulaşık süngerinin 8 tanesinde *L. monocytogenes*, 2 tanesinde *S. aureus*, 8 tanesinde *S. Typhimurium* ve 6 tanesinde de *C.jejuni'* ye rastlanmıştır. Bu veriler **Tablo 5.**'te gösterilmiştir.

Tablo 5. 1 Hafta Süre İle Kullanılan Bulaşık Süngerlerine Ait Patojenik Bakterilerin Miktarı

Listeria monocytogenes			***Staphylococcus aureus***		
Örnek kodu	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**	**Örnek kodu**	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**
U.5	$2,00x10^2$	Canlı yok	U.3	$2,80x\ 10^3$	%1'den az
U.17	$1,05x\ 10^1$	% 42	U.28	$2,75x\ 10^3$	% 10
U.26	$1,16x\ 10^1$	% 30	-	-	-
U.42	$4,88x\ 10^4$	% 90	-	-	-
U.28	$1,99x\ 10^2$	%1'den az	-	-	-
U.9	$1,10x\ 10^1$	% 10	-	-	-
U.13	$3,22x\ 10^3$	%20	-	-	-
U.35	$1,15x\ 10^1$	% 40	-	-	-
Salmonella Typhimurium			***Camphylobacter jejuni***		
Örnek kodu	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**	**Örnek kodu**	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**
U.16	$3,32x\ 10^3$	%1'den az	U.35	$1,38x\ 10^1$	Canlı yok
U.23	$4,93x\ 10^5$	%1'den az	U.37	$4,78x\ 10^4$	Canlı yok
U.2	$2,70x\ 10^2$	Canlı yok	U.26	$3,25x\ 10^2$	%1'den az
U.35	$1,91x\ 10^1$	Canlı yok	U.28	$1,25x\ 10^1$	Canlı yok
U.36	$3,29x\ 10^3$	%1'den az	U.32	$4,5x\ 10^4$	Canlı yok
U.33	$4,25x\ 10^4$	%1'den az	U.9	$3,20x\ 10^2$	%1'den az
U.3	$2,30x\ 10^2$	Canlı yok	-	-	-
U.15	$1,75x\ 10^1$	Canlı yok	-	-	-

15 gün süre ile kullanılan 50 bulaşık süngerinin 16 tanesinde *L. monocytogenes*, 12 tanesinde *S. aureus*, 12 tanesinde *S. Typhimurium* rastlanmıştır ve hiçbir tanesinde *C. jejuni'* ye rastlanmamıştır. Bu veriler **Tablo 6'**da gösterilmiştir.

Tablo 6. 15 Gün Süre İle Kullanılan Bulaşık Süngerlerine Ait Patojenik Bakterilerin Miktarı

Listeria monocytogenes			***Staphylococcus aureus***		
Örnek kodu	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**	**Örnek kodu**	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**
U.52	1,48x 10^1	%54.3	U.78	4,06x 10^3	% 33
U.64	2,31x10^2	% 21,5	U.53	3,48x 10^3	% 46
U.78	1,71x 10^1	Canlı yok	U.75	3,51x 10^3	%13
U.93	1,90x 10^2	Canlı yok	U.56	3,39x 10^3	%25
U.56	1,65x 10^1	Canlı yok	U.85	3,61x 10^3	%9
U.84	5,04x 10^4	%1'den az	U.66	3,34x 10^3	%1'den az
U.96	3,49x 10^3	%1'den az	U.55	4,00x 10^3	%20
U.57	5,87x 10^5	%1'den az	U.91	3,45x 10^3	%40
U.66	1,45x 10^1	%10	U.64	3,35x 10^3	%9
U.69	2,28x 10^2	%17	U.88	3,50x 10^3	%11
U.75	1,70x 10^1	Canlı yok	U.83	3,64x 10^3	%7
U.81	1,88x 10^2	Canlı yok	U.54	2,90x 10^3	%1'den az
U.91	1,60x 10^1	Canlı yok	-	-	-
U.94	4,90x 10^4	%1'den az	-	-	-
U.54	3,45x 10^3	%1'den az	-	-	-
U.88	4,90x 10^4	%1'den az	-	-	-

Salmonella Typhimurium			***Camphylobacter jejuni***		
Örnek kodu	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**	**Örnek kodu**	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**
U.77	1,61x 10^1	%21,7	-	-	-
U.54	1,53x 10^1	%90	-	-	-
U.64	1,32x 10^1	%52	-	-	-
U.95	5,03x 10^4	%1'den az	-	-	-
U.96	1,46x 10^1	Canlı yok	-	-	-
U.66	1,62 x 10^2	Canlı yok	-	-	-
U.56	1,65x 10^1	%15	-	-	-
U.88	1,50x 10^1	%70	-	-	-
U.78	1,30x 10^1	%45	-	-	-
U.75	4,80x 10^4	%1'den az	-	-	-
U.99	1,35x 10^1	Canlı yok	-	-	-
U.100	1,50x 10^1	Canlı yok	-	-	-

30 gün süre ile kullanılan 50 bulaşık süngerinin 4 tanesinde *L. monocytogenes*, 4 tanesinde *S. aureus*, 2 tanesinde *S. Typhimurium* ve 2 tanesinde de *C. jejuni'* ye rastlanmıştır. Bu veriler **Tablo 7.** de gösterilmiştir.

Tablo 7. 30 Gün Süre İle Kullanılan Bulaşık Süngerlerine Ait Patojenik Bakterilerin Miktarı

Listeria monocytogenes			***Staphylococcus aureus***		
Örnek kodu	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**	**Örnek kodu**	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**
U.148	2,98x 10^3	%1'denaz	U.136	3,30x 10^3	% 80
U.132	1,41x 10^1	% 47, 6	U.111	2,82x 10^2	% 85
U.105	2,95x 10^3	%1'denaz	U.150	3,20x 10^3	%1'den az
U.129	1,45x 10^1	%10	U.144	2,70x 10^2	%1'den az
Salmonella Typhimurium			***Camphylobacter jejuni***		
Örnek kodu	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**	**Örnek kodu**	**Bakteri miktarı**	**Canlı yüzdesi**
U.125	5,27x 10^5	%6,6	U.149	1,93x 10^1	Canlı yok
U.140	4,50x 10^4	%2	U.117	1,80x 10^1	Canlı yok

Hastalık ve Kontrol Önleme Merkezi, 48 milyon gıda kaynaklı hastalık bildiriminden 128.000' inin hastaneye kaldırıldığını ve 3.000' inin öldüğünü rapor etmiştir (CDC 2018). Önceki çalışmalarda, gıda kaynaklı hastalıkların ortaya çıkmasında, mutfak süngerlerinin sebep olduğu çapraz kontaminasyonların önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Kusumaningrum ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, *S. aureus, Salmonella enteritidis* ve *C. jejuni* ile kontamine olmuş süngerlerden bu patojenlerin paslanmaz çelik yüzeylere aktarılabildiğini ve özellikle *S. aureus'*un 4 gün boyunca hayatta kalabildiğini göstermiştir. Benzer şekilde bu süngerlerden paslanmaz çelik yüzeylere taşınan patojenlerin, daha sonra kesilen sebzelere de aktarıldığı gözlemlenmiştir (Kusumaningrum *et al.* 2003). Bulaşık süngerlerindeki patojenlerin çatal, kaşık, bıçak gibi metal yüzeylere aktarılmasını gösteren bu çalışma, bulaşık süngerlerinin mutfakta ne gibi riskler oluşturduğunu da açıkça ortaya koymaktadır. Amerika Birleşik Devletlerindeki 10 mutfağı kapsayan bir çalışmada, süngerlerin sırasıyla %33'ü ve %67'si *E. coli* ve fekal koliform içeriği açısından pozitif çıkmıştır. Ayrıca bir mutfakta *Salmonella* ve iki mutfakta da *Camphylobacter* varlığına rastlanılmıştır (Josephson *et al.*1997). Bu çalışma ABD'de rastgele seçilen evlerden toplanan süngerler üzerinde, iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak deterjan kullanılmayan süngerler toplanmış ve ikinci aşamada ise hanelere deterjan verilmiş fakat deterjan kullanımı zorunlu tutulmamıştır. Yine de

