ERZURUM PİYASASINDAN TOPLANAN KIYMA ÖRNEKLERİNDEKİ BAZI PATOJENİK BAKTERİLERİN REAL TİME PCR YÖNTEMİ İLE TESPİTİ

Büşra TURANOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

2022

(Her hakkı saklıdır.)

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

ERZURUM PİYASASINDAN TOPLANAN KIYMA ÖRNEKLERİNDEKİ BAZI PATOJENİK BAKTERİLERİN REAL TİME PCR YÖNTEMİ İLE TESPİTİ

(Detection of Some Pathogenic Bacteria in Beef Samples Collected from Erzurum Market by Real Time PCR Method)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra TURANOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Erzurum

Haziran, 2022

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Erzurum Piyasasından Toplanan Kıyma Örneklerindeki Bazı Patojenik Bakterilerin Real Time PCR ile Tespiti

Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında, Büşra TURANOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma, 27/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** / ~~**oy çokluğu**~~ (3./3) ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Doç.Dr. Serkan ÖRTÜCÜ *Erzurum Teknik Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır.
Danışman:	Prof.Dr.Ahmet ADIGÜZEL *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır.
Jüri Üyesi:	Doç.Dr.Hakan ÖZKAN *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır.

Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve …… sayılı kararı.

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.

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında sunulan "**Erzurum Piyasasından Toplanan Kıyma Örneklerindeki Bazı Patojenik Bakterilerin Real-Time PCR Yöntemi İle Tespiti**" 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	*2*	**30**
Kuramsal Temeller	*6*	**30**
Materyal ve Metot	*13*	**35**
Araştırma Bulguları ve Tartışma	*4*	**20**
Sonuçlar ve Öneriler	*3*	**20**
Tezin Geneli	*10*	**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.*

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**
Büşra TURANOĞLU	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL
28.6.2022	**28.6.2022**
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.

Not: Bu form, Tezin son şekline uygun olarak bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tezin sonuna eklenmelidir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlanmasındaki yardımlarının yanı sıra Yüksek Lisans eğitimim boyunca desteğini her daim hissettiren, gerek günlük hayatımda ve gerekse de mesleki hayatımda faydalanabileceğim önerilerini, bilgilerini ve deneyimlerini benimle her zaman paylaşan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e en içten sevgi ve saygılarımla teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında, karşılaştığım sorunlarda yardımını talep edebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini hiçbir zaman esirgemeden bana zaman ayırıp ilgiyle değerli bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan Sayın Arş. Gör. Mustafa Özkan BALTACI'ya,

Hem lisans hemde yüksek lisans eğitimim boyunca kıymetli tecrübeleri, güler yüzleri, cesaretlendirici sözleri ile motive eden ve her konuda samimi bir şekilde yardım etmeye çalışan Atatürk Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Araştırma Laboratuvarındaki tüm saygıdeğer hocalarıma,

Yüksek lisans eğitimim boyunca aynı laboratuvarda çalıştığım, yardımlaştığım, en içten duyguları paylaştığım ve birlikte güzel anılar biriktirdiğim tüm arkadaşlarıma,

Birlikte gülmekten çok keyif aldığım, kendim olmaktan çekinmediğim, beni her koşulda destekledikleri ve yardımcı olmaya çalıştıktıkları için minnettar olduğum, en önemlisi de arkadaştan çok kardeş olduğum canlarım, biriciklerim Ayşe Nurseli SULUMER, Medine Sibel KARAĞAÇ, Neslihan ÖZTÜRK başta olmak üzere diğer tüm dostlarıma,

Yalnızca eğitim hayatım süresince değil tüm hayatım boyunca bana inanan, beni cesaretlendiren, bana güç veren, her daim arkamda olan, gülmem için her zaman sebepler yaratan, maddi- manevi her türlü desteği sağlayan, biricik annem Elif TURANOĞLU ile canım babam Murat TURANOĞLU'na,

Gurur kaynaklarım, bitanelerim, kardeşlerim İdris TURANOĞLU, Ayşe Dila TURANOĞLU, Havvanur TURANOĞLU'na ve bütün aileme sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Büşra TURANOĞLU

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZURUM PİYASASINDAN TOPLANAN KIYMA ÖRNEKLERİNDEKİ BAZI PATOJENİK BAKTERİLERİN REAL TİME PCR YÖNTEMİ İLE TESPİTİ

Büşra TURANOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Amaç: Et; protein bakımından oldukça zengin olması ve bünyesinde bulundurduğu yeterli su aktivitesi gibi özellikleri sayesinde gıda kaynaklı patojenlerin üremeleri için gerekli olan ortamı sağlamaktadır. Bu tez çalışmasında, Erzurum ili merkez ilçelerinde bulunan farklı kasap ve marketlerden temin edilen 100 adet kıyma örneğinde *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp. patojen bakterilerinin, Real-Time PCR ile ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan hızlı, güvenilir ve kolay bir şekilde tespiti amaçlanmıştır.

Yöntem: Erzuruma bağlı ilçelerdeki kasap ve marketlerden temin edilen 100 adet kıyma örneği aseptik koşullar altında laboratuvara getirilmiştir. Daha sonra getirilen bu örneklerde DNA izolasyonu yapılmadan Real-Time PCR yöntemi kullanılarak, aynı örnekte hem *Listeria monocytogenes* hem de *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp. patojenlerinin varlığı ve miktarı belirlenmiştir.

Bulgular: Standart patojen bakterilerin C_t değerlerine ait lineer-regresyon grafikleri çizilmiştir. Real-Time PCR analizi sonucu elde edilen kıyma örneklerinin C_t değerleri, standart grafiklerin doğru denklemlerinde yerine konularak, örneklerdeki patojen bakteri miktarları belirlenmiştir. Toplanan 100 adet kıyma örneğinin %45'inde *Listeria monocytogenes*, %30'unda *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve %29'unda *Salmonella* spp. patojenlerinin olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Patojen bakterileri tespit etmek için kullanılan Real-Time PCR metodunun, geleneksel yöntemlere göre daha spesifik, hızlı ve güvenilir olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan da daha az maliyet, daha kısa zaman ve en aza indirilmiş iş yükü ile gıdalar üzerinde gelişen patojen bakterilerin hassas bir şekilde tespit edilebileceği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: kıyma, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Salmonella* spp., Real-Time PCR

Haziran 2022, 58 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

DETERMİNATİON OF SOME PATHOGENIC BACTERIA IN BEEF SAMPLES COLLECTED FROM ERZURUM MARKET BY REAL TIME PCR METHOD

Büşra TURANOĞLU

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Purpose: Meat provides the necessary environment for the growing of foodborne pathogens thanks to its features such as being quite rich in terms of protein and sufficient water activity it contains. In this thesis study, determination of pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and *Salmonella* spp. was aimed by Real-Time PCR without pre-enrichment and DNA isolation in a fast, reliable and easy way.

Method: 100 minced meat samples obtained from butchers and markets in districts of Erzurum province were brought to the laboratory under aseptic conditions. In these samples, existence and amount of pathogens of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and *Salmonella* spp. were simultaneously determined by Real-Time PCR method without DNA isolation.

Findings: Linear regression graphs of C_t values of standard pathogenic bacteria were created. The C_t values of minced meat samples obtained as a result of Real-Time PCR analysis were substituted in the straight lines of the standard graphics and the amounts of pathogenic bacteria in the samples were detected. The presence of *Listeria monocytogenes* at 45%, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 at 30% and *Salmonella* spp. pathogens at 29% of the collected 100 minced meat samples was determined.

Results: Real-Time PCR method used to detect pathogenic bacteria was found to be more specific, fast and reliable than conventional methods. In addition, it was observed that pathogenic bacteria growing on foods can be detected sensitively with less cost, shorter amount of time and minimized workload without pre-enrichment and DNA isolation.

Keywords: beef, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Salmonella* spp., Real-Time PCR

June 2022, 58 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU ii
TEŞEKKÜR iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR DİZİNİ viii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ x
GİRİŞ 1
KURAMSAL TEMELLER 3
Mikrobiyal Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler 3
Et ve Et Ürünlerindeki Gıda Kaynaklı Patojenler 5
Listeria monocytogenes 8
Genel özellikleri 8
Listeria monocytogenes kaynaklı hastalıklar 9
Listeria monocytogenes'in et ve et ürünlerindeki varlığı 10
Escherichia coli O_{157}:H_7 12
Genel özellikleri 12
Escherichia coli O_{157}:H_7 kaynaklı hastalıklar 13
Escherichia coli O_{157}:H_7'nin et ve et ürünlerindeki varlığı 14
Salmonella spp. 15
Genel özellikleri 15
Salmonella spp. kaynaklı hastalıklar 16
Salmonella spp.'nin et ve et ürünleindeki varlığı 16
Patojen Bakterilerin Tespit Yöntemleri 17
MATERYAL VE METOT 20
Materyal 20
Tez çalışmasında sırasında kullanılan çözelti ve besiyerlerin hazırlanışı 21
Yöntem 22
Kıyma örneklerinin toplanması 22
Kıyma örneklerinin homojenize edilmesi 22
Real-Time PCR İŞLEMİ 22
Standart bakterilerin eldesi ve üretilmesi 23

Kıyma örneklerinde patojen bakterilerin kantitatif analizi 24
ARAŞTIRMA BULGULARI 25
Real-Time PCR 25
Standart patojen bakterilerin lineer-regresyon analizleri 25
Kıyma örneklerlerinde bulunan patojen bakterilerin miktar analizi 26
TARTIŞMA 29
SONUÇLAR VE ÖNERİLER 33
KAYNAKÇA 35
ÖZGEÇMİŞ 45

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Bakteriyel Gıda Kaynaklı Hastalıkların Etkeni Olan Bazı Patojenler.....4
Tablo 2. Et ve Et Ürünlerini Kontamine Eden Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler. 6
Tablo 3. Türk Gıda Kodeksinde Et Ürünleri İçin Bildirilen Mikrobiyolojik Standartlar. 7
Tablo 4. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar 20
Tablo 5. Tez Çalışmasında Kullanılan Besiyeri, Kit ve Kimyasallar 21
Tablo 6. Tespit Edilecek Patojen Bakterilere Ait Spesifik Primer Dizileri 22
Tablo 7. Real-Time PCR Programı.....23
Tablo 8. Sonbaharda Toplanan Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları 26
Tablo 9. Kış Ayında Toplanan Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları 27
Tablo 10. İlkbahar Ayındaki Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları 27
Tablo 11. Yaz Ayındaki Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları 28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. *Listeria monocytogenes*'in C_t değerlerine ait standart grafiği 25
Şekil 2. *Escherichia coli* O_{157}:H_7'nin C_t değerlerine ait standart grafiği..... 25
Şekil 3. *Salmonella Typhimurium*'un C_t değerlerine ait standart grafiği 26

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	**:** Yüzde
°C	**:** Santigrad derece
AB	**:** Avrupa Birliği
ABD	**:** Amerika Birleşik Devletleri
AKS	**:** Aerobik koloni sayısı
ATCC	**:** Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
CDC	**:** Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
C_t	**:** Eşik Döngü Değeri
DAEC	**:** Diffüz Agregatif *Escherichia coli*
dH_2O	**:** Deiyonize su
dk	**:** Dakika
DNA	**:** Deoksiribo Nükleik Asit
dsDNA	**:** Çift Zincirli Deoksiribo Nükleik Asit
EAEC	**:** EnteroAggreatif *Escherichia coli*
ECDC	**:** Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EFSA	**:** Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EHEC	**:** EnteroHemorajik *Escherichia coli*
EIEC	**:** Enteroİnvazif *Escherichia coli*
EPEC	**:** EnteroPatojenik *Escherichia coli*
EtBr	**:** Etidyum Bromür
ETEC	**:** EnteroToksijenik *Escherichia coli*
ExPEC	**:** Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*
FAO	**:** Gıda ve Tarım Örgütü
FREG	**:**Gıda Kaynaklı Hastalık Yükü Epidemiyolojisi Referans Grubu
Gr	**:**Gram
HUS	**:** Hemolitik Üremik Sendrom
InPEC	**:** Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*
ISO	**:** Uluslararası Standardizasyon Örgütü
Kg	**:** Kilogram
MAP	**:** Modifiye Atmosferde Paketlenmiş
ml	**:** Mililitre
NaCl	**:** Sodyum Klorid
nm	**:** Nanometre

OECD **:** Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü

PCR **:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PFGE **:** Darbe Alan Jel Elektroforez

pH **:** Hidrojen Gücü

qPCR/RT PCR **:** Real-Time PCR

RNA **:** Ribonükleik Asid

rRNA : Ribozomal RNA

RTE **:** Tüketime Hazır Olan Etler

spp. **:** Türler

STEC **:** Shiga-Toksin *Escherichia coli*

TSA **:** Trytic Soy Agar

TSB **:** Trytic Soy Broth

TTP **:** Tromtopik Trombositopenik Purpura

WHO **:** Dünya Sağlık Örgütü

µm **:** Mikrometre

GİRİŞ

Mikrobiyal gıda kaynaklı patojenler her yıl milyonlarca insanın hastalanmasına neden olmaktadır. Bu duruma bağlı olarak da ortaya çıkan hastalıklar hem büyük halk sağlığı sorunlarına sebebiyet vermekte, hem de ekonomik açıdan ülkeleri zorlamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine bakıldığı zaman her yıl ortalama 600 milyon (%7,69) kişide gıda kaynaklı bir hastalık teşhis edilmekte ve bunlardan 420.000'i (%7,5) ölüm ile sonuçlanmaktadır (Lee and Yoon 2021).

İçtiğimiz suda dâhil olmak üzere tükettiğimiz birçok besin vasıtasıyla bulaşabilen ve ortalama 250'den fazla hastalığa sebep olan çok sayıda mikroorganizmanın varlığı bilinmekle birlikte, ciddi hastalıklara sebep olmalarından ve yüksek vaka sayılarından dolayı *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. , *Escherichia coli* O_{157}:H_7 önemli patojenler arasında yer almaktadır (Li *et al.* 2020).

Listeria monocytogenes, hastaneye yatış oranı en yüksek olan (%91) ve insan yaşamını tehdit eden ciddi bir hastalığa sebebiyet vermektedir (Buchanan *et al.* 2017). Günlük tükettiğimiz yiyecekler (peynir, süt, et vb. hazır gıdalar) ile insanlara bulaşabilen bu gıda kaynaklı hastalık, Listeriozis olarak adlandırılmaktadır (Raheem 2016). Hastalığa karşı en savunmasız grup ise; hamile kadınlar, yaşlılar, yeni doğanlar ve bağışıklıkları baskılanmış bireylerdir (Gasanov *et al.* 2005). Shiga toksini üreten *Escherichia coli* O_{157}:H_7, insanlar üzerinde ölümcül etkiye sahip olmasının yanı sıra toplum sağlığı bakımından büyük bir tehlike oluşturarak, dünya üzerinde gıdalar ile enfeksiyona yol açan patojen mikroorganizmalar arasında önemli bir role sahiptir (Karmali *et al.* 2010). *Salmonella* spp.'nin birincil kaynağı hayvanlardır ve dünya genelinde ishal ve gastroenterit hastalıkları ile insan ölümlerinin önde gelen üçüncü etmeni arasında yer almaktadır. (Ferrari *et al.* 2019).

Gıda kaynaklı bu patojenlerin bulaştığı ortak besinler; sığır, domuz eti ve kümes hayvanlarına ait çiğ et ürünleridir. Tükettiğimiz gıdalara bulaşan bu patojenler önemli enfeksiyonlara sebebiyet vermekle birlikte, eş zamanlı olarak gıda kaynaklı salgınlara da yol açarlar. Dünyada birçok ülke bu patojen mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklardan muzdarip olmuş, yapılan çalışmalarda da gıdanın güvenli bir şekilde tüketiciye ulaşması problemi henüz tam anlamıyla çözülememiştir (Baer-Nawrocka and Sadowski 2019).

Gıdalar üzerinde gelişen bu mikrobiyal kontaminasyonları daha iyi kontrol etmek ve bunun sonucu olarak da gıda kaynaklı salgınları azaltmak için, hızlı ve doğru olan patojen tespit yöntemleri ile besinlerdeki mikrobiyal patojenlerin tespiti gerekmektedir.

Tanıda kullanılan Geleneksel Yöntemler; mikrobiyolojik, biyokimyasal ve immünolojik metodlardan oluşmaktadır. Ancak bu yöntemler, fazla zaman alması, zahmetli olması ve test sürecinin birkaç gün sürmesi nedeniyle olumsuzluklar içermektedir. Bundan dolayı da, çok sayıda gıda örneğindeki bulunması muhtemel patojen bakterilerin geleneksel yöntemlerle araştırılması pratik değildir (Abubakar *et al.* 2007). Son zamanlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, geleneksel tanı yöntemlerinin yerine daha kolay, güvenilir ve aynı zamanda kısa sürede tanıya imkân sağlayan Real-Time PCR (RT-PCR)'ın kullanılmaya başlandığı gözlemlenmektedir. Bu yöntemde örneklerde ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu gerçekleştirildiğinden, ekstra maliyet ve iş yüküne ihtiyaç duyulmaktadır.

