

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEŞİTLİ GIDALARDA SHİGA TOKSİN
ÜRETEN *ESCHERİCHİA COLİ* (STEC)
SEROTİPLERİNİN VE BAZI GIDA
PATOJENLERİNİN PREVALANSININ
ARAŞTIRILMASI**

Adem SOYCAN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ
2025

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEŞİTLİ GIDALARDA SHİGA TOKSİN
ÜRETEN *ESCHERİCHİA COLİ* (STEC)
SEROTİPLERİNİN VE BAZI GIDA
PATOJENLERİNİN PREVALANSININ
ARAŞTIRILMASI**

Adem SOYCAN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Devrim DÜNDAR

Destekleyen Kurum: KOÜ BAPSIS: TDK-2024-3838
Etik Kurul Onayı: KOÜ GOKAEK-2024/210

KOCAELİ
2025

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez adı: Çeşitli gıdalarda shiga toksin üreten *Escherichia coli* (STEC) serotiplerinin ve bazı gıda patojenlerinin prevalansının araştırılması

Tez Yazarı: Adem SOYCAN

Tez Savunma Tarihi:18.06.2025

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Devrim DÜNDAR

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		
	ADI SOYADI	İMZA
BAŞKAN (ÜYE)		
DANIŞMAN (ÜYE)		
ÜYE		
ÜYE		
ÜYE		
ÜYE		

Onay:

Bu tez Kocaeli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.

.... /.... /2025

Prof. Dr. Murat KASAP

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Çeşitli Gıdalarda Shiga Toksin Üreten *Escherichia coli* (STEC) Serotiplerinin ve Bazı Gıda Patojenlerinin Prevalansının Araştırılması

Amaç: Gıda kaynaklı hastalıklar toplum sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu hastalıklara, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi patojen mikroorganizmalar neden olabilmektedir. Shiga toksin üreten *Escherichia coli* (STEC) serotipleri, özellikle O157 serotipi ile ilişkilendirilmekle birlikte, O157 dışı STEC serotipleri de giderek artan bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır. Türk Gıda Kodeksi büyük ölçüde *E. coli* O157 serotipine odaklanmakta, diğer serotiplerin ise yalnızca yeşil filizlerde incelenmesi nedeniyle yaygınlıklarına dair veriler sınırlı kalmaktadır. Bu çalışma, Kocaeli ilinde satışa sunulan çiğ hayvansal ve bitkisel gıdalarda O157 ve O157 dışı STEC (O103, O45, O121, O26, O104, O111 ve O145) serotiplerinin varlığını araştırmayı ve diğer önemli bakteriyel patojenlerin yaygınlığını belirlemeyi amaçlamaktadır.

Yöntem: Toplam 220 gıda numunesi (sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt) analiz edilmiştir. Numuneler soğuk zincir koşullarında laboratuvara taşınmış ve analiz edilmiştir. STEC tespiti için ön zenginleştirme ve ardından qPCR analizi yapılmıştır. Şüpheli koloniler seçici besiyerlerine ekildikten sonra *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerinin varlığı qPCR ile analiz edilmiştir. Pozitif izolatlar serotiplendirilmiş; kültür yöntemiyle de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *L. monocytogenes* ve *S. aureus* tespiti yapılmıştır.

Bulgular: STEC pozitiflik oranı %12,27 olup, en yüksek oran sığır eti (%32,65) ve çiğ süt (%13,33) örneklerinde gözlenmiştir. Tavuk eti, yeşil filizler ve balık eti sırasıyla %7,5, %2,27 ve %2,38 oranında STEC içermektedir. STEC pozitif numunelerin %74,1'inde *stx1*, %88,9'unda *stx2* ve %66,7'sinde *eae* genleri tespit edilmiştir. En yaygın serotip O103 (%32,6) olup, bunu O157, O45, O121, O26, O104, O111 ve O145 takip etmiştir. Kültürel analizlerde *Salmonella* spp. %10, *L. monocytogenes* %0,9, *S. aureus* %31,81 ve *E. coli* %59,54 oranında tespit edilirken, *Shigella* spp. saptanmamıştır. *Salmonella* en çok çiğ tavuk ve balık etinde, *S. aureus* ise çiğ süt ve balık etinde görülmüştür. *E. coli* kontaminasyonu en yüksek çiğ süt ve yeşil filizlerde saptanmıştır.

Sonuç: STEC, özellikle O157 dışı serotipleriyle önemli bir halk sağlığı tehdidi

oluşturmaktadır. qPCR gibi moleküler yöntemler, kültürel yöntemlere kıyasla daha etkili sonuçlar sağlamaktadır. O104 serotipinin sığır etinde saptanması, bu serotipin bölgedeki yayılımı açısından dikkat çekicidir. Diğer bakteriyel patojenlerin varlığı ise çiğ et ve süt ürünlerinin yüksek kontaminasyon riski taşıdığını göstermektedir. Hijyen koşullarının iyileştirilmesi ve gıda güvenliği önlemlerinin artırılması önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC), gıda patojenleri, qPCR, O157 dışı serotipler, gıda güvenliği, *Salmonella*, *Shigella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*.



ABSTRACT

Investigation of the Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Serotypes and Certain Foodborne Pathogens in Various Foods

Object: Foodborne illnesses pose a significant threat to public health. These diseases are often caused by pathogenic microorganisms such as *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. Among them, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains are primarily associated with the O157 serotype; however, non-O157 STEC serotypes are increasingly recognized as an emerging public health concern. The Turkish Food Codex predominantly focuses on screening for the *E. coli* O157 serotype, while other clinically relevant serotypes are only routinely tested in sprouted greens, resulting in limited data regarding their prevalence. This study aims to investigate the presence of both O157 and non-O157 STEC serotypes (O103, O45, O121, O26, O104, O111, and O145) in raw animal- and plant-derived foods offered for sale in the Kocaeli province of Türkiye, and to assess the prevalence of other major bacterial pathogens.

Methods: The STEC positivity rate was 12.27%, with the highest prevalence observed in beef (32.65%) and raw milk (13.33%) samples. Chicken meat, leafy greens, and fish contained STEC at rates of 7.5%, 2.27%, and 2.38%, respectively. Among STEC-positive samples, 74.1% harbored the *stx1* gene, 88.9% carried *stx2*, and 66.7% contained the *eae* gene. The most common serotype was O103 (32.6%), followed by O157, O45, O121, O26, O104, O111, and O145. Cultural analyses revealed *Salmonella spp.* in 10%, *L. monocytogenes* in 0.9%, *S. aureus* in 31.81%, and *E. coli* in 59.54% of the samples, while *Shigella spp.* was not detected. *Salmonella* was most frequently found in raw chicken and fish, whereas *S. aureus* was prevalent in raw milk and fish. *E. coli* contamination was highest in raw milk and leafy greens.

Results: A total of 220 food samples (including beef, chicken, fish, leafy greens, and raw milk) were analyzed. The samples were transported to the laboratory under cold chain conditions and subjected to analysis. For STEC detection, a pre-enrichment step was followed by qPCR analysis. Suspected colonies were plated on selective media, and the presence of *stx1*, *stx2*, and *eae* genes was assessed using qPCR. Positive isolates were

serotyped, and conventional culture-based methods were used to detect *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *L. monocytogenes*, and *S. aureus*.

Conclusions: STEC, particularly non-O157 serotypes, poses a significant public health threat. Molecular methods such as qPCR provide more effective results compared to conventional culture-based techniques. The detection of the O104 serotype in beef is noteworthy, as it suggests potential dissemination of this serotype in the region. The presence of other bacterial pathogens indicates a high risk of contamination in raw meat and dairy products. Improvements in hygiene practices and the reinforcement of food safety measures are strongly recommended.

Keywords: Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC), food pathogens, qPCR, non-O157 serotypes, food safety, *Salmonella*, *Shigella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde, danışmanım olarak bana güvenen, bu değerli çalışmayı gerçekleştirmem için her türlü imkanı sağlayan ve her zaman anlayışı, desteği ve şefkatiyle yanımda olan kıymetli hocam Prof. Dr. Devrim DÜNDAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kocaeli Üniversitesinde çalışmaya başladığım günden itibaren bilgisini, tecrübesini ve desteğini esirgemeyen, karşılaştığım her problemde destek olan Tez İzleme Komitesi'ndeki değerli hocalarım Prof. Dr. Fatma BUDAK ve Dr. Öğr. Üyesi Doğanhan Kadir ER'e teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimimde desteklerini eksik etmeyen AD Başkanımız Prof. Dr. Zeki YUMUK, eğitimim süresince emeği geçen değerli hocalarım, Prof. Dr. Sema KEÇELİ, Prof. Dr. Fetiye KOLAYLI, Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ ve Dr. Öğr. Üyesi Erdener BALIKÇI'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Çalışmanın gerçekleşmesinde sağladığı maddi destekleri (Proje No: TDK-2024-3838) için KOÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Kocaeli Gıda Kontrol İl Müdürlüğünde bilgi alışverişinde bulunduğum ve bana her konuda destek veren müdürüm Hasan AKYILDIZ'a, Mikrobiyoloji biriminde bana her türlü desteğini esirgemeyen Mikrobiyoloji Birim Şefim Veteriner Hekim Mahmut Deniz ÇENDEK'e, Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarım Dr. Veteriner Hekim Mustafa BİLGİN, Ziraat Mühendisi Aytekin ÇITIR, Veteriner Hekim Turgut KARAÇAY ve Ziraat Mühendisi Sadık Ömer TURAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında değerli çalışma arkadaşlarım Ar. Gör. Eda YAZICI ÖZÇELİK, Dr. Ramazan ARSLAN, Dr. Mustafa Yasir AYGAN'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı II ve Merkez Laboratuvarı Bakterioloji ve Parazitoloji Laboratuvarında birlikte çalıştığım laboratuvar teknisyenlerine desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Desteğini esirgemeyen Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı Doç. Dr. Recep KALIN'a, desteğini her zaman hissettiğim Dokuz Eylül Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölüm/Anabilim Dalı başkanı Doç. Dr. Nuray Gamze YÖRÜK'e, bana her konuda destek veren Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Fakültesi İstatistik Bölümü Uygulamalı İstatistik Anabilim Dalı başkanı Doç. Dr. Burcu MESTAV'a sonsuz teşekkür ederim.

Bugüne gelmemde her an yanımda olan, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen canım annem Hava SOYCAN, ablam Bilge YİĞİT ve abim Ekrem Akif YİĞİT'e gönülden teşekkür ederim.

Hayat yolculuğumda bana daima güç veren, en büyük destekçim, can yoldaşım ve hayat arkadaşım Pınar SOYCAN'a, varlıklarıyla hayatıma anlam katan, en kıymetli hazinelerim canım kızlarım Bahar İlim SOYCAN ve Doğa SOYCAN'a sonsuz sevgilerimle teşekkür ediyorum.

Ve daima kalbimde yaşattığım, bugünlere gelmemde emeği büyük olan sevgili babam, rahmetli Memduh SOYCAN'a minnetle...



ORİJİNALLİK BİLDİRİMİ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Çeşitli gıdalarda shiga toksin üreten *Escherichia coli* (STEC) serotiplerinin ve bazı gıda patojenlerinin prevalansının araştırılması” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

Adem SOYCAN

18.06.2025

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
ORJİNALLİK BİLDİRİMİ	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvii
ŞEKİLLER	xx
TABLolar	xxiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar (GKH).....	2
1.2. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	5
1.2.1. Taksonomik Durum.....	5
1.2.2. Mikrobiyolojik Özellikleri.....	5
1.2.3. Patogenez.....	8
1.2.5. Başlıca Virülans Faktörleri.....	13
1.2.6. Gıdalarda <i>E. coli</i>	16
1.2.7. Gıdalarda <i>E. coli</i> Tespiti.....	17
1.3. <i>Salmonella</i> spp.	21
1.3.1. Taksonomik Durum.....	21
1.3.2. Mikrobiyolojik Özellikleri.....	22
1.3.3. Patogenez.....	22
1.3.4. Başlıca Virülans Faktörleri.....	24
1.3.5. Gıdalarda <i>Salmonella</i> spp.....	25
1.3.6. Gıdalarda <i>Salmonella</i> spp. Tespiti.....	26
1.4. <i>Listeria monocytogenes</i> (<i>L. monocytogenes</i>)	27
1.4.1. Taksonomik Durum.....	27

1.4.2. Mikrobiyolojik Özellikleri.....	28
1.4.3. Patogenez.....	29
1.4.4. Başlıca Virülans Faktörleri.....	30
1.4.5. Gıdalarda <i>L. monocytogenes</i>	32
1.4.6. Gıdalarda <i>L. monocytogenes</i> Tespiti	33
1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>).....	34
1.5.1. Taksonomik Durum.....	34
1.5.2. Mikrobiyolojik Özellikleri.....	35
1.5.3. Patogenez.....	37
1.5.4. Başlıca Virülans Faktörleri.....	40
1.5.5. Gıdalarda <i>S. aureus</i>	45
1.5.6. Gıdalarda <i>S. aureus</i> Tespiti	45
1.6. <i>Shigella</i> spp.	47
1.6.1. Taksonomik Durum.....	47
1.6.2. Mikrobiyolojik Özellikleri.....	48
1.6.3. Patogenez.....	49
1.6.4. Başlıca Virülans Faktörleri.....	50
1.6.5. Gıdalarda <i>Shigella</i> spp.....	55
1.6.6. Gıdalarda <i>Shigella</i> spp. Tespiti.....	56
2-AMAÇ	58
3- YÖNTEM.....	59
3.1. Örneklerin Alınması.....	59
3.1.1. Çiğ Süt Örneği.....	59
3.1.2. Çiğ Sığır, Tavuk ve Balık Eti Örnekleri	59
3.1.3. Yeşil Filiz Örneği	60
3.2. Kullanılan Besiyerleri	60
3.2.1. Tamponlanmış Peptonlu Su (Buffered Peptone Water)	60
3.2.2. Rappaport-Vasilladis Soya Broth	61

3.2.3. Xylose Lysine Desoxcholate Agar	62
3.2.4. <i>Salmonella-Shigella</i> Agar	62
3.2.5. Selenit Sistin Broth.....	63
3.2.6. Half Frasher Broth	64
3.2.7. Fraser Broth	65
3.2.8. Agar <i>Listeria</i> Ottavian&Agosti	66
3.2.9. Kanlı Agar	67
3.2.10. Baird Parker Agar	67
3.2.11. Tryptone-Bile-Glucuronic Agar	68
3.2.12. CHROMagar™ STEC.....	69
3.2.13. Mineral-Modified Glutamate Medium	69
3.2.14. Modified Trypton Soya Broth	70
3.2.15. Sorbitol MacConkey Agar.....	71
3.2.16. Triple Sugar Iron Agar	71
3.2.17. Lysine Iron Agar.....	72
3.2.18. Nutrient Agar	73
3.3. Kullanılan Laboratuvar Ekipmanları ve Cihazlar	74
3.4. Örneklerin Kültür Yöntem ile İzolasyonu ve Tanımlanması	74
3.4.1. <i>E. coli</i> 'nin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	75
3.4.2. <i>Salmonella</i> spp.'nin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	82
3.4.3. <i>L. monocytogenes</i> 'in İzolasyonu ve Tanımlanması.....	95
3.4.4. <i>S. aureus</i> 'un İzolasyonu ve Tanımlanması	103
3.4.5. <i>Shigella</i> spp. İzolasyonu ve Tanımlanması	108
3.5. Shiga Toksin Üreten <i>E. coli</i> (STEC) Serotiplerinin Moleküler Yöntemle İzolasyonu ve Tanımlanması.....	116
3.5.1. Ön Zenginleştirme	117
3.5.2. DNA İzolasyonu	119

3.5.3. qPCR Prosüdüğü	122
3.5.4. STEC'in Kültür Yöntemi ile İzolasyonu	126
3.6. İstatistik	131
3.7. Etik Kurul Onayı	131
3.8. Proje Desteğı	131
4. BULGULAR	132
4.1. Kültür Yöntemi ile <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> ve <i>Shigella</i> spp. İzolasyonu ve Tanımlanması	132
4.1.1. <i>E. coli</i> 'nin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	132
4.1.2. <i>Salmonella</i> spp.'nin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	141
4.1.3. <i>L. monocytogenes</i> 'in İzolasyonu ve Tanımlanması	150
4.1.4. <i>S. aureus</i> 'un İzolasyonu ve Tanımlanması	154
4.1.5. <i>Shigella</i> spp. 'in İzolasyonu ve Tanımlanması	164
4.2. Shiga toksin üreten <i>E. coli</i> (STEC) Serotiplerinin Moleküler Yöntemle İzolasyonu ve Tanımlanması	164
4.2.1. Örneklerin Taranması	164
4.2.2. STEC'in İzolasyonu	166
5- TARTIŞMA	172
5.1. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde Patojen Varlığı	172
5.1.1. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde <i>E.coli</i> Varlığı	173
5.1.2. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde <i>Salmonella</i> spp. Varlığı	174
5.1.3. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı.....	176
5.1.4. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde <i>S. aureus</i> Varlığı.....	177
5.1.5. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde <i>Shigella</i> spp. Varlığı.....	178
5.1.6. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde STEC Varlığı.....	179
5.2. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde Patojen Varlığı.....	180
5.2.1. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde <i>E.coli</i> Varlığı.....	180
5.2.2. Çiğ Tavuk eti Örneklerinde <i>Salmonella</i> spp. Varlığı	181

5.2.3. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı	182
5.2.4. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde <i>S. aureus</i> Varlığı	184
5.2.5. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde <i>Shigella</i> spp. Varlığı	185
5.2.6. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde STEC Varlığı	186
5.3. Balık Eti Örneklerinde Patojen Varlığı	187
5.3.1. Balık Eti Örneklerinde <i>E.coli</i> Varlığı	188
5.3.2. Balık Eti Örneklerinde <i>Salmonella</i> spp. Varlığı	189
5.3.3. Balık Eti Örneklerinde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı	190
5.3.4. Balık Eti Örneklerinde <i>S. aureus</i> Varlığı	191
5.3.5. Balık Eti Örneklerinde <i>Shigella</i> spp. Varlığı	192
5.3.6. Balık Eti Örneklerinde STEC Varlığı	192
5.4. Yeşil Filiz Örneklerinde Patojen Varlığı	193
5.4.1. Yeşil Filiz Örneklerinde <i>E.coli</i> Varlığı	194
5.4.2. Yeşil Filiz Örneklerinde <i>Salmonella</i> spp. Varlığı	195
5.4.3. Yeşil Filiz Örneklerinde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı	196
5.4.4. Yeşil Filiz Örneklerinde <i>S. aureus</i> Varlığı	197
5.4.5. Yeşil Filiz Örneklerinde <i>Shigella</i> spp. Varlığı	198
5.4.6. Yeşil Filiz Örneklerinde STEC Varlığı	199
5.5. Çiğ Süt Örneklerinde Patojen Varlığı	200
5.5.1. Çiğ Süt Örneklerinde <i>E.coli</i> Varlığı	200
5.5.2. Çiğ Süt Örneklerinde <i>Salmonella</i> spp. Varlığı	201
5.5.3. Çiğ Süt Örneklerinde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı	202
5.5.4. Çiğ Süt Örneklerinde <i>S. aureus</i> Varlığı	204
5.5.5. Çiğ Süt Örneklerinde <i>Shigella</i> spp. Varlığı	205
5.5.6. Çiğ Süt Örneklerinde STEC Varlığı	206
6- SONUÇ VE ÖNERİLER	208
7. KAYNAKLAR	209
8. ÖZGEÇMİŞ	248

EKLER	249
1-EK-1: Etik Kurul Onayı.....	249



SİMGELER VE KISALTMALAR

% : Yüzde

°C : Santigrat derece

ATCC : Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)

BACGene : Bakteriyel Gen Tespit Kiti

BPW : Tamponlanmış Peptonlu Su (Buffered Peptone Water)

CDC : Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention)

CIT : Sodyum Sitrat Kullanımı (Sodium Citrate Utilization)

cm : Santimetre

CT : Döngü Eşiği (Cycle Threshold)

DNA : Deoksiribonükleik Asit (Deoxyribonucleic Acid)

EFSA : Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)

EHEC : Enterohemorajik *Escherichia coli* (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)

ELISA : Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Test (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

EMS : En Muhtemel Sayı

HE : Hektoen Enterik Agarı

HÜS : Hemolitik Üremik Sendrom (Hemolytic Uremic Syndrome)

ISO : Uluslararası Standardizasyon Örgütü (International Organization for Standardization)

kg : Kilogram

kob/g : Koloni oluşturan birim / gram

kob/mL : Koloni oluşturan birim / mililitre

L : Litre

LOD : Tespit Limiti (Limit of Detection)

M : Molar (mol/L)

MAC : MacConkey Agarı

mg : Miligram

ml : Mililitre

mM : Milimolar

mm : Milimetre

MPN : En Muhtemel Sayı (Most Probable Number)

mPCR : Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Multiplex Polymerase Chain Reaction)

mTSB : Modifiye Tripsin Soya Buyyon (Modified Tryptic Soy Broth)

MYP : Mannitol Yumurta Sarısı Polimiksin Agarı (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar)

NA : Besin Agarı (Nutrient Agar)

ng : Nanogram

OIE : Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (World Organisation for Animal Health)

pH : Hidrojen iyon konsantrasyonu

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)

PFGE : Darbeli Alan Jel Elektroforezi (Pulsed-Field Gel Electrophoresis)

qPCR : Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Quantitative Polymerase Chain Reaction)

RAPD : Rastgele Amplifiye Edilmiş Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA)

RNA : Ribonükleik Asit (Ribonucleic Acid)

rpm : Dakikadaki dönüş sayısı (Revolutions per minute)

s : Saniye

SMAC : Sorbitol MacConkey Agarı

SPSS : Sosyal Bilimler için İstatistik Programı (Statistical Package for the Social Sciences)

STEC : Shiga Toksin Üreten *Escherichia coli* (Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*)

TAMRA : Tetrametilrodamin (Tetramethylrhodamine)

TBX : Tryptone Bile X-Gluc Agarı

TSA : Tripsin Soya Agarı (Tryptic Soy Agar)

UV : Ultraviyole (Ultraviolet)

WHO : Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

XLD : Ksiloz Lizin Deoksikolat Agarı

µg : Mikrogram

µL : Mikrolitre

µM : Mikromolar

µm : Mikrometre



ŞEKİLLER

Şekil 3. 1. <i>E.coli</i> (kob/g-mL) dökme yöntemi ile koloni sayım prosedürü akış şeması.....	76
Şekil 3. 2. <i>E.coli</i> (EMS/g)'nin en muhtemel sayı yöntemi ile tarama prosedürünün akış şeması	76
Şekil 3. 3. <i>E. coli</i> analizi ön zenginleştirme	77
Şekil 3. 4. <i>E. coli</i> analizi TBX agar'a ekim.....	78
Şekil 3. 5. <i>E. coli</i> analizi için eritilmiş TBX besiyeri.....	78
Şekil 3. 6. Mineral-Modified Glutamate Medium tüp besiyeri	79
Şekil 3. 7. TBX petrilerinin inkübasyonu.....	79
Şekil 3. 8. TBX agarda <i>E. coli</i> görünümü	80
Şekil 3. 9. İdol testi pozitif mor-menekşe halka oluşumu	80
Şekil 3. 10. EMS yöntemi tüplerin renk değişimi	81
Şekil 3. 11. Metil-Red Testi (MR: +), Voges-Proskauer Testi (VP: -).....	81
Şekil 3. 12. <i>Salmonella</i> spp. tarama prosedürünün akış şeması	83
Şekil 3. 13. <i>Salmonella</i> spp. analizi ön zenginleştirme	84
Şekil 3. 14. <i>Salmonella</i> spp. analizi inkübasyon	84
Şekil 3. 15. RVS seçici zenginleştirme besiyeri	85
Şekil 3. 16. Ekime hazır XLD besiyeri.....	85
Şekil 3. 17. XLD agarda <i>Salmonella</i> spp. koloni görünümü.....	86
Şekil 3. 18. XLD agarda (Solda) ve SS agarda (sağda) <i>Salmonella</i> spp. koloni görünümü	86
Şekil 3. 19. <i>Salmonella</i> spp. TSI agar görünümü	87
Şekil 3. 20. <i>Salmonella</i> spp. LIA görünümü	88
Şekil 3. 21. Katalaz testi	89
Şekil 3. 22. <i>Salmonella</i> spp. Gram boyama mikroskopik görünüm	90
Şekil 3. 23. <i>Salmonella</i> spp. tiplendirmesi için kullanılan XLD agarda örneklerin görünümü.....	91
Şekil 3. 24. <i>Salmonella</i> spp. tiplendirmesi lam aglütinasyon görünümü	91
Şekil 3. 25. API 20E biyokimyasal test kiti ilk görünüm	93
Şekil 3. 26. <i>Salmonella</i> spp. API 20E biyokimyasal test kitinin reaktif kullanmadan önce görünümü.....	94
Şekil 3. 27. API 20E <i>Salmonella</i> spp. pozitif görünüm.....	95

Şekil 3. 28. <i>L. monocytogenes</i> 'in tarama prosedürünün akış şeması	96
Şekil 3. 29. <i>L. monocytogenes</i> Analizi İnkübasyon	96
Şekil 3. 30. Selektif zenginleştirme için kullanılan Fraser Broth tüplerin görünümü	97
Şekil 3. 31. Selektif besiyerinden ALOA agara ekim	97
Şekil 3. 32. ALOA agarda <i>L. monocytogenes</i> koloni görünümü	98
Şekil 3. 33. <i>L. monocytogenes</i> Gram boyama mikrobik görünüm	99
Şekil 3. 34. <i>L. monocytogenes</i> katalaz testi	99
Şekil 3. 35. <i>L. monocytogenes</i> ' in kanlı agarda β -hemoliz görünümü.....	100
Şekil 3. 36. <i>L. monocytogenes</i> CAMP testi pozitif görünüm	101
Şekil 3. 37. SIM mediumda hareketli <i>L. monocytogenes</i> 'in şemsiye görünümü	101
Şekil 3. 38. Microgen™ <i>Listeria</i> -ID System Biyokimyasal Test Kiti ilk görünüm	102
Şekil 3. 39. Microgen™ <i>Listeria</i> -ID System biyokimyasal test kiti <i>L. monocytogenes</i> pozitif renk değişimi.....	103
Şekil 3. 40. <i>S. aureus</i> 'un tarama prosedürünün akış şeması.....	104
Şekil 3. 41. <i>S. aureus</i> analizi ekim öncesi BPA besiyeri petrileri.....	105
Şekil 3. 42. <i>S. aureus</i> analizi BPA besiyeri petrilerine ekim sonrası inkübasyon	105
Şekil 3. 43. <i>S. aureus</i> kolonilerinin BPA besiyerinde görünümü	106
Şekil 3. 44. Tüpte koagülaz test sonucu pozitif <i>S. aureus</i> görünümü.....	107
Şekil 3. 45. Microgen Staph Latex test kiti görünümü	108
Şekil 3. 46. Microgen Staph Latex test kiti aglütinasyon görüntüsü	108
Şekil 3. 47. <i>Shigella</i> spp. 'nin tarama prosedürünün akış şeması.....	109
Şekil 3. 48. <i>Shigella</i> spp. analizi ön zenginleştirme	110
Şekil 3. 49. <i>Shigella</i> Broth selektif zenginleştirme tüpleri	110
Şekil 3. 50. <i>Shigella</i> broth tüplerinin inkübasyon sonrası XLD agara ekimi	111
Şekil 3. 51. <i>Shigella</i> spp. kolonilerinin XLD agarda görünümü	112
Şekil 3. 52. TSI agarda <i>Shigella</i> spp. görünümü	113
Şekil 3. 53. LIA besiyerinde <i>Shigella</i> spp. görünümü	113
Şekil 3. 54. Katalaz testi	114
Şekil 3. 55. <i>Shigella</i> spp. Gram boyama sonrası mikrobik görünümü.....	115
Şekil 3. 56. API 20 E test kiti <i>Shigella</i> spp. ilk görünüm	115
Şekil 3. 57. API 20 E test kiti reaktif damlatılmadan <i>Shigella</i> spp. önceki görünümü	116
Şekil 3. 58. API 20 E test kiti pozitif <i>Shigella</i> spp. görünümü	116
Şekil 3. 59. STEC serotiplerinin moleküler yöntemle tespit şeması	117
Şekil 3. 60. Novobiocin katkılı mTSB besiyeri.....	118

Şekil 3. 61. STEC analizi ön zenginleştirme	118
Şekil 3. 62. STEC analizi inkübasyon	119
Şekil 3. 63. STEC ön zenginleştirme sıvısının inkübasyon sonrası mikro santrifüj tüplerine aktarım.....	120
Şekil 3. 64. Reaksiyon tüpülerinin 65 °C’de 30-45 dakika inkübe edilmesi.....	120
Şekil 3. 65. Spektrofotometre (NanoPhotometer NP80) cihazında saflık ölçümü.....	122
Şekil 3. 66. Gerçek zamanlı Real-Time PCR (qPCR)	123
Şekil 3. 67. qPCR ile <i>stx</i> ve/veya <i>eae</i> genleri açısından pozitif belirlenen örneklerde STEC izolasyonu ve tanımlanmasına yönelik kültürel analiz basamakları	126
Şekil 3. 68. CHROMagar™ STEC agarda muhtemel STEC koloni görünümü.....	127
Şekil 3. 69. CHROMagar™ STEC agar oluşturulan havuzların görünümü	128
Şekil 3. 70. <i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i> genleri açısından pozitif saptanan havuzdan izole edilen tek koloninin kültürdeki görünümü	129
Şekil 3. 71. Kaynatma yöntemi ile DNA ekstraksiyonu.....	130
Şekil 4. 1. Bölgelere göre <i>E. coli</i> pozitiflik oranları (çubuk grafik).....	140
Şekil 4. 2. Örneklerle göre <i>E. coli</i> pozitiflik oranları (çubuk grafik)	141
Şekil 4. 3. Bölgelere <i>Salmonella</i> spp. pozitiflik oranları (çubuk grafik).....	149
Şekil 4. 4. Örneklerle göre <i>Salmonella</i> spp. pozitiflik oranları (çubuk grafik)	150
Şekil 4. 5. Bölgelere göre <i>L. monocytogenes</i> pozitiflik oranları (çubuk grafik)	153
Şekil 4. 6. Örneklerle göre <i>L. monocytogenes</i> pozitiflik oranları (çubuk grafik).....	154
Şekil 4. 7. Bölgelere göre <i>S. aureus</i> pozitiflik oranları (çubuk grafik)	163
Şekil 4. 8. Örneklerle göre <i>S. aureus</i> pozitiflik oranları (çubuk grafik)	164
Şekil 4. 9. qPCR ile taranan 220 gıda örneğinde tespit edilen hedef genlerin dağılımı ve STEC açısından değerlendirilen pozitif örnek sayıları.....	165
Şekil 4. 10. Bölgelere göre örneklerdeki <i>stx</i> ve <i>eae</i> genlerini gösteren çubuk grafik	167

TABLolar

Tablo 3. 1. ISO 7218 üçlü tüp yöntemi derecelendirme ölçeği	82
Tablo 3. 2. API 20 E test sisteminde yer alan biyokimyasal testler ve test sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler.....	92
Tablo 3. 3. API 20 E test sisteminde kullanılan reaktifler ve testlerin sonuçları.....	93
Tablo 3. 4. API 20 E test sisteminde kullanılan reaktiflerin içerikleri.....	94
Tablo 3. 5. Microgen™ <i>Listeria</i> -ID System test kitinde bulunan biyokimyasal testler ve bu testlerin sonuçlarını değerlendirmek için kullanılan kriterler.....	103
Tablo 3. 6. Virölans genlerini ve O157'i taramak için kullanılan qPCR programının adımları ve detayları.	124
Tablo 3. 7. O104'ü taramak için kullanılan innuDETECT <i>E.coli</i> O104 Assay kit qPCR programının adımları ve detayları.	124
Tablo 3. 8. O26, O103, O111, O121, O45 ve O145 taramak için kullanılan BACGene Mplex STEC SEROtype1 ve STEC SEROtype2 kit qPCR programının adımları ve detayları.	124
Tablo 3. 9. qPCR testlerinde kullanılan primerler ve probler listesi.	125
Tablo 4. 1. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve <i>E. coli</i> (kob/g) sonuçları.....	132
Tablo 4. 2. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve <i>E. coli</i> (kob/g) sonuçları.....	134
Tablo 4.3. Balık eti örneklerinin alındığı yer ve <i>E. coli</i> (kob/g) sonuçları.....	135
Tablo 4.4. Yeşil filiz örneklerinin alındığı yer ve <i>E. coli</i> (kob/g) sonuçları	136
Tablo 4.5. Çiğ süt örneklerinin alındığı yer ve <i>E.coli</i> (kob/mL) sonuçları.....	138
Tablo 4. 6. <i>E.coli</i> koloni sayımlarının bölgelere göre oranları	139
Tablo 4. 7. Bölgelere göre <i>E. coli</i> tespit edilen örnek sayısı ve oranları	140
Tablo 4. 8. Örneklerle göre <i>E.coli</i> tespit edilen örnek sayısı ve oranları.....	141
Tablo 4.9. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve <i>Salmonella</i> spp. sonuçları	141
Tablo 4.10. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve <i>Salmonella</i> spp. sonuçları.....	143
Tablo 4.11. Balık eti örneklerinin alındığı yer ve <i>Salmonella</i> spp. sonuçları.....	144
Tablo 4.12. Yeşil filiz örneklerinin alındığı yer ve <i>Salmonella</i> spp. sonuçları.....	145
Tablo 4.13.Çiğ süt örneklerinin alındığı yer ve <i>Salmonella</i> spp. sonuçları.....	147
Tablo 4.14. <i>Salmonella</i> tanımlama ve tiplendireme sonuçları.....	148
Tablo 4. 15. Bölgelere göre <i>Salmonella</i> spp. tespit edilen örnek sayısı ve oranları	149

Tablo 4. 16. Örneklere göre <i>Salmonella</i> spp. tespit edilen örnek sayısı ve oranları.....	149
Tablo 4.17. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve <i>L. monocytogenes</i> sonuçları	150
Tablo 4.18. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve <i>L. monocytogenes</i> sonuçları	152
Tablo 4. 19. Bölgelere göre <i>L. monocytogenes</i> tespit edilen örnek sayısı ve oranları.....	153
Tablo 4. 20. Örneklere göre <i>L. monocytogenes</i> tespit edilen örnek sayısı ve oranları	154
Tablo 4.21. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve <i>S. aureus</i> (kob/g) sonuçları	154
Tablo 4.22. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve <i>S. aureus</i> (kob/g) sonuçları.....	156
Tablo 4.23. Balık eti örneklerinin alındığı yer ve <i>S. aureus</i> (kob/g) sonuçları.....	157
Tablo 4.24. Yeşil filiz örneklerinin alındığı yer ve <i>S. aureus</i> (kob/g) sonuçları	159
Tablo 4.25. Çiğ süt örneklerinin alındığı yer ve <i>S. aureus</i> (kob/mL) sonuçları	160
Tablo 4. 26. <i>S. aureus</i> koloni sayılarının bölgelere göre sıklık oranları	162
Tablo 4. 27. Bölgelere göre <i>S. aureus</i> tespit edilen örnek sayısı ve oranları	162
Tablo 4. 28. Örneklere göre <i>S. aureus</i> tespit edilen örnek sayısı ve oranları	163
Tablo 4.29. qPCR ile <i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i> genleri pozitif olarak tespit edilen örnek sayılarının gıda türlerine ve gen kombinasyonlarına göre dağılımı	164
Tablo 4.30. <i>stx</i> ve/veya <i>eae</i> pozitif örneklerin ürün gruplarına göre dağılımı.....	165
Tablo 4. 31. Bölgelere göre örneklerdeki <i>stx</i> ve <i>eae</i> genlerin dağılımı	166
Tablo 4.32. qPCR ile taramada virülans genleri pozitif olan örneklerin serotip dağılımı .	167
Tablo 4.33. qPCR ile taramada virülans genleri pozitif olan örneklerin dağılımı	168
Tablo 4.34. STEC izolatlarında bölge, ürün, gen ve serotip dağılımı	169
Tablo 4. 35. Örnek türüne göre <i>stx</i> ve <i>eae</i> genlerinin dağılımı ve istatistiksel analizi (n%)	170

1. GİRİŞ

Gıda mikrobiyolojisi, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların genel biyolojilerini; gelişim özellikleri, tanımlanması ve patojenik özellikleriyle birlikte inceleyen bir bilim dalıdır. Bu alan özellikle gıda bozulmaları, gıda zehirlenmeleri, gıdaların korunması ve gıda düzenlemeleri gibi konuları içerir. Ürünlerde bulunan patojenler veya zararlı mikroorganizmalar, küresel çapta önemli halk sağlığı sorunlarına neden olur (Hueston & Bryant, 2005).

Gıda kaynaklı hastalıklar (GKH), yalnızca bir toplumun sağlığına değil, aynı zamanda ülkelerin sosyo-ekonomik gelişimine de olumsuz etkilerde bulunan önemli bir küresel sağlık sorunudur. Bu hastalıkların çoğu, zoonotik kökenlidir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)'nın Avrupa'daki zoonozlarla ilgili raporuna göre, Salmonelloz Avrupa Birliği'nde en yüksek insidansa sahip zoonotik hastalıklar arasında ikinci sıradadır. Üçüncü sırada, *Listeria* enfeksiyonları yer almakta ve dördüncü sırada Shiga toksini üreten *Escherichia coli* (STEC) enfeksiyonları bulunmaktadır (EFSA, 2023).

Bakteriyel bulaşma, dışkı ile kirlenmiş nesnelerle doğrudan veya dolaylı temas sonucu meydana gelir. Yiyecekler, su, eller ve tırnaklar bu bulaşmada önemli rol oynar ve hijyen eksikliği durumunda bakterilerin insandan insana kolayca yayılmasına zemin hazırlar (Gashaw Andargie, Afework Kassu, Feleke Moges, Moges Tiruneh, & Kahsay Huruy, 2008). GKH riski, gıdanın üretim, işleme ve tüketim aşamalarında karşılaşılan biyolojik ve kimyasal kirlenme artışıyla önemli ölçüde artmaktadır (F. Käferstein & Abdussalam, 1999).

Gıda üretimi ve satışıyla ilgilenen bireyler, çeşitli patojenlerle temas edebilmekte ve bu durum, enfeksiyonların toplumda geniş bir halk kitlesine ve hastanelerdeki hastalara yayılmasına aracılık ederek ciddi bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır (Khurana, Taneja, Thapar, Sharma, & Malla, 2008).

Son yıllarda, özellikle O157 olmayan STEC' nin diğer serotipleri tarafından tetiklenen HÜS vakalarında artış gözlemlenmiştir (Kalchayanand, Terrance, Bosilevac, & Wheeler, 2012; Valilis, Ramsey, Sidiq, & DuPont, 2018). Bu durum, gıda kaynaklı patojenlerin toplum sağlığı üzerindeki etkisini gözler önüne sermekte ve güvenli gıda üretiminin önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. GKH' lar, kontamine yiyecek ve içecekler

yoluyla insanlara bulaşarak ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (C. Franz ve ark., 2018).

1.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar (GKH)

GKH, dünya genelinde gıda güvenliği sistemlerinin etkinliğiyle doğrudan ilişkili olup, ülkelerin sosyal, ekonomik ve sağlık politikalarını önemli ölçüde etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. (Newell ve ark., 2010). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, her yıl milyonlarca insan GKH' lardan etkilenmekte, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde bu hastalıklar yüksek morbidite ve mortalite oranlarına yol açmaktadır (Havelaar ve ark., 2015). GKH, kirlenmiş kaynaklardan gelen bakteri, parazit, virüs, toksin ve metallerin sindirilmesiyle meydana gelebilmektedir. Bu etkenler, doğrudan kontamine gıdaların tüketilmesi veya çapraz kontaminasyon yoluyla insanlara bulaşabilir. Bu etkenlerin bulaşması sonucu enfekte olan bireylerde, genellikle hafif ve kendiliğinden geçen kusma ile ishal gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (Thomas ve ark., 2013).

Ancak bazı gıda kaynaklı patojenler, akut gastroenteritin ötesinde uzun vadeli sağlık sorunlarına da neden olabilir. Örneğin, *E. coli* O157:H7 gibi STEC serotipleri HÜS gelişimine yol açabilirken, *L. monocytogenes* enfeksiyonu menenjit veya sepsis gibi ciddi klinik tablolara neden olabilmektedir (Hoffmann, Batz, & Morris Jr, 2012).

Çok küçük çocuklarda ve/veya yaşlılarda, hamilelerde ve bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde ciddi ve hayatı tehdit eden nörolojik durumlar ortaya çıkabilir (Scallan ve ark., 2011; Thomas ve ark., 2013). Hamile kadınlarda listeriyoz gibi bazı gıda kaynaklı enfeksiyonlar, fetüs üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir ve düşük ya da ölü doğum riski oluşturabilir (Silk ve ark., 2012). GKH' ın toplum sağlığı üzerindeki etkisi büyük ölçüde bu patojenlerin bulaşma yollarına ve kaynaklarına bağlıdır. Gıda üretim zincirindeki her aşama birincil üretim, işleme, depolama, dağıtım ve tüketim kontaminasyon için potansiyel bir risk oluşturmaktadır. Gıda üretiminden tüketime kadar geçen süreçte hijyen koşullarının yetersizliği, kontaminasyon riskini artırarak hastalıkların yayılmasına zemin hazırlar. Bu bağlamda, gıdayla bulaşan hastalıkların temel nedenlerini anlamak, etkili kontrol ve önleme stratejileri geliştirmek açısından büyük önem taşımaktadır (Tauxe, Doyle, Kuchenmüller, Schlundt, & Stein, 2010). Özellikle küreselleşen gıda ticareti ve endüstriyel üretim süreçleri, gıda kaynaklı salgınların geniş coğrafi bölgelere yayılmasını hızlandırmakta ve daha karmaşık bir izleme ve kontrol mekanizması gerektirmektedir (F. K. Käferstein, Motarjemi, & Bettcher, 1997).

Gıda güvenliğinin sağlanması için ulusal ve uluslararası düzeyde yürütülen izleme

programları, risk analizleri ve düzenleyici çerçeveler, patojenlerin erken tespitini ve yayılımının önlenmesini amaçlamaktadır (Savelli, Bradshaw, Ben Embarek, & Mateus, 2019).

GKH'ların ortaya çıkmasında en kritik faktörlerden biri, kontaminasyonun gıda tedarik zincirinin herhangi bir aşamasında meydana gelebilmesidir. Çiftlikten sofraya yolculuk, hasat öncesinden hasat sonrasına kadar birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikenin bulaşma riski taşıdığı giderek karmaşıklaşan bir sistemdir (Baraketi, Salmieri, & Lacroix, 2018). Bu süreçte, kontaminasyonun kaynağına bağlı olarak, farklı patojenlerin gıdalara bulaşması ve bu bulaşmanın önlenmesi için alınacak kontrol önlemleri de çeşitlilik göstermektedir. Gıda ürünlerinin kontaminasyonu, patojenlerin bulaşması, yok edilememesi veya hatalı işleme uygulamaları nedeniyle çiftlikten çatala sürecinde meydana gelen hatalardan kaynaklanır (Lukacsovics, Hatcher, & Papadopoulos, 2014).

Özellikle birincil üretim aşamasında hijyen önlemlerinin yetersiz olması veya gıda güvenliği protokollerine uyulmaması, kontaminasyon riskini artırarak halk sağlığına yönelik önemli tehditler oluşturabilmektedir (Hanning, Nutt, & Ricke, 2009).

Hasat öncesi aşamada, patojenlerin çevresel kaynaklar aracılığıyla bulaşması ve yayılması için birçok risk faktörü bulunmaktadır; bunlar arasında su, toprak, gübre, hava, tarım makineleri, işçiler, yaban hayatı, kuşlar, böcekler ve kemirgenler yer almaktadır. Özellikle hayvan kaynaklı gübrelerin kullanımı ve kontamine sulama suları, tarım ürünlerinde ciddi mikrobiyal bulaşma riskleri oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalar, gıda üretiminde kullanılan sulama sularının, özellikle *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi patojenleri içerebileceğini ve tarımsal ürünlerin doğrudan kontaminasyonuna neden olabileceğini göstermektedir (Erickson, Islam, Sheppard, Liao, & Doyle, 2004). Ek olarak, gıda kaynaklı patojenlerin büyük bir kısmı zoonotik karakterdedir ve bu patojenler, başta çiftlik hayvanları olmak üzere hayvansal üretim zinciri aracılığıyla doğrudan ya da dolaylı olarak insanlara bulaşabilmektedir (Abebe, Gugsu, & Ahmed, 2020).

Zoonotik gıda kaynaklı patojenler arasında, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *E. coli* gibi mikroorganizmalar yer almaktadır (Ali & Alsayeqh, 2022). Bu patojenlerin bulaşmasında ön-hasat aşamasında gübre ve kontamine sulama en önemli iki kaynak olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, hayvanların sindirim sistemlerinde doğal olarak bulunan bazı patojenlerin (örneğin, STEC serotipleri) dışkı yoluyla çevreye yayılması ve tarımsal alanlarda kontaminasyona neden olması da gıda güvenliği açısından ciddi bir risk teşkil etmektedir (Darabă, 2021). Tarlaya ulaştıklarında uygun çevre koşullarıyla hayatta kalıp

çoğalabilen bu patojenler, sebze ve meyveler gibi çiğ tüketilen ürünlerin kontamine olma riskini önemli ölçüde artırmaktadır (Park ve ark., 2012). Özellikle, tarladan sofraya doğrudan ulaştırılan ve ısıtılma işlemi görmeden tüketilen ürünlerde, kontaminasyonun önlenmesi için etkili hijyen ve sanitasyon uygulamalarının hayata geçirilmesi gerekmektedir. Gıda üretim süreçlerinde karşılaşılan bu bulaşma riskleri, gıda kaynaklı hastalıkların yaygınlığını ve halk sağlığı üzerindeki etkisini giderek artırmaktadır. Son yıllarda, küreselleşen gıda ticareti, endüstriyel üretim süreçlerindeki büyüme ve değişen tüketim alışkanlıkları, gıda kaynaklı hastalıkların sadece üretildiği bölgelerde değil, geniş coğrafi alanlarda yayılmasına neden olmaktadır. Bu durum, gıda güvenliği önlemlerinin önemini daha da artırmaktadır (Tauxe, 2001).

Gıda üretim süreçlerinde uygulanan mikrobiyolojik izleme ve kalite kontrol programları, bulaşma kaynaklarının belirlenmesi ve kontrol altına alınmasında kritik bir rol oynamaktadır (Gil ve ark., 2015). Bu nedenle, çiftlikten sofraya kadar olan süreçte bütüncül bir gıda güvenliği yaklaşımının benimsenmesi, zoonotik patojenlerin yayılımını engellemek ve gıda kaynaklı hastalıkların küresel ölçekte kontrolünü sağlamak için kaçınılmaz bir gereklilik olarak görülmektedir.

İklimle ilgili faktörler, sıcaklık ve yağış düzenlerindeki değişiklikler, aşırı hava olaylarının daha sık ve şiddetli hale gelmesi, okyanusların ısınması ve asitlenmesi, ayrıca karmaşık kirleticilerin taşınma yollarındaki değişiklikler yoluyla gıda güvenliğini etkileyebilir. Aşırı hava olaylarının ardından gıda kaynaklarının sanitasyonu endişe vericidir, çünkü bu olaylar toprağı, suyu, gıdaları ve hayvan yemini patojenler, kimyasallar veya diğer tehlikelerle kirletebilir (Tirado ve ark., 2010).

Önceki araştırmalar, ortam sıcaklığı ile GKH' lar arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Kovats, Avrupa'daki 10 farklı popülasyonda sıcaklık artışı ile rapor edilen Salmonelloz vakaları arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermiştir (Kovats ve ark., 2004).

İklim değişikliğinin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri, gıda sisteminin ve halk sağlığının mevcut gıda kaynaklı patojenlere yanıt verme kapasitesine ve bunların iklim değişikliğine karşı uyum sağlama potansiyeline bağlı olabilmektedir (Lake & Barker, 2018).

GKH' ların etkenleri arasında yer alan patojenler, farklı çevresel ve iklimsel faktörlerden etkilenecek insan sağlığı üzerinde ciddi riskler oluşturabilmektedir. İklimsel değişiklikler ve çevresel faktörler, gıda kaynaklı hastalıkların dinamiklerini etkileyerek belirli patojenlerin yayılımını, bulaş yollarını ve hayatta kalma yeteneklerini

değiştirebilmektedir. Bu çerçevede, gıda güvenliğini tehdit eden mikroorganizmaların her biri, özgün biyolojik özellikleri, bulaş mekanizmaları ve oluşturdıkları sağlık riskleri açısından ayrı ayrı ele alınmalıdır (Duchenne, Ranghoo-Sanmukhiya, & Neetoo, 2021).

1.2. *Escherichia coli* (*E. coli*)

1.2.1. Taksonomik Durum

E. coli; Bacteria aleminin, Proteobacteria bölümü, Gammaproteobacteria sınıfı, Enterobacteriales takımı, Enterobacteriaceae ailesi, *Escherichia* cinsinin alt türü olarak sınıflandırılmaktadır (Koutsokostas ve ark., 2024).

Escherichia cinsi, başta insan ve hayvanların sindirim sistemleri olmak üzere toprak, su ve gıda gibi çeşitli çevresel ortamlarda bulunabilen pek çok türü kapsamaktadır. Bunlardan en önemlisi *E. coli*' dir (Yu, Banting, & Neumann, 2021).

E. coli' nin taksonomik sınırları, 1960'lerden itibaren DNA-DNA hibridizasyonu ve daha sonra 16S rRNA dizi benzerliği, ortalama nükleotid benzerliği gibi moleküler ölçütlerin kullanılmaya başlanmasıyla önemli ölçüde yeniden şekillenmiştir (Konstantinidis & Tiedje, 2005). Moleküler analizler sonucunda *E. coli* içinde A, B1, B2, D, E ve F olmak üzere altı büyük klad tanımlanmıştır; ayrıca çevresel örneklerden izole edilen ve "kriptik klad" olarak adlandırılan I-V arası beş kladın da bu türün evrimsel çeşitliliğini yansıttığı belirtilmektedir (Mohammed, Al Marjani, & Authman, 2024; Walk ve ark., 2009).

E. coli hem klasik biyokimyasal testlerle hem de güncel moleküler verilerle tanımlanabilmektedir. Bununla birlikte, tür içi genetik, fenotipik ve ekolojik çeşitliliği oldukça fazladır. Bu durum, *E. coli*'nin yalnızca tipik bir bakteri türü değil, aynı zamanda çok sayıda farklı konak organizmaya ve çevresel ortama uyum sağlayabilen dinamik bir tür kompleksi olduğunu ortaya koymaktadır (Cobo-Simón, Hart, & Ochman, 2023; Yu ve ark., 2021).

1.2.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

E. coli, yaklaşık 1,1–1,5 µm çapında ve 2–6 µm uzunluğunda, çomak şeklinde morfolojiye sahip gram-negatif bir bakteri olarak tanımlanmaktadır. Ancak bu morfolojik özelliklerin, çevresel koşullar ve kullanılan besiyerinin özelliklerine bağlı olarak belirgin şekilde değişkenlik gösterebildiği bildirilmektedir (Desmarchelier & Fegan, 2016; Leung & Gallant, 2014).

Genellikle sıvı ortamlarda peritrik flagellalar aracılığıyla hareket edebildiği bildirilmektedir; nitekim çoğu *E. coli* suşu hareketlidir, ancak bazı suşlar flagella üretmeyerek hareketsiz olabilir. Ayrıca, fimbriae gibi iplikli yapılardan oluşan çeşitli uzantıların üretilbildiği ve bu yapıların fimbrillin proteininden oluşan kısa ve ince kıl benzeri lifler şeklinde olduğu belirtilmektedir. Bu yapılar, hareketli veya hareketsiz olmasına bakılmaksızın birçok suşta bulunmakta olup, bakterilerin konakçı dokular da dahil olmak üzere çeşitli yüzeylere ve diğer hücrelere tutunmasını sağlamaktadır (de Vigilancia Epidemiológica, 2015; Sangwan, 2016).

Bir diğer önemli yapı olan pili, Gram-negatif bakterilerin yüzeyinden az sayıda (hücre başına 1-10'dan az) uzanan, bakteri konjugasyonu sırasında gen aktarımı için kullanılan, pilin proteininden oluşan kalın boru şeklinde bir yapıdır. Genellikle tek başına veya çiftler halinde düzenlenen *E. coli* spor oluşturmaz ancak bazı suşların kapsülleri veya mikrokapsülleri olabilir (Dodd, Aldsworth, & Stein, 2017; Grumezescu & Holban, 2018).

E. coli, aerobik ve fakültatif anaerobik özellik gösteren bir mikroorganizmadır; bu yönüyle yalnızca oksijenin varlığında değil, oksijensiz ortamlarda da gelişimini sürdürebilmektedir. Bu durum, bakterinin hem solunum hem de fermantasyon temelli metabolik süreçlere adapte olduğunu göstermektedir. Anaerobik koşullarda, karbonhidratların fermantasyonu yoluyla karbondioksit gazının yanı sıra laktat, asetat ve format gibi çeşitli karışık asitlerin üretildiği bir metabolik faaliyet yürütülmektedir. Bununla birlikte, *E. coli* anaerobik solunum mekanizmasıyla da çoğalabilmektedir. Bu alternatif solunum şekli, nitrat redüktaz enziminin etkisiyle nitrat (NO_3), nitrit (NO_2) veya fumarat gibi bileşiklerin son elektron alıcısı olarak kullanılması esasına dayanmaktadır. Söz konusu metabolik esneklik, bakterinin hem bağırsak ortamında hem de dış çevrede değişen çevresel koşullara yüksek derecede adaptasyon gösterebilmesini mümkün kılmaktadır (Batt, 2014; Sangwan, 2016; Todar, 2006).

E. coli, kemoorganotrofik ve heterotrofik (kemoorganoheterotrofik) metabolizmaya sahip bir bakteri olarak, enerjisini organik karbon bileşiklerinden elde etmektedir. Bu metabolik özelliği sayesinde, sentetik ya da basit içerikli besiyerlerinde çeşitli organik kaynaklardan faydalanarak yüksek verimlilikle üreyebilmektedir. Glikoz ve diğer karbonhidratlar, hücresel bileşenlere dönüştürülerek farklı karbon kaynaklarının etkin biçimde kullanılması sağlanmaktadır (Guerrant, Walker, & Weller, 2006; Rivas, Mellor, Gobius, & Fegan, 2015).

Her ne kadar ekstremofil bir bakteri olarak sınıflandırılmasa da, termofilik, halofilik

veya asidofilik özellik göstermeyen *E. coli* suşlarının büyük çoğunluğunun yaklaşık 10–50°C arasındaki sıcaklık aralığında metabolik faaliyetlerini sürdürebildiği; optimum fizyolojik aktivitenin ise genellikle 37–42°C arasında gerçekleştiği bildirilmektedir (de Vigilancia Epidemiológica, 2015; Dworkin, Falkow, Rosenberg, Stackebrandt, & Schleifer, 2006).

E. coli'nin yaklaşık 5,5-8,0 pH aralığında fizyolojik faaliyetlerini sürdürebildiği; optimum metabolik aktivitenin ise nötr pH düzeyine yakın koşullarda gerçekleştiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, bazı enterotoksijenik *E. coli* suşlarının pH 2 gibi oldukça asidik ortamlarda da canlılığını koruyabildiği belirlenmiştir. Ayrıca, su aktivitesi 0,95'in altına düşen gıdalarda da metabolik olarak adapte olabilen suşların bulunabildiği ifade edilmektedir (Desmarchelier & Fegan, 2016; WHO, 2018).

E. coli türlerinin, laktozu 48 saat içerisinde fermente edebilme yetenekleri, *Shigella* spp. ve *Salmonella* spp. gibi diğer bakterilerden ayırt edilmelerinde önemli bir özellik olarak değerlendirilmektedir (Batt, 2014; Dworkin ve ark., 2006).

Ayrıca, *E. coli*'nin sahip olduğu enzimatik çeşitlilik, çok sayıda farklı substratın metabolize edilebilmesine olanak sağlamaktadır. Enzimatik aktivitelerin ve karbonhidrat fermentasyon profillerinin incelenmesi, suşlar arasında tanımlama ve ayırım yapılmasında önemli rol oynamaktadır. Geleneksel biyokimyasal testlere göre *E. coli*, katalaz aktivitesi, indol üretimi, nitrat redüksiyonu ve Metil Kırmızı testi açısından pozitif sonuç vermektedir. Buna karşın, çoğu suşun Voges–Proskauer ve oksidaz testlerinde negatif sonuç verdiği, sitratı kullanmadığı ve hidrojen sülfür (H₂S) üretmediği belirlenmiştir (Dworkin ve ark., 2006; Sangwan, 2016).

Bu tür, genellikle iki farklı ekolojik ortamda varlık göstermektedir. Birincil habitatı, sıcakkanlı canlıların gastrointestinal sistemi olup, insan ve hayvanların bağırsak mikrobiyotasının doğal bir üyesi olarak sindirim kanalında yer almaktadır. Ancak, konak organizmanın bağırsak mukozası ile birlikte düzenli olarak dışkı yoluyla çevreye atıldığı bilinmektedir. İkincil habitatı ise çevresel kaynaklardır; *E. coli*, başta toprak, su, sediment ve bitki yüzeyleri olmak üzere çeşitli doğal ortamlardan izole edilebilmektedir. Ayrıca, daha seyrek olarak bazı gıda maddelerinde de tespit edilebilmektedir (Gordon, 2013; Tenaillon, Skurnik, Picard, & Denamur, 2010).

E. coli suşları, antijenik bileşime göre serotiplere ayrılmaktadır. 1947'de geliştirilen sero-aglütinasyon yöntemi, daha sonra birden fazla *E. coli* suşu arasındaki farklılıkları ayırt etme açısından altın standart olarak kabul edilmektedir (DebRoy, Fratamico, & Roberts,

2018; Dodd ve ark., 2017).

E. coli suşunun serotipi, dış zar yapısında yer alan lipopolisakkarit (LPS) kompleksinin bir parçası olan somatik antijen, yani 'O antijeni' ile belirlenmektedir. Bu antijen, her bir suşa özgü yüzeysel antijenik özellikleri tanımlamada kullanılır. Günümüzde, tanımlanmış en az 188 farklı O antijenine sahip *E. coli* serotipi bulunmaktadır (Dodd ve ark., 2017; Stenutz, Weintraub, & Widmalm, 2006).

Serotip tayini, ilgili suşun sahip olduğu yüzey antijenlerinin tanımlanması yoluyla gerçekleştirilmektedir. Bu antijenler arasında somatik O antijeninin yanı sıra, flagellar H antijeni ve kapsüler K antijeni yer almaktadır. H antijeni, flagella yapısında bulunan ve farklı flagellin tiplerinden kaynaklanan yapısal çeşitliliğe sahip hareketli suşlarda gözlemlenmektedir. K antijeni ise, bazı suşlarda zar yapısı içinde bulunan ve polisakkarit karakterli bir kapsüler antijeni ifade etmektedir. Patogenez açısından önemli olmasına rağmen, bu antijen her durumda serotiplendirme amacıyla kullanılmamaktadır. Ayrıca, bazı suşlarda sınıflandırma, yüzeyde bulunan fimbrial yapılara karşılık gelen F antijeni temelinde de yapılabilmektedir (L. C. Campos, Franzolin, & Trabulsi, 2004; Desmarchelier & Fegan, 2016; Dodd ve ark., 2017; Rivas ve ark., 2015).

Serotiplendirme her ne kadar sınırlı bir yöntem olsa da, farklı *E. coli* suşlarının ayırımında kullanılabildiğinden, epidemiyolojik analizlerde yararlı bir araç olarak değerlendirilmektedir. Bu yöntem aracılığıyla, belirli serotiplere ait olan suşlar tanımlanabilmekte ve birbirinden ayırt edilebilmektedir. Söz konusu serotiplerin, basit seyirli ishallerden ciddi sistemik enfeksiyonlara ve hatta ölümcül sonuçlara yol açabilen hastalıkların etkeni olabileceği bildirilmektedir (DebRoy ve ark., 2018; Desmarchelier & Fegan, 2016; Kaper, Nataro, & Mobley, 2004).

1.2.3. Patogenez

Her ne kadar *E. coli* suşlarının büyük çoğunluğu zararsız olarak kabul edilse de, bazı grupların ciddi gıda kaynaklı hastalıklara neden olabildiği bilinmektedir. Bu durum, konak hücrelere yapışma ve istila yetenekleri ile birlikte, enterotoksin, verotoksin, kolisin ve siderofor gibi çeşitli virülans faktörlerinin üretimiyle ilişkilendirilmektedir. Patojen suşların insanlara bulaşması genellikle kontamine suyun tüketimi ya da çiğ veya yeterince pişirilmemiş gıdaların alınması yoluyla gerçekleşmektedir. Bu suşların enfeksiyon mekanizmaları, birden fazla aşamadan oluşmakta olup, diğer mukozal patojenlerde gözlemlenen süreçlere benzerlik göstermektedir. Enfeksiyonun temel aşamaları arasında

mukozal yüzeylerde kolonizasyon, ardından çoğalma ve konak dokularında hasar oluşumu yer almaktadır (Guerrant ve ark., 2006; WHO, 2018).

Patojenik *E. coli* suşları, konak hücreye bağlanma ve istila stratejileri, toksin üretimi gibi virülans faktörlerine ya da neden oldukları klinik bulgulara göre sınıflandırılmaktadır. Ancak literatürde bu sınıflandırmalara verilen adların tutarsız biçimde kullanılması ve yeni patotiplerin sürekli olarak tanımlanması, terminolojik açıdan bazı karmaşalara yol açmaktadır. Bu karmaşıklığın, farklı patotipler arasında gözlemlenen ortak virülans özelliklerinden ve patojenez mekanizmalarının birbirleriyle örtüşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Kaper ve ark., 2004; Rivas ve ark., 2015).

Son yıllarda *E. coli*'nin genel özellikleri ve taksonomik yapısı kapsamlı bir şekilde incelenmiş olup, bu durum bakteri türünün patojenik potansiyelinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Bu bağlamda, *E. coli*'ye ait yedi farklı bağırsak patotipi tanımlanmıştır: Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Diffüz Adherent *E. coli* (DAEC), Adherent İnvaziv *E. coli* (AIEC) ve Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) (Karakaya, Abay, & Aydın, 2024; Pakbin, Brück, & Rossen, 2021).

1.2.3.1. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) suşları, ince bağırsakta kolonize olduktan sonra sulu ya da zaman zaman kanlı seyreden ishal gibi diyarejenik belirtilere neden olabilmektedir. Plazmidler tarafından kodlanan ve yüzey adezinleri olarak bilinen pilus ya da fimbria aracılığıyla, bağırsak epitelindeki spesifik konak hücre reseptörlerine tutunarak enfeksiyon başlatırlar (Torres, Zhou, & Kaper, 2005). EPEC enfeksiyonunun ayırt edici özelliklerinden biri, enterositlerin yüzeyinde meydana gelen yapışma ve silinme (attachment and effacement) lezyonlarının oluşumudur (Meng, LeJeune, Zhao, & Doyle, 2012). Bağlanma sürecinde, intimin (*eae*) adı verilen bir adezin faktörü üretilmekte ve bu faktör, enterosit hücre iskeletinde yapısal değişikliklere yol açarak mikrovillusların kaybına neden olmaktadır. Bu mekanizma özellikle bebeklerde diyare oluşumuna zemin hazırlamakta, klinik belirtiler ise enfeksiyonu takiben üçüncü günden itibaren ortaya çıkabilmektedir. Belirtiler arasında karın ağrısı, sürekli sekretuar tipinde ishal, kusma ve ateş yer almakta; hastalık, ilerleyen vakalarda hemorajik kolit tablosuna dönüşerek tedavi edilmediği takdirde dehidrasyona ve hatta ölümle sonuçlanabilen ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir (Kaper ve ark., 2004).

1.2.3.2. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), ishal yapıcı özelliğe sahip bir bakteridir ve dışkı ile kontamine olmuş yiyecek ve sudan bulaşmaktadır. Bu bakteriler, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde ishalin önde gelen nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. ETEC suşları, insan popülasyonunda yaygın olarak bulunmakta olup, çoğu birey, ETEC'e karşı kazanılmış bağışıklık ve konak özgüllüğü nedeniyle asemptomatik seyreder (Y. Sun & Kim, 2017).

ETEC, genellikle kana veya mukusa rastlanmayan, hafif ateş, mide bulantısı, karın krampları, baş ağrısı ve kas ağrılarıyla orta ile şiddetli sulu ishale yol açmaktadır. Seyahat ishal veya halk arasında turist ishali olarak bilinen hastalığın başlıca patojenidir. Belirtiler, bakterinin alınmasından 2 saat sonra ortaya çıkmaktadır. Bu bakteriler, ince bağırsağın mukoza zarını kolonize etmede görevli olan kolonizasyon faktörleri (pilus veya fimbria) aracılığıyla tutunma yeteneğine sahiptir. En belirgin özelliklerinden biri ise, ısıya dayanıklı enterotoksin (ST) ve ısıya duyarlı enterotoksin (LT) üretme kapasitesine sahip olmalarıdır. Bu toksinler, sıvı ve elektrolit sekresyonunu artırarak sekretuar tipte ishalin gelişmesine neden olmaktadır (Kaper ve ark., 2004).

1.2.3.3. Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC)

Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC), dünya genelinde en yaygın patojenik *E. coli* suşları arasında yer almaktadır. Her ne kadar EAEC'nin patogenezi tam olarak aydınlatılamamış olsa da, günümüze kadar çeşitli olası virülans faktörleri tanımlanmıştır. Mukozal adezyon sağlayan aggregative adherence fimbriae (AAF) yapılarının, konak mukozasıyla temas halinde inflamatuvar yanıtları tetikleyebildiği bildirilmektedir. Ayrıca, AggR isimli transkripsiyonel düzenleyici bir proteinin, AAF ekspresyonunu ve bununla ilişkili bazı salgılanmış proteinlerin üretimini indüklediği belirlenmiştir. EAEC enfeksiyonlarında gözlenen histopatolojik bulgular arasında, enterositlerin serin proteaz taşıyıcı toksin aracılığıyla gerçekleşen hücrelerin dökülmesi (eksofoliasyonu) öne çıkmaktadır (Boisen, Kroghfelt, & Nataro, 2013).

EAEC suşları, başta gelişmekte olan ülkelere seyahat eden turistler ile HIV enfeksiyonu geçiren çocuklar ve yetişkinler olmak üzere çeşitli risk gruplarında sulu ishal tablosuna yol açabilmektedir. Bu enfeksiyonların karakteristik belirtileri arasında, kan ve mukus içerebilen sekretuar tipte sulu ishal ile birlikte görülen orta dereceli ateş yer almaktadır (Piérard, De Greve, Haesebrouck, & Mainil, 2012).

1.2.3.4. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

Genetik ve fenotipik özellikleri bakımından enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), diğer *E. coli* türlerinden ziyade *Shigella* cinsi ile daha yakın bir filogenetik ilişki göstermektedir (Chattaway, Schaefer, Tewolde, Dallman, & Jenkins, 2017). EIEC suşları, fakültatif intraselüler patojenler olup, biyokimyasal, patojenik ve genetik özellikleri açısından *Shigella* türlerine büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. Bu bakteriler, hareketsiz yapıda olup, laktoz fermentasyonu gerçekleştiremez ve lizini dekarboksilaz enzimi bakımından negatiftir (Croxen ve ark., 2013). Diğer *E. coli* türlerinden farklı olarak EIEC, yalnızca konak epitel hücrelerine invazyon gerçekleştirmekle kalmaz, aynı zamanda bu hücrelerin içinde çoğalma yeteneğine de sahiptir. Bu özelliği nedeniyle intraselüler bir yaşam biçimi sergilemektedir. EIEC enfeksiyonları; sulu ishal, invaziv inflamatuvar kolit ve mukus içerebilen diyare gibi gastrointestinal semptomlara yol açabilmektedir. Enfeksiyonların çoğunlukla semptomatik seyretmesi, EIEC'i diğer patojenik *E. coli* türlerinden ayıran önemli bir özelliktir (Momba & Muniesa). EIEC kaynaklı salgınların, genellikle hijyen koşullarının yetersiz olduğu ortamlarda, dışkı ile kontamine olmuş su veya gıdaların tüketilmesiyle ortaya çıktığı bildirilmektedir (Rivas ve ark., 2015).

1.2.3.5. Diffüz-Adherent *E. coli* (DAEC)

Diffüz adherent *E. coli* (DAEC), HeLa veya HEP-2 epitel hücre kültürlerinde diffüz yapışma paterni sergilemesiyle karakterize edilen bir *E. coli* patotipidir (Servin, 2005). Bu bakterinin bulaşması, insan ya da hayvan dışkısıyla kontamine olmuş su veya gıdaların tüketilmesi yoluyla gerçekleşmektedir. DAEC enfeksiyonları sonucunda ortaya çıkan klinik belirtiler arasında karın ağrısı, dehidrasyon, ateş ve zaman zaman kan içeren ishal yer almaktadır (Gunzburg, Chang, Elliott, Burke, & Gracey, 1993).

DAEC suşlarının özellikle 4-5 yaş arasındaki çocuklarda, kan ve lökosit içermeyen sulu ishalden sorumlu olabileceği bildirilmektedir. Bu suşların patojenitesinde, bağırsak epitel hücrelerine fimbriyal adezinler aracılığıyla gerçekleşen adezyon mekanizması önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, enfekte epitel hücrelerinde oluşan büyük hücresel uzantılar vasıtasıyla bakterileri çevreleyen sitopatik etkilerin geliştiği gösterilmiştir (Guerrant ve ark., 2006).

1.2.3.6. Adherent invasive *E. coli* (AIEC)

Adherent-invasive *E. coli* (AIEC), genellikle kronik inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla

ilişkilendirilen bir patobiyont olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, AIEC suşlarının Crohn hastalığına sahip bireylerin bağırsak mukozasında daha yüksek oranda izole edildiği bildirilmektedir. Bu patotipin enfeksiyon mekanizmasında, bağırsak epitel hücrelerine yapışma ve invazyon yeteneği temel bir rol oynamaktadır. Ayrıca, AIEC suşlarının makrofajlar içerisinde intraselüler olarak hayatta kalabildiği ve çoğalabildiği gösterilmiştir (Y. Zhang ve ark., 2015).

1.2.3.7. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), verotoksin üreten *E. coli* (VTEC) veya Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC) olarak da adlandırılan, hayvanlardan insanlara geçen zoonotik bir patojendir ve dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (Ullah ve ark., 2024). STEC veya VTEC, sitotoksin üretimi ile karakterize edilmektedir. Bu toksinler, *Shigella dysenteriae* tarafından üretilen toksinlere benzerlikleri nedeniyle Shiga toksini (stx) olarak ya da doku kültürlerinde vero hücreleri üzerindeki etkileri nedeniyle verotoksin (VT) olarak adlandırılmaktadır (Caprioli, Morabito, Brugère, & Oswald, 2005). Shiga toksin adı, ilk olarak 1898'de Kiyoshi Shiga tarafından tanımlanan dizanteri basili *Shigella dysenteriae*'den köken almıştır (Shiga, 1898). EHEC, sindirim sistemine intimin proteini aracılığıyla enterositlere yapışarak yerleşmekte, ardından salgıladığı Shiga toksinleri ile damar, bağırsak ve merkezi sinir sisteminde doku hasarına neden olabilmektedir (Tarr, Gordon, & Chandler, 2005).

Tanımlanmış 250'den fazla STEC serotipi bulunmakla birlikte, bunların yalnızca bir kısmı patojen kabul edilmekte ve insanlarda hastalıkla ilişkilendirilmektedir. İnsan enfeksiyonlarına neden olan STEC serotipleri, virülans özellikleri bakımından geniş bir varyasyon göstermektedir. Bazı suşlar yalnızca subklinik enfeksiyonlara neden olurken, daha virulent suşlar kanlı ishal, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom (HÜS) gibi ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir (Croxen ve ark., 2013; Rivas ve ark., 2015). *E. coli* O157:H7 (STEC O157), gıda ve su kaynaklı salgınlar ile en sık ilişkilendirilen serotip olarak öne çıkmaktadır (Chalmers, Aird, & Bolton, 2000). Son yıllarda, O157 dışı STEC serotiplerini taşıyan suşların insan enfeksiyonlarındaki artan rolü, klinik, tanı, gözetim ve epidemiyolojik araştırma alanlarında daha fazla ilgi uyandırmıştır (Johnson ve ark., 2014). Bu kapsamda yapılan çalışmalarda, O157 dışı STEC serotipleri tüm STEC enfeksiyonlarının %40–50'sinden sorumlu olduğu bildirilmektedir. İnsanlarda ciddi hastalıklarla en sık ilişkilendirilen O157 dışı STEC serotipleri arasında O26, O111, O103,

O121, O45 ve O145 serotipleri yer almaktadır (Johnson ve ark., 2014). Sağlıklı sığırlar ve diğer geviş getiren hayvanlar, STEC serotiplerinin başlıca hayvan rezervuarları olarak tanımlanmakta; bu hayvanlar bakteriyi gastrointestinal sistemlerinde taşıyarak dışkı yoluyla çevreye yayabilmektedir (Brooks ve ark., 2005; Johnson ve ark., 2014; Karmali, Gannon, & Sargeant, 2010). Her yaştan birey STEC ile enfekte olabilmekle birlikte, özellikle küçük çocuklar ve bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde ciddi komplikasyon riski daha yüksek olarak değerlendirilmektedir. Enfeksiyonun klinik şiddeti bireyden bireye değişmekte; bazı vakalar kendiliğinden iyileşen sulu ishale sınırlı kalırken, bazı vakalar ise hayatı tehdit eden kanlı ishal ve HÜS gibi ağır tablolarla sonuçlanabilmektedir. STEC enfeksiyonları, yalnızca $1-10^2$ kob kadar düşük enfeksiyöz dozlarla bile bulaşabilmektedir (Paton & Paton, 1998).

1.2.5. Başlıca Virülans Faktörleri

STEC'in patogenezinde yer alan virülans faktörleri çok çeşitli olup, bunlar bakterinin bağışıklık savunmalarından kaçabilmesi, konak hücrelere bağlanabilmesi ve zararlı etkiler oluşturabilmesi için önemli rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında yapışma ve bağlanma mekanizmaları, salgılama sistemleri, Shiga toksini ve intimin gibi bileşenler bulunmaktadır (Donnenberg & Whittam, 2001).

1.2.5.1. Bağlanma ve Yapışma (Attaching-Effacing) Lezyonları (A/E)

Bağlanma ve Yapışma (A/E) lezyonları, birçok Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) suşu tarafından oluşturulmaktadır (Vieira ve ark., 2001). Bu lezyonlar, bakterinin konakçı bağırsak mukozasına sıkı bir şekilde yapışmasının sonucunda meydana gelmekte ve çeşitli virülans faktörleri tarafından indüklenmektedir (Cepeda-Molero ve ark., 2017). A/E lezyonları; bakterinin enterositlere sıkı yapışması, F-aktin birikimi ve mikrovillusların silinmesi (effacement) gibi özelliklerle karakterize edilmektedir. A/E lezyonları, Bu patolojik yapıların oluşumunda temel rol oynayan genetik yapı, Eterosit Silinme Lokusu (Locus of Enterocyte Effacement (LEE)) olarak adlandırılan bölgede yer almaktadır. LEE lokusu; Tip III sekresyon sistemi bileşenlerini kodlayan *espA*, *espB* ve *espD* genleri ile birlikte, intimin adezinini kodlayan *eae* geni ve transloke intimin reseptörünü kodlayan *tir* genini içermektedir (Estrada-Garcia & Navarro-Garcia, 2012). Bu genlerin çoğunun STEC ve EPEC gibi patojenik *E. coli* suşlarında korunmuş olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, yapışma, sıkı yapışma ve A/E lezyonlarının oluşumu için yalnızca LEE bölgesindeki genler değil,

aynı zamanda LEE dışı etkileyici genlerin de gerekli olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Cepeda-Molero ve ark., 2017).

1.2.5.2. Tip II ve III Sekresyon Sistemi

Tip II salgılama sistemi (T2SS), hücre dışına protein ve toksin taşınmasını sağlayan bir mekanizmadır. Bu sistem, T2SS operonunu içeren 12–15 genin koordineli çalışmasıyla işler ve hem bakteriyel hücrenin iç hem de dış zarını kapsayan bir yapıya sahiptir. T2SS aracılığıyla çeşitli virülans faktörlerinin konak hücrelere taşındığı gösterilmiştir (Patrick, Gray, Sandkvist, & Johnson, 2010; von Tils, Blädel, Schmidt, & Heusipp, 2012). Buna karşılık, Tip III salgılama sistemi (T3SS), konak hücre ile doğrudan temas sağlayarak enfeksiyonun başlamasında kritik rol oynar. T3SS, genellikle *espA*, *espB* ve *espD* genleri tarafından kodlanan yaklaşık 20 proteinden oluşan bir komplekstir. Ayrıca *esc* ve *sep* genleriyle birlikte çalışarak bakteriyel hücrenin iç ve dış zarlarını geçebilen bir iğne benzeri yapı (enfektisom) oluşturur. Bu yapı, enterositler ile bakteri arasında adezyon molekülü görevi görür ve Tip III efektör proteinlerinin konak hücreye aktarılmasını sağlar. Enteropatogenik *E. coli* (EPEC) suşlarında bu sistem daha da özelleşmiştir. *espA*, *espB* ve *espD* gen ürünleri, bu sistemin işlevinde merkezi rol oynar; bakterinin konağa sıkı bağlanmasını ve A/E lezyonlarının oluşumunu sağlar (Badea, Beatson, Kaparakis, Ferrero, & Hartland, 2009).

1.2.5.3. Shiga Toksin (*stx*)

Shiga toksinleri (*stx*), *E. coli*'nin Shiga toksin üreten suşları olan STEC'leri tanımlayan temel virülens faktörleridir. STEC tarafından eksprese edilen bu toksinler, *Shigella dysenteriae* tarafından üretilen toksinlerle benzerlik gösterdiği için “Shiga benzeri toksinler” olarak da adlandırılmaktadır (Bergan, Lingelem, Simm, Skotland, & Sandvig, 2012). Filogenetik analizlere göre, özellikle 16S rRNA gen dizisi hizalamalarına dayanan kanıtlar, *Shigella* türlerinin aslında *E. coli* türü içerisinde sınıflandırılabileceğini ve bu iki bakteri grubu arasında genetik yakınlık bulunduğunu ortaya koymuştur (Lukjancenko, Wassenaar, & Ussery, 2010). Shiga toksinleri, STEC hücreleri tarafından bağırsak lümeninde üretilen ve bağırsak epiteline bağlanan hücre dışı proteinlerdir. Bu toksinler, kanlı ishal ve HÜS gibi ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir (Hunt, 2010). *stx* toksinleri başlıca iki antijenik formda bulunur: *stx1* ve *stx2*. *stx1* üç alt tipe (*stx1a*, *stx1b* ve *stx1c*), *stx2* ise yedi alt tipe (*stx2a*–*stx2g*) ayrılmaktadır. Araştırmalar, özellikle *stx2a* alt

tipinin ağır insan hastalıklarıyla daha güçlü ilişki gösterdiğini, ancak diğer *stx* alt tiplerinin de şiddetli hastalık tablolarında rol oynayabileceğini göstermiştir (Panel ve ark., 2020). Shiga toksinleri, A ve B olmak üzere iki alt birimden oluşur. B alt birimi, toksinin konak hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanmasını sağlarken, A alt birimi hücre içerisine girdikten sonra 28S rRNA'dan adenin bazını çıkararak protein sentezinin inhibisyonuna neden olur. Bu durum, konak hücrede protein üretiminin durmasına ve sonuç olarak hücre ölümüne yol açar (Gill & Gill, 2010; M.-S. Lee, Cherla, & Tesh, 2010). STEC hücreleri, makrofajlar içinde hayatta kalabilmekte ve M hücreleri aracılığıyla bağırsak epitelinden geçerek sistemik dolaşıma ulaşabilmektedir. Bu mekanizma, toksinin kana karışmasına ve başta böbrekler ile beyin olmak üzere çeşitli organlarda endotelial hasara yol açmasına neden olabilir (Etienne-Mesmin ve ark., 2011). *Stx*, lizojenik bir profajın genleri tarafından kodlanmakta olup, bu fajın indüklenmesiyle birlikte STEC hücrelerinin lizisi sırasında ortama salınmaktadır (Neely & Friedman, 1998). Özellikle bazı antibiyotikler (örneğin florokinolonlar) hücre lizisi olmaksızın STEC O157 suşlarında *stx2* üretimini artırabilmektedir (X. Zhang ve ark., 2000).

1.2.5.4. İntimin (*eae*)

STEC serotipleri, genomlarında bulunan LEE sayesinde patojenik özellikler gösterirler. LEE, Tip III salgılama sistemi (T3SS) içeren bir patojenisite adasıdır ve bu sistem, konak hücreye efektör moleküllerini ileterek hücrenin iskelet yapısını bozar. Bu etkileşim, bağırsak mukozasının tahrip olmasına yol açarak hastalık sürecine önemli bir katkı sağlar. LEE, aynı zamanda bağırsak epitelial hücrelerine bağlanmayı sağlayan intimin (*eae*) proteinini de kodlar. İntimin, LEE pozitif STEC serotiplerinde önemli bir virülans faktörü olarak öne çıkar ve bağırsak epiteline yapışmadan sorumludur (Elliott ve ark., 1998). İntimin, histopatolojik olarak 'bağlanma/yapışma' lezyonları olarak bilinen yapıların oluşumundan sorumludur (Etcheverría & Padola, 2013).

1.2.5.5. Enterohemolizin (*ehxA*, *e-hlyA*)

Enterohemolizin (*ehxA*) geni, STEC serotiplerinin plazmitlerinde bulunur ve HÜS ile ciddi ishaller arasındaki ilişkiyi açıklayan önemli bir virülans faktörüdür (Schmidt & Karch, 1996). *ehxA* varlığı, özellikle Shiga toksini (*stx*) ile birlikte görülür ve bu nedenle *ehxA*, STEC izolatlarının tanınmasında epidemiyolojik bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Beutin ve ark., 1989).

1.2.6. Gıdalarda *E. coli*

E. coli, doğada yaygın olarak bulunan ve insan bağırsağında normal flora üyesi olarak yer alan bir bakteridir (Torres, Hernandez, & Martínez-Laguna, 2012). *E. coli*'nin insan bağırsağında ve dolayısıyla dışkıda bulunması, doğada, gıdalarda ve sularda genel olarak ısıya dayanıklı koliformların ve özellikle *E. coli*'nin izlenmesine neden olmuştur. Bu durum, dışkı kirliliğinin bir göstergesi olarak kabul edilir. *E. coli*'nin çoğu türü zararsız olsa da, bu bakterinin seviyeleri düzenli olarak izlenir, çünkü yüksek seviyeler, sindirim kökenli zararlı bakterilerin potansiyel varlığına işaret edebilir (Todar, 2006).

Dünya genelinde her yıl tahmini 600 milyon kişi yani neredeyse her 10 kişiden 1'i kontamine gıda tüketimi nedeniyle hastalanmakta ve 420.000 kişi hayatını kaybetmektedir, bu da 33 milyon sağlıklı yaşam yılının kaybına neden olmaktadır (WHO, 2022).

2022 yılı itibarıyla, Shiga toksijenik *E. coli*, Avrupa Birliği'nde gıda kaynaklı zoonotik hastalıkların dördüncü en yaygın nedeni olarak kabul edilmektedir. Avrupa Birliği'nde 27 ülkede toplam 7117 doğrulanmış Shiga toksijenik *E. coli* enfeksiyonu vakası bildirilmiştir. Bu vakalar arasında, 1130 hastaneye yatış ve 28 ölümle sonuçlanan toplam 71 salgın yaşanmış olup, bu salgınlar ağırlıklı olarak et, süt, musluk ve kuyu suları tüketimiyle ilişkilendirilmiştir (EFSA, 2023).

STEC enfeksiyonlarının gıda kaynaklı zoonotik hastalıklar arasındaki önemi, son yıllarda yapılan çalışmalarla daha da belirginleşmiştir. Gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilen patojenik *E. coli* suşları yalnızca STEC ile sınırlı değildir. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ve enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) gibi farklı patotipler de halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturur. Bu suşların bulaşı genellikle çiğ veya az pişmiş et ürünleri, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri, kirlenmiş su ve çiğ tüketilen sebzeler yoluyla gerçekleşmektedir (Pattabhiramaiah & Mallikarjunaiah, 2023). Gıda üretim süreçlerinde hijyen standartlarının yetersiz olması, çapraz bulaşma ve kontaminasyon riskini artırarak halk sağlığı açısından ciddi tehditler oluşturmaktadır. Bu enfeksiyonların yayılmasını önlemek ve kontrol etmek için gıda güvenliği açısından etkili tespit yöntemlerinin geliştirilmesi kritik bir rol oynamaktadır. Bu bağlamda, gıdalarda *E. coli*'nin tespiti, sağlık risklerinin azaltılması ve hastalıkların önlenmesi için önemli bir adımdır (Pormohammad, Nasiri, & Azimi, 2019).