bazı aileler deterjanı kullansa da bazıları hiç kullanmamıştır. Çalışmada deterjan kullanımında *E. coli, Camphylobacter, Salmonella* ve fekal koliform oranlarında azalma görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise özellikle bazı evlerden alınan sünger örneklerinde canlı bakteriye rastlanılmaması, bize, bu hanelerde yoğun deterjan ve çamaşır suyu kullanımının olduğunu düşündürmektedir.. Yine toplanan süngerlerin bir kısmında canlı bakteriyel yükün fazla olması ise bu evlerde ya hiç deterjan kullanılmadığını ya da kalitesiz/yetersiz temizlik materyallerinin kullanıldığını göstermektedir. Elde ettiğimiz bu veriler de literatürün ortaya koyduğu sonuçlarla uyum sağlamaktadır. Hollanda'daki 213 evin %21'inde *L. monocytogenes'* e rastlanmış ve en büyük kaynağının (%37) ise ıslak bulaşık bezleri olduğu gösterilmiştir (Beumer *et al.*1996). Bizim çalışmamızda ise evlerin %18.6'sında *L. monocytogenes'* e rastlanmıştır. Bu çalışmaya kısayla sonuçların benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz. ABD'de yapılan bir çalışmada ise *Salmonella spp.* bulaşık süngerlerinin % 15,4'ünden ve bulaşık bezlerinin %13,8'inden izole edilmiştir (Enriquez *et al.* 1997). Bizim çalışmamızda ise bulaşık süngerlerinin %14,6'sında *S. Typhimirium*'a rastlanmıştır. Her iki çalışmada da bu patojenlerin varlığı bize, insanların bulaşık süngerlerini kullanım alışkanlıkları noktasında herhangi bir değişimin olmadığını göstermektedir. Zahra H. Mohammad ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada 18 bulaşık süngeri üzerine bakteri karışımı eklemiş ve 20 gün boyunca oda ısısında bekletmişler ve sonuçta inceledikleri 18 bulaşık süngerinde *E. coli, Salmonella* spp. ve *S. aureus* gibi patojenlerin 16 güne kadar hayatta kalabildiğini göstermişlerdir. Ancak normal bir mutfakta belki de burada eklenen bakteri karışımındaki kadar yoğunlukta patojen, mutfaklarda kullanılan bulaşık süngerlerinin sürekli olarak bir yıkama işlemine tabi tutulmasından dolayı bulunmayabilir. Bu da bizim çalışmamızdaki bakterilerin yoğunluğunun neden az olduğunu açıklamaktadır. Bu çalışmada bakterilerin 16. güne kadar hayatta kalması, bizim çalışmamızda da 15. günden sonra bakteri yoğunluğunun belirgin bir şekilde azalmaya başlaması, verisel anlamda paralellik göstermektedir. Zhang ve arkadaşlarının (2020) yaptığı bir çalışmada kümes hayvanlarının gezindiği toprak örneklerine *Salmonella* inoküle edilmiş ve *Salmonella*'nın 5^{o}C, 25^{o}C ve 37^{o}C'de canlı kalıp kalmadığı, PMAxx^{TM} boyasının qPCR ile optimize edilmesi ile araştırılmıştır. Örneklerin nem oranının artması ile *Salmonella*'nın daha çok canlı kaldığı görülmüş, ve PMAxx^{TM} boyasının canlılık belirlemede etkili bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamıza konu olan süngerlerin nemli ortam olması, *Salmonella'*nın uzun süre hayatta kalabilmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır.

Önceki çalışmalar da göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızın oldukça kapsayıcı ve literatüre uygun bir çalışma olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarla kıyaslandığında, benzer sonuçların elde edilmesi bu çalışmanın doğruluğunu göstermektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sentetik mutfak süngerleri; mutfak tezgahı, çatal bıçak takımı, masa ve tabak gibi eşyaları temizlemek için günlük olarak kullanılan bir araçtır. Antik çağda, sentetik süngerlerin icadından önce temizlik amacıyla deniz süngerleri kullanılıyordu. Yumuşak bir gövde ve gözenekli yapılara sahip olmaları, onları mükemmel bir temizlik aracı haline getirmişti. Bununla birlikte, 1940' larda DuPont şirketi, 20. yüzyılın birçok evinde deniz süngerlerinin yerini alacak olan ilk selüloz süngeri tasarladı ve patentini aldı. Bugün hala ABD de dahil olmak üzere dünyanın her yerinde bulaşık süngerleri temizlik amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bulması daha kolay ve daha ucuz olmasına rağmen, sentetik süngerler çevreye ekolojik olarak zarar vermektedir. Bu süngerlerin ana bileşenlerinden biri olan selüloz, ağaçlardan elde edilen bir hammadde olduğu için, suni mutfak süngerlerinin üretilmesi ormansızlaşmaya yol açmakta ve havaya kirletici maddeler salınımına neden olmaktadır. Deniz süngerlerinin mutfak süngeri olarak kullanılması, sürdürülebilir bir şekilde toplanabilmeleri ve %100 biyo-çözünür olmaları nedeniyle çevre dostu olarak kabul edilmektedir. Ayrıca %100 doğal olan kabak lifleri de günümüzde sentetik süngerlere güzel bir alternatiftir. Ancak, bulaşık süngerlerinin mikrobiyal yükü yeterince aydınlatılmadığından veya kolay bulunabilir ve ucuz fiyatlı olmalarından dolayı insanlar tarafından hala çok yüksek oranda kullanılmaktadır. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, doğal süngerlerin bakteri üremesini engelleyen enzimler içerdiğini ortaya koymuş, ancak bu engellemenin mekanizması hala gizemini korumaktadır. Yapay mutfak süngerleri onlarca yıldır kullanılıyor olsa da, son raporlar süngerlerin bir kısmının hastalığa neden olabilen bir dizi mikroorganizma grubu barındırdığını göstermektedir.