Tez çalışamamızda; Ülkemizde de sıkça tükettiğimiz kıyma etinde bulunan ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyerek gıda salgınlarına sebep olan patojen bakterilerin, Real-Time PCR ile daha hızlı, güvenilir ve kolay bir şekilde tespiti amaçlanmaktadır. Bunun içinde Erzurum ili merkez ilçelerindeki farklı kasap ve marketlerden toplanan örneklerde ki patojen bakterilerin varlığı ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu gerçekleştirilmeden Real-Time PCR ile tespit edilmeye çalışılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Mikrobiyal Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler

Beslenme, yaşam faktörlerinin yanı sıra bireyin ve toplumun sağlık durumunun önemli bir belirleyicisi olarak rol oynamaktadır (Castell *et al.* 2015). Bu nedenle toplumların beslenme şekillerine ilaveten, tükettikleri gıdalar ve bu gıdaların hijyenitesi de büyük önem taşımaktadır.

Tükettiğimiz gıdaların sağlığımızı etkilediği düşüncesi ile birçok araştırma yapılmış ve bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda, sağlığımızı olumlu ya da olumsuz yönde etkileyen kritik belirteçler ortaya konulmuştur. (Reddy *et al.* 2018). İnsan vücudunda üreyebilen ve hastalık oluşturan mikroorganizmaların besinler üzerinde de geliştiği bilgisi dikkate alındığında, besinin hijyenitesi kritik belirteçler arasında oldukça önemli bir yere sahiptir (Wadhwa *et al.* 2008). Önemli halk sağlığı problemleri arasında, çiğ besinlerden işlenmiş ürün hazırlama ve araç-gereçlere (bıçak, tahta, vs.) kadar olan süreçteki genel hijyen kurallarına uyulmamasına bağlı olarak ortaya çıkan patojen kontaminasyonları başta gelmektedir.

ABD'nin Hastalık Kontol ve Önleme Merkezlerine (CDC) göre, gıda kaynaklı hastalıkların en önemli nedeni (%97'sinin); genel hijyen koşullarına uyulmamasıdır (Müller and Rozgonyi 2020). Bu da, patojen bakterilerin, virüslerin, mantarların ve parazitler gibi çeşitli mikroorganizmaların besinleri kontamine etmesine sebep olmaktadır (V.Tauxe 2002). Kontaminantlardan bir kısmı gıdalarda herhangi bir olumsuzluğa neden olmazken, birçoğu ise bozulmalara ve önemli gıda kaynaklı hastalıklara yol açmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklara neden olan bu patojen bakteriler, özellikle en yüksek hastaneye yatış ve ölüm oranlarından (%64) sorumludurlar (Kalyoussef and Feja 2014). Bu hastalıkları en şiddetli şekilde geçirenler ise bebekler, yaşlılar, hamile kadınlar, bağışıklıkları baskılanmış veya düşük bağışıklığa sahip bireylerdir (Priyanka *et al.* 2016).

Gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan birçok bakterinin varlığı bilinmekte ve en sık rastlanılanları, *Campylobacter* spp. , *Lacillus aureus*, *Clostridium* spp. , *Shigella* spp. , *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* spp. , *Brucella* spp. , *Aeromonas* spp. , *Bacillus aureus, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp.'dır (Swartz 2002).

Bu patojenler, insan vücudunda bulunan konak savunma faktörlerini (tükürük, bağırsakta ki mukoza tabakası ve mide asidi) elemine etmek ve vücuttaki diğer konakçı hücreleri ele geçirmek için farklı yöntemler geliştirmişlerdir (Bianchi and Bogaart 2021).

Geliştirdikleri bu mekanizmalar sayesinde bazı mezofilik bakteriyel patojenler (*Bacillus subtilus*), spor oluşturma yetenekleri elde ederek ısıya daha dayanıklı hâle gelirken, bir kısmı da optimum üreme sıcaklığı 20°C ile 30°C arasında olan ancak -10°C 'ye kadar da üreme yeteneğine sahip olan psikrofilik (*Listeria monocytogenes*) bakteriler olarak yeni özellikler kazanırlar (Bintsis 2017). Edindikleri bu özellikler sayesinde de bulaştıkları gıdalarda hayatta kalmayı başarabilmiş, bunun sonucu olarak da bu gıdaların tüketimi ile insanlarda, ciddi hastalıklara/önemli salgınlara sebep olmuşlardır. Bakteriyel gıda kaynaklı hastalıkların etkeni olan bazı patojenler ve bu patojenlerin sebep olduğu semptomlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bakteriyel Gıda Kaynaklı Hastalıkların Etkeni Olan Bazı Patojenler (Bintsis 2017)

Etken	Önemli Semptomlar	İnkübasyon Süreleri
Clostridium perfringens	Halsizlik, baş ağrıları, ateşlenme, eklemlerde ağrı ve diğer semptomlar	2-36 saat (çoğunlukla 2-16 saat arasında)
Listeria monocytogenes *Campylobacter jejuni*	Halsizlik, baş ağrıları, ateşlenme, eklemlerde ağrı ve diğer semptomlar	10-13 günleri arasında değişkenlik göstermek de
Salmonella spp. , *Shigella* spp. *Escherichia coli*	Baş ağrısı, kusma, ateşlenme ve karın bölgesinde kramp	6-96 saat (sıklıkla 1-3 gün arasında gerçekleşir)
Salmonella typhi	Kırmızı lekeler, kanlı ishal, halsizlik, öksürük, ateş vs.	7-28 gün arası
Enterohemorajik *E.coli* (EHEC), *Campylobacter* spp.	Karın ağrısı, ateş, genellikle kanlı olan ishal (*E.coli* O_{157}:H_7 için yaygın olmayan)	1-10 gün arası (ortalama 3-4 günde görülür)
Toksoplazma gondii	Kas ağrısı (miyalji), baş ağrısı, ateşlenme ve vücutta döküntü	10-13 gün arası
Bacillus cereus (kusturan toksin)	Karında kramplar, mide bulantıları, kusrutan toksine bağlı olarak ishal ve kusma	8-16 saat (kusma fazla ise 2-4 saat)

Yılda ortalama 56.000 kişinin hastaneye yatışından sorumlu 31 ana patojenin olduğu tahmin edilmektedir (DO and Kristina N.Feja MD. 2014). CDC bildirilerine göre de, ABD'de gıda kaynaklı hastalıklardan her yıl ortalama 71.878 kişinin hastaneye yattığı ve bu vakalardan 1.686'sının da öldüğü ileri sürülmüştür (Minor *et al.* 2015). 2015 yılı raporlarına göre de, Avrupa Birliği (AB)'ne bağlı 26 ülkede 4.362 gıda kaynaklı hastalık vakası bildirilmiş ayrıca bu salgınlar, toplamda 45.874 vakadan 3.892'inin hastaneye yatmasına ve yatan hastaların da 17'sinin ölmesine sebep olmuştur (EFSA and ECDC 2016).

Gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan bu bakteriyel patojenlerin büyük bir çoğunluğu, gastroenterit (mide ve bağırsak) hastalıklara neden olurlar. WHO'nun raporlarında, dünya

genelinde her yıl ortalama 3 kişiden 1'inin gıda kaynaklı gastoenterit hastalıklarına yakalandığı, hatta dünya da her yıl ortalama 2.2 milyon kişinin bu sebeple öldüğü bildirilmiştir (Vongkamjan and Wiedmann 2015). Bakıldığı zaman bu mikrobiyal gıda kaynaklı ortaya çıkan hastalıklar, sadece gelişmekte olan ülkeler için değil gelişmiş ülkeler içinde önem arz etmektedir (Abebe *et al.* 2020).

Et ve Et Ürünlerindeki Gıda Kaynaklı Patojenler

2010 yılında AB salgınlarının raporlarına göre, kümes hayvanları, koyun, kuzu, sığır gibi hayvan etleri, özellikle de kıyma gibi çiğ et ve taze çiğ et ürünleri mikrobiyal gıda kaynaklı patojenlerin kontamine ettiği gıda ürünleri arasında yer almaktadır (Buncic *et al.* 2014). Önemli gıdalar arasında yer alan et; yiyebildiğimiz hayvansal dokuların hepsini kapsar ve gerek bünyesinde bulundurduğu önemli proteinler, gerekse de iştah açan bir görüntüye sahip olmasıyla da, ülkemizde dâhil tüm dünyada tüketilen başlıca gıdalar arasında yer alır. Et çeşitleri arasında da kuzu, koyun, sığır ve dana gibi hayvanlardan elde edilen kırmızı etler, en fazla tüketilen etler olarak gösterilebilir.

Kümes hayvanları dünyadaki et tüketiminin %30'unu oluştururken, çiğ dana eti ise %25'ini oluşturmak da, bununla birlikte sığır etini en fazla tüketen ülke ABD olup, sırasıyla Brezilya, Çin ve Avrupa Birliği, ABD'yi izlemektedir (Hussain *et al.* 2020). Kırmızı etin tüketim miktarları da ülkelere bağlı olarak %5 ile %100 arasında değişmekte ve kişi başına günlük tüketim miktarı 50 gr-100 gr arasında olup, maksimum tüketim miktarı ise kişi başına 200 gr'ın üzerindedir (Wolk 2017). FAO (Gıda Tarım Örgütü)'nun 2015 yılı verilerinde ABD ve Türkiye'deki kırmızı et miktarı karşılaştırılmış, ABD'deki yıllık kişi başına düşen et miktarının 80,7 kg olduğu, Türkiye'de ise bu miktarın 18,6 kg olduğu ortaya konulmuştur (Doğan 2019). FAO ve OECD (Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü)'nin ortak hazırladığı 2020 raporunda da, dünya genelinde 2011-2020 yılları arasında et tüketimindeki artış miktarı %1,43 olarak hesaplanırken, 2021-2030 yılları arasında ise bu artış oranının %1,17 olacağı belirtilmiştir (FAO 2021). İstatistiksel olarak ortaya koyulan bu verilerde, dünya genelinde et tüketimi artış hızında bir azalmaya doğru gidildiği gözlemlenmektedir.

Etin kesimi ve parçalanması sırasında, işlemin gerçekleştiği ortam koşulları, işlemi gerçekleştiren kişi, kullanılan araç ve gereçler dâhil olmak üzere birçok olgu kontaminasyon riskini arttırır. Bununla birlikte etinde, proteince zengin olması ve bünyesinde su bulundurması, patojenlerin hayatta kalmasına ve kendilerini çoğaltacak enerjiyi bulmalarına sebep olur (Osemwowa *et al.* 2021). Bu kontaminasyon süreci etin kıyma hâline dönüşümünde de devam eder ve bu esnada yüzey alanı arttığından, patojenlerin kıymanın her yerine dağılmalarıda olası bir durum hâline gelir (Atasever ve Atasever 2014). Kademeli olarak gelişen bu hijyen

sorunlarının yol açtığı kontaminasyonlar ise bahsedildiği gibi gıda kaynaklı salgınlara yol açmakta, hatta salgınların büyük bir çoğunluğu da ölüm ile sonuçlanmaktadır. Et ve et ürünlerini kontamine eden gıda kaynaklı patojen bakteriler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Et ve Et Ürünlerini Kontamine Eden Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler (Li *et al.* 2020).

Et ve Et Ürünleri	Kontamine Eden Patojen Bakteriler
Sığır eti (kıyma)	*Salmonella*, STEC (Shiga toksin-*Escherichia coli*), *Listeria monocytogenes*
Kümes Hayvanları	*Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Listeria*, *S. aureus*
Domuz eti	*Campylobacter coli*, *C. jejuni*, *Salmonella*, *Listeria*
Fermente olmuş ve Kurutulmuş etler	STEC, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*
Tüketime hazır olan etler (RTE)	*Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Bacillus*
Diğer etler	*Listeria*, STEC, *Salmonella*, *C. perfringens*

Et ve et ürünlerinin bozulmasını sebep olan *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Lactobacillus sakei* ve *Pseudomonas* gibi bakteriler, etlerin protein ya da lipidlerine bağlanarak onları bozar, böylece renk bozulmalarına, kötü koku ve tatlara, ayrıca pH değerlerinde değişikliklere sebep olmaktadırlar (Jayasena and Jo 2013). Ayrıca *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogene*s, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella enterica* gibi bakterilerde et ve et ürünlerinde ortaya çıkan en yaygın patojenlerdir (Pateiro *et al.* 2021). Genellikle et üzerinde gözle görülebilecek herhangi bir değişiklik meydana getirmedikleri içinde, insanlar bu patojenlere maruz kalmış ürünleri rahatlıkla tüketmektedir ve bunun sonucu olarak da bu ürünler insanlarda ölümle sonuçlanabilecek ciddi enfeksiyöz hastalıklara neden olmaktadır.

Birçok et türünde bulunan bu patojenlerden *Salmonella enterica* ve *Campylobacter* genellikle hindi ve tavuk etlerinde gözlemlenirken, *Listeria monocytogenes* ise çoğunlukla bazı işlemlere tabi tutulmuş ve pişirilmiş yemeğe hazır olan etlerde bulunur (Gômez *et al.* 2015; Chai *et al.* 2017). Shiga-toksin *Escherichia coli* (STEC) de, özellikle kıyma olmak üzere, sığır etlerinde en fazla tespit edilmiş patojen bir bakteridir (Frenzen *et al.* 2005).

Inoue *et al.* 2000 yılında Japonya'da yapmış oldukları çalışmada, 34 adet domuz kıyma örneğinin %20,6'sında (7 adet), 41 adet sığır kıyma örneğinin %12,2'inde (5 adet) ve 16 adet domuz-sığır karışımı kıyma örneğinin %25'inde (4 adet) *Listeria monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Chinen *et al.* (2001), Arjantin'de 279 et ve et ürünleri üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, 30 kuru sosisin %3,3'ünde (1 adet), 83 taze sosisin %4,8'inde (4 adet) ve 160 kıyma örneğinin %3,8'inde (6 adet) *Escherichia coli* O_{157}:H_7 patojeni olduğunu rapor etmişlerdir.

Gökmen ve ark. (2003), Van'da bulunan kasap ve marketlerden topladıkları 100 adet sığır ve 100 adet koyun eti örneği üzerinde yapmış oldukları çalışmalar sonucunda, örneklerin %3'ünde *Salmonella* spp., %7'sinde *Bacillus cereus*, %15'inde *Clostridium perfringens* ve %22'sinde ise *Listeria monocytogenes*'in varlığını gözlemlemişlerdir.

2014 yılında Khen *et al.* İrlanda bölgesinde sığır derileri, karkaslar ve kıyma olmak üzere toplam 900 örnek üzerinde 2 yıl boyunca yapmış oldukları çalışmalar sonucunda, 100 kıyma örneğinde %3 oranında *Salmonella braenderup*; 400 sığır derisi örneğinde %0,75, 400 karkaslar örneğinde ise %0,25 oranında *Salmonella dublin* olduğunu bildirmişlerdir.

Kahramanmaraş'daki mezbalardan toplanan 40 sığır, 41 koyun ve 30 tavuk eti numunelerinde RT-PCR metodu kullanılarak, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus feacelis, Staphylococcus aureus* patojenleri sırasıyla %79, %86, %94 oranında tespit edilirken, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella enterica* ise sırasıyla %90 ve %91 oranlarında belirlenmiştir (Akyol 2018).

Santos *et al.* (2020), Filipinlerdeki Metro Malina'daki pazarlardan topladıkları 720 perakende et numunelerinin %57,64'ünde *Salmonella* patojeni bulduğunu bildirmişlerdir.

Siriken ve ark. (2020), Samsun'undan topladığı 50 dana kıyma ve 50 köfte örneğinde *Salmonella enteritidis* ve *Typhimurium* prevalansını ve antibiyotik direncini araştırmışlar; 8 köfte (%16) ve 12 dana kıyma (%24) olmak üzere toplam 20 numunede *Salmonella* spp., 6 köfte ve 6 dana kıymada %12 oranında S. *enteritidis*, 1 köfte ve 2 dana kıymada ise %3 oranında *S. Typhimurium* tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bunlar göz önüne alındığında en çok et ve et ürünlerinde gözlemlenen, dünya genelinde de birçok gıda kaynaklı ciddi hastalıklara sebep olan bakteriyel patojenler için, bazı kurumlar tarafından temel kriterler belirlemiştir. Türk Gıda Mevzuatı'na göre kıyma ile ilgili ilân edilen mikrobiyolojik kriterlerde Tablo 3'de belirtilmiştir.

Tablo 3. Türk Gıda Kodeksinde Et Ürünleri İçin Bildirilen Mikrobiyolojik Standartlar (Türk Gıda Mevzuatı 2010).

Mikroorganizma adı	**n**	**c**	**m**	**M**
Listeria monocytogenes	5	0	0/25 g-ml	
Staphylococcus aureus(1)	5	2	10^3	10^4
Salmonella spp.	5	0	0/25 g-ml	
AKS	5	2	5×10^5	5×10^6
Escherichia coli O_{157}:H_7	5	0	0/25 g-ml	

AKS : Aerobik koloni sayısı

([1]) : Koagülaz pozitif stafilokoklar

n : deney numune sayısı

c : m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı

m : (n-c) sayısındaki deney numunesinin 1 gr'da kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

M : c sayısındaki deney numunesinin 1 gr'da kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

Et ve et ürünlerindeki mikrobiyolojik kriterler içerisinde yer alan *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *Escherichia coli* O_{157}:H_7'nin gıdalar vasıtasıyla insanlara bulaşı sonucunda ciddi enfeksiyonlar, hatta çok sayıda ölüm meydana gelmektedir. Bu durum insanların ilgisini çekmiş ve konuyla ilgili birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Listeria monocytogenes

Genel özellikleri

Gram pozitif, spor oluşturmayan basiller ile birlikte sınıflandırılan *Listeria* cinsi üyeleri, fakültatif anaerob ya da aerob olup katalaz pozitif ve oksidaz negatiftirler (Jemmi and Stephan 2006). Uzunlukları 1 ile 2 µm, çapları yaklaşık 0,5 µm olan küçük çubuk şeklinde, 0 ile 45°C arasındaki sıcaklıklarda yaşayan, hareketli, pH değerleri 4,7-9,6 olan ve GC içeriği düşük olan bakterilerdir (Kurpas *et al.* 2018).