Gıda kaynaklı *E. coli* enfeksiyonlarının önlenmesi için çiftlikten sofraya tüm üretim aşamalarında sıkı hijyen önlemlerinin uygulanması, riskli gıdaların uygun şekilde pişirilmesi ve düzenli denetimlerin sağlanması gerekmektedir. Ayrıca, STEC ve diğer

patojenlerin tespitinde kültür yöntemlerine ek olarak gerçek zamanlı PCR gibi hassas moleküler yöntemlerin kullanımı, erken teşhis ve hızlı müdahale açısından kritik rol oynamaktadır (Panwar ve ark., 2023).

1.2.7. Gıdalarda *E. coli* Tespiti

Ülkemizde, gıda için gereken mikrobiyolojik kriterler, 2025/32812 yönetmeliği ve ekleri tarafından belirlenir (TGK, 2025). Bu nedenle, bir ürünün veya bir işlemin kabul edilebilirliği, mikroorganizmaların varlığı veya yokluğu ve miktarı ile birlikte birim başına mevcut toksin veya metabolit miktarı ile tanımlanır (kütle, hacim, yüzey). Bu nedenle, gıda güvenliği kriterleri ve işlem hijyen kriterleri olmak üzere iki sınıf belirlenmiştir.

Hijyen kriterleri, ürünlerin üretim sürecinin sonunda *E. coli* açısından belirli gereklilikleri içerir. Bu kriterler; kabuklu deniz ürünleri, yumuşakçalar, önceden doğranmış meyve ve sebzeler, pastörize edilmemiş meyve ve sebze suları, kıyma ve et ürünleri gibi gıda grupları için uygulanır. Yönetmelikte belirtilen beta-glukoronidaz pozitif *E. coli* 'nin tespiti ve sayımı için analitik referans yöntemler, ISO 16649-1, ISO 16649-2 ve ISO 16649-3 protokolleridir. *E. coli* O157:H7 serotipinin tespiti ile ilgili olarak, ISO 16654 standardı kullanılmaktadır. Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) serotiplerinin belirlenmesi için ise, ISO/TS 13136 standardı kullanılmaktadır (ISO/TS13136, 2012). Bu standart, gıda matrislerinden *stx1*, *stx2* ve *eae* gibi önemli virülens genlerinin tespiti amacıyla qPCR yöntemlerini içermektedir. Bunun yanı sıra, O26, O45, O103, O111, O121, O145 ve O157 gibi halk sağlığı açısından önemli STEC serotip genlerinin tespiti için de moleküler protokoller sunulmaktadır.

Geleneksel tespit yöntemlerinin çok düşük büyüme oranlarında tespit avantajına sahip olması ve karmaşık matrislerde uygulanabilmesi gibi avantajları olmasına rağmen, kullanımları pahalı ve uzun sürmektedir, birkaç gün gerektirir ki bu da tüketici için bir tehlike oluşturabilir. Bu nedenle, izolasyon adımlarını veya hatta bakterilerin tanımlanmasını değiştirebilecek daha hızlı protokollerin uygulanması, zaman kazandırır ve işi kolaylaştırır. Bu yöntemler arasında, Enzim bağlantılı immunosorbent test (ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) gibi immünolojik teknikler bulunmaktadır; bu yöntem, 24 saatlik bir ön zenginleştirme aşamasının ardından 2 saatte sonuç üretir. DNA veya RNA'nın in vitro amplifikasyonuna dayanan genetik yöntemler, örneğin Polymerase Chain Reaction (PCR) ve varyantları, genellikle kültür ortamlarında zor üreyen bakterilerin tespitine izin verir (Bouvier, 2011; Palomino-Camargo & González-Muñoz, 2014).

Özellikle STEC tespitinde, qPCR teknikleri hedef genleri doğrudan tespit ederek, klasik kültür yöntemlerine kıyasla daha hızlı ve güvenilir sonuçlar sağlamaktadır. Ancak, qPCR ile pozitif bulunan numunelerde, izolat bazında doğrulama için selektif agarlar kullanılarak STEC şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik analizlerinin yapılması gerekmektedir (ISO/TS13136, 2012).

Bu doğrulama süreci, özellikle halk sağlığı açısından önem arz eden serotiplerin ayırt edilmesi açısından kritik bir adımdır. *E. coli* suşları aynı düzeyde patojen değildir; bazı serotipler, ciddi klinik tablolara neden olabilmektedir. Bu bağlamda, serotiplerin tanımlanması, hem salgın kaynağının belirlenmesi hem de risk değerlendirmesi açısından önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, STEC serotiplerine yönelik çalışmalar, hem ulusal hem de uluslararası düzeyde gıda güvenliği stratejilerinin temel unsurlarından biri haline gelmiştir (Parsons, Zelyas, Berenger, & Chui, 2016).

1.2.7.1. Serotipler

O157:H7 serotipi, dünya çapında gıda kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkilendirilen baskın serotiptir ve en sık HÜS ile ilişkilendirilir. *E. coli* O157:H7, STEC olarak tanımlanan ilk serotiptir ve 1980'lerden beri ciddi hastalıklara neden olmuştur. STEC, ortak bir antijen içeren bir dizi serotipe aittir ve insanlarda ciddi hastalıklarla ilişkilendirilmiş bazı özel serotipler vardır, bunlar arasında O157, O26, O111, O103 ve O145 bulunmaktadır. Bunlar, Avrupa'da endişe verici beş ana serotiptir, ABD'de ise iki ek serotip (O45 ve O121) daha endişe vericidir (Baliere, Rincé, Delannoy, Fach, & Gourmelon, 2016). O157 STEC enfeksiyonlarına kıyasla, non-O157 STEC enfeksiyonlarının tanımlanması daha karmaşıktır ve birçok laboratuvar genellikle bunları tanımlayamaz (Scheutz, Beutin, & Smith, 2004).

1.2.7.1.1 *E. coli* O157:H7

E. coli O157:H7, STEC grubunun virülans gösteren EHEC alt grubuna ait olup, özellikle sığırlar ve çiğ sığır etiyle ilişkili en yaygın serotip olarak kabul edilmektedir (Koochakzadeh, Badouei, Mazandarani, & Madadgar, 2014). Sığırlar, *E. coli* O157:H7 enfeksiyonunun insanlarda başlıca kaynağı olarak bilinmektedir; kesimhanelerde her 4 hayvandan 1'inin dışkısında bu patojeni yaydığı belirlenmiştir (Sanchez, Lee, Harmon, Maurer, & Doyle, 2002).

Birçok karşılaştırmalı ve epidemiyolojik rapor, *E. coli* O157:H7'nin, toksijenik olmayan

ve daha az virulent bir suş olan *E. coli* O55:H7'den evrimleşmiş olabileceğini öne sürmektedir. *E. coli* O157:H7, dört ardışık etkinlikten sonra gelişmiştir: *stx2* içeren bakteriyofajın kazanılması, pO157 ve *rfb* bölgesinin kazanılması, *stx1* içeren bakteriyofajın kazanılması ve son olarak D-sorbitol ve beta-glukuronidaz (GUD) fermentasyon yeteneğinin kaybedilmesi (Lim, Yoon, & Hovde, 2010).

E. coli O157:H7, 1982 yılında, Michigan ve Oregon'daki restoran zincirlerinde satılan az pişmiş kıyma tüketimi sonucu meydana gelen kanlı ishal salgını sonrası, kamu sağlığı için bir tehdit olarak kabul edilmiş ve bir patojen olarak tanınmıştır. (Croxen ve ark., 2013).

E. coli O157:H7, gıda ve gıda dışı yüzeylere bağlanma yeteneğine sahiptir (Boyer, Sumner, Williams, Kniel, & McKinney, 2011; Torres, Jeter, Langley, & Matthysse, 2005). Dışkı kirliliği dışında, *E. coli* O157:H7, dışkı kütleleriyle ilişkili olmaksızın yüzeylere tutunabilir. Özellikle, O antijeninin marul yapraklarındaki artmış elektronegativite nedeniyle, bu patojenin gıda yüzeylerine tutunmasında bir rol oynadığı bildirilmiştir (Boyer ve ark., 2011). *E. coli* O157:H7 ayrıca karışık kültür biyofilmlerinde uzun süre hayatta kalabilmektedir (Uhlich, Sinclair, Warren, Chmielecki, & Fratamico, 2008). Ayrıca, gıda temas yüzeylerinde et bazlı bir toprağın bulunması, *E. coli* O157:H7'nin biyofilm oluşturma eğilimini büyük ölçüde artırır; bu da büyümeyi, hayatta kalma ve temizlik çabalarına karşı direnci artırabilmektedir (Skandamis ve ark., 2009).

E. coli, sadece dışkı kirliliğinde hayatta kalmakla kalmaz, aynı zamanda çeşitli çevresel koşullarda da varlığını sürdürebilir. Son salgınlar, patojenik *E. coli* serotiplerinin özellikle yapraklı yeşilliklerle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, yapılan araştırmalar, bu organizmanın sindirim sistemi gibi ortamlara ek olarak toprak ve diğer çevresel faktörlerde de hayatta kalabileceğini göstermektedir (Semenov, van Overbeek, Termorshuizen, & van Bruggen, 2011; Van Elsas, Semenov, Costa, & Trevors, 2011).

E. coli'nin açlık veya yüksek stres koşulları sırasında durağan faza girdiği rapor edilmiştir; çünkü hücrelerin üremek yerine hücre zarının bütünlüğünü ve DNA yapısının stabilitesini korumak için mevcut enerji ve besinleri kullanarak hayatta kalabildikleri bildirilmektedir (Hengge-Aronis, 1993).

1.2.7.1.2. Non-O157 STEC

Son yirmi yılda raporlar, *E. coli* O157:H7'nin gıda kaynaklı salgınlar ve HÜS vakalarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda O157 dışı STEC serotipleri çeşitli salgınlar ve HÜS vakalarından sorumlu olduğu, bazı ülkelerde, non-O157 STEC

enfeksiyonlarının görülme sıklığının %50'ye kadar çıktığı bildirilmiştir (Balamurugan, Ahmed, Gao, & Strange, 2017; Karmali, 2005; Reiland, Omolo, Johnson, & Baumler, 2014).

ABD'den elde edilen epidemiyolojik verilere göre, non-O157 STEC vakalarıyla en sık ilişkilendirilen altı serotip sırasıyla O145 (%5), O45 (%7), O121 (%8), O103 (%12), O111 (%16) ve O26 (%22) olarak belirlenmiştir. Non-O157 STEC enfeksiyonları en yaygın olarak yaz aylarında görülmüştür (Balamurugan ve ark., 2017; Brooks ve ark., 2005; Karmali, 2005; Reiland ve ark., 2014).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, Eylül 2011 itibarıyla, Gıda Güvenliği ve İnceleme Servisi (FSIS), çiğ sığır eti ürünlerinde STEC O103, O111, O26, O45, O121 ve O145'i saflığı bozan unsurlar olarak ilan etmiştir (USDA, 2021). O157 olmayan STEC'in tespiti serotip ve virülans genlerinin kombinasyonuna dayanır. Ayrıca 200'den fazla STEC serotipi vardır ancak STEC'lerin tamamı ciddi hastalıklara neden olan virülans faktörlerinin tamamını barındırmadığından hepsi patojenik değildir (Bai ve ark., 2016; Noll ve ark., 2015). Ayırt edici besiyerleri, örneğin Modifiye MacConkey Agar, Rainbow® Agar O157 ve CHROMagar STEC™, β -galaktozidaz aktivitesini tespit etmek için kromojenik bir bileşik ve biri veya birkaçı fermentatif şekerler ile kombine edilmiş seçici ajanlar (novobiyoisin, tellürit vb.) içermektedir ve bazı non-O157 STEC'leri tespit ettiği bildirilmiştir (Noll ve ark., 2015; Verhaegen, De Reu, Heyndrickx, & De Zutter, 2015).

Bu bağlamda, O157 dışı STEC serotiplerinin virülans potansiyelinin belirlenmesi, yalnızca serotip tespitiyle sınırlı kalmayıp, bu serotiplerin sahip olduğu *stx* genleri ve bunların ekspresyon mekanizmalarının anlaşılmasını da gerektirir. STEC patogenezinde kritik rol oynayan *stx* üretimi, bakteriyofajlar tarafından taşınan *stx* genleri aracılığıyla düzenlenir. Dolayısıyla, STEC enfeksiyonlarının şiddetini belirleyen temel faktörlerden biri, *stx*-fajlarının genetik yapısı, aktivasyonu ve bakteriler arasındaki taşınma dinamikleridir. Bu nedenle, *stx*-fajlarının özellikleri ve bunların konakçı bakteriler üzerindeki etkileri, STEC'in epidemiyolojisini ve patogenezinin anlamada kritik bir araştırma alanıdır (Rodríguez-Rubio, Haarmann, Schwidder, Muniesa, & Schmidt, 2021).

1.2.7.2. *Stx* Faj Özellikleri

Stx fajlarının, çift sarmallı DNA içeren, ikosahedral başlı ve kuyruklu morfolojik yapıya sahip lambdoid bakteriyofaj ailesinin üyeleri olduğu bilinmektedir (Smith ve ark., 2007). Lambdoid ve lambda ailesine ait fajlar, faj biyolojisinin kontrolü ve yönlendirilmesinde

görev alan yaklaşık 48,5 kb uzunluğunda büyük bir genomu sahiptir (Rajagopala, Casjens, & Uetz, 2011). Karakterize edilen *stx* fajlarının çoğunun bu genom boyutundan daha büyük olduğu ve bazı durumlarda bu farkın lambda faj genomuyla karşılaştırıldığında %50'yi aştığı bildirilmektedir (Allison, 2007). Bu ek genom bölgelerinin işlevsel anotasyonuna ilişkin çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, *lom* ve *bor* gibi genlerin bu bölgelerde yer aldığı ve bakteriyel lizojeniye hayvan konakçıda katkıda bulunabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca, işaret etiketli mutagenез deneyimleri, *stx* profajlarının deneysel sıgır enfeksiyon modellerinde *E. coli* O26 ve O157:H7 suşlarının kolonizasyonunu etkileyebileceğini göstermiştir. Bu bulgular, *stx* fajlarının yalnızca virölans faktörlerini taşımakla kalmayıp aynı zamanda genomik olarak da önemli ölçüde daha büyük ve potansiyel olarak işlevsel olarak zengin yapılar olduklarını ortaya koymaktadır (Allison, 2007).

1.3. *Salmonella* spp.

1.3.1. Taksonomik Durum

Salmonella cinsi, Bacteria alemi içerisinde; Negibacteria alt alemi, Proteobacteria şubesi, Gammaproteobacteria sınıfı, Enterobacterales takımı ve Enterobacteriaceae ailesi içerisinde sınıflandırılmaktadır (Adeolu, Alnajjar, Naushad, & S. Gupta, 2016).

Taksonomideki en güncel terminolojiye göre, *Salmonella* cinsi iki türden oluşmaktadır: tip tür olan *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori*. *S. enterica*, Romen rakamları ve/veya isimleriyle adlandırılan altı alt türe ayrılmaktadır: *S. enterica* subsp. *enterica* (I), *S. enterica* subsp. *salamae* (II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV) ve *S. enterica* subsp. *indica* (VI). (Grimont & Weill, 2007; Shelobolina, Sullivan, O'Neill, Nevin, & Lovley, 2004).

Salmonella türleri, Pasteur Enstitüsü, Paris, Fransa'daki WHO *Salmonella* referans ve araştırma işbirliği merkezi tarafından tanımlanan ve sürdürülen Kauffman-White şemasına göre serotiplere ayrılır. Sınıflandırma, lipopolisakkarit antijen (O antijeni), flagellar protein antijeni (H antijeni) ve bazen kapsüler (VI) antijenlerin geniş çeşitliliğine dayanır. Şu anda, 2500'ün üzerinde *Salmonella* serotipi bulunmaktadır ve yeni serotipler Kauffman-White şemasının yıllık güncellemelerinde listelenmektedir (Grimont & Weill, 2007).

S. enterica subsp. *enterica* alt türüne ait serotiplerin adlandırılmasında, genellikle ilgili serotipin ilk izole edildiği coğrafi bölge esas alınmakta ve bu adlar italik olmayan, ilk harfi büyük yazılan Latin harfleriyle ifade edilmektedir. Bu serotiplere dair yazımda bilimsel

adlandırma kurallarına dikkat edilmekte olup, serotip isimleri tür ve alt tür adlarından sonra, italik olmayan biçimde yer almaktadır (Guibourdenche ve ark., 2010).

1.3.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

Salmonella türleri Gram-negatif, çomak şeklinde (basillus) bakterilerdir ve büyüme koşullarına bağlı olarak ortalama boyutları 0.7-1.5 µm çapında ve 2-6 µm uzunluğundadır. Spor oluşturmeyen bu türler, çoğunlukla peritrik kiprik ile hareketlidir (Andino & Hanning, 2015; Chaves ve ark., 2016; Fàbrega & Vila, 2013).

Kemoototrof bakteri olarak kabul edilen *Salmonella*, aerobik ve fakültatif anaerop mikroorganizmadır, bu da oksijen varlığında solunum yaparak üreyebilecekleri ve oksijen olmadan organik bileşiklerin fermentasyonu yoluyla anaerobik solunum yaparak hayatta kalabilecekleri anlamına gelir. Katalaz pozitif ve oksidaz negatif olan bu bakteriler, glikoz ve diğer monosakkaritleri fermente edebilme yeteneğine sahiptir ve bu süreç sonucunda asitler ve hidrojen sülfür dahil gazlar üretirler. Ancak, laktoz ve sakkarozu fermente edemezler, arginin kullanamazlar ve üreyi hidrolize edemezler. Bu cinsin türleri, karbon kaynağı olarak sitrat kullanmalarına olanak tanıyan sitrat permeaz enzimine sahiptir (Cabrera-Maldonado, León-Tello, Tejeda-Trujillo, Ramírez-Juárez, & Flores-Encarnación, 2013; H. Wang & Hammack, 2014).

Salmonella suşları 60°C'de 15 dakika sürede yok edilebilirler. Minimum 5.2°C ve maksimum 46.2°C sıcaklıklarda hayatta kalabilirler, ancak optimal üremeleri 35-43°C arasındaki inkübasyon sıcaklığını gerektirir. Ek olarak, bu bakteriler asidik ve alkalın pH'a kolayca uyum sağlarlar ve 3.8-9.5 arasında değişen pH aralıklarında üreyebilirler, ancak optimal büyüme nötr pH'da, yani 7-7.5 arasında gerçekleşir. Ayrıca, 0.93'e kadar düşük su aktivitelerine çok dirençlidirler, bu da onların kuru koşullarda bile gelişmelerine olanak tanır. 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonrasında, *Salmonella* kolonileri genellikle konveks, düzgün tipte (S), düzenli kenarları olan dairesel ve 2-3 mm çapındadır (Chaves ve ark., 2016).

1.3.3. Patogenezi

Salmonella cinsine ait bazı türler, özellikle *S. enterica* subsp. *enterica*, bağırsak enfeksiyonlarına neden olabilmektedir ve genellikle sıcak kanlı hayvanların bağırsak sisteminde doğal olarak bulunmaktadır. Bu nedenle, enfekte dışkı ile doğrudan temasın yanı sıra, gıda işleme sırasında meydana gelebilecek çapraz bulaşmalar da insanlara

bulaşmada temel aktarım yolları arasında yer almaktadır (F. Wu ve ark., 2016).

Salmonella türlerinin neden olduğu hastalıklar, en yaygın olarak kontamine gıda veya suyun tüketilmesiyle bulaşmaktadır. Bunun yanı sıra, enfekte çiftlik hayvanları veya evcil hayvanlarla ya da kontamine yüzeylerle temas yoluyla da bulaşma gerçekleşebilmektedir. Ayrıca, dışkı-ağız yoluyla insandan insana geçiş de mümkündür. Enfeksiyonun klinik tablosu, gastroenterit, bakteremi, tifo ateşi gibi belirtilerle seyredebildiği gibi, asemptomatik taşıyıcılık şeklinde herhangi bir belirti olmadan da gelişebilmektedir. Bu durum, genellikle enfekte edici mikroorganizma dozuna, *Salmonella* suşunun özelliklerine, bireyin yaşı ve genel sağlık durumu gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Chaves ve ark., 2016; Forsythe, López, & Pérez, 2000).

Enterik ateş, ciddi seyirli sistemik bir enfeksiyon olup, *Salmonella* cinsine ait dört serotip tarafından (*Salmonella* Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B ve Paratyphi C) oluşturulabilmektedir. Bu serotiplerden *Salmonella* Typhi, tifo ateşine; *Salmonella* Paratyphi A, B ve C ise paratifo ateşine neden olmaktadır. Hastalık genellikle genel halsizlik, deri döküntüsü, karın ağrısı, 40°C'ye kadar çıkabilen yüksek ateş, çocuklarda ishal, yetişkinlerde kabızlık gibi belirtilerle kendini göstermektedir. Bu semptomlar, bakterilerin sindirim sistemi aracılığıyla vücuda alınmasından sonra, genellikle düşük enfeksiyon dozlarıyla dahi gelişebilen ve 1-3 hafta arasında değişen inkübasyon süresi sonunda ortaya çıkmaktadır. İnvazyon süreci sırasında mikroorganizmalar öncelikle bağırsak mukozasını geçmekte, ardından bağırsaktaki lenfoid dokuları hedef alarak mezenterik lenf düğümlerine ulaşmakta ve buradan da lenfatik sistem aracılığıyla kan dolaşımına geçerek bakteremiye neden olmaktadır. Enfeksiyonun yayılımını ve bağırsak perforasyonu ile gastrointestinal kanamalar gibi ciddi komplikasyonları önlemek amacıyla, vakalarda uygun antibiyotik tedavisi genellikle önerilmektedir. Bununla birlikte, enfeksiyonun klinik olarak düzelmesinden sonra bile, bazı bireylerin aylar boyunca bakteriyi asemptomatik şekilde taşıyabildiği bilinmektedir (Cohn, Cheng, Orsi, & Wiedmann, 2021; Key ve ark., 2020; LaRock, Chaudhary, & Miller, 2015; H. Wang & Hammack, 2014).

Gıda kaynaklı salmonelloz vakalarının büyük çoğunluğuna, tifo dışı *Salmonella* serotipler (örneğin *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*) neden olmakta olup; bu hastalık dünya genelinde en yaygın görülen ishal enfeksiyonlarından biri olarak kabul edilmektedir. Genellikle kontamine gıda tüketimi sonucunda ortaya çıkar ve karın ağrısı, kusma ve ishal gibi semptomlarla karakterizedir. Bu semptomlar, etkenin alınmasından 12-72 saatlik bir

inkübasyon döneminden sonra ortaya çıkar ve 4-7 gün sürer. Çoğu vaka hafif olmakla birlikte; bağışıklık sistemi zayıf bireylerde, 60 yaşın üzerindeki ve 5 yaş altı çocuklarda hastalık, şiddetli dehidrasyona bağlı olarak ölümcül olabilmektedir (Cohn ve ark., 2021; H. Wang & Hammack, 2014).

Orak hücreli anemi hastalarında, *Salmonella* enfeksiyonlarına bağlı osteomyelit genel popülasyona göre daha yaygındır (WHO, 2002).

1.3.4. Başlıca Virülans Faktörleri

Salmonella türlerinin enfeksiyon oluşturma potansiyeli, büyük ölçüde bakterinin taşıdığı suşun virülans özelliklerine ve konak organizmanın bağışıklık durumu gibi yapısal özelliklerine bağlıdır. Bu bağlamda, virülans plazmitleri, toksinler, fimbrialar ve flagellalar gibi yapılar, literatürde “klasik” virülans faktörleri olarak tanımlanmaktadır (Asten & Dijk, 2005). Hücre içi hayatta kalma ve replikasyon yeteneği, *Salmonella*’nın patojenitesinde belirleyici faktörlerdendir. Bu bakteriler hem fagositik hem de non-fagositik hücrelerde bulunabilmekte; konak hücre içine girerek burada yaşamını sürdürebilmektedir. Hücre içi yaşama ve çoğalmaya olanak sağlayan temel mekanizmalar, Tip III Salgı Sistemleri (Type III Secretion Systems-T3SS) olarak bilinen T3SS-1 ve T3SS-2 aracılığıyla yürütülmektedir. Bu iki sistem, enfeksiyon sürecinde kritik görevler üstlenen ve konak hücre fonksiyonlarını değiştirmek amacıyla özel olarak üretilen proteinleri (efektör proteinler) doğrudan konak hücre içine aktarmaktadır (Ibarra & Steele-Mortimer, 2009). Bunun yanı sıra, iyon taşıyıcıları, süperoksit dismutaz enzimleri, flagella ve fimbrialar gibi diğer virülans yapılar da hücre içi ortama erişim ve bu ortamdan yararlanma süreçlerinde etkili olmaktadır. *Salmonella*’nın özellikle memeli epitelyal hücrelerine girişinde görev alan *invA* geni, bu cinse özgü olması ve tüm türlerde yüksek oranda korunmuş DNA dizisine sahip bulunması nedeniyle dikkat çekmektedir. Bu özellikleri sayesinde, *invA* geni, PCR yöntemlerinde *Salmonella*’nın hızlı ve güvenilir şekilde tespiti için hedef olarak değerlendirilmektedir (Swamy, Barnhart, Lee, & Dreesen, 1996).

1.3.4.1. Fimbrialar

Salmonella türlerinde bulunan fimbriyal yapılar, biyofilm oluşumu, konak hücre yüzeylerine tutunma ve enfekte dokularda kolonizasyonun sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu yapılar enfeksiyon sürecinde konakla etkileşimin ilk aşamalarında görev almakla birlikte, bakterinin hücre içi hayatta kalma yetisi üzerinde doğrudan belirleyici bir

etkileri bulunmamaktadır (Humphries ve ark., 2001).

1.3.4.2. Flagella ve Flagellin

Salmonella'da flagella temelli hareketlilik, bakterinin istilacılığını artırabilen önemli bir faktördür. Ancak flagellin monomerlerinin konak bağışıklık sistemini güçlü şekilde aktive etmesi, bu yapının konak tarafından hızla tanınmasına yol açabileceğinden, flagella ekspresyonu bağışıklık tepkisiyle ilişkilendirilen bir özelliktir (Schmitt ve ark., 2001). Makrofajlarla enfekte *Salmonella* hücrelerinde, flagellin, T3SS-1 aracılığıyla konak hücre sitozolüne taşınmakta ve bu durum inflamatuvar yanıtın başlamasına ve kaspaz-1 aracılı hücre ölümüyle sonuçlanan piroptozis mekanizmasının aktive olmasına yol açmaktadır (Miao ve ark., 2006; Y.-H. Sun, Rolán, & Tsolis, 2007). Ayrıca, flagellin bağırsak epitelinde Toll-benzeri reseptör 5 (TLR5) üzerinden inflamasyonu indüklemekte; bununla birlikte, apoptoz mekanizmasını inhibe edici etkiler de göstermektedir. Ancak, TLR5'in epitel hücrelerin apikal yüzeyinde eksprese edilmemesi nedeniyle, flagellinin etkili olabilmesi için hücrenin bazolateral tarafına taşınması gerekmektedir (Vijay-Kumar ve ark., 2006). Genel olarak, flagella ekspresyonunun konak organizma içerisinde baskılandığı bilinmektedir. Ancak bazı çalışmalarda, makrofajlar içinde kirpiğin T3SS-1 aracılığıyla yeniden indüklenebildiği ve bakterinin fagositik hücrelerden kaçışında bu mekanizmanın rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Sano ve ark., 2007).

1.3.4.3. Plasmid

SpvB ve *SpvC* genleri, *S. Typhimurium*' un plazmid kaynaklı virülensinde temel rol oynayan faktörleri kodlamaktadır (Matsui ve ark., 2001). Bu genlerin ürünü olan efektör proteinler, T3SS-2 aracılığıyla konak hücreye aktarılır ve enfeksiyonun ilerlemesinde önemli işlevler üstlenir (Browne, Hasegawa, Okamoto, Fierer, & Guiney, 2008; Mazurkiewicz ve ark., 2008).

1.3.5. Gıdalarda *Salmonella* spp.

Salmonella türleri, çevresel koşullara dirençli olup uzun süre hayatta kalabilmeleri nedeniyle gıda güvenliği açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu bakteriler, özellikle bağırsak florasında bulunan bir patojen olarak bilinir ve fekal-oral yolla bulaşmaktadır (H. Li, Wang, D'Aoust, & Maurer, 2012). Salmonelloz, çoğu durumda hayvansal kaynaklı gıda ürünleriyle ilişkilidir (Williams ve ark., 2015). Özellikle, çiğ veya az pişmiş hayvansal

gıdalar, kontamine edilmiş su ve hijyen koşullarına dikkat edilmeden hazırlanmış gıdalar, enfeksiyonun temel kaynakları arasında yer almaktadır (Mølbak, Olsen, & Wegener, 2006).

Bu hastalıkların gelişimi, esas olarak, pastörize edilmemiş süt ürünleri, tavuk eti, yumurta ürünleri ve bunların türevleri gibi gıdalarda, bu mikroorganizmayı etkisiz hale getirecek kadar etkili bir ısı işlem uygulanmamış çiğ veya tüketime hazır ürünlerin tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Özellikle kümes hayvanları ve bunların türevleri, *Salmonella* için önemli bir rezervuar görevi görmektedir. Ayrıca, potansiyel olarak toprak veya kirli sulama suyu ile kirlenebilecek çiğ meyve ve sebzeler de bu hastalıkların gelişimine neden olabilir (Ricke, 2021). Çapraz bulaşma, *Salmonella* kontaminasyonunda önemli bir faktör olup, hijyenik olmayan mutfak koşulları, yetersiz pişirme ve gıdaların uygun olmayan şekilde saklanması bakterinin yayılmasını kolaylaştırmaktadır (Carrasco, Morales-Rueda, & García-Gimeno, 2012).

Salmonelloz, gıda kaynaklı salgınlarda en sık bildirilen patojenlerden biri olup, küresel halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır. 2022 yılında Avrupa genelinde 65.208 doğrulanmış insan salmonellozu vakası rapor edilmiştir ve bu vakaların büyük bir kısmı gıda kaynaklıdır. Vakaların %38,9'u hastaneye yatış gerektirmiş olup, ölüm oranı %0,22 olarak kaydedilmiştir (EFSA, 2023). Bu veriler, *Salmonella* enfeksiyonlarının gıda güvenliği yönetmeliklerine sıkı bir şekilde uyulmasını gerektirdiğini göstermektedir.

1.3.6. Gıdalarda *Salmonella* spp. Tespiti

Ülkemizde 2025/32812 sayılı Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğine göre belirlenen kriterlere göre *Salmonella* spp. gıdalarda tolere edilmez (TGK, 2025) ve varlığı/yokluğu UNE-EN ISO 6579-1 protokolü uygulanarak belirlenmektedir (ISO6579–1, 2017). Bu bakterilerin tespiti dört temel adıma göre gerçekleştirilir: 1. aşamada numunenin Tamponlu Peptonlu Suda ön zenginleştirilmesi, 2. aşamada seçici et suyu Muller-Kaufman tetrathionate veya Rappaport-Vassiliadis'te seçici zenginleştirme, 3. aşamada inkübe edilen bu iki seçici et suyundan izolasyonun katı seçici ortam olan Xiloz Lizin Deoksikolat agar (XLD) üzerinde yapılması ve 4. aşama olarak biyokimyasal ve serolojik testlerle doğrulanması. Bu yöntem "altın standart" olarak bilinmesine rağmen, kültüre dayalı tespit yöntemleri genellikle birkaç gün sürmekte olup, özellikle acil durumlar ve hızlı tanı gerektiren vakalar için zaman alıcıdır. Geleneksel yöntemlerin bu dezavantajı, alternatif ve hızlı teşhis yöntemlerinin geliştirilmesine olan ilgiyi artırmıştır. Bu nedenle, moleküler biyolojinin gelişmesiyle birlikte PCR ile tespit gibi hassas ve hızlı yöntemler ön plana

çıkıştır. Özellikle qPCR tabanlı yöntemler, düşük kontaminasyon seviyelerinde bile yüksek duyarlılık ve özgüllükle *Salmonella*'yı tespit etme imkânı sunmaktadır. Geleneksel yöntemlere ek olarak, *Salmonella* tespitinde farklı yenilikçi yaklaşımlar da geliştirilmektedir. Bunlar arasında biyosensör tabanlı sistemler, nanoteknoloji destekli yöntemler ve mikroakışkan sistemler yer almaktadır. Gıda güvenliğinde yaygın olarak kullanılan ticari hızlı tespit kitleri (örneğin, lateral akış immünokromatografik şerit testleri ve enzim immünoassay testleri), kısa sürede sonuç vermeleri nedeniyle tercih edilmektedir. Ayrıca, biyolojik tanıma molekülleri ile geliştirilen aptamerler, nükleik asit problemleri, bakteriyofaj bazlı sistemler ve lektinler, *Salmonella*'nın daha hassas ve özgül şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır. Optik temelli tespit yöntemleri kolorimetri, floresan, fototermal analiz gibi düşük seviyedeki *Salmonella* varlığını belirlemede etkili olmaktadır. Bununla birlikte, elektrokimyasal tanımlama teknikleri de gıda numunelerinde hızlı, hassas ve güvenilir teşhis potansiyeli sunan alternatif yöntemler arasında yer almaktadır (M. Wang ve ark., 2021).

Gıda kaynaklı *Salmonella* enfeksiyonlarının önlenmesi ve halk sağlığının korunması açısından, geleneksel kültür yöntemleri ile moleküler ve biyosensör tabanlı yeni nesil tanı yöntemlerinin entegrasyonu büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda, gıda analiz laboratuvarlarının hassasiyet ve özgüllüğü yüksek olan hızlı tespit yöntemlerine yönelmesi, *Salmonella* kaynaklı salgınların önlenmesine katkı sağlayacaktır (Umesha & Manukumar, 2018).

1.4. *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)

1.4.1. Taksonomik Durum

L. monocytogenes türü, Firmicutes şubesinin Bacilli sınıfı içerisinde yer alan Listeriaceae ailesine bağlı *Listeria* cinsi altında sınıflandırılmaktadır (Cavalier-Smith, 2002; Gibbons & Murray, 1978; Ludwig, 2009). *Listeria*, Listeriaceae ailesi içerisinde *Brochothrix* cinsi ile birlikte yer alan iki cinsinden biridir (Orsi, Liao, Carlin, & Wiedmann, 2024).

Günümüzde *Listeria* cinsi, geçerli olarak tanımlanmış 27 farklı tür içermektedir (Carlin ve ark., 2021; Kaszoni-Rückerl ve ark., 2020). Bu türler, filogenetik olarak iki ana gruba ayrılmaktadır: *Listeria sensu stricto* ve *Listeria sensu lato*. *Listeria sensu stricto* grubu, *L. monocytogenes*'in yanı sıra *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. marthii*, *L. farberi*, *L. immobilis*, *L. cossartiae* ve *L. swaminathanii* türlerini içerir ve bu grup,

patojenik türlerin de yer aldığı monofiletik bir sınıflandırmadır. *Listeria sensu lato* ise daha geniş genetik çeşitlilik gösteren, düşük benzerlik oranlarına sahip türleri barındırmakta ve filogenetik olarak paraphiletik bir yapıya sahiptir (Orsi ve ark., 2024).

Bu bağlamda, *Listeria sensu lato* grubunda yer alan bazı türlerin, üç yeni cins altında yeniden sınıflandırılması önerilmektedir: *Murraya* (yalnızca *L. grayi*'yi içerir), *Mesolisteria* (*L. floridensis*, *L. fleischmannii*, *L. aquatica*, *L. costaricensis* vb.) ve *Paenilisteria* (*L. rustica*, *L. portnoyi*, *L. rocourtiae* vb.) (Orsi ve ark., 2024). Bu türler arasında *L. monocytogenes*, insan sağlığı açısından en fazla risk taşıyan ve gıda güvenliği bakımından en kritik tür olarak öne çıkmaktadır. Buna ek olarak, bazı çalışmalarda *L. ivanovii* türünün de insanlarda hastalığa neden olabileceği bildirilmiştir. Ancak *L. monocytogenes*, özellikle gıda kaynaklı hastalıklarla olan güçlü ilişkisi nedeniyle, halk sağlığı açısından çok daha büyük bir öneme sahiptir (Orsi & Wiedmann, 2016; Zhu, Gooneratne, & Hussain, 2017).

L. monocytogenes türünün taksonomik konumu, moleküler tekniklerin ve filogenetik analizlerin katkısıyla daha ayrıntılı bir biçimde ortaya konmuş, özellikle son on yılda tanımlanan yeni türler sayesinde *Listeria* cinsinin evrimi ve çevresel uyum kabiliyeti hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir (Orsi ve ark., 2024).

1.4.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

L. monocytogenes, Gram pozitif, kısa çomak şeklinde bir bakteridir. Hücre boyutları genellikle 0,5–2,0 µm uzunluğunda ve 0,4–0,5 µm çapındadır. Spor oluşturmeyen bu bakteri, polar peritrik flagellaları sayesinde 20–25°C arasında karakteristik yuvarlanma tarzında hareket edebilir; ancak 37°C'de hareket yetisini kaybeder. Hücre yapısı, gelişim evresine bağlı olarak tekli, ikili ya da uzun zincirler hâlinde gözlenebilir (Allerberger, Bagó, Huhulescu, Pietzka, & Pleininger, 2023; Bhunia, 2008; Soares, Lerin, Cansian, Oliveira, & Mazutti, 2013).

Aerobik ve fakültatif anaerop özellik gösteren bu hücre içi patojen, katalaz pozitif ve oksidaz negatiftir. -4°C gibi düşük sıcaklıklarda da çoğalabilme yeteneğine sahip olması nedeniyle psikrotrofik mikroorganizmalar sınıfında değerlendirilir. Optimal gelişme sıcaklığı 30–37°C aralığında olmakla birlikte, 50°C'ye kadar çoğalmayı sürdürebilir. Geniş bir pH aralığına (4,1–9,6) adapte olabilir; optimum pH değeri ise 6–8 aralığındadır. Su aktivitesi açısından 0,90–0,97 değerleri arasında çoğalma gösterebilir. Ayrıca %10'a kadar tuz konsantrasyonlarında çoğalabilirken, %20–30 aralığındaki tuz varlığında canlılığını koruyabilme yeteneği ile dikkat çeker (Chaves ve ark., 2016; Jamshidi & Zeinali, 2019).

L. monocytogenes sıradan besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilir. Kolonileri düzgün, konveks, 1–2 mm çapında, yarı saydam, yuvarlak ve düzgün kenarlı formda gözlenir. Kanlı agar ortamında ise koloniler daha küçük ve gri renkli olup çevrelerinde genellikle zayıf bir β -hemoliz zonu mevcuttur (Sauders ve ark., 2012). Bu tür, lesitinaz enzimi sentezleyebilir, glikozu gaz oluşturmada asitlere fermente edebilir ve eskülin hidrolize etme yeteneğine sahiptir. Ancak nitrat redüktaz ve indol üretimi bulunmamaktadır. Antijenik olarak, somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerine sahiptir ve bu antijenler serotiplendirme açısından önemlidir (Jamshidi & Zeinali, 2019; Linke ve ark., 2014).

Yarı katı hareketlilik besiyerine daldırma ekimi yapıldığında, organizmanın mikroaerofilik yapısı nedeniyle yüzeyin yaklaşık 0,5 cm altında karakteristik bir “şemsiye” ya da ters çevrilmiş “çam ağacı” görünümü oluşur. CAMP testi ile *L. monocytogenes*, beta-lizin pozitif *S. aureus* ile birlikte kanlı agar üzerinde karakteristik geniş bir hemoliz alanı oluşturur. Bu durum, *L. ivanovii* türünden ayırt edilmesini sağlar; çünkü *L. ivanovii* benzer bir hemolitik alan oluşturmaz. Ayrıca *L. monocytogenes*, aside dirençli bir mikroorganizmadır ve bu özelliği, mide asidi gibi zorlu ortamlarda hayatta kalabilmesini sağlar (Ray & Bhunia, 2016).

1.4.3. Patogenez

L. monocytogenes, farklı virülans yeteneklerine sahip 13 serotipten oluşur ve bu serotipler üç soya ayrılır. Soy I, 1/2b, 3b, 4b, 4d ve 4e serotiplerini içerirken; Soy II, 1/2a, 1/2c ve 3c serotiplerini içerir. Soy III ise 4a, 4b ve 4c serotiplerinden oluşur. Patojenite düzeyleri tür içi değişiklikler gösterir ve 1/2a, 1/2b, 4b serotipleri, insan listeriosisinden izole edilen tüm suşların %95’ini oluşturur (Barbuddhe ve ark., 2008; Tamburro, Sammarco, Fanelli, & Ripabelli, 2019).

Çeşitli araştırmalar, gıdalardan en sık izole edilen *L. monocytogenes* serotipinin 1/2a olduğunu, insanlarda listeriyoz vakalarının çoğundan ise serotip 4b’nin sorumlu olduğunu ortaya koymuştur (Borucki & Call, 2003; Jacquet, Guin, Jeannel, Cossart, & Rocourt, 2002; Kathariou, 2002). Bu patojen, oral yolla alındıktan sonra gastrointestinal mukozayı geçerek sistemik dolaşıma ve lenfatik sisteme ulaşabilir. Bu yolla özellikle karaciğer ve dalak gibi retiküloendotelial organlarda enfeksiyona neden olur. İmmünsüpre bireylerde, yaşlılarda, yenidoğanlarda ve gebelerde ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Kuluçka süresi, maruz kalınan *Listeria* yüküne ve bireysel bağışıklık durumuna bağlı olarak birkaç gün ile iki ay arasında değişebilir. Bu durum, enfeksiyonun kaynağının geriye dönük olarak belirlenmesini ve tanının netleştirilmesini zorlaştırmaktadır. Listeriyoz genellikle iki

klirik formda seyredir: septisemik (kan yoluyla yayılım) ve nörolojik (menenjit, ensefalit gibi merkezi sinir sistemi enfeksiyonları) formlar. Bu formlar çoğunlukla birkaç gün içinde belirti gösterirken, gebelerde görülen form ise genellikle daha geç belirti verir. Gebelikle ilişkili listeriyoz, özellikle üçüncü trimesterde görüldüğünde, annenin asemptomatik olmasına rağmen fetüste ciddi enfeksiyonlara yol açabilir. Düşük, erken doğum, ölü doğum veya doğum sonrası yenidoğanda sepsis ve menenjit gibi ağır klinik tablolara neden olabilir (Chaves ve ark., 2016; Vidhya Ramaswamy ve ark., 2007).

L. monocytogenes, kontaminasyona uğramış gıdaların tüketilmesi sonucunda ortaya çıkan, ciddi ve potansiyel olarak ölümcül seyreden bir gıda kaynaklı enfeksiyon olan listeriyozun etkenidir. Bu bakteri, bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde sepsis ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına neden olabilirken; gebelerde ise çoğunlukla hafif seyirli grip benzeri semptomlarla kendini gösterir. Ancak bu durum, fetus açısından son derece risklidir. Enfeksiyon, düşük, erken doğum, ölü doğum ya da doğum sonrası yenidoğanda sepsis veya menenjit gibi ağır komplikasyonlarla sonuçlanabilir (Angelidis, Kalamaki, & Georgiadou, 2015; Ledlod, Bunroddith, Areekit, Santiwatanakul, & Chansiri, 2020).

Listeriyozun iki klinik formu bulunmaktadır: invaziv ve non-invaziv. İnvaziv form, genellikle bağışıklık sistemi zayıf bireyleri, yaşlıları, yenidoğanları ve hamileleri etkiler. Ateş, kas ağrısı, endokardit, pnömoni, menenjit gibi ciddi sistemik semptomlarla karakterizedir. Non-invaziv form ise genellikle sağlıklı bireylerde görülür; hafif ishal, ateş, kas ağrısı ve baş ağrısı gibi belirtilerle sınırlı kalır ve çoğu zaman 72 saat içinde kendiliğinden iyileşir (Pizarro-Cerdá & Cossart, 2019).

1.4.4. Başlıca Virülans Faktörleri

Bir enfeksiyona neden olmak için *L. monocytogenes*'in birçok engeli aşması gerekmektedir. İlk olarak bağırsak yolundan geçişe direnç göstermeli, insan hücrelerini tanıyıp hedeflemeli, onlara yapışmalı ve içlerine girmelidir. Ardından fagozom olgunlaşmasını geciktirmeli, sitoplazmaya kaçmalı, toksinler gibi çeşitli faktörlerin üretimini kontrol etmeli ve diğer hücreleri enfekte etmek için yollar bulmalıdır (Camejo ve ark., 2011).

Çok sayıda virülans faktörü geliştirmiş olan *L. monocytogenes*, çok çeşitli hücreleri, dokuları ve organları enfekte etme kapasitesine sahiptir.

1.4.4.1. Hemolizin

L. monocytogenes'in patojenitesinde önemli rol oynayan ve genetik olarak ilk tanımlanan virölans belirleyicisi *hly* genidir. Bu genin ürünü olan listeriolizin O (LLO), türün kanlı agarda beta-hemoliz oluşturma yeteneğinden sorumludur. *Listeria* cinsi içinde hemolitik aktivite ile patojenlik arasındaki güçlü ilişki uzun süredir bilinmektedir (Groves & Welshimer, 1977). Listeriolizin O, 58–60 kDa moleküler ağırlığa sahip, sülfhidril gruplarıyla aktive edilen ve por oluşturan bir toksindir. Bu protein, kolesterole bağımlı sitolizinler sınıfında yer almakta olup, kolesterolü konak hücre membranında bir reseptör olarak kullanır. Söz konusu toksin, kolesterol içeren zar yapılarında oligomerik porlar oluşturarak hücre geçirgenliğini bozar (Bhakdi, Tranum-Jensen, & Sziegoleit, 1985). Listeriolizin O, streptolizin O, ivanolizin O, pneumolizin ve alveolizin gibi diğer bazı toksinlerle hem yapısal hem de işlevsel olarak benzerlik gösterir. Ayrıca sadece *Listeria* türlerinde bulunan seeligerolizin ile de genetik ve antijenik açıdan ilişkilidir. Optimal aktivitesini asidik pH koşullarında göstermesi, bu toksinin fagosom içerisindeki düşük pH ortamında etkinlik gösterecek şekilde evrimleştiğini düşündürmektedir. Ayrıca yalnızca por oluşumu değil; hücre zarı üzerinde füzyon, lipid ekstraksiyonu ve yapısal bozulma gibi çeşitli etkiler de tanımlanmıştır (Bonev, Gilbert, Andrew, Byron, & Watts, 2001).

1.4.4.2. Act A

ActA geni, *hly* geninin hemen sonrasında yer alır ve bu genin ürünü olan protein, hücre içi hareket ile bakterinin bir hücreden diğerine yayılmasından sorumludur. ActA mutantlarının incelenmesi, bu proteinin yokluğunda bakterilerin yayılma yeteneğini kaybettiğini ortaya koymuştur. Yaklaşık 90 kDa büyüklüğündeki bu protein, prolin açısından zengin bölgeleri sayesinde aktin filamentlerinin polimerizasyonunu tetikleyerek hücre içinde karakteristik 'aktin kuyrukları' oluşturur (Kocks, Hellio, Gounon, Ohayon, & Cossart, 1993).

1.4.4.3. İnternalinler

İnternalin adı verilen yüzey proteinleri, *prfA* genine bağlı ya da bağımsız yollarla ve sıcaklığa duyarlı olarak düzenlenen *inlA* ve *inlB* genleri tarafından kodlanmaktadır (Dramsi, Kocks, Forestier, & Cossart, 1993; Lingnau ve ark., 1995). Transpozon mutagenesi ve *inlAB* gen bölgesinde yapılan “çerçeve içi silinme” (in-frame deletion) çalışmaları, internalin proteinlerinin konak hücreye girişte görevli invazyon faktörleri olduğunu göstermiştir. Çerçeve içi silinme, ilgili genin kodlama dizisinde üç bazın katları

şeklinde yapılan hedefli bir silinmeyi ifade eder ve bu sayede genetik kodun okuma çerçevesi bozulmadan sadece istenilen proteinin belirli bir kısmı işlevsiz hale getirilir. Bu teknik sayesinde, gen tamamen yok edilmeden fonksiyonel etkisi analiz edilebilir. Yapılan bu genetik çalışmalar, InlA ve InlB proteinlerinin *L. monocytogenes*'in fagositik olmayan epitel hücrelere aktif olarak girmesini sağladığını ve enfeksiyon sürecinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Lingnau ve ark., 1995).

1.4.4.4. Protein p60

P60 (*iap*) geni ve onun ürünü, *Listeria* kolonilerinin agar plakalarında pürüzlü bir görünüm kazanmasında rol oynar. Bu gen, hücre bölünmesinde gerekli olan murein hidrolaz aktivitesi ile normal septum oluşumunu sağlar ve hücre yaşayabilirliği açısından hayati öneme sahiptir. P60 geninde meydana gelen mutasyonlar genellikle ölümcüldür (Wuenschel, Köhler, Bubert, Gerike, & Goebel, 1993). Yaklaşık 60 kDa büyüklüğünde olan bu hücre dışı protein, *Listeria* spp.'nin fibroblast hücrelerine girişinde de etkili rol oynar (Kuhn & Goebel, 1989).

1.4.4.5. Fosfolipazlar

L. monocytogenes'te fosfolipaz üretimi ilk kez 1962 yılında yumurta sarısı içeren agarda oluşturduğu opaklık reaksiyonu ile tanımlanmıştır (Füzi & Pillis, 1962). Fosfolipaz C aktivitesi gösteren üç farklı enzim, patojenitenin önemli belirleyicileri arasında yer almaktadır. Bunlardan PlcA ve PlcB, hem *L. monocytogenes* hem de *L. ivanovii* türlerinde bulunurken; üçüncü enzim olan smcL, yalnızca *L. ivanovii*'ye özgüdür. PlcA, yaklaşık 29 kDa büyüklüğünde olup, *hly* geninin üst bölgesinde yer alan *plcA* geninden sentezlenmektedir. PlcB ise 33 kDa büyüklüğündedir ve *plcB* geninden sentezlenen PC-PLC'nin öncül formudur. Bu fosfolipazlar, bakterinin fagozomdan kaçışını sağlayarak hücre içi çoğalmasına katkıda bulunur (Goldfine, 2020).

1.4.5. Gıdalarda *L. monocytogenes*

Gıdaların kontaminasyona açık olduğu başlıca ürünler, çiğ veya tüketime hazır gıdalardır. Bunlar arasında süt ve peynir gibi süt ürünleri, et ve genellikle çiğ ya da az pişmiş olarak tüketilen yapraklı sebzeler bulunur. Ek olarak, *L. monocytogenes*, su ve toprak kaynaklı bir bakteri olup, gıdalara tarımsal sulama, gıda işleme ekipmanları ve kontamine personel aracılığıyla bulaşabilir. Pastörize edilmemiş süt ve hijyenik koşullar

altında işlenmemiş et ürünleri bu bakteri için önemli rezervuarlar arasındadır. *L. monocytogenes*'in düşük sıcaklıklarda bile üreyebilme yeteneği nedeniyle, gıdaların soğutulması bu tehlikeye karşı koruma sağlamaz. Bunun yanı sıra, bu bakteri biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir ve gıda işleme ortamlarında uzun süre hayatta kalabilir. Bu nedenle, gıda üretiminde hijyen standartlarının sıkı bir şekilde uygulanması önemlidir. Bu yüzden, özellikle hamile kadınlar ve hassas kişiler, yalnızca iyice pişirilmiş gıdaları tüketmelidir (Doménech, Jimenez-Belenguer, Amoros, Ferrus, & Escriche, 2015; Ledlod ve ark., 2020).

1.4.6. Gıdalarda *L. monocytogenes* Tespiti

L. monocytogenes, gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilen ciddi bir patojen olduğu için halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturur. Bu bakteri, düşük dozlarda bile enfeksiyona yol açabilmesi nedeniyle, özellikle bağışıklık sistemi zayıf bireylerde ağır klinik tablolara neden olabilir. Bu yüzden birçok ülkede listeriyozise karşı “sıfır tolerans” politikası benimsenmiştir. Listeriyozis vakalarının azaltılmasında en etkili strateji, gıda üretim zincirinin her aşamasında kontaminasyonun önlenmesine yönelik önlemlerin alınmasıdır. Bu kapsamda, üretim ortamlarının düzenli olarak izlenmesi, temizlik ve sanitasyon uygulamalarının etkin yürütülmesi ve riskli ürünlerin periyodik olarak analiz edilmesi büyük önem taşır (Donnelly, 2001).

Ülkemizde, 2025/32812 sayılı Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğine göre (TGK, 2025), gıdalarda *L. monocytogenes*'in varlığına kesinlikle tolerans gösterilmemekte ve bu patojenin tespiti için UNE-EN ISO 11290-1 standardı referans alınmaktadır (ISO11290-1, 2018).

Bu standarda göre, mikrobiyolojik kontroller kültürel yöntemlerle gerçekleştirilmekte ve dört temel aşamayı içermektedir. İlk adımda, örnekler yarı konsantrasyonlu Fraser Broth besiyerinde 30°C’de 24–26 saat inkübasyona alınarak ön zenginleştirme yapılır. İkinci adımda, bu ön zenginleştirilmiş örnekler tam konsantrasyonlu Fraser Broth’a aktararak 37°C’de 24 saat inkübe edilir. Üçüncü aşamada, seçici katı ortam olarak kullanılan Ottaviani ve Agosti agarı (ALOA) üzerinde izolasyon sağlanır ve plakalar 37°C’de 24–48 saat inkübe edilir. Son olarak, elde edilen koloniler morfolojik özellikleri ve biyokimyasal testlerle doğrulanır (ISO11290-1, 2018). Ancak klasik kültür yöntemlerinin sonuç vermesi genellikle birkaç günü bulduğundan, özellikle salgınların yönetimi veya hızlı müdahale gerektiren durumlarda bu süreç zaman açısından dezavantaj

oluşturmaktadır. Bu nedenle, daha hızlı tespit yöntemlerine olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır.

Her ne kadar bu yöntemlerin etkinliği bilimsel olarak kanıtlanmış olsa da, analiz süresinin 4 ila 5 günü bulması ve birçok farklı seçici besiyerinin kullanımını gerektirmesi, özellikle tek bir örnekten birden fazla patojenin tespit edilmesini zorlaştırmaktadır. Bu durum, tüketime hazır gıdalarda zamanında müdahale edilmesini engelleyerek halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, analiz süresini kısaltma ihtiyacı, farklı prensiplere dayanan birçok ticari hızlı tespit yönteminin geliştirilmesine zemin hazırlamıştır. Ancak, bu yöntemlerin tamamı, test öncesinde en az bir seçici zenginleştirme adımı gerektirir. Son yıllarda geliştirilen yeni nesil yöntemler sayesinde hem nitel (kalitatif) hem de nicel (kantitatif) analizler daha kısa sürede gerçekleştirilebilmektedir. Bu testler arasında immünoenzimatik testler, nükleik asit hibridizasyonu ve PCR gibi moleküler yöntemler öne çıkmaktadır.

Bazı hızlı analiz yöntemleri, *L. monocytogenes*'e özgü antikorlarla kaplanmış yüzeyler kullanarak 2–3 gün içinde pozitif ve negatif örnekleri ayırmak amacıyla immün yakalama adımı uygular. Ancak, pozitif sonuçlar yine de seçici kültür ortamlarında izolasyon ve tanımlama ile doğrulanmak zorundadır (Barre ve ark., 2020)

Bu bağlamda, geleneksel kültür yöntemleri ile modern moleküler yaklaşımların entegre kullanımı, gıda güvenliğinin sağlanmasında daha etkin bir denetim sistemi sunmaktadır. Moleküler tespit yöntemleri, gıda kaynaklı patojenlerin hızlı, hassas ve güvenilir şekilde tanımlanmasında kritik bir rol üstlenmektedir. Özellikle qPCR, Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ve Next-Generation Sequencing (NGS) gibi ileri teknikler, erken teşhis ve salgın kontrolü açısından büyük avantajlar sunmaktadır. Ayrıca, bu tekniklerin otomasyon sistemleriyle entegre edilmesi sayesinde, büyük ölçekli gıda analizlerinde insan kaynaklı hata riski azaltılmakta ve daha tutarlı sonuçlar elde edilmektedir. Bunun yanında, biyosensör tabanlı yeni teknolojiler de *L. monocytogenes* tespitinde hızlı ve hassas bir alternatif olarak ön plana çıkmaktadır. Bu sistemler, özellikle gıda üretim sahalarında yerinde test imkânı sunarak erken uyarı sistemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır (Aladhadh, 2023; Trippa ve ark., 2024).

1.5. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

1.5.1. Taksonomik Durum

S. aureus türü, Firmicutes şubesine, Bacilli sınıfına, Bacillales takımına ve Staphylococcaceae familyasına ait olan *Staphylococcus* cinsinde sınıflandırılmaktadır (Gherardi, Di Bonaventura, & Savini, 2018). Bu familya, başlıca *Staphylococcus*, *Macrococcus*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus* ve *Gemella* gibi cinsleri içermektedir (Garrity, Bell, & Lilburn, 2004; Gherardi ve ark., 2018).

S. aureus türü, yaklaşık %30–40 arasında değişen düşük G+C oranına sahip DNA içeriği ile karakterize edilmektedir. Ayrıca, 10% NaCl varlığında ve 18–40°C sıcaklık aralığında gelişebilme yeteneğine sahiptir. Bu özellikleri ile, *Staphylococcus* cinsi üyeleri arasında önemli bir taksonomik ve fizyolojik ayırt ediciliğe sahiptir (Gherardi ve ark., 2018; Madhaiyan, Wirth, & Saravanan, 2020).

Moleküler filogenetik analizler ve genom temelli sınıflandırma yaklaşımları, özellikle 16S rRNA gen dizilemesi, dijital DNA–DNA hibridizasyonu, nükleotid benzerliği ve aminoasit benzerliği gibi ölçütlerin kullanılmasıyla, *Staphylococcaceae* familyası içindeki taksonomik ayrımların daha hassas yapılmasını mümkün kılmıştır. Bu yöntemlerin yardımıyla, *S. aureus*'un alt türleri olan *S. aureus subsp. aureus* ve *S. aureus subsp. anaerobius*'un, artık taksonomik olarak *S. aureus* altında birleştirilmesi önerilmiştir (Madhaiyan ve ark., 2020).

S. aureus, *Staphylococcus* cinsi içerisinde en yaygın rastlanan ve halk sağlığı açısından en önemli türlerden biri olarak kabul edilmektedir. Hem insan hem de hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen bu patojen, özellikle antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarıyla dikkat çekmektedir. Bu direnç mekanizmaları arasında yer alan metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları, sağlık kuruluşlarında görülen nozokomiyal enfeksiyonların başlıca etkenlerinden biridir. Bununla birlikte, *S. aureus*'un enterotoksin üretme kapasitesi, onu sadece klinik açıdan değil, aynı zamanda gıda güvenliği açısından da önemli bir risk faktörü haline getirmektedir (Gherardi ve ark., 2018).

1.5.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

S. aureus, çapı 0,5-1 µm arasında değişen, Gram-pozitif yuvarlak şekilli (kok) bir bakteridir. Hareketsizdir ve spor oluşturma yeteneği bulunmamaktadır. Hücreler genellikle üzüm salkımını andıran kümeler hâlinde gözlenmekle birlikte, bazen izole hâlde, diplokok formunda ya da kısa zincirler şeklinde de bulunabilmektedir (Becker ve ark., 2004; Sievert ve ark., 2013).

Staphylococcus cinsine ait bakterilerin tanımlanmasında gram boyama tekniği yaygın

olarak kullanılmaktadır. Bakterilerin mikroskop altında incelenmesiyle mor renkte boyandıkları ve Gram-pozitif özellik gösterdikleri belirlenmektedir. Bu durum, kalın hücre duvarı ve sitoplazmik zardan kaynaklanmaktadır. Yaklaşık 20 nm kalınlığındaki hücre duvarı, peptidoglikan (murein veya glikopeptid) adı verilen makromoleküllerden oluşmakta; bu yapılar oligopetid zincirleriyle çapraz bağlanarak hücreye mekanik dayanıklılık, esneklik ve çevresel basınca karşı direnç kazandırmaktadır. Ayrıca hücre duvarı, Gram-pozitif bakterilere özgü olarak teikoik asit içermektedir. Bu yapının sentezi, transpeptidaz enzimleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Transpeptidazların yüzeyinde bulunan ve penisilin ile etkileşime girebilen PBP (penicillin binding protein) yapıları, antibiyotik bağlandığında inaktive olmakta; böylece hücre duvarı sentezi durdurulmaktadır. Hücre duvarı, hücrenin şeklini koruma, ozmotik basınca karşı direnç sağlama ve lizozim gibi enzimlere karşı koruma gibi temel işlevleri üstlenmektedir. Ayrıca, hücre duvarında 1 nm'den küçük moleküllerin geçişini sağlayan permeaz enzimleri yer almaktadır. Gram-pozitif bir hücre lizozim etkisine maruz kaldığında, hücre protoplast hâline dönüşmektedir (A. S. Lee ve ark., 2018; Schindler, 2010).

S. aureus, oksijen varlığında ve fakültatif anaerobik koşullarda çoğalabilme yeteneğine sahiptir. Katalaz pozitif, oksidaz negatif özellik göstermekte; glikozu gaz üretmeden fermente edebilmekte ve mannitolü metabolize edebilmektedir (Nandy, Roy, Thakur, & Chaudhuri, 2009).

Oksijenin bulunduğu ortamlarda, içerdiği yüksek düzeyde karotenoid pigmentler nedeniyle altın sarısı renkte, konveks, düzgün yüzeyli, krem kıvamında, opak ve pigmentli koloniler meydana getirmektedir. Mezofilik özellik göstermekte olup, en verimli metabolik aktivitesini yaklaşık 37°C'de gerçekleştirmektedir. Düşük sıcaklıklarda bu aktivitelerde azalma gözlenirken, yüksek sıcaklıklar hücrelerin etkin bir şekilde inaktivasyonuna yol açmaktadır (G. Y. Liu ve ark., 2005; X. Wu & Su, 2014).

S. aureus'un fizyolojik toleransı geniş olup, nötr pH (yaklaşık 7) civarındaki ortamlarda metabolik faaliyetlerini en verimli şekilde sürdürebilmektedir. Bununla birlikte, yüksek NaCl konsantrasyonlarında da çoğalabilmesi nedeniyle halofilik mikroorganizmalar arasında yer almaktadır. Ayrıca kristal violet ve potasyum tellürit gibi bazı antibakteriyel maddelere karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. *S. aureus*; serbest koagülaz (stafilokoagülaz), termonükleaz (termostabil DNase), beta hemolitik aktivite ve jelatin sıvılaştırma gibi özellikleri ile de tanımlanmaktadır (Eisenstein, 2008; Monteith, Miller, Maxwell, Chazin, & Skaar, 2021).

1.5.3. Patogenez

S. aureus, sağlıklı bireylerin deri, burun ve ağız boşluğunda kolonize olabilen bir mikroorganizmadır. Ancak sahip olduğu çok sayıda virülans faktörü, enzim ve toksin aracılığıyla fırsatçı bir patojen niteliği kazanarak konakçısında çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu bakteri, hem hücre dışı hem de hücre içi patojen olarak etki gösterebilmektedir. Virülans faktörleri, konak bağışıklık sistemine yapışma, bu sistem içinde kalıcılık ve korunma sağlama, aynı zamanda bağışıklık yanıtından kaçınma gibi enfeksiyon sürecinin farklı aşamalarında rol üstlenmektedir (Becker, 2018; Groves & Welshimer, 1977).

Çocuklarda, yetişkin bireylere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek kalıcı taşıyıcılık oranları saptanmıştır (Wertheim ve ark., 2005).

S. aureus, idrar yolu enfeksiyonları, enfektif endokardit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, menenjit, pnömoni, osteomyelit, gastroenterit, toksik şok sendromu ve septik artrit gibi pek çok klinik tablonun etiyolojik etmenleri arasında yer almaktadır (Dayan ve ark., 2016). Enfeksiyonun patofizyolojisi, geliştiği klinik tabloya göre önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Fagositozu engellemeye yönelik kapsül oluşumu, lökositlerin kemotaksisinin baskılanması, biyofilm oluşumu, antikorların nötralizasyonu ve hücre içi yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesi, konak bağışıklığının aşılması için etkin mekanizmalar arasında yer almaktadır (Pandey, Bastola, Shrestha, Dahal, & Shah, 2020).

Virülans faktörlerinden biri olan hücre duvarı bileşeni Protein A, opsonizasyonu ve fagositozu inhibe etme özelliğine sahip olup aynı zamanda immünojenik özellik göstermekte ve aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilmektedir. Bazı suşlarda antifagositik özellik gösteren polisakkarit kapsüllerin varlığı bildirilmiştir. Enzimatik açıdan değerlendirildiğinde, katalaz ve serbest koagülaz enzimlerinin fagositozdan kaçışta rol oynadığı, fosfolipaz C'nin doku hasarına yol açtığı, lipazların cilt ve cilt altı dokulardaki yayılımı kolaylaştırdığı ve stafilokinaz ile hyaluronidaz enzimlerinin doku bariyerlerini aşarak komşu dokulara geçişte etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, DNaz, proteaz ve fosfataz gibi ek enzimlerin üretimi de söz konusudur (Stewart, 2017).

Farklı tipte pek çok patojenik etmeni sentezleyebilme kapasitesine sahip olması, *S. aureus* kaynaklı gıda kontaminasyonlarını halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit haline getirmektedir. Bu mikroorganizma tarafından sentezlenebilen enterotoksinler, adezyon

proteinleri, toksik şok sendromu toksini (TSST), eksofoliyatif toksinler (ETA, ETB), hemolizinler, ADP-ribozilasyon yapan toksinler ve proteazlar, söz konusu tehdidin temelini oluşturan faktörler arasında yer almaktadır (Pérez ve ark., 2020). Stafilokok enterotoksinleri (SE'ler), enterotoksijenik suşların salgıladığı ve kontamine gıdaların tüketilmesiyle ortaya çıkan gıda kaynaklı enfeksiyonlarda önemli rol oynamaktadır. Bu toksinlerin proteolitik enzimlere, özellikle tripsin ve pepsine karşı dirençli olması, gastrointestinal sistemde aktif kalmalarına olanak tanımaktadır (Le Loir, Baron, & Gautier, 2003).

S. aureus, ayrıca çeşitli toksinler aracılığıyla konak hücrelerini hedef almaktadır. α -hemolizin, polimorfonükleer hücreler ve bazı hayvan türlerine ait eritrositler üzerinde zar hasarına neden olmaktadır. Eksofoliyatif toksinler, epiderminin en dış tabakasının ayrılmasına ve epitel deskuamasyonuna yol açmakta, böylece "Haşlanmış Cilt Sendromu" ya da "Ritter Hastalığı" gelişebilmektedir. Toksik Şok Sendromu Toksini 1 (TSST-1), özellikle adet döneminde vajinal tampon kullanan kadınlarda görülen, ani tansiyon düşüşü, dolaşım yetmezliği, şok, döküntü, bulantı, kusma, kas ağrıları ile böbrek ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma gibi ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir. Lökosidin ise, polimorfonükleer hücre zarlarında toksik etki gösteren bir ekzotoksindir. Ayrıca termostabil özellikte olan ve mide enzimlerine dirençli enterotoksinler (A, B, C, D ve E), sindirim sonrası aktifliğini sürdürebilmekte ve gıda zehirlenmesi olgularında ishal ve kusma gibi semptomlara neden olabilmektedir (A. Castro, Silva, & Teixeira, 2018; Grace & Fetsch, 2018).

S. aureus'un neden olduğu enfeksiyonların şiddeti, bakteri tarafından üretilen toksinler ve virülans faktörleriyle doğrudan ilişkili olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, antibiyotiklere karşı geliştirilen direnç mekanizmaları da tedavi süreçlerini önemli ölçüde zorlaştırmaktadır. Özellikle β -laktam antibiyotiklere karşı dirençli suşlar, hem toplum kaynaklı hem de hastane kökenli ciddi enfeksiyonların etkeni olabilmektedir. Bu dirençli suşlardan biri olan metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (Fey ve ark., 2003).

1.5.3.1. Metisiline Dirençli *S. aureus* (MRSA)

Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), sağlık kuruluşlarında edinilen (HA-MRSA), toplum kaynaklı (CA-MRSA) ve hayvanlarla ilişkili (LA-MRSA) enfeksiyonların önde gelen etkenlerinden biridir. Bu bakteri, metisilin ve penisilin başta olmak üzere birçok β -

laktam grubu antibiyotiğe karşı direnç göstermektedir. Direnç, *mecA* geninin kodladığı düşük afiniteye sahip Penicillin Binding Protein 2a (PBP2a) tarafından sağlanmakta olup, bu durum β -laktam antibiyotiklerin hedefine bağlanmasını engelleyerek tedaviyi etkisiz hale getirmektedir (van Rijen ve ark., 2013). Son yıllarda tanımlanan *mecC* geninin de benzer direnç özellikleri taşıdığı ve hem insan hem de hayvan kaynaklı izolatlarda tespit edildiği bildirilmiştir (Lozano ve ark., 2020).

Hastane kaynaklı MRSA suşları genellikle çoklu antibiyotik direnci sergilemekte, zayıflamış bağışıklık sistemi olan bireylerde invaziv enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu suşlar sıklıkla cerrahi alan enfeksiyonları, kateter ilişkili bakteriyemi, sepsis ve pnömoni gibi ciddi klinik tablolara yol açmaktadır (Pickens & Wunderink, 2022). En yaygın epidemiyolojik klonlar arasında Avrupa'da EMRSA-15 ve EMRSA-16, Asya'da ise ST239 (CC8) yer almaktadır (Bal ve ark., 2016).

CA-MRSA suşları ise, genellikle sağlıklı bireylerde cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmakta, sporcular, askerler, öğrenciler ve cezaevlerinde kalan bireylerde salgınlar oluşturabilmektedir. CA-MRSA suşlarının genellikle antibiyotiklere daha duyarlı oldukları, ancak Panton-Valentine Lökosidin (PVL) gibi toksinler üretmeleri nedeniyle yüksek virülans gösterdikleri bildirilmektedir (M. Z. David & Daum, 2010). PVL, nötrofiller üzerinde toksik etki göstererek nekrotizan pnömoni ve rekürren enfeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir (Loeffler ve ark., 2013).

Son yıllarda hayvancılıkla ilişkili MRSA suşlarının da artış gösterdiği bildirilmektedir. Özellikle CC398 klon hattı, domuz, sığır, tavuk gibi gıda hayvanlarında yaygın olarak bulunmakta ve bu hayvanlarla temas eden çiftçiler, veteriner hekimler ve mezbaha çalışanlarında kolonizasyona neden olabilmektedir (Cuny, Wieler, & Witte, 2015). Bu suşların insanlara geçişi hem doğrudan temasla hem de çevresel yollarla gerçekleşebilmektedir (Crespo-Piazuelo & Lawlor, 2021).

MRSA tanısında, fenotipik yöntemlerin yanı sıra genotipik yaklaşımlar da kullanılmaktadır. *mecA* geninin PCR ile tespiti, dirençli suşların doğrulanmasında altın standart olarak kabul edilmektedir. Ek olarak, SCCmec tipi, MLST ve *spa* gen bölgesi analizleri gibi moleküler tiplendirme yöntemleri de epidemiyolojik takibi kolaylaştırmaktadır (Mohanasoundaram & Lalitha, 2008).

MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde geleneksel olarak vankomisin tercih edilmekte olup, son yıllarda teikoplanin, daptomisin, linezolid, ceftarolin ve tedizolid gibi antibiyotiklerin etkinliği de gösterilmiştir (Vena ve ark., 2023). Özellikle ceftarolin fosamil, endokardit gibi ciddi enfeksiyonlarda yüksek bakterisidal etki göstermektedir.

Ayrıca doğal ve sentetik antimikrobiyal ajanların birlikte kullanımı, sinerjik etki sağlayarak direnç gelişimini azaltmak amacıyla değerlendirilmektedir (Bassetti, Russo, Carnelutti, & Wilcox, 2019).

Dirençle mücadelede alternatif yaklaşımlar arasında bakteriyofaj-antibiyotik kombinasyonları, immünoterapi, aşı geliştirme çalışmaları ve nanoteknolojik ilaç taşıma sistemleri yer almaktadır (Nandhini ve ark., 2022).

1.5.4. Başlıca Virülans Faktörleri

S. aureus'un patojenitesi, çeşitli virülans faktörlerinin karmaşık etkileşimiyle şekillenir. Bu faktörler, bakterinin konağa yapışmasını, bağışıklık sisteminden kaçınmasını, doku invazyonunu ve toksin aracılı hastalık süreçlerini yönlendiren temel mekanizmalardır. *S. aureus*'un virülans stratejileri arasında hücre yüzeyine tutunmayı sağlayan adezinler, bağışıklık sistemini baskılayan ve dokulara zarar veren toksinler, immün yanıtı manipüle eden proteinler ve doku yıkımına neden olan enzimler yer alır. Bakterinin konak ile etkileşimi, enfeksiyonun şiddetini ve yayılımını belirleyen en önemli unsurlardan biridir (Bien, Sokolova, & Bozko, 2011). Bu bağlamda, *S. aureus*'un başlıca virülans faktörleri detaylı olarak incelendiğinde, enfeksiyon sürecinin daha iyi anlaşılması ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi mümkün hale gelmektedir (Cheung, Bae, & Otto, 2021).

1.5.4.1. *S. aureus* Yapışma Faktörleri (adezinler)

Adezinler, *S. aureus* suşlarının konak hücre yüzeylerine tutunmasını sağlayan yüzey proteinleridir ve enfeksiyon sürecinin başlangıcında, özellikle kolonizasyonun ilk aşamasında kritik rol oynamaktadır. Bu proteinler, mikrobiyal yüzey bileşenlerini tanıyan yapışkan matris molekülleri (MSCRAMMs: microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) ailesine dâhildir. MSCRAMM'ler, konak dokularında bulunan fibronektin, fibrinojen, kollajen ve laminin gibi ekstraselüler matriks proteinlerini tanıyarak bakterinin dokuya tutunmasını kolaylaştırmaktadır. Yapışma faktörleri, hedefledikleri matriks bileşenlerine göre sınıflandırılmaktadır (Pugazhendhi, Wei, Hughes, & Coathup, 2022).

1.5.4.1.1. Stafilokokal Protein A (spA)

S. aureus'un bağışıklık sisteminden kaçma stratejilerinden en bilineni, yüzeyinde bulunan Stafilokokal Protein A (SpA) aracılığıyla. SpA, IgG sınıfı antikorların Fc

bölgesine bağlanabilen ve hücre duvarına bağlı olarak bulunan bir yüzey proteindir (Buchan, Foster, & Renshaw, 2019; Kim, Thammavongsa, Schneewind, & Missiakas, 2012; Zecconi & Scali, 2013). Normal şartlarda, antikorlar adaptif bağışıklık sistemine ait bir savunma mekanizması olarak bakterilere bağlanır ve bu yolla onları fagositik hücreler için tanınabilir hâle getirir. Opsonizasyon adı verilen bu süreçte, antikoru Fab bölgesi bakteriye tutunur ve bağışıklık hücreleri antikoru Fc bölgesini tanıyarak fagositoz başlatır (Karauzum & Datta, 2017). Ancak SpA'nın antikoru Fc bölgesine bağlanması, bu süreci engeller ve böylece bakterinin bağışıklık sisteminden kaçmasına katkı sağlar (Speziale & Pietrocola, 2021).

Bunun yanı sıra, SpA'nın insan solunum yolu epitel hücrelerinde tümör nekroz faktörü reseptörü 1 (TNFR1) ile etkileşime girerek proinflamatuvar sinyalleme yollarını uyardığı gösterilmiştir. Bu etkileşim, enfeksiyon sürecinde konak yanıtını değiştirebilir ve inflamatuvar dengenin bozulmasına yol açabilir (Gómez ve ark., 2004).

1.5.4.1.2. Fibronektin Bağlayıcı Proteinler A ve B (fnBPA ve fnBPB)

FnBPA ve FnBPB, konak hücrelerde bulunan fibronektin, fibrinojen ve elastin gibi ekstraselüler matriks proteinlerini tanıyan adezinlerdir. Bu proteinler, *S. aureus* ile konak hücredeki integrinler arasında bir fibronektin köprüsü oluşturarak, bakterinin epitel ve endotel hücrelerine internalizasyonunu kolaylaştırmaktadır. FnBPA ve FnBPB, sırasıyla *fnbA* ve *fnbB* genleri tarafından kodlanmaktadır (Burke, McCormack, Rindi, Speziale, & Foster, 2010).

1.5.4.1.3. Kollajen Bağlayıcı Protein

Kollajen, Ekstraselüler Matriks'in (ECM) temel yapısal bileşenlerinden biridir ve konak dokularının bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynar. *S. aureus*, diğer bazı bakteriler gibi, bu yapıya tutunmayı sağlayan ve "Collagen adhesin" olarak bilinen Cna adlı özel bir yüzey proteini taşıyabilmektedir. Cna, kollajeni özgül olarak tanıyan ve bağlayan bir adezin olup, enfeksiyon sürecinde bakterinin konak dokularına tutunmasını ve invazyonunu kolaylaştırmaktadır (Theocharis, Skandalis, Gialeli, & Karamanos, 2016). Bu proteini taşıyan *S. aureus* suşlarının, Cna-negatif suşlara kıyasla daha yüksek düzeyde virülans gösterdiği bildirilmiştir. Cna'nın varlığı, özellikle eklem, kemik ve kalp kapakçığı gibi kollajen açısından zengin dokulara yerleşen enfeksiyonlarda bakterinin tutunma yeteneğini artırmakta ve invazif enfeksiyonların gelişimine katkıda bulunmaktadır (Visai

ve ark., 2000).

1.5.4.1.4. Kümelenme Faktörü A ve B (ClfA ve ClfB)

ClfA ve ClfB, *S. aureus*'un fibrinojeni tanıyan ve bağlayan adezinleri arasında yer almaktadır. Bu yüzey proteinleri, bakterinin konak hücre yüzeyine tutunmasını ve ardından doku invazyonunu kolaylaştırmaktadır. Fibrinojen molekülü, kümelenme faktörlerinin aktif bölgeleriyle etkileşime girebilecek iki farklı bağlanma bölgesine sahiptir. ClfA ve ClfB proteinleri, sırasıyla kromozomal *clfA* ve *clfB* genleri tarafından kodlanmaktadır (Palmqvist, Josefsson, & Tarkowski, 2004). Bu proteinlerin ekspresyonu, fibrinojenin sabitlenmesine (immobilizasyon) yol açmakta ve trombosit agregasyonunu indükleyerek bakterinin dolaşım sistemi içinde tutunmasını ve bağışıklık sisteminden kaçmasını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca bu adezinlerin, enfekte dokularda iltihaplanmayı ve pıhtı oluşumunu tetikleyebilecek patofizyolojik süreçlerde rol oynadığı bildirilmektedir (Nappi, 2025).

1.5.4.2. *S. aureus* Dış Salgı Proteinleri

S. aureus, virülansında doğrudan rol oynayan çok sayıda dış salgı proteini (ekzotoksin) sentezleyebilmektedir. Bu toksinlerin başlıca işlevi, konak dokularını parçalayarak bakterinin çevresel kaynaklardan fayda sağlamasına aracılık etmektir. Sitotoksik etkili bu proteinler, eritrositleri, lökositleri ve diğer konak hücre yapılarını hedef alarak enfeksiyonun şiddetini artırmaktadır (Schechter, Satola, & Stephens, 2019).

1.5.4.2.1. α , β , δ ve γ -Hemolizinler

α -hemolizin (Hla), *hla* geni tarafından kodlanan ve geniş konak spektrumuna sahip bir por oluşturan ekzotoksindir. Özellikle tavşan eritrositlerine karşı yüksek hemolitik etki gösterdiği, ancak birçok klinik *S. aureus* izolatında da aktif olarak üretildiği bildirilmektedir. β -hemolizin (Hlb), *hly* geni tarafından kodlanan bir sfingomiyelinazdır ve koyun eritrositlerine karşı özgül aktivite göstermektedir. Tavşan eritrositlerine karşı etkisizdir ve çoğunlukla küçük geviş getiren hayvanlardan izole edilen suşlarla ilişkilidir. δ -hemolizin (Hld), *hld* geni tarafından kodlanır ve türler arası farklılık göstermeksizin birçok hücreye karşı hemolitik aktivite gösterir. Klinik *S. aureus* izolatlarının yaklaşık %97'sinde bu genin varlığı tespit edilmiştir (Burnside ve ark., 2010). γ -hemolizin (Hlg) ise

por oluşturarak eritrosit zarına zarar veren bir ekzotoksindir. *hlg* gen kümesi, HlgA, HlgB ve HlgC alt birimlerini kodlamakta; bu alt birimler HlgA+HlgB ve HlgC+HlgB olmak üzere iki işlevsel çift hâlinde salgılanmaktadır. Tüm hemolizine ait genler bakterinin kromozomal DNA'sında yer almaktadır (Nilsson, Hartford, Foster, & Tarkowski, 1999).

1.5.4.2.2. Lökosidinler

Lökosidinler, *S. aureus* tarafından sentezlenen ve özellikle lökositleri hedef alan ekzotoksinlerdir. Bu toksinler, bağışıklık sisteminin hücresel bileşenlerine karşı doğrudan etki göstererek, şiddetli enfeksiyonların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu grup içinde en iyi tanımlanmış toksin olan Panton-Valentine lökosidini (PVL), özellikle nekrotizan cilt enfeksiyonları ve pnömoni gibi ağır klinik tablolarla ilişkilidir. PVL, çoğunlukla insan kaynaklı *S. aureus* suşlarında saptanmakta ve bakterinin virülansını artıran başlıca faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir. (Francis ve ark., 2005). PVL, iki bileşenli bir por oluşturan ekzotoksindir. LukF-PV ve LukS-PV olmak üzere iki alt birimden oluşur ve bu alt birimler *lukPV* operonu tarafından kodlanır. PVL taşıyan suşlar, daha yüksek enfeksiyon yeteneği göstermekte olup, özellikle toplum kökenli MRSA tip IV ve V ile ilişkilendirilmektedir (Löffler ve ark., 2010; J.-T. Wang ve ark., 2010).

S. aureus ayrıca PVL dışında farklı lökosidinler de üretmektedir. Bunlar arasında Lökosidin M (LukM) ve Lökosidin E/D (LukE/D) yer almaktadır. Bu toksinler de PVL'ye benzer şekilde por oluşturarak nötrofil gibi bağışıklık hücrelerini hedef almakta, ancak genellikle hayvan kökenli suşlarla ilişkilendirilmektedir. LukM, *lukM* geni tarafından; LukE/D, *lukE* ve *lukD* genleri tarafından kodlanmaktadır (Barrio, Rainard, & Prévost, 2006).

1.5.4.2.3. Eksfoliyatif Toksin A ve B (ETA, ETB)

S. aureus suşlarının bir kısmı, epidermin üst tabakalarının ayrılmasına neden olan eksfoliyatif toksinler üretme yeteneğine sahiptir. Bu toksinler genellikle insan kaynaklı klinik suşlarda tespit edilmekle birlikte, bazı çalışmalar mastitisli inek sütünden izole edilen suşların da ETA üretebildiğini göstermiştir (Hayakawa, Hashimoto, Imaizumi, Kaidoh, & Takeuchi, 2001).

Eksfoliyatif toksin A (ETA) ve toksin B (ETB), özellikle bebeklerde ve küçük çocuklarda görülen stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SSSS) başta olmak üzere çeşitli epidermolitik hastalıklarla ilişkilidir (Farrell, 1999). Enfeksiyon ani şekilde yaygın eritem

ile başlamakta, genellikle ağız çevresinde başlayıp birkaç gün içinde tüm vücuda yayılmaktadır. Etkilenen cilt bölgeleri hafifçe ovulduğunda epidermin yüzeysel katmanlarının ayrılmasıyla pozitif Nikolsky bulgusu ortaya çıkmaktadır. Bunu takiben, stratum granülozum boyunca gelişen büyük, sarkık ve steril büller izlenmektedir (Crossley & Archer, 1997). ETA, *eta* geni tarafından kodlanmakta olup bakterinin kromozomunda yer alırken; ETB, *etb* geni ile plazmid üzerinde taşınmaktadır (Růžicková ve ark., 2003).

1.5.4.2.4. Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1)

TSST-1, hem insan hem de hayvan kökenli *S. aureus* suşları tarafından sentezlenen güçlü bir ekzotoksindir. Bu toksin, pirojenik toksin süperantijenler (PTAg) ailesinde yer almakta ve özellikle yüksek ateş, hipotansiyon, çoklu organ yetmezliği ve bazı olgularda ölümle sonuçlanabilen toksik şok sendromu ile ilişkilendirilmektedir (Takeuchi, Ishiguro, Ikegami, Kaidoh, & Hayakawa, 1998). TSST-1, spesifik olmayan T hücresi proliferasyonunu uyarma özelliği nedeniyle stafilokokal süperantijenler (SAG) arasında sınıflandırılmaktadır. Bu toksin, mobil genetik elementler (MGE) veya SaPI-1 (Staphylococcal pathogenicity island 1) adı verilen patojenite adası üzerinde yer alan *tst* geni tarafından kodlanmaktadır. *tst* geni genellikle stafilokokal enterotoksinleri kodlayan *sec* ve *sel* genleri ile birlikte bulunur (Mele & Madrenas, 2010).