Çalışmamızda Erzurum ilinin merkez ilçelerinde bulunan 50 farklı haneden toplanan 150 adet farklı bulaşık süngerinde bulunan ve önemli sağlık sorunlarına sebebiyet verdiği kesin olarak kanıtlanmış patojenik bakteriler olan *S. aureus, L. monocytogenes, S. Typhimurium* ve *C. jejuni*'nin varlığının ve bu patojenlerin canlı kalıp kalmadığının hızlı ve güvenilir bir şekilde tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bunun için 150 adet bulaşık süngeri örneği ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmaksızın, direkt qPCR metoduyla incelenmiş, örneklerin % 18,6'sında *L. monocytogenes,* % 12'sinde *S. aureus,* % 14,6'sında *S. Typhimurium* ve % 5,3'ünde *C. jejuni* tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu patojenlerin varlığının ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmaksızın direkt qPCR metoduyla hızlı ve güvenilir bir şekilde tespit edilebileceğini göstermektedir. Ayrıca farklı zaman aralıklarında bulaşık süngerlerinin toplanması, bu süngerlerin ne kadar süre ile kullanılabilir olduğu hakkında da bize bilgi

vermektedir. 1 hafta süre ile kullanılan bulaşık süngerlerinde çalışmamıza konu olan bütün patojenik bakterilere rastlanmıştır. 15 gün süre ile kullanılan bulaşık süngerlerinin patojenik içeriğinin arttığı, 30 gün süre ile kullanılan bulaşık süngerlerinde ise patojenik içeriğin azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

Bakterilerin çoğunluğunun canlı olmadığı veya canlılık oranlarının %1'den az olduğu görülse de bazı mutfakların patojenik içeriklerine bakılarak ciddi mikrobiyal yüke sahip olduğu ve bunun da hayati riskler oluşturabileceği aşikardır. Çalışmamıza katkıda bulunan haneler rastgele seçilmiş olup, beslenme şekilleri, mutfaklarındaki hijyen koşulları ve sünger kullanımları ("Süngerler hangi aralıklarla temizleniyor veya temizleniyor mu?", "Çamaşır suyu veya hangi tip deterjan kullanılıyor?", "Süngerler yiyecek hazırlamanın hangi aşamalarında kullanılıyor?") ile ilgili elimizde herhangi bir veri bulunmamaktadır. Bu nedenle süngerlerdeki patojenlerin varlığını, oranını ve canlı olup olmadığını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu da elde ettiğimiz sonuçların değişkenliğini açıklamaktadır.

Tez çalışmamızın sonuçlarına göre; bulaşık süngerlerinin mutfaklarda kullanılmasının halk sağlığı açısından riskli olduğu görülmektedir. 1 haftadan uzun süreli kullanımlarda patojenik içeriğin artması, süngerlerin haftalık olarak değiştirilmesi gerektiğini göstermektedir. 30 günlük kullanımlarda patojenik içeriğin giderek azalmasının sebebi, baskın türlerin artarak diğer bakteriler üzerine antagonistik etki göstermesinden kaynaklanabilir.

Elde edilen sonuçlara göre bulaşık süngerlerinin kullanılmasına yönelik önerilerimizi şu şekilde sıralayabiliriz;

- Bulaşık süngerlerinin yerine, güvenilirliği kanıtlanmış ve bakteri tutma olasıkları oldukça düşük olan ve son zamanlarda da yeniden popülerlik kazanan kabak lifleri veya doğal alternatifler kullanılabilir.
- Bulaşık süngerlerinin kullanımı 1 hafta süre ile sınırlandırılabilir.
- Bulaşık süngerlerinin patojenik bakteri içeriğini büyük ölçüde azalttığı görülen mikrodalga fırında kurutma işlemi sık sık tekrar edilebilir.
- Bulaşık süngerlerinin ıslak bırakılmamasına dikkat edilerek, deterjan kalitesi ve çamaşır suyu kullanımına özen gösterilebilir.
- Özellikle çiğ et ürünlerinin hazırlığından sonra temas eden bulaşık süngerleri asla kullanılmamalıdır.
- Bulaşık süngerlerinin kullanımı sonrası ellerin iyice temizlenmesine ve süngerlerin amacı dışında kullanılmamasına dikkat edilmelidir.

Çalışmamız, direkt qPCR ile güvenilir ve hızlı sonuçlar alınabileceğini göstermiştir. Ayrıca mikrobiyal canlılık testi ile qPCR'ın birleştirilmesi yalnızca gıda alanında değil, birçok alanda farklı çalışmaların öncüsü olma niteliğindedir.

KAYNAKLAR

Adzitey, F., Rusul, G., Huda, N., Cogan, T., and Corry, J., 2012. Prevalence, antibiotic resistance and RAPD typing of *Campylobacter* species isolated from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia. Int. J. Food Microbiol, 154(3),197-205.

Ajmera, A., Shabbir, N., 2022. *Salmonella*. Florida, USA.

Akbulut, D., Grant, K. A., and McLauchlin, J., 2004. Development and application of real-time PCR assays to detect fragments of the *Clostridium botulinum* types A, B, and E neurotoxin genes for investigation of human foodborne and infant botulism. Foodborne Pathog. Dis., 1(4), 247–257.

Akinyemi, K. O., Ajoseh, S. O., Fakorede, C. O., 2021. A systemic review of literatures on human *Salmonella enterica* serovars in Nigeria (1999-2018). J Infect Dev Ctries, 15(9),1222-1235.

Allos, B. M., 2001. *Campylobacter jejuni* infections: Update on emerging issues and trends. Clinical Infectious Diseases, 32(8), 1201-1206.

Alves, J., Marques, V. V., Pereira, L. F. P., Hirooka, E. Y., and Moreira de Oliveira, T. C. R., 2012. Multiplex PCR for the detection of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in chicken meat. J. Food Safety, 32(3), 345–350.

Austin, J.W. and Bergeron, G., 1995. Development of bacterial biofilms in dairy processing lines. Journal of Dairy Research, 62(3), 509-519.

Bacon, R.T. and Sofos, J.N., 2003. Characteristics of biological hazards in foods. Food Safety Handbook , Ed: R.H. Scchmidt and G.E. Rodrick. Florida, USA, 157-195.

Bahrndorff, S., Rangstrup ,C. L., Nordentoft, S., Hald, B., 2013. Foodborne disease prevention and broiler chickens with reduced *Campylobacter* infection. Emerg Infect Dis., 19(3), 425-430.

Barry Zingman, M.D. *et al.*, 2023. In the Kitchen: Prevent the Spread of Infection. Health Encyclopedia, University of Rochester Medical Center. https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?contenttypeid=1&contentid=1220#:~:text=Sources%20of%20contamination,to%20others%20by%20handling%20food.

Becker, K. *et al.*,1998. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus:* Use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. Journal of Clinical Microbiology, 36(9), 2548-53.

Berrang M., Frank J., Buhr R., Bailey J., Cox N., Mauldin J., 1998. Eggshell characteristics and penetration by salmonella through the productive life of a broiler breeder flock. Poult. Sci., 77(9), 1446-1450.

Beumer, R. R., Te Giffel, M. C., Spoorenberg, E., and Rombouts, F. M., 1996. *Listeria* species in domestic environments. Epidemiology and Infection, 117(3), 437–442.

Beumer, R.R. and Kusumaningrum, H., 2003. Kitchen hygiene in daily life. International Biodeterioration and Biodegradation, Wageningen, The Netherlands, 299-302.

Bhakdi S, Tranum-Jensen J., 1991. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. Microbiol Rev., 55(4),733-51.

Birch, L., Dawson, C. E., Cornett, J. H., and Keer, J. T., 2001. A comparison of nucleic acid amplification techniques for the assessment of bacterial viability. Lett. Appl. Microbiol, 33(4), 296–301.

Blair, J. E., 1958. Factors determining the pathogenicity of staphylococci. Annu Rev Microbiol., 12,491-506.

Borriello, S. P., Murray, P. R., and Funke, G., 2005. Enterococci. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th ed., Ed: S. P. Borriello, P. R. Murray and G. Funke, Washington, DC, USA, 883-902.