Listeria cinsinin; *Listeria monocytogenes, L. aquatica, L. booriae, L. cornellensis, L. cossartiae, L. costaricensis, L. farberi, L. fleischmannii, L. floridensis, L. goaensis, L. grandensis, L.grayi, L. immobilis, L. innocua, L. ivanovii, L. marhii, L. murrayi, L. newyorkensis, L. portnoyi, L. riparia, L. rocourtiae, L. rustica, L. seeligeri, L. thailandensis, L. volentina, L. weihenstephanensis ve L, welshimeri* olmak üzere 27 türü bulunmaktadır (Orsi and Wiedmann 2016; LPSN 2021). Bu türler arasından *L. monocytogenes* ve *L. innocua* bakterileri patojeniktir (Vâzquez-Boland *et al.* 2001). Bu iki patojen canlılarda ciddi enfeksiyonlar'a neden olurlar.

Listeria cinsi mikroorganizmaların ilk keşfi, 1891 yılında olsa da, resmi olarak 1926 yılında Birleşmiş Krallık'ta yaşayan Everitt George Dunne Murray tarafından tavşanlarda tanımlanmış ve mononükleer lökositoza neden olduğu tespit edilmiştir (Cerdâ and Cossart 2019). Tavşanlarda tanımlanan bu mikroorganizmaya ilk olarak *Bacterium monocytogenes* adı verilmiş, daha sonra 1940'lı yıllarda Pirie tarafından değiştirilerek *Listeria monocytogenes* olarak isimlendirilmiştir (Beumer and Hazeleger 2003). Böylece *L. monocytogenes*'in, *Bacilli*

sınıfının *Bacillales* takımı içerisinde *Listeriaceace* familyasına ait bir bakteri olduğu bildirilmiştir (Kocaman ve Sarımehmetoğlu 2018).

Ardından 1970'lerde insanlarda hastalığa neden olan enfeksiyöz bir ajan olduğu tespit edilmiş ve 1980'lerde de gıdalardan bulaşabilen bir patojen olduğu anlaşılmıştır (Radoshevich and Cossart 2018). Ayrıca %89,2 oranında kodlama bölgeleri ile dizilemesi ilk yapılan suş olan *L.monocytogenes*'in genomunun, ortalama %38'lik G+C (guanin-sitozin) içeriği ve 2853 protein kodlama dizisi olmak üzere toplamda 2.944.528 baz çifti uzunluğuna sahip olduğu saptanmıştır (Glaser *et al.* 2001).

Yapılan ilk epidemiyolojik araştırmaların veri sonuçlarına göre *L. monocyotgenes* için 3 evrimsel soy tanımlanmıştır (Lomonace *et al.* 2015). Soy I, 1/2b,3b, 4b, 4d, 4e serotiplerine; Soy II, 1/2a, 1/2c, 3a, 3c serotiplerine; Soy III ise 4a, 4b, 4c serotiplerine sahiptir (Orsi *et al.* 2011). Daha detaylı araştırmalar sonucunda Soy III'e ait izolatların 3 farklı alt tipe (IIIA, IIIB, IIIC) sahip olduğu ortaya konulmuş ve alt tiplerden biri olan Soy IIIB'nin filogenetik olarak bazı farklılıklar göstermesinden dolayı Soy IV (4a, 4b, 4c) olarak yeniden adlandırılmıştır (Lomonaco *et al.* 2015). Böylece *L. monocytogenes* 13 serotipe sahip 4 evrimsel soya ayrılmıştır (Duze *et al.* 2021). Bu 13 serotipin insan salgınları ile ilişkisi olmasına rağmen, salgınların çoğunluğu 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b serotipleri ile ilişkilidir (Montero *et al.* 2015).

Birçok koşula karşı (düşük sıcaklıklar, farklı tuz konsantrasyonları ve pH değerleri vs.) hayatta kalmayı başarabilen *L. monocytogenes*'in toprakta, suda, hayvanlarda, nemli ortamlarda ve buzdolabı sıcaklıklarında üreme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiş olup, bu ortamlardan izole edilebildiği gibi sığır, dana, tavuk gibi et ve et ürünlerinden, taze sebze ve meyvelerden, süt ve süt ürünleri gibi gıdalar ile bu gıdaların hazırlandığı ortamlardan da izole edilebildiği tespit edilmiştir (B.Gudbjörnsdôttir *et al.* 2004).

Listeria monocytogenes kaynaklı hastalıklar

Hastaneye yatış oranı (%91) en yüksek olan bu patojen mikroorganizma insan yaşamını tehdit eden ciddi bir hastalığa da sebebiyet vermektedir (Jemmi and Stephan 2006). Birkaç *Listeria* türüde dâhil olmak üzere, genelde *Listeria monocytogenes* ile kontamine olmuş, günlük tükettiğimiz yiyecekler (peynir, süt, et vb. hazır gıdalar) ile insanlara bulaşan bu gıda kaynaklı hastalık Listeriozis olarak adlandırılmaktadır (Allerberger and Wagnerb 2010). Çoğunlukla insanlarda ve geviş getiren hayvanlarda görülsede tavşanlar, kümes hayvanları gibi diğer türlerde de çok nadir olarak rapor edilmiştir (Luque-Sastre *et al.* 2018).

Yüksek ölüm oranına sahip olan (%20-%30) bu hastalık, insanlarda ilk başta menenjit, septisemi (kan zehirlenmesi), ensefalit (beyin iltihabı), geç dönemlerde gerçekleşen beklenmedik düşük ve gastrointestinal enfeksiyon olarak ortaya çıkar (Nightingale *et al.* 2005).

Son 10 yıl içerisinde invaziv listeriozis salgınlarından farklı olarak daha kısa süren kuluçka süreleri, eklem, baş, vücut ağrısı, kusma ve ishal gibi semptomlar gösteren gastroenteritli listeriozis vakaları tespit edilmiştir (Swaminathan and Gerner-Smidt 2007).

Belçika'da yaşayan, bel ağrısı, sabit yüksek ateş ve karın bölgesinde meydana gelen kramp öyküsü ile hastaneye yatışı yapılan 73 yaşındaki erkek bir hastanın, yatışından kısa bir süre sonra hastalığının Listeriozis olduğu ve bu patojeni seyahati sırasında yediği Camembert peynirinden aldığı bildirilmiştir (Gilot *et al.* 1997).

Suudi Arabistan'da bir Üniversite Hastanesinde dünyaya gelmiş olan 3300 gr ağırlığındaki bir erkek bebekte 39°C'nin üzerinde yüksek ateş ve vücudunun belli bölgelerinde düzenli kasılmalar olduğu gözlemlenmiş ve yapılan testler ile kanında *L. monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir (Boukhari *et al.* 1999).

Yunanistan'da Listeriozis hastalığına sahip, biri 14 aylık olan erkek çocuğu ve diğeri Byler hastalığına sahip 3 yaşında kız çocuğu üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda bu hastalığın ateş, kusma, iştahsızlık ve uykusuzluk gibi semptomlar gösterdiği saptanmıştır (Economou *et al.* 2000).

Kronik lenfoid lösemi hastalığı bulunan 73 yaşındaki kadın bir hastaya da, 3 gün boyunca devam eden yüksek ateş, anorexi ve geçmeyen baş ağrısı şikâyetleri ile başvurduğu hastanede menenjit teşhisi konulmuş ve yapılan testler sonucunda hastalığının Listeriozis kaynaklı olduğu saptanmıştır (Frat *et al.* 2001).

Et ürünlerinin tüketimine bağlı olarak 2017-2018 yılları arasında toplamda 1.060 vaka bildirimi yapılan ve 216 kişinin ölümüne sebebiyet veren Güney Afrikadaki Listeriozis salgını ise, şu ana kadar ki rapor edilmiş en büyük mikrobiyal gıda kaynaklı salgındır (Chen *et al.* 2021).

***Listeria monocytogenes*'in et ve et ürünlerindeki varlığı**

Çoğunlukla et ve et ürünleri ile bulaşma gösteren bu hastalık, EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) ve ECDC (Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi) tarafından 2016-2018 yılları arasında yapılan çalışmalar sonucunda, 28 ülkede insanların tüketimine sunulan yemeye hazır et ve et ürünlerinde toplam *Listeria monocytogenes* oranını %1,4 olarak hesaplamışlardır (EFSA 2019). Ayrıca Amerika Birleşik Devletlerinde bulunan Hastalık

Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) 2012 yılında, 50 yaş üstü bireylerin (özellikle de 65 yaş üstü olanlar) gün içinde tükettikleri her türlü etden, buharda pişirilmedikleri sürece kaçınmaları gerektiğinin üzerinde durmuşlardır (Lopez-Valladares *et al.* 2018). 2008 yılından 2015 yılına kadar olan süre zarfında da bu patojenin neden olduğu gıda kaynaklı salgınların ortalama %30'unun, sığır ve domuz eti başta olmak üzere yemeye hazır hâle getirilmiş etlerin tüketiminin sebep olduğu söylenebilir (Demaitre *et al.* 2020).

Fantelli and Stephan (2001), İsviçre'de 211'i kıyılmış sığır eti, 189'u kıyılmış domuz eti olmak üzere toplam 400 kıyma örneğinin %10,75'inde (43 nunume) *Listeria monocytogenes*'in varlığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Marinsek *et al.* (2002), Slovenya'da topladıkları 44 adet kıyma örneğinin 3'ünde (%6,81), 23 adet fermente et ürünününde 1'in de (%4,34) *Listeria monocytogenes* saptamışlardır.

Mena *et al.* (2004), Portekiz'de gıda endüstrisinde tüketilen birçok gıda üzerinde bir tarama yapmış ve topladıkları 17 çiğ kırmızı et örneğinden %17,7 oranında (3 adet) *Listeria monocytogenes* patojenini izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Berktaş ve ark. (2006), Van'da yaptıkları çalışmada, 100 kıyma örneğinin 73'ünün ve 50 parça et örneğinin 37'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir.

Sancak ve ark. (2007), Van ilinde tüketilmek üzere satılan ambalajlanmamış ve vakumlu paketlenmiş toplam 120 adet sucuk, salam ve sosis üzerinde *Listeria monocytogenes* varlığını araştırmış, salam, sucuk, sosis de sırasıyla %20, %45, %45 oranlarında *Listeria* spp. olduğunu gözlemlemişlerdir.

Özkiraz ve Gücükoğlu (2018), yaptıkları bir çalışmada MAP (Modifiye Atmosferde Paketlenmiş) kıyma ve kuşbaşı dana eti örneklerinde *L. monocytogenes* varlığını araştırmışlar ve MAP kıyma örneklerinin 5'inde (%5/50-10) , kuşbaşı dana etinin ise 3'ünde (%3/50-6) *L. monocytogenes*'in pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Singh *et al.* (2019), Hindistan'da keçi ve koyun etinde sırasıyla %3,21 ve %1,82 oranında *Listeria monocytogenes* varlığını tespit etmişlerdir.

Yehia *et al.* (2020), 150 çiğ deve etinde *L. monocytogenes* varlığını PCR (Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu) yöntemi ile araştırmış ve 8 çiğ deve etinde (%16) sonucun pozitif olduğunu saptamışlardır.

***Escherichia coli* O_{157}:H_7**

Genel özellikleri

Gammaproteobacteria sınıfından *Enterobacteriaceae* ailesine mensup olan *Escherichia coli*, çubuk şeklinde, genişlikleri 1-2 µm uzunluğunda ve 0,1-0,5 µm çapında olan Gram negatif, mezofilik ve kommensal yaşam süren bir bakteridir (Jang *et al.* 2017). Sporsuz üreme yapabilen, fakültatif anaerofilik özelliklere sahip, hareket etmek için ise kamçı veya yüzeylere yapışabilecek pilileri bünyelerinde bulunduran bu bakteriler, 4°C ile 45°C arasındaki sıcaklıklarda büyürler ancak aşırı yüksek sıcaklarda veya pH'da çoğalamazlar (Sağlam ve Şeker 2016).

Escherichia coli, ilk kez Bakteriyolog ve Pediyatrist olan Alman Doktor Theodor Escherich tarafından bebeklerden alınan dışkılarda keşfedilmiş olup, *Bacterium coli commune* olarak adlandırılmış ancak daha sonraları bakteriye verilen bu isim değiştirilerek şu anki adını almıştır (Robins-Browne and Hartland 2002). Birincil yaşam alanları olarak kabul edilen gastrointestinal sistemlerde hastalık oluşturabildikleri anlaşılmış ve 1940'lı yıllarda bebeklerde gelişen infantil diyareye yol açtığı tanımlanmıştır (Chaudhuri and Henderson 2012). Bu bakteri üzerinde birçok çalışma gerçekleştirilmiş ve bakteri biyolojisinin daha iyi anlaşılması adına model organizma olarak da kullanılmıştır. Buna bağlı olarak da Santral Dogma (replikasyon, transkripsiyon, translasyon) ve genetik kodlama gibi alanlarda çalışılan ilk model organizma olmuştur (Tenaillon *et al.* 2010).

Özellikle insanların ve diğer memelilerin bağırsak mikrobiyomunun bir parçası olan *Escherichia coli* (mikrobiyomun %0,1 ila %0,5'ini oluşturur), nadir olarak balıklar ve sürüngenler gibi soğukkanlı hayvanlarında bağırsak mikrobiyomunda da bulunmaktadır (Leimbach *et al.* 2013). Bu bakteri insanlarda ise ilk olarak doğumun gerçekleşmesi ile birlikte geçen birkaç günlük süre zarfında yenidoğanın gaitasında gözlemlenmiş olup olay doğum sırasında anne adayının mikroflorasının yenidoğan ile karşı karşıya kalması sonucu, *E. coli*'nin yenidoğan bağırsaklarına kolonize olması şeklinde gerçekleşmektedir (Nowrouzian *et al.* 2003). Bağırsak mikroflorasında bulunan diğer mikroorgorganizmalar gibi *E. coli*'de belli aralıklarda, yaşamını sürdürdüğü canlıdan dışkı yolu ile dışarı atılır. Hayatta kalmasını sağlayacak gerekli ortamın bulunduğu yerden ayrıldıktan sonra, yaşamını sürdürebilmek adına konak içinde sağladığı adaptasyonu konak dışındaki zorlu yaşam için sağlaması gerekmektedir (Winfield and Groisman 2003).

Escherichia coli'nin, laboratuvar ortamında ve bir konakçı üzerinde büyüdüğü gözlemlendiğinden dolayı, belli bir zamana kadar konakçı dışında herhangi bir ortamda büyüme gösterebileceği düşünülmemiştir (Blount 2015). Fakat yapılan araştırmalar sonucunda,

belli iklim koşullarında (tropikal, subtropikal ve ılıman iklimler) makrofilik algler ve perifitonlar ile toprak, kum, tortu ve bitkiler üzerinde gelişim gösterdikleri gözlemlenmiştir (Brennan *et al.*2013). Bu da konakçı dışındaki hayata adapte olabilmesinin ve kendine bir konakçı bulana kadar hayatta kalmayı başarabilmiş olmasının nedeninin, kendi içinde evrimleşmiş olma ihtimalini doğurmaktadır (Elsas *et al.* 2011). İlk başlarda *E. coli*'nin patojen olmadığı düşünülse de, üzerinde yapılan araştırmalar, genom dizi analizleri ve ortaya çıkan klinik bazı durumlar sonucunda bakterinin patojenik alt türlere sahip olduğu keşfedilmiştir (Kaper *et al.* 2004). *Escherichia coli*'deki bu patojenite durumu ortaya çıktığı andan itibaren, yaşadığımız ortamlardaki varlıkları bizim için endişe sebebi olmaya başlamıştır.

Bu patojenik *E.coli*'ler kendi aralarında, bağırsak (InPEC) ve bağırsak dışı (ExPEC) patojenik *E. coli* olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır (Badi *et al.* 2018). InPEC ise 6 alt türe sahiptir ki bunlar; Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Enteroinvazif *E. coli* (EIEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) ve Diffüz yapışık *E. coli* (DAEC)'dir (Ishii *et al.* 2007).