1.5.4.2.5. Stafilokokal Enterotoksinler (SEs)

Stafilokokal enterotoksinler (SEs), TSST-1 ile birlikte pirojenik süperantijen toksinler (PTAg) ailesine ait olup, hem immün sistemi etkileyen hem de gastrointestinal sistemde zehirlenmelere neden olan proteinlerdir. Günümüzde yaklaşık yirmi farklı SE tipi tanımlanmıştır. Bunlar, klasik beş enterotoksin (SEA–SEE) ve bunlara yapısal ve işlevsel olarak benzeyen SE-benzeri (SE-like) toksinleri içermektedir (Lina ve ark., 2004).

SE'ler, özellikle gıda kaynaklı stafilokokal zehirlenmelerin başlıca nedenidir. Bu toksinlerle kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucunda ortaya çıkan klinik tablo; bulantı, kusma, karın krampları ve bazen ishal ile karakterizedir. SE'leri kodlayan genler çoğunlukla plazmid, transpozon ya da patojenite adaları (MGE'ler) üzerinde taşınmaktadır (Pinchuk, Beswick, & Reyes, 2010).

Bu enterotoksinler, gastrik ve intestinal enzimlere karşı dirençlidir ve ayrıca 100 °C'de 30 dakikalık ısıtma işlemine dahi dayanıklıdır. Bu nedenle toksin oluşumu gerçekleşikten sonra gıdanın yeniden ısıtılması toksini inaktive edemez ve halk sağlığı açısından önemli

bir risk oluşturur (Holmberg & Blake, 1984). Araştırmalara göre, *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarının yaklaşık %30'u bu toksinleri üretirken, tüm *S. aureus* suşlarının %50'sinin en az bir enterotoksin türünü sentezleyebildiği bildirilmektedir (Murray, Rosenthal, Kobayashi, & Pfaller, 1998).

1.5.5. Gıdalarda *S. aureus*

S. aureus, çeşitli gıda ürünlerinde kontaminan olarak bulunabilen önemli bir patojen mikroorganizmadır. Bu bakteriden en çok etkilenen gıdalar arasında çiğ süt, inek sütü ya da çiğ sütten üretilmiş yumuşak ve yarı yumuşak peynirler, dondurma, önceden doğranmiş meyve ve sebzeler, kanatlı eti ve diğer et ürünleri, işlenmiş gıdalar, makarna, soslar, unlu mamuller ve özellikle tüketime hazır gıdalar yer almaktadır (Grace & Fetsch, 2018).

EFSA verilerine göre, 2014 yılında Avrupa Birliği'ne ye 12 ülkede stafilokokal enterotoksinlere bağlı 393 gıda kaynaklı salgın bildirilmiştir. Vakaların oğunluğu Fransa'da görülmüş; 264 hastaneye yatış ve 2 ölüm rapor edilmiştir. Salgınların çoğu, karışık gıdalar, tavuk ve domuz eti, süt ve süt ürünleri, balık ve türevleri ile sebze-meyve sularıyla ilişkilendirilmiştir (A. Castro ve ark., 2018; EFSA, 2015). Aynı yıl Japonya'da ise toplam 26 stafilokokal gıda zehirlenmesi salgını rapor edilmiştir; bu vakaların büyük kısmında kontaminasyonun kaynağı paketlenmiş öğle yemekleri ve pirinç topları olarak belirlenmiştir (Jin & Yamada, 2016).

Gıdalarda *S. aureus* kontaminasyonu, genellikle işleme, hazırlama veya depolama sırasında hijyen eksikliği ile ilişkilendirilmektedir. Çiğ veya az pişmiş hayvansal ürünlerde, sıcaklık kontrolünün sağlanmadığı koşullarda bu bakterinin çoğalma ve enterotoksin üretme riski artmaktadır. Soğuk zincirin kesintiye uğradığı veya uygun saklama koşullarının sağlanamadığı durumlarda, bu mikroorganizma kısa sürede toksin oluşturabilecek düzeyde çoğalabilmektedir (Schelin, Wallin-Carlquist, Thorup Cohn, Lindqvist, & Barker, 2011).

Pastörize edilmemiş süt ürünleri, yüksek protein içeriğine sahip ve uygun sıcaklıkta saklanmamış gıdalar ile tüketime hazır gıdalar, *S. aureus* açısından yüksek riskli kategorilerde değerlendirilmektedir (Varnam & Sutherland, 2001). Bu nedenle özellikle restoran, kantin, hastane ve toplu yemek üretim tesisleri gibi yerlerde hijyen protokollerine titizlikle uyulması halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

1.5.6. Gıdalarda *S. aureus* Tespiti

Gıda ürünlerinde *S. aureus* varlığı, genellikle hijyen koşullarına yeterince uyulmaması sonucu ortaya çıkmakta ve bu durum, insan derisi veya solunum mukozasından kaynaklanan bulaşlarla ilişkilendirilmektedir. Bu tür kontaminasyonlar, çoğu zaman gıdanın işlenmesi ve hazırlanması sırasında soğuk zincirin bozulması veya uygun koruma koşullarının sağlanamaması ile ilişkilidir (Argudín, Mendoza, & Rodicio, 2010; A. Castro ve ark., 2018; Valero ve ark., 2009).

Ülkemizde yürürlükte olan 2025/32812 sayılı Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre (TGK, 2025), 25 g veya mL gıda örneğinde stafilokokal enterotoksin tespit edilmemesi gerekmektedir. Gıdalarda *S. aureus* ve toksinlerinin varlığı, UNE-EN ISO 6888-1 (ISO6888-1, 2021) ve UNE-EN ISO 6888-2 (6888-2, 2004) yöntemlerine göre belirlenmektedir.

Hastalığa neden olabilecek enterotoksin düzeyleri genellikle, gıdadaki *S. aureus* sayısının 10^5 kob/g düzeyini aşmasıyla ilişkilidir. Bu nedenle, koagülaz pozitif *Staphylococcus* suşlarının sayımının yapılması gereklidir (Bhatia & Zahoor, 2007).

S. aureus'un varlığı, gıda türüne bağlı olarak 2025/32812 sayılı Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği kapsamında belirlenen sınır değerlerin altında kaldığı sürece uygun kabul edilmektedir. Çiğ süt peynirlerinde 10^5 kob/g'dan az, toz süt ve peynir altı suyunda 10^2 kob/g'dan az ve pastörizasyondan daha az ısı işlem uygulanmış süt bazlı peynirler ile pastörize süt veya peynir altı suyundan yapılmış olgunlaşmış peynirlerde 10^4 kob/g'dan az olması gerekmektedir. Belirtilen sınır değerlerin kontrolü, Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde tanımlanan esaslara uygun olarak gerçekleştirilmektedir (TGK, 2025).

Stafilokokal gıda zehirlenmesinin teşhisi, çoğunlukla tüketilen gıdada enterotoksinlerin varlığının belirlenmesi veya enterotoksin üreten *S. aureus*'un konsantrasyonunun 10^5 kob/g-mL düzeyinin üzerine çıkmasıyla konulmaktadır. Bunun yanı sıra, kusmuk örneklerinde yüksek sayıda *S. aureus* ve enterotoksin tespiti, ya da etkilenen bireylerin dışkılarında toksin üreten suşların izolasyonu tanıyı desteklemektedir (EFSA, 2009).

Geleneksel kültür yöntemleri, koagülaz pozitif *S. aureus*'un izolasyonu ve fenotipik doğrulanması amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Buna ek olarak, ELISA gibi immünolojik testler, özellikle ticari kitler aracılığıyla salgın durumlarında hızlı teşhis sağlamak amacıyla yaygın biçimde tercih edilmektedir. Moleküler yöntemler, özellikle PCR teknikleri, enterotoksin genlerini hızlı ve özgül olarak tespit edebilmekte; böylece hem bakterinin hem de toksin genlerinin varlığı hızlı bir şekilde ortaya konabilmektedir. Ancak, genetik tespit sonucunda elde edilen pozitiflik, her zaman aktif toksin üretimi

anlamına gelmediğinden, fenotipik toksin üretiminin de ayrıca değerlendirilmesi gerekmektedir (Hait, Tallent, & Bennett, 2014; Stewart, 2017).

Alternatif olarak, kütle spektrometrisi yöntemi, kültür süpernatantlarında enterotoksinleri tanımlamak için kullanılabilir. Bununla birlikte, doğrudan gıda örneklerinden enterotoksin tayini için uygun değildir. Ek olarak, Reverse Passive Latex Agglutination (0.5 ng/mL duyarlılıkla) ve ELISA tabanlı ticari kitler (gram başına 0.1–1.0 ng toksin duyarlılığı) de kullanıma sunulmuştur (Attien ve ark., 2014; Stewart, 2017).

Yeni nesil moleküler yaklaşımlar arasında yer alan PCR yöntemleri, çok düşük düzeyde *S. aureus* ya da enterotoksin varlığını tespit edebilmekte ve bu sayede gıda güvenliği denetimlerinde ve salgınların takibinde etkin kullanım imkânı sunmaktadır. Ayrıca, bu yöntemler epidemiyolojik izlem çalışmalarında da önemli katkılar sağlamaktadır (S. Wu ve ark., 2016).

1.6. *Shigella* spp.

1.6.1. Taksonomik Durum

Shigella cinsi; Bacteria alemi, Negibacteria alt alemi, Proteobacteria şubesi, Gammaproteobacteria sınıfı, Enterobacterales takımı ve Enterobacteriaceae ailesi içerisinde sınıflandırılmaktadır (Lampel, Formal, & Maurelli, 2018). *Shigella* türleri, serolojik ve genetik özelliklerine göre dört farklı türe ayrılır ve ek olarak tip-spesifik antijenlere dayalı farklı serotiplere sahiptirler: *S. flexneri* (19 serotip), *S. dysenteriae* (15 serotip), *S. boydii* (20 serotip) ve *S. sonnei* (1 serotip) (Jennison & Verma, 2004; Qiu ve ark., 2015).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezine (Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) göre, en az 43 *Shigella* serotipi bilinmektedir, ancak daha yakın tarihli araştırmalar bu sayının 50'nin çok üzerinde olabileceğini göstermektedir (Lampel, Formal, & Maurelli, 2018). Dünyada sıkça görülen vakaların çoğunu oluşturan serotipler arasında *S. flexneri* serotipleri 2a, 1b, 3a, 4a ve 6; tek bir serotipe sahip olan *S. sonnei* ve *S. dysenteriae* tip 1 bulunmaktadır (Qiu ve ark., 2015).

Filogenetik çalışmalar, *Shigella* türlerinin genetik olarak *E. coli*'den evrimleştiğini ve monofiletik bir köken göstermediklerini ortaya koymuştur. Whole-genome sequencing (tüm genom dizileme) yöntemleriyle yapılan analizlerde *Shigella* türlerinin aslında *E. coli* genomlarının farklı kolları içerisinde yer aldığı belirlenmiş; bu durum, *Shigella*'nın en az

beş farklı bağımsız evrimsel olayla ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmektedir (Sahl ve ark., 2015). Ayrıca, *Shigella* türleri, geleneksel serotip temelli tür sınıflandırmalarında tanımlandığı şekilde genomik olarak monofiletik gruplar oluşturmamaktadır. Bu durum, klasik taksonomik yaklaşımlar ile genotip temelli sınıflandırmalar arasında çelişkilere neden olmaktadır (Pupo, Lan, & Reeves, 2000).

Shigella cinsinin taksonomik durumu evrimsel ve genetik bağlamda halen tartışmalıdır. Klasik serotiplendirmeye dayalı sistemler klinik açıdan hâlen kullanılmakta olsa da, tüm genom dizileme, ortalama nükleotid benzerliği ve özgül PCR hedeflerinin kullanıldığı moleküler tanı yaklaşımları, daha doğru ve hızlı sınıflandırmalar yapılmasına olanak sağlamaktadır (Parks, Chuvochina, Reeves, Beatson, & Hugenholtz, 2021; Sahl ve ark., 2015).

1.6.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

Shigella, Gram negatif, çomak şeklinde, spor oluşturmeyen, hareketsiz ve fakültatif anaerobik bir bakteri cinsidir. Hücre boyutları yaklaşık 0,3–1 µm çapında ve 1–6 µm uzunluğundadır. Genellikle tek tek, çiftler hâlinde veya kısa zincirler oluşturarak gözlenebilir. *E. coli* ile yakın genetik ve biyokimyasal benzerlik göstermesine karşın, karbonhidratları fermente ederken gaz üretmemesi gibi bazı ayırt edici özellikleri bulunmaktadır (Nataro, Bopp, Fields, Kaper, & Strockbine, 2011).

Shigella suşları, 24 saatlik inkübasyon sonrası MacConkey agar veya desoksikolat sitrat agar gibi seçici ortamlarda laktozu fermente etmeden soluk-koloni morfolojisi gösterir (Juthi, 2016).

S. dysenteriae tip 1 dışındaki tüm *Shigella* suşları katalaz pozitifdir; buna karşılık oksidaz, üreaz ve hidrojen sülfür (H₂S) üretimi bakımından negatiftir. Glukoz ve bazı diğer karbonhidratları fermente edebilirler, ancak bu işlem sırasında gaz oluşturmazlar. Ayrıca, laktozu fermente edemezler ve karbon kaynağı olarak sodyum sitratı kullanma yetenekleri bulunmadığı için Simmons sitrat besiyerinde gelişim gösteremezler (Ansaruzzaman ve ark., 1995).

Bu bakteriler, karbon ve azot kaynağı olarak %1 pepton içeren besiyerlerinde, 37 °C'de en uygun metabolik aktiviteyi gösterir (Percival & Williams, 2014). Isıya karşı oldukça hassas olan *Shigella*, 55 °C'de bir saat içerisinde inaktive olmaktadır (Ahamed ve ark., 2019). Asidik ortamlarda, örneğin pH 2,5'te kısa süreli hayatta kalabilir; ancak nötr ya da hafif alkali pH değerlerini (pH 7,0–7,4) tercih ettiği bildirilmiştir (Beckius & Schaar,

2016).

Shigella'nın tek doğal rezervuarı insanlar ve primatlardır. Bulaş, fekal-oral yolla, enfekte bireylerle doğrudan temas, kontamine su veya gıda tüketimi aracılığıyla gerçekleşir. Bu nedenle, *Shigella* enfeksiyonları çoğunlukla hijyen koşullarının yetersiz olduğu bölgelerde yaygındır (DuPont, Hornick, Dawkins, Snyder, & Formal, 1969).

1.6.3. Patogenez

Shigella'nın doğal rezervuarlarının yalnızca insanlar ve rhesus maymunları olduğu bildirilmektedir (B. Anand ve ark., 1986; Good, May, & Kawatomari, 1969; Speelman, Kabir, & Islam, 1984). İnsanlarda gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, *Shigella* enfeksiyonu ile oluşan lezyonların yalnızca kolonda görüldüğü; lezyon şiddetinin distal bölgeye doğru arttığı ve en ciddi hasarın rektosigmoid bölgede meydana geldiği belirlenmiştir (Levine ve ark., 1973).

Bulaşma için oldukça düşük sayıda bakteri hücresinin yeterli olabileceği; konak faktörlerine bağlı olarak 100'den az bakterinin enfeksiyona yol açabileceği rapor edilmiştir. *Shigella* türleri tarafından kolonun epitel tabakasına gerçekleştirilen invazyonun, yoğun bir inflamasyonla birlikte doku ölümüne neden olduğu vurgulanmaktadır (Kotloff, Riddle, Platts-Mills, Pavlinac, & Zaidi, 2018).

Bazı *Shigella* türlerinin hastalık oluşturmaya toksinler salgıladığı bilinmektedir. Örneğin, *S. flexneri* suşları tarafından üretilen ShET1 ve ShET2 toksinlerinin diyare ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Saima ve ark., 2018). *S. dysenteriae* suşları ise enterohemorajik *E. coli* suşlarında görülen verotoksine benzer, hemolitik özellik gösteren Shiga toksinini üretmektedir. Hem Shiga toksini hem de verotoksin, potansiyel olarak ölümcül bir tablo olan HÜS ile ilişkilendirilmektedir (Melton-Celsa, 2014).

Shigella'nın konak hücreyi, bağırsak epitelinde yer alan M hücrelerini kullanarak istila ettiği bildirilmektedir. Bakterilerin, epitel hücrelerinin üst (apikal) yüzeyi yerine alt (bazolateral) yüzeyden giriş yapmayı tercih ettiği belirtilmektedir (Rahman, Klementina, Qenan, Beqe, & Kemajl, 2015). Konak hücreye zarar verici efektör proteinlerin aktarılmasında, biyolojik bir şırınga görevi gören Tip III salgı sistemi kullanılmaktadır (Hajra, Nair, & Chakravorty, 2021). Bu efektör proteinlerin, konak hücrenin metabolizmasını etkilediği; örneğin vakuoler zarların parçalanmasına veya aktin polimerizasyonunun yeniden düzenlenmesi yoluyla bakterinin hücre içinde hareket etmesine olanak sağladığı bildirilmektedir. Ayrıca, IcsA proteini gibi bazı efektörler

aracılığıyla Arp2/3 kompleksinin N-WASP ile etkileşimi sağlanmakta ve bu durum bakterinin hücreden hücreye yayılımına katkıda bulunmaktadır (Sarantis & Grinstein, 2012). *Shigella* türlerinin enfeksiyon sonrası epitel hücreleri içerisinde çoğaldığı ve çevredeki hücrelere yayıldığı, bunun sonucunda ise doku tahribatı ile şigellozun karakteristik patolojisinin ortaya çıktığı bildirilmektedir (Schnupf & Sansonetti, 2019).

1.6.4. Başlıca Virülans Faktörleri

Shigella türleri, konak hücrelere tutunma, bağırsak epiteline invazyon ve toksin üretimi gibi mekanizmaları düzenleyen çok çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. Bu faktörler, bakterinin gastrointestinal sistemde tutunmasını ve enfeksiyon sürecini başarıyla başlatmasını sağlar. Ayrıca, mide asidinde kısa süreli hayatta kalmayı kolaylaştıran ve konak bağışıklık sisteminden kaçışı mümkün kılan özel adaptasyon mekanizmaları da mevcuttur. *Shigella* enfeksiyonunun başlatılabilmesi için gereken infeksiyöz dozun oldukça düşük olduğu bildirilmiştir. Bu durum, bakterinin mide ortamındaki yüksek asidik koşullara dayanma yeteneği ile ilişkilidir ve bu dayanıklılığın, hücrelerin sabit fazda bulunmasıyla bağlantılı olduğu belirtilmektedir (Gorden & Small, 1993). Bakteriyel hücreler, kolon mukozasına ulaştıklarında, lenfoid folikülleri kaplayan M hücreleri üzerinden invazyon gerçekleştirerek epitel bariyerini aşabilirler. Bu süreçte *Shigella*, epitel hücrelerinin bazolateral yüzeyine erişerek bu bölgede hücre içine alınmalarını sağlar. Hücre içine giriş sırasında, bakterinin temas ettiği bölgede konak hücrenin iskelet yapısında değişiklikler meydana gelir. Bu yapısal değişim, hücre zarının içe doğru bükülmesine neden olarak bakterinin bir vakuol içinde hücreye alınmasını sağlar (Parsot, 2005).

1.6.4.1. *Shigella* Hücre Yapışması

Enfeksiyonun erken evrelerinde nötrofillerin inflamasyon bölgesine hızla göç ettiği ve *Shigella*'nın epitel hücrelerine invazyonu için bu hücrelerin varlığının gerekli olduğu bildirilmiştir (Perdomo, Gounon, & Sansonetti, 1994). Nötrofillerin degranülasyonu ile antimikrobiyal proteinlerin salgılandığı ve bu proteinlerin, *Shigella* tarafından kendi yüzeyinde tutulduğu, böylece epitel hücrelere tutunma ve invazyon sürecinin kolaylaştırıldığı ortaya konmuştur (Eilers ve ark., 2010). Yakın dönemde yapılan çalışmalarda, bağırsak Paneth hücreleri tarafından üretilen insan enterik α -defensin 5 (HD5) molekülünün, *Shigella*'nın epitel hücrelere bağlanmasını ve invazyonunu teşvik

edebildiği ortaya konmuştur. Bu etki; kobay (*Cavia porcellus*) intrarektal enfeksiyon modeli, Sereny testi ve murin (fare) intestinal model gibi çeşitli *in vivo* sistemlerde doğrulanmıştır (Miles, Holt, & Mostowy, 2024). Ayrıca *in vitro* deneylerde de, HD5'in doğrudan *Shigella* yüzey moleküllerine bağlanarak bakterinin epitel hücrelerine tutunmasını ve girişini artırdığı tespit edilmiştir (Xu ve ark., 2018).

1.6.4.2. Lipopolisakkarit (LPS)

Shigella gibi Gram-negatif bakterilerin yüzeyinde bulunan lipopolisakkarit (LPS), yapışmayı kolaylaştıran ve konak hücrelerle etkileşimde önemli rol oynayan temel bir virülans faktörüdür (Trent, Stead, Tran, & Hankins, 2006). LPS molekülü üç ana bölümden oluşur: Bakterinin dış zarına gömülü olan Lipid A, Lipid A'ya bağlı olan çekirdek oligosakkarit ve Değişken uzunlukta tekrar eden birimlerden oluşan O-antijen glikan zinciri. O-antijen birimleri bulunmayan *Shigella* suşları “kaba (rough)” LPS, bu birimlere sahip olanlar ise “pürüzsüz (smooth)” LPS suşları olarak adlandırılır. O-antijen zincirinin yapısal çeşitliliği, bakterinin hem virülans potansiyelini hem de konak bağışıklık sisteminden kaçış yeteneğini etkileyebilmektedir. Glukozillenmiş O-antijen zincirlerinin, glukozillenmemiş yapılarına kıyasla daha kısa ve helikal bir konformasyon oluşturduğu ve bu yapının Tip III salgı sisteminin (T3SS) hücre yüzeyinde daha fazla görünür olmasına katkı sağladığı bildirilmektedir (West ve ark., 2005). *Shigella* suşlarından izole edilen izojenik LPS preparatlarının, bakterilerin hem kobay bağırsağındaki epitel hücrelere hem de insan kaynaklı kanser hücre hatlarına tutunmasını engelleyebildiği gösterilmiştir (Day ve ark., 2015; Izhar, Nuchamowitz, & Mirelman, 1982).

1.6.4.3. Tip III Sekresyon Sistemi (T3SS)

Erken enfeksiyonun başlamasında etkili olan bir diğer kritik yapı, Tip III salgı sistemi (T3SS)'dir. T3SS, Gram-negatif bakterilerde bulunan ve patojeniteyi destekleyen çok bileşenli bir salgı mekanizmasıdır. Bu sistem, bakteriyel iç ve dış zarları aşan, “enjeksiyon iğnesi” olarak adlandırılan kompleks bir yapıyı içerir ve yaklaşık 20 farklı proteinden oluşur. T3SS, üç temel yapısal bileşenden meydana gelir: Ekstraselüler iğne, Bazal gövde ve Sitoplazmik kompleks. Konak hücre zarına temas ettiğinde, bu sistem aktive olur ve çeşitli efektör proteinleri doğrudan hedef hücrenin sitoplazmasına enjekte eder. *Shigella*'da T3SS, büyük virülans plazmidinde bulunan ipa-mxi-spa gen kümesi tarafından kodlanmaktadır (Deng ve ark., 2017).

T3SS'nin iğne ucunu oluşturan temel proteinler IpaB, IpaC ve IpaD'dir. Hidrofobik yapıya sahip olan IpaB ve IpaC, IpaD'nin yönlendirmesiyle iğne yapısına entegre edilir ve konak hücre zarına yerleşerek efektör proteinlerin geçişine olanak sağlayan bir kanal oluştururlar (Blocker ve ark., 1999; Veenendaal ve ark., 2007). T3SS aktivasyonu sonucunda salınan efektör proteinler, bakterinin epitel hücrelere invazyonunu kolaylaştırır, konak bağışıklık yanıtını baskılar ve intestinal ortamda bakterinin hayatta kalmasını destekler. Bu sistemin aktivitesi enfeksiyon sürecine özel olarak düzenlenmekte, yalnızca hücreye giriş ve hücreler arası yayılma sırasında aktif olmakta; sitoplazmik fazda ise inaktif durumda kalmaktadır (Sarantis & Grinstein, 2012; Schnupf & Sansonetti, 2019; Schroeder & Hilbi, 2008).

Ayrıca T3SS'nin, çevresel sinyallere özellikle konak bağırsak ortamına yanıt vererek düzenlendiği bilinmektedir. Örneğin, bakterinin anaerobik ortamdan, oksijenin varlığını algılayabildiği epitel bariyere geçişi sırasında T3SS ile ilişkili düzenleyici genlerin ekspresyonunda değişiklikler meydana gelir ve sistem aktif hâle gelir. Bu süreç, *Shigella*'nın invazyon yeteneğini artırmaktadır (Marteyn ve ark., 2010). Aynı şekilde, sıcaklık ve ozmotik değişkenlik gibi çevresel faktörler de virülans gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir (Bernardini, Mounier, d'Hauteville, Coquis-Rondon, & Sansonetti, 1989; Maurelli, Blackmon, & Curtiss 3rd, 1984).

1.6.4.4. IcsA Protein

Hücre içi ve hücreler arası yayılma proteini A (IcsA), aynı zamanda VirG olarak da bilinir ve ilk olarak *S. flexneri* suşlarında tanımlanmıştır. Büyük virülans plazmidine yapılan bir Tn5 mutagenesi, IcsA mutantlarını invazyon kabiliyetini kaybetmeden ancak enfekte hücrelerden komşu hücrelere yayılamayacak şekilde etkilemiştir (Makino, Sasakawa, Kamata, Kurata, & Yoshikawa, 1986).

IcsA, bakterinin dış zarında kutupsal olarak lokalize olan bir proteindir (Goldberg, Barzu, Parsot, & Sansonetti, 1993). Ekspresyonu, virülans plazmidinden kodlanan ve sıcaklıkla (>32°C aktif) düzenlenen VirF transkripsiyon faktörü tarafından yönetilmektedir (Adler ve ark., 1989; Dorman & Porter, 1998). IcsA, aktin filamentlerinin polimerizasyonunu tetikleyerek "aktin kuyruğu" oluşturur; bu mekanizma, bakterinin enfekte hücre içinde ve komşu hücrelere doğru hareketine olanak tanır (Petat ve ark., 1987).

Hem hayvan hem de insan modellerinde yapılan çalışmalar, IcsA mutasyonlarının virülansta belirgin zayıflamaya neden olduğunu ve bu proteinin *Shigella* patogeneğinde

temel bir rol oynadığını göstermiştir (Kotloff ve ark., 1996; Sansonetti, Arondel, Fontaine, d'Hauteville, & Bernardini, 1991).

1.6.4.5. Virülans Plazmit

Shigella'nın büyük virülans plazmidi, yaklaşık 220 kb büyüklüğünde olup boyut bakımından değişkenlik gösterebilir. Bu plazmit, normalde invazif olmayan *E. coli* suşlarına ökaryotik hücrelere invazyon yeteneği kazandırmak için yeterlidir (Sansonetti ve ark., 1983). Mxi-Spa Tip III Salgı Sistemi'ni kodlayan 32 kb'lik bir gen kümesini içerir. Aynı bölgede, bakteriyel invazyonu kolaylaştıran ve konak bağışıklık yanıtını modüle eden İnvazyon Plazmit Antijenleri (Ipa proteinleri) olarak bilinen çok sayıda efektör proteini de bulunmaktadır. Bu bölgedeki genlerin ekspresyonu; sıcaklık, osmolarite ve pH gibi çevresel faktörlere bağlı olarak düzenlenmekte olup, optimal koşullar genellikle 37°C sıcaklık, fizyolojik tuz konsantrasyonu ve pH 7.4 olarak bildirilmektedir (Maurelli ve ark., 1984; Nakayama & Watanabe, 1995; Porter & Dorman, 1994).

1.6.4.6. IpaA, IpaB, IpaC, and IpaD

Shigella'nın konak hücrelere invazyonu ve hastalık oluşturma yeteneği, yaklaşık 100 gen içeren mozaik yapılı, yaklaşık 220 kb büyüklüğündeki işgal plazmidi üzerinde kodlanan çeşitli virülans faktörlerinin karmaşık etkileşimiyle sağlanmaktadır. Bu plazmid, iki ana bölgeden oluşmaktadır: biri 31 kb uzunluğundaki korunmuş bir çekirdek bölge, diğeri ise 34 gen içeren ve iki karşı yönlü gen kümesini barındıran Plazminojen Aktivatör İnhibitörü (PAI) benzeri bölgedir. İlgili gen kümeleri, dört işlevsel gruba ayrılmakta olup, bunlar arasında IpaA'dan IpaD'ye kadar uzanan immünojenik antijenleri kodlayan genler yer almaktadır. Bu antijenler, *Shigella*'nın konak hücreye bağlanması, hücre zarını aşması ve enfeksiyon sürecini başlatması açısından kritik öneme sahiptir. Bu proteinlerden IpaB'nin, konak hücre zarına bağlanmayı başlattığı ve enfeksiyon sırasında makrofaj ölümünü tetikleyen hücresel sinyal yollarını aktive ettiği gösterilmiştir. IpaC'nin ise aktin polimerizasyonunu indükleyerek *Shigella*'nın konak hücre içine girişi ile hücre içi hareketliliğini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Schroeder & Hilbi, 2008).

1.6.4.7. Mxi-spa Lokusu

Virölans plazmidinde yer alan mxi-spa lokusu, Tip III Salgı Sistemi'nin montajı ve fonksiyonu için gerekli olan proteinleri kodlamaktadır. Bu yapılar, IpaB, IpaC ve IpaD proteinleri ile iş birliği yaparak bakteriyel efektör proteinlerin doğrudan konak hücreye aktarılmasını sağlar. Mxi-spa bölgesi, bakteriden dış ortama uzanan 45-60 nm uzunluğunda iğne benzeri bir yapı oluşturarak T3SS'nin etkinliğini sağlamaktadır. Bu yapı, başlıca MxiD gen ürünlerinden oluşan yedi halkalı bir kompleks içerisinde yer alır ve patojenin dış zarından konak hücre zarına bağlanmasını mümkün kılar (Nataro ve ark., 1995).

1.6.4.8. *Shigella* Enterotoksin

Shigella türlerinin, erken dönemde gelişen ishallerin etiyolojisinde rol oynayan çeşitli enterotoksin genlerine sahip olduğu bilinmektedir. *Shigella* enterotoksin 1 (ShET-1), 55 kDa ağırlığında, demir bağımlı bir toksin olup kromozomal olarak kodlanan *set1A* ve *set1B* genleri tarafından sentezlenmektedir. Bu toksin özellikle *S. flexneri* 2a suşlarında yüksek oranda ifade edilmektedir. Diğer bir enterotoksin olan *Shigella* enterotoksin 2 (ShET-2), işgal plazmidinde bulunan *sen* geni tarafından kodlanmakta ve bu toksinin, *Shigella*'nın invazyonu sırasında inflamatuvar yanıtın tetiklenmesinde rol oynadığı bildirilmektedir (Cruz ve ark., 2014). ShET-1 ve ShET-2 enterotoksinlerinin, bağırsak epitelinde sıvı sekresyonunu artırarak şiddetli sulu ishale neden olabildiği belirtilmiştir (Keusch, Grady, Mata, & McIver, 1972; O'brien ve ark., 1992). Kromozomal olarak bulunan *set1A* ve *set1B* genleri, sırasıyla ShET-1'in A alt birimini ve B alt birimini kodlamakta olup, bu toksin bir A alt birimi ile birkaç B alt biriminden oluşan bir AB toksin yapısına sahiptir. Öte yandan, *sen* geni tarafından kodlanan ShET-2'nin, tip III salgı sistemi (T3SS) aracılığıyla salgılandığı ve IL-8 üretimi yoluyla epitel hücrelerinde inflamasyona neden olabildiği gösterilmiştir. Ayrıca *stx* toksininin, AB5 yapısında olduğu, sitotoksik özellik gösterdiği ve merkezi sinir sistemi, böbrek ve kolonda vasküler lezyonlara yol açabildiği bildirilmektedir (O'brien ve ark., 1992; O'Loughlin & Robins-Browne, 2001).

1.6.4.9. Shiga toksinleri

Shiga toksinleri; *stxA* ve *stxB* genleri ile ifade edilen verotoksin, verositotoksin veya Shiga benzeri toksinler olarak da bilinmektedir. Bu toksinler yalnızca *S. dysenteriae* serotip 1 ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) tarafından üretilmektedir. İki toksin tipi neredeyse tamamen benzer olup, yalnızca toksinin katalitik A alt biriminde tek bir amino

asit farklılığı bulunduğu bildirilmiştir (Johannes & Römer, 2010). Toksinin aktif formu, beş adet 7.7 kDa'lık aynı B alt birimiyle non-kovalent olarak bağlanan 32 kDa'lık bir A alt biriminden oluşmaktadır. Bu toksinin *Shigella* patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, hemorajik kolit ve HÜS gibi ciddi komplikasyonların gelişiminde etkili olduğu bildirilmektedir (Obrig, 2010).

1.6.4.10. IpaH Efektörleri

IpaH ailesine ait yaklaşık 12 gen vardır ve bu genler hem kromozomda hem de virülans plazmidinde bulunur. Bu genler, T3SS (Tip 3 Salgı Sistemi) aracılığıyla konak hücrelere aktarılır (Ashida, Toyotome, Nagai, & Sasakawa, 2007). Bu ailenin proteinleri, N-terminalde lösin zengin tekrarlar (LRR) içerir ve C-terminal bölgesi, translasyon sonrası modifikasyondan sorumlu olan ve endositoz, sinyal iletimi, protein yıkımı ve transkripsiyon gibi hücresel aktiviteleri düzenleyen E3 ubiquitin ligaz aktivitesine sahiptir (Singer ve ark., 2008). Her IpaH proteini, benzersiz bir LRR içerir ve tanıma bölgesi ve hücre içi konumlanması sayesinde konakta belirli bir protein hedefi olduğu düşünülmektedir. Bu, bakterilerin yararına olacak şekilde konak bağışıklık tepkilerinin modülasyonuna yol açar (Ashida & Sasakawa, 2016).

1.6.5. Gıdalarda *Shigella* spp.

Shigella türlerinin bulaşmasında en yaygın yolun fekal-oral geçiş olduğu bildirilmiştir. Kontamine su ve gıdalar, bu bulaşma yolunun başlıca kaynaklarını oluşturmaktadır. Hastalık, kirli ve yetersiz arıtılmış suyun içme suyu olarak kullanılması ya da bu tür suların gıda hazırlığında değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkabilmektedir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde yetersiz sanitasyon ve hijyen koşulları nedeniyle *Shigella* salgınlarının daha sık görüldüğü rapor edilmiştir. Atık suların (örneğin kanalizasyon sularının), toprak ve bitkileri kontamine etmesi sonucunda da hastalık gelişebilmektedir. Bunun yanında, gıdaların uygun olmayan hijyen koşullarında işlenmesi, saklanması ve taşınması da bakterinin yayılımında önemli bir rol oynamaktadır. Günlük olarak tüketilen salatalar, süt ürünleri, az pişirilmiş et ürünleri, kabuklu deniz ürünleri ile taze meyve ve sebzeler, *Shigella* kontaminasyonu açısından yüksek riskli gıdalar arasında yer almaktadır. Ayrıca, hijyen uygulamalarının yetersiz olduğu ortamlarda, gıda hazırlayan personelden gıdalara çapraz kontaminasyon yoluyla da bulaşmanın gerçekleşebileceği belirtilmektedir. Şigelloz, hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde endemik olarak görülebilmekte ve zaman

zaman salgınlara neden olabilmektedir. Bu durum, önemli düzeyde morbidite ve mortalite riski taşımaktadır (Alsanius, Gustafsson, & Hultberg, 2008).

Özellikle okul, askeri birlik, cezaevi ve mülteci kampı gibi toplu yaşam alanlarında bulaşma riski artmaktadır (Lampel, Formal, & Maurelli, 2018). *Shigella* bakterisinin oda sıcaklığında suda en az altı ay canlı kalabildiği bildirilmiş olup, bu özellik su kaynaklı bulaşma riskini daha da artırmaktadır. Dünya genelinde gelişmekte olan ülkelerde meydana gelen *Shigella* salgınlarının her yıl yaklaşık 164.7 milyon vakaya ve 1.1 milyon ölüme yol açtığı tahmin edilmektedir. Bu vakaların çoğunun, dışkı ile kontamine olmuş suların kullanıldığı durumlarda görüldüğü ve özellikle 5 yaş altı çocuklarda yoğunlaştığı rapor edilmiştir. Bu yaş grubundaki ölümlerin yaklaşık %61'inin *Shigella* enfeksiyonlarıyla ilişkili olduğu, bunun temel nedeninin ise eğitim eksikliği, sanitasyon yetersizlikleri ve bağışıklık sisteminin tam gelişmemiş olması olduğu belirtilmektedir (Emch, Ali, & Yunus, 2008). Ayrıca, yetersiz beslenme ve hijyenik olmayan yaşam koşulları da enfeksiyonun yayılımını kolaylaştırmaktadır. Gıdaların uygun sıcaklıklarda muhafaza edilmemesi ise bakterinin çoğalmasını teşvik ederek bulaşma riskini artırmaktadır (Girma, 2015).

1.6.6. Gıdalarda *Shigella* spp. Tespiti

Shigella türlerinin tespitinde geleneksel olarak kültür izolasyonu, biyokimyasal testler ve serum aglütinasyonu ile serotiplendirme yöntemleri kullanılmaktadır (Hosangadi, Smith, & Giersing, 2019).

Ülkemizde, UNE-EN ISO 21567 standardı doğrultusunda analizler gerçekleştirilmektedir (ISO21567, 2004). Bu tespit süreci dört temel adımda yürütülmektedir: Numunenin Tamponlu Peptonlu Suda ön zenginleştirilmesi, Seçici zenginleştirme için *Shigella* Broth ortamına alınması, Seçici zenginleştirilen örneklerin Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar üzerine ekilmesi, Elde edilen kolonilerin biyokimyasal ve serolojik testlerle doğrulanması. Bunlara ek olarak, hekziton agar gibi bazı alternatif selektif ortamlar da *Shigella* izolasyonunda kullanılabilir. Ancak, gıda matrislerinin karmaşıklığı ve rekabetçi mikroflora varlığı, kültür bazlı yöntemlerin etkinliğini sınırlayabilmektedir. Bu yöntemler “altın standart” olarak kabul edilmekle birlikte, sonuçların elde edilmesi için birkaç güne ihtiyaç duyulması önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır. Son yıllarda moleküler biyolojideki ilerlemeler sayesinde, daha hızlı ve özgül yöntemler geliştirilmiştir. Bu bağlamda, *stx* ve *ipaH* gibi özgül gen hedeflerine dayalı qPCR tabanlı tespit sistemleri, yüksek duyarlılık ve özgüllük sağlamaktadır. Bu

yöntemler, *Shigella* tespiti için etkili alternatifler arasında yer almaktadır. Ayrıca, biyolojik tanıma molekülleri olan biyoreseptörlerin kullanıldığı yöntemler de yaygınlaşmaktadır. Bunlar arasında aptamerler, nükleik asit problemleri, bakteriyofajlar, lektinler ve antikorlar bulunmaktadır. Özellikle lateral akış immünokromatografik şeritler ve enzim immünoassay gibi ticari hızlı tanı kitlerinde, antikorlar standart tanıma faktörü olarak öne çıkmaktadır. Hızlı tespit yöntemleri arasında optik algılama, kolorimetri, floresan analizi ve fototermal tespit gibi tekniklere dayanan sistemler yer almakta olup, elektrokimyasal tanımlama yöntemleriyle de entegre edilebilmektedir (R. K. Ibrahim & Hallaç, 2021; Muzembo ve ark., 2024).

Bu yöntemlerin başlıca avantajı, hem kantitatif hem de kalitatif analiz imkânı sunarak düşük bakteri düzeylerinde bile hassas tespit sağlamasıdır. Buna ek olarak, son dönemde CRISPR tabanlı tanı yöntemleri üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle CRISPR-Cas12 ve Cas13 sistemlerinin özgül gen bölgelerini yüksek hassasiyetle tanıyabildiği, floresan bazlı hızlı tespit sistemleriyle birleştirilerek kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu yeni nesil moleküler yaklaşımlar, *Shigella* enfeksiyonlarının erken teşhisi ve salgınların önlenmesi açısından umut verici olarak değerlendirilmektedir (Shi ve ark., 2022).

2-AMAÇ

Gıda kaynaklı hastalıkların neden olduğu salgınlar, hem toplum sağlığını hem de ekonomik sürdürülebilirliği tehdit eden ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Bu hastalıkların önlenmesi için, özellikle gıdalarda bulunan patojen mikroorganizmaların erken ve doğru bir şekilde tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) serotipleri, başta O157 serotipi olmak üzere, gıda güvenliği açısından kritik bir tehdit oluşturmaktadır. Son yıllarda, O157 dışı STEC serotiplerinin de çeşitli salgımlarla ilişkilendirilmesi, bu serotiplerin halk sağlığı açısından taşıdığı önemi artırmıştır.

Ülkemizde yürürlükte olan Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, STEC açısından büyük oranda *E. coli* O157 serotipine odaklanmaktadır. O157 dışı serotiplere yönelik rutin taramalar ise sadece yeşil filiz gibi belirli ürün gruplarıyla sınırlı tutulmakta; bu durum, O157 dışı STEC serotiplerinin yaygınlığına ve bulaş potansiyeline dair kapsamlı veri elde edilmesini engellemektedir.

Bu çalışmanın temel amacı, Kocaeli ilinde satışa sunulan çiğ hayvansal ve bitkisel gıdalarda yalnızca *E. coli* O157 serotipini değil, aynı zamanda klinik açıdan önemli diğer STEC serotiplerini (O103, O45, O121, O26, O104, O111 ve O145) de kapsayacak şekilde prevalansın belirlenmesidir. Ayrıca, çalışma *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli* gibi diğer gıda kaynaklı patojenlerin varlığını da değerlendirerek, bu mikroorganizmaların halk sağlığı açısından taşıdığı potansiyel riskleri ortaya koymayı hedeflemektedir.

Elde edilen verilerin, Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan mevcut kriterlerin gözden geçirilmesine katkı sağlaması, gıda güvenliğini önceleyen politika ve denetim mekanizmalarının geliştirilmesine bilimsel bir temel sunması ve yeni nesil izleme stratejileri açısından yol gösterici olması beklenmektedir.

3- YÖNTEM

3.1. Örneklerin Alınması

Çalışma kapsamında, gıda üretimi ve dağıtımı açısından önem taşıyan, coğrafi olarak çeşitlilik gösteren ve halk sağlığı risk değerlendirmesine katkı sağlayacak dört farklı örnekleme bölgesi belirlenmiştir. Bu bölgeler:

1.Bölge: Karamürsel, Gölcük, Başiskele

2.Bölge: İzmit, Kartepe, Derince

3.Bölge: Kandıra

4.Bölge: Körfez, Dilovası, Darıca, Çayırova ve Gebze’ den olmak üzere 4 bölgeden oluşmuştur.

Kocaeli ili genelinde bu dört bölgeden; kasap, restoran, lokanta ve marketlerden çiğ sığır eti, çiğ tavuk eti, balık eti numuneleri; üretici yerlerinden çiğ süt ve semt pazarlarından toplanan yeşil filiz (marul, maydanoz, ıspanak) örnekleri çalışma materyalini oluşturmuştur. Mayıs-Ekim 2024 tarihleri arasında, her bölgeyi temsilen 5 farklı gıda grubundan toplam 220 numune toplanarak işleme alınmıştır. Örnekler, farklı gıda kategorileri ve örnekleme noktalarının temsiliyetini sağlamak amacıyla rastgele seçilmiştir.

3.1.1. Çiğ Süt Örneği

Kocaeli ilinin dört bölgesine ait toplam 45 çiğ süt numunesi rastgele seçilen üretici yerlerinden alınmıştır. Her bir çiğ süt örnekleri (yaklaşık 200–300 mL) steril plastik numune kaplarına aseptik şartlarda alınarak, soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

3.1.2. Çiğ Sığır, Tavuk ve Balık Eti Örnekleri

Kocaeli ilinin dört bölgesine ait tüketime hazır toplam 49 çiğ sığır eti, 40 çiğ tavuk eti ve 42 balık eti örnekleri alınmıştır. Örnekler bölgedeki kasap ve balıkçı dükkanlarından rastgele seçilerek temin edilmiştir. Tüketime sunulduğu ticari şekliyle steril poşetlere aseptik şartlarda alınarak (yaklaşık 200–300g) soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

3.1.3. Yeşil Filiz Örneği

Kocaeli ilinin dört bölgesine ait 44 tüketime hazır yeşil filiz (marul, maydanoz, ıspanak) örnekleri toplanmıştır. Örnekler bölgelerdeki semt pazarlarından rastgele alınmıştır. Yeşil filiz örnekleri tüketime sunulduğu hazır şekliyle steril poşetlere aseptik şartlarda alınarak (yaklaşık 100–200g) soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır.

3.2. Kullanılan Besiyerleri

Mikrobiyolojik analizlerde, hedef mikroorganizmaların izolasyonu, zenginleştirilmesi ve seçici olarak çoğaltılması için çeşitli besiyerleri kullanılmaktadır. Bu besiyerleri, gıda, su ve çevresel numunelerde bulunan mikroorganizmaların tespit edilmesini sağlamak amacıyla formüle edilmiştir. Her besiyeri, belirli mikroorganizmaların gelişimini destekleyen bileşenler içerirken, bazıları aynı zamanda istenmeyen organizmaların üremesini engelleyerek seçici bir ortam oluşturur (Hahn, Koll, & Schmidt, 2019).

3.2.1. Tamponlanmış Peptonlu Su (Buffered Peptone Water)

Formül	g/litre
Enzimatik sindirilmiş kazein (pepton)	10.0 g
Sodyum klorür (NaCl)	5.0 g
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	9.0 g
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	1.5 g
Distile Su	1.0 lt

Tartılan hazır besiyeri içeriği damıtık suda çözündürülmüş ve otoklavlanabilir şişelere 225 mL olacak şekilde dağıtılmıştır. Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası karışımın pH’ı 7.0±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. (Gerekirse NaOH veya HCl kullanarak pH’ı ayarlanır).

Tamponlanmış Peptonlu Su (Neogen, NCM0015A, Lansing, MI, ABD) çeşitli numunelerde (gıda, su ve çevresel numuneler) bulunan mikroorganizmaların izolasyonu ve zenginleştirilmesi için kullanılan bir ön zenginleştirme ortamıdır. BPW'nin ana amacı, mikroorganizmaların hayatta kalmalarını ve çoğalmalarını teşvik ederek, sonrasında yapılacak izolasyon ve tanımlama işlemlerine uygun hale getirmektir. BPW, numunedeki mikroorganizmaların stres koşullarından kurtulmalarını ve zayıf hücrelerin canlanmasını sağlar. Bu özellikleri sayesinde, düşük sayıda veya zayıflamış mikroorganizmaların bile tespit edilmesini mümkün kılar. BPW, gıda güvenliği testlerinde ve su kalitesi analizlerinde kritik bir rol oynar, çünkü mikroorganizmaların daha sonraki selektif ortamlar ve analizler için yeterli sayıya ulaşmasını sağlar (Margot, Zwietering, Joosten, O'Mahony, & Stephan, 2015).

3.2.2. Rappaport-Vasilladis Soya Broth

Formül	g/lt
Soya pepton	4.5 g
Sodyum klorür (NaCl)	7.2 g
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	1.26 g
Dipotasyum hidrojen fosfat (K ₂ HPO ₄)	0.18 g
Magnezyum klorür hekahidrat	31.5 g
Malaşit yeşili	0.036 g
Distile Su	1.0 lt

Tartılan hazır besi yeri içeriği damıtık suda çözülmesi için yavaşça ısıtılarak çözündürülmüştür. Cam, tüplere 10 mL. bırakılarak otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edilmiş, otoklav sonrası pH'ı 5.2±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Rappaport-Vassiliadis Soya Broth (RVS; Neogen, NCM0136A, Lansing, MI, ABD), gıda, su ve çevresel numunelerde bulunan *Salmonella* spp.'nin selektif zenginleştirilmesi amacıyla kullanılır. RVS, düşük pH, yüksek ozmolarite ve seçici ajanlar sayesinde *Salmonella*'nın zenginleştirilmesini desteklerken, diğer rekabetçi mikroorganizmaların büyümesini inhibe eder. Bu besiyeri, *Salmonella*'nın stres koşullarında bile başarılı bir şekilde zenginleştirilmesini sağlar, böylece sonrasında yapılan selektif izolasyon ve tanımlama işlemleri daha güvenilir ve hassas hale gelir. RVS, mikrobiyolojik analizlerin doğruluğunu artırarak, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından kritik öneme sahip patojenlerin tespit edilmesine yardımcı olur (Hammack, Amaguaña, & Andrews, 2001).

3.2.3. Xylose Lysine Desoxcholate Agar

Formül	g/lt
Maya Ekstraktı	3.0 g
Sodyum klorür (NaCl)	5.0 g
Ksiloz	3.75 g
Laktoz	7.5 g
Sükroz	7.5 g
L-Lizin Hidroklorür	5.0 g
Sodyum tiyosülfat	6.8 g
Amonyum demir (III) sitrat	0.8 g
Fenol kırmızısı	0.08 g
Sodyum Deoksikolat	1.0 g
Agar	14.5 g
Distile Su	1.0 lt

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Otoklav edilmeden, ısıtılarak eritilen besiyerinin pH'ı 7.4 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış, 45–50 °C’de soğutularak petrilere dökülmüştür.

Xylose Lysine Desoxcholate Agar (XLD, Neogen, NCM0021A, Lansing, MI, ABD)’ da hidrojen sülfür oluşumu, besiyeri bileşiminde bulunan tiyosülfat ve demir tuzu ile koloninin siyah renk alması ile belirlenir. Ksiloz ve/veya laktoz ve/veya sakkarozun kullanımı, pH indikatörü olan fenol red kırmızısı ile belirlenir. Lisinin dekarboksilasyonu ile kadeverin oluşması koloni etrafındaki pH yükselmesine bağlı olarak menekşe renkli bir zon ile görülür. Bu besiyerinin refakatçi flora üzerinde zayıf bir baskılama etkisi vardır. *Salmonella* spp. kolonileri besiyeri ile aynı renkte, yarı saydam, ancak siyah merkezli olurlar. *Shigella* spp. kolonileri besiyeri ile aynı renkte ve yarı saydamdır ancak bunlarda siyah merkez oluşmaz (Lin, Yan, Lin, & Chen, 2014).

3.2.4. Salmonella-Shigella Agar

Formül	g/lt
Et ekstraktı	5.0 g
Enzimatik sindirilmiş kazein (pepton)	2.5 g

Enzimatik sindirilmiş hayvan dokusu	2.5 g
Laktoz	10.0 g
Safra Tuzları	8.5 g
Sodyum Sitrat	8.5 g
Sodyum Thiosulfate	8.5 g
Ferrik Sitrat	1.0 g
Brilyant yeşili	0.00033 g
Nötr Kırmızı	0.025 g
Agar	13.5 g
Distile su	1.0 lt

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Otoklav edilmez. Isıtılarak eritilen besiyerinin pH'ı 7.2 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve 45–50 °C’de soğutularak petrilere dökülmüştür.

Salmonella-Shigella Agar (Neogen, NCM0046, Lansing, MI, ABD) besiyeri bileşimindeki brilyant yeşili, safra tuzları, tiyosülfat ve sitrat, çoğu refakatçi floranın gelişimini engeller. Hidrojen sülfür oluşumu, tiyosülfat ve demir iyonları ile belirlenir; koloni merkezi siyah renkli olur. İki bakteri türü arasındaki ayırt edici özellik, *Salmonella*’nın hidrojen sülfür (H_2S) üretmesidir. Bu nedenle, H_2S pozitifliği sayesinde *Salmonella* kolonileri *Shigella* kolonilerinden kolayca ayırt edilebilmektedir (Ruiz Gomez, Lorente Salinas, Perez Salmerón, Simarro Cordoba, & Martinez Campos, 1998).

3.2.5. Selenit Sistin Broth

Formül	g/lt
Pepton	5.0 g
Laktoz	4.0 g
Sodyum selenit	4.0 g
Disodyum fosfat	10.0 g
L-sistin	0.01 g
Distile su	1.0 lt

Tartılan hazır besi yeri içeriği damıtık suda çözülmesi için yavaşça ısıtılmıştır. Otoklavmadan 65°C 30 dakika su banyosunda pastörize edilmiş ve filtre

siterilizasyonundan sonra pH'ı 7.0 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanarak tüplere 10 mL aktarılmıştır.

Selenit Sistin Broth (Merck Millipore, VM1031112239, Darmstadt, Almanya), süt ve süt ürünlerinde *Salmonella* spp. gibi patojenik bakterilerin seçici zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu zenginleştirme besiyeri, düşük yoğunlukta bulunan *Salmonella* türlerinin çoğalmasını teşvik ederken, normal flora bakterilerinin büyümesini inhibe etmektedir (Nassib, El-Din, & El-Sharoud, 2003).

3.2.6. Half Frasher Broth

Formül	g/lt
Et peptonu	5.0 g
Tripton	5.0 g
Et ekstraktı	5.0 g
Maya ekstraktı	5.0 g
Sodyum klorür	2.0 g
Disodyum hidrojen fosfat dihidrit	12.0 g
Potasyum hidrojen fosfat	1.35 g
Eskülin	1.0 g
Distile su	1.0 lt

Tartılan hazır besi yeri içeriği damıtık suda çözülmesi için iyice karıştırılmış ve otoklavlanabilir şişelere 225 mL olacak şekilde dağıtılmıştır. Otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika sterilize edilmiş, otoklav sonrası karışımın pH'ı 7.2 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Half fraser broth (Neogen, NCM0001A, Lansing, MI, ABD), gıda ve gıda ürünlerinde *L. monocytogenes* gibi patojenik bakterilerin seçici zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu zenginleştirme besiyeri, düşük yoğunlukta bulunan *Listeria* türlerinin çoğalmasını teşvik ederken, diğer bakterilerin üremesini inhibe etmektedir (Gasnov, Hughes, & Hansbro, 2005).

3.2.6.1. Lityum Klorür Çözeltisi

Formül	g/lt
Lityum klorür	3.0 g

Distile su 10.0 mL

Tartılan lityum klorür distile suya ilave edilerek, filtrasyon ile sterilize edilmiştir.

3.2.6.2. Nalidiksik Asidin Sodyum Tuzu Çözeltisi

Formül	g/lt
Nalidiksik asidin sodyum tuzu	0.1 g
Sodyum hidroksit	10.0 mL

Nalidiksik asit tuzu sodyum hidroksit çözeltisinde çözündürülmüş, filtrasyon ile sterilize edilmiştir.

Lityum klorür çözeltisi ve nalidiksik asit çözeltisi otoklavdan önce ana kısma ilave edilmiştir.

3.2.7. Fraser Broth

Formül	g/lt
Et peptonu	5.0 g
Tripton	5.0 g
Et ekstraktı	5.0 g
Maya ekstraktı	5.0 g
Sodyum klorür	20.0 g
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat	12.0 g
Potasyum hidrojen fosfat	1.35 g
Eskülin	1.0 g
Lityum klorür	3.0 g
Nalidiksik asidin sodyum tuzu	0.02 g
Distile su	1.0 lt

Hazır besiyeri istenilen miktarda tartılmış, distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Besiyeri deney için uygun miktarlarda uygun kapasiteli deney tüplerine aktararak, 121 °C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Otoklav sonrası pH 7.2±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.7.1. Akriflavin Hidroklorür Çözeltisi

Formül	g/lt
Akriflavin hidroklorür	0.25 g
Distile su	100.0 mL

Akriflavin hidroklorür distile suda çözündürülerek, filtrasyon ile sterilize edilmiştir.

3.2.7.2. Amonyum Demir (III) Sitrat Çözeltisi

Formül	g/lt
Amonyum Demir (III) Sitrat	5.0 g
Distile su	100.0 mL

Amonyum demir (III) sitrat distile suda çözündürülerek, filtrasyon ile sterilize edilmiştir.

Fraser Broth (Neogen, NCM0050A, Lansing, MI, ABD)'u kullanmadan hemen önce temel besiyerini ihtiva eden her bir tüpe (10 mL tüp) 0,1'er mL Akriflavin hidroklorür çözeltisi ve Amonyum demir (III) sitrat çözeltisinden ilave edilmiş, yavaşça karıştırılmıştır.

Bazal besiyerindeki esculin, *Listeria* türlerinde bulunan β -D-glucosidase ile esculetin ve glukozu parçalanır. Esculetin, demir (III) ile bağlanarak besiyerinin zeytin yeşili-siyah renk almasını sağlamaktadır (Magalhães ve ark., 2021).

3.2.8. Agar *Listeria* Ottavian&Agosti

Formül	g/lt
Et peptonu	18.0 g
Tripton	6.0 g
Maya ekstraktı	10.0 g
Sodyum pirüvat	2.0 g
Glukoz	2.0 g
Magnezyum gliserofosfat	1.0 g
Magnezyum sülfat	0.5 g
Sodyum klorit	5.0 g
Lityum klorit	10.0 g

Disodyum hidrojen fosfat anhidrik	2.5 g
5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucopyranoside	0.05 g
Agar	12.0 g
Distile su	1.0 lt

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklav edilerek, pH 7.2±0.2 olacak şekilde ayarlanmış, 45–50 °C’de soğutularak petrilere dökülmüştür.

ALOA (Neogen, NCM1004A, Lansing, MI, ABD), özellikle gıda güvenliği ve halk sağlığı alanlarında önemli olan patojenik *Listeria* türlerinin tespiti için kullanılmaktadır. Bu besiyeri, patojenik *Listeria* türlerinin seçici ve ayırt edici bir şekilde gelişmesine olanak tanımaktadır. ALOA Agar üzerinde, *L. monocytogenes* mavi-yeşil koloniler oluşturur ve opalesan bir hale sahiptir. Bu özellik, diğer *Listeria* türlerinden ve diğer bakterilerden ayırt edilmesini sağlamaktadır (Willis, Baalham, Greenwood, & Presland, 2006).

3.2.9. Kanlı Agar

Formül	g/lt
Nutrient substrat	20.0 g
Sodyum klorit	5.0 g
Agar	10.0 g
Distile su	1.0 lt

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. 121 °C’de 15 dakika otoklav edilmiş, pH 7.0±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. pH’ı ayarlanmış besiyeri 45-50 °C’de soğutularak %5-8 steril defibrine edilmiş kan ilave edilerek petrilere dökülmüştür.

Kanlı agar (Merck Millipore, VM844386828, Darmstadt, Almanya), özellikle patojen mikroorganizmaların izolasyonu ve hemoliz özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan zenginleştirilmiş bir katı besiyeridir. α-, β- ve γ-hemoliz tipleri bu ortamda kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Mogrovejo ve ark., 2020).

3.2.10. Baird Parker Agar

Formül	g/lt
Pepton	10.0 g

Et ekstraktı	5.0 g
Sodyum piruvat	10.0 g
L-Glisin	12.0 g
Lityum klorür (LiCl)	5.0 g
Glikoz	1.0 g
Potasyum tellurit	0.1 g
Yumurta sarısı emülsiyonu	50 mL
Agar	20.5 g
Distile su	1.0 lt

Hazır besiyeri, belirlenen miktarda distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Daha sonra, 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavmıştır. Etiket üzerinde belirtilen değerlere uygun olarak pH'ı 7.2±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Aseptik koşullarda 50 °C'deki su banyosunda bekletildikten sonra Egg Yolk-Tellurit Emülsiyonu ilave edilmiş, uygun miktarda komple besiyeri steril petri kutularına dökülmüştür.

Baird Parker Agar (Neogen, NCM0200A, Lansing, MI, ABD), özellikle gıda ürünlerinde *S. aureus*'un izole edilmesi ve sayılması amacıyla kullanılan selektif bir besiyeridir. *S. aureus*, bu besiyerinde zonlu siyah koloniler oluşturur, bu da diğer mikroorganizmalardan ayırt edilmesini sağlamaktadır (Saito, Yoshida, Kawano, Shimizu, & Igimi, 2011).

3.2.11. Tryptone-Bile-Glucuronic Agar

Formül	g/lt
Enzimatik sindirilmiş kazein	20.0 g
Safra tuzu no.3	1.5 g
X-Glucuronide	0.075 g
Agar-agar	15.0 g
Distile su	1.0 lt

Hazır besiyeri, ölçülen miktarda distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Daha sonra 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra pH değeri 7.2±0.2 olacak şekilde ayarlanmış, 50 °C'de aseptik koşullarda petrilere dökülmüştür.

Tryptone-Bile-Glucuronic Agar (Neogen, NCM1001A, Lansing, MI, ABD) besiyeri

bileşimindeki kromojen substrat 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (X- β -D-glucuronide) *E. coli*'deki β -D-glucuronidase enzimi ile reaksiyona girer ve bu substratı 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ve β -D-glucuronide'e parçalar. Sonuç olarak *E. coli* kolonileri mavi-yeşil renkli olarak görülür. İstenmeyen mikroorganizmaların gelişimi ise ortamda bulunan safra tuzları ile baskılanır (Carraturo ve ark., 2022).

3.2.12. CHROMagar™ STEC

Formül	g/l
Pepton ve maya ekstraktı	8.0 g
Tuzlar	5.2 g
Chromogenic mix	2.6 g
Agar	15.0 g
Distile su	1.0 lt

Tartılan CHROMagar™ STEC (CHROMagar™-ST162-B, La Plaine-Saint, Denis, Fransa) toz besiyeri distile su ile karıştırılarak kaynama noktası 100 °C kadar getirilmiştir. Kaynatma sonrası pH 6.9±0.2 olacak şekilde ayarlanmış, 45-50 °C'e soğutulduktan sonra CHROMagar™ STEC supplement ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra petri kaplarına dökülmüştür.

CHROMagar™ STEC, Shiga-toksin üreten *E. coli* (STEC) serotiplerinin seçici izolasyonu ve tanımlanması için kullanılan bir besiyeridir. Bu besiyeri, özellikle *E. coli* O157 gibi patojenik STEC serotiplerinin tespitinde yararlıdır (Hirvonen, Siitonen, & Kaukoranta, 2012).

3.2.13. Mineral-Modified Glutamate Medium

Formül	Tek kuvvet g/l	Çift kuvvet g/l
Sodyum glutamat	6.35 g	12.7 g
Laktoz	10.0 g	20.0 g
Sodyum format	0.25 g	0.5 g
L-sistein	0.02 g	0.04 g
L(-)-Aspartik asit	0.024 g	0.048 g
L(+)-Arjinin	0.02 g	0.04 g

Tiamin	0.001 g	0.002 g
Nikotinik Asit	0.001 g	0.002 g
Pantotenik Asit	0.001 g	0.002 g
Magnezyum sulfat septahidrat	0.1 g	0.2 g
Ammonyum demir(III) sitrat	0.01 g	0.02 g
Kalsiyum klorid dihidrat	0.01 g	0.02 g
Dipotassyum hidrojen fosfat	0.9 g	1.8 g
Bromkresol moru	0.01 g	0.02 g
Amonyum klorid	2.5 g	5.0 g
Distile su	1.0 lt	1.0 lt

Tartılan hazır besiyeri distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Çözündürülen besiyeri 116 ± 1 °C'de 10 dakika sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası pH 6.7 ± 0.1 olacak şekilde ayarlanarak, 10'ar mL steril tüplere aktarılmıştır.

Mineral-Modified Glutamate Medium (Neogen, NCM0167A, Lansing, MI, ABD), *E. coli*'nin özellikle çevresel ve gıda örneklerinde tespit edilmesi ve zenginleştirilmesi amacıyla kullanılır. Besiyeri, *E. coli*'nin tespiti ve sayımı için kullanılır ve çeşitli analitik teknikler için ön zenginleştirme sağlar ayrıca *E. coli*'nin üremesini teşvik ederken, diğer mikroorganizmaların üremesini baskılamaktadır (Yörük, 2018).

3.2.14. Modified Trypton Soya Broth

Formül	g/lt
Enzimatik sindirilmiş kazein (pepton)	17.0 g
Sodyum klorür	5.0 g
D-(+)-Glukoz	2.5 g
Safra tuzu No:3	1.5 g
Enzimatik sindirilmiş soya	3.0 g
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	4.0 g
Distile su	1.0 lt

Hazır besiyeri, tartılarak belirlenen miktarda distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Çözelti, 225 mL'lik kavanozlara doldurularak 121 °C'de ve 1 atm basınç altında 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyonun ardından pH değeri 7.2 ± 0.2 olacak şekilde ayarlanmış, aseptik koşullar sağlanarak 45-50 °C sıcaklıkta su banyosunda bekletilmiş ve ardından

Novobiyosin ilave edilmiştir.

Modified Tryptone Soya Broth (mTSB- Neogen, NCM0196A, Lansing, MI, ABD) novobiosin katkılı olarak, özellikle *E. coli* O157 ve non-O157 STEC gibi patojenlerin zenginleştirilmesi ve izolasyonu amacıyla kullanılır. Bu besiyeri, hedef mikroorganizmaların üremesini desteklerken diğer bakterilerin çoğalmasını engelleyerek seçicilik sağlamaktadır (Amagliani ve ark., 2018).

3.2.15. Sorbitol MacConkey Agar

Formül	g/lt
Pepton	20.0 g
Sorbitol	10.0 g
Safra tuzu no.3	1.5 g
Sodyum klorit	5.0 g
Nötral kırmızı	0.03 g
Kristal violet	0.001 g
Agar no.2	12.0 g
Distile su	1.0 lt

Sorbitol MacConkey Agar (SMAC-Neogen, NCM0167A, Lansing, MI, ABD) toz besiyeri, 121°C'de 1 atm basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Daha sonra besiyeri 45-50 °C'e soğutulduktan, pH 7.2±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Sonra besiyeri içerisine Cefiksim (0,05 mg/L) ve Potasyum Tellürit (2.5 mg/L) eklenerek petri kaplarına dökülmüştür.

SMAC, özellikle *E. coli* O157 serotipinin seçici ve ayırt edici izolasyonu için kullanılan bir besiyeridir. Bu serotip, insanlar için ciddi gıda kaynaklı hastalıklara yol açabilir ve SMAC, bu patojenin tespitinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Muller & Ehlers, 2005)

3.2.16. Triple Sugar Iron Agar

Formül	g/lt
Enzimatik sindirilmiş kazein (pepton)	5.0 g
Enzimatik sindirilmiş hayvan dokusu	5.0 g
Maya Zenginleştirilmiş Pepton	10.0 g

Dekstroz	1.0 g
Laktoz	10.0 g
Sukroz	10.0 g
Ferrik Amonyum Sitrat	0.2 g
Sodyum Klorür	5.0 g
Sodyum Thiosulfat	0.3 g
Fenol Kırmızı	0.025 g
Agar	13.5 g
Distile su	1.0 litre

Hazır besiyeri, tartılarak belirlenen miktarda distile su ile karıştırılıp ısıtılarak çözündürülür. 121 °C’de 15 dakika boyunca sterilize edilmiş, sterilizasyonun ardından pH değeri 7.3±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Çözelti, 10’ar mL olacak şekilde tüplere dağıtılarak, yatay bir yüzeyde donması beklenmiştir.

Triple Sugar Iron Agar (Neogen, 150696/028, Lansing, MI, ABD) enzimatik sindirilmiş kazein, enzimatik sindirilmiş hayvan dokusu ve maya ile zenginleştirilmiş pepton, organizmanın büyümesi için gerekli olan azot, karbon ve vitaminleri sağlar. Triple Sugar Iron Agar üç karbonhidrat içerir: Glukoz, Laktoz ve Sükroz. Karbonhidratlar fermente edildiğinde, asit üretimi Fenol Kırmızısı pH indikatörü ile tespit edilir. Sodyum tiyosülfat, hidrojen sülfide indirgenir ve hidrojen sülfid, demir tuzu ile reaksiyona girerek tipik siyah demir sülfidini oluşturur. Ferrik amonyum sitrat, hidrojen sülfid (H₂S) göstergesidir. Sodyum klorür, ortamın ozmotik dengesini korur. Agar ise katılaştırıcı ajan olarak işlev görür (El-Zakfaly & Kassim, 1983).

3.2.17. Lysine Iron Agar

Formül	g/lt
Enzimatik sindirilmiş jelatin	5.0 g
Maya Ekstratı	3.0 g
Dekstroz	1.0 g
L-Lizin	10.0 g
Ferrik Amonyum Sitrat	0.5 g
Sodyum Thiosulfat	0.04 g
Bromokrezol Moru	0.02 g

Agar	13.5 g
Distile su	1.0 litre

Hazır besiyeri tartılarak distile su ile ısıtılarak çözündürülmüştür. Daha sonra 121 °C’de 15 dakika süreyle sterilize edilmiş, sterilizasyon işleminin ardından pH değeri 6.7±0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve 10’ar mL olacak şekilde tüplere bölünmüştür. Yatay zeminde donması beklenmiştir.

Lysine Iron Agar (LIA-Neogen, NCM0140A, Lansing, MI, ABD), enterik bakterilerin lizin dekarboksilasyonu veya deaminasyonu gibi amino asit metabolizmasıyla ilgili özelliklerini ve hidrojen sülfür (H₂S) üretimini değerlendirmek amacıyla kullanılan diferansiyel bir besiyeridir. Bu ortam, Triple Sugar Iron Agar (TSI) gibi laktoz içeren ortamlarda asit üretimi nedeniyle baskılanabilen H₂S oluşumunu daha net gözlemleyebilmek için laktoz içermez. Bunun yerine, bakterilerin lizin kullanım yeteneklerini değerlendirebilmek amacıyla lizin içerir (Soria & Bueno, 2016).

Lizin Dekarboksilasyonu; Bazı mikroorganizmalar, lizini dekarboksile ederek alkali bir ürün olan kadaverin oluşturur. Bu reaksiyon, ortamdaki pH’ın yükselmesine neden olur ve besiyerinin rengi mor olarak gözlemlenir. Lizin dekarboksilasyonu pozitif olan bakteriler, besiyerinde mor renk oluşumu ile ayırt edilir (Gao ve ark., 2022).

Lizin deaminasyonu, ortamda amonyağın açığa çıkmasına ve pH’ın azalmasına yol açar. Bu reaksiyon, besiyerinde kırmızı renkte bir değişimle fark edilir. Lizin deaminasyonu pozitif olan bakteriler, bu kırmızı renk oluşumuyla tanımlanır. Ayrıca, LIA besiyeri tiosülfat içerdiğinden, bazı bakteriler tarafından hidrojen sülfür (H₂S) üretilebilir. Ortamda oluşan H₂S, demir tuzlarıyla reaksiyona girerek siyah renkli demir sülfür (FeS) oluşmasına neden olur. Bu siyah renklenme, H₂S üretiminin bir göstergesidir. (Choi, 2021).

3.2.18. Nutrient Agar

Formül	g/lt
Pepton	5.0 g
Et Ekstratı	3.0 g
Sodyum Klorür	8.0 g
Agar	12.0 g
Distile su	1.0 litre

Hazır besiyeri, istenilen miktarda tartılarak distile su ile ısıtılarak çözündürülmüş, 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminin ardından pH değeri 7.0±0.2 olacak şekilde ayarlanmış ve 50 °C'de aseptik koşullarda petrilere dökülmüştür.

Nutrient Agar (Neogen, NCM0033A, Lansing, MI, ABD) beslenme gereksinimleri fazla olmayan organizmaların kùltivasyonu için genel amaçlı bir ortamdır (Pestariati & Mufidah, 2021).

3.3. Kullanılan Laboratuvar Ekipmanları ve Cihazlar

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizler hem konvansiyonel kùltür yöntemleri hem de moleküler teknikler kullanılarak yürütölmüştür. Bu amaçla, örneklerin ön işlemleri, izolasyonları, tanımlanmaları, DNA ekstraksiyonu, DNA kalitesinin değeriendirilmesi ve qPCR analizlerinin gerçekleştirilmesinde çeşitli laboratuvar ekipmanları ve cihazlardan yararlanılmıştır. Tüm analizler sırasında kullanılan cihazlar, üretici firmaların talimatlarına uygun şekilde çalıştırılmış ve analiz sonuçlarının güvenilirliği bu standartlara göre sağlanmışdır. Aşağıda çalışmada kullanılan başlıca laboratuvar ekipmanları ve cihazların listesi sunulmuştur.

- 1- Real Time PCR Cihazı, AriaMx (Amerika Birleşik Devletleri)
- 2- Spektrofotometre, NanoPhotometer NP80 (Münih, Almanya)
- 3- Termal blok, DLAB® HM100-Pro (Çin)
- 4- Santrifüj, Hettich-Zentrifugen, MIKRO 2000 (Tuttlingen, Almanya)
- 5- PCR hazırlık kabini, MarsPro 1200, LaboGene (Danimarka)
- 6- Vortex cihazı, D-LAB vortex (Pekin, Çin)
- 7- İnkübatör, Nüve (Ankara, Türkiye)
- 8- Otomatik Pipetler, Rainin (Amerika Birleşik Devletleri)
- 9- Otoklav, Hirayama (Japonya)
- 10- Pipet uçları, Rainin (Amerika Birleşik Devletleri)

3.4. Örneklerin Kùltür Yöntem ile İzolasyonu ve Tanımlanması

E. coli, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'in tespiti için örneklerin kùltür yöntemi ile izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır.

Örnekler, *E. coli* ve *S. aureus* analizi için 10 g/mL, *Salmonella* ve *Shigella* analizi için ise 25 g/mL tartıldıktan sonra, her biri 225 mL sterilize edilmiş Tamponlanmış peptonlu su ile karıştırılarak stomacher torbasına yerleştirilmiş, 5 dakika boyunca homojenize

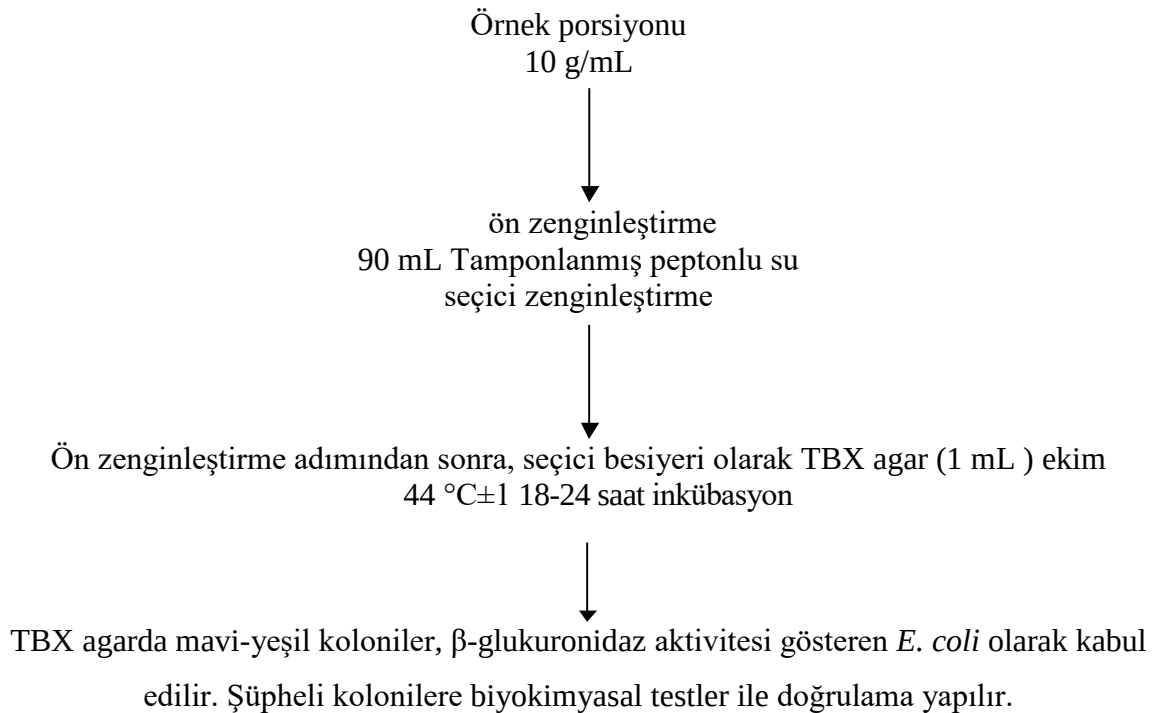
edilmiştir. Bu işlem *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *S. aureus* araştırılması ve tespitine ilişkin olarak ISO 16649-2, ISO 16649-3, ISO 6579-1, ISO 21567 ve ISO 6888-1 protokollerine göre ön zenginleştirme adımıdır (ISO6579-1, 2017; ISO6888-1, 2000; ISO16649-2, 2001; ISO16649-3, 2015; ISO21567, 2004). Daha sonra karışımlar 37°C ±2°C'de 18 saat±2 saat inkübe edilmiştir.

L. monocytogenes tespiti için 25 g/mL örnek, 225 mL sterilize edilmiş Enrichment Broth FRASER Base yarı konsantrasyonlu (FBH) ve *listeria* UVMII selective Supplement ve Ferrik Amonyum Sitrat Supplement ile takviye edilmiş ve karıştırılarak stomacher torbasına konularak 5 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Bu işlem, *L. monocytogenes* araştırılması ve tespiti için UNE-EN ISO 11290-1 protokolüne göre bir ön zenginleştirme adımıdır (ISO11290-1, 2018). Karışımlar daha sonra 30°C'de 25±1 saat süreyle inkübe edilmiştir.

3.4.1. *E. coli*'nin İzolasyonu ve Tanımlanması

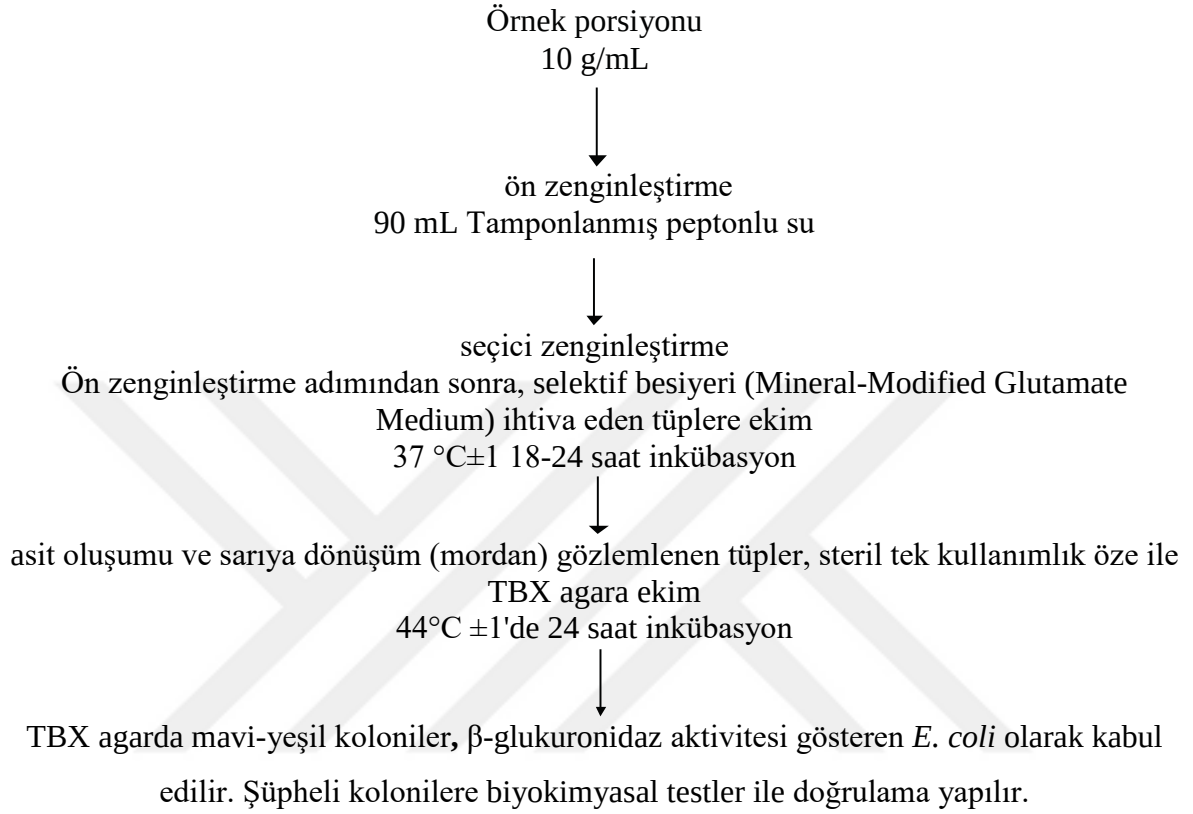
E. coli' in izolasyonu ve tanımlanması için yapılan analizlerde ISO 16649-2 ve ISO 16649-3 standartları esas alınmıştır (ISO16649-2, 2001; ISO16649-3, 2015). *E.coli* analiz sürecinde pozitif kontrol olarak *E.coli* NCTC 12923 suşu, negatif kontrol olarak ise *S. aureus* NCTC 10788 suşu kullanılmıştır.

Çiğ sığır eti, tavuk eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri için ISO 16649-2 standardı kapsamında *E. coli* izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. *E.coli* (kob/g-mL) dökme yöntemi ile koloni sayım prosedürü akış şeması (ISO16649-2, 2001)

Balık eti örnekleri için ise ISO 16649-3 standardı kapsamında *E. coli* izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. *E.coli* (EMS/g)'nin en muhtemel sayı yöntemi ile tarama prosedürünün akış şeması (ISO16649-3, 2015)

3.4.1.1. Ön Zenginleştirme

E. coli izolasyonu standart kültür yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. ISO 16649-2 ve ISO 16649-3 kapsamında, metodun prensibi; β-glucuronidase pozitif *E. coli* bakterilerinin Tryptone-bile-glucuronic (TBX) agarda sayılmasına dayanır. *E. coli*'lerde bulunan β-D-glucuronidase enzimi ile besiyeri içeriğinde kromojen substrat olarak bulunan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronic asit (BCIG) etkileştiğinde 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ve β-D-glucuronide'e parçalanır bu da petride mavi / mavi-yeşil renkli koloni oluşumu, tüplerde ise asit oluşumu ve sarıya dönüşüm (mordan) şeklinde gözlenir. Toplamda 10 gr/mL olan numuneden steril stomacher poşetlerine konulmuş, üzerine 90 mL Tamponlanmış peptonlu su eklenerek ve karışım 5 dk boyunca stomacher cihazında homojenize edilmiştir (Şekil 3.3).

Balık etinde *E.coli* araştırılması en muhtemel sayı (EMS) yöntemine dayanarak yapılmıştır. ISO 16649-3'e toplamda 10 gr olan numune steril stomacher poşetlerine konulmuş, üzerine 90 mL Tamponlanmış peptonlu su eklenmiş ve karışım 5 dk boyunca stomacher cihazında homojenize edilmiştir.



Şekil 3. 3. *E. coli* analizi ön zenginleştirme

3.4.1.2. Selektif Zenginleştirme

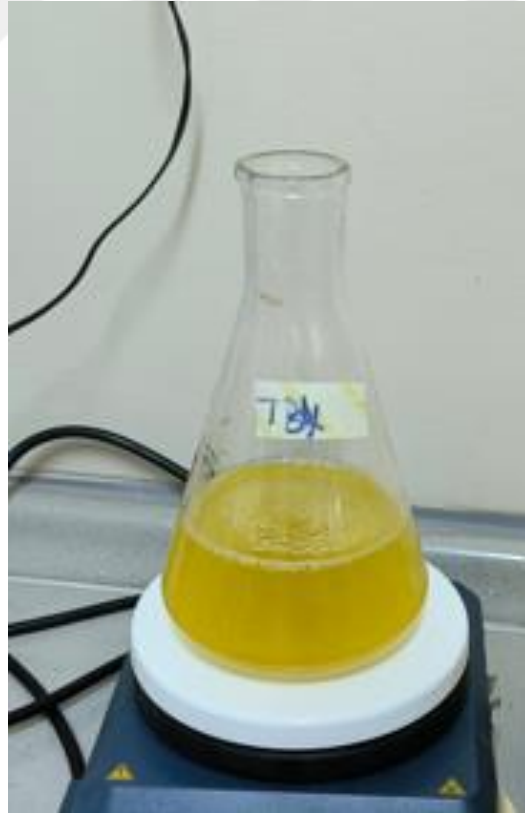
Tamponlanmış peptonlu su ile ön zenginleştirme işlemi sonucunda steril stomacher poşetinden boş petriye 1 mL konulmuş (Şekil 3.4) ve üzerine eriyen besiyeri (TBX) 15 mL petri plaklarına dökülmüştür (Şekil 3.5.). Petri plakları, bekleme yapılmaksızın 8 rakamını oluşturacak şekilde hareket ettirilerek besiyeri ve dilüsyonun tamamen homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır. Besiyerleri katılaştıktan sonra, petri kutuları 44 ± 1 sıcaklıkta 18-24 saat boyunca inkübe edilmiştir (Şekil 3.7).