Borrusso, P. A., and Quinlan, J. J., 2017. Prevalence of Pathogens and Indicator Organisms in Home Kitchens and Correlation with Unsafe Food Handling Practices and Conditions. J Food Prot., 80(4), 590-597.

Brown, D.F., Edwards, D.I., Hawkey P.M., Morrison, D., Ridgway, G.L., Towner, K.J., Wren, M.W., 2005. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother, 56(6),1000-18.

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., *et al.*, 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Clin. Chem., 55(4), 611–622..

Cardinale, M., Kaiser, D., Lueders, T., Schnell, S., Egert, M., 2017. Microbiome analysis and confocal microscopy of used kitchen sponges reveal massive colonization by *Acinetobacter, Moraxella* and *Chryseobacterium* species. Sci Rep., 7(1):5791.

Carter, G. R. and Wise, D. J., 2004. Essentials of veterinary bacteriology and mycology. 6th ed., Iowa State Press, USA, 137-140.

Catellani P, Scapin RM, Alberghini L, Radu IL, Giaccone V, 2014. Levels of microbial contamination of domestic refrigerators in Italy. Food Control., 42, 257–262.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2011. CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States http://www.cdc.gov/foodborneburden/PDFs/FACTSHEET_A_FINDINGS_updated4-13.pdf (Accessed 15 June 2014).

Centers for Disease Control Prevention, 2003. Outbreaks of *Salmonella* serotype enteritidis infection associated with consumption of raw shell eggs, 1999—2001, United states.

Chapela, M.-J., Garrido-Maestu, A., and Cabado, A. G., Yildiz, F. Detection of foodborne pathogens by qPCR: A practical approach for food industry applications. Cogent Food and Agriculture, 1(1), 1-19.

Chaves, R.D., Pradella, F., Turatti, M.A., Amaro, E.C., da Silva, A.R., dos Santos Farias,A., Pereira, J.L., Khaneghah, A. M., 2018. Evaluation of *Staphylococcus* spp. in food and kitchen premises of Campinas, Brazil. Food Control, 84,463-470.

Cheah, Y. K., Noorzaleha, A. S., Lee, L. H., Radu, S., Sukardi, S., and Sim, J. H., 2008. Comparison of PCR fingerprinting techniques for the discrimination of *Salmonella enterica* subsp. enterica serovar Weltevreden isolated from indigenous vegetables in Malaysia. World J. Microbiol. Biotechnol., 24(3), 327–335.

Chen, W., Martinez, G., and Mulchandani, A., 2000. Molecular beacons: a realtime polymerase chain reaction assay for detecting *Salmonella*. Anal. Biochem., 280(1), 166–172.

Chiang, Y. C., Tsen, H. Y., Chen, H. Y., Chang, Y. H., Lin, C. K., Chen, C. Y., *et al.*, 2012. Multiplex PCR and a chromogenic DNA macroarray for the detection of *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Enterobacter*

sakazakii, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp. and *Pseudomonas fluorescens* in milk and meat samples. J. Microbiol. Meth., 88(1), 110–116.

Chiou, C. S., Hsu, S. Y., Chiu, S. I., Wang, T. K., and Chao, C. S., 2000. *Vibrio parahaemolyticus* Serovar O3:K6 as cause of unusually high incidence of foodborne disease outbreaks in Taiwan from 1996 to 1999. J. Clin. Microbiol., 38(12), 4621–4625.

Chung, M. S., Kim, C. M., and Ha, S. D., 2010. Detection and enumeration of microorganisms in ready-to-eat foods, ready-to-cook foods and fresh-cut produce in Korea. J. Food Safety, 30(2), 480–489.

Cloak, O.M. *et al.*, 2001. A survey on the incidence of *Campylobacter* spp. and the development of a surface adhesion polymerase chain reaction (SA-PCR) assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in retail meat products. Food Microbiology, 18(3), 287-298.

Coates, D., Hutchinson, D.N., Bolton, F.J., 1987. Survival of thermophilic *Campylobacters* on fingertips and their elimination by washing and disinfection. Epidemiology and Infection, 99(2), 265–274.

Cogan, T.A., Bloomfield, S.F., Humphrey, T.J., 1999. The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcases in the domestic kitchen. Letters in Applied Microbiology, 29(5), 354–358.

Colagiorgi, A., Bruini, I., Di Ciccio, P. A., Zanardi, E., Ghidini, S., Ianieri, A., 2017. *Listeria monocytogenes* Biofilms in the wonderland of food industry. Pathogens, 6(3), 41.

Cotter, P. D., Hill, C., 2003. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 67(3), 429–453.

Crump, J.A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M.A., Parry, C.M., 2015. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. Clin Microbiol Rev., 28(4), 901-37.

Dasti, J.I., Tareen, A.M., Lugert, R., Zautner, A.E., Groß, U., 2010. *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicityassociated factors and diseasemediating mechanisms. Int. J. Med. Microbiol., 300(4), 205-211.

Dawkins, H.C., Bolton, F.J., Hutchinson, D.N., 1984. A study of the spread of *Campylobacter jejuni* in four large kitchens. Journal of Hygiene, 92(3), 357–364.

De Boer, E. and Hahné, M., 1990. Cross-contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* species from raw chicken products during food preparation. Journal of Food Protection, 53(12), 1067–1068.

De Oliveira Elias, S., Tomasco, P.V., Alvarenga, V.O., de Souza Sant'Ana, A., Tondo, E.C., 2015. Contributor factors for the occurrence of salmonellosis during preparation, storage and consumption of homemade mayonnaise salad. Food Res. Int., 78, 266-273.

De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., Herman, L., 2006. Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. Int. J. Food Microbiol., 112(3), 253-60.

De Jonge, B.L., Chang, Y.S., Gage, D., Tomasz, A., 1992. Peptidoglycan composition of a highly methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain. The role of penicillin binding protein 2A. J Biol Chem., 267(16):11248-54.

Dekker, J. P., Frank, K. M., 2015. *Salmonella*, *Shigella*, and *Yersinia*. Clin Lab Med., 35(2):225-46.

Delarocque-Astagneau, E., Desenclos, J.C., Bouvet, P., Grimont, P., 1998. Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype enteritidis infections in children in France: A national case-control study. Epidemiol. Infect., 21(3), 561-7.

Dhama, K., Verma, A. K., Rajagunalan, S., Kumar, A., Tiwari, R., Chakraborty, S., *et al.*, 2013. *Listeria monocytogenes* infection in poultry and its public health importance with special reference to food borne zoonoses. Pakistan Journal of Biological Sciences., 16(7),301-8.

Di Mattia, C., Balestra, F., Sacchetti, G., Neri, L., Mastrocola, D., Pittia, P., 2015. Physical and structural properties of extra-virgin olive oil based mayonnaise. LWT-Food Scie. Technol., 62(1), 764-770.

Dinges, M. M., Orwin, P, M., Schlievert, P. M., 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev., 13(1), 16–34.

Dominguez, C., Gomez, I. and Zumalacarregui, J., 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. Int J Food Microbiol., 72(1-2), 165-8.

Donofrio, R., Bechanko, R., Hitt, N., O'Malley, K,, Charnauski, T., Bestervelt, L. L., Saha, R., Saha, N., 2012. Are we aware of microbial hotspots in our household? J Environ Health, 75(2), 12-9.