Escherichia coli O_{157}:H_7 kaynaklı hastalıklar

Enterehemorajik *E. coli* (EHEC) patotipinin, *Escherichia coli* O_{157}: H_7 adında bir suşu bulunmakta ve Shiga benzeri bir toksin üretmesi sebebiyle Shiga toksin üreten *Escherichia coli* (STEC) olarak isimlendirilmektedir (Taylor 2008). Bu suş, et ve süt ürünlerinde, pişmemiş sebze ve meyvelerde dâhil olmak üzere özellikle az pişmiş olan kıyma gibi gıdalar ile insanlara bulaşmaktadır (Yang *et al.* 2017). İnsanlarda da, Hemolitik kolit'e (kanlı diyare), tromtopik trombositopenik purpura (TTP) ve çoğunlukla da çocuklarda görülülen Hemolitik-Üremik Sendrom (HUS) olarak adlandırılan böbrek yetmezliği gibi hayatı tehdit eden hastalıklara sebep olabilmektedir (Li *et al.* 2017).

HUS, diyare ile ilişkili bir hastalık olsa da, böbrek yetmezliğine sebep olma özelliğine de sahiptir ve böbrek yetmezliğinin getirdiği diyabet, hipertansiyon gibi komplikasyonlar da bu hastalık ile birlikte görülmektedir (Thomas and Elliott 2013).

1982 yılında da mide bulantıları, kusma, ateş, şiddetli ve kanlı ishal gibi belirtilere sahip iki Hemolitik kolit salgını üzerindeki araştırmalar sonucunda hastalığın az pişmiş hamburgerlerde bulunan *E. coli* O_{157}:H_7 olarak isimlendirilen bir serotip kaynaklı olduğu kabul edilmiştir (W.Naylor *et al.* 2005).

CDC'nin verilerine göre her yıl ortalama 75.000 vaka, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ile kotamine olmuş gıdalara maruz kaldığından dolayı hastalanmış ve bu 75.000 vakadan 2000'i

ise hastaneye yatış yapmış, ortalama 50 vakada hayatını kaybetmiştir (Rasmussen and Casey 2001).

ABD'de de her yıl 73.480 vaka ortaya çıkmakta, bunlardan 2.168 vaka ciddi sorunlarla karşı kaldığı için hastaneye yatmak da ve 61 vakada hayatını bu patojen yüzünden kaybetmektedir (Rangel *et al.* 2005).

WHO adına araştırmaları yöneten FREG (Gıda Kaynaklı Hastalık Yükü Epidemiyolojisi Referans Grubu)'de, STEC'in 1.000.000'dan fazla vakaya sebep olduğunu ve vakaların 100'den fazlasının ise öldüğünü varsaymaktadırlar (WHO 2019).

2019 yılında ECDC'nin yayınlanan verilerine göre de, 29 ülkede STEC vakaları bildirilmiş ve bu vaka sayısı oranı 100.000 kişiden nüfus başına 2,2 vakaya karşılık gelmekle birlikte, en yüksek hastalık oranlarına sahip ülkeler ise İzlanda, İrlanda, Danimarka, Norveç ve Malta olarak bildirilmiştir (ECDC 2019).

Escherichia coli O_{157}:H_7'nin et ve et ürünlerindeki varlığı

Escherichia coli O_{157}:H_7 patojeni, çoğunlukla tavuk, çiğ et yemekleri, hamburger ve kıyma gibi et ve et ürünlerinden bulaşmaktadır (Vold et al 2000). İnek, sığır gibi büyük baş hayvanları hasta etmeden bağırsaklarında yaşayan *E. coli* O_{157}:H_7, kesim sırasında kontaminasyon oluşturarak insanlara basit bir şekilde bulaşmaktadırlar (Todd 2007).

Dontoru *et al.* (2003), Yunanistan'da yaptıkları bir çalışmada, 50 hamburger, 61 domuz ya da hindi eti içeren salata, 64 sığır kıyması, 75 sosis olmak üzere toplam 189 et numunesi üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda, yalnızca 75 sosis numunesinde *E. coli* O_{157}:H_7 varlığının saptandığını bildirmiştir.

Alişar ve Akman (2004), *Escherichia coli* O_{157}:H_7 patojeni tespiti için yaptıkları bir çalışmada, 150 dana kıyma örneğinin 7'sinin, 150 koyun kıyma örneğininde 3'ünün kontanine olduğunu gözlemlemişlerdir.

Cagney *et al.* (2004), İrlanda'nın farklı kasap ve marketlerinden topladıkları 1533 kıyma ve köfte numunesi üzerinde *Escherichia coli* O_{157}:H_7'nin varlığını incelenmiş, toplam 43 numune de *E.coli* O_{157}:H_7 varlığına rastlanmış, bu kontamine numunelerin 11'inin marketlerden topalanan, 32'sinin ise kasaplardan toplanan köftelerden izole edildiği belirtilmiştir.

Varela-Hernandez *et al.* (2007), Meksika'daki çeşitli mezbahalardan topladıkları sığır etinde yaptıkları araştırma sonucunda, 258 sığır karkasının %5'inde (13 sığır karkası) *E. coli* O_{157}, %2,7'sinde de (7 sığır karkası) *E. coli* O_{157}:H_7 patojeni tespit etmişlerdir.

İran'da yapılan 3 yıllık bir araştırma sonucunda, 484 adet kıyma örneğinin (keçi, deve, tavuk, sığır eti ve sığır kıyması) analizinde 5 adet sığır, 2 adet sığır eti ve 1 adet deve eti olmak üzere 8 numuneden *Escherichia coli* O_{157}:H_7 izole ettiklerini bildirmişlerdir (Hajian *et al.* 2011).

Farajzadeh Sheikh *et al.* (2012), İran'da 8 ay boyunca (Mart-Ekim) 200 adet hamburger köfte örneği toplayarak yaptığı çalışmada, %38 oranında (8 adet) örneğin *Escherichia coli* O_{157}:H_7 içerdiği düşünülmüş, 1 örnekte *Escherichia coli* O_{157}:H_7 olduğu bildirilmiştir.

Salmonella spp.

Genel özellikleri

Salmonella spp., *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde yer alan Gram negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve fakültatif anaerobturlar, spor ya da kapsül oluşturmazlar, ayrıca ortalama 2,5 µm çapında ve çubuk şeklindedirler (Gast and Jr. 2020). Büyüme sıcaklıkları 2°C ile 54°C arasında değişmektedir, ancak optimum büyüme sıcaklığı 37°C'dir; pH değerleri ise pH 3,8- pH 9,5 arasında olsa da, onunda optimum aralığı pH 6,5-7,5 arasıdır (Rayn *et al.* 2017).

Bu bakteri ilk kez 1884 yılında, meslektaşı ile yaptığı araştırmalar sonucunda, Veteriner Hekim Daniel E. Salmon tarafından domuz bağırsağından izole edilmiş olup *Bacillus choleraesuis* olarak adlandırılmıştır ve 1900 yıllarda ise Lignieres, bakteriyi bulan kişiye ithafen adını *Salmonella cholerauis* olarak değiştirmiştir (Popa and Papa 2021).

Salmonella cinsi içerisinde, *Salmonella bongori, Salmonella enterica, Salmonella subterranea* olmak üzere 3 tür bulunmaktadır ve *Salmonella enterica* ise kendi arasında, *enterica* (*typhi*), *salae, arizonae, diarizonae, houtenae* ve *indica* olarak 6 serotipe ayrılmaktadır (Brenner *et al.* 2000). En çok izolasyonu yapılan tür ise *Salmonella enterica*'dır.

WHO raporlarına göre *Salmonella* spp. , ishale neden olan ya da istilacı olarak adlandırılan virüsler, bakteriler, kimyasallar gibi ajanlar içerisinde insanların bağırsaklarında meydana gelecek rahatsızlıkları tetikleyen 31 patojenden biridir ve gıda kaynaklı ölümler arasında da 3. sırada yer almaktadırlar (Ferrari *et al.* 2019). Gıda kaynaklı hastalıkların başlıca nedenlerinden biri olan bu patojen, en çok insan ve hayvan bağırsaklarından izole edilse de sürüngenler ve böceklerden de izole edilmekte, ayrıca başta hayvansal gıdalar (et ve et ürünleri, süt ürünleri, yumurta) olmak üzere su ve sebzeler, *Salmonella*'nın sebep olduğu hastalıkların başlıca kaynaklarıdır (Kasturi and Drgon 2017).

2000 yılında Gutiêrrez ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonucunda Meksika'da ki fast food numunelerinin %51'inde, işlenmiş etlerin %23'ünde, sığır, tavuk, balık gibi öğütülmüş gıdaların %22'inde, süt ürünlerinin %3'ünde ve taze yumurtaların ise %1'inde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Gallegos-Robles *et al.* 2009).

Salmonella spp. kaynaklı hastalıklar

Bu patojenin neden olduğu hastalıklara ‘’Salmonellozis’’adı verilmektedir ve bağışıklığı baskılanmış, yaşlı ve genç kesimde kendini ishal, ateş ve bazen de kusma ile göstermektedir (Cianflone 2008). Dünya genelinde 90 milyondan fazla kişide diyare ile kendini gösteren ve %85’ininde gıda kaynaklı olduğu bilinen *Salmonella* spp. vakâları için yaklaşık olarak yılda 200 milyon ile 1 milyar arasında Salmonellozis vakası tanımlanmaktadır (Chlebicz and Slizewska 2018).

Non-invaziv, non-tifo; invaziv, non-tifo ve alttür olan *Salmonella typhi* ‘nin neden olduğu tifo olmak üzere Salmonellozis’e sebep olan üç tip patojen *Salmonella* spp. vardır (Kurtz *et al.* 2017).

Kendini ilk başta ateş ile gösteren tifo’nun, dünya genelinde yılda ortalama 21.7 milyon insana bulaştığı, bu vakalarında 217.000’inin ölüm ile sonuçlandığı bildirilmiş ayrıca bu salgın Güneydoğu ve Orta Asya dâhil olmak üzere en çok Afrika bölgesinde gözlemlenmiştir (Pham and McSorley 2015). Ayrıca az gelişen ülkelerde büyük halk sağlığı sorunlarına sebep olan Selmonellozis’in, dünya genelinde non-tifoidal *Salmonella* vakalarının (tifo hastalığına neden olan *Salmonella*’ların dışında kalanlar) yılda 93.8 milyonunu oluşturduğu ve bunlarında 155.000’inin ölüm ile sonuçlandığı tahmin edilmektedir (Ao *et al.* 2015).

AB tarafından 2009 yılında yayınlanan bildiride 108.614 vaka sayısı ile Salmonellozis, listede ikinci sırada yer almakta, ayrıca *Salmonella*’nın serotiplerinden *Salmonella enterica*’nın alt türlerinden *S.enteritidis* ve *S.Typhimurium*, tüm serotiplerin %52,3 ile %23,3’ünü oluşturmaktadır (Âlvarez-Ordônez *et al.* 2011). *Salmonella enterica*’nın alt türlerinden olan *enterica*’nın serotipi *Typhimurium*, AB’de en çok vakaya sahip 3.serotiptir ve 2011 yılında Avrupa’da da en fazla görülen serotip olup Salmonellozis’in neden olduğu vakaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Heymans *et al.* 2018).

Salmonella spp.’nin et ve et ürünlerindeki varlığı

AB’nin yayınladığı verilerde *Salmonella* spp. , et ürünlerinde, kullanıma hazır hâle getirilmiş etlerde ve kıyma gibi yemeye hazır olmayan sığır etlerinde %0,5 oranında bulunurken, yemeye hazır olan sığır etlerinde ise %0,4 oranında bulunmaktadır (Buncic *et al* 2014).

2019 yılının Ağustos ayında yapılan çalışmalar sonucunda da, ABD’nin 49 eyaletinde 1000’den fazla vaka tespit edilmiş, Kasım ayında ise, Şili’de 80 kişide Salmonellozis hastalığı teşhis edilmiş ve ayrıca 2020’nin temmuz ayına kadar geçen süre zarfında ise 473 vaka, temmuz ayında da 938 vaka raporlarda bildirilmiştir (Popa and Papa 2021).

1999-2001 tarihleri arasında yerel marketlerden toplanan 86 tavuk kıyma, 104 hindi kıyma ve 54 sığır kıyma örneklerinden sırasıyla %35,5, %28,8 ve %6,5 oranında *Salmonella* spp. patojeni izole edilmiştir (Fratamico 2003).

Jordan *et al.* (2006), üç yıl boyunca (2002-2004), çiğ et numuneleri üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda, numunelerin yalnızca %1'inde *Salmonella* spp. tespit ederken, 3 yıllık süreçte *Salmonella* spp.'nin kontaminasyon yüzdesinin %1,2'den %0,9'a düştüğünü bildirmişlerdir.

Birleşik Krallık'da toplanan 3959 çiğ kırmızı et örneği *Salmonella* spp. kontaminasyonu bakımından incelenmiş ve örneklerin %2,4'ünden izole edilmiştir (Little *et al.* 2008).

Arslan ve Eyi (2010), yaptıkları çalışmada, kümes hayvanları eti, sığır eti ve kıyma olmak üzere toplam 225 perakende et örneğinde *Salmonella* spp. varlığını araştırmış, %22,2'sinde (50 numune) pozitif sonuç alırken, 22 adet kanat eti örneği, 16 kıyma örneği, 12 sığır eti örneğinde *Salmonella* spp. tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Raseta *et al.* (2017), 3 yıl boyunca 100 RTE et ürünü, 100 kıyma, 100 satışa sunulan et olmak üzere 300 adet et numunesi toplamış, topladıkları taze sosis ve ızgara etlerinin %7'sinin, kıyma örneklerinin ise %18'inin *Salmonella* spp. için pozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

Yukarıda bahsettiğimiz patojen bakterilerin, tükettiğimiz gıdalarda bulunması, insanlarda ciddi halk sağlığı problemlerine neden olması ve bununla birlikte ülkeleri ekonomik açıdan da zorlaması gibi sorunlar, bu patojen bakterilerin tespit edilmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Patojen Bakterilerin Tespit Yöntemleri

Mikrobiyal gıda kaynaklı patojenlerin meydana getirdiği kontaminasyonların tespit edilmesi ve neden oldukları hastalıkların en aza indirilmesini sağlamak için bazı tespit yöntemleri kullanılmaktadır. Bu bağlamda geleneksel tanı yöntemleri içerisinde yer alan biyokimyasal ve immünolojik tanılama en çok tercih edilen tespit yöntemleridir.

Biyokimyasal tanılama, bakterilerin indikatör ya da ayıraç eklenmiş bir besiyeri üzerindeki reaksiyonları sonucunda bazı renk değişimlerinin oluşmasına sebebiyet veren bir tanı yöntemiyken, immünolojik tanımlama ise, antikor-antijen arasındaki ilişkiye bağlı bir tespit yöntemidir. Bu klasik tanı yöntemleri; zaman alıcı olması, zahmetli olması ve yapılan işlemlerin birkaç gün sürmesi gibi dezavantajlara sahiptirler. Ayrıca birden fazla patojen bakterinin yüksek verimli bir şekilde tespit edilmesi işlemi de, geleneksel tanı yöntemleri için

pratik değildir. Bu yüzden, yeni tanımlama yöntemlerine ihtiyaç duyulmaya başlanmış ve mikroorganizmaların tanımlanmasında moleküler yöntemler ortaya çıkmıştır.

Mikrobiyal ekoloji için büyük önem teşkil eden moleküler tanılamada; karbonhidratlar, lipitler, proteinler gibi makromolekülleri, DNA ve RNA gibi genetik materyalleri kullanarak mikroorganizmaların tespiti mümkündür (Adıgüzel 2006). Güvenilir olması, hızlı ve kolay uygulanabilir olması, çok sayıda mikroorganizmanın tespitine izin vermesi gibi avantajlarıyla en çok tercih edilen yöntemlerdendir.

Moleküler tanılama içerisinde yer alan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), klonlamaya ihtiyaç duyulmadan nükleik asitlerin bir tüp içerisinde (in vitro) enzim vasıtasıyla hızlı ve kolay bir şekilde amplifiye edilmesi işlemine dayanmaktadır (Radström *et al.* 2004). İlk defa 1985 tarihinde orak hücre anemisi tanısının konulabilmesi amacıyla, R.Saiki, K.Mullis ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş, 1993 yılında da Nobel Kimya Ödülüne layık görülmüş bir tekniktir (Kubista *et al.* 2006). Ayrıca 1988 yılında yüksek sıcaklıklarda yaşayabilen *Thermus aquaticus* bakterisinde bulunan Taq DNA polimeraz enziminin izolasyonu ile laboratuvar şartlarında DNA sentezi gerçekleştirilmiş, böylece PCR'ın kullanılabilirliği artmıştır (Adıgüzel 2006). PCR; Denatürasyon, Hibridizasyon (annealing) ve Amplifikasyon (extensiyon) olmak üzere 3 temel basamaktan oluşmaktadır. Bu basamaklar ise toplamda 35 kez tekrarlanmaktadır.

Birçok alanda kullanılan PCR yöntemi ile, gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan patojen mikroorganizmalar saf kültürlerde veya seçici besiyerlerinde büyütülerek incelendiği gibi direkt olarak gıda maddesinden, ilgili patojenin DNA'sının spesifik DNA ekstraksiyon kiti ile izolasyonu şeklinde de gerçekleştirilmektedir. (Aydın ve Sudağıdan 2016).