Balık etinde Tamponlanmış peptonlu su ile ön zenginleştirme işlemi sonucunda numunelerden 1, 0.1 ve 0.01 EMS/g seyreltilerini sağlamak için, birinci sıraya çift kuvvetli, selektif besiyeri (Mineral-Modified Glutamate Medium) ihtiva eden 3 tüp alınmıştır (Şekil 3.6). Her bir tüpe ilk dilüsyondan 10'ar mL ilave edilmiştir. İkinci sıraya bu sefer tek kuvvetli, selektif zenginleştirme besiyeri ihtiva eden 3 tüp alınmıştır. Her bir tüpe, ilk dilüsyondan 1'er mL ilave edilmiştir. Son olarak üçüncü sıraya tekrar tek kuvvetli, selektif zenginleştirme besiyeri ihtiva eden 3 tüp alınmış ve bu tüplerde 9 mL ringer çözeltisine ilk dilüsyondan 1 mL katılarak oluşturulan 10^{-2} seyreltilmiş tüpten 1 mL ilave edilmiştir. Hem çift kuvvetli selektif besiyeri bulunduran tüpler hem de tek kuvvetli

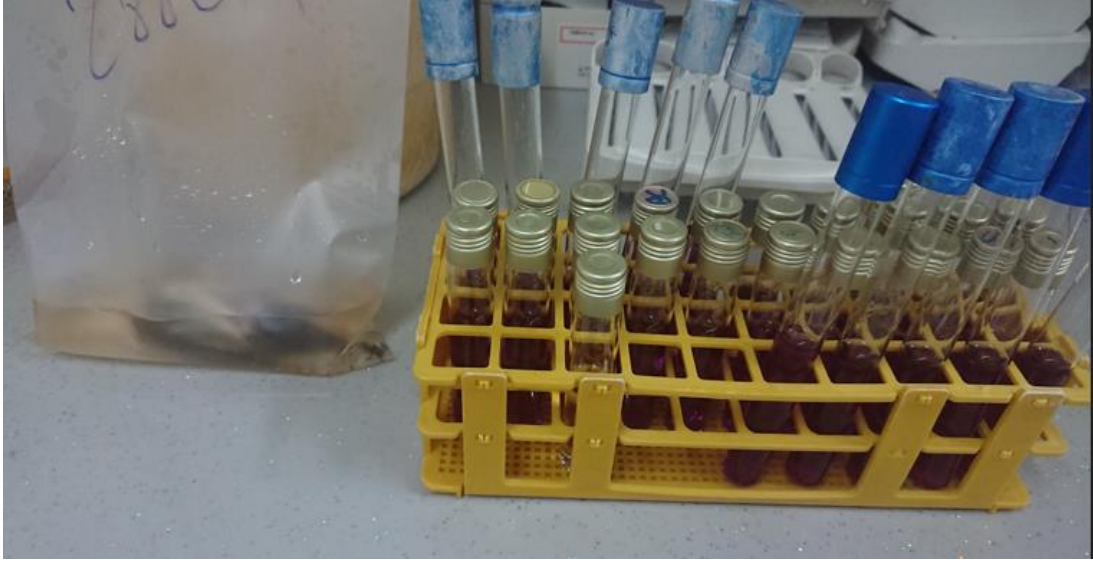
selektif besiyeri bulunduran tüpler $37^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de inkübatörde 24 ± 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, asit oluşumu ve sarıya dönüşüm (mordan) gözlemlenen tüpler, steril tek kullanımlık öze ile TBX üzerine ekilerek, petri kutuları $44^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir.



Şekil 3. 4. *E. coli* analizi TBX agar'a ekim



Şekil 3. 5. *E. coli* analizi için eritilmiş TBX besiyeri



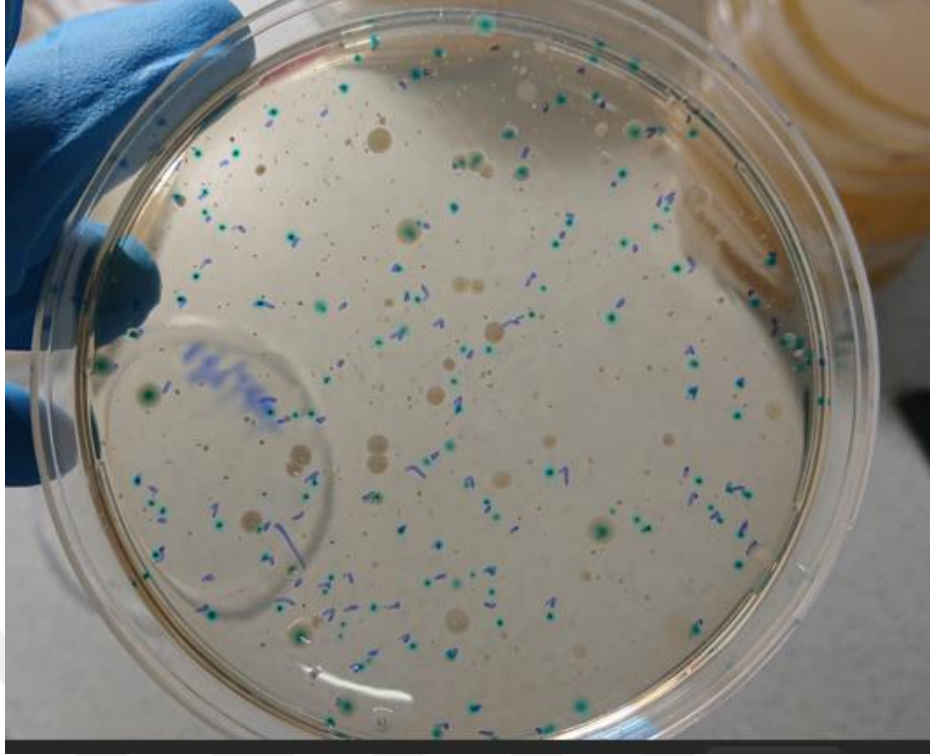
Şekil 3. 6. Mineral-Modified Glutamate Medium tüp besiyeri



Şekil 3. 7. TBX petrilerinin inkübasyonu

3.4.1.3. *E. coli*'in Tanımlanması

İnkübasyon sonrası petri plaklarında mavi veya mavi-yeşil koloniler sayılmıştır (Şekil 3.8). Ayrıca bu kolonilere Gram boyama, katalaz testi, IMViC biyokimyasal testleri uygulanmıştır (Şekil 3.9 ve Şekil 3.11).

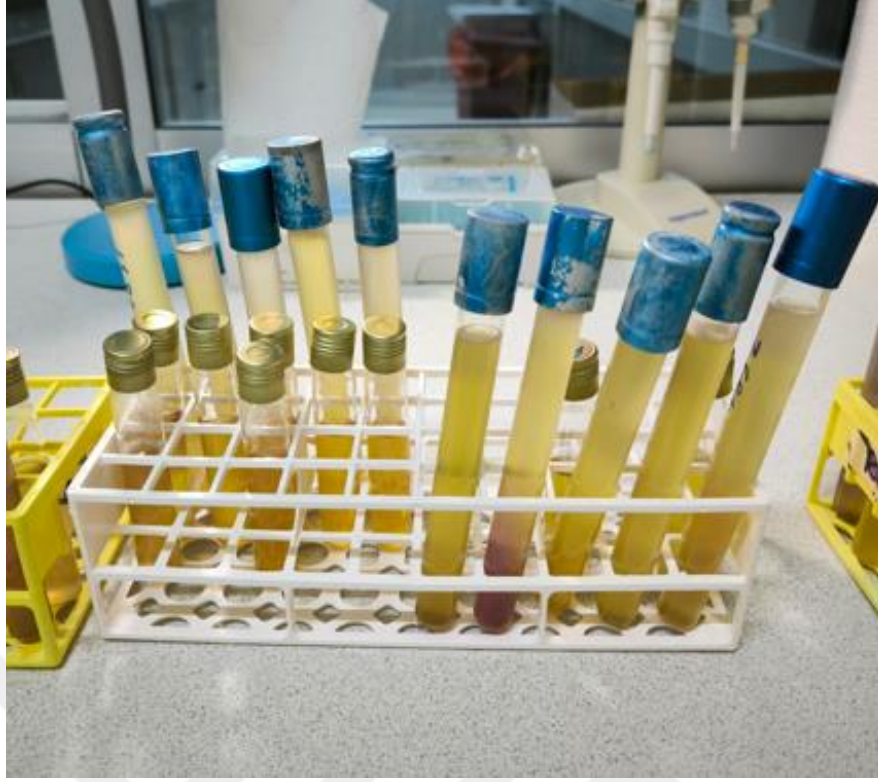


Şekil 3. 8. TBX agarda *E. coli* görünümü

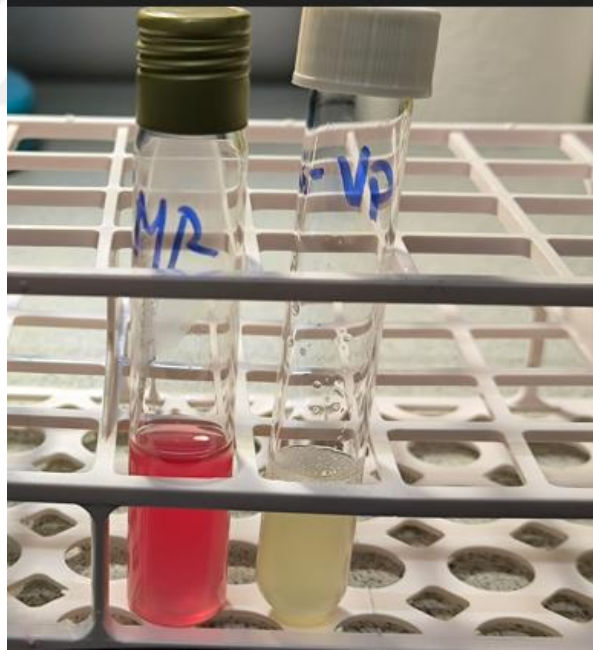


Şekil 3. 9. İdol testi pozitif mor-menekşe halka oluşumu

Balık eti örnekleri inkübasyondan sonra petri plaklarında üreyen mavi veya mavi-yeşil renkli koloniler β -glucuronidase pozitif *E. coli* olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3. 10. EMS yöntemi tüplerin renk değişimi



Şekil 3. 11. Metil-Red Testi (MR: +), Voges-Proskauer Testi (VP: -)

Tüplerin pozitifliğine göre EMS/g sayısı EMS tablosu kullanılarak, ISO 7218 üçlü tüp yöntemi derecelendirme ölçeğine göre belirlenmiştir (Tablo 3.1) (ISO7218, 2014).

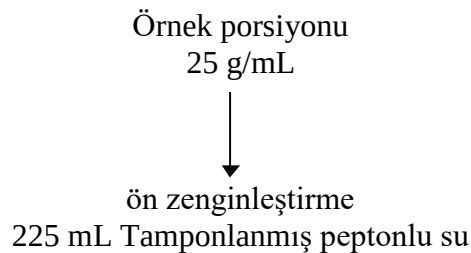
Tablo 3. 1. ISO 7218 üçlü tüp yöntemi derecelendirme ölçeği (ISO7218, 2014)

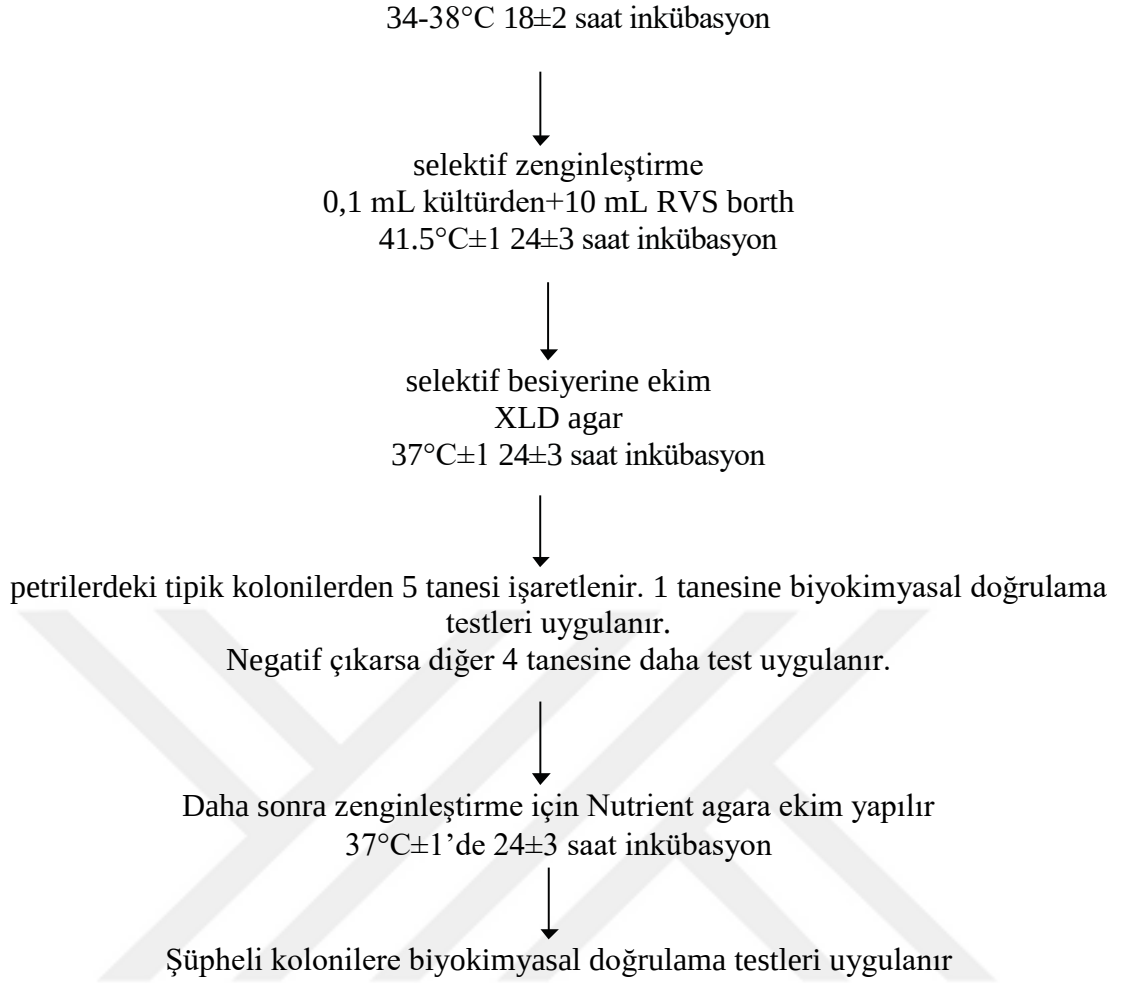
İnokulum hacmi için pozitif sonuç sayısı (mL veya g)			EMS (mL veya g)	log ₁₀ EMS	log ₁₀ EMS'nin Standart Sapması	%95 Güven Sınırları		Seyreklik İndeksi	Seyreklik Kategorisi
1	0,1	0,01				Alt Sınır	Üst Sınır		
0	0	0	0	-	-	0	1,1	1	1
0	1	0	0,31	-0,51	0,43	0,04	2,3	0,09	1
1	0	0	0,36	-0,44	0,44	0,05	2,7	1	1
1	0	1	0,72	-0,14	0,31	0,17	3	0,02	2
1	1	0	0,74	-0,13	0,31	0,18	3,1	0,21	1
1	2	0	1,1	0,04	0,26	0,35	3,7	0,02	2
2	0	0	0,92	-0,04	0,32	0,21	4	1	1
2	0	1	1,4	0,15	0,27	0,42	4,9	0,04	2
2	1	0	1,5	0,18	0,27	0,43	5	0,43	1
2	1	1	2	0,3	0,24	0,7	6	0,02	2
2	2	0	2,1	0,32	0,24	0,71	6,2	0,07	1
3	0	0	2,3	0,36	0,31	0,55	9,7	1	1
3	0	1	3,9	0,59	0,31	0,93	16	0,08	1
3	1	0	4,3	0,63	0,33	0,95	19	1	1
3	1	1	7,5	0,88	0,3	1,9	30	0,21	1
3	1	2	12	1,1	0,26	3,6	37	0,02	2
3	2	0	9,3	0,97	0,32	2,2	40	1	1
3	2	1	15	1,2	0,27	4,4	51	0,42	1
3	2	2	22	1,3	0,24	7,2	64	0,07	1
3	3	0	24	1,4	0,32	5,6	100	1	1
3	3	1	46	1,7	0,34	9,6	220	1	1
3	3	2	110	2	0,32	25	490		1
3	3	3	∞	uygulanmaz	uygulanmaz	36	∞	1	1

3.4.2. *Salmonella* spp.'nin İzolasyonu ve Tanımlanması

Salmonella spp. izolasyonu ve tanımlanması için yapılan analizlerde ISO 6579-1 standardı esas alınmıştır. *Salmonella* analiz sürecinde pozitif kontrol olarak *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve NCTC 12023 suşları, negatif kontrol olarak ise *E. coli* NCTC 12923 suşu kullanılmıştır.

Çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri için ISO 6579-1 standardı kapsamında *Salmonella* izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.12).





Şekil 3. 12. *Salmonella* spp. tarama prosedürünün akış şeması (ISO 6579–1, 2017)

3.4.2.1. Ön Zenginleştirme

Salmonella spp. izolasyonu standart kültür yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. ISO 6579-1 kapsamında, toplanan gıda örnekleri steril bir kaşık kullanılarak stomacher poşetleri içerisine her porsiyonu 25 g/mL olacak şekilde tartılarak konulmuş ve öncesiden oda sıcaklığına getirilen 225 mL Tamponlanmış peptonlu su ile aseptik koşullarda 5 dk boyunca homojenize edilmiştir (Şekil 3.13). Homojenizasyon işlemi sonrasında 37°C sıcaklıkta 18±2 saat kadar inkübe edilerek seçici olmayan ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.14).



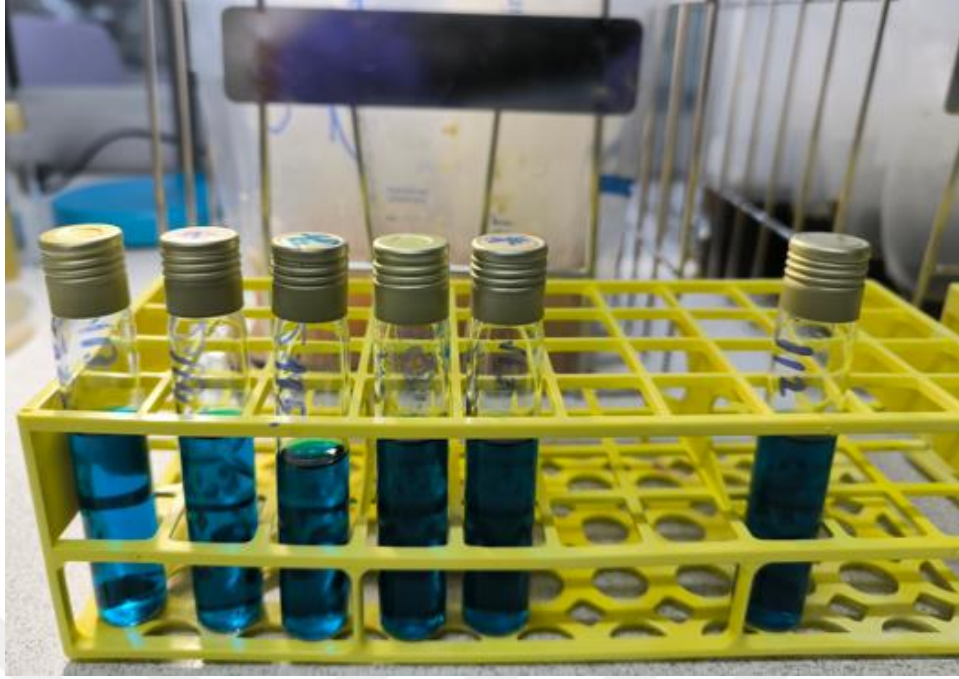
Şekil 3. 13. *Salmonella* spp. analizi ön zenginleştirme



Şekil 3. 14. *Salmonella* spp. analizi inkübasyon

3.4.2.2. Selektif Zenginleştirme

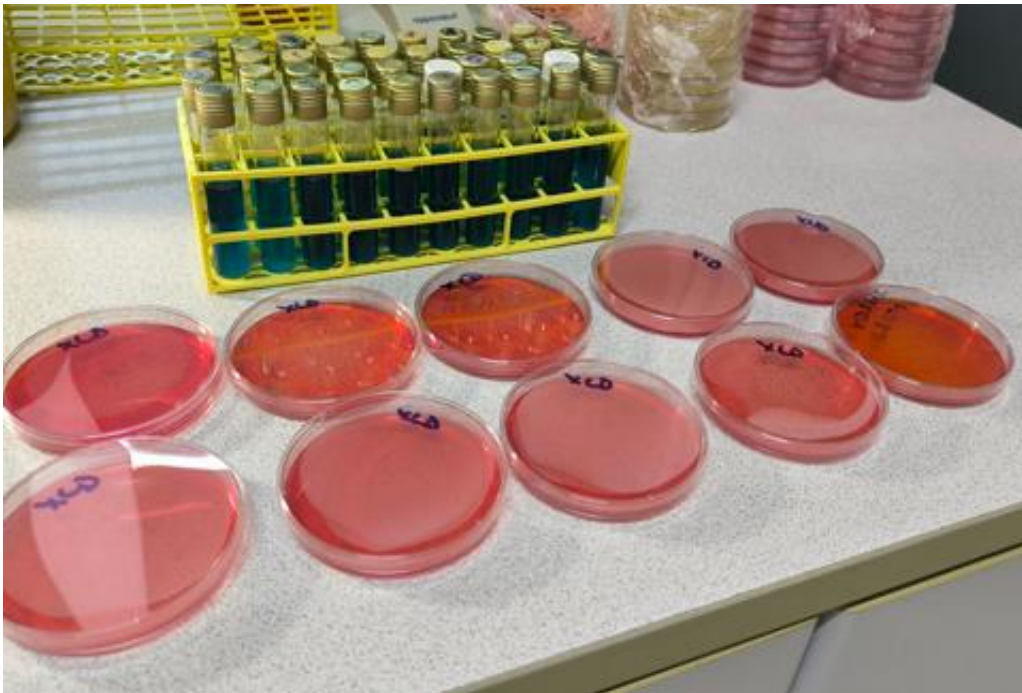
Tamponlanmış peptonlu su ile ön zenginleştirme işlemi sonucunda meydana gelen kültürden alınan 0,1 mL solüsyon, içerisinde 10 mL RVS Broth (Rappaport Vassiliadis Medium Soya) bulunduran tüplere inoküle edilmiş ve $41,5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ sıcaklıkta 24 ± 3 saat kadar seçici zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3. 15. RVS seçici zenginleştirme besiyeri

3.4.2.3. Selektif Besiyerine Ekim

Seçici zenginleştirme işlemini takiben RVS Broth'ta elde edilen kültürden iyi izole edilmiş koloniler elde etmek için öze yardımıyla XLD agara inoküle edilmiş ve 37°C sıcaklıkta 24±3 saat süresince inkübe edilmiştir (Şekil 3.16).



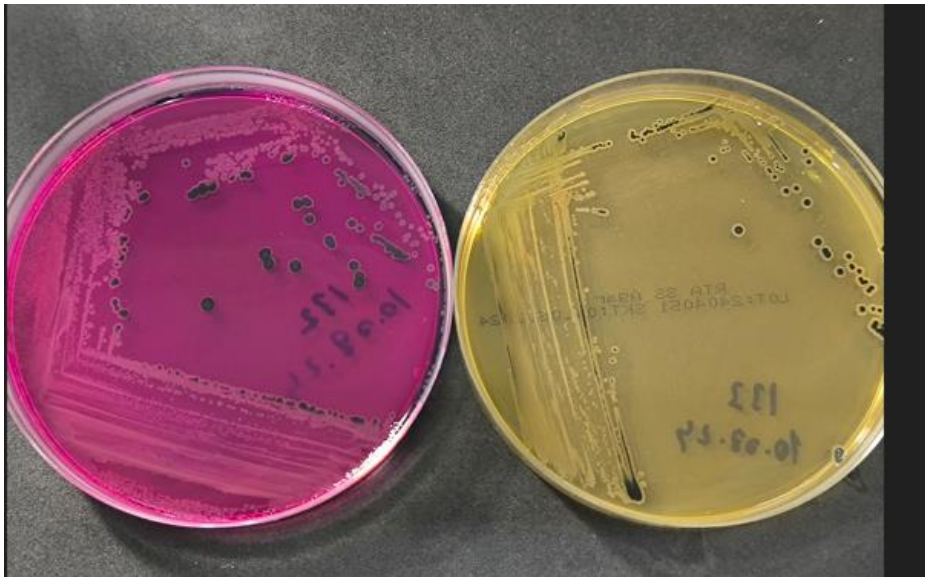
Şekil 3. 16. Ekime hazır XLD besiyeri

3.4.2.4. *Salmonella* spp. Tanımlanması

XLD agarda tipik *Salmonella* kolonileri siyah merkezli ve çevresi kırmızımsı saydam görünür (Şekil 3.17). Meydana gelen bu kolonilerden en az bir en fazla dört tane şüpheli seçilerek sonrasında Nutrient agar'a alt kültürleme ve çoğaltma maksadıyla ekilmiş, 37°C sıcaklıkta 24±3 saat inkübe edilmiştir.



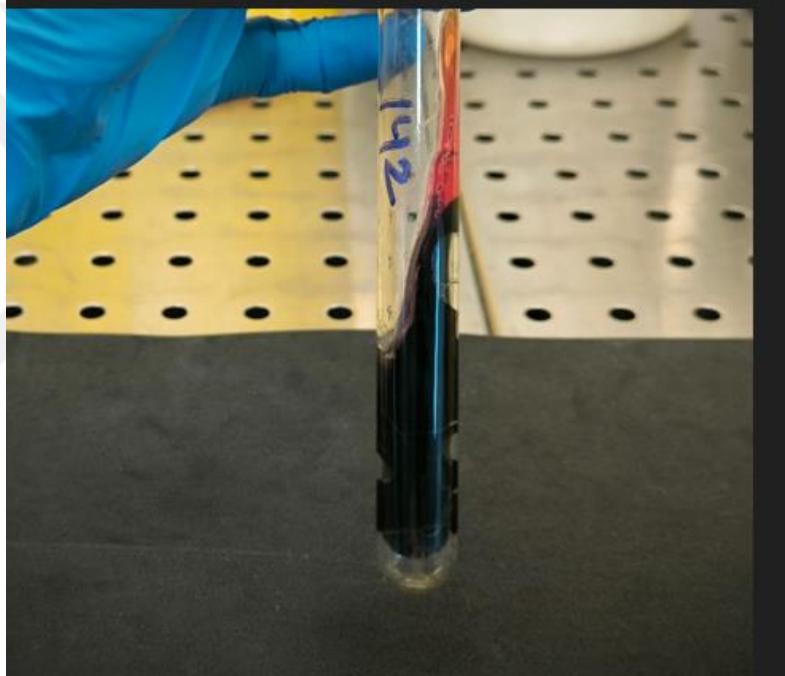
Şekil 3. 17. XLD agarda *Salmonella* spp. koloni görünümü



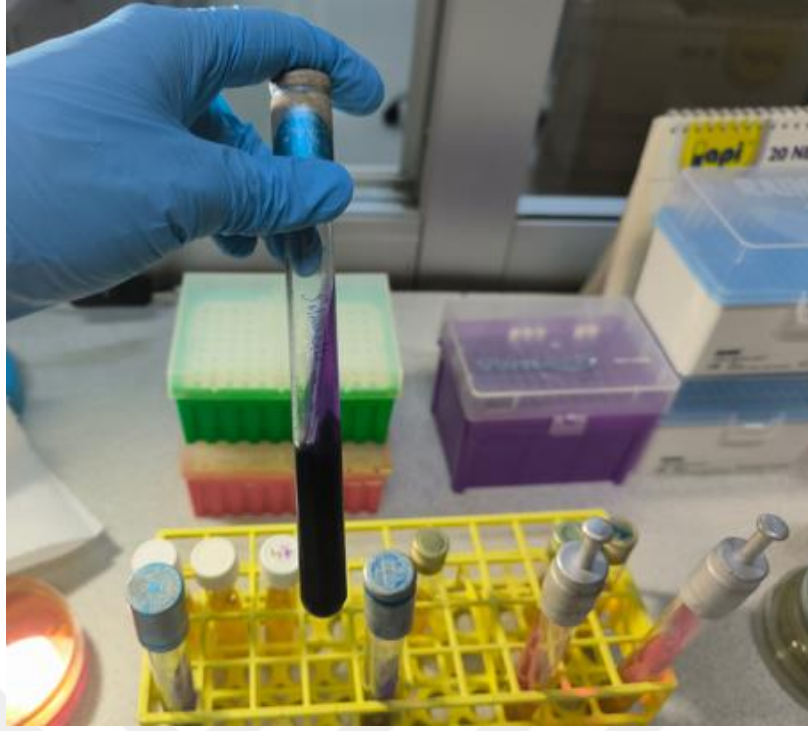
Şekil 3. 18. XLD agarda (Solda) ve SS agarda (sağda) *Salmonella* spp. koloni görünümü

Nutrient agarda üreyen şüpheli izolatların doğrulamalarının yapılması amacıyla, Gram boyama, TSI, LIA, API 20E, oksidaz testi, katalaz testleri uygulanmıştır.

Nutrient agaradan iğne uçlu öze yardımıyla alınan şüpheli koloniler; TSI ve LIA yatık agarlarının dip ve yüzey kısımlarına, sırasıyla saplama ve yüzey ekimi yöntemleriyle ekilmiştir. Ardından LIA ve TSI Agar 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası TSI agarda yüzeyin kırmızı (bazik) ve dibin sarı (asidik) olması (Şekil 3.19), gaz (S. Typi hariç) ve H₂S oluşumunun gözlenmesi, sonucun *Salmonella* spp. olduğunu düşündürmüştü, ayrıca LIA’nın alkali ve mor renkli olup dip kısmında H₂S gözlenmesi (Şekil 3.20), kolonilerin *Salmonella* spp. olarak değerlendirilmesini sağlamıştır.



Şekil 3. 19. *Salmonella* spp. TSI agar görünümü



Şekil 3. 20. *Salmonella* spp. LIA görünümü

Oksidaz testi için bir parça temiz filtre kağıdı alınarak oksidaz test reaktifine (Tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorür) batırılıp, Nutrient agarda üreyen şüpheli koloniden bir parça alınarak stribe sürülmüş ve 10-15 saniye beklenmiştir. Filtre kağıtlarda koyu mor renk görülmesi pozitif reaksiyon olarak renk değişimi gözlenmemesi ise negatif reaksiyon olarak yorumlanmıştır. Etkenin biyokimyasal özelliği gereği negatif reaksiyon göstermesi gerekmekte olduğundan renk oluşumu gerçekleştirilmeyen kültürler pozitif olarak yorumlanmıştır.

Katalaz testi için temiz bir yüzeye konulan bir damla H_2O_2 çözeltisi üzerine Nutrient agarda üreyen şüpheli koloniden bir parça alınarak homojenize edilmiştir. İşlem sonucunda meydana gelen gaz kabarcıkları pozitif reaksiyon olarak yorumlanmıştır. Etkenin biyokimyasal özelliği gereği pozitif reaksiyon göstermesi gerekmekte olduğundan gaz kabarcıklarının oluşumu pozitif olarak yorumlanmıştır.



Şekil 3. 21. Katalaz testi

Gram boyama metodu için Nutrient agarda üreyen şüpheli koloni bir öze yardımıyla temiz bir lam üzerine tabaka olarak sürülmüş ve sonrasında %0,9'luk NaCl ile homojenize edilmiştir. Preperatlar 60 sn kristal viyole ile boyandıktan sonra distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra preperatlar 60 sn boyunca lugol çözeltisi ile kaplanmış ve tekrar distile su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Sonrasında preperatlara 10-15 saniye (sn) saf etil alkol ile dekolorasyon uygulanarak distile suyla yıkanmıştır. Yıkanan preperatlar 30 sn boyunca safranin solüsyonu ile kaplanmış ve distile su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Hazır hale gelen preperatlar mikroskop ile 100'lük objektifte immersiyon yağı ile incelenmiştir. Mikroskopik bakıda pembe renkli ve çomak şeklinde Gram (-) koloniler muhtemel *Salmonella* spp. olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3. 22. *Salmonella* spp. Gram boyama mikroskopik görünüm

Salmonella O-, Vi- ve H-antijenlerinin bulunup bulunmadığı, oto-aglütinasyon türleri elimine edildikten sonra saf kültürden (nutrient agardaki) uygun serumlar ile lam aglütinasyon deneyi ile kontrol edilmiştir.

Dikkatle temizlenmiş bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik çözeltisi konulmuş, homojen ve bulanık bir süspansiyon elde etmek için denemeye alınan kültürden bir miktar, bu serum fizyolojik çözeltisi içinde dağıtılmıştır. Lam 30-60 saniye yavaş yavaş sallanmış ve reaksiyon siyah bir zemin üzerinde, büyüteç kullanılarak takip edilmiştir. Bakterilerin az çok belirli üniteler halinde çökelti göstermesi suşun oto-aglütinasyon özelliğine sahip olduğu olarak değerlendirilmiştir.

Oto-aglütinasyon yapmayan saf koloniler temiz bir lam üzerine damlatılmış anti-O ,H ve Vi serumu içinde süspanse edilmiştir. Lam 30 ile 60 saniye yavaş yavaş sallanmış, reaksiyon siyah bir zemin üzerinde, büyüteç kullanılarak takip edilmiştir. Çökeltinin görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. 23. *Salmonella* spp. tiplendirmesi için kullanılan XLD agarda örneklerin görünümü



Şekil 3. 24. *Salmonella* spp. tiplendirmesi lam aglütinasyon görünümü

3.4.2.5. API 20E Biyokimyasal Test Kiti

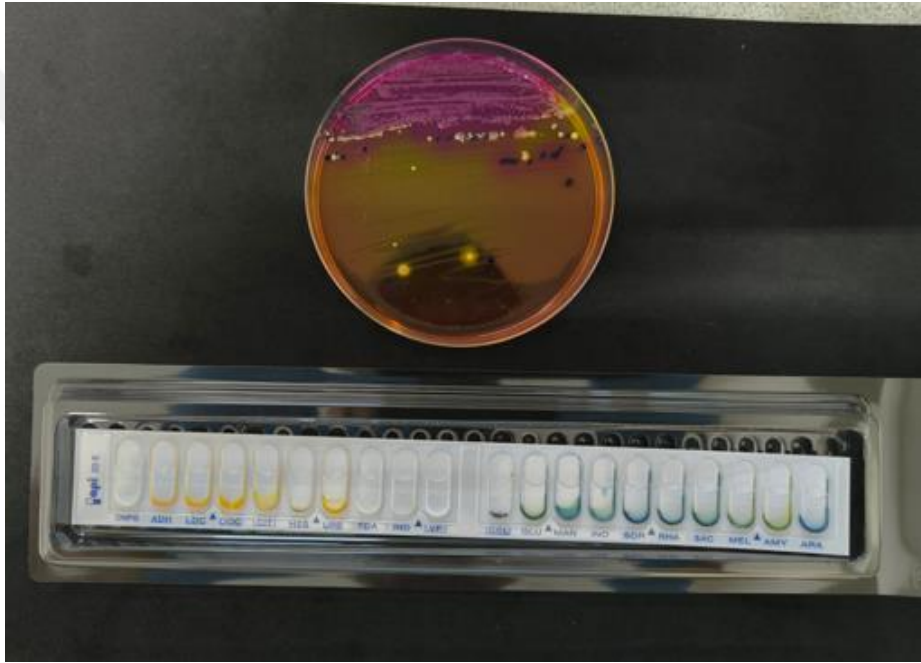
API 20E Biyokimyasal Test Kiti (API 20E), *Enterobacteriaceae* ve diğer Gram negatif çomakların tanımlanmasında kullanılan, 23 standartlaştırılmış ve minyatür biyokimyasal testi içeren bir sistemdir (Tablo 3.2). Ayrıca, tanımlama sürecini destekleyen bir veri tabanı ile çalışır. API 20E stripi, dehidrate substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşur (Şekil 3.25).

Bu testler, ortamın yeniden hazırlanmasını sağlayan bakteriyel süspansiyon ile inoküle edilir. İnkübasyon sırasında metabolizma, kendiliğinden ya da reaktiflerin eklenmesi sonucu oluşan renk değişiklikleri ile belirlenir. Bu doğrultuda Nutrient agarda üreyen taze kültürden koloni alınarak, 5 mL API 20E süspansiyon sıvısında karıştırılmıştır. Süspansiyon sıvısındaki kültür karışımı API 20E mikro tüplerinden CIT, VP, GEL tüpleri tam, diğer tüpler yarım doldurulmuştur. Ayrıca ADH, LDC, ODC, H₂S ve ÜRE tüpleri 4-5 damla mineral yağ ile kapatılarak inoküle edilmiştir (Şekil 3.26). Bu mikrotüp profili içindeki kuyucukları su ile doldurulmuş saklama kabına konulmuştur. API 20E mikro tüpleri, 37°C ±1'de 18-20 saat süreyle inkübe edilmiştir (Şekil 3.27). İnkübasyon tamamlandıktan sonra, API 20E değerlendirme tablosuna göre, mikrotüplerdeki renk değişimleri ve damlatılan reaktiflerin verdiği renk değişimlerinden elde edilen sonuçlar +/- şeklinde kaydedilmiş ve bilgisayar ortamında değerlendirilmiştir.

Tablo 3. 2. API 20 E test sisteminde yer alan biyokimyasal testler ve test sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler

Test	Substrat	Reaksiyon/Enzim	Sonuçlar	
			Negatif	Pozitif
ONPG	Ortho-nitro-phenil-β-Dgalactopyranoside	Beta-galaktosidaz	Renksiz	Sarı
ADH	Arginin	Arginin dehidrolaz	Sarı	Kırmızı/turuncu
LDC	Lizin	Lizin dehidrolaz	Sarı	Turuncu
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	Sarı	Kırmızı/turuncu
CIT	Sodyum sitrat	Sitrat kullanım	Soluk yeşil/sarı	Mavi-yeşil/mavi
H ₂ S	Sodyum tiyosülfat	H ₂ S üretimi	Renksiz/gri	Siyah dip
URE	Üre	Üreaz	Sarı	Kırmızı/turuncu
TDA	Triptofan	Triptofan deaminaz	Sarı	Koyu kahverengi
IND	Triptofan	İndol üretimi	Sarı halka	Kırmızı halka
VP	Sodyum piruvat	Aseton üretimi	Renksiz	Pembe/kırmızı
GEL	Kohn's gelatin	Gelatinase	Difüze olmamış siyah pigment	Difüze olmuş siyah pigment
GLU	Glukoz	Fermantasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
MAN	Mannitol	Fermantasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
INO	İnositol	Fermantasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
SOR	Sorbitol	Fermantasyon/oksi	Mavi/mavi-	Sarı

		dasyon	yeşil	
RHA	Rhamnose	Fermantasyon/oksi dasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
SAC	Sucrose	Fermantasyon/oksi dasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
MEL	Melibiose	Fermantasyon/oksi dasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
AMY	Amygdalin	Fermantasyon/oksi dasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
ARA	Arabinose	Fermantasyon/oksi dasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
OX	Filtre kağıdı üzerinde	Sitokrom-oksidaz	Renksiz	Menekşe rengi
NO ₃ -NO ₂	Glukoz	NO ₂ üretimi	Sarı	Kırmızı



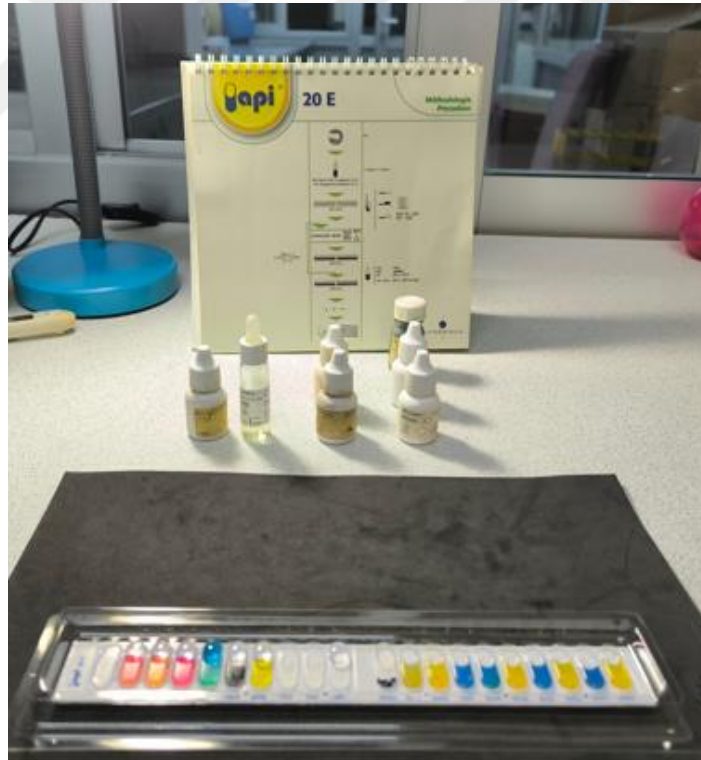
Şekil 3. 25. API 20E biyokimyasal test kiti ilk görünüm

Tablo 3. 3. API 20 E test sisteminde kullanılan reaktifler ve testlerin sonuçları

Test	Reaktif Damlatılacak	Reaktif	Bekleme Süresi	Sonuç	
				Negatif	Pozitif
TDA	TDA	1 damla TDA	15-30 sn	Sarı	Koyu kahve
IND	IND	1 damla IND	2 dakika	Sarı	Kırmızı
VP	VP	1 damla VP1 1 damla VP2	10 dakika	Renksiz	Pembe/kırmızı
NO ₂	Glukoz	1 damla NIT1 1 damla NIT2	2-3 dakika	Sarı	Kırmızı
NO ₂ indirgeme	Glukoz	1 damla ZN	5 dakika	Kırmızı	Sarı

Tablo 3. 4. API 20 E test sisteminde kullanılan reaktiflerin içerikleri

Reaktif	İçerik	gr/mL
TDA	Ferric chloride	3.4 gr
	H ₂ O	100 mL
IND	Paradimethylaminobenzaldehit	5 gr
	Hidrocloric asit	9.25 gr
	H ₂ O	15.75 mL
	İsoamilalkol	75 mL
VP1	Potasyum hidroksid	40 gr
	H ₂ O	100 mL
VP2	α -naftol	6 gr
	Ethanol	100 mL
NIT1	Sulfanilic asit	0.8 gr
	Asetik asit	30 gr
	H ₂ O	70 mL
NIT2	N,N-Dimetil-1-naftilamin	0.6 gr
	Asetik asit	30 gr
	H ₂ O	70 mL



Şekil 3. 26. *Salmonella* spp. API 20E biyokimyasal test kitinin reaktif kullanmadan önce görünümü

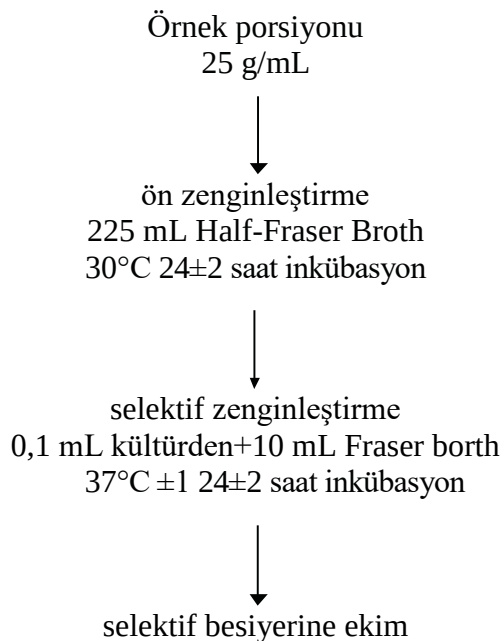


Şekil 3. 27. API 20E *Salmonella* spp. pozitif görünüm

3.4.3. *L. monocytogenes*'in İzolasyonu ve Tanımlanması

L. monocytogenes'in izolasyonu ve tanımlanması için yapılan analizlerde ISO 11290-1 standardı esas alınmıştır (ISO11290-1, 2018). *L. monocytogenes*'in analiz sürecinde pozitif kontrol olarak *L.monocytogenes* NCTC 11994 suşu, negatif kontrol olarak ise *E. coli* NCTC 12923 suşu kullanılmıştır.

Çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri için ISO 11290-1 standardı kapsamında *L. monocytogenes* izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.28).



ALOA
37°C ±1 24-48 saat inkübasyon



Şüpheli kolonilere biyokimyasal doğrulama testleri uygulanır

Şekil 3. 28. *L. monocytogenes* 'in tarama prosedürünün akış şeması (ISO11290-1, 2018)

3.4.3.1. Ön Zenginleştirme

L. monocytogenes'in izolasyonu standart kültür yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. ISO 11290-1 kapsamında, toplanan gıda örnekleri steril bir kaşık kullanılarak stomacher poşetleri içerisine her porsiyonu 25 g/mL olacak şekilde tartılarak konulmuş ve bu standart çerçevesinde steril stomacher torbasına yerleştirilen 25 g/mL numune ve üzerine eklenen 225 mL Half Fraser Broth solüsyonu içerisinde 5 dakika boyunca homojenize edilmiş, 30°C'de 24±2 saat inkübasyona bırakılarak ön zenginleştirme yapılmıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3. 29. *L. monocytogenes* Analizi İnkübasyon

3.4.3.2. Selektif Zenginleştirme

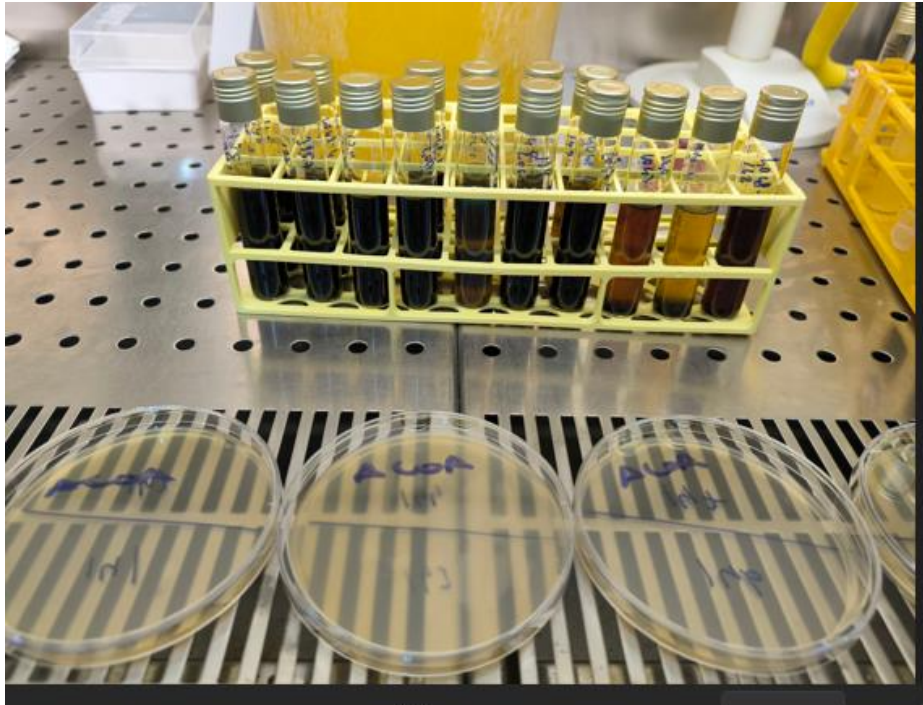
İnkübasyonun ardından her bir örnek için ön zenginleştirme solüsyonundan 0,1 mL alınarak içerisinde 10 mL Fraser Broth bulunan tüplere inokule edilmiş ve tüpler 35°C ±2'de 24±2 saat süre ile inkübe edilerek seçici zenginleştirme yapılmıştır (Şekil 3.30).



Şekil 3. 30. Selektif zenginleştirme için kullanılan Fraser Broth tüplerin görünümü

3.4.3.3. Selektif Besiyerine Ekim

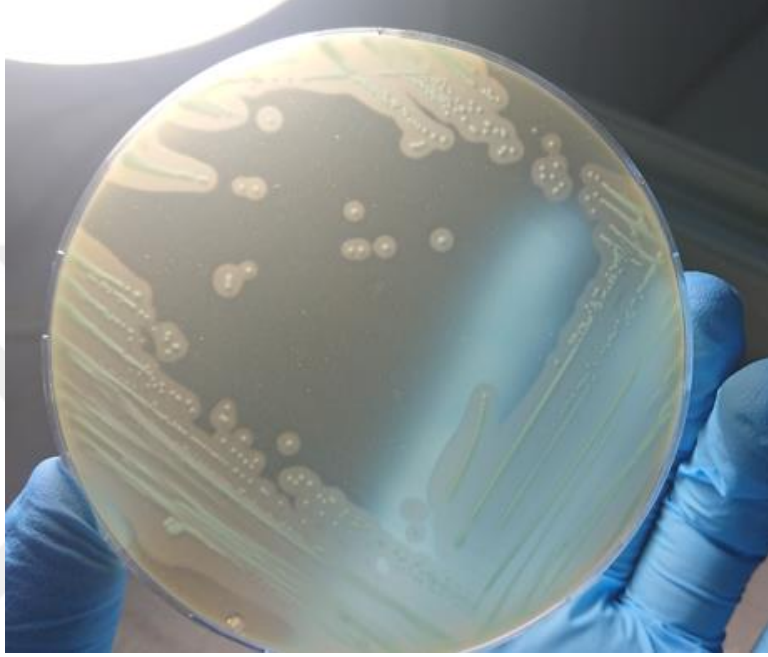
İnkübasyon sonunda besi yerinden alınan koloniler bir öze yardımıyla ALOA'a ekimi yapılmış ve $35^{\circ}\text{C} \pm 2'$ de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.31).



Şekil 3. 31. Selektif besiyerinden ALOA agara ekim

3.4.3.4. *L. monocytogenes*'in Tanımlanması

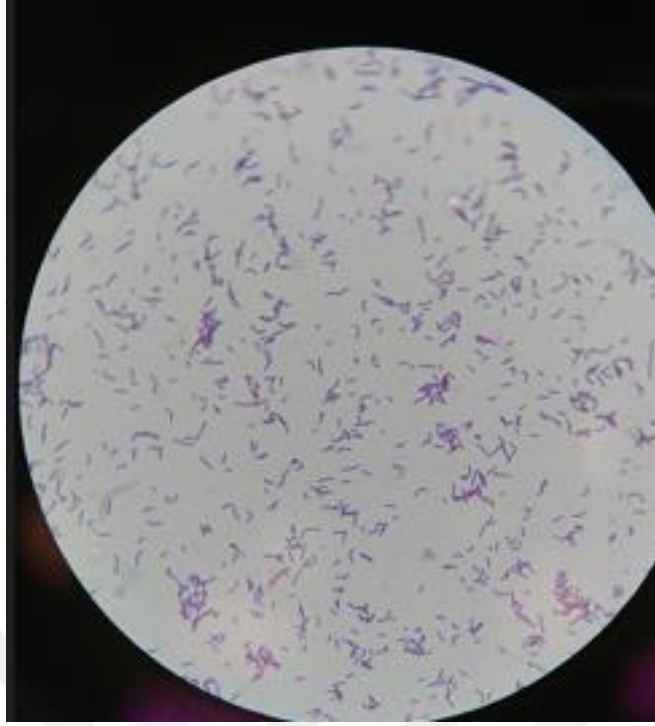
ALOA besiyerinde üzerinde gri renkte zon oluşturan, 1-2 mm çaplı mavi-yeşil koloniler muhtemel *L. monocytogenes* olarak belirlenmiş, bu kolonilerden 1-5 adet seçilerek, saf kültür elde etmek amacıyla Kanlı agar besiyerine ekilmiştir. Daha sonra 37°C'de 24±2 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.32).



Şekil 3. 32. ALOA agarda *L. monocytogenes* koloni görünümü

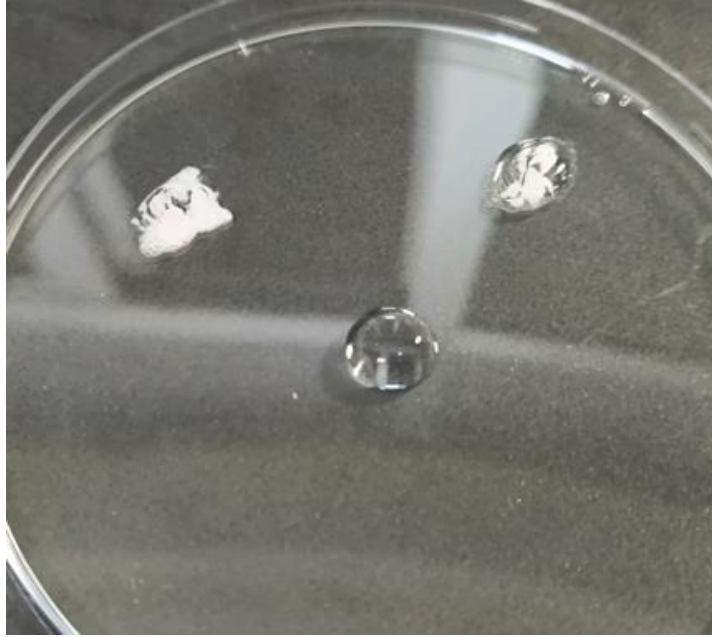
Kanlı agarda saf kültür haline getirilmiş şüpheli kolonilere öncelikle gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapılmıştır. Daha sonra tür ayrımı için β -Hemoliz ve Christie Atkins Munch Peterson (CAMP) identifikasyon testleri uygulanmıştır.

Kanlı agarda üremiş şüpheli koloniler öze ile alınarak, Gram boyama yapılmış. Mikroskopik bakıda mavi mor renkli, kısa çomak, kokobasil formda olanlar Gram (+) ve muhtemel *L. monocytogenes* olarak belirlenmiştir (Şekil 3.33).



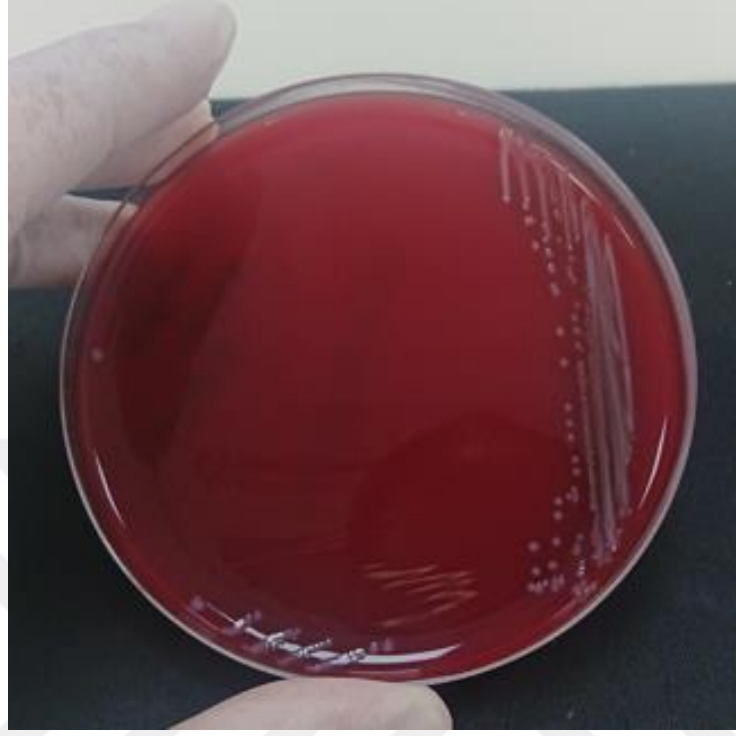
Şekil 3. 33. *L. monocytogenes* Gram boyama mikrobik görünüm

Kanlı agarda üremiş kolonilerden alınarak, üzerine bir ya da iki damla H_2O_2 damlatılmış lam üzerinde karıştırılmıştır. 1-2 sn içinde oluşan gaz kabarcıkları katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir.



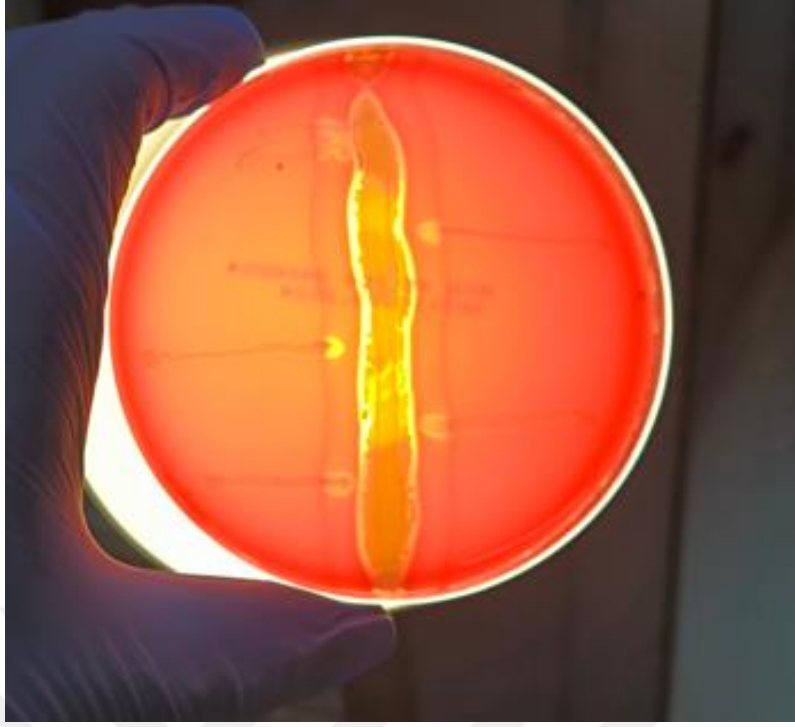
Şekil 3. 34. *L. monocytogenes* katalaz testi

L. monocytogenes şüpheli koloniler kanlı agara ekimi yapılmış ve 35°C’ de 24±2 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.35).



Şekil 3. 35. *L. monocytogenes*’ in kanlı agarda β -hemoliz görünümü

CAMP testi, *L. monocytogenes*’in *S. aureus* ile oluşturduğu sinerjik hemoliz etkisinin gözlemlenmesi amacıyla uygulanmıştır. Bu testte, defibrine koyun kanı ile hazırlanmış kanlı agara *S. aureus* referans suşu (ATCC 25923), agarın bir kenarına öze ile yukarıdan aşağıya doğru çizilerek ekilmiştir. *L. monocytogenes* şüpheli izolatları ve kontrol amaçlı kullanılan *L. monocytogenes* referans suşu (NCTC 11994), *S. aureus* çizgisine dik olacak şekilde, ancak temas etmeyecek mesafede, agar üzerine yatay olarak ekilmiştir. Plaklar 35 °C’de 24±2 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda hemoliz alanları değerlendirilmiştir. *S. aureus* çizgisine doğru uzanan hemoliz bandı, *L. monocytogenes* için CAMP testi pozitif olarak yorumlanmıştır (Şekil 3.36).



Şekil 3. 36. *L. monocytogenes* CAMP testi pozitif görünüm

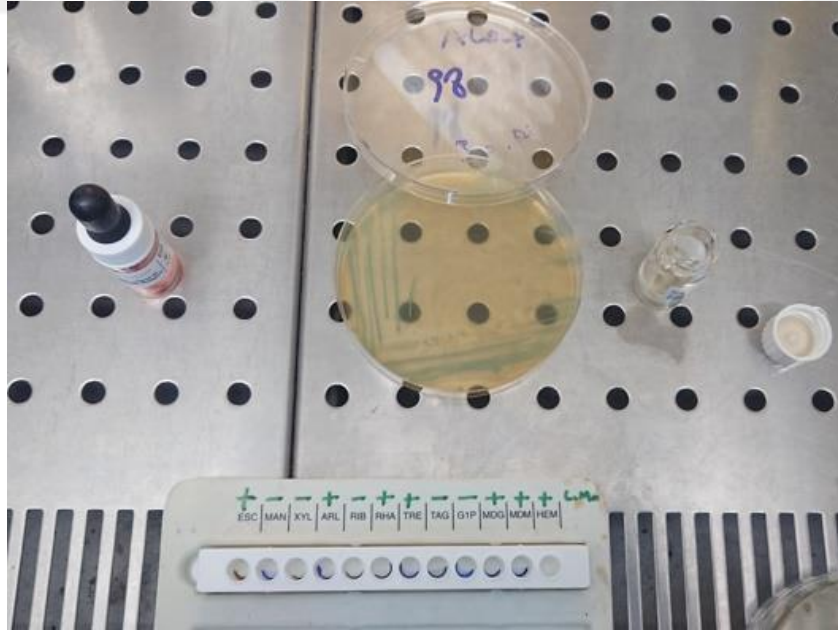
Bakterilerin hareketliliğini belirlemek amacıyla Sülfür, İndol, Hareketlilik (SIM) besiyeri kullanılmıştır. İğne öze yardımıyla besiyerin ortasına dikey olarak ekim yapılmıştır. 25°C $\pm$ 2'de 24–48 saat inkübasyon sonrası, besiyeri içinde iğne çizgisinin hemen altında ve çevresinde şemsiye şeklinde yayılan bir bulanıklık gözlemlenen izolatlar, muhtemel *L. monocytogenes* olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. 37. SIM mediumda hareketli *L. monocytogenes*'in şemsiye görünümü

3.4.3.5. Microgen™ *Listeria*-ID System Biyokimyasal Test Kiti

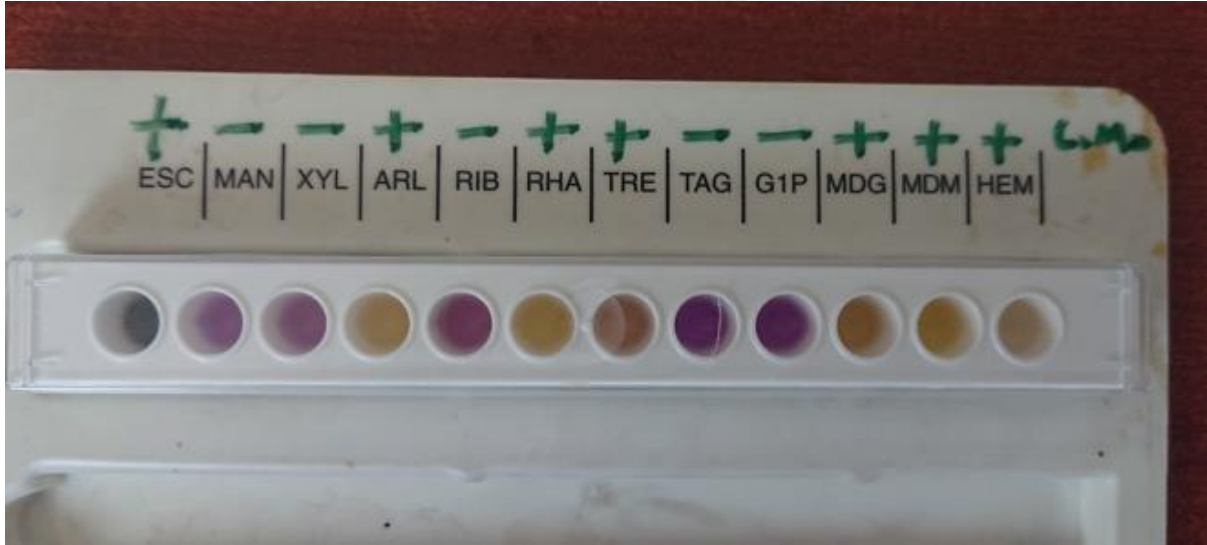
Microgen™ *Listeria*-ID System (Microgen Bioproducts Ltd, UK) *Listeria* cinsine dahil olan *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* türlerinin identifikasyonuna yönelik geliştirilmiş substratlar için 11 ve hemoliz reaksiyonu için bir kuyucuk olmak üzere toplam 12 kuyucuktan oluşan bir test stribidir (Tablo 3.5 ve Şekil 3.38). İnkübasyon sırasında metabolizma kendiliğinden ya da reaktiflerin eklenmesiyle ortaya çıkan renk değişiklikleri oluştururlar. Bu doğrultuda Kanlı Agar'da üreyen taze kültürden, bir koloni alınarak, 2.5 mL *Listeria* Suspending Medium içinde karıştırılarak homojen bir şekilde emülsifiye edilmiştir. Her bir kuyucuğa steril pastör pipeti ile 3-4 damla (100 µL) inokulum ilave edilmiş, ayrıca inokülasyon sonrasında 12 numaralı hemoliz kuyucuğuna 1 damla haemolysin reagent ilave edilmiştir. Stripler 35-37°C'da 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kuyucuklarda gözlenen değişiklikler sonuç kartı ile karşılaştırılarak rapor formu doldurulmuş, elde edilen rapor formu Microgen Identification System (MID-60) yazılımına girilmiş ve veri tabanında test sonuçlarına göre en yüksek olasılıkla mikroorganizmalar listelenerek sonuçlar değerlendirilmiştir (Şekil 3.39).



Şekil 3. 38. Microgen™ *Listeria*-ID System Biyokimyasal Test Kiti ilk görünüm

Tablo 3. 5. Microgen™ *Listeria*-ID System test kitinde bulunan biyokimyasal testler ve bu testlerin sonuçlarını değerlendirmek için kullanılan kriterler

Kuyucuk	Reaksiyon	Tanım	Pozitif	Negatif
1	Eskülin	Eskülin hidrolizi	Siyah	Bej
2	Mannitol	Fermentasyon	Sarı	Mor
3	Ksiloz	Fermentasyon	Sarı	Mor
4	Arabitol	Fermentasyon	Sarı	Mor
5	Riboz	Fermentasyon	Sarı	Mor
6	Ramnoz	Fermentasyon	Sarı	Mor
7	Trehaloz	Fermentasyon	Sarı	Mor
8	Tagatoz	Fermentasyon	Sarı	Mor
9	Glukoz-1-Fosfat	Fermentasyon	Sarı	Mor
10	Metil-D-Glukoz	Fermentasyon	Sarı	Mor
11	Metil-D-Mannoz	Fermentasyon	Sarı	Mor
12	Hemolizin	Koyun kırmızı kan hücrelerinin hemolizi	Kuyucuk içinde hücre peleti görünmez, sıvının rengi koyulaşmıştır ve homojendir	Kuyucuk içinde hücre peleti görünür durumdadır



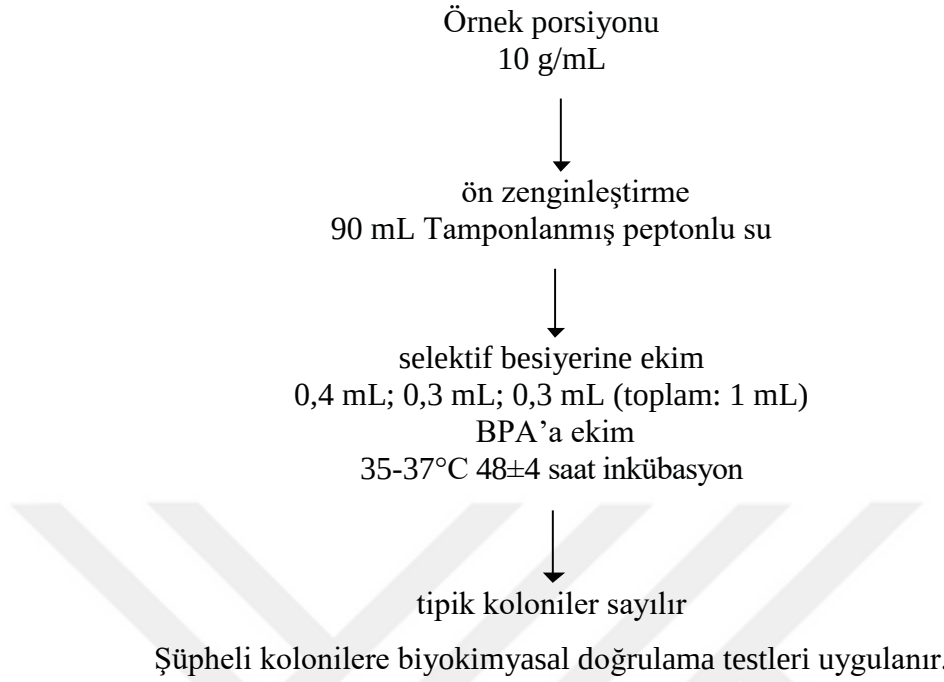
Şekil 3. 39. Microgen™ *Listeria*-ID System biyokimyasal test kiti *L. monocytogenes* pozitif renk değişimi

3.4.4. *S. aureus*'un İzolasyonu ve Tanımlanması

S. aureus'un izolasyonu ve identifikasyonu için yapılan analizlerde ISO 6888-1 standardı esas alınmıştır (ISO6888-1, 2000). *S.aureus*'un analiz sürecinde pozitif kontrol olarak *S. aureus* NCTC 10788 suşu, negatif kontrol olarak ise *E. coli* NCTC 12923 suşu kullanılmıştır.

Çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri için ISO 6888-1

standardı kapsamında *S. aureus* izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.40).



Şekil 3. 40. *S. aureus* 'un tarama prosedürünün akış şeması (ISO6888-1, 2000)

3.4.4.1. Ön Zenginleştirme

S. aureus 'un izolasyonu standart kültür yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. ISO 6888-1 kapsamında, toplanan gıda örnekleri steril bir kaşık kullanılarak stomacher poşetleri içerisine her porsiyonu 10 g/mL olacak şekilde tartılarak konulmuş ve öncesiden oda sıcaklığına getirilen 90 mL Tamponlanmış peptonlu su ile aseptik koşullarda 5 dk boyunca homojenize edilmiştir (Şekil 3.41).



Şekil 3. 41. *S. aureus* analizi ekim öncesi BPA besiyeri petrileri

3.4.4.2. Selektif Besiyerine Ekim

Tamponlanmış peptonlu su ile ön zenginleştirme yapılmış 1/10'luk dilüsyondan 1 mL (0,4-0,3-0,3 mL) olarak önceden hazırlanmış BPA besiyeri petrilerine yayma yöntemine göre ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 35°C $\pm$ 1'de 45-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.42).



Şekil 3. 42. *S. aureus* analizi BPA besiyeri petrilerine ekim sonrası inkübasyon

3.4.4.3. *S. aureus*'un Tanımlanması

Baird Parker Agar (BPA) besiyeri petrilerinde yapılan inkübasyon sonrasında, yuvarlak, düzgün, pürüzsüz ve parlak zonlu bölge ile çevrili, 2-3 mm çapında siyah-gri parlak koloniler muhtemel *S. aureus* kolonileri olarak belirlenmiştir (Şekil 3.43).



Şekil 3. 43. *S. aureus* kolonilerinin BPA besiyerinde görünümü

Bu şüpheli kolonilere koagülaz testi uygulanmıştır. Koagülaz testi için, seçilen koloni steril bir öze ile alındıktan sonra, 10 mL BHI (Brain Heart Infusion) besiyeri içeren tüplere aktarılmıştır. Bu tüpler $36^{\circ}\text{C} \pm 1$ 'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında, steril hemoliz tüplerindeki 0,3 mL tavşan plazması üzerine her bir kültürden 0,1 mL eklenmiş ve $36^{\circ}\text{C} \pm 1$ 'de inkübasyona alınmıştır. Pıhtılaşma gözlemlenmediği takdirde, kültürler 24 saat daha inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrasında tekrar değerlendirilmiştir. Pıhtı oluşumunun gözlemlenmesi koagülaz testi pozitif olarak kabul edilmiştir. Bu işlem, her bir petriden seçilen şüpheli koloni için ayrı ayrı uygulanmıştır (Şekil 3.44).

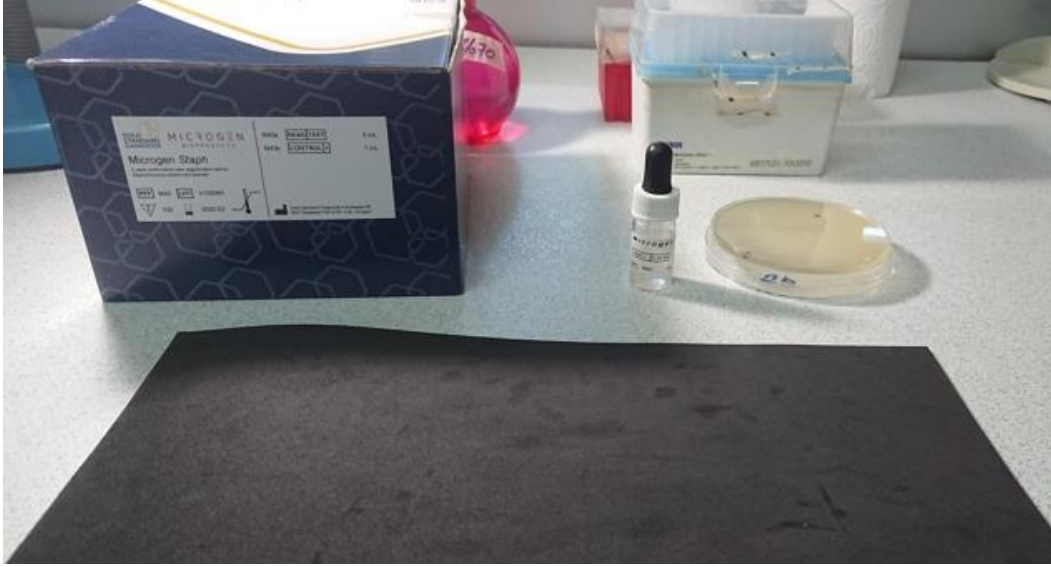


Şekil 3. 44. Tüpte koagülaz test sonucu pozitif *S. aureus* görünümü

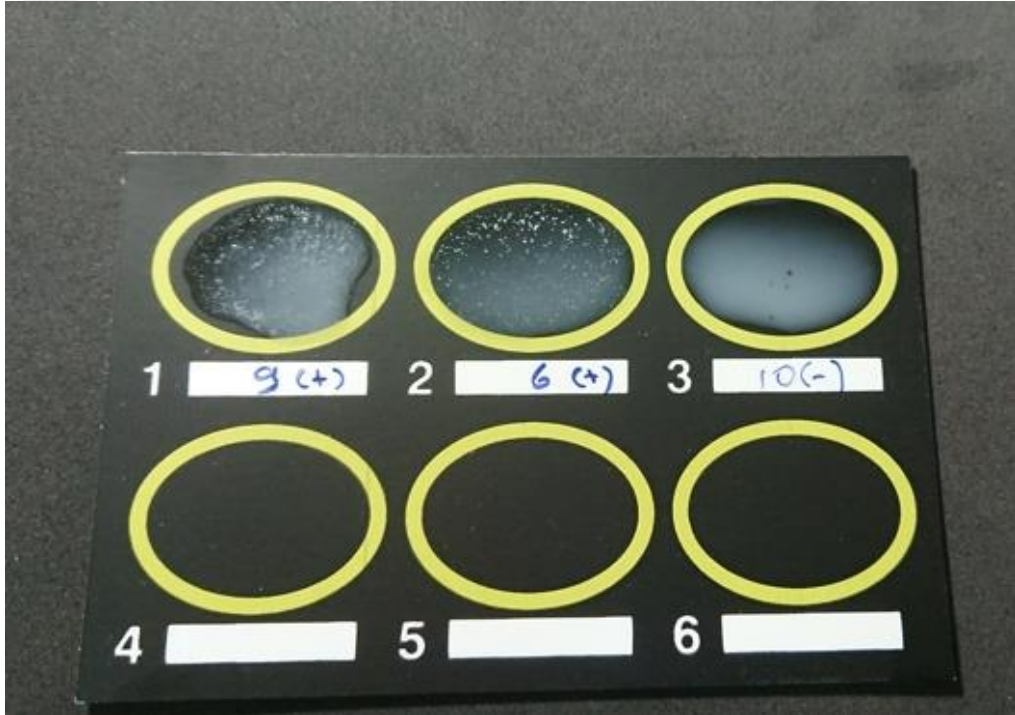
Koagulaz pozitif koloni sayısı ile petri içindeki toplam koloni sayısı arasındaki oran kullanılarak, örneklerdeki *S. aureus* sayısı kob/g-mL cinsinden hesaplanmıştır.

3.4.4.4. Microgen Staph Latex test

Microgen Staph Latex test (Camberley, Surrey, UK) *S. aureus* kolonilerinin identifikasyon doğrulaması için geliştirilmiş bir latex slide aglütinasyon testidir (Şekil 3.45). Latex parçacıkları, fibrinogen (koagülaz ile bağlanan) ve IgG (Protein A ile bağlanan) bileşenleriyle kaplanmıştır. *S. aureus* içeren bir çözelti, latex parçacıklarıyla karıştırıldığında aglütinasyon meydana gelir ve bu durumda çökelti oluşumu gözlemlenir. Diğer bakteriyel enzimlerden kaynaklanan non-spesifik koagülasyon da meydana gelebilir. Ancak, *S. aureus* izolatlarının %99'u yüzeylerinde tespit edilebilir seviyelerde protein A üretir. Bu özellik, bu proteinin nadir olduğu diğer Stafilokok türlerinden *S. aureus*'u ayırt etmek için kullanılabilir. Bu kapsamda önceden 37°C $\pm$ 2'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmış BPA agardan öze ile 1 koloni seçilmiş, daha önceden kuru latex slide üzerinde 1 damla damlatılmış Microgen Staph Latex Reagent ile çember içerisinde şüpheli koloni iyice homojenize edilmiştir. Slide hafifçe sallanmış ve 2 dakika beklenmiştir. 2 dakika sonra aglütinasyon gözlenen koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.46).



Şekil 3. 45. Microgen Staph Latex test kiti görünümü

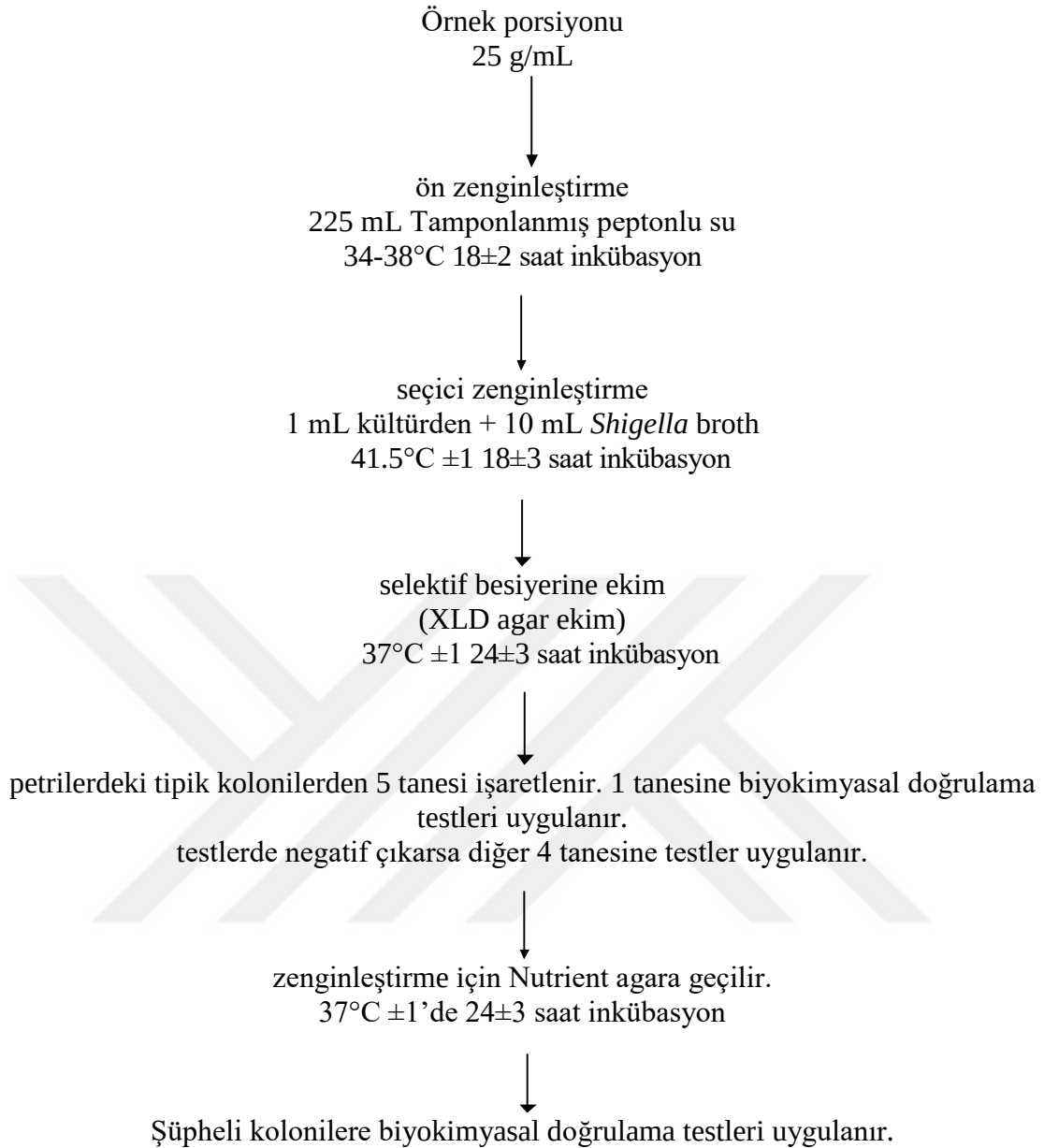


Şekil 3. 46. Microgen Staph Latex test kiti aglütinasyon görüntüsü

3.4.5. *Shigella* spp. İzolasyonu ve Tanımlanması

Shigella spp. izolasyonu ve tanımlanması için yapılan analizlerde ISO 21567 standardı esas alınmıştır. *Shigella* spp. analiz sürecinde pozitif kontrol olarak *S. flexneri* NCTC 4839 suşları, negatif kontrol olarak ise *E. coli* NCTC 12923 suşu kullanılmıştır.

Çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri için ISO 21567 standardı kapsamında *Shigella* spp. izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.47).



Şekil 3. 47. *Shigella* spp.'nin tarama prosedürünün akış şeması (ISO21567, 2004)

3.4.5.1. Ön Zenginleştirme

Shigella spp. izolasyonu standart kültür yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. ISO 21567 kapsamında, toplanan gıda örnekleri steril bir kaşık kullanılarak stomacher poşetleri içerisine her porsiyonu 25 g/mL olacak şekilde tartılarak konulmuş ve öncesinden oda sıcaklığına getirilen 225 mL Tamponlanmış peptonlu su ile aseptik koşullarda 5 dk boyunca homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemi sonrasında 37°C sıcaklıkta 18±2 saat kadar inkübe edilerek seçici olmayan ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.48).



Şekil 3. 48. *Shigella* spp. analizi ön zenginleştirme

3.4.5.2. Selektif Zenginleştirme

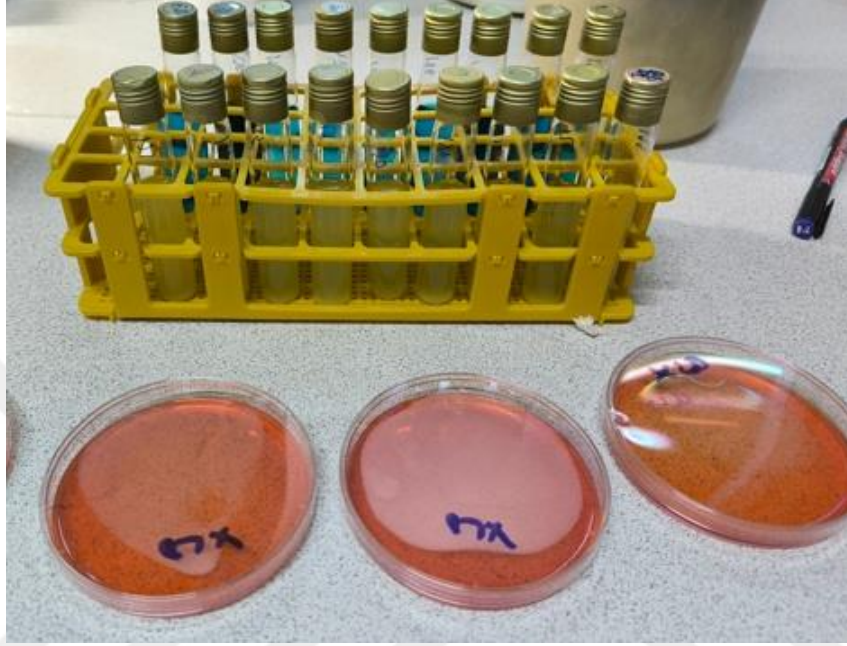
Tamponlanmış peptonlu su ile ön zenginleştirme işlemi sonucunda meydana gelen kültürden alınan 1 mL solüsyon, içerisinde 9 mL *Shigella* Broth bulunduran tüplere inoküle edilmiş ve $41,5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ sıcaklıkta 24 ± 3 saat kadar seçici zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.49).



Şekil 3. 49. *Shigella* Broth selektif zenginleştirme tüpleri

3.4.5.3. Selektif Besiyerine Ekim

Seçici zenginleştirme işlemini takiben *Shigella* Broth'ta elde edilen kültürden iyi izole edilmiş koloniler elde etmek için öze yardımıyla XLD agara ekim yapılmış, 37°C sıcaklıkta 24±3 saat süresince inkübasyonu sağlanmıştır (Şekil 3.50).



Şekil 3. 50. *Shigella* broth tüplerinin inkübasyon sonrası XLD agara ekimi

3.4.5.4. *Shigella* spp. Tanımlanması

XLD agarda hidrojen sülfür oluşturmayan, renksiz, kırmızı veya açık sarıdan turuncuya dönen renklerdeki koloniler muhtemel *Shigella* spp. olarak değerlendirilmiştir. Çünkü *Shigella* spp. ksilozu fermante edemez ve laktoz negatif olarak görülür. Meydana gelen bu kolonilerden en az bir en fazla dört tane şüpheli seçilmiş sonrasında Nutrient agar'a alt kültürleme ve çoğaltma maksadıyla ekilerek 37°C sıcaklıkta 24±3 saat inkübe edilmiştir (Şekil 3.51).