Doyle, M.P., Roman, D.J., 1981. Growth and Survival of *Campylobacter fetus* subsp. jejuni as a Function of Temperature and pH. J Food Prot., 44(8), 596-601.

Duggan, J., and Phillips, C. A., 1998. *Listeria* in the domestic environment. J. Nutr. Food Sci., 98(2), 73-79.

Dunsmore, D.G., Twomey, A., Whitlestone, W.G. and Morgan, H.W., 1981. Design and performance of systems for cleaning product contact surfaces of food equipment: a review. Journal of Food Protection, 44(3), 220-240.

Easmon, C. S. F., Adlam, C., 1983. *Staphylococci* and staphylococcal infections. Vols 1 and 2. Academic Press, London, UK.

EFSA, 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2014. EFSA Journal., 13(12), 4329.

Elmali, M., Can, H. Y., Yaman, H., 2015. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat. Food Science and Technology, 35(4), 672-675.

Elnekave, E., Hong, S. L., Lim, S., Johnson, T. J., Perez, A. and Alvarez, J., 2020. Comparing serotyping with whole-genome sequencing for subtyping of non-typhoidal *Salmonella enterica:* A large-scale analysis of 37 serotypes with a public health impact in the USA. Microbial Genom., 6(9), mgen000425.

Enriquez, C., Eniquez-Gordillo, R., and Gerba, C., 1997. Bacteriological survey of used cellulose sponges and cotton dishclothsfrom domestic kitchens. Dairy Food and Environmental Sanitation, 17(1), 20–24.

European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA J. 20(4), 21021.

Evans, E. W., and Redmond,E. C., 2019. Domestic Kitchen Microbiological Contamination and Self-Reported Food Hygiene Practices of Older Adult Consumers. J Food Prot., 82(8), 1326-1335.

Evans, E.W., Redmond, E. C., 2018. Food Safety Knowledge and Self-Reported Food-Handling Practices in Cancer Treatment. Oncology Nursing Forum., 45(5), E98-E110.

Finch, J. E., Prince, J., and Hawksworth, M., 1978. A bacteriological survey of the domestic environment. Journal of Applied Bacteoriology, 45(3), 357-64.

Fitzgerald, C., and Nachamkin, I., 2007. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In P. R. Murray (Ed.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 933-946). Washington D.C., USA.

Flores, G.E., Bates, S.T., Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Leff, J.W., Knight, R., Fierer, N., 2013. Diversity, distribution and sources of bacteria in residential kitchens. Environ. Microbiol., 15(2), 588-96.

Foster, T. J., McDevitt, D., 1994. Molecular basis of adherence of staphylococci to biomaterials. p. 31, In Bisno A.L., Waldvogel FA (eds): Infections Associated with Indwelling Medical Devices, 2nd Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.

Foster, T., 1996. Chapter 12: Staphylococcus. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston, Texas, USA..

Foster, T.J., 1991. Potential for vaccination against infections caused by *Staphylococcus aureus*. Vaccine., 9(4):221-7.

Fratamico, P. M., Bagi, L. K., Cray Jr, W. C., Narang, N., Yan, X., Medina, M., *et al.*, 2011. Detection by multiplex real-time polymerase chain reaction assays and isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups O26, O45, O103, O111, O121 and O145 in ground beef. Foodborne Pathog. Dis., 8(5), 601-7.

Fricker, M., Messelhäuber, U., Busch, U., Scherer, S., and Ehling-Schulz, M., 2007. Diagnostic real-time PCR assays for the detection of emetic *Bacillus cereus* strains in foods and recent food-borne outbreaks. Appl. Environ. Microbiol., 73(6), 1892-8.

Fukushima, H., Tsunomori, Y., and Seki, R., 2003. Duplex real-time SYBR green PCR assays for detection of 17 species of food- or waterborne pathogens in stools. J. Clin. Microbiol., 41(11), 5134–5146.

Fusco, V., Quero, G. M., Morea, M., Blaiotta, G., and Visconti, A., 2011. Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* harbouring the enterotoxin gene cluster (egc). and quantitative detection in raw milk by real time PCR. Int. J. Food Microbiol., 144(3), 528–537.

Gerba, C.P., Sifuentes, L.Y., Tamimi, A.H., 2017. A Comparison of Urethane and Cellulose Sponges as Cleaning Tools in Household Kitchens. Food Prot. Trends, 37(3), 170-175.

Gong, B., Li, H., Feng, Y., Zeng, S., Zhuo, Z., Luo, J., Chen, X., and Li, X., 2022. Prevalence, serotype distribution and antimicrobial resistance of nontyphoidal *Salmonella* in hospitalized patients in Conghua District of Guangzhou, China. Front Cell Infect Microbiol., 12:805384.

Gould, L. H., Walsh, K. A., Vieira, A. R., Herman, K., Williams, I. T., Hall, A. J. and Cole, D., 2013. Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 1998–2008. MMWR Surveill Summ., 62(2),1-34.

Götz, F. *et al*., 2006. The Genera Staphylococcus and Macrococcus. The Prokaryotes, 3th ed., Eds: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K-H., Stackebrandt, E., 4, 5-75.

Gray, M. J., Freitag, N. E., Boor, K. J., 2006. How the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* mediates the switch from environmental Dr. Jekyll to pathogenic Mr. Hyde. Infect Immun., 74(5), 2505-12.

Guglielmi, G., 2017. Your kitchen sponge harbors zillions of microbes. Cleaning it could make things worse. https://www.science.org/content/article/your-kitchen-sponge-harbors-zillions-microbes-cleaning-it-could-make-things-worse (27.07.2017)

Haysom, I., and Sharp, A., 2005. Bacterial contamination of domestic kitchens over a 24-hour period. Br. Food J., 107(7), 455-466.

Hein, I., Lehner, A., Rieck, P., Klein, K., Brandl, E., and Wagner, M., 2001. Comparison of different approaches to quantify *Staphylococcus aureus* cells by real-time quantitative PCR and application of this technique for examination of cheese. Appl. Environ. Microbiol. 67(7), 3122–3126.

Hermans, D., Van, S.K., Verbrugghe, E., Verlinden, M., Martel, A., Seliwiorstow, T., Heyndrickx, M., Haesebrouck, F., De, Z.L., Deforce, D., 2014. Passive immunization to reduce *Campylobacter jejuni* colonization and transmission in broiler chickens. Vet. Res., 45(1), 27.

Hilton, A., and Austin, E., 2000. The kitchen dishcloth as a source of and vehicle for foodborne pathogens in a domestic setting. Int. J. Environ. Health Res., 10(3), 257- 261.

Hoffmann, B., Beer, M., Reid, S. M., Mertens, P., Oura, C. A., van Rijn, P. A., *et al.*, 2009. A review of RT-PCR technologies used in veterinary virology and disease control: sensitive and specific diagnosis of five livestock diseases notifiable to the World Organisation for Animal Health. Vet. Microbiol., 139(1-2), 1–23.

Holah, J. T. and Thorpe, R. H., 1990. Cleanability in relation to bacterial retention on unused and abraded domestic sink materials. Journal of Applied Bacteriology, 69(4), 599-608.

ICMSF, 1996. Characteristics of microbial pathogens – *Listeria monocytogenes*. Microorganisms in Foods 5. Pp 141–182. London, UK.

Ikawa, J.Y., Rossen, J.S., 1999. Reducing Bacteria in Household Sponges. Environ Health, 62(1).