1993 yılında PCR için kullanılan thermal cycler cihazlarına bazı seçkin özellikler eklenmiş ve tek bir aşamada DNA'lara özgü florasan boyaların ya da DNA problarının kullanıldığı, ikincil nesil olan ve Real-Time PCR (qPCR) olarak isimlendirilen yeni bir teknoloji, Higuchi ve arkadaşları tarafından literatüre kazandırılmıştır (Matsuda 2017). Geleneksel PCR yönteminden farklı olarak, gerçekleştirilen tüm aşamalar kapalı bir tüp içerisinde, kontaminasyon riskinden uzak bir şekilde uygulandığından hata oranı oldukça düşüktür. Ayrıca ürünlerin analizi reaksiyonla eşzamanlı olarak alınmakta olup, hedef bölgenin varlığına ilaveten örneğin miktarıda ölçülebilmektedir.

Real-Time PCR yöntemi, gen ekspresyon çalışmalarında kullanılmasının yanı sıra mikroorganizmaların tanımlanmasında, genotiplendirilmesinde, tespit edilmesinde, gıdaların kalite kontrolü ve güvenliğinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Harshitha and Arunraj 2021).

Kinetik PCR, Homojen PCR, Kantitatif Real-Time PCR (RT-qPCR) gibi çeşitli adlarla isimlendirilen bu teknolojide, gen ekspresyonu bir bilgisayar yardımı ile eş zamanlı olarak görselleştirilir ve DNA'nın hedef bölgesi ile interkalasyon yapan, DNA amplifikasyonunu belirleyen bir raportör boya yöntemi kullanılır (Singh and Roy-Chowdhuri 2016). Real-Time PCR'da amplifikasyon sonrası elde edilen ürünün varlığını ispatlamak için DNA'yı bağlayan boyalar (SYBR Green I ve EtBr) ve hedef DNA'ya özgü problar kullanılmaktadır (Tajadini *et al.* 2014).

Varlığı saptanmak istenilen DNA bölgesi, spesifik bir bölge ise, saptamak için floresan işaretli problar kullanılmaktadır ki, bu yöntemlerden biri, hidroliz problar içerisinde yer alan TaqMan Prob Yöntemi olup, burada çoğaltılmak istenilen hedef DNA bölgesine komplementer olan ve floresan adaptörle işaretlenmiş tek zincirli problar yer almaktadır (Watson and Li 2005).

Elde edilen ürünün varlığını saptamak için kullanılan yöntemlerden biri de, spesifik olmayan çift zincirli DNA boyalarının kulanılması işlemidir. Bu bağlamda da en sık kullanılan boya SYBR Green I boyasıdır. SYBR Green I, çift zincirli deoksirübonükleik aside (dsDNA) bağlanır ve reaksiyon tüpündeki dsDNA miktarına bağlı olarak boyanın bağlanma oranıda artar, böylece florasan boyanın verdiği sinyalde bağlanmayla doğru orantıda artmaya başlar (Wang *et al* 2006). Bu yöntem, kullanım kolaylığı ve diğer yöntemlere nazaran düşük maliyetli olması sebebi ile daha çok tercih edilmektedir.

Navas *et al.* (2006), kıyma tavuk etinde Real-Time PCR yöntemi kullanarak *Listeria monocytogenes* varlığının birincil ve ikincil zenginleştirmedeki farkını araştırmış, topladıkları 37 örneğin %75'inde *L.monocytogenes*'in varlığını tespit etmişler, ayrıca birincil zenginleştirmede PCR oranı %37 iken, ikincil zenginleştirmede bu oran %70 olarak hesaplanmıştır.

Çiğ tavuk parçaları, pişmiş tavuk ve yemek için önceden hazır hâle getirilmiş tavuk örneklerinde, *Salmonella* spp. patojeni zenginleştirme sonrası Real-Time PCR ile analiz edilmiş ve 10 çiğ tavuğun %70'inde (7 örnek), 80 adet yemek için hazır olan tavukların %19'unda (15 örnek), 20 pişmiş tavuğun ise %10'unda (2 örnek) *Salmonella* spp.'nin tespit edildiği rapor edilmiştir (Oscar 2014).

Bu tez çalışmamızda da; toplanan kıyma örneklerinde, ciddi halk sağlığı problemlerine yol açan *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Salmonella* spp.'nin farklı zaman dilimlerinde (Sonbahar, Kış, İlkbahar ve Yaz) Real-Time PCR (ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan) ile daha hızlı, güvenilir ve kolay bir şekilde tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Erzurum ili merkez ilçelerinde bulunan farklı kasap ve marketlerden mevsimsel olarak toplanan 25'er adet kıyma örneği aseptik koşullar altında farklı zaman dilimlerinde laboratuvar ortamına getirildi.

Tez Çalışmasında Kullanılan Laboratuvar Ekipmanlar: Tez çalışmalarında kullanılan cihazlar Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

Cihazlar	
BagMixer* 400 P Stomacher Cihazı	: İnterscience
Steril Kabin	: Telstar AV -100
Real-Time PCR Cihazı	: Qiagene
Spektrofotometre	: Bechman Coulter DU''730 Life sicence UV/Vis spektrofotometer
Çalkalamalı İnkübatör	: Midıı 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
15 ml'lik tüpler ve raklar	
2 ml'lik Ependorf tüpler	
Mikropipet Takımı	

Tez Çalışmasında Kullanılan Maddeler: Tez çalışmasında sırasında kullanılan besiyerleri, kitler, kimyasal maddeler ve temin edilen firma isimleri Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Tez Çalışmasında Kullanınılan Besiyeri, Kit ve Kimyasallar

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

Tez çalışması sırasında kullanılan çözelti ve besiyerlerin hazırlanışı

- **TSA (Triptic Soy Agar)**

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

Ticari olarak satın alınan Triptic Soy Agar besiyerinden 6 gr tartılarak, 150 ml dH_2O içerisinde çözüldükten sonra, 121°C'de 15 dk süre ile otoklavlandı. Hazırlanan besiyeri steril kabin içerisine alınarak, petrilere aktarıldı.

- **TSB (Triptic Soy Broth)**

Kimyasal İçerik	**gr/L**
Kazein	17,0
Soya pepton	3,0
Sodyum klorid (NaCl)	5,0
Di-potasyum hidrojen fosfat	2,5
Glikoz	2,5

Ticari olarak satın alınan Triptic Soy Broth besiyerinden 4.5 gr tartılarak, 150 ml dH_2O içerisinde çözüldükten sonra, 121°C'de 15 dk süre ile otoklavlandı.

Yöntem

Kıyma örneklerinin toplanması

Çalışmada kullanılan kıyma örnekleri, Erzurum ilinin merkez ilçelerinde bulunan kasap ve marketlerinden farklı mevsim koşullarında (Sonbahar, Kış, İlkbahar ve Yaz) 25'er adet temin edilerek, toplamda 100 numune aseptik koşullara uygun bir şekilde laboratuvar ortamına getirildi.

Kıyma örneklerinin homojenize edilmesi

Toplandıktan sonra laboratuvar ortamına getirilen 25 gr kıyma örneği, filtreli stomacher poşetlerine alınıp, üzerine 225 ml steril fizyolojik su ilâve edilerek, 5 dk süre ile stomacher içerisinde yıkama (rising) işlemine tabii tutuldu. Bu işlem ile birlikte, kıymanın üzerindeki mikrobiyal yükün sıvı solüsyonuna geçmesi sağlandı. Daha sonra steril tek kullanımlık pipet yardımı ile örneklerden 1000 µl alınarak, ependorf tüplerine konuldu.

Real-Time PCR İŞLEMİ

Kıyma örneklerinde bulunan patojen mikroorganizmaların tespit edilmesi için 3 farklı patojen bakteriye (*Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp.) ait spesifik primerler kullanılarak, Real-Time PCR işlemi gerçekleştirildi. Primerlere ait diziler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Tespit Edilecek Patojen Bakterilere Ait Spesifik Primer Dizileri

Bakteri Adı	Primer Dizisi
Listeria monocytogenes	TGGCTTTCAGCTGGGCATAACCAA
	GCGGTCAGTGTAAAAAGTGGCACA
***Escherichia coli* O_{157}:H_7**	CGATTGATGGTGATACGGTT
	GCACTTGCTTCAGGACCAT
***Salmonella* spp.**	TGATACTGTGTCTGCGTCC
	CGGAGCGGATAAACGGAGTT

Real-Time PCR işlemi için kullanılacak olan 20 µl mastermix karışımı;

- Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) : **10 µl**
- H_2O: **3 µl**
- Primer F (Forward) : **1µl**
- Primer R (Reverse) : **1 µl**
- Homojenizasyon sıvısı (kalıp DNA): **5 µl**

Toplanan kıyma örneklerinin her biri için 3 tekerrür olacak şekilde, yukarıda belirtilen kimyasal maddeler steril tek kullanımlık pipetler yardımı ile alınarak, mastermix karışımı hazırlandı. Daha sonra Thermal cycler Real-Time PCR (QIAGENE, ROTOR GENE Q) cihazı, Tablo 7'da gösterilen Real-Time PCR döngülerine göre ayarlandı. Hazırlanan örnekler cihaza amlifikasyon işlemi için yerleştirildi.

Tablo 7. Real-Time PCR Programı

İŞLEM	SICAKLIK (°C)	SÜRE (dk, sn)
Hazırlık	50	2 dk
Ön Denatürasyon	95	5 dk
Denatürasyon	95	15 sn
Primerlerin bağlanması	57	30 sn
Uzama	72	20 sn

Gerçekleşen işlem sonucunda, örneklerde *L.monocytogenes, E.coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp. patojenlerinin olup olmadığı C_t (Cycle threshold) değerlerine bakılarak tespit edildi.

Standart bakterilerin eldesi ve üretilmesi

Pozitif kontrol amaçlı kullanılacak olan standart bakteriler (*Listeria monocytogenes* ATCC *7644, Escherichia coli* O_{157}:H_7 ATCC 43894 ve *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028) ATCC kültür koleksiyonundan satın alındı.

Standart bakterilerden, steril kabin içerisinde TSA (Triptic Soy Agar) katı besiyerine çizgi ekim yapıldı ve 24 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında petri üzerinde gelişen koloniler, steril kabin içerisinde TSB (Triptic Broth Agar) sıvı besiyerine steril öze yardımı ile inoküle edildi ve çalkalamalı inkübatörde 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, bakteri sayısının belirlenebilmesi için OD600nm'de spektrofotometre ile absorbsiyon ölçümü gerçekleştirildi (Kör olarak steril besiyeri kullanıldı). Daha sonra her bir bakteri (*Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella Typhimurium*) için 10^0-10^7 arasında dilüsyonlar hazılanarak, Real-Time PCR işlemine tabii tutuldu. Elde edilen C_t değerleri kullanılarak, Poisson-regresyon modeli oluşturuldu ve Graphpad Prism software programı ile standart grafikler çizildi.

Kıyma örneklerinde patojen bakterilerin kantitatif analizi

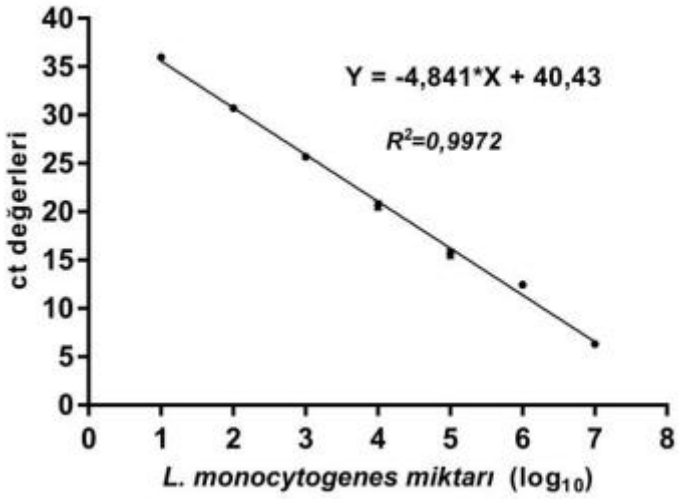
Kıyma örneklerinin analizi sonucunda elde edilen C_t değerleri, oluşturulan standart grafiklerin doğru denklemleri baz alınarak hesaplandı ve *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp'nin miktarları kantitatif olarak belirlendi.

ARAŞTIRMA BULGULARI

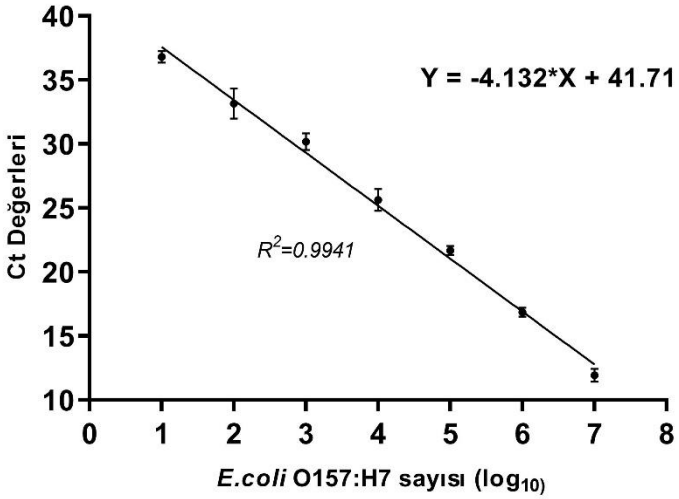
Real-Time PCR

Standart patojen bakterilerin lineer-regresyon analizleri

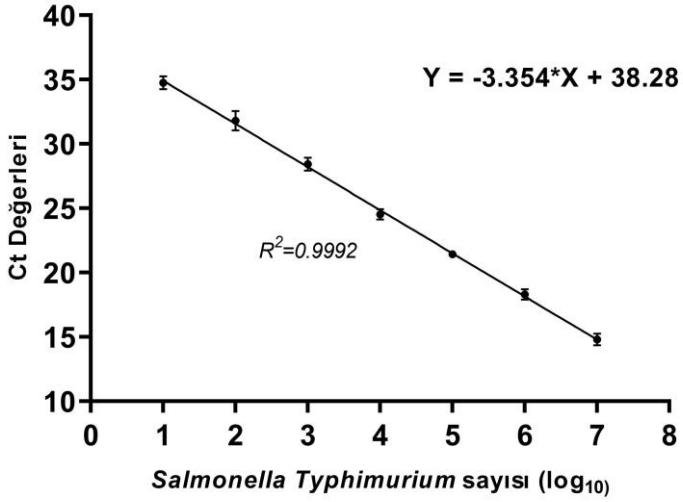
Toplanan kıyma örneklerindeki patojen bakterilerin miktarlarını belirlemek amacıyla, standart bakterilere (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Salmonella Typhimurium*) Real-Time PCR yapılarak lineer-regresyon grafikleri çizilmiştir (Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3).



Şekil 1. *Listeria monocytogenes*'in C_t değerlerine ait standart grafiği



Şekil 2. *Escherichia coli* O_{157}:H_7'nin C_t değerlerine ait standart grafiği



Şekil 3. *Salmonella Typhimurium*'un C_t değerlerine ait standart grafiği

100 adet kıyma izolatının Real-Time PCR analizi sonucunda belirlenen C_t değerleri, elde edilen bu standart grafiklerin doğru denklemleri kullanılarak hesaplanmış ve kıyma örneklerindeki patojen bakteri miktarları tespit edilmiştir.

Kıyma örneklerinde bulunan patojen bakterilerin miktar analizi

Toplanan 100 adet kıyma örneğinin 45'inde *Listeria monocytogenes*, 30'unda *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve 29'unda da *Salmonella* spp. patojenlerinin varlığı saptanmıştır.