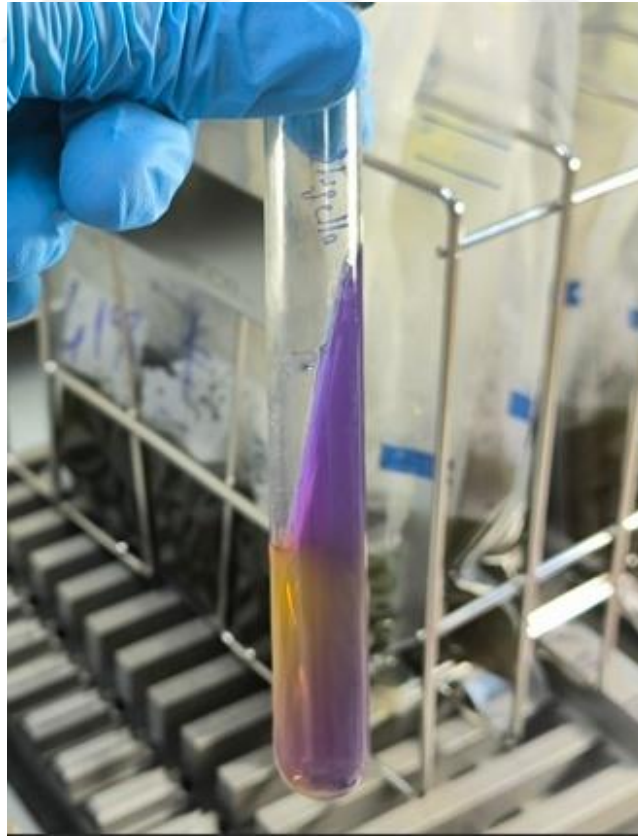
Şekil 3. 51. *Shigella* spp. kolonilerinin XLD agarda görünümü

Nutrient agarda üreyen şüpheli izolatların doğrulamalarının yapılması amacıyla, Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri ile LIA ve TSI agara ekimleri yapılmıştır.

Nutrient Agar tespit edilip işaretlenen saf kolonilerin biyokimyasal doğrulamasında TSI Agar ve LIA kullanılmıştır. Nutrient Agar iğne uçlu öze yardımıyla alınan şüpheli koloniler; TSI ve LIA yatık agarlarının dip ve yüzey kısımlarına, sırasıyla saplama ve yüzey ekimi yöntemleriyle ekilmiştir. Ardından LIA ve TSI Agar 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası TSI agarda yüzeyin kırmızı (bazik) ve dibin sarı (asidik) olması, ayrıca gaz ve H₂S oluşumunun gözlenmemesi, sonucun *Shigella* spp. olduğunu düşündürmüştür (Şekil 3.52). Ayrıca LIA’nın asidik ve mor renkli olup dip kısmında H₂S gözlenmemesi, kolonilerin muhtemel *Shigella* spp. olarak değerlendirilmesini sağlamıştır (Şekil 3.53).



Şekil 3. 52. TSI agarda *Shigella* spp. görünümü



Şekil 3. 53. LIA besiyerinde *Shigella* spp. görünümü

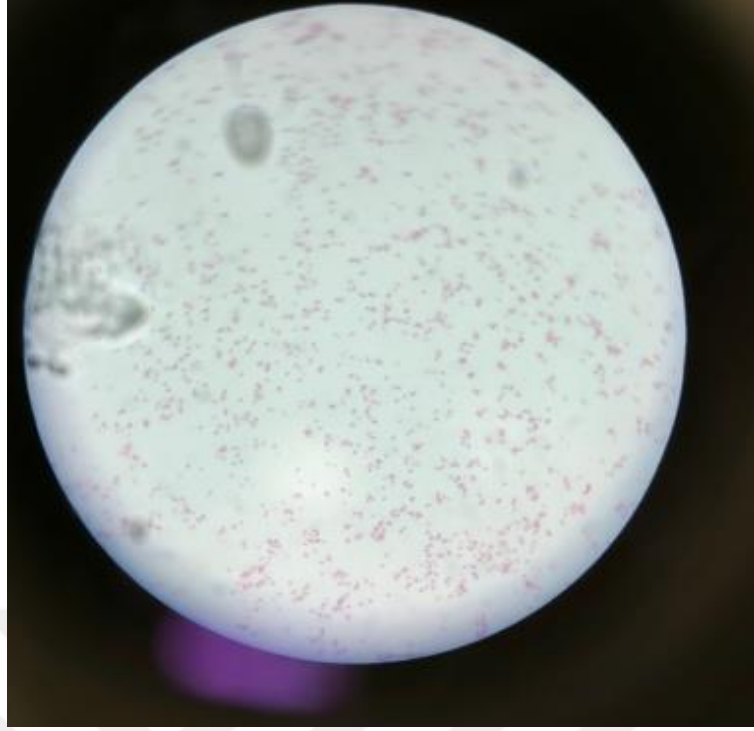
Çalışmada kullanılan oksidaz ve katalaz testleri ile Gram boyama yöntemi daha önce *Salmonella* analizlerinde uygulandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Oksidaz testinde, *Shigella* spp.'nin biyokimyasal olarak oksidaz negatif olması beklendiğinden, testte renk değişimi gözlenmeyen (negatif reaksiyon) kültürler uygun olarak değerlendirilmiştir.

Katalaz testinde ise, *Shigella* spp.'nin pozitif reaksiyon göstermesi gerektiğinden, H₂O₂ damlası üzerine uygulanan şüpheli kolonilerde gaz kabarcığı oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilmiş ve bu doğrultuda değerlendirilmiştir (Şekil 3.54).



Şekil 3. 54. Katalaz testi

Gram boyama sonucunda pembe renkli ve çomak şeklindeki Gram-negatif bakteriler *Shigella* spp. açısından şüpheli olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.55).



Şekil 3. 55. *Shigella* spp. Gram boyama sonrası mikroskopik görünümü

3.4.5.5. API 20E Biyokimyasal Test Kiti

API 20E biyokimyasal test kiti, önceki analizlerdeki uygulama prosedürleriyle paralel şekilde kullanılmıştır (Şekil 3.56). Nutrient agarda üreyen şüpheli koloni, API 20E şeridine inoküle edilmiştir (Şekil 3.57). İnkübasyonun ardından oluşan biyokimyasal profil, *Shigella* spp. ile uyumlu bulunan suşlar yönünden değerlendirilmiştir (Şekil 3.58).



Şekil 3. 56. API 20 E test kiti *Shigella* spp. ilk görünüm



Şekil 3. 57. API 20 E test kiti reaktif damlatılmadan *Shigella* spp. önceki görünümü



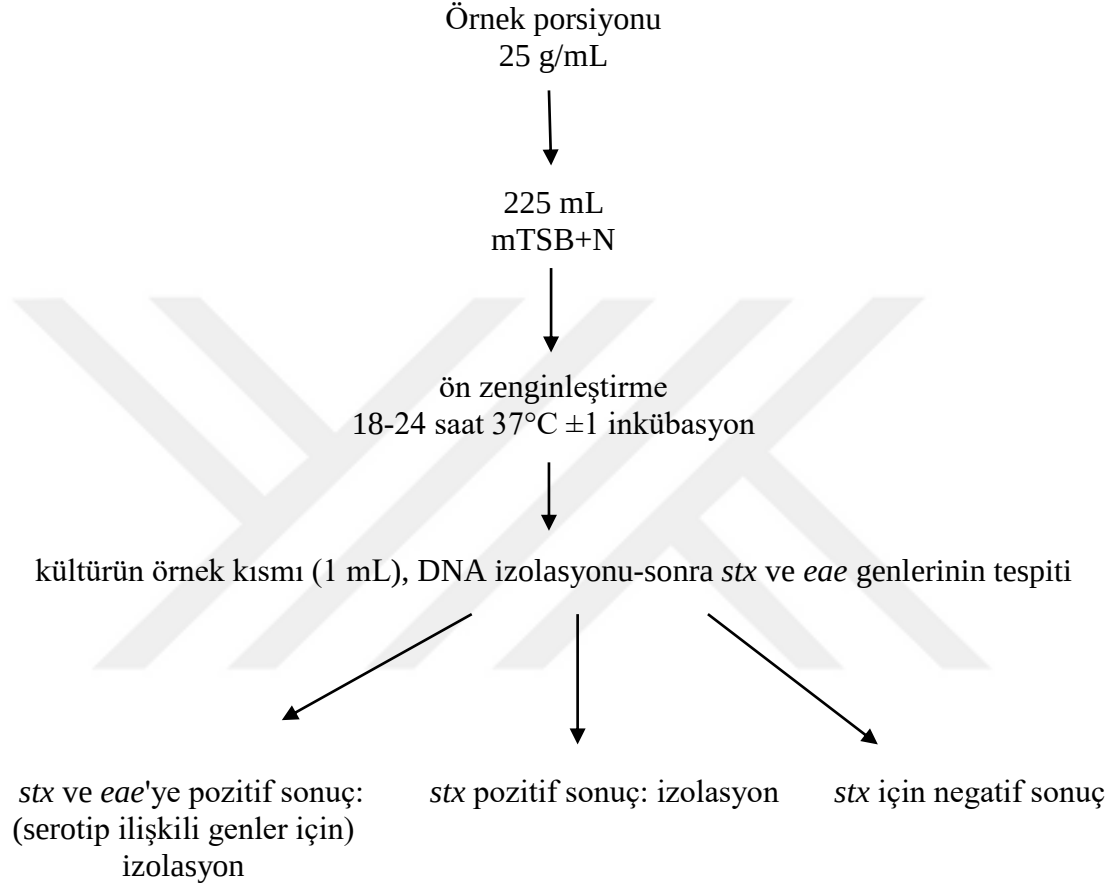
Şekil 3. 58. API 20 E test kiti pozitif *Shigella* spp. görünümü

3.5. Shiga Toksin Üreten *E. coli* (STEC) Serotiplerinin Moleküler Yöntemle İzolasyonu ve Tanımlanması

STEC'nin izolasyonu ve tanımlanması için ISO/TS 13136 standardı esas alınmıştır (ISO/TS13136, 2012). Tespit için referans teknoloji olarak qPCR kullanan bir protokol içermektedir. Bu adımlar; bir zenginleştirme aşaması, DNA ekstraksiyonu, toksin ve intimin genlerinin (*stx1*, *stx2* ve *eae* genleri) tespiti için qPCR analizi, serotip belirlemesi (yalnızca *stx/eae* veya *stx* qPCR pozitif ise), zenginleştirme suyundan şüpheli kolonilerin izole edilmesi ve virülans genlerinin koloniden taranarak varlığının doğrulanmasını

içermektedir. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak *E. coli* O157:H7 ATCC 43894 ve *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 suşları, negatif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

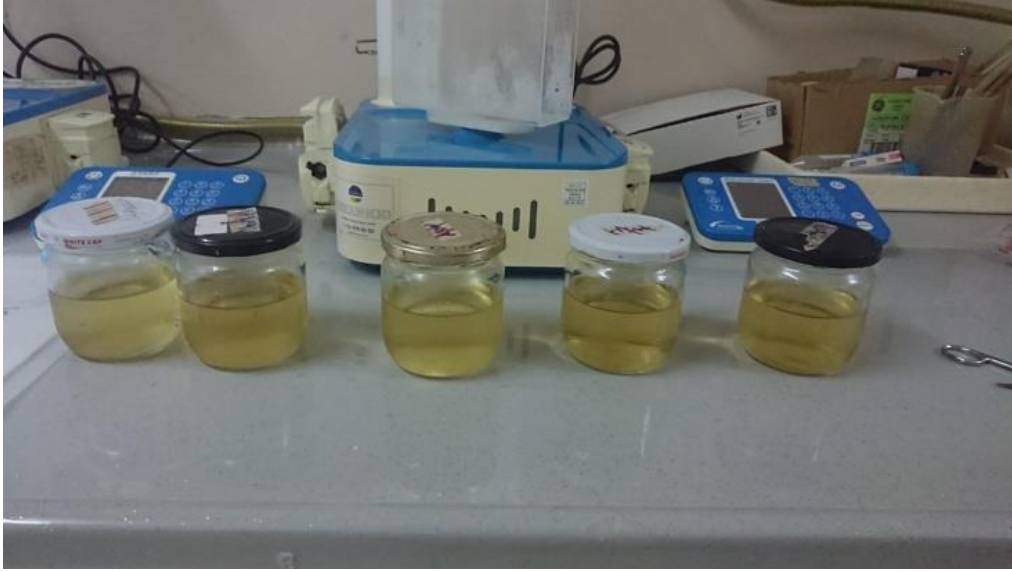
Çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri için ISO/TS13136 standardı kapsamında STEC izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Şekil 3.59).



Şekil 3. 59. STEC serotiplerinin moleküler yöntemle tespit şeması (ISO/TS 13136, 2012)

3.5.1. Ön Zenginleştirme

TSE CEN ISO/TS 13136 standartları kapsamında, toplanan gıda örnekleri steril bir kaşık kullanılarak stomacher poşetleri içerisine her porsiyonu 25 g/mL olacak şekilde tartılarak konulmuştur. Öncesinden oda sıcaklığına getirilen sterilize edilmiş 225 mL Modified Tryptone-Soy Broth (mTSB) ile aseptik koşullarda 5 dk boyunca homojenize edilmiş, gram-pozitif mikroorganizmaların çoğalmasını baskılamak için novobiocin (16 mg/L) ilave edilmiştir (Şekil 3.60).



Şekil 3. 60. Novobiocin katkılı mTSB besiyeri

Homojenizasyon işlemi sonrasında $37^{\circ}\text{C} \pm 1'$ 'de 18-24 saat kadar inkübe edilerek seçici olmayan ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.61 ve Şekil 3.62) (Wasilenko ve ark., 2014).



Şekil 3. 61. STEC analizi ön zenginleştirme



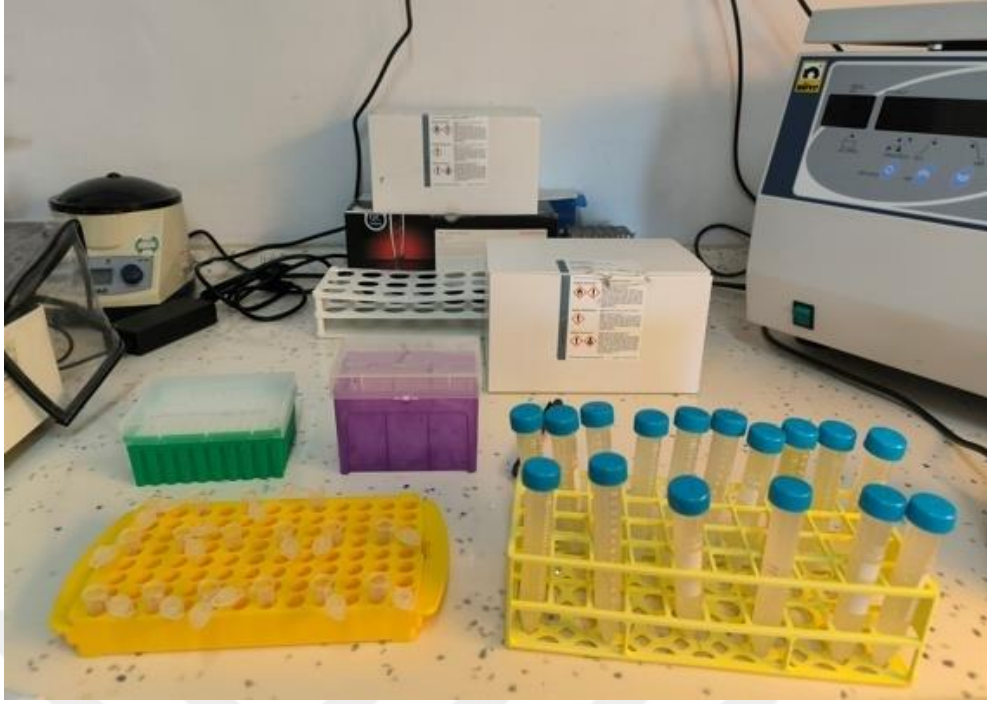
Şekil 3. 62. STEC analizi inkübasyon

3.5.2. DNA İzolasyonu

mTSB içerisinde inkübasyona bırakılan homojenat örneğinden, biri DNA ekstraksiyonu, diğeri potansiyel STEC izolasyonu amacıyla kullanılmak üzere iki ayrı alikot örneği alınmıştır. DNA ekstraksiyonu için ayrılan alikottan 1 mL örnek mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve Eurofins GeneScan GENESpin DNA izolasyon kiti (Eurofins Technologies, Freiburg, Germany) kullanılarak, üretici firmanın protokolü doğrultusunda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon amacıyla ayrılan diğeri alikotta ise, 1,5 mL zenginleştirme ortamı 2 mL'lik bir mikro santrifüj tüpüne alınmış, üzerine 0,5 mL gliserol eklenmiş ve ileri analizlerde kullanılmak üzere -80°C 'de saklanmıştır.

3.5.2.1. Hücrelerin Parçalanması

Lysis Buffer her tüpe 550 μL konulacak şekilde hesaplanmış ve 5 dakika 65°C 'de bekletilmiştir (ilk başta bu ısıya getirilerek kullanılmalıdır). Her bir ekstraksiyon için bir gece inkübasyona bırakılmış homojenattan, 200 μL paralel olacak şekilde iki tane reaksiyon tüpüne aktarılmıştır (Şekil 3.63). Daha sonra numune üzerine 550 μL Lysis Buffer eklenerek 15 sn vortekslenmiş, üzerine 10 μL Proteinase K ilave edilerek tekrar 2-3 sn vortekslenmiştir. Reaksiyon tüpü 65°C 'de 30-45 dakika inkübe edilmiştir (Şekil 3.64).



Şekil 3. 63. STEC ön zenginleştirme sıvısının inkübasyon sonrası mikro santrifüj tüplerine aktarım.



Şekil 3. 64. Reaksiyon tüpülerinin 65 °C’de 30-45 dakika inkübe edilmesi.

3.5.2.2. DNA Bağlanması

İnkübasyon sonrasında reaksiyon tüpleri $>10.000 \times g$ ’de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra numune sayısı kadar, temiz 2 mL hacimli reaksiyon tüpü hazırlanmış, 1 hacim numune, 1 hacim Binding Buffer ve 1 hacim ethanol eklenmiş (Örneğin; 500 μ L numuneye 500 μ L Binding Buffer ve 500 μ L ethanol ilave edilir), 30 sn vortekslenmiştir.

Her bir örnek için temiz 2 mL'lik toplama tüpü (mikro santrifüj) üzerine spin kolon yerleştirilmiştir. Karışımdan 650 µL kolon üzerine eklenmiş 11.000xg'de 1 dk santrifüj yapılarak spin kolon çıkarılıp, başka mikro santrifüj içine yerleştirilmiştir. Bu işlem ilk karışım bitene kadar tekrar edilmiştir.

3.5.2.3. Yıkama ve Kurutma

DNA bağlanma aşamasından sonra spin kolon üzerine 400 µL Wash Buffer 1 ilave edilmiştir. 11.000xg'de 1 dakika santrifüjlenmiş, alta geçen sıvı kısım atılmıştır. Spin kolon çıkarılıp, başka mikro santrifüj tüpü içine yerleştirilmiş üzerine 600 µL Wash Buffer 2 eklenerek 11.000xg'de 1 dakika santrifüjlenmiş, alt kısım atılarak, spin kolon yeni mikro santrifüj tüpü üzerine yerleştirilmiş bu sefer 300 µL Wash Buffer 2 eklenerek 11.000xg'de 2 dakika santrifüjlenmiştir. Tüp boş halde 11.000xg'de 1 dakika santrifüj edilerek arta kalan etanol kurutulmuştur.

3.5.2.4. DNA' nın Elüsyonu (DNA Akıtma)

Çalışılan tüp sayısı kadar 100 µL Elution Buffer hazırlanarak (tahmini istenen yoğunluğa göre bu miktar değişebilir), temiz bir tüpe alınmış ve 70°C'de 1 dakika ısıtılmıştır. Santrifüj sonrası spin kolon yeni 1,5 mL'lik tüpe aktarılmış ve üzerine ısıtılmış 100 µL Elution Buffer ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika beklenmiş, süre sonunda 11.000xg'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda spin kolon atılmış, mikro santrifüj içinde kalan kısım numune DNA'sı olarak elde edilmiş ve elde edilen DNA' nın spektrofotometre (NanoPhotometer NP80) cihazında saflığı ölçülmüştür.



Şekil 3. 65. Spektrofotometre (NanoPhotometer NP80) cihazında saflık ölçümü

3.5.3. qPCR Prosüdüğü

PCR, spesifik DNA bölgelerini tespit eder ve çoğaltır (parçalar). Reaksiyon, hedef DNA'nın denatüre (tek iplikli hale gelmesi) edilmesiyle başlar. Sıcaklık, primerlerin tamamlayıcı dizilerine bağlanmasına izin verecek şekilde düşürölür. Sıcaklık tekrar yükseltilir ve polimeraz, her primer bağlanma noktasına bağlanarak yeni bir DNA ipliğı sentezler (Kadri, 2019).

qPCR sistemi, hedef DNA'nın amplifikasyonunu eşzamanlı olarak izlemeye olanak tanıyan floresan temelli bir analiz yöntemidir. Bu yöntemde, özel olarak tasarlanmış probler ve primerler kullanılmaktadır. Prob, DNA dizisine özgü olarak bağlanabilen ve 5' ucunda floresan raporlayıcı, 3' ucunda ise söndürücü molekül bulunan işaretli bir oligonükleotid zinciridir. PCR döngüsü boyunca DNA polimeraz enzimi tarafından hedef bölgenin çoğaltılması sırasında probun bağlandığı bölge kesilmekte, bu sayede floresan sinyal oluşmakta ve cihaz tarafından algılanmaktadır. Cycle threshold (Ct) değeri, floresan sinyalin belirlenen eşik seviyesini aştığı döngü sayısı olarak tanımlanmaktadır. Ct değeri düştükçe örnekteki hedef DNA miktarının fazla olduğu anlaşılmaktadır. qPCR ile elde edilen negatif sonuçlar, analiz edilen örnekte hedef genin tespit edilemediğini göstermektedir (Navarro, Serrano-Heras, Castaño, & Solera, 2015).

Tüm analizlerde örnekler paralel iki kuyucuk, pozitif kontrol (*E. coli* O157:H7 ATCC 43894 ve *E. coli* O157:H7 ATCC 43895) paralel iki kuyucuk, negatif kontrol (miliQ suyu) bir kuyucuk olacak şekilde dahil edilmiştir.

qPCR analizleri, virölans genleri ve *E. coli* O157 serotipine özgü hedeflerin tespiti amacıyla gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar, toplam 25 µL hacminde olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımında; 12.5 µL FluoCycle™ II Master Mix (EuroClone, İtalya), her bir ileri ve geri primerden 1.25 µM, 0.625 µM prob, 1.375 µL nükleaz içermeyen su ve 5 µL DNA şablonu yer almıştır. Hazırlanan bu ana karışım, AriaMx Real-Time PCR System (Agilent Technologies) cihazı kullanılarak çalıştırılmıştır (Şekil 3.66). PCR döngü programı, Tablo 3.9’da detaylandırılan termal protokole göre uygulanmıştır. Elde edilen floresan verilerinin edinimi ve analizi ise Agilent Aria Software v1.6 yazılımı aracılığıyla yürütülmüştür.



Şekil 3. 66. Gerçek zamanlı Real-Time PCR (qPCR)

E. coli O104 serotipine yönelik analizler, innuDETECT *E. coli* O104 Assay kiti (Berlin, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı; 75 µL Primer/Probe Mix O104 IC, 1 µL innuDRY qPCR MasterMix Probe, 300 µL Resuspension Buffer Probe, 1 µL Internal Control ve 2 mL PCR-grade su içerecek şekilde hazırlanmış ve hedef gen ile ilgili amplifikasyonlar bu karışım kullanılarak yürütülmüştür (Tablo 3.10).

STEC serotiplerinin belirlenmesine yönelik analizlerde ise BACGene® Mplex STEC SEROtype1 ve SEROtype2 kitleri (Gold Standard Diagnostics, Almanya) kullanılmıştır. Her bir reaksiyon için toplam 20 µL hacminde olacak şekilde; 5 µL lizattan, 5 µL (O26, O103, O111, O45, O121, O145 serotiplerine ait) pozitif kontrol plazmid DNA’dan ve 5 µL liziz tamponundan oluşan bir ana karışım hazırlanmıştır. Bu karışım ile ilgili serotiplere özgü amplifikasyonlar gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.11).

Tablo 3. 6. Virölans genlerini ve O157'i taramak için kullanılan qPCR programının adımları ve detayları.

Termal Döngü Süre ve Sıcaklıkları			
Hedef Gen	qPCR program		
		Zaman (saniye)	Sıcaklık (°C)
<i>stx1, stx2, eae, O157</i>	Polimeraz aktivasyonu ve şablon denatürasyonu	600	95
	PCR 45 ardışık döngü		
	Denatürasyon	15	95
	Bağlanma ve uzama aşaması*	60	60
	•* Veri toplama : Floresan Algılama (FAM; HEX)		
	• Toplam süre : 1 saat 37 dakikadır.		

Tablo 3. 7. O104'ü taramak için kullanılan innuDETECT *E.coli* O104 Assay kit qPCR programının adımları ve detayları.

Termal Döngü Süre ve Sıcaklıkları			
Hedef Gen	qPCR program		
		Zaman (saniye)	Sıcaklık (°C)
O104	İlk Denatürasyon	120	95
	PCR 40 ardışık döngü		
	Denatürasyon	10	95
	Bağlanma ve uzama aşaması*	45	60
	•* Veri toplama : Floresan Algılama (FAM; HEX)		
	• Toplam süre : 1 saat 2 dakikadır.		

Tablo 3. 8. O26, O103, O111, O121, O45 ve O145 taramak için kullanılan BACGene Mplex STEC SEROtype1 ve STEC SEROtype2 kit qPCR programının adımları ve detayları.

Termal Döngü Süre ve Sıcaklıkları			
Hedef Gen	qPCR program		
		Zaman (saniye)	Sıcaklık (°C)
	UDG Digestion	120	50
O26, O103, O111, O121, O45, O145	Enzim aktivasyonu	900	95
	PCR 42 ardışık döngü		
	Denatürasyon	15	95
	Bağlanma ve uzama aşaması*	60	60
	•* Veri toplama: Floresan Algılama (FAM; HEX;ROX;Cy5)		
	• Toplam süre 1 saat 37 dakikadır.		

3.5.3.1. qPCR İçin Problar ve Primerler

Çalışmada kullanılan prob ve primer setleri, hedeflenen serotipler ile belirli genlerin (virülansla ilişkili gen bölgeleri dahil) tespitine yönelik olarak ilgili literatür ve standart yöntemler doğrultusunda seçilmiştir (Tablo 3.11). *stx1* ve *stx2* genlerine özgü problar, 5' ucunda 6-carboxyfluorescein (FAM) floresan boyası ve 3' ucunda Black Hole Quencher 1 (BHQ1) söndürücü molekül içerecek şekilde tasarlanmıştır. *eae* geni ile *E. coli* O157 serotipine özgü problar ise 5' ucunda Hexachlorofluorescein (HEX) floresan boyası ve 3' ucunda Carboxytetramethylrhodamine (TAMRA) söndürücü molekül taşıyacak şekilde yapılandırılmıştır.

Tablo 3. 9. qPCR testlerinde kullanılan primerler ve problar listesi.

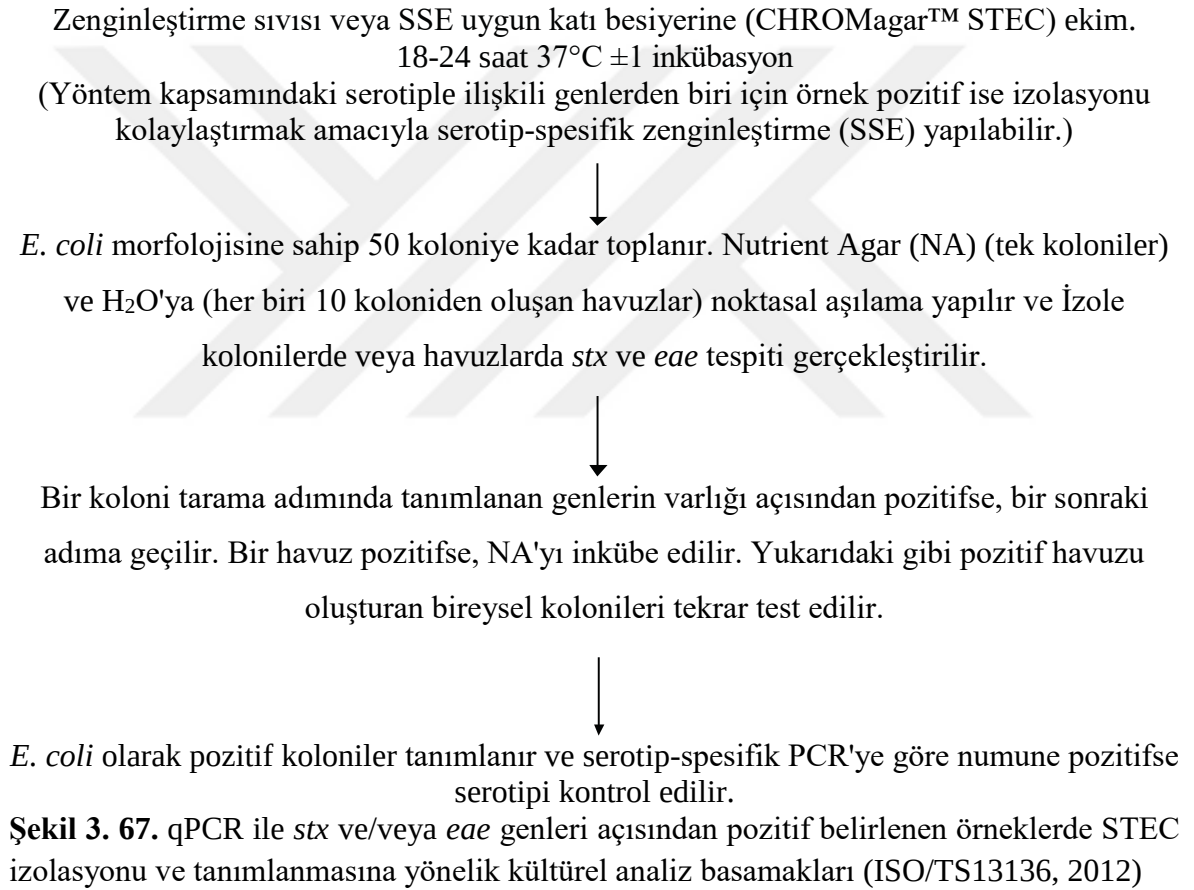
qPCR için prob ve primerler							
Hedef Gen	Primer ve prop	*Sekans (5' - 3')	Dizilim içindeki konum	Amplikon boyutu (bp)	Flüoresan boya	GenBank erişim no.	Referanslar
<i>stx1</i>	<i>stx-F</i>	TTT GTY ACT GTS ACA GCW GAA GCY TTA CG	878-906	131	FAM	M16625	ISO/TS 13136:2012 (Perelle ve ark., 2004)
	<i>stx-R</i>	CCC CAG TTC ARW GTR AGR TCM ACR TC	983-1008				
	<i>stx1-P</i>	FAM-CTG GAT CTC AGT GGG CGT TCT TAT GTA A-BHQ1	941-971				
<i>stx2</i>	<i>stx-F</i>	TTT GTY ACT GTS ACA GCW GAA GCY TTA CG	785-813	128	FAM	X07865	ISO/TS 13136:2012 (Perelle ve ark., 2004)
	<i>stx-R</i>	CCC CAG TTC ARW GTR AGR TCM ACR TC	887-912				
	<i>stx2-P</i>	FAM-TCG TCA GGC ACT GTC TGA AAC TGC TCC-BHQ1	838-864				
<i>eae</i>	<i>eae-F</i>	CAT TGA TCA GGA TTT TTC TGG TGA TA	899-924	102	HEX	Z11541	ISO/TS 13136:2012 (Nielsen and Andersen, 2003)
	<i>eae-R</i>	CTC ATG CGG AAA TAG CCG TTA	1000-979				
	<i>eae-P</i>	HEX-ATA GTC TCG CCA GTA TTC GCC ACC AAT ACC-TAMRA	966-936				
<i>rfbE</i> O157	<i>rfbE0157-F</i>	TTT CAC ACT TAT TGG ATG GTC TCA A	348-372	88	HEX	AF163329	ISO/TS 13136:2012 (Perelle ve ark., 2004)
	<i>rfbE0157-R</i>	CGA TGA GTT TAT CTG CAA GGT GAT	412-435				
	<i>rfbE0157-P</i>	HEX-AGG ACC GCA GAG GAA AGA GAG GAA TTA AGG-TAMRA	381-410				

* Dizilimde, F ileri primeri, R geri primeri ve P probu ifade eder. Dizilimde Y (C, T), S (C, G), W (A, T), R (A, G), M (A, C) anlamına gelir.

3.5.4. STEC'in Kùltür Yöntemi ile İzolasyonu

qPCR testi sonucunda *stx* ve *eae* genleri birlikte ya da yalnızca *stx* genleri açısından pozitif belirlenen örnekler, STEC serotiplerinin izolasyonu amacıyla ileri kùltür analizine tabi tutulmuştur. Bu amaçla, *in vitro* izolasyon aşamasında ISO/TS 13136 standardında tanımlanan kùltür izolasyon prosedürü uygulanmıştır (ISO/TS13136, 2012).

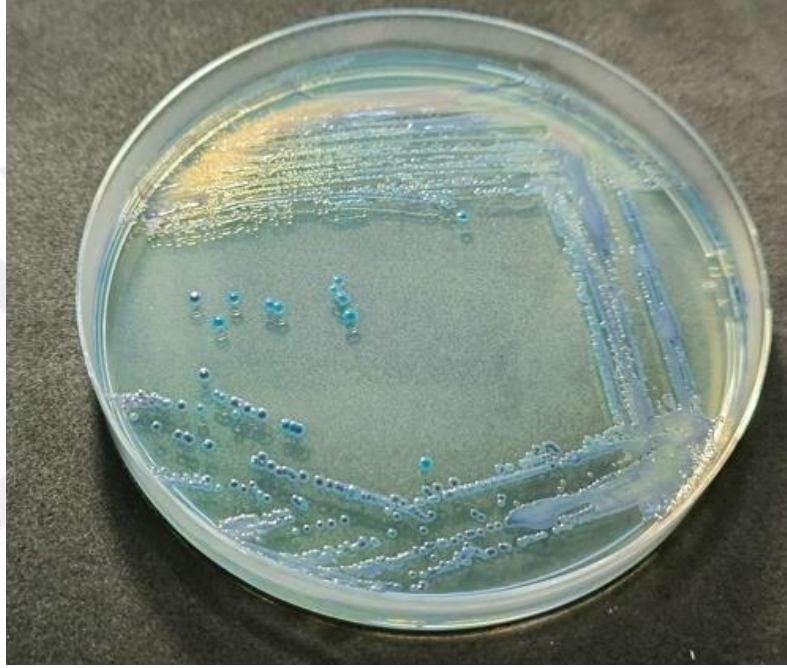
qPCR testi sonucunda *stx* ve/veya *eae* genleri açısından pozitif belirlenen çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, yeşil filizler ve çiğ süt örnekleri, ISO/TS 13136:2012 standardı doğrultusunda STEC izolasyonu ve tanımlamasına yönelik kùltür analizine tabi tutulmuştur (Şekil 3.67).



3.5.4.1. Seçici Besiyerine Ekim

İzolasyon öncesinde, zenginleştirme işlemi tamamlanan mikrosantrifüj tüpleri, buzların tamamen erimesini sağlamak amacıyla su banyosunda (NÜVE) 50°C'de yaklaşık 2–3 dakika bekletilerek çözündürülmüştür. Ardından, tüpler oda sıcaklığında 1 saat süreyle inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda, her örnekten 1 mL alınarak 37°C'ye önceden ısıtılmış 9 mL taze Tamponlanmış peptonlu su içeren tüplere aktarılmış ve bu tüpler

37°C’de 2–3 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon tamamlandıktan sonra, kültürler bir vortex cihazı (DLAB, Pekin, Çin) yardımıyla homojen hâle getirilmiş ve Tamponlanmış peptonlu su içinde 1:10 oranında bir seyreltme hazırlanmıştır. Hem orijinal kültür tüpünden hem de hazırlanan 1:10 seyreltmeden, iyi izole edilmiş koloni oluşumunu sağlamak amacıyla CHROMagar™ STEC (CHROMagar Microbiology, Paris, Fransa) besiyerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan plakalar, 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir (Şekil 3.68).



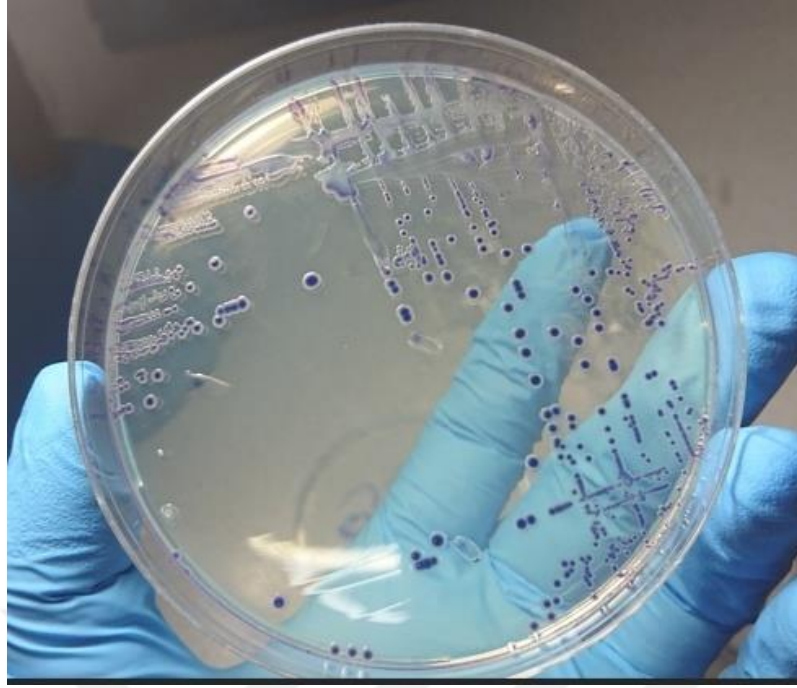
Şekil 3. 68. CHROMagar™ STEC agarda muhtemel STEC koloni görünümü

CHROMagar™ STEC agar üzerine hem seyreltmeden hem de 1:10 oranında seyreltilmiş kültürlerden ekim yapılmış ve plakalar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, besiyerinde tipik veya muhtemel *E. coli* morfolojisi gösteren koloniler seçilerek nutrient agar (NA) besiyerine ekim yapılmıştır. NA plakaları 37°C’de bir gece süreyle inkübe edilmiştir. Her örnekten elde edilen kolonilerden havuzlar oluşturulmuş ve seçilen tüm kolonilere ait morfolojik özellikler kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.69).



Şekil 3. 69. CHROMagar™ STEC agar oluşturulan havuzların görünümü

Havuzlanmış örneklerden DNA ekstraksiyonu, kaynatma yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (bkz. Bölüm 3.4.4.2). Elde edilen DNA'lar üzerinde, *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerini hedefleyen qPCR analizleri yapılmıştır. Havuzlardan herhangi birinde virülans genlerine yönelik pozitif sonuç elde edilmesi durumunda, ilgili havuz *E. coli* O-serotiplerine (O104, O111, O103, O26, O145, O121, O45 ve O157) yönelik olarak qPCR ile analiz edilmiştir. Bu işlem, hedef genleri taşıyan spesifik koloninin belirlenmesi ve daha ileri karakterizasyon çalışmaları için saf bir izolat elde edilmesi amacıyla uygulanmıştır (Şekil 3.70).

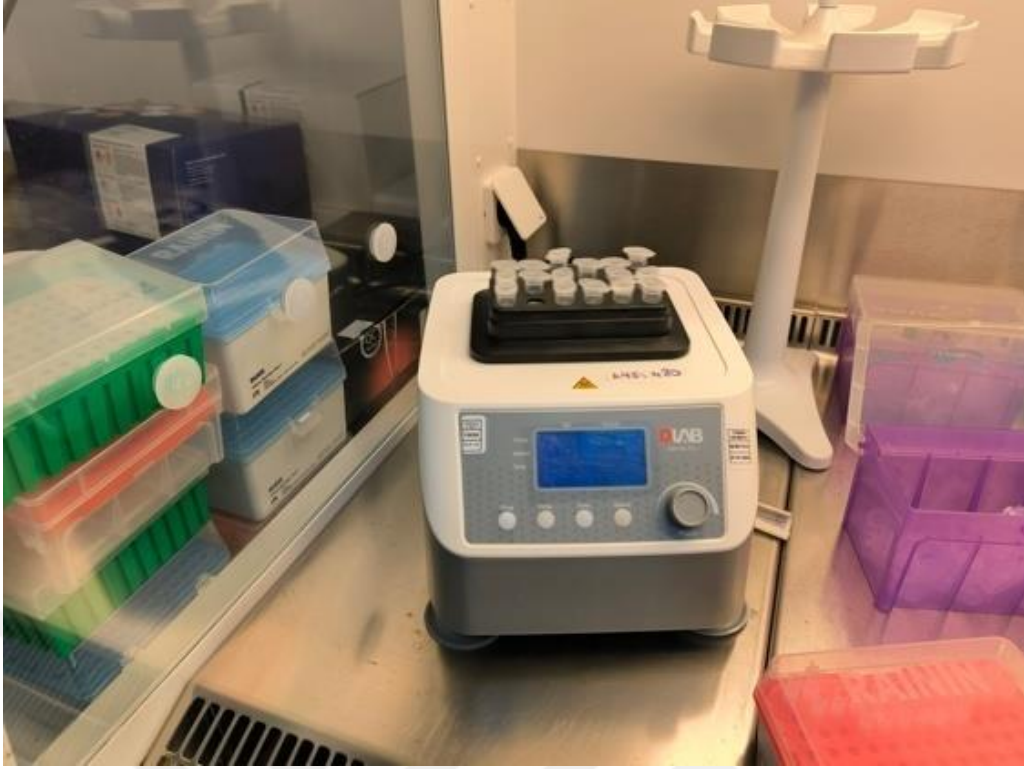


Şekil 3. 70. *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri açısından pozitif saptanan havuzdan izole edilen tek koloninin kültürdeki görünümü

3.5.4.2. Kaynatma Yöntemi ile DNA Ekstraksiyonu

İlk aşamada, örneklerde DNA izolasyonu, Eurofins GeneScan GENESpin DNA izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak, virülans genleri (*stx1*, *stx2*, *eae*) açısından pozitif tespit edilen örneklerde hedef kolonilerin belirlenmesi amacıyla yürütülen kültür çalışmalarında, kolonilerden DNA izolasyonu için kaynatma yöntemi tercih edilmiştir (Şekil 3.71).

Bu yöntemde, CHROMagar™ STEC agar üzerinde gelişen her bir koloni steril bir öze yardımıyla alınarak, 1 mL steril deiyonize su içeren steril mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler vortexlenerek homojen hale getirildikten sonra, 95°C sıcaklıktaki termal blokta (DLAB, HM100-Pro, Çin) 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından tüpler oda sıcaklığına soğumaya bırakılmış ve ardından 13.000×g'de 5 dakika süreyle santrifüjlenmiştir (Hettich-Zentrifugen, MIKRO 2000, Tuttlingen, Almanya). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant dikkatlice alınarak yeni ve steril bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış; bu süpernatant, DNA içeriği bakımından zengin olup sonraki qPCR analizlerinde şablon DNA olarak kullanılmıştır (Bielaszewska & Karch, 2000).



Şekil 3. 71. Kaynatma yöntemi ile DNA ekstraksiyonu

3.5.4.3. Ct Eşik Değerleri, Tekrarlı Test Uygulamaları ve Tespit Sınırı (LOD)

Virülans genlerinin ve O-serotiplerin tespiti amacıyla qPCR yöntemi uygulanmıştır. Bu yöneme ilişkin ayrıntılar 3.4.3 numaralı başlıkta sunulmuştur. qPCR hazırlık işlemleri, Mars 1200 (LABOGENE, Scandinavian by Design) model cihaz içerisinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımında FluoCycle IITM (EuroClone) marka master mix kullanılmıştır. qPCR analizleri, AriaMx Real-Time PCR System (Agilent Technologies, ABD) cihazı ile yürütülmüş ve elde edilen veriler, Agilent Aria Software v1.6 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir.

stx1, *stx2* ve *eae* genlerine ait tespit sınırları (Limit of Detection, LOD), *E. coli* O157:H7 ATCC 43894 ve ATCC 43895 referans suşlarından elde edilen DNA'ların seri dilüsyonları hazırlanarak belirlenmiştir. DNA kopya sayıları hesaplanarak, reaksiyon başına 10^6 'dan 1 kopyaya kadar dilüsyonlar oluşturulmuştur. Tekrarlanan deneylerde tutarlı biçimde pozitif sonuç alınan en düşük DNA konsantrasyonu, ilgili genler için tespit sınırı olarak kabul edilmiştir. Bu doğrultuda, *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri için LOD değeri, reaksiyon başına 5 DNA kopyası olarak belirlenmiştir.

Pozitif tespitin değerlendirilmesinde eşik döngü (Ct) değeri ≤ 35 olarak esas alınmıştır. Ct değeri 35 veya daha düşük olan örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Tüm örnek analizleri çift (duplikat) olarak gerçekleştirilmiştir.

3.6. İstatistik

Elde edilen verilerde kategorik değişkenler sıklık ve yüzdeler olarak özetlenmiştir ve kurulan hipotezlere göre kategorik değişkenler arasında karşılaştırmalar için Fisher'in kesin Ki-kare testi kullanılmıştır. Hipotezler hakkında karar %5 önem seviyesinde p ($p < 0.05$) değerine göre istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS Statistics (versiyon 26.0) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.7. Etik Kurul Onayı

Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (GOKAEK)'na 'Etik Kurul Onayı' için başvuru yapılmıştır. Araştırma yürütülmesi, GOKAEK-2024/210 proje numarası ile 02.05.2024 tarihinde etik ve bilimsel açıdan uygun bulunmuştur.

3.8. Proje Desteği

Proje kapsamında kullanılacak malzemelerin temini için Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, Doktora Tezi desteği başvurusu yapılmış ve ilgili birim tarafından onaylanarak yürürlüğe girmiştir (Proje Kodu: TDK-2024-3838).

4. BULGULAR

4.1. Kültür Yöntemi ile *E. coli*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *Shigella* spp. İzolasyonu ve Tanımlanması

4.1.1. *E. coli*'nin İzolasyonu ve Tanımlanması

Çiğ sığır eti örneklerinin analizi sonuçları Tablo 4.1.'de sunulmuştur. Çiğ sığır eti örneklerinde *E. coli* %55,10 (27/49) oranında bulunmuştur. En yüksek 7.4×10^4 kob/g oranında tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında analiz edilen 49 çiğ sığır eti örneğinde *E. coli* düzeyleri değerlendirilmiş ve sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde yer alan yasal sınırlar ile karşılaştırılmıştır (TGK, 2025). Yönetmeliğe göre, kıyma veya mekanik olarak ayrılmış etlerde *E. coli* için izin verilen üst sınır 5×10^2 kob/g olarak belirtilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda, 49 örnekten 8 (%16,32)'inin söz konusu sınır değeri aştığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve *E. coli* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>E. coli</i> (kob/g)
1	S1	Kartepe	<10 kob/g
2	S6	İzmit	1×10^1 kob/g
3	S8	İzmit	8×10^1 kob/g
4	S12	Kartepe	<10 kob/g
5	S13	Derince	<10 kob/g
6	S14	İzmit	<10 kob/g
7	S15	Gebze	<10 kob/g
8	S16	Karamürsel	<10 kob/g
9	S17	Kartepe	1×10^1 kob/g
10	S18	Kartepe	5.5×10^2 kob/g
11	S19	Kartepe	<10 kob/g
12	S55	Gebze	<10 kob/g
13	S57	Körfez	<10 kob/g
14	S59	Karamürsel	<10 kob/g
15	S60	Karamürsel	<10 kob/g

16	S71	Derince	<10 kob/g
17	S72	Gebze	1.3x10 ⁴ kob/g
18	S73	Çayırova	2.6x10 ³ kob/g
19	S74	Körfez	1x10 ¹ kob/g
20	S75	Körfez	3x10 ¹ kob/g
21	S76	Çayırova	1x10 ¹ kob/g
22	S77	Gölcük	1x10 ¹ kob/g
23	S78	Gölcük	<10 kob/g
24	S79	Başiskele	<10 kob/g
25	S80	Başiskele	<10 kob/g
26	S86	Başiskele	1.2x10 ³ kob/g
27	S87	Gölcük	2.9x10 ² kob/g
28	S88	Karamürsel	2x10 ¹ kob/g
29	S89	Kandıra	7.3x10 ² kob/g
30	S90	Kandıra	<10 kob/g
31	S91	Kandıra	2x10 ¹ kob/g
32	S92	Kandıra	<10 kob/g
33	S93	Kandıra	7.4x10 ⁴ kob/g
34	S94	Kandıra	5.2x10 ⁴ kob/g
35	S95	Kandıra	4x10 ² kob/g
36	S96	Kandıra	8x10 ¹ kob/g
37	S97	Kandıra	3x10 ¹ kob/g
38	S98	Kandıra	3x10 ¹ kob/g
39	S99	Kartepe	2x10 ¹ kob/g
40	S100	Kartepe	<10 kob/g
41	S101	İzmit	4.4x10 ² kob/g
42	S132	İzmit	<10 kob/g
43	S133	İzmit	4.6x10 ² kob/g
44	S134	İzmit	2x10 ² kob/g
45	S135	Çayırova	3.5x10 ² kob/g
46	S173	Darıca	<10 kob/g
47	S174	Darıca	<10 kob/g
48	S175	Körfez	<10 kob/g
49	S219	Kandıra	1.1x10 ³ kob/g

Çiğ tavuk eti örneklerinin analiz sonuçları Tablo 4.2.'de sunulmuştur. Çiğ tavuk eti örneklerinde *E. coli* %45 (18/40) oranında bulunmuştur. En yüksek 6,4x10² kob/g oranında tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen 40 çiğ tavuk eti örneğinde *E. coli* düzeyleri belirlenmiş

ve elde edilen sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ndeki sınır değerlerle karşılaştırılmıştır (TGK, 2025). Yönetmelikte, mekanik olarak ayrılmış etlerde *E. coli* için belirlenen üst sınır 5×10^2 kob/g olarak tanımlanmıştır. Analiz sonucunda, 40 örnekten 2 (%5)'sinin bu sınır değeri aştığı tespit edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve *E. coli* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>E. coli</i> (kob/g)
1	T3	Başiskele	<10 kob/g
2	T5	İzmit	2×10^1 kob/g
3	T7	İzmit	<10 kob/g
4	T9	İzmit	4×10^1 kob/g
5	T10	İzmit	2×10^1 kob/g
6	T23	Kandıra	3.1×10^2 kob/g
7	T24	Kandıra	1×10^1 kob/g
8	T25	Kandıra	1×10^1 kob/g
9	T26	Gebze	<10 kob/g
10	T27	Gebze	<10 kob/g
11	T28	Darica	<10 kob/g
12	T29	Darica	<10 kob/g
13	T30	Körfez	<10 kob/g
14	T31	Körfez	<10 kob/g
15	T32	Körfez	<10 kob/g
16	T33	Çayırova	<10 kob/g
17	T34	Çayırova	<10 kob/g
18	T35	Dilovası	<10 kob/g
19	T49	İzmit	6.4×10^2 kob/g
20	T56	Kartepe	<10 kob/g
21	T58	Kartepe	4.1×10^2 kob/g
22	T123	Gölcük	1×10^1 kob/g
23	T124	Gölcük	<10 kob/g
24	T125	Gölcük	<10 kob/g
25	T126	Karamürsel	1×10^1 kob/g
26	T127	Karamürsel	<10 kob/g
27	T128	Gölcük	5.2×10^2 kob/g
28	T129	Gölcük	6×10^1 kob/g
29	T130	Gölcük	<10 kob/g
30	T131	Karamürsel	<10 kob/g
31	T151	Kandıra	1×10^1 kob/g
32	T152	Kandıra	<10 kob/g

33	T153	Kandıra	<10 kob/g
34	T154	Kandıra	2x10 ¹ kob/g
35	T155	Kandıra	8x10 ¹ kob/g
36	T156	Kandıra	5x10 ¹ kob/g
37	T157	Kandıra	<10 kob/g
38	T158	Derince	2x10 ² kob/g
39	T159	Derince	<10 kob/g
40	T160	Kartepe	6x10 ¹ kob/g

Balık eti örneklerinin analiz sonuçları Tablo 4.3.'de sunulmuştur. Balık eti örneklerinde *E. coli* %40,47 (17/42) oranında bulunmuş, en yüksek 2,4x10¹ EMS/g oranında tespit edilmiştir.

Tablo 4.3. Balık eti örneklerinin alındığı yer ve *E. coli* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>E. coli</i> (kob/g)
1	B61	Çayırova	<3 EMS/g
2	B62	Çayırova	<3 EMS/g
3	B63	Gebze	<3 EMS/g
4	B64	Gebze	<3 EMS/g
5	B65	Dilovası	0,92 EMS/g
6	B66	Dilovası	0,92 EMS/g
7	B67	Körfez	<3 EMS/g
8	B68	Körfez	<3 EMS/g
9	B69	Derince	1,4 EMS/g
10	B70	Derince	0,92 EMS/g
11	B81	Karamürsel	<3 EMS/g
12	B82	Karamürsel	0,92 EMS/g
13	B83	Karamürsel	2,3 EMS/g
14	B84	Karamürsel	0,74 EMS/g
15	B85	Gölcük	0,92 EMS/g
16	B113	Gölcük	3,9 EMS/g
17	B114	Gölcük	<3 EMS/g
18	B115	Başiskele	<3 EMS/g
19	B116	Başiskele	<3 EMS/g
20	B117	Başiskele	2,4x10 ¹ EMS/g
21	B118	İzmit	0,92 EMS/g
22	B119	İzmit	<3 EMS/g
23	B120	İzmit	<3 EMS/g
24	B121	Kartepe	0,74 EMS/g
25	B122	Kartepe	<3 EMS/g
26	B136	Kandıra	<3 EMS/g

27	B137	Kandıra	<3 EMS/g
28	B138	Kandıra	1,4 EMS/g
29	B139	Kandıra	<3 EMS/g
30	B140	Kandıra	<3 EMS/g
31	B141	Kandıra	<3 EMS/g
32	B142	Kandıra	0,92 EMS/g
33	B143	Kandıra	<3 EMS/g
34	B144	Kandıra	0,92 EMS/g
35	B145	Kandıra	2,3 EMS/g
36	B146	Kartepe	<3 EMS/g
37	B147	Kartepe	0,92 EMS/g
38	B148	İzmit	<3 EMS/g
39	B149	İzmit	<3 EMS/g
40	B150	İzmit	<3 EMS/g
41	B172	Derince	<3 EMS/g
42	B176	Derince	<3 EMS/g

Yeşil filiz örneklerinin analiz sonuçları Tablo 4.4.'de sunulmuştur. Toplam yeşil filiz örneklerinde *E. coli* %75 (33/44) oranında bulunmuştur. Marul' da *E. coli* %60 (9/15), maydanozda *E. coli* %73,33 (11/15) ve son olarak ıspanakda *E. coli* %92,85 (13/14) oranında bulunmuştur.

Yeşil filizlerden alınan toplam 44 örnekte, *E. coli* sayımları Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği kapsamında değerlendirilmiştir (TGK, 2025). Yönetmelikte, tüketime hazır doğranmış meyve ve sebzelerde *E. coli* için belirlenen üst sınır 1×10^3 kob/g olarak bildirilmiştir. Bu kapsamda yapılan analizlerde, toplam 44 örneğin 7 (%15,90)'sinde yasal sınırın aşıldığı belirlenmiştir. Ürün bazında incelendiğinde; 15 maydanoz örneğinin 1 (%6,67)'inde, 15 marul örneğinin 3 (%20)'ünde ve 14 ıspanak örneğinin 3 (%21,42)'ünde *E. coli* düzeyleri mevzuatta belirtilen sınır değerlerin üzerinde saptanmıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Yeşil filiz örneklerinin alındığı yer ve *E. coli* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	Örnek	<i>E. coli</i> (kob/g)
1	YF2	İzmit	Marul	< 10 kob/g
2	YF4	Başiskele	Marul	< 10 kob/g
3	YF11	Kartepe	Marul	< 10 kob/g
4	YF20	Gölcük	Marul	< 10 kob/g
5	YF21	Gölcük	Marul	$2,7 \times 10^3$ kob/g
6	YF22	Karamürsel	Marul	< 10 kob/g
7	YF36	Kandıra	Maydanoz	< 10 kob/g

8	YF37	Kandıra	Ispanak	7×10^1 kob/g
9	YF38	Kandıra	Maydanoz	3×10^1 kob/g
10	YF39	Kandıra	Maydanoz	< 10 kob/g
11	YF40	Kandıra	Marul	1.6×10^2 kob/g
12	YF41	Kandıra	Ispanak	6×10^1 kob/g
13	YF42	Kandıra	Ispanak	$6,1 \times 10^2$ kob/g
14	YF43	Kandıra	Maydanoz	$2,1 \times 10^2$ kob/g
15	YF44	Kandıra	Ispanak	$1,5 \times 10^2$ kob/g
16	YF45	Kandıra	Ispanak	$2,8 \times 10^3$ kob/g
17	YF46	Kandıra	Marul	1×10^1 kob/g
18	YF47	Gölcük	Maydanoz	< 10 kob/g
19	YF48	Gölcük	Maydanoz	$1,1 \times 10^2$ kob/g
20	YF50	Karamürsel	Marul	$6,4 \times 10^2$ kob/g
21	YF51	Karamürsel	Maydanoz	1×10^1 kob/g
22	YF52	Karamürsel	Maydanoz	< 10 kob/g
23	YF53	Karamürsel	Marul	< 10 kob/g
24	YF54	Karamürsel	Maydanoz	5×10^1 kob/g
25	YF102	Gebze	Marul	4×10^1 kob/g
26	YF103	Gebze	Maydanoz	$1,2 \times 10^2$ kob/g
27	YF104	Darica	Marul	$4,5 \times 10^2$ kob/g
28	YF105	Darica	Ispanak	3×10^1 kob/g
29	YF106	Çayırova	Maydanoz	5×10^1 kob/g
30	YF107	Çayırova	Maydanoz	$8,5 \times 10^1$ kob/g
31	YF108	Körfez	Marul	$2,9 \times 10^4$ kob/g
32	YF109	Körfez	Maydanoz	1×10^4 kob/g
33	YF110	Dilovası	Maydanoz	$1,5 \times 10^2$ kob/g
34	YF111	Dilovası	Marul	3×10^1 kob/g
35	YF161	İzmit	Maydanoz	3×10^1 kob/g
36	YF162	İzmit	Marul	$1,2 \times 10^3$ kob/g
37	YF163	İzmit	Ispanak	$7,4 \times 10^2$ kob/g
38	YF164	İzmit	Ispanak	$6,7 \times 10^2$ kob/g
39	YF165	İzmit	Ispanak	$2,1 \times 10^3$ kob/g
40	YF166	Derince	Ispanak	$2,8 \times 10^3$ kob/g
41	YF167	Derince	Ispanak	$1,9 \times 10^2$ kob/g
42	YF168	Kartepe	Ispanak	$4,1 \times 10^2$ kob/g
43	YF169	Kartepe	Ispanak	4×10^2 kob/g
44	YF170	Kartepe	Ispanak	< 10 kob/g

Çiğ süt örneklerinin analiz sonuçları Tablo 4.5.'de sunulmuştur. Çiğ süt örneklerinde *E.coli* %80 (36/45) oranında bulunmuş, en yüksek $2,4 \times 10^6$ kob/mL oranında tespit edilmiştir.

Tablo 4.5. Çiğ süt örneklerinin alındığı yer ve *E.coli* (kob/mL) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>E. coli</i> (kob/mL)
1	ÇS112	Derince	< 10 kob/mL
2	ÇS171	Başiskele	$5,4 \times 10^2$ kob/mL
3	ÇS177	Başiskele	< 10 kob/mL
4	ÇS178	Gebze	< 10 kob/mL
5	ÇS179	Gebze	$2,9 \times 10^2$ kob/mL
6	ÇS180	Darıca	$8,2 \times 10^3$ kob/mL
7	ÇS181	Körfez	$2,5 \times 10^1$ kob/mL
8	ÇS182	Körfez	< 10 kob/mL
9	ÇS183	Çayırova	< 10 kob/mL
10	ÇS184	Çayırova	< 10 kob/mL
11	ÇS185	Dilovası	3×10^1 kob/mL
12	ÇS186	Dilovası	2×10^1 kob/mL
13	ÇS187	Gölcük	$4,5 \times 10^1$ kob/mL
14	ÇS188	Gölcük	$2,2 \times 10^3$ kob/mL
15	ÇS189	Gölcük	6×10^1 kob/mL
16	ÇS190	Gölcük	< 10 kob/mL
17	ÇS191	Karamürsel	$4,8 \times 10^2$ kob/mL
18	ÇS192	Karamürsel	$1,9 \times 10^2$ kob/mL
19	ÇS193	Başiskele	$1,2 \times 10^3$ kob/mL
20	ÇS194	Başiskele	$9,7 \times 10^2$ kob/mL
21	ÇS195	Kandıra	< 10 kob/mL
22	ÇS196	Kandıra	$7,3 \times 10^3$ kob/mL
23	ÇS197	Kandıra	$1,4 \times 10^5$ kob/mL
24	ÇS198	Kandıra	$2,1 \times 10^6$ kob/mL
25	ÇS199	Kandıra	$4,3 \times 10^2$ kob/mL
26	ÇS200	Kandıra	$1,2 \times 10^3$ kob/mL
27	ÇS201	Kandıra	$2,2 \times 10^2$ kob/mL
28	ÇS202	Kandıra	$1,8 \times 10^5$ kob/mL
29	ÇS203	Kandıra	$1,4 \times 10^6$ kob/mL
30	ÇS204	Kandıra	$1,2 \times 10^5$ kob/mL
31	ÇS205	Kartepe	$1,3 \times 10^5$ kob/mL

32	ÇS206	Kartepe	$2,4 \times 10^6$ kob/mL
33	ÇS207	Derince	$7,4 \times 10^3$ kob/mL
34	ÇS208	İzmit	$3,1 \times 10^5$ kob/mL
35	ÇS209	İzmit	$3,3 \times 10^4$ kob/mL
36	ÇS210	İzmit	$5,1 \times 10^5$ kob/mL
37	ÇS211	Kartepe	$1,4 \times 10^4$ kob/mL
38	ÇS212	Kartepe	$8,8 \times 10^3$ kob/mL
39	ÇS213	Kartepe	$3,2 \times 10^3$ kob/mL
40	ÇS214	İzmit	$1,8 \times 10^4$ kob/mL
41	ÇS215	Kandıra	1×10^1 kob/mL
42	ÇS216	Kandıra	< 10 kob/mL
43	ÇS217	Kandıra	1×10^1 kob/mL
44	ÇS218	Darıca	$2,8 \times 10^3$ kob/mL
45	ÇS220	Kandıra	$8,4 \times 10^2$ kob/mL

Çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda, *E. coli* kontaminasyonunun bölgesel dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Farklı coğrafi bölgelerden toplanan örnekler arasında yapılan karşılaştırmada; Bölge 3 (%80,4) ve Bölge 2 (%68,8) gibi bölgelerdeki kontaminasyon oranlarının, Bölge 1 (%51,2) ve Bölge 4 (%53,5) gibi daha düşük oranlara sahip bölgelerle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.6, 4.7 ve Şekil 4.1). Bu sonuç, gıda örneklerinin toplandığı bölgeler arasında *E. coli* kontaminasyonu açısından homojen bir dağılım olmadığını ve bazı bölgelerde kontaminasyon riskinin daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. İstatistiksel analiz yalnızca yöntemi standartlaştırılmış hayvansal ve bitkisel kökenli örnekler üzerinden gerçekleştirilmiş olup, analiz yöntemi farklılık gösteren balık eti örnekleri istatistiksel değerlendirme kapsamına alınmamıştır.

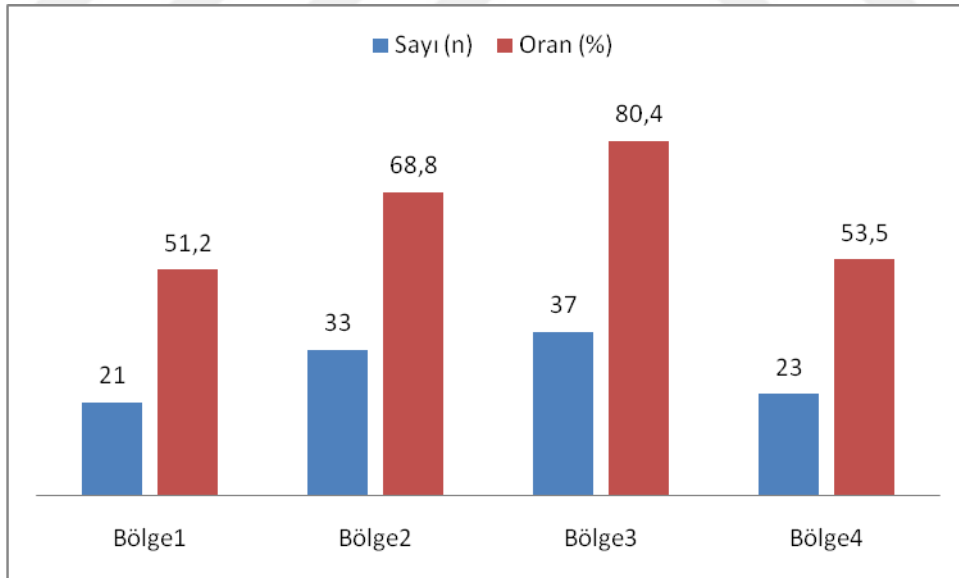
Tablo 4. 6. *E.coli* koloni sayımlarının bölgelere göre oranları

Bölge	Toplam Örnek	<i>E. coli</i>	Sayı (n)	Oran (%)
Bölge1	41	$0 < 1 \times 10^1$	20	48,8
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	9	22
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	8	19,5
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	4	9,8
Bölge2	48	$0 < 1 \times 10^1$	15	31,2
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	10	20,8
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	10	20,8
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	6	12,5
		$\geq 1 \times 10^4 - < 1 \times 10^5$	3	6,2

		$\geq 1 \times 10^5 - < 1 \times 10^6$	3	6,2
		$\geq 1 \times 10^6 - < 3 \times 10^6$	1	2,1
Bölge3	46	$0 - < 1 \times 10^1$	9	19,6
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	16	34,8
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	10	21,7
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	4	8,7
		$\geq 1 \times 10^4 - < 1 \times 10^5$	2	4,3
		$\geq 1 \times 10^5 - < 1 \times 10^6$	3	6,5
		$\geq 1 \times 10^6 - < 3 \times 10^6$	2	4,3
Bölge4	43	$0 - < 1 \times 10^1$	20	46,5
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	11	25,6
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	6	14
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	3	7
		$\geq 1 \times 10^4 - < 1 \times 10^5$	3	7

Tablo 4. 7. Bölgelere göre *E. coli* tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Bölge	Sayı (n)	Oran (%)
Bölge1	21	51,2
Bölge2	33	68,8
Bölge3	37	80,4
Bölge4	23	53,5

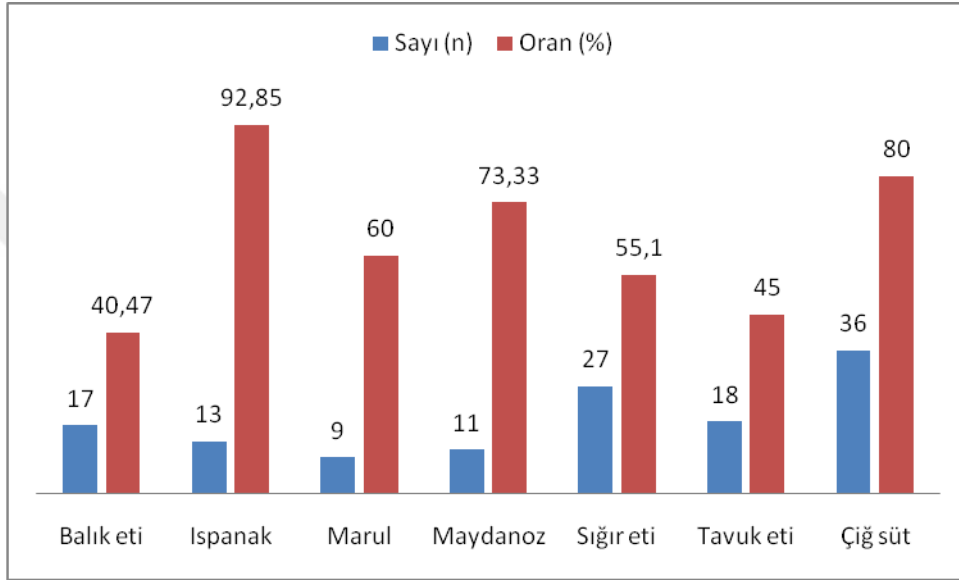


Şekil 4. 1. Bölgelere göre *E. coli* pozitiflik oranları (çubuk grafik)

Çalışmamızda, farklı gıda ürünlerinde *E. coli* kontaminasyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Özellikle balık eti (%40,47; $p = 0.009$), yeşil filiz (%75; $p = 0.0031$) ve çiğ süt (%80; $p = 0.003$) örneklerinde *E. coli* varlığının diğer ürünlere kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.8 ve Şekil 4.2).

Tablo 4. 8. Örneklere göre *E.coli* tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Örnek	Sayı (n)	Oran (%)
Balık eti	17	40,47
Ispanak	13	92,85
Marul	9	60
Maydanoz	11	73,33
Sığır eti	27	55,1
Tavuk eti	18	45
Çiğ süt	36	80



Şekil 4. 2. Örneklere göre *E. coli* pozitiflik oranları (çubuk grafik)

4.1.2. *Salmonella* spp.'nin İzolasyonu ve Tanımlanması

Çiğ sığır eti örneklerinin *Salmonella* spp. analiz sonuçları Tablo 4.9.'de sunulmuş, çiğ kırmızı et örneklerinde *Salmonella* spp. %8,16 (4/49) oranında bulunmuştur.

Çiğ sığır etinden alınan toplam 49 örnekte, *Salmonella* spp. analizi Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği kapsamında değerlendirilmiştir (TGK, 2025). Yönetmelikte, çiğ sığır etlerinde *Salmonella* kontaminasyonunun tespit edilmemesi gerektiği belirtilmiştir. Bu kapsamda yapılan analizlerde, 49 örneğin 4 (%8,16)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve *Salmonella* spp. sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>Salmonella</i> spp.
1	S1	Kartepe	-
2	S6	İzmit	-
3	S8	İzmit	-

4	S12	Kartepe	-
5	S13	Derince	-
6	S14	İzmit	-
7	S15	Gebze	-
8	S16	Karamürsel	-
9	S17	Kartepe	-
10	S18	Kartepe	-
11	S19	Kartepe	-
12	S55	Gebze	-
13	S57	Körfez	-
14	S59	Karamürsel	-
15	S60	Karamürsel	-
16	S71	Derince	-
17	S72	Gebze	-
18	S73	Çayırova	-
19	S74	Körfez	-
20	S75	Körfez	-
21	S76	Çayırova	-
22	S77	Gölcük	-
23	S78	Gölcük	-
24	S79	Başiskele	-
25	S80	Başiskele	-
26	S86	Başiskele	-
27	S87	Gölcük	-
28	S88	Karamürsel	+
29	S89	Kandıra	-
30	S90	Kandıra	-
31	S91	Kandıra	-
32	S92	Kandıra	-
33	S93	Kandıra	+
34	S94	Kandıra	-
35	S95	Kandıra	-
36	S96	Kandıra	-
37	S97	Kandıra	-
38	S98	Kandıra	-
39	S99	Kartepe	-
40	S100	Kartepe	-
41	S101	İzmit	-
42	S132	İzmit	+
43	S133	İzmit	+
44	S134	İzmit	-
45	S135	Çayırova	-
46	S173	Darica	-
47	S174	Darica	-
48	S175	Körfez	-

49	S219	Kandıra	-
----	------	---------	---

Çiğ tavuk eti örneklerinin *Salmonella* spp. analiz sonuçları Tablo 4.10.'da sunulmuştur. Çiğ tavuk eti örneklerinde *Salmonella* spp. %17,5 (7/40) oranında bulunmuştur.

Çiğ tavuk etinden alınan toplam 40 örnekte, *Salmonella* spp. varlığı Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği kapsamında değerlendirilmiştir (TGK, 2025). Yönetmeliğe göre, çiğ kanatlı etlerinde *Salmonella* spp. bulunmamalıdır. Bu kriter doğrultusunda yapılan analizlerde, 40 örneğin 7 (%17,5)'sinde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, çiğ tavuk etlerinde *Salmonella* varlığının mevzuatta belirtilen sınırların üzerinde olduğunu göstermektedir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve *Salmonella* spp. sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>Salmonella</i> spp.
1	T3	Başiskele	+
2	T5	İzmit	-
3	T7	İzmit	-
4	T9	İzmit	+
5	T10	İzmit	-
6	T23	Kandıra	-
7	T24	Kandıra	+
8	T25	Kandıra	-
9	T26	Gebze	-
10	T27	Gebze	-
11	T28	Darıca	-
12	T29	Darıca	-
13	T30	Körfez	-
14	T31	Körfez	-
15	T32	Körfez	-
16	T33	Çayırova	-
17	T34	Çayırova	-
18	T35	Dilovası	-
19	T49	İzmit	-
20	T56	Kartepe	+
21	T58	Kartepe	+
22	T123	Gölcük	-
23	T124	Gölcük	-
24	T125	Gölcük	-
25	T126	Karamürsel	-
26	T127	Karamürsel	-
27	T128	Gölcük	-

28	T129	Gölcük	-
29	T130	Gölcük	-
30	T131	Karamürsel	-
31	T151	Kandıra	-
32	T152	Kandıra	-
33	T153	Kandıra	+
34	T154	Kandıra	-
35	T155	Kandıra	-
36	T156	Kandıra	-
37	T157	Kandıra	-
38	T158	Derince	-
39	T159	Derince	-
40	T160	Kartepe	+

Balık eti örneklerinin *Salmonella* spp. analiz sonuçları Tablo 4.11.'da sunulmuştur. Balık eti örneklerinde *Salmonella* spp. %11,90 (5/42) oranında bulunmuştur.

Tablo 4.11. Balık eti örneklerinin alındığı yer ve *Salmonella* spp. sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>Salmonella</i> spp.
1	B61	Çayırova	-
2	B62	Çayırova	-
3	B63	Gebze	-
4	B64	Gebze	-
5	B65	Dilovası	-
6	B66	Dilovası	-
7	B67	Körfez	-
8	B68	Körfez	-
9	B69	Derince	-
10	B70	Derince	-
11	B81	Karamürsel	-
12	B82	Karamürsel	-
13	B83	Karamürsel	-
14	B84	Karamürsel	-
15	B85	Gölcük	-
16	B113	Gölcük	+
17	B114	Gölcük	-
18	B115	Başiskele	-
19	B116	Başiskele	-
20	B117	Başiskele	+
21	B118	İzmit	-
22	B119	İzmit	-
23	B120	İzmit	-

24	B121	Kartepe	-
25	B122	Kartepe	-
26	B136	Kandıra	-
27	B137	Kandıra	-
28	B138	Kandıra	-
29	B139	Kandıra	-
30	B140	Kandıra	-
31	B141	Kandıra	-
32	B142	Kandıra	+
33	B143	Kandıra	-
34	B144	Kandıra	+
35	B145	Kandıra	-
36	B146	Kartepe	-
37	B147	Kartepe	+
38	B148	İzmit	-
39	B149	İzmit	-
40	B150	İzmit	-
41	B172	Derince	-
42	B176	Derince	-

Yeşil filizlerden alınan toplam 44 örnekte yapılan *Salmonella* spp. analiz sonuçları Tablo 4.12’de sunulmuştur. Genel olarak değerlendirildiğinde, yeşil filiz örneklerinin 3 (%6,81)’ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. Ürün bazında incelendiğinde; marul örneklerinde *Salmonella* spp. varlığına rastlanmamış, maydanoz örneklerinin 1 (%6,66)’inde ve ıspanak örneklerinin 2 (%14,28)’sinde *Salmonella* spp. pozitifliği saptanmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’ne göre, tüketime hazır salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb. örneklerinde *Salmonella* spp. bulunmamalıdır. Bu kriter doğrultusunda değerlendirildiğinde, yeşil filizlere ait toplam 44 örnekten 3’ünde *Salmonella* spp. tespit edilmesi, yasal kriterlere uygun olmadığını göstermektedir (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Yeşil filiz örneklerinin alındığı yer ve *Salmonella* spp. sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	Ürün	<i>Salmonella</i> spp.
1	YF2	İzmit	Marul	-
2	YF4	Başiskele	Marul	-
3	YF11	Kartepe	Marul	-
4	YF20	Gölcük	Marul	-
5	YF21	Gölcük	Marul	-

6	YF22	Karamürsel	Marul	-
7	YF36	Kandıra	Maydanoz	-
8	YF37	Kandıra	Ispanak	-
9	YF38	Kandıra	Maydanoz	-
10	YF39	Kandıra	Maydanoz	+
11	YF40	Kandıra	Marul	-
12	YF41	Kandıra	Ispanak	-
13	YF42	Kandıra	Ispanak	-
14	YF43	Kandıra	Maydanoz	-
15	YF44	Kandıra	Ispanak	+
16	YF45	Kandıra	Ispanak	-
17	YF46	Kandıra	Marul	-
18	YF47	Gölcük	Maydanoz	-
19	YF48	Gölcük	Maydanoz	-
20	YF50	Karamürsel	Marul	-
21	YF51	Karamürsel	Maydanoz	-
22	YF52	Karamürsel	Maydanoz	-
23	YF53	Karamürsel	Marul	-
24	YF54	Karamürsel	Maydanoz	-
25	YF102	Gebze	Marul	-
26	YF103	Gebze	Maydanoz	-
27	YF104	Darica	Marul	-
28	YF105	Darica	Ispanak	+
29	YF106	Çayırova	Maydanoz	-
30	YF107	Çayırova	Maydanoz	-
31	YF108	Körfez	Marul	-
32	YF109	Körfez	Maydanoz	-
33	YF110	Dilovası	Maydanoz	-
34	YF111	Dilovası	Marul	-
35	YF161	İzmit	Maydanoz	-
36	YF162	İzmit	Marul	-
37	YF163	İzmit	Ispanak	-
38	YF164	İzmit	Ispanak	-
39	YF165	İzmit	Ispanak	-
40	YF166	Derince	Ispanak	-
41	YF167	Derince	Ispanak	-
42	YF168	Kartepe	Ispanak	-
43	YF169	Kartepe	Ispanak	-
44	YF170	Kartepe	Ispanak	-

Çiğ süt örneklerinin *Salmonella* spp. analiz sonuçları Tablo 4.13.'de sunulmuştur. Çiğ süt örneklerinde *Salmonella* spp. %6,66 (3/45)'sında tespit edilmiştir.

Tablo 4.13.Çiğ süt örneklerinin alındığı yer ve *Salmonella* spp. sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>Salmonella</i> spp.
1	ÇS112	Derince	-
2	ÇS171	Başiskele	-
3	ÇS177	Başiskele	-
4	ÇS178	Gebze	-
5	ÇS179	Gebze	+
6	ÇS180	Darica	-
7	ÇS181	Körfez	-
8	ÇS182	Körfez	-
9	ÇS183	Çayırova	-
10	ÇS184	Çayırova	+
11	ÇS185	Dilovası	-
12	ÇS186	Dilovası	-
13	ÇS187	Gölcük	-
14	ÇS188	Gölcük	-
15	ÇS189	Gölcük	-
16	ÇS190	Gölcük	-
17	ÇS191	Karamürsel	-
18	ÇS192	Karamürsel	-
19	ÇS193	Başiskele	-
20	ÇS194	Başiskele	-
21	ÇS195	Kandıra	-
22	ÇS196	Kandıra	-
23	ÇS197	Kandıra	-
24	ÇS198	Kandıra	-
25	ÇS199	Kandıra	-
26	ÇS200	Kandıra	-
27	ÇS201	Kandıra	-
28	ÇS202	Kandıra	-
29	ÇS203	Kandıra	-
30	ÇS204	Kandıra	-
31	ÇS205	Kartepe	-
32	ÇS206	Kartepe	-
33	ÇS207	Derince	-
34	ÇS208	İzmit	-
35	ÇS209	İzmit	-
36	ÇS210	İzmit	-
37	ÇS211	Kartepe	-
38	ÇS212	Kartepe	-
39	ÇS213	Kartepe	-
40	ÇS214	İzmit	-
41	ÇS215	Kandıra	-

42	ÇS216	Kandıra	-
43	ÇS217	Kandıra	-
44	ÇS218	Darıca	+
45	ÇS220	Kandıra	-

22/220 (%10) pozitif *Salmonella* spp. örneğin tanımlama ve tiplendirmesine göre 20/22 (%90,90) örnek *S. Enteritidis*, 1/22 (%4,54) örnek *S. Typhimurium* ve 1/22 (%4,54) örnek *S. Cholerassuis* olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.14.).

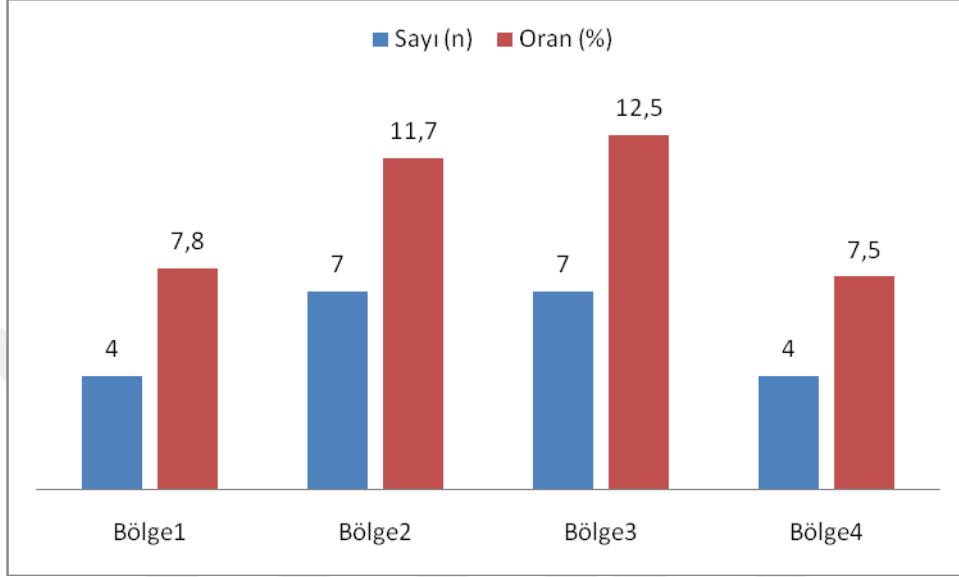
Tablo 4.14. *Salmonella* tanımlama ve tiplendireme sonuçları

SALMONELLA TANIMLAMA VE TİPLENDİRME					
SIRA NO	ÖRNEK NO	ALINAN YER	ÜRÜN	GRUP	TÜR ADI
1	T3	Başıskele	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
2	T9	İzmit	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
3	T24	Kandıra	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
4	YF39	Kandıra	Maydanoz	D	<i>S. Enteritidis</i>
5	YF44	Kandıra	Ispanak	D	<i>S. Enteritidis</i>
6	T56	Kartepe	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
7	T58	Kartepe	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
8	S88	Karamürsel	Sığır eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
9	S93	Kandıra	Sığır eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
10	YF105	Darıca	Ispanak	D	<i>S. Enteritidis</i>
11	B113	Gölcük	Balık eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
12	B117	Başıskele	Balık eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
13	S132	İzmit	Sığır eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
14	S133	İzmit	Sığır eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
15	B142	Kandıra	Balık eti	B	<i>S. Typhimurium</i>
16	B144	Kandıra	Balık eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
17	B147	Kartepe	Balık eti	C	<i>S. Cholerassuis</i>
18	T153	Kandıra	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
19	T160	Kartepe	Tavuk eti	D	<i>S. Enteritidis</i>
20	ÇS179	Gebze	Çiğ süt	D	<i>S. Enteritidis</i>
21	ÇS184	Çayırova	Çiğ süt	D	<i>S. Enteritidis</i>
22	ÇS218	Darıca	Çiğ süt	D	<i>S. Enteritidis</i>

Çalışmamızda farklı bölgelerden elde edilen gıda örneklerinde *Salmonella* spp. varlığı incelenmiş ve bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bölge 1’de %7,8, Bölge 2’de %11,7, Bölge 3’te %12,5 ve Bölge 4’te %7,5 oranında *Salmonella* spp. pozitifliği tespit edilmiştir (Tablo 4.15). Elde edilen bulgular, *Salmonella* spp. kontaminasyon oranlarının bölgeler arasında benzer düzeylerde seyrettiğini ve istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermediğini ortaya koymaktadır.