Jacksch, S., Thota, J., Shetty, S., Smidt, H., Schnell, S., and Egert, M., 2020. Metagenomic Analysis of Regularly Microwave-Treated and Untreated Domestic Kitchen Sponges. Microorganisms, 8(5), 736.

Jacobs-Reitsma, W.F., 2000. *Campylobacter* in the food supply. *Campylobacter*, 2nd ed. Ed: Nachamkin, I. and Blaser, M.J. Washington, DC: American Society for Microbiology, USA. pp. 467–481.

Jay, J., 2000. Staphylococcal gastroenteritis. Instructor's Manual for Jay's Modern Food MicrobiologyGaithersburg USA. (pp. 62-64)

Johnson, W.M., Lior, H., 1988. A new heat-labile cytolethal distending toxin (CLDT) produced by *Campylobacter*. Microb. Pathog., 4(2),115-126.

Josephson, K. L., Rubino, J. R., and Pepper, I. L., 1997. Characterization and quantification of bacterial pathogens and indicator organisms in household kitchens with and without the use of a disinfectant cleaner. Journal of Applied Microbiology, 83(6), 737-50.

Jovanovska, S., Quirant, L., Davidovikj, D., Popeijus, H.E., 2018. Invisible Cohabitants: Investigating the Microbial Presence in the Kitchen Sponges of Maastricht. MJLA, 10, 69-83.

Kaakoush, N.O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H.M., Man, S.M., 2015. Global Epidemiology of Campylobacter Infection. Clin Microbiol Rev., 28(3), 687-720.

Kennedy, J., Nolan, A., Gibney, S., O'Brien, S., McMahon, M., McKenzie, K., Healy, B., McDowell, D., Fanning, S., and Wall, P., 2011. Determinants of cross-contamination during home food preparation. Br. Food J., 113(2), 280-97.

Khoo, C. H., Cheah, Y. K., Lee, L. H., Sim, J. H., Noorzaleha, A. S., Sidik, M. S., *et al.*, 2009. Virulotyping of *Salmonella enterica* subsp. enterica isolated from indigenous vegetables and poultry meat in Malaysia using multiplex-PCR. Antonie Van Leeuwenhoek, 96(4), 441–457.

Kirk, M.D. *et al.*, 2015. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. PLoS Med., 12(12), e1001921.

Klein, D., 2002. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations. Trends Mol. Med., 8(6), 257–260.

Klerks, M.. M., Zijlstra, C., and van Bruggen, A. H. C., 2004. Comparison of real-time PCR methods for detection of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7, and introduction of a general internal amplification control. J. Microbiol. Meth., 59(3), 337-349.

Kramer, J.M., Frost, J.A., Bolton, F.J. and Wareing, D.R., 2000. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. J Food Prot 63(12), 1654-1659.

Kuan, C. H., Lim, L. W. K., Ting, T. W., Rukayadi, Y. , Ahmad, S. H., Wan Mohamed Radzi, C. W. J., Thung, T. Y., Ramzi, O. B., Chang, W. S., Loo, Y. Y., Kuan, C. S., Yeo, S.-K., and Radu, S., 2017. Simulation of decontamination and transmission of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* during handling of raw vegetables in domestic kitchens. Food Control, 80, 395-400.

Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonak, J., Lind, K., *et al.*, 2006. The real-time polymerase chain reaction. Mol. Aspects Med., 27(2-3), 95–125.

Kusumaningrum, H. D., Riboldi, G., Hazeleger, W. C., and Beumer, R. R., 2003. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. International Journal of Food Microbiology, 85(3), 227-36.

Lauteri, C., Maggio, F., Serio, A., Festino, A. R., Paparella, A., and Vergara, A., 2022. Overcoming multidrug resistance in *Salmonella* spp. isolates obtained from the swine food chain by using essential oils: An in vitro study. Front Microbiol, 12, 808286.

Lee, N., Kwon, K. Y., Oh, S. K., Chang, H. J., Chun, H. S., and Choi, S. W., 2014. A multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* in Korea ready-to-eat food. Foodborne Pathog. Dis. 11(7), 574–580.

Leone, G., van Schijndel, H., van Gemen, B., Kramer, F. R., and Schoen, C. D., 1998. Molecular beacon probes combined with amplification by NASBA enable homogeneous, real-time detection of RNA. Nucleic Acids Res., 26(9), 2150–2155.

Lertworapreecha, M., Sutlhimusiki, S. and Tontikpong, K., 2013. Antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolated from pork, chicken and vegetables in southern Thailand. Jundishapur J Microbiol, 6(1).

Levin, R. E., 2005. The application of real-time PCR to food and agricultural systems. A review. Food Biotechnol., 18(1), 97–133.

Levin, R. E., 2012. PCR detection of aflatoxin producing fungi and its limitations. Int. J. Food Microbiol. 156(1), 1–6.

Li, H. P., Wang, H., D'Aoust, J. Y., Maurer, J., 2013. *Salmonella* species. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 3th ed., Ed: M.P. Doyle and R.L. Buchanan, ASM Press, 225-261.

Licitra, G., 2013. Etymologia: *Staphylococcus*. Emerg Infect Dis., 19(9), 1553.

Liming, S. H., and Bhagwat, A. A., 2004. Application of a molecular beacon-real-time PCR technology to detect *Salmonella* species contaminating fruits and vegetables. Int. J. Food Microbiol. 95(2), 177–187.

Liu, D., Ainsworth, A. J., Austin, F. W., Lawrence, M. L., 2003. Characterization of virulent and avirulent *Listeria monocytogenes* strains by PCR amplification of putative transcriptional regulator and internalin genes. Journal of Medical Microbiology, 52(Pt 12):1065-1070.

Liu, D., Lawrence, M. L., Ainsworth, A. J., Austin, F. W., 2007. Toward an improved laboratory definition of Listeria monocytogenes virulence. International Journal of Food Microbiology, 118(2),101-15.

Liu, D., Lawrence, M. L., Austin, F. W., Ainsworth, A. J., 2007. A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes.* Journal of Microbiological Methods, 71(2),133-40.

Liu, G.Y., Essex, A., Buchanan, J.T., Datta,V., Hoffman, H.M., Bastian, J.F., Fierer, J., Nizet, V., 2205. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. J Exp Med., 202(2), 209-15.

Lyon, B.R., Skurray, R., 1987. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*: genetic basis. Microbiol Reviews, 51(1), 88-134.

Madani, M., Subbotin, S. A., and Moens, M., 2005. Quantitative detection of the potato cyst nematode, *Globodera pallida,* and the beet cyst nematode, *Heterodera schachtii,* using real-time PCR with SYBR green I dye. Mol. Cell. Probes,19(2), 81–86.

Mandal, P. K., Biswas, A. K., Choi, K., and Pal, U. K., 2011. Methods for rapid detection of foodborne pathogens: an overview. Am. J. Food. Technol., 6(2), 87–102.

Margot, H., Zwietering, M. H., Joosten, H., O'Mahony, E., and Stephan, R., 2015. Evaluation of different buffered peptone water (BPW) based enrichment broths for detection of Gram-negative foodborne pathogens from various food matrices. Int. J. Food Microbiol., 214, 109–115.

Markoulatos, P., Siafakas, N., and Moncany, M., 2002. Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. J. Clin. Lab. Anal., 16(1), 47–51.

Mattick, K. *et al.*, 2003. The survival of foodborne pathogens during domestic washing up and subsequent transfer onto washing-up sponges, kitchen surfaces, and food. International Journal of Food Microbiology, 85(3), 213-26.