Sonbahar aylarında toplanan 25 kıyma örneğinin 7'sinde *Listeria monocytogenes*, 9'unda *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve 6'sında *Salmonella* spp. patojeni tespit edilerek, bu veriler Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Sonbaharda Toplanan Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları

	Listeria monocytogenes		***Escherichia coli* O_{157}:H_7**		***Salmonella* spp.**	
Örnek sayısı	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**
1	E.K37	$5{,}39\times10^4$	E.K26	2.32×10^2	E.K26	2.63×10^2
2	E.K38	$6{,}27\times10^5$	E.K27	2.29×10^2	E.K27	3.02×10^2
3	E.K39	$5{,}62\times10^5$	E.K28	1.97×10^2	E.K31	1.94×10^2
4	E.K40	$5{,}20\times10^4$	E.K31	1.96×10^2	E.K32	1.30×10^2
5	E.K48	$4{,}45\times10^4$	E.K32	1.80×10^2	E.K33	0.50×10^2
6	E.K49	$5{,}84\times10^5$	E.K33	1.49×10^2	E.K34	1.00×10^2
7	E.K50	$4{,}31\times10^4$	E.K34	1.19×10^2	-	-
8	-	-	E.K35	0.96×10^2	-	-
9	-	-	E.K48	5.33×10^5	-	-

Kış aylarında toplanan 25 adet kıyma örneğinin 6'sında *Listeria monocytogenes*, 6'sında *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve 7'sinde *Salmonella* spp. tespit edilerek, Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Kış Ayında toplanan Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları

	Listeria monocytogenes		***Escherichia coli* O_{157}:H_7**		***Salmonella* spp.**	
Örnek sayısı	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**
1	E.K9	$2{,}01\times10^2$	E.K9	3.41×10^3	E.K1	5.71×10^5
2	E.K10	$2{,}14\times10^2$	E.K10	3.46×10^3	E.K2	5.84×10^5
3	E.K11	$2{,}28\times10^2$	E.K11	4.31×10^4	E.K4	5.01×10^4
4	E.K12	$2{,}88\times10^2$	E.K12	4.30×10^4	E.K8	6.21×10^5
5	E.K13	$2{,}49\times10^2$	E.K13	3.69×10^3	E.K12	3.80×10^3
6	E.K14	$2{,}44\times10^2$	E.K14	4.19×10^4	E.K14	3.66×10^3
7	-	-	-	-	E.K15	2.20×10^2

İlkbahar aylarında toplanan 25 adet kıyma örneğinin 12'sinde *Listeria monocytogenes*, 3'ünde *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve 6'sında *Salmonella* spp. patojenleri belirlenmiş, veriler Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. İlkbahar Ayındaki Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları

	Listeria monocytogenes		***Escherichia coli* O_{157}:H_7**		***Salmonella* spp.**	
Örnek sayısı	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**
1	E.K76	$4{,}91\times10^4$	E.K80	5.51×10^5	E.K80	2.74×10^2
2	E.K77	$5{,}78\times10^5$	E.K85	5.20×10^5	E.K81	6.38×10^5
3	E.K80	$4{,}26\times10^3$	E.K95	3.54×10^3	E.K93	5.25×10^4
4	E.K81	$6{,}15\times10^5$	-	-	E.K95	3.05×10^2
5	E.K82	$3{,}70\times10^3$	-	-	E.K96	1.75×10^1
6	E.K85	$4{,}29\times10^3$	-	-	E.K100	2.80×10^2
7	E.K90	$6{,}31\times10^5$	-	-	-	-
8	E.K91	$5{,}85\times10^5$	-	-	-	-
9	E.K92	$5{,}68\times10^5$	-	-	-	-
10	E.K93	$5{,}54\times10^5$	-	-	-	-
11	E.K95	$5{,}53\times10^5$	-	-	-	-
12	E.K96	$3{,}80\times10^3$	-	-	-	-

Yaz aylarında toplanan 25 adet kıyma örneğinin 20'sinde *Listeria monocytogenes*, 12'sinde *Escherichia coli* O_{157}:H_7, 10'unda ise *Salmonella* spp. patojenleri tespit edilmiş ve bu veriler Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Yaz Ayındaki Pozitif Örneklerdeki Patojen Bakteri Miktarları

	Listeria monocytogenes		***Escherichia coli* O_{157}:H_7**		***Salmomella* spp.**	
Örnek sayısı	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**	**Örnek Kodu**	**Bakteri Sayısı**
1	E.K51	$4{,}63\times10^{3}$	E.K51	6.07×10^{5}	E.K53	4.21×10^{3}
2	E.K53	$4{,}45\times10^{3}$	E.K53	3.64×10^{3}	E.K54	4.52×10^{3}
3	E.K54	$4{,}97\times10^{4}$	E.K54	5.27×10^{4}	E.K55	2.68×10^{2}
4	E.K55	$3{,}46\times10^{3}$	E.K55	5.57×10^{5}	E.K56	6.15×10^{5}
5	E.K56	$6{,}13\times10^{5}$	E.K56	5.26×10^{4}	E.K60	6.56×10^{5}
6	E.K57	$6{,}38\times10^{5}$	E.K66	3.95×10^{3}	E.K66	4.97×10^{4}
7	E.K58	$6{,}32\times10^{5}$	E.K67	4.28×10^{3}	E.K67	4.86×10^{4}
8	E.K59	$6{,}37\times10^{5}$	E.K68	5.09×10^{4}	E.K68	6.13×10^{5}
9	E.K60	$6{,}29\times10^{5}$	E.K69	5.08×10^{4}	E.K69	3.33×10^{2}
10	E.K63	$5{,}45\times10^{4}$	E.K70	5.83×10^{5}	E.K70	4.42×10^{3}
11	E.K64	$6{,}16\times10^{5}$	E.K71	6.58×10^{5}	-	-
12	E.K66	$2{,}35\times10^{2}$	E.K74	4.14×10^{3}	-	-
13	E.K67	$5{,}25\times10^{4}$	-	-	-	-
14	E.K68	$5{,}08\times10^{4}$	-	-	-	-
15	E.K69	$3{,}54\times10^{3}$	-	-	-	-
16	E.K70	$4{,}04\times10^{3}$	-	-	-	-
17	E.K71	$5{,}32\times10^{4}$	-	-	-	-
18	E.K72	$5{,}25\times10^{4}$	-	-	-	-
19	E.K73	$6{,}27\times10^{5}$	-	-	-	-
20	E.K74	$4{,}43\times10^{4}$	-	-	-	-

TARTIŞMA

Erzurum ilinde satışa sunulan kıymalarda bulunan ve önemli halk sağlığı sorunlarına sebep olan *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp. gibi patojen bakterilerin varlığının hızlı bir şekilde saptanması amacıyla yapılan bu çalışmada, farklı kasap ve marketlerden elde edilen 100 adet kıyma örneği, ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan Real-Time PCR metodu ile incelenmiş, kıyma örneklerinin %45'inde *Listeria monocytogenes*, %30'unda *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve %29'unda *Salmonella* spp. varlığı saptanmıştır. Elde ettiğimiz Real-Time PCR analiz sonuçlarına bakıldığında, ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan da, oldukça güvenilir, hassas ve hızlı sonuç alınabildiği gözlemlenmiştir.

Listeria monocytogenes, Escherichia coli O_{157}:H_7, *Salmonella* spp.'nin, et ve et ürünlerinde bulunan önemli patojenlerden olmaları, ciddi halk sağlığı problemlerine sebebiyet vermeleri, ekonomik açıdanda önemli ürün kayıplarına sebep olduklarından, ülkemiz dâhil dünya genelinde birçok araştırmacının dikkatini çekmiş, izolasyonu ve tanımlanması ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır.

Monteria *et al.* (2013), Kuzey Brezilya bölgesinde yer alan bir pazardan topladıkları 30 adet kıyma ve sosis örneği üzerinde PFGE (Darbe Alan Jel Elektroforez) yöntemi kullanarak *Listeria monocytogenes*'i tanımlanmayı amaçlamışlar ve sonuç olarak da 30 örneğin 5'inde (%16.7) *L. monocytogenes* varlığına rastlarken (Monteiro *et al.* 2013), çalışmamızda ise bu oran %45 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında her ne kadar iklim koşulları veya örneklerin üretimden markete gelinceye kadar ki sürecinde yöntemsel farklılıklar olsa da, Real-Time PCR metodunun PFGE' ye göre daha hassas olduğu söylenebilir.

Kalender 2013 yılında Elazığ ilindeki mezbahalarda kesilen sığır etinden elde edilen kıyma örneklerinden, *E.coli* O_{157}:H_7 patojeninin izolasyonunu ve bazı virülans genlerini tespit etmek amacıyla yaptığı çalışmada, 540 adet sığır eti ile 100 adet kıyma örneğinde patojen izolasyonunu gerçekleştirmek için örnekleri Sorbitol MacConkey Agar'a ekimişler. Daha sonra PCR tekniği kullanarak, genlerin varlığını araştırmış, 22 örnekde (%3'ü sığır eti ve %22'si de kıyma) *E.coli* O_{157}:H_7 belirlemişlerdir (Kalender 2013). Silva *et al.* (2020), Brezilya Bahia'daki 10 kasaptan topladıkları 30 taze sığır et örneğinde, biyokimyasal testler ve *hyl* geni için PCR analizi yaparak, *Listeria monocytogenes*'i tanımlamayı amaçlamışlar, sonuçta, numunelerin %54,16'sının *L. monocytogenes* için pozitif olduğunu gözlemlemişlerdir (Silva *et al.* 2020). Çalışmamız da ise, 100 örneğin 45'inde *Listeria monocytogenes* ve 30'unda *Escherichia coli*

O_{157}:H_7 tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçların yukarıda bahsedilen çalışmalardaki sonuçlara kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir. Bunun sebebi olarak da, örneklerin toplandığı yerlerin iklim ve hijyen koşulları, tüketime sunulana kadar uygulanan işlemlerdeki farklılıklara ek olarak, bu çalışmalarda kullanılan yöntemlere oranla Real-Time PCR metodunun çok daha yüksek bir hassasiyete sahip olması söylenebilir. Ayrıca yukardaki çalışmalarda toplanan örneklerden bakteri izolasyonu yapılmış ve izolasyon sırasında bazı bakterilerin kültüre edilemediği bilirtilmiştir. Dolayısıyla herhangi bir örnekten, istenilen mikroorganizmaların izole edilememesi, o örneklerde hedef mikroorganizmanın olmadığı anlamına gelmez. Bu durum göz önüne alındığında patojenlerin izole edilmesi büyük bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Mevcut çalışmamızda da, bu dezavantajı ortadan kaldırmak için daha hassas ve az iş yükü gerektiren Real-Time PCR yöntemi kullanılmıştır.

Jeong *et al.* (2017), Kore'nin Seul şehrindeki dört farklı et pazarından topladıkları 82 sığır eti örneğinde, gene spesifik primer ve prop tasarlayarak geliştirdikleri Real-Time PCR ve standart kültür yöntemleriyle, *Clostridium perfringens*'in varlığını araştırmışlardır. Sonuçta, Real-Time PCR yöntemiyle 10 ve standart kültür metoduyla ise 4 örneğin *C. perfringens* açısından pozitif olduğu tespit edilmiştir (Jeong *et al.* 2017). Nitecki *et al.* (2015), *L. monocytogenes* ve *E. coli* O_{157}:H_7 patojenlerini tespit edecek bir Real-Time PCR yöntemi tasarlamış, 16 saatlik ön zenginleştirme işlemi dâhil, toplam da 20 saatte sonuçların elde edilebileceği belirlenmiş ve ISO (Uluslararası Standardizasyon Örgütü) plak kültür yöntemleriyle kıyaslama yaparak da, tekniğin kullanılabilirliğini ispatlamışlardır (Nitecki *et al.* 2015). Yapılan çalışmalar incelendiğinde, patejen bakterileri tespit etmek amacıyla moleküler temelli teknikleri kullandıkları, yöntemlerin hızlı, güvenilir ve iyi sonuçlar verebildiğini doğrulamak için de, geleneksel kültür yöntemleri ile karşılaştırıldığı gözlemlenmektedir. Bunun neticesinde, moleküler temelli tekniklerin, klasik kültür tekniklerinden daha hassas ve hızlı sonuçlar verebildiği ortaya konulmuştur. Çalışmamızda da, Real-Time PCR yönteminin, *L. monocytogenes*, *E. coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp. patojenlerinin belirlenmesinde oldukça etkin olduğu belirlenmiştir.

Catarami *et al.* (2006), toplam 100 et numunesinde (tavuk, dana, domuz ve hindi eti), ön zenginleştirme ve DNA izolasyonundan sonra, geliştirdikleri 16S rRNA gen tabanlı Real-Time PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada, 5 örneğin *Salmonella* için pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Patojenlerin hızlı tespiti için ortaya koydukları bu metod ile 27-28 saat sonra sonuçların elde edilebileceğini tespit etmişlerdir. Daha sonra ISO kültür yöntemiyle karşılaştırmışlar ve metodun umut vaad ettiğini vurgulamışlardır. Mevcut çalışmamızda da, *L. monocytogenes*, *E. coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp.'nin hızlı ve kolay bir şekilde tespiti

amaçlanmış ve bu bağlamda ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan Real-Time PCR kullanılmıştır. Yukarıda bahsedilen çalışmanın aksine, kullandığımız metod 3 saat gibi kısa bir sürede, istenilen verilerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu duruma, ön zenginleştirme ve DNA izolasyonunun yapılmamasının neden olduğu söylenebilir. Çünkü bu aşamaların işlem basamakları oldukça uzun olup, zaman almaktadır. Ancak, yaptığımız çalışmada, sunduğumuz bu yeni model ile patojen bakterilerin hızlı ve güvenilir bir şekilde analizi mümkün olmaktadır.

Wang *et al.* 2004 yılında, geliştirdikleri DNA izolasyon ve saflaştırma metodu ile Multipleks Real-Time PCR'ı kullanarak, çiğ et örneklerinde *L. monocytogenes* ve *Salmonella*'nın eş zamanlı tespitini gerçekleştirmişler ve 6-8 saatlik zenginleştirme işlemi dâhil toplam 10 saat içinde, örneklerde gr başına 3 *Listeria* ve 4 *Salmonella* hücresi tanımlamışlardır (Wang *et al.* 2004). Suo *et al.* (2010), çoklu patojen zenginleştirme stratejisi ile birlikte Multipleks Real-Time PCR metodu geliştirmiş ve et ürünlerinde (sığır, tavuk, hindi ve domuz), *L. monocytogenes, E. coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp.'nin varlığını araştırmışlardır. Sonuçta, 26 et örneğinde, 20 saatlik bir zenginleştirme ile patojenlerin her biri için 12 numunenin pozitif olduğu, iki bakteri içinde 3 örneğin pozitif olduğu bildirilmiştir (Suo *et al.* 2010). Bahsedilen çalışmalarda, işlem sırasında örneklere zenginleştirme yapıldığı gözlemlenmektedir. Bu da bakteri sayısını arttırdığından numunelerdeki gerçek patojen bakteri yükünün belirlenmesinden ziyade, varlığı veya yoluğu hakkında bilgi sunmaktadır. Bizim kullandığımız metod da ise, zenginleştirme işlemi yapılmadığından, bakterilerin gerçek zamanlı kalitatif ve kantitatif analizlerini mümkün kılmaktadır.

Lopes *et al.* 2018 yılında yapmış oldukları çalışmada, farklı gıda örnekleri üzerinde (Kıyma, Süt, İstiridye eti) *Salmonella* spp., *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* patojenlerinin Real-Time PCR ile kantitatif analizleri gerçekleştirilmiş, sonuç olarak bakteri sayılarının 10^1-10^6 arasında olduğu rapor edilmiştir (Lopes *et al*. 2018). Yaptığımız çalışmanın veri analizleri sonucunda ise, mevsimsel olarak topladığımız kıyma örnekleri üzerindeki bakteri miktarı 10^2-10^5 arasındadır. Lopes ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma mevsimden bağımsız olmasına rağmen çalışmanın verileri, bizim verilerimizle benzerlik göstermektedir.

Kačániová *et al.* 2015 yılında yapmış oldukları çalışmada, farklı et kaynaklarında *L. monocytogenes* varlığı ve miktarı Real-Time PCR yöntemiyle araştırılmış: toplanan örnekler arasında en düşük C_t değeri 6,1; en yüksek C_t değeri 35,46 ve tüm örneklerdeki ortalama C_t değeri ise 21,9 olarak bildirilmiştir (Kačániová *et al.* 2015). Yapmış olduğumuz çalışmada, *L. monocytogenes*'in en düşük C_t değeri 7,2; en yüksek C_t değeri 30,07 ve toplanan tüm

örneklerdeki ortalama C_t değeri ise 16,34 olarak tespit edilmiştir, elde edilen bu sonuçların literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Suria *et al.* (2012), çeşitli hipermarketlerden toplanan farklı kıyma örneklerinde ki, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 varlığını SYBR Green Real-Time PCR yöntemiyle tespit etmişlerdir. Toplanan örneklerde ki C_t değerleri incelendiğinde, pozitif örneklerin C_t ortalamasının 20,9 olduğu gözlemlenmiştir (Suria *et al.* 2012). Siala *et al.* 2017 yılında, Real-Time PCR yöntemini kullanılarak, farklı gıdalarda *Salmonella* spp. varlığını belirlemiş ve çiğ kanatlı et örneklerinde ki C_t değerlerini 18 ile 35,27 arasında bulmuşlardır (Siala *et al.* 2017). Çalışmamızda ise, *Escherichia coli* O_{157}:H_7'nin kontamine ettiği örneklerde ki C_t ortalaması 25,47 olarak bulunmuştur ve *Salmonella* spp. için pozitif olan örneklerin C_t değerleri ise 16,27 ile 36,58 arasında değişmektedir. Aradaki bu farklılıkların, örneklerin farklı mevsim periyotlarında toplanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada kıyma örneklerindeki bakteri sayıları mevsimlere göre incelendiğinde, kış ve sonbahar aylarında toplanan kıyma örneklerindeki patojen bakteri sayılarının, ilkbahar ve yaz aylarında toplanan kıyma örneklerindeki patojen bakteri sayılarına oranla daha az olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, ilkbahar ve yaz aylarında sıcaklıkta meydana gelen artışın, bakterilerin üremesi için daha uygun bir ortam oluşturduğu düşünülmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında mevcut çalışmada, Real-time PCR işlemi ile kıyma örneklerinde bulunan önemli patojenlerin (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Salmonella* spp.) varlığı ve miktarları ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu yapılmadan başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Kıyma örneklerinde bulunan patojenik bakterilerin Real-time PCR ile tespitinde, DNA izolasyonu gibi maliyetli ve iş yükü gerektiren bir basamağın elenmine edilebileceği fikri, bu çalışma ile ortaya atılmıştır. Bu tez çalışmasının mevcut konuda ileride yapılacak başka çalışmalara öncülük edebileceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Listeria monocytogenes, *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve *Salmonella* spp. mikrobiyal gıda kaynaklı patojenler arasında yer alan ve dünyada ciddi salgınlara neden olan bakterilerdir. *Listeria monocytogenes*, hastaneye yatış oranı en yüksek olan, insan hayatını tehdit eden gıda kaynaklı Listeriozis hastalığının temel etmenidir. Shiga toksin üreten *Escherichia coli* O_{157}:H_7 (STEC), gıdalar ile insanlara bulaşarak birçok hastalığın öncüsü olmakla birlikte, ölümcül sonuçlara neden olan patojenik bir bakteridir. *Salmonella* spp. ise gastroenterit hastalıklar ile kendini gösteren ve dünya genelindeki ölümlerin önde gelen üçüncü nedenlerinden olan Salmonellozis hastalığının ana etmenidir. İnsan yaşamı için önem teşkil eden bu patojenlerin gıdalarda tanımlanma işlemlerinin, kısa süre içerisinde, maliyet bakımından ucuz ve güvenilir bir şekilde yapılması gerekmektedir. Böylece tüketime hazır hâle getirilen etlerin, oldukça kısa ve güvenilir yöntemlerle analizi gerçekleştirilerek, gıda kaynaklı hastalıkların erken safhada önlenmesi sağlanacaktır. Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO), patojen bakterilerin identifikasyonu için geleneksel tanı yöntemlerini standart olarak belirlese de, bu yöntemler yüksek maliyet gerektirmesi, birçok aşamadan oluştuğu için fazla iş yükü içermesinden dolayı önemli dezavantajlara sahiptirler. Yaptığımız bu çalışmada ise, kıyma örneklerinde varlığı araştırılan patojen bakterilerin identifikasyonunda, bahsedilen geleneksel tanı yötemlerinin yerine daha güvenilir, iş yükü daha az, ucuz, hassas ve eş zamanlı sonuçlar verebilen Real-Time PCR metodunun kullanılması önerilmektedir.