Tablo 4. 15. Bölgelere göre *Salmonella* spp. tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Bölge	Sayı (n)	Oran (%)
Bölge1	4	7,8
Bölge2	7	11,7
Bölge3	7	12,5
Bölge4	4	7,5

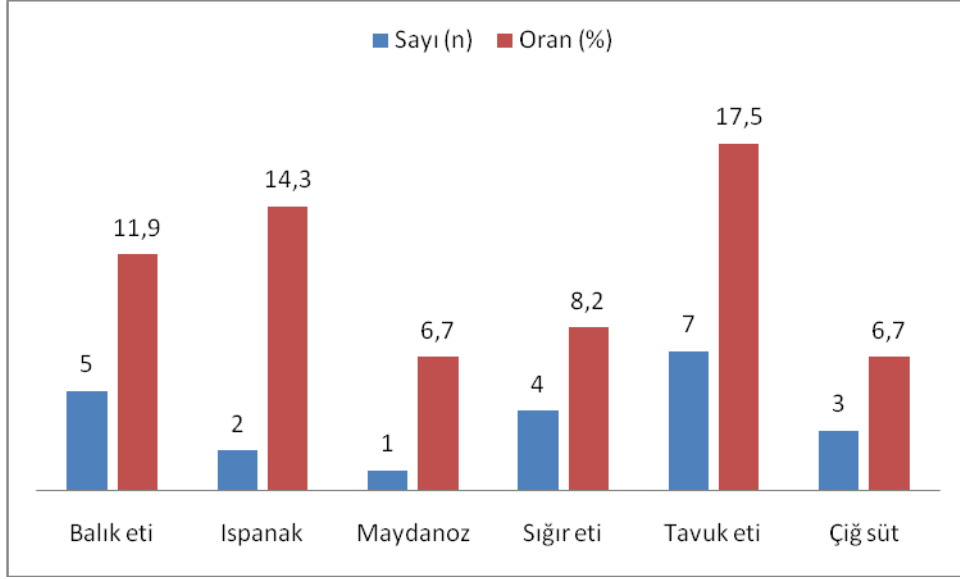


Şekil 4. 3. Bölgelere *Salmonella* spp. pozitiflik oranları (çubuk grafik)

Çalışmamızda farklı gıda ürünlerinde *Salmonella* spp. varlığı incelenmiş ve ürünler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Çiğ sığır eti, çiğ tavuk eti, balık eti, yeşil filiz ve çiğ süt örneklerinde *Salmonella* spp. pozitiflik oranları birbirine yakın bulunmuş, belirli bir ürün grubunda anlamlı bir yoğunlaşma saptanmamıştır (Tablo 4.16 ve Şekil 4.4).

Tablo 4. 16. Örneklere göre *Salmonella* spp. tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Örnek	Sayı (n)	Oran (%)
Balık eti	5	11,9
Ispanak	2	14,3
Maydanoz	1	6,7
Sığır eti	4	8,2
Tavuk eti	7	17,5
Çiğ süt	3	6,7



Şekil 4. 4. Örneklere göre *Salmonella* spp. pozitiflik oranları (çubuk grafik)

4.1.3. *L. monocytogenes*'in İzolasyonu ve Tanımlanması

Çiğ sığır eti örneklerinin *L. monocytogenes* analiz sonuçları Tablo 4.17’de sunulmuştur. Yapılan analizler sonucunda, çiğ sığır eti örneklerinde *L. monocytogenes* %2,04 (1/49) oranında tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’ne göre, çiğ kırmızı etlerde *L. monocytogenes* bulunmaması gerekmektedir (TGK, 2025). Bu kapsamda yapılan değerlendirmede, bir örnekte *L. monocytogenes* tespit edilmesi, söz konusu örneğin mevzuata uygun olmadığını göstermektedir.

Tablo 4.17. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve *L. monocytogenes* sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>L. monocytogenes</i>
1	S1	Kartepe	-
2	S6	İzmit	-
3	S8	İzmit	-
4	S12	Kartepe	-
5	S13	Derince	-
6	S14	İzmit	-
7	S15	Gebze	-
8	S16	Karamürsel	-
9	S17	Kartepe	-
10	S18	Kartepe	-
11	S19	Kartepe	-
12	S55	Gebze	-

13	S57	Körfez	-
14	S59	Karamürsel	-
15	S60	Karamürsel	-
16	S71	Derince	-
17	S72	Gebze	-
18	S73	Çayırova	-
19	S74	Körfez	-
20	S75	Körfez	-
21	S76	Çayırova	-
22	S77	Gölcük	-
23	S78	Gölcük	-
24	S79	Başiskele	-
25	S80	Başiskele	-
26	S86	Başiskele	-
27	S87	Gölcük	-
28	S88	Karamürsel	-
29	S89	Kandıra	-
30	S90	Kandıra	-
31	S91	Kandıra	-
32	S92	Kandıra	-
33	S93	Kandıra	-
34	S94	Kandıra	-
35	S95	Kandıra	-
36	S96	Kandıra	-
37	S97	Kandıra	-
38	S98	Kandıra	+
39	S99	Kartepe	-
40	S100	Kartepe	-
41	S101	İzmit	-
42	S132	İzmit	-
43	S133	İzmit	-
44	S134	İzmit	-
45	S135	Çayırova	-
46	S173	Darica	-
47	S174	Darica	-
48	S175	Körfez	-
49	S219	Kandıra	-

Çiğ tavuk eti örneklerinin *L. monocytogenes* analiz sonuçları Tablo 4.18’de sunulmuştur. Yapılan analizler sonucunda, çiğ tavuk eti örneklerinin %2,5 (1/40)’unda *L. monocytogenes* tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’ne göre, çiğ kanatlı etlerinde *L. monocytogenes* bulunmamalıdır. Bu çerçevede değerlendirildiğinde, analiz edilen tavuk

eti örneklerinden birinde *L. monocytogenes* tespit edilmesi, ilgili örneğin mevzuata uygun olmadığını göstermektedir (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve *L. monocytogenes* sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>L. monocytogenes</i>
1	T3	Başiskele	-
2	T5	İzmit	-
3	T7	İzmit	-
4	T9	İzmit	-
5	T10	İzmit	-
6	T23	Kandıra	-
7	T24	Kandıra	-
8	T25	Kandıra	-
9	T26	Gebze	-
10	T27	Gebze	-
11	T28	Darıca	-
12	T29	Darıca	-
13	T30	Körfez	-
14	T31	Körfez	-
15	T32	Körfez	-
16	T33	Çayırova	-
17	T34	Çayırova	-
18	T35	Dilovası	-
19	T49	İzmit	-
20	T56	Kartepe	-
21	T58	Kartepe	-
22	T123	Gölcük	-
23	T124	Gölcük	+
24	T125	Gölcük	-
25	T126	Karamürsel	-
26	T127	Karamürsel	-
27	T128	Gölcük	-
28	T129	Gölcük	-
29	T130	Gölcük	-
30	T131	Karamürsel	-
31	T151	Kandıra	-
32	T152	Kandıra	-
33	T153	Kandıra	-
34	T154	Kandıra	-
35	T155	Kandıra	-
36	T156	Kandıra	-
37	T157	Kandıra	-

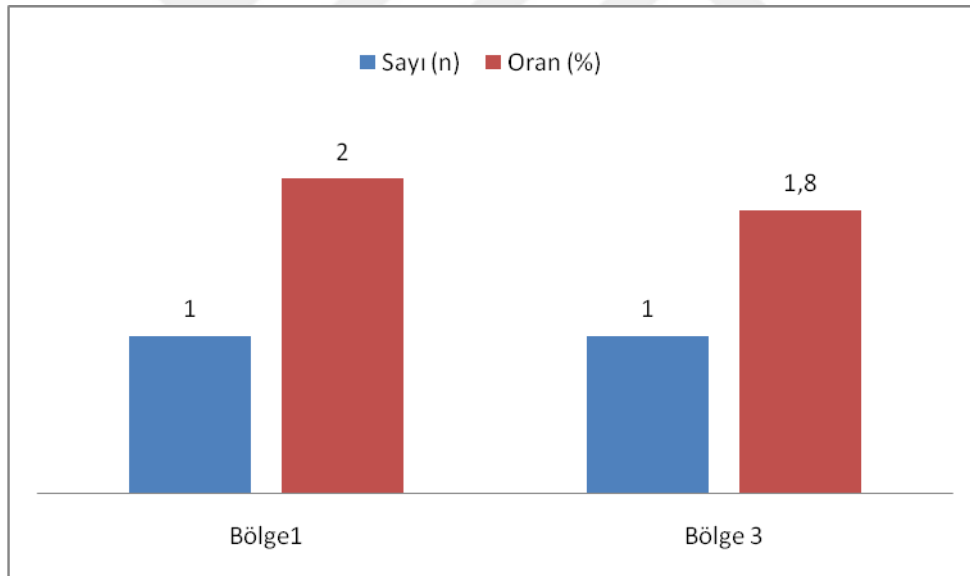
38	T158	Derince	-
39	T159	Derince	-
40	T160	Kartepe	-

Diğer ürün gruplarından balık eti, yeşil filiz ve çiğ süt örneklerinde *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda farklı bölgelerde *L. monocytogenes* varlığı incelenmiş ve bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bölge 1’de %2,0, Bölge 3’te %1,8 oranında *L. monocytogenes* tespit edilirken; Bölge 2 ve Bölge 4’te pozitif örneğe rastlanmamıştır. Tespit oranları birbirine yakın olup, bölgeler arasında belirgin bir dağılım farklılığı gözlenmemiştir (Tablo 4.19 ve Şekil 4.5).

Tablo 4. 19. Bölgelere göre *L. monocytogenes* tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Bölge	Sayı (n)	Oran (%)
Bölge1	1	2
Bölge3	1	1,8

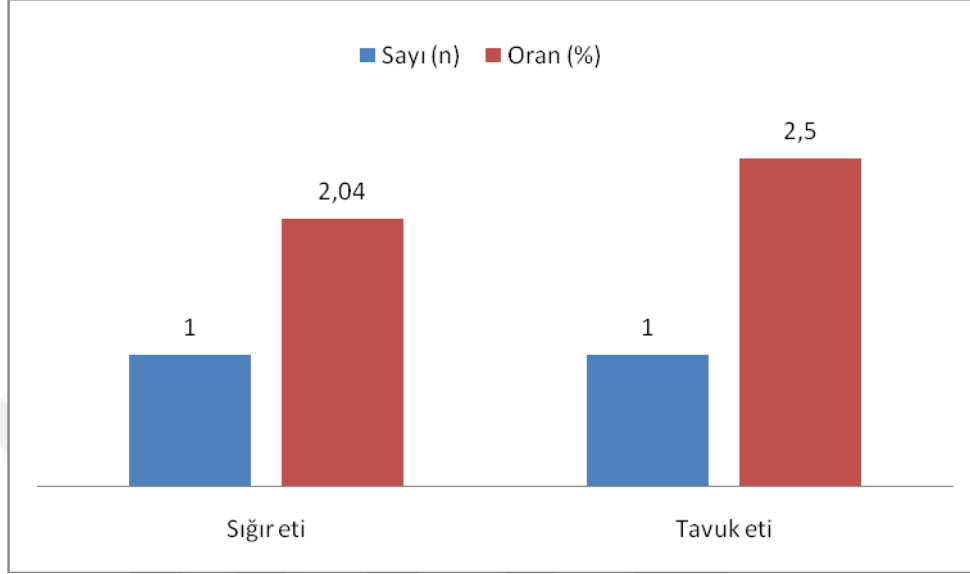


Şekil 4. 5. Bölgelere göre *L. monocytogenes* pozitiflik oranları (çubuk grafik)

Çalışmamızda farklı gıda ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığı incelenmiş ve ürünler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Çiğ sığır eti ve çiğ tavuk eti örneklerinde toplam iki pozitif sonuç elde edilirken, balık eti, yeşil filiz ve çiğ süt örneklerinde *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. Pozitiflik oranları düşük düzeyde seyretmiş ve ürün grupları arasında belirgin bir farklılık göstermemiştir (Tablo 4.20 ve Şekil 4.6).

Tablo 4. 20. Örneklere göre *L. monocytogenes* tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Ürün	Sayı (n)	Oran (%)
Sığır eti	1	2,04
Tavuk eti	1	2,5



Şekil 4. 6. Örneklere göre *L. monocytogenes* pozitiflik oranları (çubuk grafik)

7.1.4. *S. aureus* 'un İzolasyonu ve Tanımlanması

Çiğ sığır eti örneklerinin *S. aureus* (kob/g) analiz sonuçları Tablo 4.21.'de sunulmuştur. Çiğ sığır eti örneklerinde *S. aureus* (kob/g) %16,32 (8/49) oranında bulunmuştur. En yüksek $5,6 \times 10^2$ kob/g oranında bulunurken, en düşük 4×10^1 kob/g oranında bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği uyarınca, tüketime hazır olmayan gıdalarda *S. aureus* sayısı 10^4 kob/g değerini aşmamalıdır. Bu çalışmada çiğ sığır eti örneklerinde tespit edilen *S. aureus* düzeyleri, en yüksek $5,6 \times 10^2$ kob/g ve en düşük 4×10^1 kob/g olmak üzere, belirtilen yasal sınırın altında kalmıştır. Bir diğer kriter çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımları mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği kapsamında gıdalardaki kabul edilebilir *S. aureus* sayısı en fazla 5×10^3 kob/g olmalıdır. Çalışmamızda yer alan 49 sığır eti örneğinde, bu limitin üzerinde herhangi bir *S. aureus* tespiti yapılmamıştır (Tablo 4.21).

Tablo 4.21. Çiğ sığır eti örneklerinin alındığı yer ve *S. aureus* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>S. aureus</i> (kob/g)
1	S1	Kartepe	<10 kob/g
2	S6	İzmit	<10 kob/g

3	S8	İzmit	<10 kob/g
4	S12	Kartepe	<10 kob/g
5	S13	Derince	<10 kob/g
6	S14	İzmit	<10 kob/g
7	S15	Gebze	<10 kob/g
8	S16	Karamürsel	<10 kob/g
9	S17	Kartepe	<10 kob/g
10	S18	Kartepe	1,4x10 ² kob/g
11	S19	Kartepe	<10 kob/g
12	S55	Gebze	<10 kob/g
13	S57	Körfez	<10 kob/g
14	S59	Karamürsel	<10 kob/g
15	S60	Karamürsel	4x10 ¹ kob/g
16	S71	Derince	<10 kob/g
17	S72	Gebze	8x10 ¹ kob/g
18	S73	Çayırova	<10 kob/g
19	S74	Körfez	<10 kob/g
20	S75	Körfez	<10 kob/g
21	S76	Çayırova	<10 kob/g
22	S77	Gölcük	4x10 ¹ kob/g
23	S78	Gölcük	<10 kob/g
24	S79	Başiskele	<10 kob/g
25	S80	Başiskele	<10 kob/g
26	S86	Başiskele	<10 kob/g
27	S87	Gölcük	<10 kob/g
28	S88	Karamürsel	4,2x10 ² kob/g
29	S89	Kandıra	<10 kob/g
30	S90	Kandıra	<10 kob/g
31	S91	Kandıra	<10 kob/g
32	S92	Kandıra	<10 kob/g
33	S93	Kandıra	6x10 ¹ kob/g
34	S94	Kandıra	<10 kob/g
35	S95	Kandıra	<10 kob/g
36	S96	Kandıra	<10 kob/g
37	S97	Kandıra	5,6x10 ² kob/g
38	S98	Kandıra	4x10 ¹ kob/g
39	S99	Kartepe	<10 kob/g
40	S100	Kartepe	<10 kob/g
41	S101	İzmit	<10 kob/g
42	S132	İzmit	<10 kob/g
43	S133	İzmit	<10 kob/g
44	S134	İzmit	<10 kob/g
45	S135	Çayırova	<10 kob/g

46	S173	Darıca	<10 kob/g
47	S174	Darıca	<10 kob/g
48	S175	Körfez	<10 kob/g
49	S219	Kandıra	<10 kob/g

Çiğ tavuk eti örneklerinin *S. aureus* (kob/g) analiz sonuçları Tablo 4.22.'de sunulmuştur. Çiğ tavuk eti örneklerinde *S. aureus* (kob/g) %17,5 (7/45) oranında bulunmuştur. En yüksek $8,8 \times 10^2$ kob/g oranında bulunurken, en düşük $6,1 \times 10^1$ kob/g oranında bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre, tüketime hazır olmayan gıdalarda *S. aureus* sayısı 10^4 kob/g düzeyini aşmamalıdır. Bu çalışmada analiz edilen çiğ tavuk eti örneklerinde *S. aureus* sayısı en yüksek $8,8 \times 10^2$ kob/g ve en düşük $6,1 \times 10^1$ kob/g olarak belirlenmiş olup, yasal sınırın altında kalmıştır. Ayrıca aynı yönetmelik kapsamında Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları gıdalardaki kabul edilebilir *S. aureus* sayısı en fazla 5×10^3 kob/g olmalıdır (TGK, 2025). Çalışmamızda yer alan 40 tavuk eti örneğinde, bu limitin üzerinde herhangi bir *S. aureus* tespiti yapılmamıştır. Bu durum, çiğ tavuk eti örneklerinin mikrobiyolojik kriterler açısından mevzuata uygun olduğunu göstermektedir (Tablo 4.22).

Tablo 4.22. Çiğ tavuk eti örneklerinin alındığı yer ve *S. aureus* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>S. aureus</i> (kob/g)
1	T3	Başiskele	<10 kob/g
2	T5	İzmit	<10 kob/g
3	T7	İzmit	<10 kob/g
4	T9	İzmit	6×10^1 kob/g
5	T10	İzmit	8×10^1 kob/g
6	T23	Kandıra	<10 kob/g
7	T24	Kandıra	<10 kob/g
8	T25	Kandıra	<10 kob/g
9	T26	Gebze	<10 kob/g
10	T27	Gebze	<10 kob/g
11	T28	Darıca	<10 kob/g
12	T29	Darıca	<10 kob/g
13	T30	Körfez	<10 kob/g
14	T31	Körfez	<10 kob/g
15	T32	Körfez	<10 kob/g
16	T33	Çayırova	<10 kob/g

17	T34	Çayırova	<10 kob/g
18	T35	Dilovası	<10 kob/g
19	T49	İzmit	<10 kob/g
20	T56	Kartepe	<10 kob/g
21	T58	Kartepe	<10 kob/g
22	T123	Gölcük	8,2x10 ¹ kob/g
23	T124	Gölcük	<10 kob/g
24	T125	Gölcük	<10 kob/g
25	T126	Karamürsel	<10 kob/g
26	T127	Karamürsel	<10 kob/g
27	T128	Gölcük	8,8x10 ² kob/g
28	T129	Gölcük	3,4x10 ² kob/g
29	T130	Gölcük	<10 kob/g
30	T131	Karamürsel	8x10 ¹ kob/g
31	T151	Kandıra	<10 kob/g
32	T152	Kandıra	<10 kob/g
33	T153	Kandıra	<10 kob/g
34	T154	Kandıra	<10 kob/g
35	T155	Kandıra	1,2x10 ² kob/g
36	T156	Kandıra	<10 kob/g
37	T157	Kandıra	<10 kob/g
38	T158	Derince	<10 kob/g
39	T159	Derince	<10 kob/g
40	T160	Kartepe	<10 kob/g

Balık eti örneklerinin *S. aureus* (kob/g) analiz sonuçları Tablo 4.23.' de sunulmuştur. Balık eti örneklerinde *S. aureus* (kob/g) %47,61 (20/42) oranında bulunmuştur. En yüksek 3,3x10² kob/g oranında bulunurken, en düşük 4x10¹ kob/g oranında bulunmuştur.

Tablo 4.23. Balık eti örneklerinin alındığı yer ve *S. aureus* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>S. aureus</i> (kob/g)
1	B61	Çayırova	7x10 ¹ kob/g
2	B62	Çayırova	4x10 ¹ kob/g
3	B63	Gebze	8x10 ¹ kob/g
4	B64	Gebze	4x10 ¹ kob/g
5	B65	Dilovası	7x10 ¹ kob/g
6	B66	Dilovası	5x10 ¹ kob/g
7	B67	Körfez	4x10 ¹ kob/g

8	B68	Körfez	4×10^1 kob/g
9	B69	Derince	5×10^1 kob/g
10	B70	Derince	6×10^1 kob/g
11	B81	Karamürsel	<10 kob/g
12	B82	Karamürsel	<10 kob/g
13	B83	Karamürsel	<10 kob/g
14	B84	Karamürsel	<10 kob/g
15	B85	Gölcük	<10 kob/g
16	B113	Gölcük	<10 kob/g
17	B114	Gölcük	<10 kob/g
18	B115	Başiskele	<10 kob/g
19	B116	Başiskele	<10 kob/g
20	B117	Başiskele	<10 kob/g
21	B118	İzmit	<10 kob/g
22	B119	İzmit	<10 kob/g
23	B120	İzmit	<10 kob/g
24	B121	Kartepe	<10 kob/g
25	B122	Kartepe	<10 kob/g
26	B136	Kandıra	2×10^1 kob/g
27	B137	Kandıra	6×10^1 kob/g
28	B138	Kandıra	5×10^1 kob/g
29	B139	Kandıra	7×10^1 kob/g
30	B140	Kandıra	4×10^1 kob/g
31	B141	Kandıra	<10 kob/g
32	B142	Kandıra	<10 kob/g
33	B143	Kandıra	<10 kob/g
34	B144	Kandıra	<10 kob/g
35	B145	Kandıra	<10 kob/g
36	B146	Kartepe	$3,3 \times 10^2$ kob/g
37	B147	Kartepe	7×10^1 kob/g
38	B148	İzmit	$1,5 \times 10^2$ kob/g
39	B149	İzmit	8×10^1 kob/g
40	B150	İzmit	1×10^2 kob/g
41	B172	Derince	<10 kob/g
42	B176	Derince	<10 kob/g

Yeşil filiz örneklerinin *S. aureus* analiz sonuçları Tablo 4.24.'de sunulmuştur. Toplam yeşil filiz örneklerinde *S. aureus* %31,81 (14/44) oranında tespit edilmiştir. Bunların %20 (3/15)'si marulda, %46,66 (7/15)'si maydanozda ve son olarak %28,57 (4/14)'si ıspanakta tespit edilmiştir. *S. aureus* sayıları marulda en yüksek $6,8 \times 10^3$ kob/g oranında, en düşük 8×10^1 kob/g oranında, maydanozda en yüksek $3,6 \times 10^2$ kob/g, en düşük 3×10^1 kob/g

oranında ve ıspanakta en yüksek $2,8 \times 10^3$ kob/g, en düşük $2,4 \times 10^2$ kob/g oranında bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre, tüketime hazır gıdalarda *S. aureus* sayısı 10^3 kob/g, tüketime hazır olmayan gıdalarda ise 10^4 kob/g düzeyini aşmamalıdır. Bu çalışmada analiz edilen yeşil filiz örneklerinden marul, maydanoz ve ıspanakta elde edilen sonuçlara göre yalnızca bir marul örneğinde *S. aureus* sayısı $6,8 \times 10^3$ kob/g olarak tespit edilmiş ve bu değer tüketime hazır gıdalar için belirlenen sınır olan 10^3 kob/g'ı aşmıştır. Diğer tüm yeşil filiz örneklerinde ise tespit edilen bakteri düzeyleri yasal sınırların altında kalmıştır. Bu bulgular, özellikle çiğ tüketilen yeşil filizlerde hijyen uygulamalarının önemine işaret etmekte olup, marul örneklerinde sınırlı da olsa mevzuata aykırı örneklerin varlığı dikkat çekicidir (Tablo 4.24).

Tablo 4.24. Yeşil filiz örneklerinin alındığı yer ve *S. aureus* (kob/g) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	Örnek	<i>S. aureus</i> (kob/g)
1	YF2	İzmit	Marul	< 10 kob/g
2	YF4	Başiskele	Marul	< 10 kob/g
3	YF11	Kartepe	Marul	< 10 kob/g
4	YF20	Gölcük	Marul	< 10 kob/g
5	YF21	Gölcük	Marul	< 10 kob/g
6	YF22	Karamürsel	Marul	< 10 kob/g
7	YF36	Kandıra	Maydanoz	4×10^1 kob/g
8	YF37	Kandıra	Ispanak	1×10^2 kob/g
9	YF38	Kandıra	Maydanoz	< 10 kob/g
10	YF39	Kandıra	Maydanoz	6×10^1 kob/g
11	YF40	Kandıra	Marul	3×10^2 kob/g
12	YF41	Kandıra	Ispanak	< 10 kob/g
13	YF42	Kandıra	Ispanak	$7,2 \times 10^2$ kob/g
14	YF43	Kandıra	Maydanoz	$2,2 \times 10^2$ kob/g
15	YF44	Kandıra	Ispanak	< 10 kob/g
16	YF45	Kandıra	Ispanak	$2,4 \times 10^2$ kob/g
17	YF46	Kandıra	Marul	8×10^1 kob/g
18	YF47	Gölcük	Maydanoz	< 10 kob/g
19	YF48	Gölcük	Maydanoz	< 10 kob/g
20	YF50	Karamürsel	Marul	< 10 kob/g
21	YF51	Karamürsel	Maydanoz	$1,2 \times 10^2$ kob/g
22	YF52	Karamürsel	Maydanoz	< 10 kob/g
23	YF53	Karamürsel	Marul	< 10 kob/g

24	YF54	Karamürsel	Maydanoz	3,6x10 ² kob/g
25	YF102	Gebze	Marul	< 10 kob/g
26	YF103	Gebze	Maydanoz	< 10 kob/g
27	YF104	Darıca	Marul	< 10 kob/g
28	YF105	Darıca	Ispanak	< 10 kob/g
29	YF106	Çayırova	Maydanoz	< 10 kob/g
30	YF107	Çayırova	Maydanoz	< 10 kob/g
31	YF108	Körfez	Marul	6,8x10 ³ kob/g
32	YF109	Körfez	Maydanoz	2x10 ² kob/g
33	YF110	Dilovası	Maydanoz	< 10 kob/g
34	YF111	Dilovası	Marul	< 10 kob/g
35	YF161	İzmit	Maydanoz	3x10 ¹ kob/g
36	YF162	İzmit	Marul	< 10 kob/g
37	YF163	İzmit	Ispanak	< 10 kob/g
38	YF164	İzmit	Ispanak	< 10 kob/g
39	YF165	İzmit	Ispanak	< 10 kob/g
40	YF166	Derince	Ispanak	< 10 kob/g
41	YF167	Derince	Ispanak	< 10 kob/g
42	YF168	Kartepe	Ispanak	2,8x10 ³ kob/g
43	YF169	Kartepe	Ispanak	< 10 kob/g
44	YF170	Kartepe	Ispanak	< 10 kob/g

Çiğ süt örneklerinin *S. aureus* (kob/mL) analiz sonuçları Tablo 4.25.'de sunulmuştur. Çiğ süt örneklerinin 21/45 (%53,33)'inde *S. aureus* (kob/mL) tespit edilmiştir. *S. aureus* sayıları en yüksek 4,4x10⁶ kob/mL oranında bulunurken, en düşük 1,2x10² kob/mL oranında bulunmuştur.

Tablo 4.25. Çiğ süt örneklerinin alındığı yer ve *S. aureus* (kob/mL) sonuçları

Sıra No	Takip Sıra	Alınan Yer	<i>S. aureus</i> (kob/mL)
1	ÇS112	Derince	< 10 kob/mL
2	ÇS171	Başiskele	1,7x10 ⁵ kob/mL
3	ÇS177	Başiskele	4,4x10 ⁶ kob/mL
4	ÇS178	Gebze	1,1x10 ⁴ kob/mL
5	ÇS179	Gebze	1,2x10 ⁴ kob/mL
6	ÇS180	Darıca	1x10 ⁴ kob/mL
7	ÇS181	Körfez	< 10 kob/mL
8	ÇS182	Körfez	< 10 kob/mL
9	ÇS183	Çayırova	< 10 kob/mL

10	ÇS184	Çayırova	1,3x10 ² kob/mL
11	ÇS185	Dilovası	1,2x10 ² kob/mL
12	ÇS186	Dilovası	< 10 kob/mL
13	ÇS187	Gölcük	3,2x10 ² kob/mL
14	ÇS188	Gölcük	< 10 kob/mL
15	ÇS189	Gölcük	< 10 kob/mL
16	ÇS190	Gölcük	6,8x10 ² kob/mL
17	ÇS191	Karamürsel	5,7x10 ³ kob/mL
18	ÇS192	Karamürsel	< 10 kob/mL
19	ÇS193	Başiskele	< 10 kob/mL
20	ÇS194	Başiskele	3x10 ⁶ kob/mL
21	ÇS195	Kandıra	< 10 kob/mL
22	ÇS196	Kandıra	< 10 kob/mL
23	ÇS197	Kandıra	< 10 kob/mL
24	ÇS198	Kandıra	< 10 kob/mL
25	ÇS199	Kandıra	1x10 ³ kob/mL
26	ÇS200	Kandıra	< 10 kob/mL
27	ÇS201	Kandıra	< 10 kob/mL
28	ÇS202	Kandıra	< 10 kob/mL
29	ÇS203	Kandıra	1,6x10 ⁴ kob/mL
30	ÇS204	Kandıra	< 10 kob/mL
31	ÇS205	Kartepe	3,2x10 ⁴ kob/mL
32	ÇS206	Kartepe	< 10 kob/mL
33	ÇS207	Derince	< 10 kob/mL
34	ÇS208	İzmit	< 10 kob/mL
35	ÇS209	İzmit	1,7x10 ⁵ kob/mL
36	ÇS210	İzmit	< 10 kob/mL
37	ÇS211	Kartepe	3,7x10 ⁴ kob/mL
38	ÇS212	Kartepe	4,5x10 ³ kob/mL
39	ÇS213	Kartepe	< 10 kob/mL
40	ÇS214	İzmit	4x10 ³ kob/mL
41	ÇS215	Kandıra	1,4x10 ⁴ kob/mL
42	ÇS216	Kandıra	8x10 ⁴ kob/mL
43	ÇS217	Kandıra	< 10 kob/mL
44	ÇS218	Darica	< 10 kob/mL
45	ÇS220	Kandıra	2,3x10 ³ kob/mL

Çalışmamızda farklı bölgelerde *S. aureus* varlığı incelenmiş ve bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bölge 3'te %39,3, Bölge 4'te %34, Bölge 1'de %29,4 ve Bölge 2'de %25 oranında *S. aureus* tespit edilmiştir. Pozitiflik oranları arasında anlamlı farklılık bulunmaması, bakterinin analiz edilen bölgelerde benzer

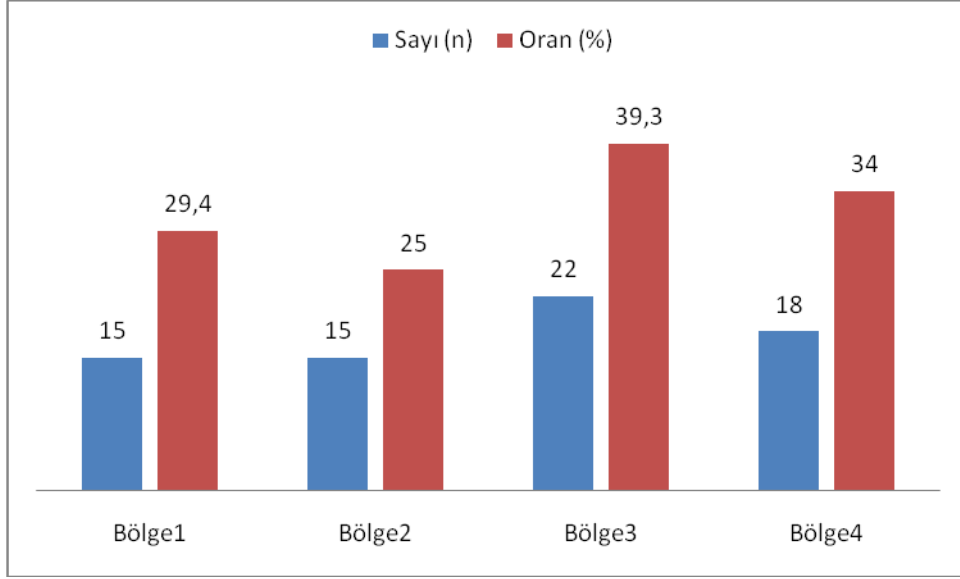
düzeylerde görüldüğünü ortaya koymaktadır (Tablo 4.26, 4.27 ve Şekil 4.7).

Tablo 4. 26. *S. aureus* koloni sayılarının bölgelere göre sıklık oranları

Bölge	Örnek Sayısı	<i>S. aureus</i>	Sayı (n)	Oran (%)
Bölge1	51	$0 < 1 \times 10^1$	36	70,6
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	4	7,8
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	7	13,7
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	1	2
		$\geq 1 \times 10^5 - < 1 \times 10^6$	1	2
		$\geq 1 \times 10^6 - < 5 \times 10^6$	2	3,9
Bölge2	60	$0 < 1 \times 10^1$	45	75
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	6	10
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	3	5
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	3	5
		$\geq 1 \times 10^4 - < 1 \times 10^5$	2	3,3
		$\geq 1 \times 10^5 - < 1 \times 10^6$	1	1,7
Bölge3	56	$0 < 1 \times 10^1$	34	60,7
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	10	17,9
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	7	12,5
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	2	3,6
		$\geq 1 \times 10^4 - < 1 \times 10^5$	3	5,4
Bölge4	53	$0 < 1 \times 10^1$	35	66
		$\geq 1 \times 10^1 - < 1 \times 10^2$	11	20,8
		$\geq 1 \times 10^2 - < 1 \times 10^3$	3	5,7
		$\geq 1 \times 10^3 - < 1 \times 10^4$	1	1,9
		$\geq 1 \times 10^4 - < 1 \times 10^5$	3	5,7

Tablo 4. 27. Bölgelere göre *S. aureus* tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Bölge	Sayı (n)	Oran (%)
Bölge1	15	29,4
Bölge2	15	25
Bölge3	22	39,3
Bölge4	18	34

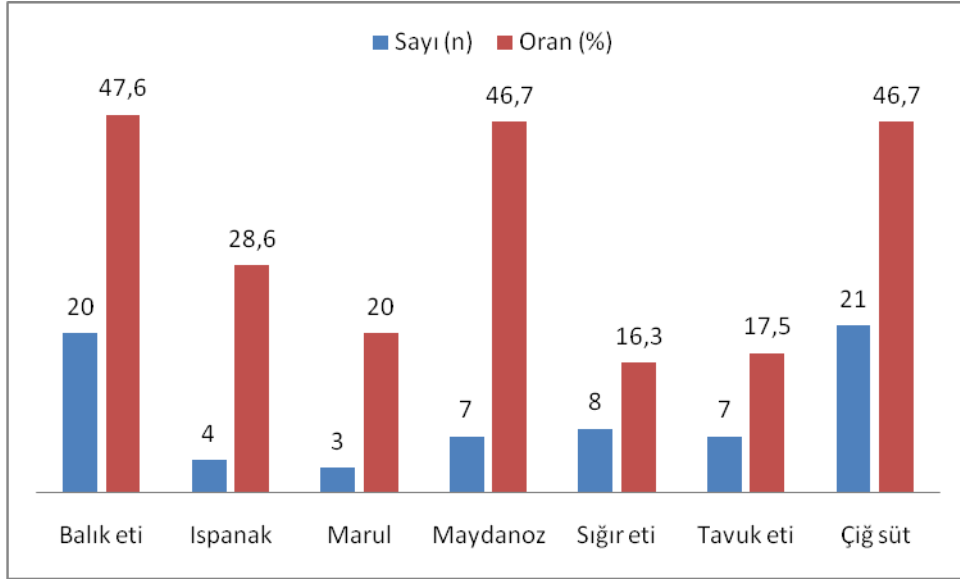


Şekil 4. 7. Bölgelere göre *S. aureus* pozitiflik oranları (çubuk grafik)

Çalışmamızda *S. aureus* kontaminasyonunun ürün bazında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Özellikle balık eti (%47,61; $p = 0.023$), çiğ süt (%46,66; $p = 0.027$), çiğ sığır eti (%16,32; $p = 0.014$) ve çiğ tavuk eti (%17,50; $p = 0.049$) örneklerinde *S. aureus* varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlar, incelenen ürünler arasında *S. aureus* kontaminasyonu açısından anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. 28. Örneklere göre *S. aureus* tespit edilen örnek sayısı ve oranları

Örnekler	Sayı (n)	Oran (%)
Balık eti	20	47,6
Ispanak	4	28,6
Marul	3	20
Maydanoz	7	46,7
Sığır eti	8	16,3
Tavuk eti	7	17,5
Çiğ süt	21	46,7



Şekil 4. 8. Örneklere göre *S. aureus* pozitiflik oranları (çubuk grafik)

4.1.5. *Shigella* spp. 'in İzolasyonu ve Tanımlanması

Çalışmamızda Çiğ sığır eti, Çiğ tavuk eti, Balık eti, Yeşil filiz ve Çiğ süt örneklerinde *Shigella* spp. tespit edilmemiştir.

4.2. Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) Serotiplerinin Moleküler Yöntemle İzolasyonu ve Tanımlanması

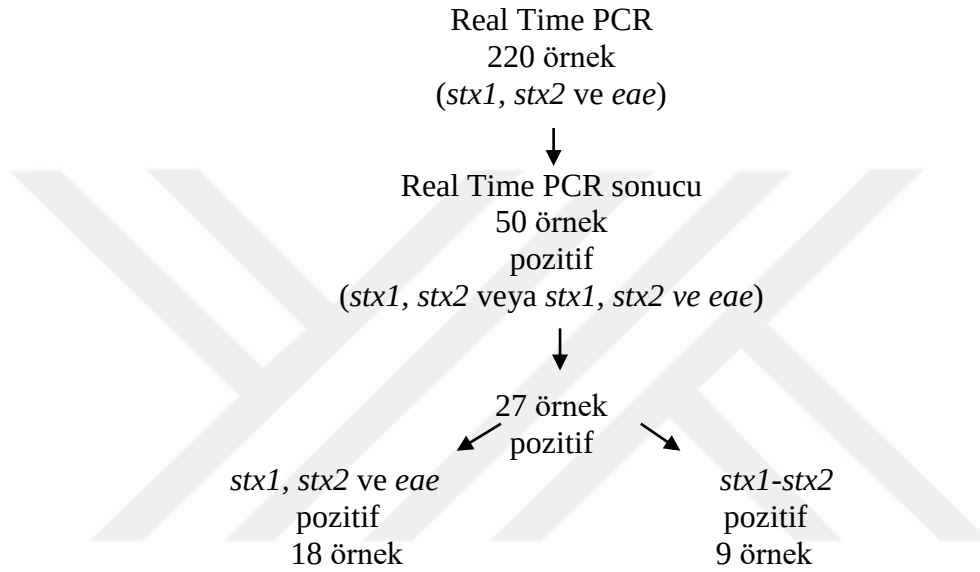
4.2.1. Örneklerin Taranması

Örneklerin taranması, *stx* ve/veya *eae* genlerinin varlığını belirlemeye yönelik olarak qPCR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yalnızca bir veya daha fazla hedef genin pozitif olarak saptandığı örnekler değerlendirmeye alınmıştır. Virülans genlerine ilişkin pozitiflik oranları ve ilgili örnek sayıları Tablo 4.29'da ayrıntılı olarak sunulmuştur. Herhangi bir hedef genin tespit edilmediği örnekler tabloya dahil edilmemiştir.

Tablo 4.29. qPCR ile *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri pozitif olarak tespit edilen örnek sayılarının gıda türlerine ve gen kombinasyonlarına göre dağılımı

Örnek Kategorisi	Örnek Sayısı	Gen Varlığına Göre Dağılım						
		<i>stx1-stx2-eae</i>	<i>stx1-eae</i>	<i>stx2-eae</i>	<i>stx1-stx2</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>
Çiğ sığır eti	49	10	1	1	2	0	2	3
Çiğ tavuk eti	40	1	0	1	0	1	0	4
Balık eti	42	1	0	0	0	0	0	5
Yeşil filiz	44	0	0	1	0	0	0	5
Çiğ süt	45	1	0	1	2	1	1	6
Toplam	220	13	1	4	4	2	3	23

Yapılan qPCR analizi sonucunda, zenginleştirme besiyerlerinden elde edilen toplam 220 gıda örneği taranmış ve bu örneklerin 50'sinde hedef genler olan *stx1*, *stx2* ve *eae*'den en az biri pozitif olarak tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin dağılımına bakıldığında; 23'ünde yalnızca *eae*, 13'ünde *stx1*, *stx2* ve *eae*, birinde *stx1* ve *eae*, 4'ünde *stx2* ve *eae*, 3'ünde *stx1* ve *stx2*, 3'ünde yalnızca *stx2* ve 3'ünde yalnızca *stx1* genleri pozitif bulunmuştur. Bu 50 pozitif örnekten, *stx* ve *eae* genlerinin birlikte veya sadece *stx* tespit edilen toplam 27 örnek, STEC izolasyonu ve elde edilen izolatların karakterizasyonu amacıyla ileri analizlere alınmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9. qPCR ile taranan 220 gıda örneğinde tespit edilen hedef genlerin dağılımı ve STEC açısından değerlendirilen pozitif örnek sayıları

Tespit edilen 27 STEC pozitif örneğin; %59,25 (16/27)'i çiğ sığır eti, %22,22 (6/27)'si çiğ süt, %11,11 (3/27)'i çiğ tavuk eti, %3,70 (1/27)'i balık eti ve %3,70 (1/27)'i yeşil filiz (marul) örneklerinden elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, hedef genlerin en sık tespit edildiği ürün grubu çiğ sığır eti olmuştur (Tablo 4.30).

Tablo 4.30. *stx* ve/veya *eae* pozitif örneklerin ürün gruplarına göre dağılımı

SIRA NO	Takip Sıra	ALINAN YER	ÜRÜN	STEC GEN		
				<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>
1	S72	Gebze	Sığır eti	+	+	+
2	S73	Çayırova	Sığır eti	+	+	-
3	S74	Körfez	Sığır eti	+	+	+
4	S75	Körfez	Sığır eti	+	+	+
5	S77	Gölcük	Sığır eti	-	+	-
6	S86	Başiskele	Sığır eti	+	+	-
7	S88	Karamürsel	Sığır eti	-	+	-
8	S89	Kandıra	Sığır eti	+	+	+

9	S91	Kandıra	Sığır eti	+	+	+
10	S93	Kandıra	Sığır eti	+	+	+
11	S95	Kandıra	Sığır eti	+	-	+
12	S98	Kandıra	Sığır eti	+	+	+
13	S99	Kartepe	Sığır eti	+	+	+
14	S133	İzmit	Sığır eti	-	+	+
15	S134	İzmit	Sığır eti	+	+	+
16	S135	Çayırova	Sığır eti	+	+	+
17	T25	Kandıra	Tavuk eti	+	-	-
18	T49	İzmit	Tavuk eti	-	+	+
19	T128	Gölcük	Tavuk eti	+	+	+
20	B117	Başiskele	Balık eti	+	+	+
21	YF46	Kandıra	Marul	-	+	+
22	ÇS180	Darıca	Çiğ süt	-	+	+
23	ÇS186	Dilovası	Çiğ süt	+	+	-
24	ÇS194	Başiskele	Çiğ süt	+	+	+
25	ÇS198	Kandıra	Çiğ süt	+	+	-
26	ÇS207	Derince	Çiğ süt	+	-	-
27	ÇS215	Kandıra	Çiğ süt	-	+	-

4.2.2. STEC'in İzolasyonu

Şüpheli kolonilerden ekim yapılarak havuzlar oluşturulmuş ve bu havuzlar, qPCR ile *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri açısından test edilmiştir. Test sonucunda, bu genlerden bir veya daha fazlasını taşıyan 27 örnek tespit edilmiştir.

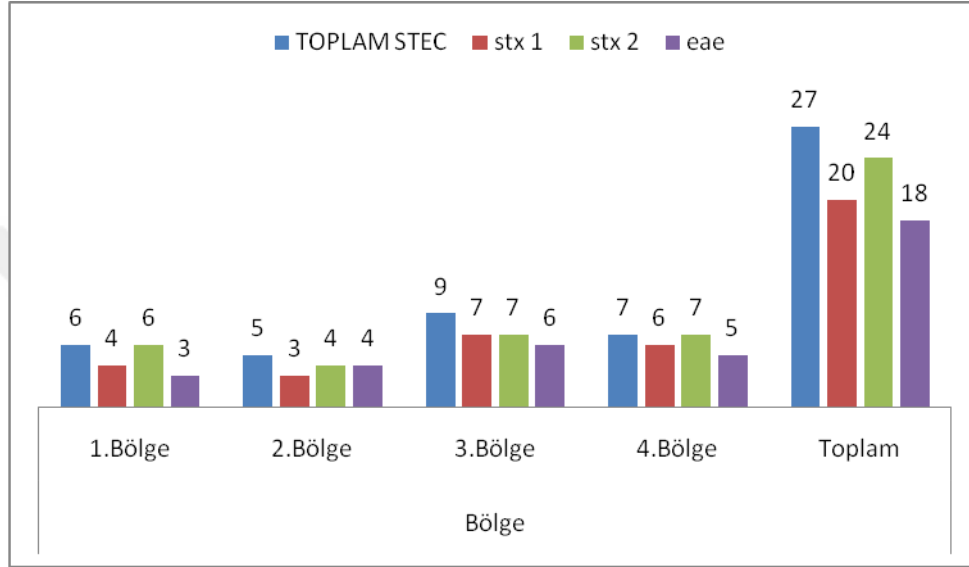
Pozitif sonuç veren havuzlardan, her bir koloninin tek tek doğrulanması için qPCR yöntemiyle *stx1*, *stx2* ve *eae* genleri açısından ayrı ayrı testler yapılmıştır. Sonuç olarak, 27 örneğin 20'si *stx1*, 24'ü *stx2* ve 18'i *eae* genleri açısından pozitif bulunmuştur (Tablo 4.31.).

Daha sonra bu izolatlar qPCR ile O-serotiplerinin (O111, O103, O26, O45, O121, O145, O104 ve O157) tespiti için analiz edilmiştir.

Tablo 4. 31. Bölgelere göre örneklerdeki *stx* ve *eae* genlerin dağılımı

Bölge	Gen, n (%)					
	<i>eae</i>		<i>stx1</i>		<i>stx2</i>	
	pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)
1. Bölge (n=6)	3 (50)	3 (50)	4 (66,7)	2 (33,3)	6 (100)	-
2. Bölge (n=5)	4 (80)	1 (20)	3 (60)	2 (40)	4 (80)	1 (20)
3. Bölge (n=9)	6 (66,7)	3 (33,3)	7 (77,8)	2 (22,2)	7 (77,8)	2 (22,2)
4. Bölge (n=7)	5 (71,4)	2 (28,6)	6 (85,7)	1 (14,3)	7 (100)	-
Toplam (n=27)	18 (66,7)	9 (33,3)	20 (74,1)	7 (25,9)	24 (88,9)	3 (11,1)

Zenginleştirme besiyerinden yapılan qPCR analizine göre, *stx1*, *stx2* veya *eae* genlerinden en az birini taşıyan toplam 27 (%12,27) örnek, CHROMagar STEC'e ekilmiştir. CHROMagar STEC üzerinde büyüyen 3-5 koloni seçilmiş ve bu kolonilerden en yaygın STEC serotiplerinin tespiti için serotiplendirme yapılmıştır. Bu 27 STEC pozitif örnekte, sırasıyla 20 örnekte *stx1* (%74,1), 24 örnekte *stx2* (%88,9) ve 18 örnekte *eae* (%66,7) genleri tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. Bölgelere göre örneklerdeki *stx* ve *eae* genlerini gösteren çubuk grafik

Toplam 220 örneğin qPCR ile taranması sonucunda, virülans genleri (*stx1*, *stx2* ve/veya *eae*) pozitif olarak değerlendirilen örnekler serotiplerine göre tanımlanmıştır. Bu analizler sonucunda toplam 27 STEC pozitif örnek elde edilmiştir. Bu örneklerin %59,25 (16/27)'i çiğ sığır etinden, %11,11 (3/27)'i çiğ tavuk etinden, %3,70 (1/27)'i balık etinden, %3,70 (1/27)'i yeşil filiz (marul) örneğinden ve %22,22 (6/27)'si çiğ süt örneklerinden oluşmaktadır (Tablo 4.33).

Tablo 4.32. qPCR ile taramada virülans genleri pozitif olan örneklerin serotip dağılımı

Takip Sıra	ALINAN YER İLÇE	ÜRÜN	STEC GEN			SEROTİP							
			<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	O 157	O 121	O45	O 103	O 26	O 111	O 145	O 104
S72	Gebze	Sığır eti	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
S73	Çayırova	Sığır eti	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
S74	Körfez	Sığır eti	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
S75	Körfez	Sığır eti	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
S77	Gölcük	Sığır eti	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
S86	Başiskele	Sığır eti	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
S88	Karamürsel	Sığır eti	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-

S89	Kandıra	Sığır eti	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
S91	Kandıra	Sığır eti	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
S93	Kandıra	Sığır eti	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
S95	Kandıra	Sığır eti	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
S98	Kandıra	Sığır eti	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
S99	Kartepe	Sığır eti	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
S133	İzmit	Sığır eti	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
S134	İzmit	Sığır eti	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
S135	Çayırova	Sığır eti	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
T25	Kandıra	Tavuk eti	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
T49	İzmit	Tavuk eti	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
T128	Gölcük	Tavuk eti	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
B117	Başiskele	Balık eti	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
YF46	Kandıra	Marul	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ÇS180	Darıca	Çiğ süt	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
ÇS186	Dilovası	Çiğ süt	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ÇS194	Başiskele	Çiğ süt	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
ÇS198	Kandıra	Çiğ süt	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ÇS207	Derince	Çiğ süt	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
ÇS215	Kandıra	Çiğ süt	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-

Toplam 220 örnekten 13 (%5,90)'ünde yalnızca tek bir serotip tespit edilirken, 9 (%4,09)'unda iki serotip ve 5 (%2,27)'inde üç serotip aynı anda belirlenmiştir. Tek serotip tespit edilen örnekler arasında; O157 serotipi 6 (%2,72) örnekte, O45 serotipi 2 (%0,90) örnekte, O103 serotipi 4 (%1,81) örnekte ve O111 serotipi 1 (%0,45) örnekte saptanmıştır (Tablo 4.34).

Tablo 4.33. qPCR ile taramada virülans genleri pozitif olan örneklerin dağılımı

Serotipler	Toplam Örnek Sayısı (%)	Gıda Türü				
		Çiğ sığır eti	Çiğ tavuk eti	Balık eti	Yeşil filiz	Çiğ süt
O157	6 (%2,72)	4	-	1	-	1
O45	2 (%0,90)	1	-	-	-	1
O103	4 (%1,81)	1	1	-	1	1
O111	1 (%0,45)	-	-	-	-	1
O157,O45	2 (%0,90)	1	1	-	-	-
O157, O45, O121	1 (%0,45)	1	-	-	-	-
O121, O45, O103	2 (%0,90)	2	-	-	-	-
O121, O103	1 (%0,45)	-	-	-	-	1
O45, O103	1 (%0,45)	-	1	-	-	-
O103, O26	2 (%0,90)	2	-	-	-	-
O103, O145	1 (%0,45)	1	-	-	-	-

O103, O26, O104	1 (%0,45)	1	-	-	-	-
O103, O104	2 (%0,90)	2	-	-	-	-
O103, O26, O111	1 (%0,45)	-	-	-	-	1
Toplam	27 (%12,27)	16	3	1	1	6

Toplam 220 örnekte yapılan analizler sonucunda, 27 (%12,27) örnekte STEC varlığı belirlenmiştir. Bu 27 örnek CHROMagar™ STEC besiyerine ekilerek inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, bu besiyerinde gelişen koloniler seçilmiş, havuzlar oluşturulmuştur. Bu havuzlardan *stx1*, *stx2* ve *eae* genlerini taşıyan kolonilerin belirlenebilmesi amacıyla qPCR ile ayrı ayrı analiz edilmiştir. Bu analizler sonucunda toplam 46 izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatlara göre; 15 (%32,60)'i O103, 9 (%19,56)'u O157, 8 (%17,39)'i O45, 4 (%8,69)'ü O121, 4 (%8,69)'ü O26, 3 (%6,52)'ü O104, 2 (%4,34)'si O111 ve 1 (%2,17)'i O145 serotipi olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.35).

Tablo 4.34. STEC izolatlarında bölge, ürün, gen ve serotip dağılımı

Bölge	Ürün	İzolat Numarası*	stx gen		eae	Serotip
			stx1	stx2		
1. Bölge	Çiğ sığır eti	77-1	-	+	-	O157
1. Bölge	Çiğ sığır eti	86-1	+	+	-	O103
		86-2	-	+	-	O145
1. Bölge	Çiğ sığır eti	88-1	-	+	-	O45
1. Bölge	Çiğ tavuk eti	128-1	+	+	+	O157
		128-2	+	-	-	O45
1. Bölge	Balık eti	117-1	+	+	+	O157
1. Bölge	Çiğ süt	194-1	+	+	+	O103
		194-2	-	+	+	O26
		194-3	-	+	-	O111
2. Bölge	Çiğ sığır eti	99-1	+	+	+	O103
		99-2	+	-	-	O104
2. Bölge	Çiğ sığır eti	133-1	-	+	+	O121
		133-2	-	+	-	O45
		133-3	-	+	-	O103
2. Bölge	Çiğ sığır eti	134-1	+	+	+	O157
2. Bölge	Çiğ tavuk eti	49-1	-	+	+	O45
		49-2	-	+	-	O103
2. Bölge	Çiğ süt	207-1	+	-	-	O45
3. Bölge	Çiğ sığır eti	89-1	+	+	-	O103
		89-2	+	+	+	O26
		89-3	-	+	-	O104
3. Bölge	Çiğ sığır eti	91-1	+	+	+	O103
3. Bölge	Çiğ sığır eti	93-1	+	+	+	O103

		93-2	+	-	-	O104
3. Bölge	Çiğ sığır eti	95-1	+	-	-	O103
		95-2	+	-	+	O26
3. Bölge	Çiğ sığır eti	98-1	+	+	+	O157
		98-2	+	-	-	O121
		98-3	+	-	-	O45
3. Bölge	Çiğ tavuk eti	25-1	+	-	-	O103
3. Bölge	Marul	46-1	-	+	+	O103
3. Bölge	Çiğ süt	198-1	+	+	-	O103
3. Bölge	Çiğ süt	215-1	-	+	-	O121
		215-2	-	+	-	O103
4. Bölge	Çiğ sığır eti	72-1	+	-	+	O121
		72-2	-	+	-	O45
		72-3	+	-	+	O103
4. Bölge	Çiğ sığır eti	73-1	+	-	-	O103
		73-2	+	+	-	O45
4. Bölge	Çiğ sığır eti	74-1	+	+	+	O157
		74-2	+	-	-	O45
4. Bölge	Çiğ sığır eti	75-1	+	+	+	O157
4. Bölge	Çiğ sığır eti	135-1	+	+	+	O157
4. Bölge	Çiğ süt	180-1	-	+	+	O111
4. Bölge	Çiğ süt	186-1	+	+	-	O157

*: Bu 27 örnekten toplam 46 izolat elde edildi.+: Gen mevcut. -: Gen mevcut değil.

Bu çalışmada farklı gıda örneklerinde STEC ve ilgili genlerin (*stx1*, *stx2* ve *eae*) varlığı değerlendirilmiş ve örnek türleri arasında istatistiksel farklılıklar analiz edilmiştir. STEC pozitiflik oranı çiğ sığır eti örneklerinde %32,65 olarak belirlenmiş ve bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). Yeşil filiz örneklerinde %2,27 ($p=0.024$) ve balık eti örneklerinde %2,38 ($p=0.030$) oranlarında pozitiflik tespit edilmiş olup, bu oranlar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çiğ süt örneklerinde STEC pozitiflik oranı %13,33 olarak bulunmasına rağmen, bu değer istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.37).

Tablo 4. 35. Örnek türüne göre *stx* ve *eae* genlerinin dağılımı ve istatistiksel analizi (n%)

Örnekler	STEC			<i>stx1</i>			<i>stx2</i>			<i>eae</i>		
	Pozitif (n=27)	Negatif (n=193)	p değeri	Pozitif (n=20)	Negatif (n=200)	p değeri	Pozitif (n=24)	Negatif (n=196)	p değeri	Pozitif (n=18)	Negatif (n=202)	p değeri
Çiğ sığır eti (n=49)	16 (%32,65)	33 (%67,34)	$p<0.0001$	13 (%26,53)	36 (%73,46)	$p<0.0001$	15 (%30,61)	34 (%69,38)	$p<0.0001$	12 (%24,48)	37 (%75,51)	$p<0.0001$
Diğer (n=171)	11 (%6,43)	160 (%93,56)		7 (%4,09)	164 (%95,90)		9 (%5,26)	162 (%94,73)		6 (%3,50)	165 (%96,49)	
Çiğ tavuk eti (n=40)	3 (%7,50)	37 (%92,50)	≥ 0.05	2 (%5,0)	38 (%95,0)	≥ 0.05	2 (%5,0)	38 (%95,0)	≥ 0.05	2 (%5,0)	38 (%95,0)	≥ 0.05
Diğer	24	156		18	162		22	158		16	164	

(n=180)	(%13,33)	(%86,66)		(%10,0)	(%90,0)		(%12,22)	(%87,77)		(%8,88)	(%91,11)	
Balık eti (n=42)	1 (%2,38)	41 (%97,61)	0.030	1 (%2,38)	41 (%97,61)	≥ 0.05	1 (%2,38)	41 (%97,61)	0.041	1 (%2,38)	41 (%97,61)	≥ 0.05
Diğer (n=178)	26 (%14,60)	152 (%85,39)		19 (%10,67)	159 (%89,32)		23 (%12,92)	155 (%87,07)		17 (%9,55)	161 (%90,4%)	
Yeşil filiz (n=44)	1 (%2,27)	43 (%97,72)	0.024	-	44 (%100)	0.019	1 (%2,27)	43 (%97,72)	0.034	1 (%2,27)	43 (%97,72)	≥ 0.05
Diğer (n=176)	26 (%14,77)	150 (%85,22)		20 (%11,36)	156 (%88,63)		23 (%13,06)	153 (%86,93)		17 (%9,65)	159 (%90,34)	
Çiğ süt (n=45)	6 (%13,33)	39 (%86,66)	≥ 0.05	4 (%8,88)	41 (%91,11)	≥ 0.05	5 (%11,11)	40 (%88,88)	≥ 0.05	2 (%4,44)	43 (%95,55)	≥ 0.05
Diğer (n=175)	21 (%12,0)	154 (%88,0)		16 (%9,14)	159 (%90,85)		19 (%10,85)	156 (%89,14)		16 (%9,14)	159 (%90,85)	



5- TARTIŞMA

Gıda güvenliği, küresel halk sağlığı açısından kritik bir konu olup, gıdayla bulaşan patojenlerin neden olduğu hastalıklar bireysel sağlığın ötesinde, toplum sağlığı, sağlık sistemleri ve ekonomik yapılar üzerinde de önemli etkiler yaratmaktadır. Bu tür hastalıkların yaygınlığı ve ciddiyeti, güvenli gıda üretimi, dağıtımı ve tüketimi süreçlerinin titizlikle ele alınmasını zorunlu kılmaktadır. (Wei & Zhao, 2021). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, her yıl dünya genelinde insanların yaklaşık %10'u kontamine gıdaların tüketimine bağlı olarak çeşitli hastalıklara yakalanmakta, bu durum halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. (B. Franz, 2019). *Salmonella* ve *L. monocytogenes*, düşük konsantrasyonlarda bile hızla enfeksiyona yol açabilen ve gıda kaynaklı hastalıklara sıkça neden olan yaygın patojenler arasında yer almaktadır. (Dai ve ark., 2023).

Et ve et ürünlerinin tüketimi yoluyla insanlara bulaşabilen zoonotik bakteriyel patojenler; gastrointestinal rahatsızlıklardan ölümcül hastalıklara kadar uzanan geniş bir hastalık spektrumuna neden olabilmektedir. *E. coli*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Brucella* spp. ve *M. bovis* gibi bakteriler ile *S. aureus*, *Clostridium* spp. ve *B. cereus* gibi toksin üreten türler, et kaynaklı bakteriyel zoonozların başlıca etkenleri arasında yer almaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde bu hastalıkların görülme sıklığının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Ali & Alsayeqh, 2022).

Bu çalışmada, toplam 220 adet çiğ hayvansal ve bitkisel örneklerinde (49 adet çiğ sığır eti, 40 adet çiğ tavuk eti, 42 adet balık eti, 44 adet yeşil filiz (15 adet marul, 15 adet maydanoz ve 14 adet ıspanak) ve 45 adet çiğ süt) *E. coli* serotipleri başta olmak üzere, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *L. monocytogenes* ve *S. aureus* gibi halk sağlığını tehdit eden önemli gıda kaynaklı patojenlerin prevalansı incelenmiştir. Çalışmamız, hem hayvansal hemde bitkisel farklı gıda gruplarında patojen kontaminasyonunun mevcut olduğunu ortaya koyarak, bu patojenlerin farklı gıda zincirlerinde yayılım alanlarını değerlendirmiştir.

5.1. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde Patojen Varlığı

Hayvansal kökenli ürünlerin uluslararası ticaretinin artmasıyla birlikte, gıda kaynaklı patojenlerin küresel yayılımı önemli bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Yapılan

araştırmalar, etlerin *Salmonella* spp., Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) ve *L. monocytogenes* gibi patojen mikroorganizmalar için bir vektör görevi görebileceğini göstermiştir (Jansen, Grabowski, Gerulat, & Klein, 2016). Özellikle sığır eti, zaman zaman çiğ veya yeterince pişirilmeden tüketilmektedir. Bu nedenle, canlı patojenlerin doğrudan veya çapraz kontaminasyon yoluyla dolaylı yoldan alınma riski artmaktadır. Bu bağlamda, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, STEC ve özellikle *S. aureus*, gıda kaynaklı en önemli patojenler arasında yer almakta ve büyük halk sağlığı tehditlerinden bazılarıdır (EFSA, 2022). Özellikle STEC, genellikle kontamine olmuş çiğ sığır eti ile ilişkilendirilmekte ve STEC salgınlarının %52'sinden fazlasının sığır ürünleri ile bağlantılı olduğu tahmin edilmektedir (V. S. Castro ve ark., 2019).

5.1.1. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde *E.coli* Varlığı

Çalışmamızda 49 çiğ sığır eti örneğinin 27 (%55,10)'sinde *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerde *E. coli* yoğunluğu en yüksek $7,4 \times 10^4$ ($4,86 \log_{10}$) kob/g, en düşük ise 1×10^1 ($1 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Bursa'da 50 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmada, yalnızca 9 (%18) örnekte *E.coli* varlığı tespit edilmiştir (Günşen & Büyükyörük, 2014). Bolu'da yapılan çalışmada 56 sığır eti örneğinin 14 (%25)'ünde *E.coli* tespit edildiği bildirilmiş, ortalama koloni sayımı $6,4 \times 10^2$ MPN/g ($2,81 \log_{10}$ kob/g) olarak hesaplanmıştır (Eyi & Arslan, 2012). Bu çalışmalardaki sonuçlar araştırmamızdan daha düşük düzeydedir. Tokat ilinde 18 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmada, 10 örnekte *E.coli* tespit etmiş olup, bu oran araştırmamızla benzer düzeydedir (Öncül & Yıldırım, 2019). Ankara ilinde yapılan bir çalışmada, 30 adet parça etin 20' sinde ve 30 adet karkas etin 12'sinde *E.coli* varlığı belirlemiş, buna göre parça etlerde en yüksek $7,2 \times 10^5$ kob/gr olarak, en düşük $3,2 \times 10^2$ kob/gr olarak, karkas etlerde en yüksek $9,6 \times 10^4$ kob/gr, en düşük $7,2 \times 10^2$ kob/gr olarak tespit edilen bu değerler çalışmamızdan daha yüksek oranda bulunmuştur (Nursoy & Akgün, 1997).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalar ile karşılaştırıldığında, Almanya'da yapılan bir çalışmada ithal edilen 100 çiğ sığır eti örneklerinin 3'ünde *E.coli* tespit edilmiştir. Bu örneklerin birinde kritik değer olan $5,94 \log_{10}$ ($8,7 \times 10^7$) kob/gr üzerinde olduğunu belirlemiş olup, belirlenen *E.coli* örnek sayısı araştırmamızdaki sonuçlardan düşüktür (Rinn ve ark., 2024). Güney Afrika' da yapılan bir çalışmada 100 adet retrospektif, 50 adet prospektif toplam 150 adet et örneğinin %50 sinde *E.coli* tespit etmişlerdir; bu değer araştırmamızdaki oranlarla uyumlu bulunmuştur (Ncoko, Jaja, & Oguttu, 2020). Guayaquil/Ekvador'da yapılan bir çalışmada, incelenen 84 çiğ sığır eti örneğinin 81

(%96)'inde *E. coli* pozitifliği tespit edilmiştir. Sadece 5 (%6) örnek insan tüketimine uygun bulunurken, 79 (%94) örnek tüketim açısından riskli olarak değerlendirilmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda elde edilen *E. coli* pozitiflik oranından belirgin şekilde daha yüksektir (Olaya, Lozano, Carrera, Cabrera, & Paucar, 2024).

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği kapsamı gıda maddelerine uygulanabilir mikrobiyolojik kriterler ile ilgilidir. Bu yönetmeliğe göre, gıdalarda *E.coli* varlığı belirli sınırlar dahilinde tolere edilebilir, bu sınırların aşılması durumunda ürünler uygun olmayan olarak değerlendirilmektedir. Mekanik olarak ayrılmış et ve kıyma gibi gıdalarda *E. coli* seviyeleri 5×10^2 kob/g altında olmalıdır (TGK, 2025). Çiğ sığır eti örneklerinde yapılan analizlerde 49 çiğ sığır eti örneğinin 8 (%16,32)'i *E. coli* yönünden Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nin belirlediği sınırları aştığı görülmüştür. *E. coli* yalnızca belirlenen limitler dahilinde kabul edilebilir. Bu sınırların aşılması, ürünlerin gıda güvenliği kriterlerine uygun olmadığını ve tüketici sağlığı için ciddi bir risk oluşturduğunu ortaya koymaktadır.

Türkiye ve diğer ülkelerdeki çalışmalarda çiğ sığır eti örneklerinde *E. coli* düzeylerindeki farklılıkların, hijyen ve sanitasyon standartları, üretim ve işleme yöntemleri, depolama ve dağıtım koşulları, mevsimsel değişkenlikler, regülasyon farklılıkları ve çiftlik yönetimi uygulamaları gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Örneğin, ülkeler arasındaki hijyen standartları ve soğuk zincir koşullarının farklılık göstermesinin bakteriyel üreme oranlarını etkileyebileceği öngörülmektedir. Ayrıca, sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörlerin mevsimsel olarak *E. coli* üremesini hızlandırabileceği, antibiyotik kullanımının düzenlenmesinin de bakterinin yayılma riskini artırabileceği değerlendirilmektedir (Jaja, Green, & Muchenje, 2018).

5.1.2. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde *Salmonella* spp. Varlığı

Çalışmamızda 49 çiğ sığır eti örneklerinin 4 (%8,16)'ünde *Salmonella* spp. pozitifliği tespit edilmiş olup, yapılan tanımlama ve tiplendirme sonucunda bu izolatların tamamının *S. Enteritidis* olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları Tokat'da 18 çiğ sığır etinde yapılan çalışmada görülmüştür. Çalışmada *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir (Öncül & Yıldırım, 2019). Çalışmamıza benzer sonuçlar bildiren araştırmalar arasında, Tekirdağ' da yapılan 120 çiğ sığır eti örneğinin 3 (%2,5)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiş, 2 örnekte *S. Typhimurium*, bir örnekte *S. Bongori* olarak tanımlanmıştır (Atabey, Kahraman, & Koluman, 2021). Afyon ve Aydın' da toplam 70 çiğ sığır etinde yapılan bir çalışmada 7 (%10) örnekte *Salmonella* spp. tespit edilmiştir

(Siriken, 2004). Van'da 100 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmada 3 (%3) örnekte *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Gökmen & Alisharli, 2003). Ankara'da 120 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmanın 4 (%3,33)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiş, 2 örnek *S. Anatum*, bir örnek *S. Typhimurium* ve bir örnek *S. Telaviv* olarak identifiye edilmiştir (Erol, 1999).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdan düşük bir prevalans oranı bildiren çalışmada, Çin'de analiz edilen 40 çiğ sığır etinde örneğinde *Salmonella* spp. bulunmamıştır (Chao, Zhou, Jiao, Qian, & Xu, 2007). Çalışmamıza benzer sonuçlar bildiren araştırmalarda, Etiyopya'da 354 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmada toplam 20 (%5,64) örnekte *Salmonella* spp. tespit etmiş, 2'si *S. Typhimurium* olarak tanımlanmıştır (Gebremedhin, Soboka, ve ark., 2021). KwaZulu-Natal/Güney Afrika'da 400 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmanın 5 (%1,25)'inde *Salmonella* spp. tespit etmişler, 2 örnek *S. Stanley*, bir örnek *S. Heidelberg*, bir örnek *S. Hadar* ve bir örnek *S. Enteritidis* olarak tanımlamışlardır (Naidoo ve ark., 2022). Urmia/İran'da 50 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmada toplam 14 (%28) *Salmonella* spp. tespit edilmiş, 5 örnek *S. Enteritidis*, bir örnek *S. Typhimurium*, bir örnek *S. Typhi* ve diğerlerini *Salmonella* spp. olarak tanımlanmıştır (Manafi, Aliakbarlu, & Dastmalchi Saei, 2020). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları bildiren araştırmalarda, Karaçi/Pakistan'da gerçekleştirilen çalışmada, 75 adet çiğ sığır eti örneğinin 16 (%21,34)'sında *Salmonella* spp. tespit edilmiş ve toplam 62 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların 13'ü *S. Pullorum*, 10'u *S. Gallinarum*, 14'ü *S. Typhi*, 10'u *S. Cholerasesuis* ve 15'i *S. Enteritidis* olarak tanımlanmıştır (Koondhar, Kamboh, Khan, Leghari, & Dewani, 2021).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda prevalans oranlarının genelde düşük veya benzer düzeylerde olması, ülkemizde uygulanan hijyen standartlarının, hayvan yetiştirme koşullarının ve kesim süreçlerinin *Salmonella* kontaminasyonunu önlemede etkili olduğunu gösterebilir. Diğer ülke çalışmalardaki yüksek oranlar ise özellikle hijyen standartlarının düşük olduğu bölgelerde yapılan araştırmalarla ilişkilendirilebilir. Ayrıca, analiz edilen örneklerin coğrafi kaynakları ve hedeflenen *Salmonella* serotiplerinin çeşitliliği de bu farklılıklara neden olabilir. Bu durum, çalışmamızın sonuçlarının bölgesel ve metodolojik faktörlerle uyumlu olduğunu göstermektedir (Ferrari ve ark., 2019).

Ayrıca bu sonuçlar doğrultusunda, 49 çiğ sığır et örneğinin 4 (%8,16)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmesi, bu örneklerin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne uygun olmadığını göstermektedir (TGK, 2025). Bu nedenle, çiğ sığır etinin güvenli tüketim açısından risk taşıdığı değerlendirilmelidir. Bu bulgular, ilgili gıda

ürünlerinin piyasaya sunulmasının uygun olmadığını ve gerekli önlemlerin alınması gerektiğini vurgulamaktadır. Üretim, işleme ve taşıma süreçlerinde hijyen standartlarının gözden geçirilmesi; kontaminasyon kaynaklarının belirlenerek önlenmesi; ve benzeri risklerin gelecekte engellenmesi için sıkı kontrol önlemlerinin uygulanması, halk sağlığını korumak adına elzemdir.

5.1.3. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde *L. monocytogenes* Varlığı

Çalışmamızda, 49 çiğ sığır eti örneğinden birinde (%2,04) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen *L. monocytogenes* prevalans oranından daha düşük bir oran, Tokat'ta 18 çiğ sığır eti örneğiyle gerçekleştirilen bir çalışmada bildirilmiş; bu çalışmada *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir (Öncül & Yıldırım, 2019). Türkiye'nin Orta Ege Bölgesinde satışa sunulan 25 çiğ sığır eti örneğinde gerçekleştirilen çalışmada bir (%4) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Bu oran, çalışmamızla benzer düzeydedir (Ş. Pamuk, 2018). Elazığ'da 70 çiğ sığır eti örneğinde yapılan çalışmanın 8 (%11,4)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Güven & Patır, 1998). Van ilinde gerçekleştirilen çalışmada, 100 kıyma örneğinin 11 (%11)'inde ve 50 parça et örneğinin 8 (%16)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Berktaş, Bozkurt, Bozkurt, Alisharlı, & Güdücüoğlu, 2006). Bu iki çalışmada bildirilen yüksek prevalans oranları, çalışmamızda elde edilen oranla karşılaştırıldığında daha yüksek seviyede bulunmuştur.

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamıza göre yüksek prevalans oranları bildiren araştırmalarda, Çin'de yapılan çalışmada 40 çiğ sığır etinin 3 (%7,5)'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Chao ve ark., 2007). Belçika' da gerçekleştirilen çalışmada 43 çiğ sığır eti örneğinin 2 (%4,65)'sinde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Uyttendaele, De Troy, & Debevere, 1999). Kore'de 300 çiğ sığır etinde yapılan çalışmada 2 (%0,66) örnekte *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Jang, Moon, Kang, Bae, & Seo, 2021). Güney Afrika'da gerçekleştirilen çalışmada 109 çiğ sığır etinin 8 (%7,33)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Moabelo, Gcebe, Gana, Ngoshe, & Adesiyun, 2023). İran'da gerçekleştirdikleri bir çalışmada 45 çiğ sığır etinin 21 (%46,66)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Farhoumand, Hassanzadazar, Soltanpour, Aminzare, & Abbasi, 2020). İrlanda Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada, satışa sunulmuş 161 hazır paket çiğ sığır etinde *L. monocytogenes* tespit edilemezken, 100 çiğ sığır eti örneğinde 29 (%29) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Khen, Lynch, Carroll, McDowell, & Duffy, 2015).

Çalışmalar arasında görülen farklılıkların başlıca nedenleri, hijyen koşulları, gıda güvenliği denetimlerinin etkinliği, çevresel faktörler, örnekleme yöntemleri ve kullanılan analiz tekniklerindeki çeşitliliklerden kaynaklanmaktadır. Gelişmiş hijyen standartları ve sıkı denetimler, *L. monocytogenes* oranlarını düşürürken, bazı ülkelerdeki düşük hijyen uygulamaları, yetersiz gıda güvenliği denetimleri ve eksik saklama koşulları, kontaminasyon oranlarını artırmaktadır. Çevresel faktörler, özellikle iklim ve işleme süreçleri, bakteriyel çoğalmayı tetikleyebilmektedir (Bengtsson-Palme, Kristiansson, & Larsson, 2018).

5.1.4. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde *S. aureus* Varlığı

Çalışmamızda 49 çiğ sığır eti örneğinin 8 (%16,32)'inde *S. aureus* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerde *S. aureus* yoğunluğu en yüksek $5,6 \times 10^2$ ($2,74 \log_{10}$) kob/g, en düşük ise 4×10^1 ($1,60 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada bildirilmiş, bu çalışmada 10 çiğ sığır eti örneğinde en yüksek $3,8 \times 10^5$ kob/g *S. aureus* koloni sayısı tespit edilmiştir (Şimşek, 2021). Çalışmamızla benzer prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Ankara'da yapılan bir çalışmada, 200 çiğ sığır eti örneğinin 61 (%30,5)'inde *S. aureus* tespit edilmiştir (Şanlıbaba, 2022). Ankara'da yapılan bir çalışmada, 30 çiğ sığır etinin 20 (%66,7)'sinde ve 30 sığır kıymasının 14 (%46,7)'ünde *S. aureus* tespit edilmiştir (Gundogan, Citak, Yucel, & Devren, 2005). İzmir'de yapılan bir çalışmada, 23 kıyma örneğinin 22 (%95,65)'sinde *S. aureus* tespit edilmiştir (Ös & Karaboz, 2005). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında ise, Tokat'ta yapılan bir çalışmada, incelenen 18 çiğ sığır eti örneğinin tamamında (%100) *S. aureus* tespit edilmiş olup, *S. aureus* sayılarının $2,6 \times 10^3$ ile $2,57 \times 10^5$ kob/g arasında değiştiği belirtilmiştir (Öncül & Yıldırım, 2019). Ayrıca Ankara'da yapılan çalışmada, 20 kıyma ve 20 kuşbaşı örneği incelenmiş, kıyma örneklerinde ortalama *S. aureus* koloni sayısı $4,5 \times 10^5$ kob/g ($5,65 \log_{10}$), kuşbaşı örneklerinde ise $4,33 \times 10^5$ kob/g ($5,63 \log_{10}$) olarak bulunmuştur (Çitak, Gündoğan, & Kala, 2009).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları bildiren araştırmalar arasında, Kore'de 890 çiğ sığır eti örneğinde yapılan bir çalışmada, 86 (%9,66) örnekte *S. aureus* tespit edilmiştir (S.-K. Lim ve ark., 2010). Çin'de yapılan bir çalışmada, 40 çiğ sığır eti örneğinin 4 (%11)'ünde *S. aureus* tespit edilmiştir (Chao ve ark., 2007). Çalışmamızla benzer prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, İtalya'da yapılan bir çalışmada, 68 çiğ sığır eti örneğinin 20

(%29,41)'inde *S. aureus* tespit edilmiştir (Pesavento, Ducci, Comodo, & Nostro, 2007). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları bildiren araştırma ise, Bangladeş'te yapılan bir çalışmada, 19 çiğ et örneğinin 16 (%84,21)'sında *S. aureus* tespit edilmiş ve ortalama *S. aureus* değeri 5,12 log₁₀ kob/g olarak bulunmuştur (Datta ve ark., 2012).

Türk Gıda Kodeksi çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımları mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği kapsamında gıdalardaki kabul edilebilir *S. aureus* sayısı en fazla 5x10³ kob/g olmalıdır (TGK, 2025). Çalışmamızda yer alan 49 sığır eti örneğinde, bu limitin üzerinde herhangi bir *S. aureus* tespiti yapılmamıştır. Bu sonuç, örneklerin hijyen standartlarına uygun bir şekilde işlendiğini ve bu alandaki mikrobiyolojik güvenliğin sağlandığını göstermektedir. Ayrıca, hijyenik işleme ve saklama koşullarının önemini vurgulayan bu bulgu, uygun sanitasyon uygulamalarının gıda güvenliği açısından kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Zaccheo, Palmaccio, Venable, Locarnini-Sciaroni, & Parisi, 2016).

Hijyen koşulları ve et işleme standartları da önemli bir rol oynamaktadır; gelişmiş hijyen ve gıda güvenliği denetimlerinin uygulandığı ülkelerde, *S. aureus* oranları genellikle daha düşüktür. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda hijyen eksiklikleri ve yetersiz et işleme süreçleri, yüksek kontaminasyon oranlarına yol açabilmektedir. Ayrıca, iklim koşulları, etin depolama ve taşıma süreçleri gibi çevresel faktörler de bu farkların oluşmasına neden olabilir. Örneğin, tropikal iklimlerde bakteriyel çoğalma daha hızlı olabilir, bu da yüksek kontaminasyon oranlarına yol açar. Ayrıca etin saklama koşulları, çevresel faktörler ve iklim de bu farkların bir başka önemli kaynağıdır (Doulgeraki, Ercolini, Villani, & Nychas, 2012).

5.1.5. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde *Shigella* spp. Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 49 çiğ sığır eti örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızdan benzer prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Ankara'da yapılan 200 çiğ sığır eti örneğinde *Shigella* spp. bulunmadığı bildirilmiştir (Omurtag & Türker, 1978). Bursa'da gerçekleştirilen çalışmada 45 çiğ sığır eti örneğinin hiç birinde *Shigella* spp. izole edilmediğini bildirilmiştir (Cetinkaya ve ark., 2008). Mersin'de yapılan bir çalışmada 40 çiğ sığır eti örneğinde *Shigella* spp. üremediği bildirilmiştir (Bayram, Delialioğlu, & Emekdaş, 2011).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızla benzer prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Meksika'da gerçekleştirilen çalışma 88 çiğ sığır eti örneğinin hiç birinde *Shigella* spp. bulunmadığını bildirilmiştir (Heredia, García,

Rojas, & Salazar, 2001). Tunus’ da yapılan çalışmada 18 adet çiğ sığır eti örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Shigella* spp. izole edilmediği bildirilmiştir (Mokhtari ve ark., 2012). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında ise İran’ da yapılan bir çalışmada 135 adet çiğ sığır eti örneğinin 5 (%3,7)’inde *Shigella* spp. tespit edilmiş, 4 (%80)’ü *S. sonnei* ve biri (%20) *S. flexneri* olarak tanımlanmıştır (Pakbin, Amani, ve ark., 2021). İran’da yapılan çalışmada 150 çiğ sığır eti ve 150 dondurulmuş çiğ sığır eti analiz edilmiş, analiz edilen çiğ sığır etinde 3 (%2) *Shigella* spp. izole edilmiş, biri (%0,7) *S. sonnei* ve 2 (%1,3)’si *S. flexneri* olarak tanımlanmıştır. Dondurulmuş çiğ sığır etinde ise *Shigella* spp. izole edilmediğini bildirilmiştir (Shahin, Bouzari, Wang, & Yazdi, 2019). Mısır’da gerçekleştirilen çalışmada 240 adet çiğ sığır eti örneğinin 10 (%4,16)’unda *Shigella* spp. tespit edilmiş, 7 (%70)’si *S. flexneri*, 2 (%20)’si *S. sonnei* ve biri (%10) *S. dysenteriae* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir (Ahmed & Shimamoto, 2014). Etiyopya’da yapılan bir çalışmada 90 çiğ sığır eti örneğinin 10 (%11,11)’unda *Shigella* spp. pozitif tespit edildiği bildirilmiştir (Garedew, Hagos, Zegeye, & Addis, 2016).

Bu farklılıkların kaynakları arasında, hayvan kesim süreçlerindeki su kaynaklarının kalitesi, temas eden yüzeylerin sanitasyonu ve çapraz bulaş riskleri gibi faktörlerle açıklanabilir. Ayrıca, *Shigella* spp.’nin hayvansal gıdalardaki prevalansını etkileyen çevresel faktörler ve insan-hayvan temasına bağlı kontaminasyon düzeyleri de bu farklılıkları açıklayan diğer önemli etkenlerdir (Gobena ve ark., 2024).

5.1.6. Çiğ Sığır Eti Örneklerinde STEC Varlığı

Çalışmamızda 49 çiğ sığır eti örneğinin 16 (%32,65)’sında STEC serotip varlığı tespit edilmiştir. Bu 16 pozitif örnekten toplam 25 izolat elde edilmiş olup, izolatların 6’sında O157, 3’ünde O121, birinde O145, 9’unda O103, 3’ünde O26 ve 3’ünde O104 serotipleri saptanmıştır. Çalışmamızda tespit edilen prevalans Türkiye’de 2022 yılında yapılan çalışmadaki prevalans bilgisine yakınlık göstermektedir. Bu çalışmada 53 adet sığır etinde 12 (%22,6) STEC tespit edilmiş ve bunlarında 11’inde O111 izole edilmiştir (Gökmen ve ark., 2024).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında elde ettiğimiz oranlardan farklı olarak İtalya’da 239 sığır eti örneği üzerinde yapılan çalışmada, 9 (%3,8) örnekte STEC pozitif tespit edilmiş ve bu örneklerden toplam 20 suş izole edilmiştir. Serotip analizi sonucunda, bu izolatların 5’inde O91, 2’sinde O113 ve birinde O157 serotipi izole edilirken diğer izolatlarda serotip tanımlanması yapılamadığını bildirmişlerdir (Varcasia ve ark., 2018). Çin’de yapılan bir çalışmada 191 sığır eti örneğinde 19 STEC tespit edilmiş

ancak hiçbirinin en yaygın yedi STEC grubuna ait olmadığını ifade edilmiştir (Bai ve ark., 2015).

STEC serotip çeşitliliğindeki farklılıkların, coğrafi ve çevresel faktörlerin yanı sıra, sığırların yetiştirildiği bölgenin ekolojik yapısı, hayvanların mera veya entansif sistemde beslenmesi, kesim öncesi taşıma ve stres koşulları, bağırsak mikrobiyotası ve bölgesel antimikrobiyal direnç profilleri gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceği düşünülmektedir (De Castro, Bentancor, Mercado, Cataldi, & Parma, 2012).

5.2. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde Patojen Varlığı

Tavuk, dünya genelinde yetiştirilmesi nispeten kolay ve maliyeti düşük kümes hayvanı türü olarak kabul edilmektedir. Ancak, tavuk eti *Salmonella* spp., *Listeria* spp. ve *E. coli* ile kontamine olma riski taşımakta ve bu bakteriler, az pişirilmiş veya çiğ tavuk eti yoluyla insanlara kolaylıkla geçebilmektedir (Stuart ve ark., 2012). Kesim ve işleme süreçleri sırasında, tüketilebilir tüm dokular hem hayvanın iç kaynaklarından hem de dış çevreden gelen çeşitli kontaminasyon risklerine maruz kalmaktadır. Canlı hayvanlarda, çevreyle temas halinde olan yüzeylerde çok çeşitli mikroorganizmalar bulunur. Bu bulaşan mikroorganizmalar, büyük ölçüde hayvanın derisinden kaynaklanırken, dışkı kökenli mikroorganizmaları da içerebilir (Podpečan, Pengov, & Vadjal, 2007).