Maurer, J. J., 2011. Rapid detection and limitations of molecular techniques. Annu. Rev. Food Sci. Technol., 2, 259–279.

Medeiros, L., Hillers, V., Kendall, P., and Mason, A., 2001. Evaluation of food safety education for consumers. J. Nutr. Educ., 33 Suppl 1, S27-34.

Meloni, D., 2014. Focusing on the main morphological and physiological characteristics of the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes.* Journal of Veterinary Science and Research, 1(1), 001.

Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T., and Gibbs, P.A., 2004. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. Food Microbiology, 21(2), 213- 216.

Meredith, L., Lewis, R., and Haslum, M., 2001. Contributory factors to the spread of contamination in a model kitchen. Br. Food J., 103(1), 23-26.

Mohammad, Z. H., 2020. Bacteria Survive on Kitchen Sponges and Towel in Restaurant and Foodservice Operations. ASM Microbe Online.

Muller, K., Aabo, S., Birk, T., Mordhorst, H., Bjarnadottır, B., Agerso, Y., 2012. Survival and growth of epidemically successful and nonsuccessful *Salmonella enterica* clones after freezing and dehydration. Journal of Food Protection, 75(3), 456-464.

Murray, E. G. D., Webb, R. A., Swann, M. B. R., 1926. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucoytosis caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). J Pathol Bacteriol ,29(4), 407–439.

Nascimento, V.P., Cranstoun, S., Solomon, S.E., 1992. Relationship between shell structure and movement of Salmonella enteritidis across the eggshell wall. Br Poult Sci., 33(1), 37-48.

Ngogo, F. A., Joachim, A., Abade, A. M., Rumisha, S. F., Mizinduko, M. M., and Majigo, M. V., 2020. Factors associated with *Salmonella* infection in patients with gastrointestinal complaints seeking health care at regional hospital in Southern Highland of Tanzania. BMC Infect Dis, 20(1), 135.

Nielsen, P., Brumbaugh, E., Kananen, L., 2002. Evaluation of the use of liquid dishwashing compounds to control bacteria in kitchen sponges. J. AOAC Int., 85(1),107-12

Nocker, A., and Camper, A. K., 2009. Novel approaches toward preferential detection of viable cells using nucleic acid amplification techniques. FEMS Microbiol. Lett., 291(2), 137–142.

Nocker, A., Cheung, C. Y., and Camper, A. K., 2006. Comparison of propidium monoazide with ethidium monoazide for differentiation of live vs. dead bacteria by selective removal of DNA from dead cells. J. Microbiol. Methods, 67(2), 310–320.

Normanno, G., La Salandra,G., Dambrosio, A., *et al.*, 2007. Occurence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. Int J Food Microbiol., 115(3), 290-6.

Ojima, M. *et al.*, 2002. Hygiene measures considering actual distributions of microorganisms in Japanese households. J Appl Microbiol., 93(5), 800-9.

Oliver, S. P., Jayarao, B. M., and Almeida, R. A., 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. Foodborne Pathog. Dis., 2(2), 115-29.

Omiccioli, E., Amagliani, G., Brandi, G., and Magnani, M., 2009. A new platform for real-time PCR detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in milk. Food Microbiol., 26(6), 615–622.

Omurtag, I., Paulsen, P., Hilbert, F., and Smulders, F. J. M., 2013. The risk of transfer of foodborne bacterial hazards in Turkey through the consumption of meat; risk ranking of muscle foods with the potential to transfer *Campylobacter* spp. Food Security 5(1), 117–127.

Osei Sekyere, J., Govinden, U., and Essack, S. Y., 2015. Review of established and innovative detection methods for carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. J. Appl. Microbiol., 119(5), 1219–1233.

Patel, J. R., Bhagwat, A. A., Sanglay, G. C., and Solomon, M. B., 2006. Rapid detection of *Salmonella* from hydrodynamic pressure-treated poultry using molecular beacon real-time PCR. Food Microbiol., 23(1) 39–46.

Popoff, M. Y. and Le Minor, L., 1997. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. WHO collaborating center for reference and research on *Salmonella*. J Med Microbiol., 65(10):1074-1078.

Prevost, G., Couppie, P., Prevost, P. *et al.*, 1995. Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. J Med Microbiol., 42(4):237-45.

Ranjbar, R., Halaji, M., 2018. Epidemiology of *Listeria monocytogenes* prevalence in foods, animals and human origin from Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Public Health, 18(1), 1057.

Redmond, E. C., and Griffith, C. J., 2003. Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. J. Food Prot., 66(1),130-61.

Rijsman, L. H., Monkelbaan, J. F., and Kusters, J. G., 2016. Clinical consequences of PCR based diagnosis of intestinal parasitic infections. J. Gastroenterol. Hepatol., 31(11), 1808–1815.

Rodriguez-Lazaro, D., Cook, N., and Hernandez, M., 2013. Real-time PCR in food science: PCR diagnostics. Curr. Issues Mol. Biol., 15, 39–44.

Rogalla, D., Bomar, P. A., 2022. *Listeria monocytogenes*. Florida, USA.

Rosec, J. P., Causse, V., Cruz, B., Rauzier, J., and Carnat, L., 2012. The international standard ISO/TS 21872-1 to study the occurrence of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in seafood: ITS improvement by use of a chromogenic medium and PCR. Int J. Food Microbiol. 157(2), 189–194.

Rupp, M.E., Archer, G.L., 1994. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. Clin Infect Dis., 19(2):231-43; quiz 244-5.

Ryu, J., Park, S. H., Yeom, Y. S., Shrivastav, A., Lee, S. H., Kim, Y. R., *et al.*, 2013. Simultaneous detection of *Listeria* species isolated from meat processed foods using multiplex PCR. Food Cont., 32(2), 659–664.

Sabet, C., Lecuit, M., Cabanes, D., Cossart, P., Bierne, H., 2005. LPXTG protein InlJ, a newly identified internalin involved in *Listeria monocytogenes* virulence. Infection and Immunity, 73(10), 6912–6922.

Sahin, O., Morishita, T.Y. and Zhang, Q., 2002. *Campylobacter* colonization in poultry: sources of infection and modes of transmission. Anim. Health Res. Rev., 3(2), 95–105.

Saito, S., Yatsuyanagi, J., Harata, S., Ito, Y., Shinagawa, K., Suzuki, N., Amano, K. and Enomoto, K., 2005. *Campylobacter jejuni* isolated from retail poultry meat, bovine feces and bile, and human diarrheal samples in Japan: comparison of serotypes & genotypes. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 45(2), 311–319.

Salmon, D.E., Smith, T., 1886. The bacterium of swine-plague. American Monthly Microscopical Journal, 7, 204-205.

Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.-A., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P.M., 2011. Foodborne illness acquired in the united states—Major pathogens. Emerg. Infect. Dis., 17(1), 7-15.

Schäfer, D. F., Steffens, J., Barbosa, J., *et al.*, 2017. Monitoring of contamination sources of *Listeria monocytogenes* in a poultry slaughterhouse. LWT, 86, 393-98.

Schlech, W.F. *et al.,* 1983. Epidemic listeriosis—evidence for transmission by food. N Engl J Med., 308(4), 203–206.

Shakespeare, M., 2002. Zoonoses, Ed: Shakespeare, M., pp.285.