Erzurum piyasasından toplanan kıyma numunelerinde gerçekleştirdiğimiz bu çalışma sonucunda, 100 adet kıyma örneğinin 45'inde *Listeria monocytogenes*, 30'unda *Escherichia coli* O_{157}:H_7 ve 29'unda *Salmonella* spp. patojeni pozitif olarak elde edilmiştir. Tüketiciye sunulmak üzere hazır hâle getirildiği sürece kadar et üzerinde gerçekleştirilen her işlemde kontaminasyon riskinin arttığı gerçeği göz önünde bulundurulmalı, sığır ve dana gibi hayvanların kesildiği yerlerde önlemler alınmalı, kullanılacak araç-gereçler steril hâle getirilmeli, etler satış alanlarına götürülünceye kadar soğuk depolarda muhafaza edilmeli, özellikle de etin kıyma formuna dönüşümü sırasında kullanılan kıyma makineleri düzenli olarak temizlenmeli ve bu olgular sürekli olarak kontrol edilmelidir. Sonuç olarak kontaminasyon riskini en aza indirmek için bütün hijyen ve satinasyon kurallarına uyulmalıdır.

Gıdalar üzerinde gelişen patojen bakteri kontaminasyonlarını kontrol edebilmek ve bu sayede ortaya çıkabilecek halk sağlığı sorunlarını en aza indirebilmek için, hızlı ve güvenilir tespit yöntemlerinin kullanılması gerekmektedir. İdentifikasyon için en çok tercih edilen

yöntemlere bakıldığı zaman, kültür temelli yöntemler ile birlikte immünolojik yöntemler de kullanılmaktadır. Fakat bu yöntemlerin ya düşük seviyelerdeki patojen bakterileri tespit etmede yetersiz ya da çok maliyetli olmalarından dolayı, araştırmacılar metagenomik temelli çalışmalara yönelmişlerdir. Gıdalarda Real-Time PCR ile patojen varlığının araştırıldığı çalışmalarda; işlem basamaklarında ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu aşamaları bulunduğu gözlemlenmektedir. Bu da çalışan kişiye fazla iş yükü, zaman ve maliyet olarak geri dönmektedir. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada ise, kıyma örneklerinde *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O_{157}:H_7, *Salmonella* spp. patojenlerinin Real-Time PCR yöntemi ile tespiti, ön zenginleştirme ve DNA izolasyonu gerçekleştirilmeden metagenomik bir metod kullanılarak ilk defa yapılmıştır. Bu yöntem ile daha az maliyet, daha kısa zaman ve en aza indirilmiş iş yükü ile gıdalar üzerinde gelişen patojen bakteriler hassas bir şekilde tespit edilebilecek, bu sayede de insan sağlığını tehdit eden mikrobiyal gıda kaynaklı enfeksiyonların ortaya çıkması önlenecektir.

KAYNAKÇA

Abebe, E., Gugsa, G., & Ahmed, M., 2020. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. *Journal of Tropical Medicine* , 2020.

Abubakar, I., Irvine, L., Aldus, C., Wyatt, G., Fordham, R., Schelenz, S., . . . Avcı, P., 2007. A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food. *Health technology assessment (Winchester, England), 11*(36), 1-216.

Adıgüzel, A., 2006. Bazı Termal Tesislerden Alınan Su Örneklerinden İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Moleküler Karakterizasyonu (Doctoral dissertation, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum).

Akyol, İ., 2018. Development and application of RT-PCR method for common food pathogen presence and quantity in beef, sheep and chicken meat. *Meat science*, *137*, 9-15.

Alişarlı, M., & Akman, H. N., 2004. Perakende Satılan Kıymaların *Escherichia coli* O_{157} Yönünden İncelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15*(1-2), 65-69.

Allerberger, F., & Wagnerb, M., 2010. Listeriozis: a resurgent foodborne infection. *Clinical Microbiology and Infection, 16*(1), 16-23.

Álvarez-Ordóñez, A., Begley, M., Prieto, M., Messens, W., López, M., Bernardo, A., & Hill, C., 2011. *Salmonella* spp. survival strategies within the host gastrointestinal tract. *Microbiology, 157*(12), 3268-3281.

Andrade, R. R., Silva, P. H., Souza, N. R., Murata, L. S., Gonçalves, V. S., & Santana, A. P., 2014. Ocorrência e diferenciação de espécies de Listeria spp. em salsichas tipo hot dog a granel e em amostras de carne moída bovina comercializadas no Distrito Federal. *Ciência Rural, 44*, 147-152.

Ao, T. T., Feasey, N. A., Gordon, M. A., Keddy, K. H., Angulo, F. J., & Crump, J. A., 2015. Global Burden of Invasive Nontyphoidal *Salmonella* Disease, 2010. *Emerging İnfectious Diseases, 21*(6), 941.

Arslan, S., & Eyi, A., 2010. Occurrence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* species in retail meat products. *Journal of food protection, 73*(9), 1613-1617.

Atasever, M. A., & Atasever, M., 2014. Kıymalarda Bazı Patojenlerin İzolasyon ve İdentifikasyonu. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 41*(1), 60-68.

Aydın, A., & Sudağıdan, M., 2016. Gıda Mikrobiyolojisinde Moleküler Biyolojik Tekniklerin Kullanımı ve Tiplendirme Yöntemleri. *Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics, 2*(1), 1-9.

B.Gudbjörnsdóttir, Suihko, M.-L., Gustavsson, P., Thorkelsson, G., Salo, S., Sjöberg, A.-M., . . . Bredholt, S., 2004. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology, 21*(2), 217-225.

Badi, S., Cremonesi, P., Abbassi, M. S., Ibrahim, C., Snoussi, M., Bignoli, G., . . . Hassen, A., 2018. Antibiotic resistance phenotypes and virulence-associated genes in *Escherichia* coli isolated from animals and animal food products in Tunisia. *FEMS microbiology letters, 365*(10), fny088.

Baer-Nawrocka, A., & Sadowski, A., 2019. Food security and food self-sufficiency around the world: A typology of countries. *PLOS one, 14*(3), e0213448.

Berktaş, M., Bozkurt, E. N., Bozkurt, H., Alişarlı, M., & Güdücüoğlu, H., 2006. Et ve et ürünlerinden *Listeria monocytogenes*' in izolasyonu. *Van Tıp Dergisi, 13*(2), 36-41.

Beumer, R. R., & Hazeleger, W. C., 2003. *Listeria monocytogenes*: diagnostic problems. *Immunology & Medical Microbiology, 35*(3), 191-197.

Bianchi, F., & Bogaart, G. v., 2021. Vacuolar escape of foodborne bacterial pathogens. *Journal of Cell Science, 134*(5), jcs247221.

Bintsis, T., 2017. Foodborne pathogens. *AIMS microbiology, 3*(3), 529-563.

Blount, Z. D., 2015. The natural history of model organisms: The unexhausted potential of E. coli. *Elife, 4*, e05826.

Boukhari, E., Mazrou, A. A., Zamil, F. A., & Kilani, R. A., 1999. *Listeria monocytogenes* Bacteremia and Meningitis in a Saudi Newborn. *Annals of Saudi Medicine, 19*(6), 539-540.

Brennan, F. P., Jim Grant, C. H., O'Flaherty, V., Richards, K. G., & Abram, F., 2013. Insights into the low-temperature adaptation and nutritional flexibility of a soil-persistent *Escherichia coli*. *FEMS microbiology ecology, 84*(1), 75-85.

Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B., 2000. *Salmonella* Nomenclature. *Journal of clinical microbiology, 38*(7), 2465-2467.

Buchanan, R. L., Gorris, L. G., Hayman, M. M., Jackson, T. C., & Whitinge, R. C., 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control, 75*, 1-13.

Buncic, S., Nychas, G.-J., Lee, M. R., Koutsoumanis, K., Hébraud, M., Desvaux, M., . . . Antic, D., 2014. Microbial pathogen control in the beef chain: recent research advances. *Meat science, 97*(3), 288-297.

C.Cagney, Crowley, H., Duffy, G., Sheridan, J., SO'Brien, E.Carney, . . . Bishop, R., 2004. Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. *Food Microbiology, 21*(2), 203-212.

Castell, G. S., Serra-Majem, L., & Ribas-Barba, L., 2015. What and how much do we eat? 24-hour dietary recall method. *Nutricion hospitalaria, 31*(3), 46-48.

Catarame, T., O'HANLON, K., MecDowell, D., Blair, I., & Duffy, G., 2006. Comparıson Of A Real-Tıme Polymerase Chaın Reactıon Assay Wıth A Culture Method For The Detectıon Of *Salmonella* In Retaıl Meat Samples. *Journal of food safety, 26*(1), 1-15.

Cerdá, J. P., & Cossart, P., 2019. Microbe Profile: *Listeria monocytogenes*: a paradigm among intracellular bacterial pathogens. *Microbology, 165*(7), 719-721.

Chai, S., Cole, D., Nisler, A., & Mahon, B., 2017. Poultry: The most common food in outbreaks with known pathogens, United States, 1998–2012. *Epidemiology & Infection, 145*(2), 316-325.

Chaudhuri, R. R., & Henderson, I. R., 2012. The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infection, Genetics and Evolution, 12*(2), 214-226.

Chen, Y. Y., Kommadath, A., Vahmani, P., Visvalingam, J., Dugan, M. E., & Yang, X., 2021. Transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* exposed to beef fat reveals antimicrobial and pathogenicity attenuation mechanisms. *Applied and environmental microbiology, 87*(9), e03027-20.

Chinen, I., Tanaro, J. D., Miliwebsky, E., Lound, L. H., GermânChillemi, LedriI, S., . . . Rivas, M., 2001. Isolation and Characterization of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 from Retail Meats in Argentina. *Journal of food protection, 64*(9), 1346-1351.

Chlebicz, A., & Śliżewska, K., 2018. Campylobacteriosis, salmonellosis, yersiniosis, and listeriosis as zoonotic foodborne diseases: a review. *İnternational journal of environmental research and public health, 15*(5), 863.

Cianflone, N. F., 2008. Salmonellosis and the gastrointestinal tract: more than just peanut butter. *Current gastroenterology reports, 10*(4), 424-431.

Demaitre, N., Damme, I. V., Zutter, L. D., Geeraerd, A., Rasschaert, G., & Reu, K. D., 2020. Occurrence, distribution and diversity of *Listeria monocytogenes* contamination on beef and pig carcasses after slaughter. *Meat Science, 169*, 108177.

DO, S. K., & Kristina N. Feja MD, M., 2014. Foodborne Illnesses. *Advances in Pediatrics, 61*(1), 287-312.

Doğan, N., 2019. TRA1 Bölgesinde (Erzurum, Erzincan, Bayburt) Hanelerin Kırmızı Et, Tavuk Eti ve Balık Eti. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 6*(2), 285-295.

Dontorou, C., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Economou, V., Apostolou, I., Zakkas, G., . . . Levidiotou, S., 2003. Isolation of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 from foods in Greece. *International Journal of Food Microbiology, 82*(3), 273-279.

Duze, S. T., Marimani, M., & Patel, M., 2021. Tolerance of *Listeria monocytogenes* to biocides used in food processing environments. *Food Microbiology, 97*.

ECDC., 2019, Mayıs 24. *Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) infection-Annual epidemiological report for 2019*. European Centre for Disease Prevention and Control: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER-STEC-2019.pdf adresinden alındı

Economou, M., Karyda, S., Kansouzidou, A., & Kavaliotis, J., 2000. *Listeria* Meningitis in Children: Report of Two Cases. *Infection, 28*(2), 121-123.

EFSA, E., 2019. The European Union one health 2018 zoonoses report. *EFSA J, 17*(12), e05926.

Elsas, J. D., Semenov, A. V., Costa, R., & Trevors, J. T., 2011. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The ISME journal, 5*(2), 173-183.

European Food Safety Authority, & 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 Journal, 14*(12), e04634.

Fantelli, K., & Stephan, R., 2001. Prevalence and characteristics of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology, 70*(1-2), 63-69.

FAO., 2021. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030.* Food and Agriculture Organization.

Ferrari, R. G., Rosario, D. K., Cunha-Neto, A., Mano, S. B., Figueiredo, E. E., & Conte-Junior, C. A., 2019. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Applied and environmental microbiology, 85*(14), e00591-19.

Frat, J., Veinstein, A., Wager, M., Burucoa, C., & Robert, R., 2001. Reversible acute hydrocephalus complicating *Listeria monocytogenes* meningitis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 20*(7), 512-514.

Fratamico, P. M., 2003. Comparison of culture, polymerase chain reaction (PCR), TaqMan *Salmonella*, and Transia Card *Salmonella* assays for detection of *Salmonella* spp. in naturally-contaminated ground chicken, ground turkey, and ground beef. *Molecular and Cellular Probes, 17*(5), 215-221.

Frenzen, P. D., Drake, A., Angula, F. J., & Group, T. e., 2005. Economic Cost of Illness Due to *Escherichia coli* O_{157} Infections in the United States. *Journal of Food Protection, 68*(12), 2623-2630.

Gallegos-Robles, M., Morales-Loredo, A., Álvarez-Ojeda, G., Osuna-García, J., Martínez, I., Morales-Ramos, L., & Fratamico, P., 2009. PCR Detection and Microbiological Isolation of *Salmonella* spp. from Fresh Beef and Cantaloupes. *Journal of Food Science, 74*(1), M37-M40.

Gasanov, U., Hughes, D., & Hansbro, P. M., 2005. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. *FEMS Microbiology Reviews, 29*(5), 851-875.

Gast, R. K., & Jr., R. E., 2020. *Salmonella* Infections. *Diseases of Poultry*, 717-753.

Gilot, P., Hermans, C., Yde, M., Gigi, J., Janssens, M., Genicot, A., . . . Wauters, G., 1997. Sporadic case of listeriosis associated with the consumption of a *Listeria monocytogenes*-contaminated 'Camembert' cheese. *Journal of Infection, 35*(2), 195-197.

Glaser, P., Frangeul, L., Buchrieser, C., Rusniok, C., Amend, A., Baquero, F., & ... Cossart, P., 2001. Comparative genomics of *Listeria* species. *Science, 294*(5543), 849-852.

Gómez, D., Iguácel, L. P., Rota, M. C., Carramiñana, J. J., Ariño, A., & Yangüela, J., 2015. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products and Meat Processing Plants in Spain. *Foods, 4*(3), 271-282.

Gökmen, M., & Alişar, M., 2003. Van ilinde tüketime sunulan kıymaların bazı patojen bakteriler yönünden incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 14*(1), 27-34.

Hajian, S., Rahimi, E., & Mommtaz, H., 2011. A 3-year study of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in cattle, camel, sheep,goat, chicken and beef minced meat. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology, 9*, s. 163-5.

Harshitha, R., & Arunraj, D. R., 2021. Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. *Biochemistry and Molecular Biology Education, 49*(5), 800-812.

Heymans, R., Vila, A., Heerwaarden, C. A., Jansen, C. C., Castelijn, G. A., Voort, M. v., & Biesta-Peters, E. G., 2018. Rapid detection and differentiation of *Salmonella* species, *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella enteritidis* by multiplex quantitative PCR. *PloS one, 13*(10).

Hussain, M. A., Wang, W., Sun, C., Gu, L., Liu, Z., Yu, T., . . . Hou, J., 2020. Molecular Characterization Of Pathogenic *Salmonella* Spp From Raw Beef In Karachi, Pakistan. *Antibiotics, 9*(2), 73.

https://lpsn.dsmz.de/search?word=listeria

Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T., Saito, A., . . . Kumagai, S., 2000. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. *International Journal of Food Microbiology, 59*(1-2), 73-77.