5.2.1. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde *E.coli* Varlığı

Çalışmamızda 40 çiğ tavuk eti örneğinin 18 (%45)'inde *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerde *E. coli* yoğunluğu en yüksek $6,4 \times 10^2$ ($2,80 \log_{10}$) kob/g, en düşük ise 1×10^1 ($1 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Bursa'da yapılan bir çalışmada, 40 çiğ tavuk eti örneğinin 13 (%32,50)'ünde *E. coli* tespit edildiği bildirilmiştir (Anar, Çarlı, Şen, & Eyigör, 1992). Çalışmamızla benzer prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Van'da yapılan bir çalışmada, 20 tavuk butu ve 20 tavuk göğsü olmak üzere 40 çiğ tavuk eti örneği incelenmiş, but örneklerinin 15 (%75)'inde, göğüs örneklerinin ise 7 (%35)'inde *E. coli* tespit edilmiştir. But örneklerinde ortalama koloni sayımı $7,2 \times 10^2$ kob/g, göğüs örneklerinde ise $1,3 \times 10^3$ kob/g olarak bildirilmiştir (Sağun, Sancak, Ekıcı, & Durmaz, 1996). Ankara'da yapılan bir çalışmada, 50 bütün tavuk örneğinin but, deri ve göğüs kısımları incelenmiş, but örneklerinde en düşük $2,2 \times 10^1$ kob/g, en yüksek $8,5 \times 10^2$ kob/g ve ortalama $1,2 \times 10^2$ kob/g, deri örneklerinde en düşük $2,7 \times 10^1$ kob/g, en yüksek

$8,2 \times 10^2$ kob/g ve ortalama $3,3 \times 10^1$ kob/g, göğüs örneklerinde ise en düşük $1,1 \times 10^1$ kob/g, en yüksek $5,1 \times 10^2$ kob/g ve ortalama $1,1 \times 10^2$ kob/g olarak rapor edilmiştir (Efe & Gümüşsoy, 2005). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında ise, Erzurum’da yapılan bir çalışmada, 60 çiğ tavuk eti örneğinin 46 (%76,66)’sında *E. coli* tespit edilmiş, pozitif örneklerin koloni sayıları 1×10^1 ile $3,7 \times 10^3$ kob/g arasında değişmekte olup ortalama $2,9 \times 10^2$ kob/g olarak bildirilmiştir (Altun & Atasever, 2018). Bolu’da yapılan bir çalışmada, 56 çiğ tavuk eti örneğinin 49 (%87,5)’unda *E. coli* tespit edilmiş ve ortalama koloni sayısı $3,7 \times 10^3$ MPN/g ($3,28 \log_{10}$ kob/g) olarak belirlenmiştir (Eyi & Arslan, 2012).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamıza benzer prevalans oranı bildiren İran’da yapılan çalışmada, 110 çiğ tavuk eti örneğinin 63 (%57,27)’ünde *E. coli* tespit edilmiştir (Bonyadian ve ark., 2011).

E.coli tespit oranları ve koloni sayılarındaki farklılıklar, çeşitli faktörlerden kaynaklanabilmektedir. Öncelikle, çalışmaların yapıldığı coğrafi bölgeler ve çevresel koşullar önemli bir etkidir. Farklı bölgelerdeki üretim, kesim ve saklama koşullarındaki hijyen standartları ile kullanılan ekipmanların temizliği, kontaminasyon seviyesini doğrudan etkileyebilmektedir (Navab-Daneshmand ve ark., 2018). Çalışmalarda kullanılan numune sayıları ve analiz edilen tavuk eti bölgelerinin (but, göğüs, deri gibi) farklı olması sonuçlardaki tespit oranları değiştirebilmektedir. Özellikle, hayvan yetiştiriciliği ve kesim süreçlerinde alınan önlemler ile ülkeler arası yasal düzenlemelerin farklı olması, sonuçlar üzerindeki önemli etmenler arasında yer almaktadır. Bu nedenle, çiğ tavuk eti örneklerinde bildirilen *E.coli* oranlarındaki farklılıkları değerlendirirken kullanılan yöntemlerin etkisini dikkate almak gerekmektedir (Álvarez-Fernández, Cancelo, Díaz-Vega, Capita, & Alonso-Calleja, 2013).

5.2.2. Çiğ Tavuk eti Örneklerinde *Salmonella* spp. Varlığı

Çalışmamızda 40 çiğ tavuk eti örneğinin 7 (%17,5)’sinde *Salmonella* spp. varlığı tespit edilmiştir. Tanımlama ve tiplendirme çalışmaları sonucunda bu 7 pozitif örnekten elde edilen tüm izolatların *S. Enteritidis* olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Erzurum’da yapılan çalışmada, 60 çiğ tavuk eti örneğinin hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edilmediği bildirilmiştir (Altun & Atasever, 2018). Adana’da yapılan bir çalışmada, 24 çiğ tavuk eti örneğinin 2 (%8,33)’sinde *Salmonella* spp. izole edilmiştir (Yenilmez, 2022). Çalışmamızla benzer çalışmalar arasında Ankara’da yapılan bir çalışmada, 50 çiğ tavuk eti örneğinin deri, but ve göğüs

kısımları incelenmiş ve sırasıyla %26, %18 ve %16 oranlarında *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Efe & Gümüüşsoy, 2005).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamıza göre daha düşük prevalans oranları arasında, Bangladeş'te yapılan bir çalışmada, 79 tavuk eti örneğinin hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edildiğini bildirmiştir (Datta ve ark., 2012). Sudan'da yapılan bir çalışmada, 661 tavuk eti örneğinin 78 (%11,8)'inde *Salmonella* spp. izole edilmiştir (Munir, Khalifa, & Mohammed, 2014). Çalışmamıza benzer prevelans oranı Suudi Arabistan'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 421 tavuk eti örneğinin 74 (%17,57)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (A. Saad ve ark., 2007). Çalışmamızdan daha yüksek prevelans oranları arasında, Hindistan'da yapılan bir çalışmada, 450 tavuk eti örneğinde %57 oranında *Salmonella* spp. izole edilmiştir (Ruban, Thiyageeswaran, & Sharadha, 2010). Vietnam'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 262 tavuk eti örneğinin 128 (%48,9)'inde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir ve izolatlar arasında %31,01'i *S. Agona*, %17,83'ü *S. Emek* ve %18,6'sı *S. London* olarak tanımlanmıştır (Luu Quynh Huong ve ark., 2006). Yine Vietnam'da yapılan bir diğer çalışmada, 30 çiğ tavuk eti örneğinin 16 (%53,3)'sında *Salmonella* spp. izole edilmiştir (Van, Moutafis, Istivan, Tran, & Coloe, 2007).

Salmonella spp. tespit oranlarındaki farklılıklar, çiğ tavuk etinde *Salmonella* spp. varlığı, hayvanların yetiştirildiği kümes ortamındaki biyogüvenlik önlemlerine, yemlerin kontaminasyon durumuna ve kesim süreçlerinde kullanılan dezenfeksiyon prosedürlerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Bu durum, uluslararası standartların geliştirilmesi ve coğrafi faktörlerin dikkate alındığı daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini göstermektedir (Djeffal, Mamache, Elgroud, Hireche, & Bouaziz, 2018).

5.2.3. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde *L. monocytogenes* Varlığı

Çalışmamızda 40 çiğ tavuk eti örneğinin birinde (%2,5) *L. monocytogenes* varlığı tespit edilmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranı bildiren, Kahramanmaraş'ta yapılan çalışmada, 30 tavuk eti örneğinin 20'sinde *Listeria* spp. tespit edilmiş ancak tüm izolatlar *L. grayi* olarak tanımlanmıştır (Çolak, Dığrak, & Aksoy, 2008). Çalışmamızdan yüksek prevelans oranları bildiren çalışmalar arasında, Tokat'ta yapılan bir çalışmada, 50 tavuk eti örneğinin 4 (%8)'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Z. Yıldırım, Ceylan, & Öncül, 2015). Kayseri'de yapılan bir çalışmada, 100 tavuk eti örneğinin 33 (%33)'ünde *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların 6 (%6)'sı *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Yerlikaya & Yıldırım, 2015). Erzurum'da yapılan bir çalışmada, 60 tavuk eti örneğinin

22'si *Listeria* spp. açısından pozitif bulunmuş ve bunların 14 (%23,33)'ü *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Altun & Atasever, 2018). Erzurum'da yapılan bir çalışmada, 100 tavuk eti örneğinin 64 (%64)'ünde *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların 16 (%25)'si *L. monocytogenes* olarak belirlenmiştir (Kaya & Atasever, 2020). Elazığ'da yapılan bir çalışmada, 80 tavuk eti örneğinin %38,75'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Güven & Patır, 1998). Bursa'da yapılan bir çalışmada, 100 tavuk karkasının 76 (%76)'sında *Listeria* spp. pozitif bulunmuş ve bu örneklerin 24 (%31,57)'ü *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Özmen & Kılıç, 2006). Hatay'da yapılan bir çalışmada, 120 tavuk eti örneğinin 57 (%47,5)'sinde *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların 54 (%45)'ünde *L. monocytogenes* bulunmuştur (Elmalı, Can, & Yaman, 2015).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdan yüksek prevalans oranı bildiren, Hindistan'da yapılan çalışmada, 72 tavuk eti örneğinin %8,33'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Fairoze, 2016). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Ürdün'de yapılan çalışmada, 280 çiğ tavuk ürününün 141 (%50)'inde *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların 51 (%18,21)'i *L. monocytogenes* olarak belirlenmiştir (Osaili, Alaboudi, & Nesiari, 2011). Kuzey İrlanda'da yapılan bir çalışmada, 205 çiğ tavuk eti örneğinin 80'inde *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bu örneklerin 38 (%48)'i *L. monocytogenes* olarak belirlenmiştir (Soultos, Koidis, & Madden, 2003). İspanya'da yapılan bir çalışmada, 100 tavuk eti örneğinin 95(%95)'inde *Listeria* spp. bulunmuş ve bunların 32 (%32)'si *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Capita, Alonso-Calleja, Moreno, & García-Fernández, 2001).

Tavuk eti örneklerinde *L. monocytogenes* prevalansındaki farklılıklar, öncelikle kesimhane ve işleme tesislerindeki hijyen standartlarından kaynaklanıyor olabilir. Kesim hattı yoğunluğu, ekipmanların temizlik durumu ve çapraz kontaminasyon riskleri, bakterinin yayılmasında kritik bir rol oynamaktadır (Rothrock Jr, Micciche, Bodie, & Ricke, 2019). Ayrıca, işleme tesislerinde kullanılan soğuk zincir uygulamalarının etkinliği, *L. monocytogenes*'in düşük sıcaklıklarda çoğalabilme yeteneği nedeniyle oldukça önemlidir. Tavuk yetiştiriciliğinde kullanılan yem, su kaynakları ve yaşam alanlarının hijyen koşulları da kontaminasyonu etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Coğrafi ve iklimsel farklılıklar, özellikle sıcaklık ve nem seviyeleri, bakterinin çevresel yayılımını artırabilir. Bazı bölgelerde az pişmiş veya çiğ tavuk tüketim alışkanlıkları yaygın olduğundan, bu da *L. monocytogenes*'in tespiti yapılan oranlarını etkileyebilir (Gebremedhin, Hirpa, ve ark., 2021).

5.2.4. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde *S. aureus* Varlığı

Çalışmamızda 40 çiğ tavuk eti örneğinin 7 (%17,5)'sinde *S. aureus* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerde *S. aureus* yoğunluğu en yüksek $8,8 \times 10^2$ ($2,94 \log_{10}$) kob/g, en düşük ise $6,1 \times 10^1$ ($1,78 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları arasında, Erzurum'da yapılan çalışmada, 60 tavuk eti örneğinin hiçbirinde *S. aureus* izole edilmemiştir (Altun & Atasever, 2018). Van'da yapılan bir çalışmada, 20 tavuk butu ve 20 tavuk göğsü olmak üzere toplam 40 çiğ tavuk eti örneğinde *S. aureus* tespit edilmiş, ortalama değerler butlarda $3,6 \times 10^2$ kob/g, göğüslerde 5×10^2 kob/g olarak belirlenmiştir (Sağun ve ark., 1996). Çalışmamızla benzer prevalans oranları arasında, Bursa'da yapılan bir çalışmada, 40 çiğ tavuk eti örneğinde *S. aureus* sayısı ortalama $1,1 \times 10^3$ kob/g olarak belirlenmiştir (Anar ve ark., 1992). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Ankara'da yapılan çalışmada, 50 tavuk eti örneğinde deri, but ve göğüs kısımları incelenmiş ve sırasıyla %100, %66 ve %74 oranlarında *S. aureus* tespit edilmiş, ortalama değerler sırasıyla $8,1 \times 10^3$, $8,6 \times 10^3$ ve $8,1 \times 10^2$ kob/g olarak bulunmuştur (Efe & Gümüşsoy, 2005). Tokat'ta yapılan bir çalışmada, 25 tavuk göğsü ve 25 tavuk butu olmak üzere toplam 50 çiğ tavuk eti örneği incelenmiş ve göğüs örneklerinin %64'ünde, but örneklerinin %60'ında *S. aureus* tespit edilmiştir. Ortalama *S. aureus* sayıları sırasıyla $2,53 \times 10^4$ kob/g ve $2,6 \times 10^4$ kob/g olarak belirlenmiştir (Z. Yıldırım ve ark., 2015).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızla benzer prevalans oranları arasında, Tayland'da yapılan bir çalışmada, 209 çiğ tavuk eti örneğinin 38 (%18,18)'inin *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir (Akbar & Anal, 2013). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Bangladeş'te yapılan bir çalışmada, 79 çiğ tavuk eti örneğinin 35 (%44,30)'inde *S. aureus* tespit edilmiş ve en yüksek değer $5,75 \log_{10}$ kob/g olarak belirlenmiştir (Datta ve ark., 2012). Hırvatistan'da yapılan bir çalışmada, 66 taze tavuk eti örneği üzerinde yapılan analizde, tavuk göğsü filetolarının %46,15'inde ve derili göğüs örneklerinin %28,75'inde *S. aureus* bulunmuş, ortalama değerler sırasıyla $2,74 \log_{10}$ kob/g ve $2,98 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Kožačinski, Hadžiosmanović, & Zdolec, 2006).

Türk Gıda Kodeksi mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği kapsamında Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları gıdalardaki kabul edilebilir *S. aureus* sayısı en fazla 5×10^3 kob/g olmalıdır (TGK, 2025). Çalışmamızda yer alan 40 tavuk eti örneğinde, bu limitin üzerinde herhangi bir *S. aureus* tespiti yapılmamıştır. Bu durum, analiz edilen

örneklerin hijyenik koşullara uygun şekilde işlendiğini ve mikrobiyolojik güvenlik açısından belirlenen standartları karşıladığını göstermektedir. Bununla birlikte, işleme ve depolama süreçlerinde uygulanan hijyen önlemlerinin gıda güvenliği üzerindeki etkisini de desteklemektedir.

Çalışmamızın sonuçlarının diğer araştırmalardan farklılık göstermesinin öncelikle, bölgesel ve çevresel faktörler, özellikle üretim, taşıma ve saklama koşulları, *S. aureus*'un yaygınlığı ve yoğunluğu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Tavuk etinde *S. aureus* kontaminasyonu, işleme aşamasında çalışan personelin hijyen uygulamalarına ve etlerin temas ettiği yüzeylerin dezenfeksiyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Özellikle elle işlenen etlerde, insan kaynaklı bulaşma en önemli faktörlerden biridir (Firildak, Asan, & Goren, 2015).

5.2.5. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde *Shigella* spp. Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 40 çiğ tavuk eti örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızla benzer çalışmalar arasında, Mersin'de yapılan bir çalışmada, 40 çiğ tavuk eti örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Shigella* spp. tespit edilmemiştir (Bayram ve ark., 2011). Bursa'da gerçekleştirilen çalışmada, 168 çiğ tavuk eti örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Shigella* spp. izole edilmemiştir (Cetinkaya ve ark., 2008).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdaki prevalans oranına benzer çalışmalar arasında, Bangladeş'te yapılan çalışmada, 79 çiğ tavuk eti örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. tespit edilmemiştir (Datta ve ark., 2012). Mısır'da yapılan bir çalışmada, 160 çiğ tavuk eti örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. izole edilmemiştir (Ahmed & Shimamoto, 2014). Meksika'da yapılan çalışmada, 88 tavuk eti örneği incelenmiş ve incelenen hiçbir örnekte *Shigella* spp. tespit edilmemiştir (Heredia ve ark., 2001). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları bildiren çalışmalar arasında, Sudan'da yapılan bir çalışmada, 20 tavuk eti örneği incelenmiş ve birinde (%5) *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Munir ve ark., 2014). Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada, 102 çiğ tavuk eti örneği incelenmiş ve 5 (%4,90)'inde *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Bok, Holzapfel, Odendaal, & van der Linde, 1986). Gana'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 87 çiğ tavuk eti örneği incelenmiş ve 6 (%6,89)'sında *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Sackey, Mensah, Collison, & Sakyi-Dawson, 2001).

Tavuk eti örneklerinde *Shigella* spp. prevalansındaki farklılıklar, öncelikle örnekleme yöntemlerindeki değişikliklerden kaynaklanabilir. Örneğin, yüzey örnekleme, derin dokulardan alınan örneklere kıyasla daha düşük patojen tespiti sağlayabilir. Daha sıcak ve

nemli bölgelerde bakteri üreme riski artabilirken, soğuk bölgelerde bu risk azalabilir. Hijyen standartlarının uygulanma düzeyi de bu farklılıkların önemli bir nedenidir; işleme tesislerindeki sanitasyon uygulamaları, kesimhanelerdeki hijyen protokolleri ve çalışanların hijyen bilinci, kontaminasyonu doğrudan etkilemektedir (H. S. Lee ve ark., 2017). Tavuk eti üretim ve işleme süreçlerindeki farklılıklar da bu duruma katkıda bulunabilir. Özellikle iç organların çıkarılması sırasında uygun hijyen protokollerinin uygulanması, bu bakterinin yayılımını önlemeye yardımcı olabilir. Yoğun üretim yapılan tesislerdeki çapraz kontaminasyon riski veya az pişmiş tavuk tüketiminin yaygın olduğu bölgelerdeki kontaminasyon oranı daha yüksek olabilmektedir (Keerthirathne, Ross, Fallowfield, & Whiley, 2022). Çalışmamızda *Shigella* spp. tespit edilmemesi, hijyenik koşulların daha iyi olduğunu, çevresel kontaminasyonun düşük seviyede kaldığını veya patojen yükünün nispeten düşük olduğunu düşündürmektedir.

5.2.6. Çiğ Tavuk Eti Örneklerinde STEC Varlığı

Çalışmamızda 40 çiğ tavuk eti örneğinin 3 (%7,5)'ünde STEC serotip varlığı tespit edilmiştir. Bu 3 pozitif örnekten toplam 5 izolat elde edilmiş olup, izolatların birinde O157, 2'sinde O45 ve 2'sinde O103 serotipleri saptanmıştır. Çalışmamızdaki bulgulardan farklı olarak Türkiye'de 2019 yılında 100 tavuk eti üzerinde yapılan bir çalışmada 35 (%35) STEC tespit edilmiş ve bunlardan 4'ü O157 olarak tanımlanmış, bu 4 izolatın 2'si O157 olarak belirlenmiştir. Diğer *E. coli* izolatlarının ise analiz edilen O serotiplerine ait hedef genleri taşımadığı tespit edilmiştir (Dishan ve ark., 2023).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında benzer şekilde 2022 yılında Mısır'da yapılan bir çalışmada, 20 tavuk eti örneğinden birinde STEC tespit edilmiş; O157, O111 ve O26 serotipleri izole edilmiştir (Abd El-Moez, 2022). İran da 2010-2011 yılları arasında 422 tavuk etinde yapılan bir çalışmada 31 (%7,3) STEC pozitif numune tespit edilmiş. Serotip analizlerinde ise 31'i O157, 9'u O26, 5'i O103, biri O111, 6'sı O145, 4'ü O45, 11'i O91, 6'sı O103, 7'si O121 ve 2'si O128 olarak tespit edilmiştir. Amerika'da gerçekleştirdiği çalışmada çeşitli satıcılardan toplanan 16 tavuk eti örneği üzerinde yapılan analizlerde 12 (%75) örnekte STEC pozitif bulunmuştur. Bu pozitif örneklerden 3'ü O45, 2'si O103 ve 7'si O157 serotipine ait STEC izolatları elde edilmiştir (Magwedere ve ark., 2013).

Analizlerdeki farklılıkların, tavuk örneklerinin çeşitli yollarla STEC ile çapraz kontaminasyona maruz kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle bağırsakların çıkarılması sırasında yaşanan yırtılmalar, kontamine su kullanımı ve

ürünlerin manuel müdahaleyle paketlenmesi gibi faktörler, örneklerin STEC ile kontamine olma olasılığını artırmaktadır (Elabbasy ve ark., 2021). Özellikle kesimhane koşulları, tüy yolma ve iç organların çıkarılması sırasında bağırsak bütünlüğünün bozulması, kontamine kesim bıçakları ve işleme ekipmanları, soğutma tanklarında fekal bulaş riski, tavuk karkaslarının yıkama ve soğutma aşamalarında çapraz kontaminasyona maruz kalması gibi unsurlar, STEC'in yayılımını etkileyebilir. Ayrıca, tavukların yetiştirildiği ortamın hijyen durumu, yem kaynakları, antibiyotik kullanımı ve çiftlikten kesime kadar olan taşıma süreçleri de serotip çeşitliliği ve prevalans oranlarındaki farklılıkları belirleyen önemli etkenler arasında yer almaktadır (Niyonzima, Ongol, Kimonyo, & Sindic, 2015).

5.3. Balık Eti Örneklerinde Patojen Varlığı

Food and Agriculture Organization verilerine göre, dünya balık üretimi son 60 yılda önemli ölçüde artmış ve 2018 yılında yaklaşık 179 milyon tona ulaşarak 401 milyar dolar değerinde bir piyasa oluşturmuştur. Küresel balık tüketimi ise 1961 yılında kişi başına 9,0 kg iken, 2018 yılında 20,5 kg seviyesine yükselmiştir (Halwart, 2020). Yüksek kaliteli protein ihtiyacındaki artış, doğal balık stoklarının azalması ve yetiştiricilik teknolojilerindeki gelişmeler nedeniyle, dünya genelinde su ürünleri üretiminin 2050 yılına kadar iki katına çıkması beklenmektedir (M. Ibrahim ve ark., 2020). Genel olarak balık güvenli bir gıda olarak kabul edilse de, sağlıklı balıkların kas dokusunun steril olduğu görüşü hala tartışılmaktadır (Novoslavskij ve ark., 2016). Bununla birlikte, mikroorganizmaların balıkların deri ve solungaç gibi dış yüzeylerinde yaygın olarak bulunduğu, ayrıca sindirim sistemi, böbrek, karaciğer ve dalak gibi iç organlarında da yer alabildiği bilinmektedir. Ancak, özellikle çiğ veya yeterince pişirilmemiş balık ve balık ürünleri, bakteriyel patojenler, biyotoksinler, histamin, virüsler ve parazitlerle ilişkili salgınlarda rol oynamıştır (Galaviz-Silva, Gómez-Anduro, Molina-Garza, & Ascencio-Valle, 2009). Balıkların, insan hastalıklarıyla ilişkili bazı bakteriyel patojenler için bir rezervuar olduğu tespit edilmiştir. Bu patojenler arasında *Mycobacterium* spp., *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Clostridium botulinum* ve *Clostridium perfringens* gibi türler yer almaktadır (Novotny, Dvorska, Lorencova, Beran, & Pavlik, 2004).

5.3.1. Balık Eti Örneklerinde *E.coli* Varlığı

Çalışmamızda 42 balık eti örneğinin 17 (%40,47)'sinde *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerde *E. coli* yoğunluğu en yüksek $2,4 \times 10^1$ ($1,38 \log_{10}$) EMS/g, en düşük ise 0,74 EMS/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları arasında, Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada, 82 balık eti örneğinin 6 (%7,31)'sında *E. coli* tespit edilmiş ve ortalama değerlerin $1,30-4,47 \log_{10} \text{ ml}^{-1}$ arasında değiştiği bildirilmiştir (Ş. Pamuk, Demirel, & Gürler, 2019). Bursa'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 52 balık eti örneği incelenmiş ve sadece 2 örnekte *E. coli* tespit edilmiştir. İzole edilen *E. coli* sayısı 120 EMS/100 g olarak belirlenmiştir (Solmaz, 2014). Çalışmamızla benzer çalışmalar arasında, Balıkesir'de yapılan bir çalışmada, balık eti örneklerinde $1,4 \times 10^3$ kob/25 g oranında *E. coli* tespit edilmiştir (İrkin, Korukoğlu, & Tavşanlı, 2007). Diyarbakır'da gerçekleştirilen başka çalışmada, 51 balık eti örneği incelenmiş ve *E. coli* seviyelerinin ortalama $3,64-5,11 \log_{10} \text{ kob/g}$ arasında değiştiği bildirilmiştir (Vural & Erkan, 2006).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, Letonya'da yapılan bir çalışmada, 20 çiğ balık eti örneğinin 3'ünde *E. coli* tespit edilmiş ve bakteri seviyelerinin $1,11$ ile $1,72 \log_{10} \text{ kob/cm}^2$ arasında değiştiği belirtilmiştir (Eizenberga ve ark., 2015). İran'da yapılan başka çalışmada, 100 çiğ balık örneğinin 3 (%3)'ünde *E. coli* tespit edilmiştir (Tavakoli, Soltani, & Bahonar, 2012). Çalışmamıza göre benzer prevelans oranları bildiren araştırmalarda, Nijerya'da gerçekleştirilen çalışmada, 135 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve %13,33 ($n=18$)'ünde *E. coli* tespit edilmiştir. Tespit edilen *e. coli* sayılarının $2,2 \times 10^4-9,5 \times 10^7$ kob/g arasında değiştiği rapor edilmiştir (Odu & Imaku, 2013). Çalışmamıza göre daha yüksek prevalans oranı Bangladeş'te gerçekleştirilen bir çalışmada, 24 balık eti örneği incelenmiş ve tüm örneklerde *E. coli* tespit edilmiştir. En yüksek seviyenin $4,8 \pm 0,45 \times 10^4$ kob/g olduğu bildirilmiştir (Nilla, Khan, Khan, Ahsan, & Mustafa, 2012).

Balık eti örneklerinde *E. coli* varlığına ilişkin sonuçlar, farklı bölgelerde yapılan çalışmalar arasında çeşitlilik göstermektedir. Bu farklılıkların temel nedenleri arasında coğrafi ve çevresel koşullar, balıkların avlandığı veya yetiştirildiği su kaynaklarının mikrobiyolojik kalitesi, avlama ve işleme sırasında hijyen uygulamaları, depolama koşulları ve süresi gibi faktörler yer almaktadır. Bu durum, balık etlerinde *E. coli* varlığını etkileyen çok sayıda değişkenin olabileceğini ve her bir bölgeye özgü dinamiklerin dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (Novoslavskij ve ark., 2016).

5.3.2. Balık Eti Örneklerinde *Salmonella* spp. Varlığı

Çalışmamızda 42 balık eti örneğinin 5 (%11,90)'inde *Salmonella* spp. varlığı tespit edilmiştir. Tanımlama ve tiplendirme çalışmaları sonucunda elde edilen 5 izolattan 3'ünün *S. Enteritidis*, birinin *S. Typhimurium* ve birinin *S. Choleraesuis* olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları arasında, Kayseri'de yapılan bir çalışmada, 100 çiğ balık eti örneğinin 5 (%5)'inde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Onmaz ve ark., 2015). Bursa'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 32 dondurulmuş ve taze soğutulmuş balık ile 20 marine hamsi örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. saptanmamıştır (Solmaz, 2014). Çalışmamızla benzer prevalans oranları arasında, İstanbul'da yapılan bir çalışmada, 400 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 50 (%12,5)'sinde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Ikiz, Dümen, Bayrakal, Kahraman, & Ergin, 2016). Diyarbakır'da gerçekleştirilen çalışmada, 51 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 8 (%15,67)'inde *Salmonella* spp. bulunmuştur (Vural & Erkan, 2006).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, Letonya'da yapılan bir çalışmada, 20 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir (Eizenberga ve ark., 2015). Tunus'ta yapılan çalışmada, incelenen 12 çiğ balık eti örneğinin hiçbirinde *Salmonella* spp. izole edilmemiştir (Abbassi-Ghozzi ve ark., 2012). Çalışmamızla benzer çalışmalar arasında, Çin'de gerçekleştirilen bir çalışmada, incelenen 231 tatlı su balığının 43 (%18,6)'ünde ve 197 tuzlu su balığının 24 (%12,2)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Yang ve ark., 2015). Ürdün'de yapılan bir çalışmada, 330 çiğ balık eti örneğinin 64 (%19,39)'ünde *Salmonella* spp. izole edilmiştir (Obaidat & Salman, 2017). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Hindistan'da yapılan bir çalışmada, 30 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 10 (%33,33)'unda *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Shabarath, Kumar, Khushiramani, Karunasagar, & Karunasagar, 2007). Burkina Faso'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 238 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 57 (%23,94)'sinde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. En yaygın serotiplerin *S. Bredeney* (%8,2) ve *S. Colidale* (%8,2) olduğu bildirilmiştir (Traoré ve ark., 2015).

Salmonella spp.'nin farklı çalışmalar arasında gözlenen prevalans oranlarındaki değişiklikler, çeşitli faktörlere bağlı olabilir. Balıkların yetiştirilme ortamları, avlanma yapılan su kaynaklarının kirlilik düzeyleri, işleme süreçleri ve saklama koşulları gibi çevresel faktörler *Salmonella* kontaminasyonunu etkileyebilir (Bibi ve ark., 2015). Ayrıca, analiz edilen balık türleri, numune sayısı ve alınan örneklerin tazelik durumu gibi çalışma

tasarımına bağılı değişkenler de sonuçlardaki farklılıkları açıklayabilir. Tüm bu faktörler, *Salmonella* spp.'nin farklı çalışmalardaki prevalans oranlarında belirleyici olabilmektedir.

5.3.3. Balık Eti Örneklerinde *L. monocytogenes* Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 42 balık eti örneğinde *L. monocytogenes* varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamıza benzer prevalans oranı bildiren Konya'da yapılan çalışmada, 170 çiğ balık eti örneğinin hiçbirinde *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir (Kahraman, Biçer, Doğruer, Telli, & Turkal, 2022). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları bildiren araştırmalardan, Diyarbakır'da yapılan çalışmada, 51 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve yalnızca 2 (%3,92)'sinde *L. monocytogenes* bulunmuştur (Vural & Erkan, 2006). İstanbul'da yapılan bir çalışmada, 400 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 10 (%2,5)'unda *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (İkiz ve ark., 2016). Van'da yapılan çalışmada ise 160 çiğ balık eti örneğinin 20 (%12,5)'sinde *L. monocytogenes* saptanmıştır (Sancak & Sağun, 2020).

Diğer ölkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızla benzer prevalans oranı, İran'da yapılan çalışmada bildirilmiş, çalışmada 73 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve hiçbirinde *L. monocytogenes* izole edilmemiştir (Jalali & Abedi, 2008). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, İngilterede gerçekleştirilen çalışmada, 76 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 2 (%2,63)'sinde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Davies, Capell, Jehanno, Nychas, & Kirby, 2001). Polonya'da gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise 301 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 57 (%18,9)'sinde *L. monocytogenes* pozitif bulunmuştur (Wieczorek & Osek, 2017). Letonya'da yapılan bir çalışmada, 20 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 11 (%55)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Eizenberga ve ark., 2015).

Çalışmamızda *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. Ancak diğer çalışmalarda farklı prevalans oranlarının bildirilmesi, bu bakterinin düşük sıcaklıklarda hayatta kalabilme yeteneği nedeniyle balık etinde kontaminasyon riskinin yüksek olabileceğini göstermektedir (Chan & Wiedmann, 2008). Buna karşın, çalışmamızda kullanılan balık örneklerinde *L. monocytogenes*'e rastlanmaması; ürünlerin hijyenik koşullarda işlenmiş ve uygun şekilde saklanmış olabileceğini ya da örneklerin kontaminasyon riskinin düşük olduğu bir çevreden temin edilmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre tüketime hazır balık ve su ürünlerinde *L. monocytogenes* bulunmamalıdır (TGK, 2025). Çalışmamızda bu patojene rastlanmamış olması, gıda güvenliği mevzuatına uygunluğun

sağlandığını, üretim ve dağıtım zincirinde etkili hijyen ve kontrol önlemlerinin uygulandığını göstermektedir. Bu sonuç, bu tür ürünlerin düzenli olarak denetlenmeye devam edilmesinin önemini de ortaya koymaktadır.

5.3.4. Balık Eti Örneklerinde *S. aureus* Varlığı

Çalışmamızda 42 balık eti örneğinin 20 (%47,61)'sinde *S. aureus* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerde *S. aureus* yoğunluğu en yüksek $3,3 \times 10^2$ ($2,51 \log_{10}$) kob/g, en düşük ise 4×10^1 ($1,60 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, Balıkesir'de yapılan bir çalışmada, incelenen çiğ balık örneklerinin hiçbirinde *S. aureus* tespit edilmemiştir (İrkin ve ark., 2007). Bursa'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 32 dondurulmuş ve taze soğutulmuş balık ile 20 marine hamsi örneği incelenmiş ve hiçbirinde *S. aureus* bulunmamıştır (Solmaz, 2014). Ankara'da yapılan bir çalışmada, 247 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 13 (%8)'ünde *S. aureus* tespit edilmiştir (Külahcı & Gündoğan, 2021). Afyonkarahisar'da yapılan bir başka çalışmada, 43 çupra ve 39 levrek olmak üzere toplam 82 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 10 (%12,1)'unda *S. aureus* bulunmuştur. Tespit edilen *S. aureus* seviyeleri $1,30-6,49/1,30-6,11 \log_{10} \text{ ml}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Ş. Pamuk ve ark., 2019). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Samsun'da yapılan bir çalışmada, 50 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 30 (%75)'unda *S. aureus* tespit edilmiştir. Tespit edilen *S. aureus* seviyelerinin %30'unda $10^2-<10^3$ kob/g, %30'unda ise $10^3-<10^4$ kob/g olduğu belirlenmiştir (İnat, Pamuk, Sırıken, & Demirel, 2013).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında daha düşük prevalans oranları arasında, İsviçre'de yapılan bir çalışmada, 11 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve hiçbirinde *S. aureus* tespit edilmemiştir (Boss, Overesch, & Baumgartner, 2016). Çalışmamızla benzer çalışmalar arasında, Japonya'da yapılan bir çalışmada, 550 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 87 (%15,8)'sinde *S. aureus* tespit edilmiştir (Saito ve ark., 2011). Nijerya'da yapılan bir çalışmada, 10 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 3 (%30)'ünde *S. aureus* bulunmuştur (Ogofure & Igbiosa, 2021).

Çalışmamızda *S. aureus* tespit oranının diğer çalışmalardaki farklılıkları, çeşitli çevresel, metodolojik ve örnekleme süreçlerinden kaynaklanabilir. Örneklerin toplandığı bölgelerdeki hijyen standartları, balıkların işleme ve saklama koşulları, su kalitesi ve ortam sıcaklıkları *S. aureus* kontaminasyonunu doğrudan etkileyebilir. Balık türü, örnekleme büyüklüğü ve alınan numunelerin tazeliği gibi faktörler de tespit edilen *S. aureus* oranlarını etkileyen diğer unsurlar arasında yer almaktadır (Zarei, Maktabi, & Ghorbanpour, 2012).

5.3.5. Balık Eti Örneklerinde *Shigella* spp. Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen balık eti örneklerinde *Shigella* spp. varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızdan yüksek prevalans oranı bildiren, İstanbul’ da yapılan çalışmada, 124 balık eti örneği incelenmiş ve %3,05’inde *S. dysenteriae*, %3,66’sında *S. sonnei* tespit edilmiştir (Tosun, Alakavuk, & Mol, 2016).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, Sudan’da yapılan bir çalışmada, 150 balık eti örneği incelenmiş; bu örneklerin bağırsaklarında 8 (%2,7) ve derisinde 2 (%2,1) adet olmak üzere toplam 10 örnekte *Shigella* spp. izole edilmiştir (Yagoub, 2009). Tanzania’da yapılan bir çalışmada, 72 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 3 (%4,1)’ünde *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Marijani, 2022). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Ürdün’ de yapılan çalışmada, 330 çiğ balık eti örneği incelenmiş ve 61 (%19)’inde *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Obaidat & Salman, 2017). Kenya’da yapılan çalışmada, 120 balık eti örneği incelenmiş ve 25 (39,7)’inde *Shigella* spp. tespit edilmiştir (O. M. David, Wandili, Kakai, & Waindi, 2009).

Shigella türleri insanların bağırsak sisteminin doğal sakinleridir (Ray & Bhunia, 2007). Kişisel hijyenin zayıf olması *Shigella* kontaminasyonunun başlıca nedenlerinden biridir ve genellikle en fazla *Shigella* salgını daha sıcak aylarda görülmüştür (Huss, Ababouch, & Gram, 2004). Coğrafi farklılıklar ve çevresel koşullar *Shigella* spp. varlığı üzerinde etkili olabilmektedir. Balıkların yaşadığı su kaynaklarının hijyen durumu, kirleticilere maruz kalma düzeyi ve bölgesel su kalitesi gibi faktörler bu farklılıkları açıklayabilir. Ayrıca, balıkların türleri, yaşları ve yakalandıkları dönemler gibi faktörler de sonuçları doğrudan etkileyebilir. Balıkların taşınması, depolanması ve işlenmesi sırasındaki hijyen uygulamaları, kontaminasyon riskini azaltma veya artırma potansiyeline sahiptir ve bu durum farklı sonuçların elde edilmesine neden olabilir (Cascarano ve ark., 2021).

5.3.6. Balık Eti Örneklerinde STEC Varlığı

Çalışmamızda 42 balık eti örneğinin birinde (%2,38) STEC serotip varlığı tespit edilmiştir. Bu pozitif örnekten toplam bir izolat elde edilmiş olup, izolatın *E. coli* O157 serotipi olduğu belirlenmiştir. Türkiye’de balıklar üzerinde yapılan çalışmalarda yalnızca O157 serotipini hedefleyen bazı araştırmalar bulunmakta, ancak non-O157 STEC tiplerini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bu çalışmalardan birinde, *stx*, *eae*, *hlyA*, *fliCh7* ve O157 genleri üzerinde yapılan analizlerde 300 balık örneğinden sadece bir

(%0,3) *stx1*, *fliCh7* ve O157 genlerinin varlığı tespit edilmiştir (Bölükbaş, Gücükoğlu, Uyanık, Küllük, & Çadırcı, 2024). Kayseri’ de gerçekleştirilen çalışmada, 140 balık örneği incelenmiş, 2 (%1,4) örnekte O157 serotipi tespit edilmiştir (Onmaz ve ark., 2020).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, Hindistan’da gerçekleştirilen bir çalışmada 78 deniz ürünü örneğinden toplamda 118 STEC izolatı elde edilmiştir. Serotip analizleri sonucunda ise 3’ü O157, 6’sı O83, 7’si O120, biri O8, biri O20, 3’ü O134, 2’si O26, 4’ü O135 ve 1’i O149 olarak tanımlanmıştır (Prakasan ve ark., 2022). Mısır’da 100 balık örneği ile yapılan çalışmada 4’ü O26:H11, 2’si O91:H21, 1’i O103:H2, 3’ü O121:H7 olmak üzere toplam 10 izolat elde edilmiştir (M. S. Saad ve ark., 2018).

Sonuçlar arasındaki bu farklılıkların, mevsimsel sıcaklıklar, yerleşim yerlerine yakınlık, suyun bakteriyel yükü, tuz içeriği, hijyen eksikliği ve bekleme koşulları gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca coğrafi ve çevresel koşullar, özellikle su kaynaklarının kirlilik düzeyi, balıkların yaşadığı ortamda patojenik bakterilerin varlığını etkileyebilir. Ayrıca, balıkların türü, yaşadığı ekosistem ve örnekleme yapılan dönemdeki mevsimsel değişiklikler de önemli bir rol oynayabilir. Örnekleme stratejilerindeki değişiklikler, örnek boyutu ve çeşitliliği gibi faktörler de farklı sonuçların elde edilmesine yol açabilir. Bunun yanı sıra, balıkların yakalanma, taşınma ve depolanma süreçlerindeki hijyen uygulamaları da STEC kontaminasyonu üzerinde doğrudan etkili olabilir (Yohans, Mitiku, & Tassew, 2022).

5.4. Yeşil Filiz Örneklerinde Patojen Varlığı

Yeşil filizlerin üretim süreci, özellikle tohumların çimlenmesi için gerekli sıcaklık ve nem koşullarının sağlanması nedeniyle, mikrobiyal patojenlerin çoğalması açısından oldukça elverişli bir ortam oluşturmaktadır (Galieni, Falcinelli, Stagnari, Datti, & Benincasa, 2020). Çimlenme sırasında uygulanan bu koşullar, sadece bitkisel büyümeyi teşvik etmekle kalmayıp aynı zamanda bakteriyel kontaminasyon riskini de artırmaktadır. Özellikle tohumların ön işlemden geçirilmemesi durumunda, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve STEC gibi önemli patojenlerin filizlere bulaşabileceği bildirilmektedir (Turner, Luo, & Buchanan, 2020). Yeşil filizlerin kontaminasyonu ile ilişkili salgın verileri de bu riskleri doğrular niteliktedir. Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada’da 2009–2018 yılları arasında yeşil filiz tüketimiyle bağlantılı 40 STEC salgını bildirilmiş; bu salgınlar sonucunda 1.212 hastalık, 77 HÜS vakası ve 8 ölüm gerçekleşmiştir (Marshall ve ark., 2020). Bu bağlamda, yeşil filizlerin, gıda kaynaklı STEC O157 salgınlarının en yaygın ikinci kaynağı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, *Salmonella* spp. ile bağlantılı salgınların da

yaygınlığı, filiz üretiminde hijyen uygulamalarının zorunluluğunu bir kez daha ortaya koymaktadır (Peñas & Martínez-Villaluenga, 2020).

5.4.1. Yeşil Filiz Örneklerinde *E.coli* Varlığı

Çalışmamızda 44 yeşil filiz örneğinin 33 (%75)'ünde *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin dağılımına bakıldığında, *E. coli* 15 marul örneğinin 9 (%60)'unda, 15 maydanoz örneğinin 11 (%73,33)'inde ve 14 ıspanak örneğinin 13 (%92,85)'ünde saptanmıştır. Marul örneklerinde *E. coli* yoğunluğu en yüksek $2,9 \times 10^4$ ($4,46 \log_{10}$) kob/g, en düşük 1×10^1 ($1,00 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Maydanoz örneklerinde yoğunluk en yüksek 1×10^4 ($4,00 \log_{10}$) kob/g, en düşük 1×10^1 ($1,00 \log_{10}$) kob/g; ıspanak örneklerinde ise en yüksek $2,8 \times 10^3$ ($3,44 \log_{10}$) kob/g, en düşük 1×10^1 ($1 \log_{10}$) kob/g olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, İstanbul'da yapılan bir çalışmada, 30 çiğ sebze (domates, havuç, marul, soğan ve maydanoz) incelenmiş ve yalnızca 3 (%10)'ünde *E. coli* tespit edilmiştir. Tespit edilen *E. coli* seviyeleri $<10-2 \times 10^1$ kob/g ($<1-1,30 \log_{10}$) arasında bulunmuştur (Alçay, 2021). Antalya'da yapılan çalışmada, 164 salata örneği incelenmiş ve en düşük 1×10^1 kob/g, en yüksek $7,6 \times 10^2$ kob/g oranında *E. coli* tespit edilmiştir (Yıldırım & Bıçakçı, 2018). Çalışmamızla benzer prevalans oranları arasında, Ankara'da yapılan bir çalışmada, 180 çiğ sebze örneği incelenmiş ve *E. coli* varlığı maydanozda 21/30 (%70), dereotunda 12/30 (%40) ve marulda %3,3 olarak belirlenmiştir. *E. coli* seviyelerinin 3,8 kob/g'a kadar çıktığı bildirilmiştir (Aycicek, Oguz, & Karci, 2006). Ankara'da yapılan bir başka çalışmada, 60 sebze örneği (brokoli, karnabahar ve bezelye) incelenmiş ve 20 (%33,3)'sinde *E. coli* tespit edilmiştir (Çıtak ve ark., 2009). Ankara'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 84 salata örneği incelenmiş ve %78,6'sında *E. coli* pozitif bulunmuştur (Doğan ve ark., 2001).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, Portekiz'de yapılan bir çalışmada, 151 çiğ sebze örneği (marul, ıspanak ve karışık salata) incelenmiş ve yalnızca 3 (%1,98)'ünde *E. coli* tespit edilmiştir. Tespit edilen *E. coli* seviyeleri 1×10^1 ile 2×10^1 kob/g arasında bulunmuştur (Santos ve ark., 2012). Nijerya'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 15 sebze örneği (marul, havuç ve salatalık) incelenmiş ve yalnızca birinde (%6,7) *E. coli* tespit edilmiştir (Itohan, Peters, & Kolo, 2011). Hindistan'da yapılan bir çalışmada, 72 çiğ sebze örneği (turp, lahana, marul ve havuç) incelenmiş ve 23 (%31,9)'ünde *E. coli* bulunmuştur (Viswanathan & Kaur, 2001). Çalışmamızla benzer prevalans oranları arasında, Brezilya'da yapılan bir çalışmada, 162 yarı işlenmiş çiğ sebze örneği (lahana, marul, maydanoz, ıspanak)

incelenmiş ve maydanozda 21 (%95,6), ıspanakta 6 (%66,7), marulda 5 (%19,2) olmak üzere toplam 86 (%53,1) örnekte *E. coli* tespit edilmiştir (De Oliveira, De Souza, Bergamini, & De Martinis, 2011). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, Bangladeş'te yapılan bir çalışmada, 60 yemeye hazır karışık sebze salatası örneği incelenmiş ve *E. coli* seviyesi $4,98 \pm 0,20$ ile $6,66 \pm 0,80$ log kob/g arasında bulunmuştur (Younus ve ark., 2019).

Çalışmalardaki farklı sonuçların temel nedenleri arasında coğrafi farklılıklar, tarım alanlarının hijyen standartları, sulama suyu kalitesi ve gübreleme yöntemleri yer almaktadır. İklim koşulları, sebzelerin büyüme süreçlerini etkileyerek mikroorganizma yükünün artmasına veya azalmasına yol açabilir. Hasat sonrası işleme süreçleri, sebzelerin taşınma ve saklanma koşulları gibi lojistik süreçler de kontaminasyon seviyelerini etkileyen önemli faktörlerdendir (S. Anand & Barua, 2022). Bunun yanı sıra, tüketici alışkanlıkları ve sebzelerin tüketim öncesi yıkanma veya dezenfekte edilme şekli de sonuçlarda farklılık yaratabilir. Sebze türlerinin yüzey özellikleri, özellikle yapraklı sebzelerin mikrobiyal tutulum oranlarını etkiler. Marul gibi sebzelerdeki kıvrımlı yapılar, bakterilerin tutunmasını kolaylaştırabilir (Hou, Fink, Radtke, Sadowsky, & Diez-Gonzalez, 2013).

5.4.2. Yeşil Filiz Örneklerinde *Salmonella* spp. Varlığı

Çalışmamızda 44 yeşil filiz örneğinin 3 (%6,81)'ünde *Salmonella* spp. varlığı tespit edilmiştir. Tanımlama ve tiplendirme çalışmaları sonucunda, biri maydanozda ve 2'si ıspanakta olmak üzere elde edilen 3 izolattan tamamının *S. Enteritidis* olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları arasında, İstanbul'da yapılan bir çalışmada, 30 salata örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. izole edilmemiştir (Hampikyan, Ulusoy, Bingöl, Çolak, & Akhan, 2008). Balıkesir'de gerçekleştirilen bir çalışmada, 40 çiğ salata örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir (Gökmen, Akkaya, Kara, & Önen, 2016). Diyarbakır'da yapılan bir çalışmada, 106 çiğ sebze örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. bulunmamıştır (Erkan & Vural, 2008). Çalışmamıza benzer prevelans oranı, İstanbul'da yapılan çalışmada, 30 çiğ sebze örneği incelenmiş ve yalnızca birinde (%3,33) *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Alçay, 2021).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızdan düşük prevalans oranları arasında, Portekiz'de yapılan bir çalışmada, 151 çiğ sebze örneği (marul, ıspanak ve karışık salata) incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit

edilmemiştir (Santos ve ark., 2012). Norveç'te yapılan bir çalışmada, 530 çiğ sebze örneği (salata, maydanoz, dereotu, marul) incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. izole edilmemiştir (Johannessen, Loncarevic, & Kruse, 2002). Kanada'da yapılan bir çalışmada, 642 çiğ sebze örneği (domates, marul, ıspanak, havuç, yeşil soğan) incelenmiş ve hiçbirinde *Salmonella* spp. bulunmamıştır (Bohaychuk ve ark., 2009). Çalışmamızla benzer prevelans oranları arasında, İspanya'da yapılan bir çalışmada, 445 çiğ ve tüketime hazır sebze örneği incelenmiş ve 3 (%0,67)'ünde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Badosa, Trias, Parés, Pla, & Montesinos, 2008).

Salmonella spp.'nin farklı çalışmalarda tespit edilme oranlarındaki farklılıklar, çeşitli faktörlere bağlanabilir. Öncelikle, tarımsal üretim süreçlerindeki hijyen standartları ve uygulamalar bu farklılıkların temel nedenlerinden biridir. Sulama suyu kalitesi, gübreleme yöntemleri ve hasat sonrası hijyen uygulamaları *Salmonella* spp. kontaminasyonu üzerinde doğrudan etkili olabilir. Farklı coğrafyalardaki iklim ve çevresel koşullar, bakterinin yayılımını ve sebzelerde tutunma oranını etkileyebilir. Örneğin, sıcak ve nemli bölgelerde bakteriyel çoğalma için daha uygun koşullar oluşabilir. Ayrıca, incelenen gıda türleri ve bu gıdaların yüzey özellikleri, *Salmonella* spp.'nin tutunma ve çoğalma oranlarında rol oynayabilir. Taşıma ve depolama sırasında uygulanan sıcaklık kontrolleri ve hijyen standartları da mikrobiyal yük üzerinde etkili olabilmektedir (H. Liu, Whitehouse, & Li, 2018).

5.4.3. Yeşil Filiz Örneklerinde *L. monocytogenes* Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 44 yeşil filiz örneklerinde *L. monocytogenes* varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızdan yüksek prevelans oranları arasında, Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada, 70 taze marul örneği incelenmiş ve yalnızca birinde (%1,42) *L. monocytogenes* bulunmuştur (Recep, Acaröz, Gürler, Soylu, & Küçük Kurt, 2019). Balıkesir'de gerçekleştirilen bir çalışmada, 40 sebze salatası örneği incelenmiş ve 10 (%25)'unda *Listeria* spp. tespit edilmiş, ancak yalnızca 4 (%10)'ü *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Gökmen ve ark., 2016).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızla benzer çalışmalar arasında, İngiltere'de yapılan bir çalışmada, 151 marul örneği incelenmiş ve hiçbirinde *L. monocytogenes* bulunmamıştır (Little, Roberts, Youngs, & De Louvois, 1999). Portekiz'de yapılan bir çalışmada, 50 çiğ sebze örneği incelenmiş ve hiçbirinde *L. monocytogenes* izole edilmemiştir (J. Campos ve ark., 2013). Çalışmamızdan yüksek prevelans oranları arasında, Portekiz'de yapılan bir çalışmada, 151 çiğ sebze örneği

incelenmiş ve yalnızca birinde (%0,66) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Santos ve ark., 2012). Hindistan’da yapılan bir çalışmada, 116 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 7 (%6,03)’sinde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Pingulkar, 2001). Malezya’da yapılan bir çalışmada, 145 çiğ sebze örneği (havuç, lahana, maydanoz ve salatalık) incelenmiş ve 51 (%35,17)’inde *L. monocytogenes* izole edilmiştir (Jamali, Chai, & Thong, 2013).

L. monocytogenes’in tespit edilme oranlarındaki farklılıklar, coğrafi bölgeler arasındaki iklim ve çevresel koşulların, bakterinin varlığı ve yayılımı üzerinde etkili olabileceği değerlendirilmektedir. Özellikle sıcaklık, nem ve toprak yapısı gibi çevresel faktörlerin, *L. monocytogenes*’in hayatta kalma ve çoğalma kabiliyetini etkileyebileceği düşünülmektedir (Osek, Lachtara, & Wieczorek, 2022). Tarım uygulamaları, sulama suyu kaynakları, gübreleme yöntemleri ve hasat sonrası hijyen uygulamalarındaki farklılıkların da sebzelerin kontaminasyon oranlarına doğrudan etki edebileceği öngörülmektedir. Bununla birlikte, incelenen sebze türlerinin yüzey yapıları ve mikrobiyal tutunma özelliklerinin, kontaminasyon riskini değiştirebileceği düşünülmektedir. Örneğin, girintili ve pürüzlü yüzeye sahip sebzelerin, bakterilerin tutunmasına daha elverişli olabileceği öne sürülmektedir. Sıcaklık kontrollerinin yetersizliği veya hijyen standartlarındaki eksikliklerin, kontaminasyonu artırabileceği değerlendirilmektedir (Mogren ve ark., 2018).

5.4.4. Yeşil Filiz Örneklerinde *S. aureus* Varlığı

Çalışmamızda 44 yeşil filiz örneğinin 14 (%31,81)’ünde *S. aureus* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin dağılımı değerlendirildiğinde, *S. aureus* 15 marul örneğinin 3 (%20)’ünde, 15 maydanoz örneğinin 7 (%46,66)’sinde ve 14 ıspanak örneğinin 4 (%28,57)’ünde saptanmıştır. Marul örneklerinde *S. aureus* yoğunluğu en yüksek $6,8 \times 10^3$ ($3,83 \log_{10}$) kob/g, en düşük 8×10^1 ($1,90 \log_{10}$) kob/g; maydanozda en yüksek $3,6 \times 10^2$ ($2,55 \log_{10}$) kob/g, en düşük 3×10^1 ($1,47 \log_{10}$) kob/g; ıspanakta ise en yüksek $2,8 \times 10^3$ ($3,44 \log_{10}$) kob/g, en düşük $2,4 \times 10^2$ ($2,38 \log_{10}$) kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, İstanbul’da yapılan çalışmada, 15 çiğ salata örneği incelenmiş ve hiçbirinde *S. aureus* tespit edilmemiştir (İldız & Çiftçioğlu, 1997). İstanbul’da gerçekleştirilen bir başka çalışmada, 30 çiğ sebze örneği incelenmiş ve *S. aureus* seviyeleri $<10-3,4 \times 10^2$ kob/g ($<1-2,53 \log_{10}$) olarak belirlenmiştir (Alçay, 2021). Ankara’da yapılan bir çalışmada, 75 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 9 (%12)’unda *S. aureus* tespit edilmiştir. Ortalama *S. aureus* sayıları 3,0–4,3 log kob/g arasında değişmiştir (Aycicek, Cakiroglu, & Stevenson, 2005). İstanbul’da yapılan bir başka çalışmada, 30 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 6 (%20)’sında *S. aureus* tespit edilmiştir. Örneklerdeki *S.*

aureus seviyeleri $<1,0 \times 10^2$ - $5,8 \times 10^4$ kob/g arasında değişmiştir (Hampikyan ve ark., 2008). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, Ankara’da yapılan çalışmada, 60 çiğ sebze örneği incelenmiş ve *S. aureus* seviyeleri $2,85 \times 10^5$ ile $3,9 \times 10^5$ kob/g arasında bulunmuştur (Çıtak ve ark., 2009).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızdan daha düşük prevalans oranı, Çin’de yapılan bir çalışmada, 419 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 24 (%5,73)’ünde *S. aureus* tespit edilmiştir. Ortalama *S. aureus* seviyeleri 3,85 MNP/g olarak bulunmuş, en yaygın *S. aureus* marul örneklerinde (%15,48) saptanmıştır (S. Wu ve ark., 2018). Çalışmamızla benzer prevalans oranlarına sahip çalışmalar arasında, Çin’de yapılan bir çalışmada, 77 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 24 (%31,16)’ünde *S. aureus* tespit edilmiştir (Jia ve ark., 2024). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, Hindistan’da yapılan bir çalışmada, 72 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 41 (%56,94)’inde *S. aureus* tespit edilmiştir (Viswanathan & Kaur, 2001).

S. aureus’un sebzelerdeki yayılımı, sebze türüne bağlı olarak farklılık göstermekte olup, her sebzenin kontaminasyon düzeyi değişebilmektedir. Benzer prevalans oranları diğer çalışmalarda da bildirilmiş olsa da, tespit edilen *S. aureus* miktarlarında ve yayılım düzeylerinde bazı farklılıklar görülmüştür. Bu farklılıkların; tarımsal uygulamalar, hijyen koşulları ve yerel mikroflora gibi çeşitli etkenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, elde edilen bulguların diğer çalışmalarla karşılaştırılması, *S. aureus* kontaminasyonunun daha kapsamlı şekilde anlaşılmasına ve potansiyel halk sağlığı risklerinin belirlenmesine katkı sağlayabilir (Deddefo, Mamo, Asfaw, & Amenu, 2023).

5.4.5. Yeşil Filiz Örneklerinde *Shigella* spp. Varlığı

Çalışmamızda 44 yeşil filiz örneğinde *Shigella* spp. varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızla benzer prevalans oranları, Bursa’da yapılan bir çalışmada, 78 çiğ sebze ve 100 salata örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Shigella* spp. tespit edilmemiştir (Cetinkaya ve ark., 2008).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızla benzer çalışmalar arasında, İngiltere’de yapılan bir çalışmada, 151 marul örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Shigella* spp. bulunmamıştır (Little ve ark., 1999). Nijerya’da yapılan bir çalışmada, 15 çiğ sebze örneği incelenmiş ve hiçbirinde *Shigella* spp. tespit edilmemiştir (Itohan ve ark., 2011). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, İran’da yapılan bir çalışmada, 650 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 8 (%1,2)’inde *S. sonnei*, 6 (%0,9)’sında *S. flexneri* tespit edilmiştir (Shahin ve ark., 2019). Etiyopya’da gerçekleştirilen bir

çalışmada, 40 marul ve 40 yeşil biber örneği incelenmiş, 8 (%12,5) marul örneğinde ve 16 (%25) yeşil biber örneğinde *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Guchi & Ashenafi, 2010). Hindistan'da yapılan bir başka çalışmada, 550 çiğ sebze örneği incelenmiş ve 49 (%25,25)'unda *Shigella* spp. tespit edilmiştir (Gundappa & Gaddad, 2016).

Sonuçlar arasındaki farklılıklar nedenleri arasında çevresel faktörler ve hijyen koşulları, *Shigella* spp.'nin varlığını etkileyebilir; temiz su kullanımı, gübreleme yöntemleri ve işleme koşulları mikroorganizmaların gıdalara bulaşma riskini belirleyebilir. Ayrıca, yerel mikroflora da *Shigella* spp.'nin prevalansını etkileyebilir, çünkü bazı bölgelerde bu patojen daha yaygın olabilirken diğer bölgelerde nadiren tespit edilebilir. Sonuç olarak, *Shigella* spp.'nin tespit edilmemesi çevresel faktörler bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Mahagamage, Pathirage, & Manage, 2020).

5.4.6. Yeşil Filiz Örneklerinde STEC Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 44 yeşil filiz örneğinden yalnızca birinde (%2,27), önemli STEC serotiplerinden biri olan *E. coli* O103 tespit edilmiştir. Pozitif bulguya marul örneğinde rastlanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde Gökmen ve arkadaşlarının 75 yeşil filizler üzerinde yaptığı çalışmada 13 numunede STEC tespit edilmiştir. Bu 13 numuneden 9'unun en yaygın yedi STEC grubuna ait olduğu belirlenmiş; bir ıspanak örneğinde O145, 2 marul örneğinde O103, 3 marul örneğinde O145 ve 6 maydanoz örneğinde O145 serotipi izole edilmiştir (Gökmen ve ark., 2024).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında Brezilya'da 200 organik sebze üzerinde araştırma yapılmış ve hiçbir numuneden STEC izole edilememiştir (Batalha, Monte, & Landgraf, 2023). Çin'de 2011–2013 yılları arasında gerçekleştirilen bir çalışmada, incelenen 139 çiğ sebze örneğinin 62 (44,60)'sinde ilk yedi STEC serogrubuna ait izolatlar tespit edilmiştir. Tespit edilen serotipler arasında O157 serotipi 55 örnekte, O45 serotipi 5 örnekte, O145 ve O111 serotipleri ise birer örnekte bulunmuştur (R. Li ve ark., 2016)

Çeşitli araştırmalar, tarımsal sularda STEC serotiplerinin uzun süre hayatta kalarak kontaminasyon riskini artırabileceğini bildirmiştir (Topalcengiz & Danyluk, 2019). Ayrıca, kullanılan sulama tipinin patojenlerin bitkilere transferini önemli ölçüde etkileyebileceği belirtilmiştir (Riggio, Wang, Kniel, & Gibson, 2019). Sonuçlar arasındaki farklar bu sebeplerden kaynaklanabileceği gibi, numunelerin türü, sayısı, yetiştirme koşulları, ve tarımsal uygulamalardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

5.5. Çiğ Süt Örneklerinde Patojen Varlığı

Çiğ süt ve çiğ süt ürünlerinin tüketimi, halk sağlığı açısından riskler taşımakta olup, bu ürünlerle bağlantılı gıda kaynaklı hastalık salgınları dünya çapında rapor edilmiştir (De Buyser, Dufour, Maire, & Lafarge, 2001). Süt ve süt ürünleri, farklı kaynaklardan gelen mikroorganizmalarla kirlenebilir (Oliver, Jayarao, & Almeida, 2005). İnsanlar ve sıcakkanlı hayvanların kalın bağırsağında doğal olarak bulunan *E. coli* bu mikroorganizmalar arasında yer alır. Çiğ süt ve süt ürünlerindeki *E. coli*'nin en önemli kaynağı, sağım esnasında dışkı bulaşması ve hijyen kurallarına yeterince uyulmamasıdır. Bu nedenle, çiğ süt ve çiğ süt ürünlerinde *E. coli* varlığı, dışkı kontaminasyonunun yanı sıra olası bağırsak kökenli patojenlerin mevcudiyetini belirlemek için güvenilir bir gösterge olarak değerlendirilir (Ntuli ve ark., 2023). İtalya'da shiga toksin üreten O26'nın neden olduğu 22 HÜS vakası rapor edilmiştir. 2013 yılında gerçekleşen bu salgının kaynağı olarak çiğ süt veya sebzelerden şüphelenilmiş ve bu olay, O157 dışındaki STEC türlerine ilişkin farkındalığın artmasına neden olmuştur (Germinario ve ark., 2016). Yeni Zelanda'da yapılan bir risk değerlendirmesi, STEC ile kontamine olmuş 250 mL'lik bir sütün, sadece 0.4 koloni oluşturan birim/mL STEC içermesi durumunda, 100 hücrelik bir doz oluşturduğunu ve bu dozun %50 enfeksiyon riski taşıdığını ortaya koymuştur (On, Lake, & Whyte, 2007).

5.5.1. Çiğ Süt Örneklerinde *E.coli* Varlığı

Çalışmamızda 45 çiğ süt örneğinin 36 (%80)'sında *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan örneklerde *E. coli* yoğunluğu en yüksek $2,4 \times 10^6$ ($6,38 \log_{10}$) kob/mL, en düşük ise 1×10^1 ($1 \log_{10}$) kob/mL olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan düşük prevalans oranları arasında, Afyonkarahisar ilinde yapılan çalışmada 10 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *E. coli* tespit edilmemiştir (Şimşek, 2021). Van ilinde yapılan bir çalışmada 60 çiğ süt örneği incelenmiş ve incelenen örneklerin 21 (%35)'inde *E. coli* tespit edilmiştir. *E. coli* sayısı en düşük <1.00 ve en yüksek $3,52 \log$ kob/mL olarak tespit edilmiştir (Tuncay, Sancak, Çakmak, & İşleyici, 2022). Çalışmamızla benzer prevalans oranı, Eskişehir ilinde yapılan bir çalışmada 35 çiğ süt örneği incelenmiş, incelenen örneklerin 27 (%77,14)'sinde *E. coli* tespit edilmiştir. *E. coli* sayısı örneklerde $2,1-7 \log_{10}/\text{mL}$ arasındadır (Kıvanç, Kunduhoğlu, & Ayaz, 1992).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamıza göre düşük prevalans oranları arasında, Tunus'ta yapılan bir çalışmada ise 40 çiğ süt örneği incelenmiş

ve örneklerin 13 (%32,5)'ünde *E. coli* tespit edilmiştir. *E. coli* sayısı $2,08 \pm 0,11$ ile $2,69 \pm 0,12 \log_{10}$ kob/mL arasında tespit edilmiştir (Samet Bali, Lajnef, Felfoul, Attia, & Ayadi, 2024). Çalışmamızla benzer prevalans oranları arasında, Pakistan'da yapılan bir başka çalışmada 100 çiğ süt örneği incelenmiş ve örneklerin 57 (%57)'inde *E. coli* tespit edilmiştir (Soomro, Arain, Khaskheli, & Bhutto, 2002). Mısır'da yapılan bir çalışmada 72 çiğ süt örneği incelenmiş ve incelenen örneklerin 55 (%76,38)'inde *E. coli* tespit edilmiştir (Ombarak ve ark., 2016). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında ise Yeni Zelanda'da yapılan çalışmada 297 çiğ süt örneği incelenmiş ve örneklerin %99'unda *E. coli* tespit edilmiştir. *E. coli* sayıları, örneklerin %0,7'sinde 10^3 kob/mL üzerinde ve geri kalanında $<1 \times 10^2$ kob/mL seviyesinde bulunmuştur (Hill, Smythe, Lindsay, & Shepherd, 2012).

Çalışmamızda elde edilen bulgular ile diğer çalışmalar arasındaki farklılıklar, öncelikle coğrafi bölgeler arasındaki süt üretim süreçlerindeki farklılıklara bağlanabilir. Hayvanların bakım ve beslenme koşulları, ahır hijyeni, süt sağım teknikleri ve kullanılan ekipmanların temizliği gibi faktörlerin bu farklılıkları etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca, çiğ sütün taşınma ve depolanma süreçlerindeki sıcaklık kontrolü ve hijyen uygulamalarındaki yetersizlikler, *E. coli* düzeylerinde artışa neden olmuş olabilir. Sonuç olarak, bu farklılıkların, süt üretim zincirinin her aşamasında hijyen standartlarının iyileştirilmesi ve uluslararası metodolojik standartlara daha sıkı bir uyum sağlanması ile azaltılabileceği düşünülmektedir (Garedew, Berhanu, Mengesha, & Tsegay, 2012).

5.4.2. Çiğ Süt Örneklerinde *Salmonella* spp. Varlığı

Çalışmamızda 45 çiğ süt örneğinin 3 (%6,66)'ünde *Salmonella* spp. varlığı tespit edilmiştir. Tanımlama ve tiplendirme çalışmaları sonucunda elde edilen 3 izolatın tamamının *S. Enteritidis* olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda düşük prevalans oranları arasında, Van ilinde yapılan çalışmada 60 çiğ süt örneğinde *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir (Tuncay ve ark., 2022). Afyonkarahisar'da yapılan çalışmada 10 çiğ süt örneği incelenmiş hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir (Şimşek, 2021). Şanlıurfa'da gerçekleştirilen 250 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir (Durmaz & Ardic, 2017).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamıza göre düşük prevalans oranı Etiyopya'da yapılan çalışmada 96 çiğ süt örneği incelenmiş, incelenen örneklerin %2,1'inde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Tesfaw ve ark., 2013). Çalışmamıza benzer prevalans oranları arasında, Hindistan'da yapılan çalışmada 142 çiğ

süt örneği incelenmiş ve örneklerin %3,52'sinde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. *Salmonella* spp. tanımlanması ve tiplendirmesi sonucunda 5 izolattın 3 (%2,08)'ü *S. Typhimurium*, 2 (%1,4)'si *S. Newport* olarak tanımlanmıştır (Kaushik, Kumari, Bharti, & Dayal, 2014). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmada 131 çiğ süt örneği incelenmiş ve örneklerin %6,10'unda *Salmonella* spp. tespit edilmiştir (Jayarao & Henning, 2001).

Çalışmamızda çiğ süt örneklerinde tespit edilen *Salmonella* spp. oranının diğer çalışmalarla kıyaslandığında farklılık göstermesi, birçok faktöre dayandırılabilir. Öncelikle, süt üretim ve işleme zincirinde uygulanan hijyen standartlarının bölgesel ve yerel farklılıkları, bu sonuçlar üzerindeki temel belirleyicilerden biri olabilir. Hayvanların sağlık durumu, çevresel koşullar ve ahır hijyeni gibi faktörler, çiğ süt örneklerinde *Salmonella* spp. varlığını etkileyen önemli unsurlar arasında yer almaktadır (Berge & Baars, 2020). Ayrıca, süt sağımında kullanılan ekipmanların temizliği, süt toplama ve depolama süreçlerindeki hijyen uygulamaları ile sıcaklık kontrollerinin yeterli düzeyde sağlanamaması, kontaminasyon riskini artırmış olabilir. Analizlerde kullanılan yöntemlerin duyarlılığı, örnekleme büyüklüğü ve analiz edilen süt örneklerinin coğrafi dağılımı gibi metodolojik farklılıklar da bu sonuçlar üzerinde etkili olmuş olabilir (Temesgen, Tufa, & Abunna, 2025). Özellikle, mevsimsel değişiklikler, *Salmonella* spp.'nin çevresel yayılımını ve dolayısıyla sütte tespit edilme oranını etkileyen bir diğer önemli faktördür. Çalışmamızda *S. Enteritidis* izolatlarının tespit edilmesi, bölgesel farklılıkların yalnızca genel prevalans değil, aynı zamanda serotip dağılımını da etkileyebileceğini göstermektedir. Bu durum, süt üretim ve işleme süreçlerinde daha sıkı kontrol mekanizmalarının uygulanması ve uluslararası standartlarla uyumlu hijyen protokollerinin geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

5.5.3. Çiğ Süt Örneklerinde *L. monocytogenes* Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 45 çiğ süt örneğinde *L. monocytogenes* varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızla benzer bir prevalans oranı, Hatay ilinde yürütülen bir çalışmada bildirilmiş; analiz edilen 157 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir (Aygün & Pehlivanlar, 2006). Çalışmamıza göre yüksek prevalans oranları, İstanbul ilinde 221 çiğ süt örneği incelenmiş, örneklerin birinde (%0,45) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Uysal & Anđ, 2003). Van ilinde yapılan çalışmada 250 çiğ süt örneğinin 3 (%1,2)'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Sağun, Sancak, İşleyici, & Ekici, 2001). Türkiye' nin batı Anadolu bölgesindeki 47 farklı yerden alınan

100 çiğ süt örneğinin 3 (%3)'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Soyutemiz, Çetinkaya, Özakin, & Gedikoğlu, 2001). Çalışmamızdan daha yüksek bir prevalans oranı, Kars ilinde yürütülen bir araştırmada bildirilmiş; analiz edilen 100 çiğ süt örneğinin 10 (%10)'unda *Listeria* spp. tespit edilmiştir. Toplam 10 örnekten 26 izolat elde edilmiş, elde edilen izolatların 16'sı *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Aksoy, Sezer, Vatansever, & Gülbaz, 2018). Kayseri ilinde yapılan çalışmada 50 çiğ süt örneği incelenmiş, örneklerin 7 (%14)'sinde *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir (Özkaya & Yıldırım, 2010).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamıza göre yüksek prevalans oranı bildiren çalışmaları arasında Mısır da yapılan bir çalışmada 103 çiğ süt örneği incelenmiş, bu örneklerin 2 (%1,94)'sinde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Osman ve ark., 2016). İspanya' da gerçekleştirilen araştırmada 774 çiğ süt örneğinin 28 (%3,62)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Gaya, Sanchez, Medina, & Nunez, 1998). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmada 131 çiğ süt örneğinin 6 (%4,58)'sında *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Jayarao & Henning, 2001).

Çiğ süt üretiminde uygulanan hijyen ve sanitasyon önlemlerinin düzeyinin, *Listeria* spp. varlığı üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Sağım işlemi sırasında ve sonrasındaki işleme süreçlerinde kullanılan ekipmanların hijyen durumu, ortam koşulları ve çalışanların uyguladığı hijyen protokolleri, patojenlerin bulaşma riskini azaltmada önemli rol oynamaktadır. Özellikle sağım ekipmanlarının düzenli olarak temizlenip dezenfekte edilmesinin, *Listeria* spp. kontaminasyonunun önlenmesine katkı sağlamış olabileceği değerlendirilmektedir (Sarkar, 2016). Bunun yanında, çalışmamızın örnekleme yaptığı bölgelerde hayvan sağlığına verilen önemin yüksek olması ve hayvanların *L. monocytogenes* taşıyıcısı olma oranlarının düşük olması da önemli bir etken olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, çiğ sütün taşınması ve depolanması sırasında soğuk zincir uygulamalarının eksiksiz bir şekilde sürdürülmesi, bakterinin çoğalma potansiyelini sınırlamış olabilir. Bölgesel iklim koşulları ve çevresel faktörler, *L. monocytogenes*'in çevredeki hayatta kalma ve bulaşma riskini etkileyen bir diğer faktördür (Osek ve ark., 2022). Ayrıca, örnekleminin yapıldığı hayvan sürülerindeki taşıyıcılık oranları, sağım sıklığı ve çevresel kontaminasyon kaynaklarının da elde edilen sonuçlar üzerindeki etkili faktörler arasında yer alabileceği düşünülmektedir. Çalışmada çiğ süt örneklerinde *L. monocytogenes*'in tespit edilmemesi, etkili hijyen uygulamaları ile birlikte soğuk zincirin kesintisiz biçimde sürdürülmesinin bir sonucu olarak değerlendirilmektedir. Bu bulgular, çiğ süt kaynaklı gıda güvenliğinin sağlanmasında hijyen ve taşıma koşullarının önemini

vurgulamakta ve alınan önlemlerin devamlılığının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

5.5.4. Çiğ Süt Örneklerinde *S. aureus* Varlığı

Çalışmamızda 45 çiğ süt örneğinin 21 (%53,33)'inde *S. aureus* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan örneklerde *S. aureus* yoğunluğu en yüksek $4,4 \times 10^6$ ($6,64 \log_{10}$) kob/mL, en düşük ise 1×10^1 ($1 \log_{10}$) kob/mL olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan daha düşük prevalans oranları arasında, Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada, 10 çiğ süt örneği incelenmiş ve hiçbirinde *S. aureus* tespit edilmemiştir (Şimşek, 2021). Van'da yapılan bir çalışmada, 60 çiğ süt örneği incelenmiş ve 13 (%21,66)'ünde *S. aureus* tespit edilmiştir. Örneklerdeki *S. aureus* seviyeleri ortalama $3,67 \pm 0,14 \log$ kob/mL olarak belirlenmiştir (Tuncay ve ark., 2022). Konya'da yapılan bir çalışmada, 50 çiğ süt örneği incelenmiş ve *S. aureus* seviyeleri $2,92-5,32 \log_{10}$ kob/mL arasında bulunmuştur (Telli, Yörük, Telli, Cebirbay, & Güner, 2018). Çalışmamıza benzer prevalans oranları arasında, Kayseri'de yapılan bir çalışmada, 100 çiğ süt örneğinin 60 (%60)'unda *Staphylococcus* spp. üremesi tespit edilmiş, 300 izolata yapılan katalaz ve koagülaz testi ile 42 (%14)'sinin *S. aureus* olduğu belirlenmiştir (Ertaş & Gönülalan, 2010). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Eskişehir'de yapılan bir çalışmada, 36 çiğ süt örneğinin tamamında *S. aureus* tespit edilmiş ve seviyeleri $2,1-6 \log_{10}$ kob/mL arasında, ortalama $1,82 \times 10^3$ kob/mL olarak bulunmuştur (Kıvanç ve ark., 1992).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamıza benzer prevalans oranları arasında, Malezya'da yapılan bir çalışmada, 360 çiğ süt örneği incelenmiş ve %60'unda *S. aureus* izole edilmiştir. Ortalama *S. aureus* seviyeleri $1,2 \times 10^4$ kob/mL olarak bulunmuştur (Chye, Abdullah, & Ayob, 2004). Çalışmamızdan daha yüksek prevalans oranları arasında, Kahire'de yapılan bir çalışmada, incelenen 50 çiğ süt örneğinin tamamında *S. aureus* tespit edilmiş ve seviyeleri $4,7-5,7 \log_{10}$ kob/mL arasında bulunmuştur (İbrahim, Sharaf, & El-Khalek, 2015). Burkina Faso'da gerçekleştirilen bir çalışmada, 45 çiğ süt örneğinin tamamında *S. aureus* tespit edilmiş ve ortalama *S. aureus* seviyeleri $4,78 \log_{10}$ kob/mL olarak belirlenmiştir (Tankoano ve ark., 2016).

Çalışmamızda çiğ süt örneklerinde *S. aureus* tespit oranı ve sayısal veriler ile diğer çalışmalarda bildirilen sonuçlar arasındaki farklılıklar, çeşitli faktörlere dayandırılabilir. Bu farklılıkların, çiğ süt üretimi sırasında hijyen ve sanitasyon uygulamalarındaki değişkenliklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Süt sağım ve depolama süreçlerinde kullanılan ekipmanların temizlik düzeyi, süt toplama ve taşıma aşamalarında uygulanan soğuk zincir koşullarının sürekliliği ve çevresel kontaminasyon riskleri gibi

faktörler, *S. aureus*'un süt içinde bulunma oranını ve miktarını etkileyebilir (Tegegne & Tesfaye, 2017). Ayrıca, çalışmamızdaki örneklerin alındığı bölgelerdeki hayvan sürülerinin sağlığı ve meme enfeksiyonlarının sıklığı da bu farklılıklarda rol oynayabilir. Çevresel koşulların yanı sıra, sütlerin işleme öncesi bekleme süreleri ve sıcaklık kontrolü de bakteri sayısındaki farklılıklarda etkili olabilir. Ayrıca, örnekleme zamanlarının ve sütlerin depolama koşullarının değişkenlik göstermesi, sonuçların karşılaştırılabilirliğini sınırlayan bir diğer etken olarak değerlendirilmektedir (Bellio ve ark., 2016). Çalışmamızın bulguları, bölgesel hijyen uygulamalarının ve üretim pratiklerinin önemini vurgulamakta ve çiğ sütle ilişkili risklerin minimize edilmesi için etkin kontrol önlemlerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

5.5.5. Çiğ Süt Örneklerinde *Shigella* spp. Varlığı

Çalışmamızda analiz edilen 45 çiğ süt örneğinde *Shigella* spp. varlığına rastlanmamıştır. Çalışmamızla benzer bir prevalans oranı, Bursa'da gerçekleştirilen bir çalışmada da bildirilmiş; incelenen 25 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. izole edilmemiştir (Cetinkaya ve ark., 2008).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızla benzer araştırmalar arasında, İran'da yapılan çalışmada 135 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. tespit edilmemiştir (Pakbin, Amani, ve ark., 2021). İran'da gerçekleştirilen bir başka çalışmada, incelenen 100 çiğ süt örneğinin hiçbirinde *Shigella* spp. bulunmamıştır (Shahin ve ark., 2019). Çalışmamızdan yüksek prevalans oranları arasında, Mısır'da yapılan bir çalışmada, 200 çiğ süt örneği incelenmiş ve 16 (%8)'sında *Shigella* spp. tespit edilmiştir. Bunların 10 (%62,5)'u *S. dysenteriae*, 4 (%25)'ü *S. flexneri* ve 2 (%12,5)'si *S. sonnei* olarak tanımlanmıştır (Elkenany, Eltaysh, Elsayed, Abdel-Daim, & Shata, 2022).

Shigella spp. prevalansındaki bu farklılıklar, hijyenik uygulamalardaki değişiklikler, süt sağımı ve depolama koşulları, bölgesel sanitasyon standartları ve örnekleme büyüklüklerindeki farklılıklar gibi etkenlere bağlanabilir (Tusa, Alemayehu, Subussa, Ayalew, & Ali, 2024). Çalışmamızda ve benzer çalışmalarda *Shigella* spp.'nin tespit edilmemesi, hijyen standartlarının yüksek olduğu bölgelerde yürütülen çalışmaların bir sonucu olabilir. Buna karşın, çalışma sonuçlarındaki yüksek prevalans, süt üretim ve depolama süreçlerinde yetersiz hijyen uygulamalarının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

5.5.6. Çiğ Süt Örneklerinde STEC Varlığı

Çalışmamızda 45 çiğ süt örneğinin 6 (%13,33)'sında STEC serotip varlığı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu 6 örnekten toplam 9 STEC izolatu elde edilmiş olup, bu isolatların birinde O157, birinde O121, birinde O45, birinde O26, 2'sinde O111 ve 3'ünde O103 serotipleri belirlenmiştir. Çalışmamızdan daha düşük bir prevalans oranı, Gökmen ve arkadaşları tarafından Balıkesir ilinde gerçekleştirilen çalışmada bildirilmiş; incelenen 100 çiğ süt örneğinin hiçbirinde STEC tespit edilmemiştir (Gökmen ve ark., 2024).

Diğer ülkelerde yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızdan daha düşük bir prevalans oranları arasında, Kahire'de gerçekleştirilen bir çalışmada bildirilmiş; incelenen 20 çiğ süt örneğinin hiçbirinde STEC tespit edilememiştir (Abd El-Moez, 2022). Çin'de yapılan çalışmada 27 süt ürünü incelenmiş ve hiç birinde STEC tespit edilmemiştir (Shen ve ark., 2022). Çalışmamızla benzer prevelans oranları Fransa'da toplanılan 205 çiğ tank sütü ile yapılan çalışmada 43 örnekte STEC tespiti yapılmış ve serotip analizinde 4'ü O145, biri O103, 3'ü O145 + O157, biri O145 + O103, biri O145 + O26 olarak tanımlanmıştır (Perelle, Dilasser, Grout, & Fach, 2007). İran'da 2009 yılında yapılan bir çalışmada, 206 çiğ süt örneği incelenmiş ve bu örneklerden 36 (%17,47)'sında STEC grubuna rastlanmıştır (Mohammadi, Abiri, Rezaei, & Salmanzadeh-Ahrabi, 2013). İspanyada 214 süt örneği ile yapılan çalışmada 5 (%2.3) örnekte STEC tespit edilmiş ve serotip analizinde 2'si O140:H32, biri O2:HNM,O3:HNM, ONT:HNM olarak tanımlanmıştır (Rios ve ark., 2019).

Gıda kaynaklı patojenler, sağım işlemi sırasında ineklerin memelerinden, sağım yapanların hijyen eksikliklerinden, uygun olmayan sağım tesislerinden ve çevredeki dışkı kalıntılarından dolayı süte bulaşabilir (Odetokun & Adetunji, 2016). Çalışmalar arasındaki farklılıkların bu etkenlere bağlı olabileceği gibi coğrafi konum, mevsim, çiftlik büyüklüğü, hayvan sayısı, çiftlik yönetim stratejileri, numune alma çeşitliliği ve kullanılan tespit yöntemlerindeki farklılıklar gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanmış olabileceği de düşünülmektedir (Tamminen ve ark., 2019). Ayrıca, farklı bölgelerde STEC serotiplerinin yaygınlığı ve tür dağılımı, bölgesel hayvancılık pratiklerinden, çiftlik hijyeninden ve çevresel kontaminasyon düzeylerinden etkilenebilir. Özellikle sağım ve süt işleme süreçlerinde yeterli hijyen önlemlerinin alınmaması, STEC'in çiğ süte bulaşmasına neden olabilecek önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Serotip analizindeki çeşitlilik, her bölgedeki STEC serotiplerinin genetik özelliklerindeki farklılıkları ve bu serotiplerin hayvan rezervuarlarındaki dağılımını yansıtabilir (Tamminen ve ark., 2019).

Çalışmamızdaki bulgular, çiğ sütün STEC bulaşma riskinin yüksek olduğunu vurgulamakta ve gıda güvenliği önlemlerinin bu riskin azaltılmasında kritik bir rol oynadığını göstermektedir.