Sharma, M., Eastridge, J., Mudd, C., 2009. Effective household disinfection methods of kitchen sponges. Food Control, 20(3), 310-13.

Singh, D. V., Matte, M. H., Matte, G. R., Jiang, S., Sabeena, F., Shukla, B. N., *et al.*, 2001. Molecular analysis of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates. Appl. Environ. Microbiol., 67(2), 910–921.

Singh, J., Batish, V. K., and Grover, S., 2009. A molecular beacon-based duplex real-time polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in milk and milk products. Foodborne Pathog. Dis., 6(10), 1195–1201.

Snelling, W., Matsuda, M., Moore, J., Dooley, J., 2005. Under the microscope – *Campylobacter jejuni.* Lett Appl. Microbiol., 41(4), 297–302.

Soejima, T., Xiao, J., and Abe, F., 2016. A novel mechanism for direct real-time polymerase chain reaction that does not require DNA isolation from prokaryotic cells. Sci. Rep., 6:28000.

Son, I., Binet, R., Maounounen-Laasri, A., Lin, A., Hammack, T. S., and Kase, J. A., 2014. Detection of five Shiga toxin-producing *Escherichia coli* genes with multiplex PCR. Food Microbiol., 40, 31–40.

Speirs, J. P., Anderton, A., and Anderson, J. G., 1995. A study of the microbial content of the domestic kitchen. International Journal of Environmental Health Research, 5(2), 109-122.

Te Giffel, M. C., Zwietering, M. H., 1999. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes.* Int. J. Food Microbiol., 46(2), 135-49.

Tesfaye, W., Ketema, B., Melese, A., and Henok, S., 2015. Prevalence and antibiotics resistance patterns of *S. aureus* from kitchen sponge's Jimma Town Food Establishments, South West Ethiopia. International Journal of Research Studies in Biosciences, 3(7), 63- 71.

Tessema, G. T., Moretro, T., Snipen, L., Heir, E., Holck, A., Naterstad, K., *et al.*, 2012. Microarray-based transcriptome of *Listeria monocytogenes* adapted to sublethal concentrations of acetic acid, lactic acid, and hydrochloric acid. Can J Microbiol, 58(9), 1112-23.

Thung, T. Y.; Radu, S.; Mahyudin, N. A.; Rukayadi, Y.; Zakaria, Z. and Mazlan, N., 2018. Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serovars from retail beef in Selangor, Malaysia. Front Microbiol, 8, 2697.

Touhami, A., Jericho, M.H., Beveridge, T.J., 2004. Atomic force microscopy of cell growth and division in *Staphylococcus aureus.* J Bacteriol., 186(11), 3286-95.

Tsai, H.C. *et al.,* 2019. Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in natural unsweetened cocoa powder under different water activity. Food Control, 102, 22-28.

Tyagi, A., Saravanan, V., Karunasagar, I., and Karunasagar, I., 2009. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in tropical shellfish by SYBR green real-time PCR and evaluation of three enrichment media. Int. J. Food Microbiol. 129(2), 124–130.

Van de Venter, T., 2000. Emerging food-borne diseases: a global responsibility. Food Nutr. Agr., 26, 4–13.

Van Deun, K., Haesebrouck, F., Heyndrickx, M., Favoreel, H., Dewulf, J., Ceelen, L., Dumez, L., Messens, W., Leleu, S., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., 2007. Virulence properties of *Campylobacter jejuni* isolates of poultry and human origin. J Med Microbiol., 56(Pt 10):1284-1289.

Velusamy, V., Arshak, K., Korostynska, O., Oliwa, K., and Adley, C., 2010. An overview of foodborne pathogen detection: in the perspective of biosensors. Biotechnol. Adv., 28(2), 232–254.

Walker, C. L. F. *et al.*, 2013. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. The Lancet, 381(9875),1405-1416.

Watzinger, F., Ebner, K., and Lion, T., 2006. Detection and monitoring of virus infections by real-time PCR. Mol. Aspects Med., 27(2-3), 254–298.

Wertheim, H.F.L., Melles, D.C., *et al.*, 2005. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis., 5(12), 751-62.

Whiley, H., Ross, K., 2015. *Salmonella* and eggs: From production to plate. Int. J. Environ. Res. Public Health, 12(3):2543-56.

Whyte, P., Mc Gill, K., Cowley, D., Madden, R.H., Moran, L., Scates, P., Carroll, C., O'Leary, A. *et al.*, 2004. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. Int J Food Microbiol, 95(2), 111–118.

Willis, W.L. and Murray, C., 1997. *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. Poult Sci, 76(2), 314–317.

Wilson, I.G. and Moore, J.E., 1996. Presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in shellfish. Epidemiol Infect, 116(2), 147–153.

Wingstrand, A., Neimann, J., Engberg, J., Nielsen, E. M., Gerner-Smidt, P., Wegener, H. C., *et al.*, 2006. Fresh chicken as main risk factor for campylobacteriosis, Denmark. Emerg. Infect. Dis., 12(2), 280–284.

Wolde, T., and Bacha, K., 2017. Prevalence and antibiotics resistance patterns of *Salmonella* isolated from kitchen sponges at Jimma town, Ethiophia. African Journal of Microbiology Research, 11(16), 631-636.

Wolde, T., Bacha, K., 2016. Microbiological Safety of Kitchen Sponges Used in Food Establishments. Int. J. Food Sci., 2016:1659784.

Wong, A.C.L., 1998. Biofilms in food processing environments. Journal of Dairy Science, 81(10), 2765-70.

Worku, W. Desta, M. and Menjetta, T., 2022. High prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *Salmonella* species and extended-spectrum βlactamase producing *Escherichia coli* from raw cattle meat at butcher houses in Hawassa city, Sidama regional state, Ethiopia. Plos One, 17(1), e0262308.

Xu, H., Zhang, W., Zhang, K., Zhang, Y., Wang, Z., and Zhang, W., 2021. Characterization of *Salmonella* serotypes prevalent in asymptomatic people and patients. BMC Infect Dis, 21(1), 632.

Yang, S., and Rothman, R. E., 2004. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. Lancet Infect. Dis., 4(6), 337–348.

Young, I. *et al.*, 2015. Application of a rapid knowledge synthesis and transfer approach to assess the microbial safety of low-moisture foods. Journal of Food Protection, 78(12), 2264-2278.

Yousef, A. E., and Carlstrom, C., 2003. *Salmonella.* Food Microbiology: A laboratory manual. Ed: Yousef, A. E. and Carstrom, C., John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

Zeinali T., Jamshidi A., Bassami M., Rad M., 2015. Serogroup identification and Virulence gene characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken carcasses. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 7(2), 9-19.

Zhang, J. *et al.*, 2020. Development of PMAxx™-Based qPCR for the Quantification of Viable and Non-viable Load of *Salmonella* From Poultry Environment. Front Microbiol., 11, 581201.

Zhao, X., Lin, C. W., Wang, J., and Oh, D. H., 2014. Advances in rapid detection methods for foodborne pathogens. J. Microbiol. Biotechn., 24(3), 297–312.

Zhou, B., Xiao, J., Liu, S., Yang, J., Wang, Y., Nie, F., *et al.*, 2013. Simultaneous detection of six food-borne pathogens by multiplex PCR with GEXP analyzer. Food Cont. 32(1), 198–204.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Zehra Betül BAKIRCI
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	Atatürk Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi Seviyede
Fransızca:	Başlangıç Seviyesinde