Ishii, S., Meyer, K. P., & Sadowsky, M. J., 2007. Relationship between Phylogenetic Groups, Genotypic Clusters, and Virulence Gene Profiles of *Escherichia coli* Strains from

Diverse Human and Animal Sources. *Applied and Environmental Microbiology, 73*(78), 5703-5710.

Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M., Byappanahalli, M., Yan, T., & Ishii, S., 2017. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of applied microbiology, 123*(3), 570-581.

Jayasena, D. D., & Jo, C., 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology, 34*(2), 96-108.

Jemmi, T., & Stephan, R., 2006. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. *Rev. sci. tech., 25*(2), 571-580.

Jeong, D., Kim, D.-H., Kang, I.-B., Chon, J.-W., Kim, H., Om, A.-S., . . . Seo, K.-H., 2017. Prevalence and toxin type of *Clostridium perfringens* in beef from four different types of meat markets in Seoul, Korea. *Food science and biotechnology, 26*(2), 545-548.

Jordan, E., Egan, J., Dullea, C., Ward, J., McGillicuddy, K., Murray, G., . . . McDowell, S., 2006. *Salmonella* surveillance in raw and cooked meat and meat products in the Republic of Ireland from 2002 to 2004. *International Journal of Food Microbiology, 112*(1), 66-70.

Kačániová, M., Kluz, M., Petrová, J., Mellen, M., Kunová, S., Haščík, P., & Lopašovský, Ľ. (2015). Incidence of *Listeria monocytogenes* in Meat Product Samples by RealTime PCR. *Mod Chem Appl, 3*, 2.

Kalender, H., 2013. Isolation, Virulence Genes and Antimicrobial Susceptibilities of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O_{157} from Slaughtered Cattle in Abattoirs and Ground Beef Sold in Elazığ. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 19*(3).

Kalyoussef, S., & Feja, K., 2014. Foodborne illnesses. *Advances in pediatrics, 61*(1), 287-312.

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L., 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology, 2*(2), 123-140.

Karmali, M. A., Gannon, V., & Sargeant, J. M., 2010. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Veterinary Microbiology, 140*(3-4), 360-370.

Kasturi, K. N., & Drgon, T., 2017. Real-Time PCR Method for Detection of *Salmonella* spp. in Environmental Samples. *Applied and Environmental Microbiology, 83*(14).

Khen, B. K., Lynch, O. A., Carroll, J., McDowell, D. A., & Duffy, G., 2014. Prevalence and Characteristics of *Salmonella* in the Beef Chain in the Republic of Ireland. *Zoonoses and Public Health, 61*(8), 534-536.

Kocaman, N., & Sarımehmetoğlu, B., 2018. *Listeria monocytogenes* soylarının genetik ve virülens farklılıklar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 89*(1), 97-107.

Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., . . . Zoric, N., 2006. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular aspects of medicine, 27*(2-3), 95-125.

Kurpas, M., Kinga Wieczorek, & Osek, J., 2018. Ready-to-eat meat products as a source of *Listeria monocytogenes*. *Journal of veterinary research, 62*(1), 49.

Kurtz, J. R., Goggins, J. A., & McLachlan, J. B., 2017. *Salmonella* infection: interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology Letters, 190*, 42-50.

Lee, H., & Yoon, Y., 2021. Etiological Agents Implicated in Foodborne Illness World Wide. *Food Science of Animal Resources, 41*(1), 1-7.

Leimbach, A., Hacker, J., & Dobrindt, U., 2013. E. coli as an All-Rounder: The Thin Line Between Commensalism and Pathogenicity. *Between pathogenicity and commensalism*, 3-32.

Li, B., Liu, H., & Wang, W., 2017. Multiplex real-time PCR assay for detection of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and screening for non-O157 Shiga toxin-producing E. coli. *BMC Microbiology, 17*(1), 1-13.

Li, H., Sun, X., Liao, X., & Gänzle, M., 2020. Control of pathogenic and spoilage bacteria in meat and meat products by high pressure: Challenges and future perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19*(6), 3476-3500.

Lomonaco, S., Nucera, D., & Filipello, V., 2015. The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infection, Genetics and Evolution, 35*, 172-183.

Lopes, A. T., Albuquerque, G. R., & Maciel, B. M., 2018. Multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction for Simultaneous Quantification of *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* in Different Food Matrices: Advantages and Disadvantages. *BioMed research international*, 2018.

Lopez-Valladares, G., Danielsson-Tham, M.-L., & Tham, W., 2018. Implicated Food Products for Listeriosis and Changes in Serovars of *Listeria monocytogenes* Affecting Humans in Recent Decades. *Foodborne Pathogens and Disease, 15*(7), 387-397.

LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature: https://lpsn.dsmz.de/search?word=listeria. 16 Kasım 2021.

Luque-Sastre, L., Arroyo, C., Fox, E. M., McMahon, B. J., Bai, L., Li, F., & Fanning, D., 2018. Antimicrobial Resistance in *Listeria* Species. *Microbiology Spectrum, 6*(4), 6-4.

Marinsek, J., & Grebenc, S., 2002. *Listeria monocytogenes* in minced meat and thermally untreated meat products in Slovenia. *Slovenian Veterinary Research (Slovenia)*.

Matsuda, K., 2017. Chapter Two - PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation: Real-Time PCR and Its Substantial Contribution Toward Technological Refinement. *Advances in clinical chemistry, 80*, 45-72.

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

Minor, T., Lasher, A., Klontz, K., Brown, B., Nardinelli, C., & Zorn, D., 2015. The Per Case and Total Annual Costs of Foodborne Illness in the United States. *Risk Analysis, 35*(6), 1125-1139.

Monteiro, L. R., Mesquita, A. J., André, M. C., & Cardoso, J. L., 2013. Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from animal products in a city of Northern Brazil. *Ciência Rural, 43*, 1443-1448.

Montero, D. A., Bodero, M., Riveros, G., Lapierre, L., Gaggero, A., Vidal, R. M., & Vidal, M., 2015. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from a wide variety of ready-to-eat foods and their relationship to clinical strains from listeriosis outbreaks in Chile. *Mikrobiyolojide Sınırlar, 6*, 384.

Müller, K. E., & Rozgonyi, F., 2020. Pathogenesis, clinical characteristics, diagnostics and treatment of bacterial foodborne diseases. *Orvosi Hetilap, 161*(48), 2019-2028.

Navas, J., Ortiz, S., Lopez, P., Jantzen, M. M., Lopez, V., & Martinez-Suarez, J. V., 2006. Evaluation of effects of primary and secondary enrichment for the detection of *Listeria*

monocytogenes by real-time PCR in retail ground chicken meat. *Foodbourne Pathogens & Disease, 3*(4), 347-354.

Nightingale, K. K., Windham, K., & Wiedmann, M., 2005. Evolution and Molecular Phylogeny of *Listeria monocytogenes* Isolated from Human and Animal Listeriosis Cases and Foods. *Journal of Bacteriology, 187*(16), 5537–5551.

Nitecki, S., Teape, N., Carney, B., Slater, J., & Brück, W., 2015. A duplex qPCR for the simultaneous detection of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and *Listeria monocytogenes* using LNA probes. *Letters in Applied Microbiology, 61*(1), 20-27.

Nowrouzian, F., Hesselmar, B., Saalman, R., Strannegård, I.-L., Åberg, N., Wold, A. E., & Adlerberth, I., 2003. *Escherichia coli* in Infants' Intestinal Microflora: Colonization Rate, Strain Turnover, and Virulence Gene Carriage. *Pediatric Research, 54*(1), 8-14.

Orsi, R. H., & Wiedmann, M., 2016. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology And Biotechnology, 100*(12), 5273-5287.

Orsi, R. H., Bakker, H. C., & Wiedmann, M., 2011. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International Journal of Medical Microbiology, 301*(2), 79-96.

Oscar, T., 2014. Use of enrichment real-time PCR to enumerate *Salmonella* on chicken parts. *Journal of food protection, 77*(7), 1086-1092.

Osemwowa, E., Omoruyi, I. M., Kurittu, P., Heikinheimo, A., & Fredriksson-Ahomaa, M., 2021. Bacterial quality and safety of raw beef: A comparison between Finland and Nigeria. *Food Microbiology, 100*.

Özkiraz, A., & Gücükoğlu, A., 2018. Determination of *Listeria monocytogenes* and serotypes in modified atmosphere packed ground and cubed beef samples. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 6*(3), 365-371.

Pateiro, M., Munekata, P. E., Sant'Ana, A. S., Domínguez, R., Rodríguez-Lázaro, D., & Lorenzo, J. M., 2021. Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products. *International Journal of Food Microbiology, 337*.

Pham, O. H., & McSorley, S. J., 2015. Protective host immune responses to *Salmonella* infection. *Future Microbiology, 10*(1), 101-110.

Popa, G. L., & Papa, M. I., 2021. *Salmonella* spp. infection - a continuous threat worldwide. *Germs, 11*(1), 88-96.

Priyanka, B., Patil, R. K., & Dwarakanath, S., 2016. A review on detection methods used for foodborne pathogens. *The Indian journal of medical research, 144*(3), 327.

Radoshevich, L., & Cossart, P., 2018. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nature reviews. Microbiology, 16*(1), 32-46.

Radström, P., Knutsson, R., Wolffs, P., Lövenklev, M., & Löfström, C., 2004. Pre-PCR processing. *Molecular biotechnology, 26*(2), 133-146.

Raheem, D., 2016. Outbreaks of listeriosis associated with deli meats and cheese: an overview. *AIMS Microbiology, 2*(3), 230-250.

Rangel, J. M., Sparling, P. H., Crowe, C., Griffin, P. M., & Swerdlow, D. L., 2005. Epidemiology of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 Outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerging İnfectious Diseases, 11*(4), 603.

Rašeta, M., Mrdović, B., Janković, V., Bečkei, Z., Lakićević, B., Vidanović, D., & Polaček, V., 2017, September. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in meat products, meat preparations and minced meat. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*(Vol. 85, No. 1, p. 012028), IOP Publishing.

Rasmussen, M. A., & Casey, T. A., 2001. Environmental and Food Safety Aspects of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 Infections in Cattle. *Critical Reviews in Microbiology, 27*(2), 57-73.

Reddy, V. S., Palika, R., İsmail, A., Pullakhandam, R., & Reddy, G. B., 2018. Nutrigenomics: Opportunities & challenges for public health nutrition. *Indian Journal of Medical Research, 148*(5), 632.

Robins-Browne, R. M., & Hartland, E. L., 2002. *Escherichia coli* as a cause of diarrhea. *Journal of gastroenterology and hepatology, 17*(4), 467-475.

Ryan, M. P., O'Dwyer, J., & Adley, C. C., 2017. Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*. *BioMed Research İnternational, 2017*.

Sağlam, D., & Şeker, E., 2016. Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenler. *Kocatepe Veterinary Journal, 9*(2), 105-113.

Sancak, Y. C., İşleyici, Ö., & Sağun, E., 2007. Van'da Tüketime Sunulan Bazı Et Ürünlerinde *Listeria monocytogenes* Varlığı. *YYÜ Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 18*(1), 93-99.

Santos, P. D., Widmer, K. W., & Rivera, W. L., 2020. PCR-based detection and serovar identification of *Salmonella* in retail meat collected from wet markets in Metro Manila, Philippines. *PloS one, 15*(9), e0239457.

Sheikh, A. F., Rostami, S., Amin, M., Abbaspour, A., Goudarzi, H., & Hashemzadeh, M., 2013. Isolation and identification of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 from ground beef hamburgers in Khuzestan Province, Iran. *African Journal of Microbiology Research, 7*(5), 413-417.

Siala, M., Barbana, A., Smaoui, S., Hachicha, S., Marouane, C., Kammoun, S., . . . Messadi-Akrout, F. (2017). Screening and Detecting *Salmonella* in Different Food Matrices in Southern Tunisia Using a Combined Enrichment/Real-Time PCR Method: Correlation with Conventional Culture Method. *Frontiers in microbiology, 8*, 2416.

Sılva, A. S., A.A., E., Duarte, Olıveıra, T. A., & Evangelısta-Barreto, N. S., 2020. Identification of *Listeria monocytogenes* in cattle meat using biochemical methods and amplification of the hemolysin gene. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92.

Singh, C., & Roy-Chowdhuri, S., 2016. Quantitative Real-Time PCR: Recent Advances. *Clinical Applications of PCR*, 161-176.

Singh, R., Kaur, S., & Bedi, J. S., 2019. *Listeria* contamination in chevon and mutton from retail meat shops and slaughter house environment of Punjab, India. *FEMS microbiology letters, 366*(9), fnz111.

Siriken, B., Al, G., & Erol, I., 2020. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella Typhimurium* in Ground Beef and Meatball Samples in Samsun, Turkey. *Microbial Drug Resistance, 26*(2), 136-144.

Suo, B., He, Y., Tu, S.-I., & Shi, X., 2010. A multiplex real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O_{157}, and *Listeria monocytogenes* in meat products. *Foodborne pathogens and disease, 7*(6), 619-628.

Suria, M., Azlina, A. A., Zamri, I., Afendy, A. M., H. L., Mariana, N., & Raha, A. (2012). Real-time PCR for detection of fliC gene of *E. coli* O_{157}:H_7 inbeef and chicken meat. *J. Trop. Agric. and Fd. Sc, 40*(1), 81-88.

Swaminathan, B., & Gerner-Smidt, P., 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection, 9*(10), 1236-1243.

Swartz, M. N., 2002. Human Diseases Caused by Foodborne Pathogens of Animal Origin. *Clinical Infectious Diseases, 34*(Supplement_3), S11-S122.

Tajadini, M., Panjehpour, M., & Javanmard, S. H., 2014. Comparison of SYBR Green and TaqMan methods in quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of four adenosine receptor subtypes. *Advanced biomedical research*, 3.

Taylor, C. M., 2008. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* type 1-induced haemolytic uraemic syndrome. *Pediatric nephrology, 23*(9), 1425-1431.

Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E., 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology, 8*(3), 207-217.

Thomas, D. E., & Elliott, E. J., 2013. Interventions for preventing diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: systematic review. *BMC Public Health, 13*(1), 1-18.

Todd, B., 2007. Outbreak: *E. coli* O_{157}: H_7. *AJN The American Journal of Nursing, 107*(2), 29-32.

Türk Gıda Mevzuatı. 2010.

V.Tauxe, R., 2002. Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology, 78*(1-2), 31-41.

Varela-Hernández, J., Cabrera-Diaz, E., Cardona-López, M., Ibarra-Velázquez, L., Rangel-Villalobos, H., Castillo, A., . . . Ramírez-Álvarezb, A., 2007. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. *International Journal of Food Microbiology, 113*(2), 237-241.

Vázquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., Goebel, W., . . . Kreft, J., 2001. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbology Reviews, 14*(3), 584-640.

Vold, L., Holck, A., Wasteson, Y., & Nissen, H., 2000. High levels of background flora inhibits growth of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in ground beef. *International Journal of Food Microbiology, 56*(2-3), 219-225.

Vongkamjan, K., & Wiedmann, M., 2015. Starting from the bench—Prevention and control of foodborne and zoonotic diseases. *Preventive Veterinary Medicine, 118*(2-3), 189-195.

W.Naylor, S., L.Gally, D., & Low, J., 2005. Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine. *International journal of medical microbiology, 295*(6-7), 419-441.

Wadhwa, S. G., Khaled, G. H., & Edberg, S. C., 2008. Comparative Microbial Character of Consumed Food and Drinking Water. *Critical Reviews in Microbiology, 28*(3), 249-279.

Wang, X., Jothikumar, N., & Griffiths, M. W., 2004. Enrichment and DNA Extraction Protocols for the Simultaneous Detection of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in Raw Sausage Meat with Multiplex Real-Time PCR. *Journal of food protection, 67*(1), 189-192.

Wang, Y., Zhu, W., & E.Levy, D., 2006. Nuclear and cytoplasmic mRNA quantification by SYBR green based real-time RT-PCR. *Methods, 39*(4), 356-362.

Watson, D. E., & Li, B., 2005. TaqMan applications in genetic and molecular toxicology. *International journal of toxicology, 24*(3), 139-145.

Winfield, M. D., & Groisman, E. A., 2003. Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology, 69*(7), 3687-3694.

Wolk, A., 2017. Potential health hazards of eating red meat. *Journal of İnternal Medicine, 281*(2), 106-122.

World Health Organization., 2019. *Shiga Toxin-producing Escherichia Coli (STEC) and Food: Attribution, Characterization and Monitoring* (Cilt 19). World Health Organization.

Yang, S. C., C. H., İ. A., & Fang, J.-Y., 2017. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology, 199*(6), 811-825.

Yehia, H. M., Elkhadragy, M. F., Aljahani, A. H., & Alarjani, K. M., 2020. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in camel meat. *Bioscience Reports, 40*(6).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler		
Adı Soyadı	**:**	Büşra TURANOĞLU
Doğum tarihi	**:**	
Doğum Yeri	**:**	
Uyruğu	**:**	
Adres	**:**	
Tel	**:**	
E-mail	**:**	
Eğitim		
Lise	**:**	
Lisans	**:**	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Yüksek lisans	**:**	
Doktora	**:**	-
Yabancı Dil Bilgisi		
İngilizce	:	Orta
Almanca	:	
Rusça	:	
Diğer	:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar		
Tezden Üretilmiş Yayınlar		