Gıda güvenliğinin sağlanmasında temel rol oynayan gıda mikrobiyolojisi, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların tanımlanması, bulaşma yollarının belirlenmesi ve risk analizlerinin yapılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu alandaki bilimsel ilerlemeler, sadece klasik kültürel yöntemlerle sınırlı kalmayıp, moleküler düzeyde tanımlama yapabilen yeni nesil analizlerin gelişmesini de beraberinde getirmiştir. Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan qPCR tabanlı moleküler analizler, özellikle STEC gibi halk sağlığı açısından önemli patojenlerin hızlı, duyarlı ve özgül şekilde tespit edilmesini sağlamış; böylece potansiyel bulaş risklerinin erken dönemde belirlenmesine olanak tanımıştır. Gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve toplum sağlığının korunması açısından, moleküler yöntemlerin klasik kültürel analizlerle desteklenerek kullanılması, mikrobiyolojik denetimlerin güvenilirliğini artırmakta ve gıda mikrobiyolojisinin uygulamalı önemini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle örnekler yalnızca Kocaeli ilinden ve Mayıs ile Ekim 2024 tarihleri arasında toplanmıştır. Bu durum, elde edilen sonuçların mevsimsel değişkenliği yansıtmasını sınırlamakta ve yıl geneline genellenmesini engellemektedir. Ayrıca toplam örnek sayısı 220 ile sınırlı olup, Türkiye genelini temsil edecek bir coğrafi dağılımı yansıtmamaktadır. Çalışmada değerlendirilen gıda matrisleri çiğ sığır eti, tavuk eti, balık eti, çiğ süt ve yeşil filizler (marul, ıspanak, maydanoz) ile sınırlı kalmıştır. Hazır yemekler, yumurta, içme suyu gibi diğer potansiyel risk taşıyan gıdalar kapsam dışında bırakılmıştır. Bu sınırlılıklar dikkate alınarak, elde edilen sonuçlar temkinli şekilde yorumlanmalı ve gelecekte farklı bölgeleri kapsayan, yılın tüm mevsimlerini içeren ve daha çeşitli gıda gruplarına odaklanan çalışmalarla desteklenmelidir.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, çiğ gıda ürünlerinde halk sağlığını tehdit eden STEC, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Shigella* spp. ve *E. coli* gibi önemli patojenin prevalansı detaylı bir şekilde incelenmiştir. Elde edilen bulgular, gıda kaynaklı STEC enfeksiyonlarının yalnızca O157 serotipi ile ilişkili olmadığını; O157 dışı serotiplerin de yaygın olarak görülebildiğini ve benzer düzeyde halk sağlığı açısından risk teşkil edebileceğini ortaya koymuştur. *Salmonella* spp. ve *S. aureus* gibi patojenlerin çiğ balık, süt ve et gibi hayvansal ürünlerde yüksek prevalans oranlarında bulunması, gıda işleme süreçlerindeki hijyen eksikliklerini ortaya koyarken, bazı bölgelerde *L. monocytogenes* ve *Shigella* spp. gibi patojenlerin tespit edilmemesi, belirli üretim zincirlerinde etkili hijyen uygulamalarının başarıya ulaştığını göstermektedir. Bununla birlikte, kontaminasyon riskleri, çiftlikten sofraya kadar tüm üretim süreçlerini kapsayan sıkı denetim mekanizmalarının gerekliliğini bir kez daha gözler önüne sermektedir. Bu bağlamda, STEC ve diğer patojenlerin tespiti için geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda PCR gibi moleküler yöntemlerin yaygınlaştırılması kaçınılmazdır ve bu yöntemlerin özellikle multipleks formatlarda kullanımı, zaman ve maliyet açısından büyük bir avantaj sağlayacaktır. Ayrıca, hayvansal gıdalarda zoonotik patojenlerin önlenmesi için biyogüvenlik önlemleri artırılmalı, üretim süreçlerinde hijyen standartları sıkı bir şekilde uygulanmalı ve düzenli denetimlerle bu önlemler desteklenmelidir. Çiğ süt, balık ve et ürünleri gibi yüksek riskli gıdalarda kontaminasyonun önlenmesi için, tüketiciler, bu ürünlerin doğru işlenmesi, saklanması ve tüketilmesi konularında bilgilendirilmelidir.

Türk Gıda Kodeksi ve ISO standartlarına uygun düzenlemelerin güçlendirilmesi, ulusal düzeyde izleme programlarının daha kapsayıcı hale getirilmesi ve STEC'nin O157 dışı serotiplerini de içeren kapsamlı epidemiyolojik çalışmaların yürütülmesi, gıda güvenliği stratejilerinin etkinliğini artıracaktır. Gıda kaynaklı hastalıkların kontrol altına alınması ve sürdürülebilir bir gıda güvenliği altyapısının oluşturulması için hijyen standartlarının sıkılaştırılması, moleküler tespit yöntemlerinin yaygınlaştırılması ve tüketici bilincinin artırılması hayati öneme sahiptir. Bu çalışma, gıda güvenliği alanında geliştirilecek uzun vadeli stratejilere bilimsel bir temel sağlayarak, halk sağlığının korunmasında önemli bir rehber niteliği taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Abbassi-Ghozzi, I., Jaouani, A., Hammami, S., Martinez-Urtaza, J., Boudabous, A., & Gtari, M. (2012). Molecular analysis and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates recovered from raw meat marketed in the area of “Grand Tunis”, Tunisia. *Pathologie Biologie*, 60(5), e49-e54. doi:10.1016/j.patbio.2011.07.005
- Abd El-Moez, I. (2022). Detection of SHIGA-TOXIN producing *E. coli* in some retail markets in Egypt using qPCR assay with special reference to serotyping. *Advances in Environmental Biology*, 16(1), 1-12. doi:10.22587/aeb.2022.16.1.1
- Abebe, E., Gugsu, G., & Ahmed, M. (2020). Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. *Journal of Tropical Medicine*, 2020(1), 4674235. doi:10.1155/2020/4674235
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S. Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacterales’: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5575-5599. doi:10.1099/ijsem.0.001485
- Adler, B., Sasakawa, C., Tobe, T., Makino, S., Komatsu, K., & Yoshikawa, M. (1989). A dual transcriptional activation system for the 230 kb plasmid genes coding for virulence-associated antigens of *Shigella flexneri*. *Molecular Microbiology*, 3(5), 627-635. doi:10.1111/j.1365-2958.1989.tb00210.x
- Ahamed, S. T., Roy, B., Basu, U., Dutta, S., Ghosh, A., Bandyopadhyay, B., & Giri, N. (2019). Genomic and proteomic characterizations of Sfin-1, a novel lytic phage infecting multidrug-resistant *Shigella* spp. and *Escherichia coli* C. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1876. doi:https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01876
- Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2014). Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *International Journal of food microbiology*, 168, 57-62. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.014
- Akbar, A., & Anal, A. K. (2013). Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(2), 163-168. doi:10.1016/S2221-1691(13)60043-X
- Aksoy, A., Sezer, Ç., Vatansever, L., & Gülbaz, G. (2018). Presence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in raw milk and dairy products. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(3). doi:10.9775/kvfd.2017.19081
- Aladhadh, M. (2023). A review of modern methods for the detection of foodborne pathogens. *Microorganisms*, 11(5), 1111. doi:10.3390/microorganisms11051111
- Alçay, A. Ü. (2021). İstanbul’da, Restoranlarda Döner Kebaplarla Servis Edilen Taze Garnitürlerin Mikrobiyolojik Güvenliğinin Belirlenmesi Üzerine Çalışmalar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(3), 276-287. doi:10.5222/TMCD.2021.06332
- Ali, S., & Alsayeqh, A. F. (2022). Review of major meat-borne zoonotic bacterial pathogens. *Frontiers in Public Health*, 10, 1045599. doi:10.3389/fpubh.2022.1045599
- Allerberger, F., Bagó, Z., Huhulescu, S., Pietzka, A., & Pleininger, S. (2023). Listeriosis: the dark side of refrigeration and ensiling. *Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals* (pp. 373-410). doi:10.1007/978-3-031-27164-9_10

- Allison, H. E. (2007). *Stx*-phages: drivers and mediators of the evolution of STEC and STEC-like pathogens. doi:10.2217/17460913.2.2.165
- Alsanius, B., Gustafsson, A., & Hultberg, M. (2008). *Microbiological aspects on irrigation water quality to field grown vegetables*. Paper presented at the IV International Symposium on Ecologically Sound Fertilization Strategies for Field Vegetable Production 852.
- Altun, S. K., & Atasever, M. (2018). Erzurum'da tüketime sunulan tavuk etlerinin bazı patojen bakteriler yönünden incelenmesi. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 8(1), 36-50.
- Álvarez-Fernández, E., Cancelo, A., Díaz-Vega, C., Capita, R., & Alonso-Calleja, C. (2013). Antimicrobial resistance in *E. coli* isolates from conventionally and organically reared poultry: A comparison of agar disc diffusion and Sensi Test Gram-negative methods. *Food Control*, 30(1), 227-234. doi:10.1016/j.foodcont.2012.06.005
- Amagliani, G., Rotundo, L., Carloni, E., Omiccioli, E., Magnani, M., Brandi, G., & Fratamico, P. (2018). Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in ground beef and bean sprouts: Evaluation of culture enrichment conditions. *Food Research International*, 103, 398-405. doi:10.1016/j.foodres.2017.10.059
- Anand, B., Malhotra, V., Bhattacharya, S., Datta, P., Datta, D., Sen, D., . . . Pal, S. (1986). Rectal histology in acute bacillary dysentery. *Gastroenterology*, 90(3), 654-660. doi:10.1016/0016-5085(86)91120-0
- Anand, S., & Barua, M. (2022). Modeling the key factors leading to post-harvest loss and waste of fruits and vegetables in the agri-fresh produce supply chain. *Computers and Electronics in Agriculture*, 198, 106936. doi:10.1016/j.compag.2022.106936
- Anar, Ş., Çarlı, T., Şen, A., & Eyigör, A. (1992). Bursa'da tüketime sunulan piliç butlarından *staphylococcus aureus* ve *escherichia coli* tip izolasyonu üzerine bir çalışma.
- Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *The Scientific World Journal*, 2015. doi:10.1155/2015/520179
- Angelidis, A. S., Kalamaki, M. S., & Georgiadou, S. S. (2015). Identification of non-*Listeria* spp. bacterial isolates yielding a β -D-glucosidase-positive phenotype on Agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti (ALOA). *International Journal of Food Microbiology*, 193, 114-129. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.022
- Ansaruzzaman, M., Kibriya, A., Rahman, A., Neogi, P., Faruque, A., Rowe, B., & Albert, M. J. (1995). Detection of provisional serovars of *Shigella dysenteriae* and designation as *S. dysenteriae* serotypes 14 and 15. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(5), 1423-1425. doi:10.1128/jcm.33.5.1423-1425.1995
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751-1773. doi:10.3390/toxins2071751
- Ashida, H., & Sasakawa, C. (2016). *Shigella* IpaH family effectors as a versatile model for studying pathogenic bacteria. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 100. doi:10.3389/fcimb.2015.00100
- Ashida, H., Toyotome, T., Nagai, T., & Sasakawa, C. (2007). *Shigella* chromosomal IpaH proteins are secreted via the type III secretion system and act as effectors. *Molecular microbiology*, 63(3), 680-693. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05547.x
- Asten, A. v., & Dijk, J. v. (2005). Distribution of " classic" virulence factors among *Salmonella* spp. doi:10.1016/j.femsim.2005.02.002
- Atabey, C., Kahraman, T., & Koluman, A. (2021). Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* Spp., *E. Coli* O157, and *L. Monocytogenes* in Meat and Dairy Products. *Animal Health Production and Hygiene*, 10(1), 17-22.

- Attien, P., Sina, H., Moussaoui, W., Zimmermann-Meisse, G., Dadié, T., Keller, D., . . . Djè, M. (2014). Mass spectrometry and multiplex antigen assays to assess microbial quality and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical and food samples. *BioMed Research International*, 2014(1), 485620. doi:10.1155/2014/485620
- Aycicek, H., Cakiroglu, S., & Stevenson, T. H. (2005). Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16(6), 531-534. doi:10.1016/j.foodcont.2004.04.005
- Aycicek, H., Oguz, U., & Karci, K. (2006). Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209(2), 197-201. doi:10.1016/j.ijheh.2005.07.006
- Aygun, O., & Pehlivanlar, S. (2006). *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. *Food Control*, 17(8), 676-679. doi:10.1016/j.foodcont.2005.09.014
- Badea, L., Beatson, S. A., Kaparakis, M., Ferrero, R. L., & Hartland, E. L. (2009). Secretion of flagellin by the LEE-encoded type III secretion system of enteropathogenic *Escherichia coli*. *BMC Microbiology*, 9, 1-10. doi:10.1186/1471-2180-9-30
- Badosa, E., Trias, R., Parés, D., Pla, M., & Montesinos, E. (2008). Microbiological quality of fresh fruit and vegetable products in Catalonia (Spain) using normalised plate-counting methods and real time polymerase chain reaction (QPCR). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(4), 605-611. doi:10.1002/jsfa.3124
- Bai, X., Hu, B., Xu, Y., Sun, H., Zhao, A., Ba, P., . . . Wang, H. (2016). Molecular and phylogenetic characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6, 143. doi:10.3389/fcimb.2016.00143
- Bai, X., Wang, H., Xin, Y., Wei, R., Tang, X., Zhao, A., . . . Xu, Y. (2015). Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from retail raw meats in China. *International Journal of Food Microbiology*, 200, 31-38.
- Bal, A., Coombs, G., Holden, M., Lindsay, J., Nimmo, G., Tattevin, P., & Skov, R. (2016). Genomic insights into the emergence and spread of international clones of healthcare-, community-and livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: blurring of the traditional definitions. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 6, 95-101. doi:10.1016/j.jgar.2016.04.004
- Balamurugan, S., Ahmed, R., Gao, A., & Strange, P. (2017). Comparison of the fate of the top six non-O157 shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) and *E. coli* O157: H7 during the manufacture of dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 259, 14-21. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.018
- Baliere, C., Rincé, A., Delannoy, S., Fach, P., & Gourmelon, M. (2016). Molecular profiling of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli* strains isolated from French coastal environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 3913-3927. doi:10.1128/AEM.00271-16
- Baraketi, A., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2018). *Foodborne pathogens detection: persevering worldwide challenge. Biosensing technologies for the detection of pathogens—a prospective way for rapid analysis*. IntechOpen, Rijeka, Croatia, 53-72. doi:10.5772/intechopen.74421
- Barbuddhe, S. B., Maier, T., Schwarz, G., Kostrzewa, M., Hof, H., Domann, E., . . . Hain, T. (2008). Rapid identification and typing of *listeria* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(17), 5402-5407. doi:10.1128/AEM.02689-07
- Barre, L., Skjerdal, T., Brasseur, E., Papageorgiou, G. T., Odiatou, E. M., Bulawova, H., . . . Besse, N. G. (2020). *Comparison of the ISO method and three modifications of it for the enumeration of low*

concentrations of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated foods. 4 Original or Review Papers, 22. doi:10.5281/zenodo.3730899

- Barrio, M. B., Rainard, P., & Prévost, G. (2006). LukM/LukF'-PV is the most active *Staphylococcus aureus* leukotoxin on bovine neutrophils. *Microbes and Infection*, 8(8), 2068-2074. doi:10.1016/j.micinf.2006.03.004
- Bassetti, M., Russo, A., Cernelutti, A., & Wilcox, M. (2019). Emerging drugs for treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 24(3), 191-204. doi:10.1080/14728214.2019.1677607
- Batalha, E. Y., Monte, D. F., & Landgraf, M. (2023). Absence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in organic leafy greens from the metropolitan region of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(3), 2253-2258. doi:10.1007/s42770-023-01068-1
- Batt, C. A. (2014). *Escherichia coli* | *Escherichia coli*.
- Bayram, G., Delialioğlu, N., & Emekdaş, G. (2011). Mersin ilinde tüketime sunulan etlerden izole edilen enterokok türlerinin prevalansı ve tiplendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(2), 12-16.
- Becker, K. (2018). *Pathogenesis of Staphylococcus aureus*. in *Staphylococcus aureus* (pp. 13-38): Elsevier.
- Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & Von Eiff, C. (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995. doi:10.1128/jcm.42.11.4988-4995.2004
- Beckius, L., & Schaar, K. (2016). *Development of a bean beverage-the effect of different treatments on sensory properties and nutritional content*.
- Bellio, A., Astegiano, S., Traversa, A., Bianchi, D. M., Gallina, S., Vitale, N., . . . Decastelli, L. (2016). Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in sliced, vacuum-packaged raw milk cheese stored at two different temperatures and time periods. *International Dairy Journal*, 57, 15-19. doi:10.1016/j.idairyj.2016.02.003
- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, 42(1), fux053. doi:https://doi.org/10.1093/femsre/fux053
- Bergan, J., Lingelem, A. B. D., Simm, R., Skotland, T., & Sandvig, K. (2012). Shiga toxins. *Toxicon*, 60(6), 1085-1107. doi:10.1016/j.toxicon.2012.07.016
- Berge, A., & Baars, T. (2020). Raw milk producers with high levels of hygiene and safety. *Epidemiology & Infection*, 148, e14. doi:10.1017/S0950268820000060
- 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.
- Bernardini, M. L., Mounier, J., d'Hauteville, H., Coquis-Rondon, M., & Sansonetti, P. J. (1989). Identification of icsA, a plasmid locus of *Shigella flexneri* that governs bacterial intra- and intercellular spread through interaction with F-actin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(10), 3867-3871. doi:10.1073/pnas.86.10.3867
- Beutin, L., Montenegro, M. A., Orskov, I., Orskov, F., Prada, J., Zimmermann, S., & Stephan, R. (1989). Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(11), 2559-2564. doi:jcm.27.11.2559-2564.1989
- Bhakdi, S., Tranum-Jensen, J., & Sziegoleit, A. (1985). Mechanism of membrane damage by streptolysin-O.

- Bhatia, A., & Zahoor, S. (2007). *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 3(1), 188-197. Retrieved from http://www.jcdr.net/back_issues.asp?issn=0973709x&year=2007&month=June&volume=1&issue=3&page=188-197&id=52
- Bhunia, A. K. (2008). General mechanism of pathogenesis for foodborne pathogens. *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, 93-112. doi:https://doi.org/10.1007/978-0-387-74537-4_4
- Bibi, F., Qaisrani, S., Ahmad, A., Akhtar, M., Khan, B., & Ali, Z. (2015). Occurrence of *Salmonella* in freshwater fishes: A review. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25(3), 303-310.
- Bielaszewska, M., & Karch, H. (2000). Non-O157: H7 Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* strains: epidemiological significance and microbiological diagnosis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 711-718. doi:10.1023/A:1008972605514
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2011). Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. *Journal of Pathogens*, 2011(1), 601905. doi:https://doi.org/10.4061/2011/601905
- Blocker, A., Gounon, P., Larquet, E., Niebuhr, K., Cabiaux, V., Parsot, C., & Sansonetti, P. (1999). The tripartite type III secretin of *Shigella flexneri* inserts IpaB and IpaC into host membranes. *The Journal of Cell Biology*, 147(3), 683-693. doi:https://doi.org/10.1083/jcb.147.3.683
- Bohaychuk, V., Bradbury, R., Dimock, R., Fehr, M., Gensler, G., King, R., . . . Barrios, P. R. (2009). A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. *Journal of Food Protection*, 72(2), 415-420. doi:https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.2.415
- Boisen, N., Krogfelt, K. A., & Nataro, J. P. (2013). Enteraggregative *Escherichia coli*. In *Escherichia coli* (pp. 247-273). Emerging Infections 6.
- Bok, H. E., Holzapfel, W. H., Odendaal, E. S., & van der Linde, H. J. (1986). Incidence of foodborne pathogens on retail broilers. *International Journal of Food Microbiology*, 3(5), 273-285. doi:10.1016/0168-1605(86)90004-8
- Bonev, B. B., Gilbert, R. C., Andrew, P. W., Byron, O., & Watts, A. (2001). Structural analysis of the protein/lipid complexes associated with pore formation by the bacterial toxin pneumolysin. *Journal of Biological Chemistry*, 276(8), 5714-5719. doi:10.1074/jbc.M005126200
- Bonyadian, M., Moshtaghi, H., Nematalahi, A., Rahimi, E., Akhavan Taheri, M., & Karami, S. (2011). Isolation of enterotoxigenic and enteraggregative strains of *Escherichia coli* from chicken carcasses by PCR. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 12(3), 252-255. doi:10.22099/ijvr.2011.74
- Borucki, M. K., & Call, D. R. (2003). *Listeria monocytogenes* serotype identification by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(12), 5537-5540. doi:10.1128/jcm.41.12.5537-5540.2003
- Boss, R., Overesch, G., & Baumgartner, A. (2016). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli*, *Enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* from raw fish and seafood imported into Switzerland. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1240-1246. doi:10.4315/0362-028X.JFP-15-463
- Bouvier, M. (2011). Mise au point de méthodes de détection des souches d'*Escherichia coli* productrices de Shiga-toxines (STEC). <https://ephe.hal.science/hal-01478630v1>
- Boyer, R. R., Sumner, S. S., Williams, R. C., Kniel, K. E., & McKinney, J. M. (2011). Role of O-antigen on

the *Escherichia coli* O157: H7 cells hydrophobicity, charge and ability to attach to lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 147(3), 228-232. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.016

- Bölükbaş, A., Gücükoğlu, A., Uyanık, T., Küllük, E., & Çadircı, Ö. (2024). Determination of Virulence Factors and Antibiotic Resistance Profile of *E. coli* O157: H7 in some Marine and Freshwater Fish from Samsun, Türkiye. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 24(5). doi:10.4194/TRJFAS25057
- Brooks, J. T., Sowers, E. G., Wells, J. G., Greene, K. D., Griffin, P. M., Hoekstra, R. M., & Strockbine, N. A. (2005). Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983–2002. *The Journal of Infectious Diseases*, 192(8), 1422-1429. doi:10.1086/466536
- Browne, S. H., Hasegawa, P., Okamoto, S., Fierer, J., & Guiney, D. G. (2008). Identification of *Salmonella* SPI-2 secretion system components required for SpvB-mediated cytotoxicity in macrophages and virulence in mice. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 52(2), 194-201. doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00364.x
- Buchan, K. D., Foster, S. J., & Renshaw, S. A. (2019). *Staphylococcus aureus*: setting its sights on the human innate immune system. *Microbiology*, 165(4), 367-385. doi:10.1099/mic.0.000759
- Burke, F. M., McCormack, N., Rindi, S., Speziale, P., & Foster, T. J. (2010). Fibronectin-binding protein B variation in *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiology*, 10, 1-15. doi:https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-160
- Burnside, K., Lembo, A., de Los Reyes, M., Iliuk, A., BinhTran, N.-T., Connelly, J. E., . . . Fang, F. C. (2010). Regulation of hemolysin expression and virulence of *Staphylococcus aureus* by a serine/threonine kinase and phosphatase. *PLoS One*, 5(6), e11071. doi:10.1371/journal.pone.0011071
- Cabrera-Maldonado, C., León-Tello, G., Tejeda-Trujillo, F., Ramírez-Juárez, B., & Flores-Encarnación, M. (2013). Preliminary study to investigate *Salmonella* sp. and *E. coli* O157: H7 in ground beef sold in supermarkets in Puebla city, Mexico. *CienciaUAT*, 8(1), 64. Doi:10.29059/cienciauat.v8i1.11
- Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S., & Cabanes, D. (2011). The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. *Virulence*, 2(5), 379-394. doi:10.4161/viru.2.5.17703
- Campos, J., Mourao, J., Pestana, N., Peixe, L., Novais, C., & Antunes, P. (2013). Microbiological quality of ready-to-eat salads: an underestimated vehicle of bacteria and clinically relevant antibiotic resistance genes. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 464-470. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.005
- Campos, L. C., Franzolin, M. R., & Trabulsi, L. R. (2004). Diarrheagenic *Escherichia coli* categories among the traditional enteropathogenic *E. coli* O serogroups: a review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, 545-552. doi:10.1590/S0074-02762004000600001
- Capita, R., Alonso-Calleja, C., Moreno, B., & García-Fernández, M. a. C. (2001). Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. *International Journal of Food Microbiology*, 65(1-2), 75-82. doi:https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00497-9
- Caprioli, A., Morabito, S., Brugère, H., & Oswald, E. (2005). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research*, 36(3), 289-311. doi:10.1051/vetres:2005002
- Carlin, C. R., Liao, J., Weller, D., Guo, X., Orsi, R., & Wiedmann, M. (2021). *Listeria cossartiae* sp. nov., *Listeria immobilis* sp. nov., *Listeria portnoyi* sp. nov. and *Listeria rustica* sp. nov., isolated from agricultural water and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(5), 004795. doi:10.1099/ijsem.0.004795

- Carrasco, E., Morales-Rueda, A., & García-Gimeno, R. M. (2012). Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International*, 45(2), 545-556. doi:10.1016/j.foodres.2011.11.004
- Carraturo, F., Panico, A., Giordano, A., Libralato, G., Aliberti, F., Galdiero, E., & Guida, M. (2022). Hygienic assessment of digestate from a high solids anaerobic co-digestion of sewage sludge with biowaste by testing *Salmonella* Tphimurium, *Escherichia coli* and SARS-CoV-2. *Environmental Research*, 206, 112585. doi:10.1016/j.envres.2021.112585
- Cascarano, M. C., Stavrakidis-Zachou, O., Mladineo, I., Thompson, K. D., Papandroulakis, N., & Katharios, P. (2021). Mediterranean aquaculture in a changing climate: temperature effects on pathogens and diseases of three farmed fish species. *Pathogens*, 10(9), 1205. doi:10.3390/pathogens10091205
- Castro, A., Silva, J., & Teixeira, P. (2018). *Staphylococcus aureus*, a food pathogen: Virulence factors and antibiotic resistance. In *Foodborne Diseases* (pp. 213-238): Elsevier.
- Castro, V. S., Teixeira, L. A. C., Rodrigues, D. d. P., Dos Santos, L. F., Conte-Junior, C. A., & Figueiredo, E. E. d. S. (2019). Occurrence and antimicrobial resistance of *E. coli* non-O157 isolated from beef in Mato Grosso, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 51, 1117-1123. doi:https://doi.org/10.1007/s11250-018-01792-z
- Cavalier-Smith, T. (2002). The neomuran origin of archaeobacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(1), 7-76. doi:10.1099/00207713-52-1-7
- Cepeda-Molero, M., Berger, C. N., Walsham, A. D., Ellis, S. J., Wemyss-Holden, S., Schüller, S., . . . Fernández, L. Á. (2017). Attaching and effacing (A/E) lesion formation by enteropathogenic *E. coli* on human intestinal mucosa is dependent on non-LEE effectors. *PLoS pathogens*, 13(10), e1006706. doi:10.1371/journal.ppat.1006706
- Cetinkaya, F., Cibik, R., Soyutemiz, G. E., Ozakin, C., Kayali, R., & Levent, B. (2008). *Shigella* and *Salmonella* contamination in various foodstuffs in Turkey. *Food Control*, 19(11), 1059-1063. doi:10.1016/j.foodcont.2007.11.004
- Chalmers, R., Aird, H., & Bolton, F. (2000). Waterborne *Escherichia coli* O157. *Journal of Applied Microbiology*, 88(S1), 124S-132S. doi:10.1111/j.1365-2672.2000.tb05340.x
- Chan, Y. C., & Wiedmann, M. (2008). Physiology and genetics of *Listeria monocytogenes* survival and growth at cold temperatures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(3), 237-253. doi:10.1080/10408390701856272
- Chao, G., Zhou, X., Jiao, X., Qian, X., & Xu, L. (2007). Prevalence and antimicrobial resistance of foodborne pathogens isolated from food products in China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4(3), 277-284. doi:10.1089/fpd.2007.0088
- Chattaway, M. A., Schaefer, U., Tewolde, R., Dallman, T. J., & Jenkins, C. (2017). Identification of *Escherichia coli* and *Shigella* species from whole-genome sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(2), 616-623. doi:10.1128/jcm.01790-16
- Chaves, R. D., Martinez, R. C. R., Rezende, A. C. B., Rocha, M. D., Oteiza, J. M., & de Souza Sant'Ana, A. (2016). *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat leafy vegetables. *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods* (pp. 123-149).
- Cheung, G. Y., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547-569. doi:10.1080/21505594.2021.1878688
- Choi, K. Y. (2021). Nitrogen-Neutral Amino Acids Refinery: Deamination of Amino Acids for Bio-Alcohol and Ammonia Production. *ChemBioEng Reviews*, 8(3), 213-226. doi:10.1002/cben.202000031

- Chye, F. Y., Abdullah, A., & Ayob, M. K. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology*, 21(5), 535-541. doi:10.1016/j.fm.2003.11.007
- Cobo-Simón, M., Hart, R., & Ochman, H. (2023). *Escherichia coli*: what is and which are? *Molecular Biology and Evolution*, 40(1), msac273. doi:10.1093/molbev/msac273
- Cohn, A. R., Cheng, R. A., Orsi, R. H., & Wiedmann, M. (2021). Moving past species classifications for risk-based approaches to food safety: *Salmonella* as a case study. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 652132. doi:10.3389/fsufs.2021.652132
- Crespo-Piazuelo, D., & Lawlor, P. G. (2021). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) prevalence in humans in close contact with animals and measures to reduce on-farm colonisation. *Irish Veterinary Journal*, 74, 1-12. doi:10.1186/s13620-021-00200-7
- Crossley, K. B., & Archer, G. L. (1997). *The staphylococci in human disease*.
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822-880. doi:10.1128/cmr.00022-13
- Cruz, C. B. N. d., Souza, M. C. S. d., Serra, P. T., Santos, I., Balieiro, A., Pieri, F. A., . . . Orlandi, P. P. (2014). Virulence factors associated with pediatric shigellosis in Brazilian Amazon. *BioMed Research International*, 2014(1), 539697. doi:10.1155/2014/539697
- Cuny, C., Wieler, L. H., & Witte, W. (2015). Livestock-associated MRSA: the impact on humans. *Antibiotics*, 4(4), 521-543. doi:10.3390/antibiotics4040521
- Çıtak, S., Gündoğan, N., & Kala, E. (2009). Ankara İlindeki Dondurulmuş Et Ve Sebzelerde Koliform Ve Enterokokların Fekal İndikatör Bakteri Olarak Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(4), 145-151.
- Çolak, F. Ç., Dığrak, M., & Aksoy, Z. (2008). Kahramanmaraş' ta Tüketime Sunulan Tavuk Etlerinde *Listeria* Türlerinin Patojenitesi'nin Belirlenmesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 11(1), 8-12.
- Dai, G., Yao, H., Yang, L., Ding, Y., Du, S., Shen, H., & Mo, F. (2023). Rapid detection of foodborne pathogens in diverse foodstuffs by universal electrochemical aptasensor based on UiO-66 and methylene blue composites. *Food Chemistry*, 424, 136244. doi:10.1016/j.foodchem.2023.136244
- Darabă, A. (2021). *Pathogenic Escherichia coli: An overview on pre-harvest factors that impact the microbial safety of leafy greens*: IntechOpen.
- Datta, S., Akter, A., Shah, I., Fatema, K., Islam, T., Bandyopadhyay, A., . . . Biswas, D. (2012). *Microbiological quality assessment of raw meat and meat products, and antibiotic susceptibility of isolated Staphylococcus aureus*. *Agriculture, Food and Analytical Bacteriology*, 2(3), 187-194. https://www.researchgate.net/publication/233920154_Microbiological_Quality_Assessment_of_Raw_Meat_and_Meat_Products_and_Antibiotic_Susceptibility_of_Isolated_Staphylococcus_aureus
- David, M. Z., & Daum, R. S. (2010). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 616-687. doi:10.1128/cmr.00081-09
- David, O. M., Wandili, S., Kakai, R., & Waindi, E. N. (2009). Isolation of *Salmonella* and *Shigella* from fish harvested from the Winam Gulf of Lake Victoria, Kenya. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 3(02), 099-104. doi:10.3855/jidc.56
- Davies, A. R., Capell, C., Jehanno, D., Nychas, G. J., & Kirby, R. M. (2001). Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control*, 12(2), 67-71. doi:10.1016/S0956-7135(00)00022-0
- Day, C. J., Tran, E. N., Semchenko, E. A., Tram, G., Hartley-Tassell, L. E., Ng, P. S., . . . Apicella, M. A. (2015). Glycan: glycan interactions: high affinity biomolecular interactions that can mediate binding

- of pathogenic bacteria to host cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(52), E7266-E7275. doi:10.1073/pnas.1421082112
- Dayan, G. H., Mohamed, N., Scully, I. L., Cooper, D., Begier, E., Eiden, J., . . . Anderson, A. S. (2016). *Staphylococcus aureus*: the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. *Expert Review of Vaccines*, 15(11), 1373-1392. doi:10.1080/14760584.2016.1179583
- De Buyser, M.-L., Dufour, B., Maire, M., & Lafarge, V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67(1-2), 1-17. doi:10.1016/S0168-1605(01)00443-3
- De Castro, A. F. P., Bentancor, A., Mercado, E. C., Cataldi, A., & Parma, A. E. (2012). *Escherichia coli* animal reservoirs, transmission route and animal disease. Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America (pp. 223-248): Bentham Science Publishers.
- De Oliveira, M. A., De Souza, V. M., Bergamini, A. M. M., & De Martinis, E. C. P. (2011). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, 22(8), 1400-1403. doi:10.1016/j.foodcont.2011.02.020
- De Vigilancia Epidemiológica, S. (2015). *Comentario epidemiológico de las enfermedades de declaración obligatoria y Sistema de Información Microbiológica*. España. año 2014.
- DebRoy, C., Fratamico, P. M., & Roberts, E. (2018). Molecular serogrouping of *Escherichia coli*. *Animal Health Research Reviews*, 19(1), 1-16. doi:10.1017/S1466252317000093
- Deddefo, A., Mamo, G., Asfaw, M., & Amenu, K. (2023). Factors affecting the microbiological quality and contamination of farm bulk milk by *Staphylococcus aureus* in dairy farms in Asella, Ethiopia. *BMC Microbiology*, 23(1), 65. doi:10.1186/s12866-022-02746-0
- Deng, W., Marshall, N. C., Rowland, J. L., McCoy, J. M., Worrall, L. J., Santos, A. S., . . . Finlay, B. B. (2017). Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nature Reviews Microbiology*, 15(6), 323-337. doi:10.1038/nrmicro.2017.20
- Desmarchelier, P., & Fegan, N. (2016). Pathogens in milk: *Escherichia coli*.
- Dishan, A., Hizlisoy, H., Barel, M., Disli, H., Gungor, C., Ertas Onmaz, N., . . . Yildirim, Y. (2023). Biofilm formation, antibiotic resistance and genotyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from retail chicken meats. *British Poultry Science*, 64(1), 63-73. doi:https://doi.org/10.1080/00071668.2022.2116697
- Djeffal, S., Mamache, B., Elgroud, R., Hireche, S., & Bouaziz, O. (2018). Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in broiler chicken farms and slaughterhouses in the northeast of Algeria. *Veterinary World*, 11(8), 1102. doi:10.14202/vetworld.2018.1102-1108
- Dodd, C. E., Aldsworth, T. G., & Stein, R. A. (2017). *Foodborne Diseases*: Academic Press.
- Doğan, H. B., Çakır, İ., Keven, F., Coşansu, S., Kırall, N., Dağır, T. İ., . . . Halkman, A. K. (2001). Çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform ve *E. coli* varlığı. *Gıda*, 26(2).
- Doménech, E., Jimenez-Belenguer, A., Amoros, J. A., Ferrus, M. A., & Escriche, I. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. *Food Control*, 47, 120-125. doi:10.1016/j.foodcont.2014.06.043
- Donnelly, C. W. (2001). *Listeria monocytogenes*: a continuing challenge. *Nutrition Reviews*, 59(6), 183-194. doi:10.1111/j.1753-4887.2001.tb07011.x
- Donnenberg, M. S., & Whittam, T. S. (2001). Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(5), 539-548. doi:10.1172/JCI12404

- Dorman, C. J., & Porter, M. E. (1998). The *Shigella* virulence gene regulatory cascade: a paradigm of bacterial gene control mechanisms. *Molecular Microbiology*, 29(3), 677-684. doi:10.1111/j.1365-2958.1989.tb00210.x
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G.-J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 130-141. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020
- Dramsi, S., Kocks, C., Forestier, C., & Cossart, P. (1993). Internalin-mediated invasion of epithelial cells by *Listeria monocytogenes* is regulated by the bacterial growth state, temperature and the pleiotropic activator prfA. *Molecular Microbiology*, 9(5), 931-941. doi:10.1111/j.1365-2958.1993.tb01223.x
- Duchenne, R., Ranghoo-Sanmukhiya, V. M., & Neetoo, H. (2021). Impact of climate change and climate variability on food safety and occurrence of foodborne diseases. *Food Security and Safety: African Perspectives*, 451-474. doi:10.1007/978-3-030-50672-8_24
- DuPont, H. L., Hornick, R. B., Dawkins, A. T., Snyder, M. J., & Formal, S. B. (1969). The response of man to virulent *Shigella flexneri* 2a. *The Journal of Infectious Diseases*, 296-299.
- Durmaz, H., & Ardiç, M. (2017). An Investigation on the Presence of *Salmonella* spp. in Raw Cow Milk and Urfa Cheese Sample. *Van Veterinary Journal*, 28(3).
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Stackebrandt, E., & Schleifer, K.-H. (2006). *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria* (Vol. 1): Springer.
- Efe, M., & Gümüşsoy, K. S. (2005). Ankara garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik analizi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(3), 151-157.
- EFSA. (2009). Assessment of the public health significance of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. *EFSA Journal*, 7(3), 993. doi:10.2903/j.efsa.2009.993
- EFSA. (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. doi:10.2903/j.efsa.2015.3991
- EFSA. (2022). The European Union one health 2021 zoonoses report. *EFSA Journal*, 20(12), e07666. doi:10.2903/j.efsa.2022.7666
- EFSA. (2023). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 21(12), e8442. doi:10.2903/j.efsa.2023.8442
- Eilers, B., Mayer-Scholl, A., Walker, T., Tang, C., Weinrauch, Y., & Zychlinsky, A. (2010). Neutrophil antimicrobial proteins enhance *Shigella flexneri* adhesion and invasion. *Cellular Microbiology*, 12(8), 1134-1143. doi:10.1111/j.1462-5822.2010.01459.x
- Eisenstein, B. (2008). Treatment challenges in the management of complicated skin and soft-tissue infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 17-25. doi:10.1111/j.1469-0691.2008.01922.x
- Eizenberga, I., Terentjeva, M., Valciņa, O., Novoslavskij, A., Strazdiņa, V., Ošmjana, J., & Bērziņš, A. (2015). Microbiological quality of raw fish at retail market in Latvia. *Food Quality and Safety*, 6, 16-18.
- El-Zakfaly, H., & Kassim, E. (1983). Effects of storage temperature, light and time on stability of triple sugar iron agar and its productivity for *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium. *Folia Microbiologica*, 28, 446-451. doi:10.1007/BF02879680
- Elabbasy, M. T., Hussein, M. A., Algahtani, F. D., Abd El-Rahman, G. I., Morshdy, A. E., Elkafrawy, I. A., & Adeboye, A. A. (2021). MALDI-TOF MS based typing for rapid screening of multiple antibiotic resistance *E. coli* and virulent non-O157 shiga toxin-producing *E. coli* isolated from the slaughterhouse settings and beef carcasses. *Foods*, 10(4), 820. doi:10.3390/foods10040820

- Elkenany, R., Eltaysh, R., Elsayed, M., Abdel-Daim, M., & Shata, R. (2022). Characterization of multi-resistant *Shigella* species isolated from raw cow milk and milk products. *Journal of Veterinary Medical Science*, 84(7), 890-897. doi:10.1292/jvms.22-0018
- Elliott, S. J., Wainwright, L. A., McDaniel, T. K., Jarvis, K. G., Deng, Y., Lai, L.-C., . . . Kaper, J. B. (1998). The complete sequence of the locus of enterocyte effacement (LEE) from enteropathogenic *Escherichia coli* E2348/69. *Molecular Microbiology*, 28(1). doi:10.1046/j.1365-2958.1998.00783.x
- Elmali, M., CAN, H. Y., & Yaman, H. (2015). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat. *Food Science and Technology*, 35, 672-675. doi:10.1590/1678-457X.6808
- Emch, M., Ali, M., & Yunus, M. (2008). Risk areas and neighborhood-level risk factors for *Shigella dysenteriae* 1 and *Shigella flexneri*. *Health & Place*, 14(1), 96-105. doi:10.1016/j.healthplace.2007.05.004
- Erickson, M. C., Islam, M., Sheppard, C., Liao, J., & Doyle, M. P. (2004). Reduction of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *Journal of Food Protection*, 67(4), 685-690. doi:10.4315/0362-028X-67.4.685
- Erkan, M. E., & Vural, A. (2008). Investigation of microbial quality of some leafy green vegetables. *Journal of Food Science*, 66), 285-288.
- Erol, İ. (1999). Incidence and serotype distribution of *Salmonella* in ground beef in Ankara. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 23(4), 321-326.
- Ertaş, N., & Gönülalan, Z. (2010). Kayseri ilinde satılan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı üzerine araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 24(1), 11-15.
- Estrada-Garcia, T., & Navarro-Garcia, F. (2012). Enterohaggative *Escherichia coli* pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 66(3), 281-298. doi:10.1111/j.1574-695X.2012.01008.x
- Etcheverría, A. I., & Padola, N. L. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: factors involved in virulence and cattle colonization. *Virulence*, 4(5), 366-372. doi:10.4161/viru.24642
- Etienne-Mesmin, L., Chassaing, B., Sauvanet, P., Denizot, J., Blanquet-Diot, S., Darfeuille-Michaud, A., . . . Livrelli, V. (2011). Interactions with M cells and macrophages as key steps in the pathogenesis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections. *PLoS One*, 6(8), e23594. doi:10.1371/journal.pone.0023594
- Eyi, A., & Arslan, S. (2012). Prevalence of *Escherichia coli* in retail poultry meat, ground beef and beef. *Med. Weter*, 68(4), 237-240.
- Fàbrega, A., & Vila, J. (2013). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: virulence and regulation. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(2), 308-341. doi:10.1128/cmr.00066-12
- Fairoze, V. K. N. (2016). Molecular characterization and antibiogram of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken and mutton of retail markets. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 6(2), 65-68. doi:10.5799/ahinjs.02.2016.02.0218
- Farhoumand, P., Hassanzadazar, H., Soltanpour, M. S., Aminzare, M., & Abbasi, Z. (2020). Prevalence, genotyping and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* in fresh beef and chicken meats marketed in Zanjan, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(6), 537. doi:10.18502/ijm.v12i6.5028
- Farrell, A. (1999). Staphylococcal scalded-skin syndrome. *The lancet*, 354(9182), 880-881. doi:10.1016/S0140-6736(99)90120-4

- 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), e00591-00519. doi:10.1128/AEM.00591-19
- Fey, P., Said-Salim, B., Rupp, M., Hinrichs, S., Boxrud, D., Davis, C., . . . Schlievert, P. (2003). Comparative molecular analysis of community-or hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(1), 196-203. doi:10.1128/aac.47.1.196-203.2003
- Firildak, G., Asan, A., & Goren, E. (2015). Chicken carcasses bacterial concentration at poultry slaughtering facilities. *Asian J. Biol. Sci*, 8(1), 16-29. doi:10.3923/ajbs.2015.16.29
- Forsythe, S. J., López, E. t. S., & Pérez, B. t. S. (2000). *Alimentos seguros: microbiología*.
- Francis, J. S., Doherty, M. C., Lopatin, U., Johnston, C. P., Sinha, G., Ross, T., . . . Ticehurst, J. R. (2005). Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Pantone-Valentine leukocidin genes. *Clinical Infectious Diseases*, 40(1), 100-107. doi:10.1086/427148
- Franz, B. (2019). Jojo Rabbit. *Film & History: An Interdisciplinary Journal*, 49(2), 34-36. doi:10.1353/flm.2019.0028
- Franz, C., Den Besten, H. M., Boehnlein, C., Gareis, M., Zwietering, M. H., & Fusco, V. (2018). Microbial food safety in the 21st century: Emerging challenges and foodborne pathogenic bacteria. *Trends Food Sci. Technol*, 81, 155-158. doi:10.1016/j.tifs.2018.09.019
- Füzi, M., & Pillis, I. (1962). Production of opacity in egg-yolk medium by *Listeria monocytogenes*. *Nature*, 196(4850), 195-195. doi:10.1038/196195a0
- Galaviz-Silva, L., Gómez-Anduro, G., Molina-Garza, Z. J., & Ascencio-Valle, F. (2009). *Food safety issues and the microbiology of fish and shellfish*. Microbiologically Safe Foods.
- Galieni, A., Falcinelli, B., Stagnari, F., Datti, A., & Benincasa, P. (2020). Sprouts and microgreens: Trends, opportunities, and horizons for novel research. *Agronomy*, 10(9), 1424. doi:10.3390/agronomy10091424
- Gao, S., Zhang, A., Ma, D., Zhang, K., Wang, J., Wang, X., & Chen, K. (2022). Enhancing pH stability of lysine decarboxylase via rational engineering and its application in cadaverine industrial production. *Biochemical Engineering Journal*, 186, 108548. doi:10.1016/j.bej.2022.108548
- Garedew, L., Berhanu, A., Mengesha, D., & Tsegay, G. (2012). Identification of gram-negative bacteria from critical control points of raw and pasteurized cow milk consumed at Gondar town and its suburbs, Ethiopia. *BMC Public Health*, 12, 1-7. doi:10.1186/1471-2458-12-950
- Garedew, L., Hagos, Z., Zegeye, B., & Addis, Z. (2016). The detection and antimicrobial susceptibility profile of *Shigella* isolates from meat and swab samples at butchers' shops in Gondar town, Northwest Ethiopia. *Journal of Infection and Public Health*, 9(3), 348-355. doi:10.1016/j.jiph.2015.10.015
- Garrrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. G. (2004). Taxonomic outline of the prokaryotes. Bergey's manual of systematic bacteriology. In: Springer, New York, Berlin, Heidelberg.
- Gasarov, 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. doi:10.1016/j.femsre.2004.12.002
- Gashaw Andargie, G. A., Afework Kassu, A. K., Feleke Moges, F. M., Moges Tiruneh, M. T., & Kahsay Huruy, K. H. (2008). Prevalence of bacteria and intestinal parasites among food-handlers in Gondar Town, Northwest Ethiopia. doi:10.3329/jhpn.v26i4.1887
- Gaya, P., Sanchez, J., Medina, M., & Nunez, M. (1998). Incidence of *Listeria monocytogenes* and other

- Listeria* species in raw milk produced in Spain. *Food Microbiology*, 15(5), 551-555. doi:10.1006/fmic.1997.0175
- Gebremedhin, E. Z., Hirpa, G., Borana, B. M., Sarba, E. J., Marami, L. M., Kelbesa, K. A., . . . Ambecha, H. A. (2021). *Listeria* species occurrence and associated factors and antibiogram of *Listeria monocytogenes* in beef at abattoirs, butchers, and restaurants in Ambo and Holeta in Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 1493-1504. doi:10.2147/IDR.S304871
- Gebremedhin, E. Z., Soboka, G. T., Borana, B. M., Marami, L. M., Sarba, E. J., Tadesse, N. D., & Ambecha, H. A. (2021). Prevalence, risk factors, and antibiogram of nontyphoidal *Salmonella* from beef in Ambo and Holeta Towns, Oromia Region, Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 2021(1), 6626373. doi:10.1155/2021/6626373
- Germinario, C., Caprioli, A., Giordano, M., Chironna, M., Gallone, M. S., Tafuri, S., . . . Santangelo, L. (2016). Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O26: H11 in southern Italy, summer 2013. *Eurosurveillance*, 21(38), 30343. doi:10.2807/1560-7917.ES.2016.21.38.30343
- Gherardi, G., Di Bonaventura, G., & Savini, V. (2018). *Staphylococcal taxonomy*. In Pet-To-Man Travelling Staphylococci (pp. 1-10): Elsevier.
- Gibbons, N., & Murray, R. (1978). Proposals concerning the higher taxa of bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 28(1), 1-6. doi:10.1099/00207713-28-1-1
- Gil, M. I., Selma, M. V., Suslow, T., Jacxsens, L., Uyttendaele, M., & Allende, A. (2015). Pre-and postharvest preventive measures and intervention strategies to control microbial food safety hazards of fresh leafy vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 453-468. doi:10.1080/10408398.2012.657808
- Gill, A., & Gill, C. O. (2010). Non-O157 verotoxigenic *Escherichia coli* and beef: a Canadian perspective. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 74(3), 161-169.
- Girma, G. (2015). Prevalence, antibiogram and growth potential of *Salmonella* and *Shigella* in Ethiopia: implications for public health: a review. *Research Journal of Microbiology*, 10(7), 288. doi:10.3923/jm.2015.288.307
- Gobena, T., Belina, D., Kebede, A., Chimdessa, M., Jemal, A., Husen, C., & Hald, T. (2024). Foodborne bacterial pathogens in animal, food, and environmental samples collected from the physical exposure of children with diarrhea in Ethiopia: a one health approach. *Environmental Health Insights*, 18, 11786302241288167. doi:10.1177/11786302241288167
- Goldberg, M., Barzu, O., Parsot, C., & Sansonetti, P. (1993). Unipolar localization and ATPase activity of IcsA, a *Shigella flexneri* protein involved in intracellular movement. *Journal of Bacteriology*, 175(8), 2189-2196. doi:10.1128/jb.175.8.2189-2196.1993
- Goldfine, H. (2020). Participation of bacterial lipases, sphingomyelinases, and phospholipases in gram-positive bacterial pathogenesis. *Health Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids*, 205-221. doi:10.1007/978-3-030-15147-8_39
- Gómez, M. I., Lee, A., Reddy, B., Muir, A., Soong, G., Pitt, A., . . . Prince, A. (2004). *Staphylococcus aureus* protein A induces airway epithelial inflammatory responses by activating TNFR1. *Nature Medicine*, 10(8), 842-848. doi:10.1038/nm1079
- Good, R. C., May, B. D., & Kawatomari, T. (1969). Enteric pathogens in monkeys. *Journal of Bacteriology*, 97(3), 1048-1055. doi:10.1128/jb.97.3.1048-1055.1969
- Gorden, J., & Small, P. (1993). Acid resistance in enteric bacteria. *Infection and Immunity*, 61(1), 364-367. doi:10.1128/iai.61.1.364-367.1993
- Gordon, D. M. (2013). *The ecology of Escherichia coli*. *Escherichia coli* (pp. 3-20): Elsevier.

- Gökmen, M., Akkaya, L., Kara, R., & Önen, A. (2016). Balıkesir’de satışa sunulan bazı tüketime hazır gıdalarda *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*’ in yaygınlığı. *Van Veterinary Journal*, 27(1), 31-36.
- Gökmen, M., & Alisharli, M. (2003). Van ilinde tüketime sunulan kıymaların bazı patojen bakteriler yönünden incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1), 27-34.
- Gökmen, M., İlhan, Z., Tavşanlı, H., Önen, A., Ektik, N., & Göçmez, E. B. (2024). Prevalence and molecular characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in animal source foods and green leafy vegetables. *Food Science and Technology International*, 30(1), 30-36. doi:10.1177/10820132221125104
- Grace, D., & Fetsch, A. (2018). *Staphylococcus aureus*—A foodborne pathogen: Epidemiology, detection, characterization, prevention, and control: An overview. *Staphylococcus aureus*, 3-10.
- Grimont, P. A., & Weill, F.-X. (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. *WHO collaborating centre for reference and research on Salmonella*, 9, 1-166.
- Groves, R., & Welshimer, H. (1977). Separation of pathogenic from apathogenic *Listeria monocytogenes* by three in vitro reactions. *Journal of Clinical Microbiology*, 5(6), 559-563. doi:10.1128/jcm.5.6.559-563.1977
- Grumezescu, A. M., & Holban, A. M. (2018). *Foodborne Diseases*. Handbook of Food Bioengineering (Vol. 15): Academic Press.
- Guchi, B., & Ashenafi, M. (2010). Microbial load, prevalence and antibiograms of *Salmonella* and *Shigella* in lettuce and green peppers. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 20(1). doi:10.4314/ejhs.v20i1.69431
- Guerrant, R. L., Walker, D. H., & Weller, P. F. (2006). *Tropical infectious diseases*. Pathology, Elsevier Inc.
- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P. I., Bockemühl, J., Grimont, P. A., & Weill, F.-X. (2010). Supplement 2003–2007 (No. 47) to the white-Kauffmann-Le minor scheme. *Research in Microbiology*, 161(1), 26-29. doi:10.1016/j.resmic.2009.10.002
- Gundappa, M., & Gaddad, S. M. (2016). Prevalence of *Salmonella*, *Shigella* and *E. coli* in vegetables of various markets in Kalaburagi (India). *Indian Journal of Natural Sciences*, 6(35), 0976-0997.
- Gundogan, N., Citak, S., Yucel, N., & Devren, A. (2005). A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat Science*, 69(4), 807-810. doi:10.1016/j.meatsci.2004.10.011
- Gunzburg, S. T., Chang, B. J., Elliott, S. J., Burke, V., & Gracey, M. (1993). Diffuse and enteroaggregative patterns of adherence of enteric *Escherichia coli* isolated from aboriginal children from the Kimberley region of Western Australia. *Journal of Infectious Diseases*, 167(3), 755-758. doi:10.1093/infdis/167.3.755
- Günşen, U., & Büyükyörük, İ. (2014). BAZI DONDURULMUŞ GIDALARDA MİKROBİYOLOJİK KALİTE. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*(7).
- Güven, A., & Patır, B. (1998). Studies of the *Listeria* species in some meat and meat products consumed in Elazığ city. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 22(3), 205-212.
- Hahn, M. W., Koll, U., & Schmidt, J. (2019). *Isolation and cultivation of bacteria*. The structure and function of aquatic microbial communities (pp. 313-351): Springer.
- Hait, J. M., Tallent, S. M., & Bennett, R. W. (2014). Screening, detection, and serotyping methods for toxin genes and enterotoxins in *Staphylococcus* strains. *Journal of AOAC International*, 97(4), 1078-1083. doi:10.5740/jaoacint.13-211

- Hajra, D., Nair, A. V., & Chakravorty, D. (2021). An elegant nano-injection machinery for sabotaging the host: Role of Type III secretion system in virulence of different human and animal pathogenic bacteria. *Physics of life Reviews*, 38, 25-54. doi:10.1016/j.plrev.2021.05.007
- Halwart, M. (2020). Fish farming high on the global food system agenda in 2020. *FAO Aquaculture Newsletter*(61), II-III.
- Hammack, T. S., Amaguaña, R. M., & Andrews, W. H. (2001). Rappaport-Vassiliadis medium for recovery of *Salmonella* spp. from low microbial load foods: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 84(1), 65-84. doi:10.1093/jaoac/84.1.65
- Hampikyan, H., Ulusoy, B., Bingöl, E. B., Çolak, H., & Akhan, M. (2008). İstanbul’da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 38(2), 87-94.
- Hanning, I. B., Nutt, J., & Ricke, S. C. (2009). Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce: sources and potential intervention measures. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6(6), 635-648. doi:10.1089/fpd.2008.0232
- Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., . . . Gargouri, N. (2015). World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS Medicine*, 12(12), e1001923. doi:10.1371/journal.pmed.1001923
- Hayakawa, Y., Hashimoto, N., Imaizumi, K., Kaidoh, T., & Takeuchi, S. (2001). Genetic analysis of exfoliative toxin A-producing *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow’s milk. *Veterinary Microbiology*, 78(1), 39-48. doi:10.1016/S0378-1135(00)00293-5
- Hengge-Aronis, R. (1993). Survival of hunger and stress: the role of rpoS in early stationary phase gene regulation in *E. coli*. *Cell*, 72(2), 165-168. doi:10.1016/0092-8674(93)90655-A
- Heredia, N., García, S., Rojas, G., & Salazar, L. (2001). Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey, Mexico. *Journal of Food Protection*, 64(8), 1249-1251. doi:10.4315/0362-028X-64.8.1249
- Hill, B., Smythe, B., Lindsay, D., & Shepherd, J. (2012). Microbiology of raw milk in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 305-308. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.031
- Hirvonen, J. J., Siitonen, A., & Kaukoranta, S.-S. (2012). Usability and performance of CHROMagar STEC medium in detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(11), 3586-3590. doi:10.1128/jcm.01754-12
- Hoffmann, S., Batz, M. B., & Morris Jr, J. G. (2012). Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 75(7), 1292-1302. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-417
- Holmberg, S. D., & Blake, P. A. (1984). Staphylococcal food poisoning in the United States: new facts and old misconceptions. *Jama*, 251(4), 487-489. doi:10.1001/jama.1984.03340280037024
- Hosangadi, D., Smith, P. G., & Giersing, B. K. (2019). Considerations for using ETEC and *Shigella* disease burden estimates to guide vaccine development strategy. *Vaccine*, 37(50), 7372-7380. doi:10.1016/j.vaccine.2017.09.083
- Hou, Z., Fink, R. C., Radtke, C., Sadowsky, M. J., & Diez-Gonzalez, F. (2013). Incidence of naturally internalized bacteria in lettuce leaves. *International Journal of Food Microbiology*, 162(3), 260-265. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.027
- Hueston, W., & Bryant, C. M. (2005). Transmissible spongiform encephalopathies. *Journal of Food Science*, 70(5), R77-R87. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb09983.x

- Humphries, A. D., Townsend, S. M., Kingsley, R. A., Nicholson, T. L., Tsolis, R. M., & Bäumlér, A. J. (2001). Role of fimbriae as antigens and intestinal colonization factors of *Salmonella* serovars. *FEMS Microbiology Letters*, 201(2), 121-125. doi:10.1111/j.1574-6968.2001.tb10744.x
- Hunt, J. M. (2010). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). *Clinics in Laboratory Medicine*, 30(1), 21-45. doi:10.1016/j.cll.2009.11.001
- Huss, H. H., Ababouch, L., & Gram, L. (2004). Assessment and management of seafood safety and quality.
- Ibarra, J. A., & Steele-Mortimer, O. (2009). *Salmonella*—the ultimate insider. *Salmonella* virulence factors that modulate intracellular survival. *Cellular Microbiology*, 11(11), 1579-1586. doi:https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01368.x
- Ibrahim, G. A., Sharaf, O. M., & El-Khalek, A. (2015). Microbiological quality of commercial raw milk, domiati cheese and kareish cheese. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 5(1), 171-176.
- Ibrahim, M., Ahmad, F., Yaqub, B., Ramzan, A., Imran, A., Afzaal, M., . . . Akram, Q. (2020). *Current trends of antimicrobials used in food animals and aquaculture*. Antibiotics and antimicrobial resistance genes in the environment (pp. 39-69): Elsevier.
- Ibrahim, R. K., & Hallaç, B. (2021). Qaladze Bölgesinde Tüketilen Bazı Ürünlerde *Salmonella* ve *Shigella* Türlerinin Varlığı. *MAS Journal of Applied Sciences*, 6(1), 106-123. doi:10.52520/masjaps.3
- Ikiz, S., Dümen, E., Bayrakal, G., Kahraman, T., & Ergin, S. (2016). Investigation of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in seafood by cultural methods and PCR. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(3). doi:10.9775/kvfd.2015.14808
- Ildız, F., & Çiftçioğlu, G. R. (1997). Toplu tüketim amacıyla üretilen gıdaların bazı patojen mikroorganizmalar yönünden incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(2), 405-412.
- İnat, G., Pamuk, Ş., Sırken, B., & Demirel, Y. N. (2013). Tüketime hazır tuzlanmış hamsi balıklarının (*Engraulis encrasicolus*) mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerinin belirlenmesi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 84(1), 26-35.
- İrkin, R., Korukoğlu, M., & Tavşanlı, H. (2007). İhracata yönelik hazırlanan bazı deniz ürünlerinin mikrobiyal özellikleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 1(64).
- ISO6579-1. (2017). ISO 6579-1: 2017—Microbiology of the food chain—Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of *Salmonella*—Part 1: Detection of *Salmonella* spp. In: International Organization for Standardization Geneva.
- ISO6888-1. (2021). ISO 6888-1: 2021 Microbiology of the food chain—Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)—part 1: method using Baird-Parker agar medium.
- ISO7218. (2014). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—General Requirements and Guidance for Microbiological Examinations. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2014.
- ISO11290-1. (2018) Microbiology of the Food Chain—Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. In Part (Vol. 1, pp. 11290-11291).
- ISO16649-2. (2001). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Beta-Glucuronidase-Positive *Escherichia coli*—Part 2: Colony-Count Technique at 44 Degrees C Using 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl Beta-D-Glucuronide. International Organization for Standartization: Geneva, Switzerland.
- ISO16649-3. (2015). Microbiology of the Food Chain—Horizontal Method for the Enumeration of b-

Glucuronidase-Positive *Escherichia coli*—Part 3: Detection and Most Probable Number Technique Using 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-bD-Glucuronide. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.

- ISO21567. (2004). Microbiology of Foods and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.
- ISO/TS13136. (2012). Microbiology of food and animal feed—real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens—horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups.
- Itohan, A. M., Peters, O., & Kolo, I. (2011). Bacterial contaminants of salad vegetables in abuja municipal area council, Nigeria. *Malaysian Journal of Microbiology*, 7(2), 111-114.
- Izhar, M., Nuchamowitz, Y., & Mirelman, D. (1982). Adherence of *Shigella flexneri* to guinea pig intestinal cells is mediated by a mucosal adhesion. *Infection and Immunity*, 35(3), 1110-1118. doi:10.1128/iai.35.3.1110-1118.1982
- Jacquet, C., Gouin, E., Jeannel, D., Cossart, P., & Rocourt, J. (2002). Expression of ActA, Ami, InlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 616-622. doi:10.1128/AEM.68.2.616-622.2002
- Jaja, I. F., Green, E., & Muchenje, V. (2018). Aerobic mesophilic, coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* counts of raw meat from the formal and informal meat sectors in South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(4), 819. doi:10.3390/ijerph15040819
- Jalali, M., & Abedi, D. (2008). Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *International Journal of Food Microbiology*, 122(3), 336-340. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.082
- Jamali, H., Chai, L. C., & Thong, K. L. (2013). Detection and isolation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods with various selective culture media. *Food Control*, 32(1), 19-24. doi:10.1016/j.foodcont.2012.11.033
- Jamshidi, A., & Zeinali, T. (2019). Significance and characteristics of *Listeria monocytogenes* in poultry products. *International Journal of Food Science*, 2019. doi:10.1155/2019/7835253
- Jang, Y.-S., Moon, J.-S., Kang, H. J., Bae, D., & Seo, K.-H. (2021). Prevalence, characterization, and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* from raw beef and slaughterhouse environments in Korea. *Foodborne Pathogens and Disease*, 18(6), 419-425. doi:10.1089/fpd.2020.2903
- Jansen, W., Grabowski, N., Gerulat, B., & Klein, G. (2016). Food safety hazards and microbiological zoonoses in European meat imports detected in border inspection in the period 2008–2013. *Zoonoses and Public Health*, 63(1), 53-61. doi:10.1111/zph.12204
- Jayarao, B., & Henning, D. (2001). Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2157-2162. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74661-9
- Jennison, A. V., & Verma, N. K. (2004). *Shigella flexneri* infection: pathogenesis and vaccine development. *FEMS Microbiology Reviews*, 28(1), 43-58. doi:10.1016/j.femsre.2003.07.002
- Jia, K., Qin, X., Bu, X., Zhu, H., Liu, Y., Wang, X., . . . Dong, Q. (2024). Prevalence, antibiotic resistance and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat fruits and vegetables in Shanghai, China. *Current Research in Food Science*, 8, 100669. doi:10.1016/j.crfs.2023.100669
- Jin, W., & Yamada, K. (2016). *Staphylococcal enterotoxins in processed dairy products*. Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods (pp. 241-258): Elsevier.

- Johannes, L., & Römer, W. (2010). Shiga toxins—from cell biology to biomedical applications. *Nature Reviews Microbiology*, 8(2), 105-116. doi:10.1038/nrmicro2279
- Johannessen, G. S., Loncarevic, S., & Kruse, H. (2002). Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *International Journal of Food Microbiology*, 77(3), 199-204. doi:10.1016/S0168-1605(02)00051-X
- Johnson, R., Holtslander, B., Mazzocco, A., Roche, S., Thomas, J., Pollari, F., & Pintar, K. (2014). Detection and prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 serotypes in a Canadian watershed. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2166-2175. doi:10.1128/AEM.03391-13
- Juthi, M. (2016). *Comparative study of microbiological qualities between tap water of old Dhaka and new Dhaka with emphasis on the presence of fecal coliform bacteria*. BRAC University. <http://hdl.handle.net/10361/6513>.
- Kadri, K. (2019). *Polymerase chain reaction (PCR): Principle and applications*. Synthetic Biology-New Interdisciplinary Science.
- Käferstein, F., & Abdussalam, M. (1999). Food safety in the 21st century. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(4), 347.
- Käferstein, F. K., Motarjemi, Y., & Bettcher, D. (1997). Foodborne disease control: a transnational challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 3(4), 503. doi:10.3201/eid0304.970414
- Kahraman, H. A., Biçer, Y., Doğruer, Y., Telli, A. E., & Turkal, G. (2022). Occurrence and antibiotic susceptibility of *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp. and *Listeria* spp. in seafoods. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*. doi:10.15312/EurasianJVetSci.2022.359
- Kalchayanand, N., Terrance, M., Bosilevac, J., & Wheeler, T. (2012). *Non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli: prevalence associated with meat animals and controlling interventions*. Paper presented at the Proceedings of American Meat Science Association 64th Annual Reciprocal Meat Conference. Manhattan Kansas: Kansas State University.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140. doi:10.1038/nrmicro818
- Karakaya, E., Abay, S., & Aydin, F. (2024). The phylogroups and antibiotic susceptibilities of *Escherichia coli* isolates from the feces of Anatolian Ground Squirrels (*Spermophilus xanthopyrmnus*). *Microbial Pathogenesis*, 193, 106783. doi:10.1016/j.micpath.2024.106783
- Karauzum, H., & Datta, S. K. (2017). Adaptive immunity against *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus: Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis*, 419-439. doi:10.1007/82_2016_1
- Karmali, M. A. (2005). Use of comparative genomics as a tool to assess the clinical and public health significance of emerging Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes. *Meat Science*, 71(1), 62-71. doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.001
- Karmali, M. A., Gannon, V., & Sargeant, J. M. (2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 360-370. doi:10.1016/j.vetmic.2009.04.011
- Kaszoni-Rückerl, I., Mustedanagic, A., Muri-Klinger, S., Brugger, K., Wagner, K.-H., Wagner, M., & Stessl, B. (2020). Predominance of distinct *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in recurrent contamination events at dairy processing facilities. *Microorganisms*, 8(2), 234. doi:10.3390/microorganisms8020234
- Kathariou, S. (2002). *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection*, 65(11), 1811-1829. doi:10.4315/0362-028X-65.11.1811
- Kaushik, P., Kumari, S., Bharti, S. K., & Dayal, S. (2014). Isolation and prevalence of *Salmonella* from

- chicken meat and cattle milk collected from local markets of Patna, India. *Veterinary World*, 7(2), 62.
- Kaya, E., & Atasever, M. (2020). Erzurum'da tüketime sunulan tavuk etlerinde *Listeria* spp.'nin araştırılması. doi:10.15312/EurasianJVetSci.2020.259
- Keerthirathne, T. P., Ross, K., Fallowfield, H., & Whiley, H. (2022). Examination of Australian backyard poultry for *Salmonella*, *Campylobacter* and *Shigella* spp., and related risk factors. *Zoonoses and Public Health*, 69(1), 13-22. doi:10.1111/zph.12889
- Keusch, G. T., Grady, G. F., Mata, L. J., & McIver, J. (1972). The pathogenesis of *Shigella* Diarrhea: I. Enterotoxin production by *Shigella dysenteriae* 1. *The Journal of Clinical Investigation*, 51(5), 1212-1218. doi:10.1172/JCI106915
- Key, F. M., Posth, C., Esquivel-Gomez, L. R., Hübner, R., Spyrou, M. A., Neumann, G. U., . . . Wissgott, A. (2020). Emergence of human-adapted *Salmonella enterica* is linked to the Neolithization process. *Nature Ecology & Evolution*, 4(3), 324-333. doi:10.1038/s41559-020-1106-9
- Khen, B., Lynch, O., Carroll, J., McDowell, D., & Duffy, G. (2015). Occurrence, antibiotic resistance and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* in the beef chain in the Republic of Ireland. *Zoonoses and Public Health*, 62(1), 11-17. doi:10.1111/zph.12106
- Khurana, S., Taneja, N., Thapar, R., Sharma, M., & Malla, N. (2008). Intestinal bacterial and parasitic infections among food handlers in a tertiary care hospital of North India. *Tropical Gastroenterology*, 29(4), 207-209.
- Kim, H. K., Thammavongsa, V., Schneewind, O., & Missiakas, D. (2012). Recurrent infections and immune evasion strategies of *Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Microbiology*, 15(1), 92-99. doi:10.1016/j.mib.2011.10.012
- Kıvanç, M., Kunduhoğlu, B., & Ayaz, B. (1992). Eskişehir'de tüketilen çiğ sütlerin bakteriyolojik kalitesinin halk sağlığı yönünden incelenmesi. *Gıda*, 17(5).
- Kocks, C., Hellio, R., Gounon, P., Ohayon, H., & Cossart, P. (1993). Polarized distribution of *Listeria monocytogenes* surface protein ActA at the site of directional actin assembly. *Journal of Cell Science*, 105(3), 699-710. doi:10.1074/jbc.M005126200
- Konstantinidis, K. T., & Tiedje, J. M. (2005). Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(7), 2567-2572. doi:10.1073/pnas.0409727102
- Koochakzadeh, A., Badouei, M. A., Mazandarani, E., & Madadgar, O. (2014). Survey on O157: H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) in cattle in Golestan province, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(4), 276.
- Koondhar, M. N., Kamboh, A. A., Khan, M. A., Leghari, R. A., & Dewani, P. (2021). Antimicrobial Resistance Profile of *Salmonella* spp. Isolated from Raw Beef Meat Samples Collected from Karachi, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*, 53(6), 1-6. doi:10.17582/journal.pjz/20190929130949
- Kotloff, K. L., Noriega, F., Losonsky, G. A., Sztein, M. B., Wasserman, S. S., Nataro, J. P., & Levine, M. M. (1996). Safety, immunogenicity, and transmissibility in humans of CVD 1203, a live oral *Shigella flexneri* 2a vaccine candidate attenuated by deletions in *aroA* and *virG*. *Infection and Immunity*, 64(11), 4542-4548. doi:10.1128/iai.64.11.4542-4548.1996
- Kotloff, K. L., Riddle, M. S., Platts-Mills, J. A., Pavlinac, P., & Zaidi, A. K. (2018). Shigellosis. *The Lancet*, 391(10122), 801-812. doi:10.1016/S0140-6736(17)33296-8
- Koutsokostas, C., Merkouris, E., Goulas, A., Aidinopoulou, K., Sini, N., Dimaras, T., . . . Tsamakis, K. (2024). Gut microbes associated with neurodegenerative disorders: a comprehensive review of the

- literature. *Microorganisms*, 12(8), 1735. doi:10.3390/microorganisms12081735
- Kovats, R., Edwards, S., Hajat, S., Armstrong, B., Ebi, K., & Menne, B. (2004). The effect of temperature on food poisoning: a time-series analysis of salmonellosis in ten European countries. *Epidemiology & Infection*, 132(3), 443-453. doi:10.1017/S0950268804001992
- Kozačinski, L., Hadžiosmanović, M., & Zdolec, N. (2006). Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Veterinarski Arhiv*, 76(4), 305-313.
- Kuhn, M., & Goebel, W. (1989). Identification of an extracellular protein of *Listeria monocytogenes* possibly involved in intracellular uptake by mammalian cells. *Infection and Immunity*, 57(1), 55-61. doi:10.1128/iai.57.1.55-61.1989
- Külahcı, M. B., & Gündoğan, N. (2021). Occurrence and characteristics of staphylococci and enterococci in retail fish used for human consumption in Turkey. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*(28), 911-916. doi:10.31590/ejosat.1012061
- Lake, I., & Barker, G. (2018). Climate change, foodborne pathogens and illness in higher-income countries. *Current environmental health reports*, 5, 187-196. doi:10.1007/s40572-018-0189-9
- Lampel, K. A., Formal, S. B., & Maurelli, A. T. (2018). A brief history of *Shigella*. *EcoSal Plus*, 8(1), 10.1128/ecosalplus. ESP-0006-2017. doi:10.1128/ecosalplus.esp-0006-2017
- LaRock, D. L., Chaudhary, A., & Miller, S. I. (2015). Salmonellae interactions with host processes. *Nature Reviews Microbiology*, 13(4), 191-205. doi:10.1038/nrmicro3420
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2(1), 63-76. https://hal.science/hal-01123026v1
- Ledlod, S., Bunroddith, K., Areekit, S., Santiwatanakul, S., & Chansiri, K. (2020). Development of a duplex lateral flow dipstick test for the detection and differentiation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in meat products based on loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Chromatography B*, 1139, 121834. doi:10.1016/j.jchromb.2019.121834
- Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-23. doi:10.1038/nrdp.2018.33
- Lee, H. S., Hoang, T. H., Pham-Duc, P., Lee, M., Grace, D., Phung, D. C., . . . Nguyen-Viet, H. (2017). Seasonal and geographical distribution of bacillary dysentery (shigellosis) and associated climate risk factors in Kon Tam Province in Vietnam from 1999 to 2013. *Infectious Diseases of Poverty*, 6(03), 58-68. doi:10.1186/s40249-017-0325-z
- Lee, M.-S., Cherla, R. P., & Tesh, V. L. (2010). Shiga toxins: intracellular trafficking to the ER leading to activation of host cell stress responses. *Toxins*, 2(6), 1515-1535. doi:10.3390/toxins2061515
- Leung, J., & Gallant, C. (2014). Infections due to *Escherichia* and *Shigella*.
- Levine, M. M., DuPont, H. L., Formal, S. B., Hornick, R. B., Takeuchi, A., Gangarosa, E. J., . . . Libonati, J. P. (1973). Pathogenesis of *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) dysentery. *Journal of Infectious Diseases*, 127(3), 261-270. doi:10.1093/infdis/127.3.261
- Li, H., Wang, H., D'Aoust, J. Y., & Maurer, J. (2012). *Salmonella* species. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 223-261. doi:10.1128/9781555818463.ch10
- Li, R., Tan, X., Xiao, J., Wang, H., Liu, Z., Zhou, M., . . . Miyamoto, T. (2016). Molecular screening and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in retail foods. *Food Control*, 60, 180-188. doi:10.1016/j.foodcont.2015.07.045
- Lim, J. Y., Yoon, J. W., & Hovde, C. J. (2010). A brief overview of *Escherichia coli* O157: H7 and its

plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(1), 5.

- Lim, S.-K., Nam, H.-M., Park, H.-J., Lee, H.-S., Choi, M.-J., Jung, S.-C., . . . Wee, S.-H. (2010). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meat in Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(4), 775-778. doi:10.4014/jmb.0912.12022
- Lin, D., Yan, M., Lin, S., & Chen, S. (2014). Increasing prevalence of hydrogen sulfide negative *Salmonella* in retail meats. *Food Microbiology*, 43, 1-4. doi:10.1016/j.fm.2014.04.010
- Lina, G., Bohach, G. A., Nair, S. P., Hiramatsu, K., Jouvin-Marche, E., & Mariuzza, R. (2004). Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. *The Journal of Infectious Diseases*, 189(12), 2334-2336.
- Lingnau, A., Domann, E., Hudel, M., Bock, M., Nichterlein, T., Wehland, J., & Chakraborty, T. (1995). Expression of the *Listeria monocytogenes* EGD inlA and inlB genes, whose products mediate bacterial entry into tissue culture cell lines, by PrfA-dependent and-independent mechanisms. *Infection and Immunity*, 63(10), 3896-3903. doi:10.1128/iai.63.10.3896-3903.1995
- Linke, K., Rückerl, I., Brugger, K., Karpiskova, R., Walland, J., Muri-Klinger, S., . . . Stessl, B. (2014). Reservoirs of *Listeria* species in three environmental ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(18), 5583-5592. doi:10.1128/AEM.01018-14
- Little, C., Roberts, D., Youngs, E., & De Louvois, J. (1999). Microbiological quality of retail imported unprepared whole lettuces: a PHLS food working group study. *Journal of Food Protection*, 62(4), 325-328. doi:10.4315/0362-028X-62.4.325
- Liu, G. Y., Essex, A., Buchanan, J. T., Datta, V., Hoffman, H. M., Bastian, J. F., . . . Nizet, V. (2005). *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *The Journal of Experimental Medicine*, 202(2), 209-215. doi:10.1084/jem.20050846
- Liu, H., Whitehouse, C. A., & Li, B. (2018). Presence and persistence of *Salmonella* in water: the impact on microbial quality of water and food safety. *Frontiers in Public Health*, 6, 159. doi:10.3389/fpubh.2018.00159
- Loeffler, B., Niemann, S., Ehrhardt, C., Horn, D., Lanckohr, C., Lina, G., . . . Peters, G. (2013). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia: the role of PVL and an influenza coinfection. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 11(10), 1041-1051. doi:10.1586/14787210.2013.827891
- Lozano, C., Fernández-Fernández, R., Ruiz-Ripa, L., Gómez, P., Zarazaga, M., & Torres, C. (2020). Human mecC-carrying MRSA: Clinical implications and risk factors. *Microorganisms*, 8(10), 1615. doi:10.3390/microorganisms8101615
- Löffler, B., Hussain, M., Grundmeier, M., Brück, M., Holzinger, D., Varga, G., . . . Peters, G. (2010). *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils. *PLoS Pathogens*, 6(1), e1000715. doi:10.1371/journal.ppat.1000715
- Ludwig, W. (2009). *Listeria*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer Science and Business Media, Vol. 3, LLC, New York, NY.
- Lukacsovics, A., Hatcher, M., & Papadopoulos, A. (2014). *Risk Factors and Surveillance Systems for Foodborne Illness Outbreaks in Canada*: National Collaborating Centre for Environmental Health.
- Lukjancenko, O., Wassenaar, T. M., & Ussery, D. W. (2010). Comparison of 61 sequenced *Escherichia coli* genomes. *Microbial Ecology*, 60, 708-720. doi:10.1007/s00248-010-9717-3
- Luu Quynh Huong, L. Q. H., Fries, R., Padungtod, P., Tran Thi Hanh, T. T. H., Kyule, M., Baumann, M., & Zessin, K. (2006). Prevalence of *Salmonella* in retail chicken meat in Hanoi, Vietnam. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1(6), 257-261. doi:10.1196/annals.1373.032

- Madhaiyan, M., Wirth, J. S., & Saravanan, V. S. (2020). Phylogenomic analyses of the Staphylococcaceae family suggest the reclassification of five species within the genus *Staphylococcus* as heterotypic synonyms, the promotion of five subspecies to novel species, the taxonomic reassignment of five *Staphylococcus* species to *Mammaliococcus* gen. nov., and the formal assignment of *Nosocomiicoccus* to the family Staphylococcaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5926-5936. doi:10.1099/ijsem.0.004498
- Magalhães, R., Mena, C., Ferreira, V., Almeida, G., Silva, J., & Teixeira, P. (2021). Traditional methods of analysis for *Listeria monocytogenes*. *Listeria Monocytogenes: Methods and Protocols*, 3-16. doi:10.1007/978-1-0716-0982-8_1
- Magwedere, K., Dang, H. A., Mills, E. W., Cutter, C. N., Roberts, E. L., & DebRoy, C. (2013). Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in beef, pork, chicken, deer, boar, bison, and rabbit retail meat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(2), 254-258. doi:10.1177/1040638713477407
- Mahagamage, M., Pathirage, M., & Manage, P. M. (2020). Contamination status of *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Campylobacter* spp. in surface and groundwater of the Kelani River Basin, Sri Lanka. *Water*, 12(8), 2187. doi:10.3390/w12082187
- Makino, S., Sasakawa, C., Kamata, K., Kurata, T., & Yoshikawa, M. (1986). A genetic determinant required for continuous reinfection of adjacent cells on large plasmid in *S. flexneri* 2a. *Cell*, 46(4), 551-555. doi:10.1016/0092-8674(86)90880-9
- Manafi, L., Aliakbarlu, J., & Dastmalchi Saei, H. (2020). Antibiotic resistance and biofilm formation ability of *Salmonella* serotypes isolated from beef, mutton, and meat contact surfaces at retail. *Journal of Food Science*, 85(8), 2516-2522. doi:10.1111/1750-3841.15335
- Margot, H., Zwietering, M. H., Joosten, H., O'Mahony, E., & Stephan, R. (2015). Evaluation of different buffered peptone water (BPW) based enrichment broths for detection of Gram-negative foodborne pathogens from various food matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 214, 109-115. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.033
- Marijani, E. (2022). Prevalence and antimicrobial resistance of bacteria isolated from marine and freshwater fish in Tanzania. *International Journal of Microbiology*, 2022(1), 4652326. doi:10.1155/2022/4652326
- Marshall, K. E., Hexemer, A., Seelman, S. L., Fatica, M. K., Blessington, T., Hajmeer, M., . . . Sharma, D. (2020). Lessons learned from a decade of investigations of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* outbreaks linked to leafy greens, United States and Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 26(10), 2319. doi:10.3201/eid2610.191418
- Marteyn, B., West, N. P., Browning, D. F., Cole, J. A., Shaw, J. G., Palm, F., . . . Tang, C. M. (2010). Modulation of *Shigella* virulence in response to available oxygen in vivo. *Nature*, 465(7296), 355-358. doi:10.1038/nature08970
- Matsui, H., Bacot, C. M., Garlington, W. A., Doyle, T. J., Roberts, S., & Gulig, P. A. (2001). Virulence plasmid-borne spvB and spvC genes can replace the 90-kilobase plasmid in conferring virulence to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in subcutaneously inoculated mice. *Journal of Bacteriology*, 183(15), 4652-4658. doi:https://doi.org/10.1128/jb.183.15.4652-4658.2001
- Maurelli, A. T., Blackmon, B., & Curtiss 3rd, R. (1984). Temperature-dependent expression of virulence genes in *Shigella* species. *Infection and Immunity*, 43(1), 195-201. doi:10.1128/iai.43.1.195-201.1984
- Mazurkiewicz, P., Thomas, J., Thompson, J. A., Liu, M., Arbibe, L., Sansonetti, P., & Holden, D. W. (2008). SpvC is a *Salmonella* effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases. *Molecular Microbiology*, 67(6), 1371-1383. doi:10.1111/j.1365-2958.2008.06134.x
- Mele, T., & Madrenas, J. (2010). TLR2 signalling: at the crossroads of commensalism, invasive infections

- and toxic shock syndrome by *Staphylococcus aureus*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(7), 1066-1071. doi:10.1016/j.biocel.2010.03.021
- Melton-Celsa, A. R. (2014). Shiga toxin (Stx) classification, structure, and function. *Microbiology Spectrum*, 2(4). doi:10.1128/microbiolspec.ehec-0024-2013
- Meng, J., LeJeune, J. T., Zhao, T., & Doyle, M. P. (2012). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 287-309. doi:10.1128/9781555818463.ch12
- Miao, E. A., Alpuche-Aranda, C. M., Dors, M., Clark, A. E., Bader, M. W., Miller, S. I., & Aderem, A. (2006). Cytoplasmic flagellin activates caspase-1 and secretion of interleukin 1 β via Ipaf. *Nature Immunology*, 7(6), 569-575. doi:10.1038/ni1344
- Miles, S. L., Holt, K. E., & Mostowy, S. (2024). Recent advances in modelling *Shigella* infection. *Trends in Microbiology*. doi:10.1016/j.tim.2024.02.004
- Moabelo, K. C., Gcebe, N., Gana, J., Ngoshe, Y. B., & Adesiyun, A. A. (2023). Contamination of beef and beef products by *Listeria* spp. and molecular characterization of *L. monocytogenes* in Mpumalanga, South Africa. *Journal of Food Safety*, 43(5), e13055. doi:10.1111/jfs.13055
- Mogren, L., Windstam, S., Boqvist, S., Vågsholm, I., Söderqvist, K., Rosberg, A. K., . . . Uhlig, E. (2018). The hurdle approach—A holistic concept for controlling food safety risks associated with pathogenic bacterial contamination of leafy green vegetables. A review. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1965. doi:10.3389/fmicb.2018.01965
- Mogrovejo, D. C., Perini, L., Gostinčar, C., Sepčić, K., Turk, M., Ambrožič-Avguštin, J., . . . Gunde-Cimerman, N. (2020). Prevalence of antimicrobial resistance and hemolytic phenotypes in culturable arctic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 11, 570. doi:10.3389/fmicb.2020.00570
- Mohammadi, P., Abiri, R., Rezaei, M., & Salmanzadeh-Ahrabi, S. (2013). Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from raw milk in Kermanshah, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 5(3), 233.
- Mohammed, H. N., Al Marjani, M. F., & Authman, S. H. (2024). Molecular identification and characterization and phylogenetic study in *Escherichia coli* in Baghdad province. *Reviews and Research in Medical Microbiology*, 10.1097. doi:10.1097/MRM.0000000000000396
- Mohanasoundaram, K., & Lalitha, M. (2008). Comparison of phenotypic versus genotypic methods in the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Indian Journal of Medical Research*, 127(1), 78-84.
- Mokhtari, W., Nsaibia, S., Majouri, D., Ben Hassen, A., Gharbi, A., & Aouni, M. (2012). Detection and characterization of *Shigella* species isolated from food and human stool samples in Nabeul, Tunisia, by molecular methods and culture techniques. *Journal of Applied Microbiology*, 113(1), 209-222. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05324.x
- Mølbak, K., Olsen, J. E., & Wegener, H. C. (2006). *Salmonella* infections. *Foodborne Infections and Intoxications*, 57-136.
- Monteith, A. J., Miller, J. M., Maxwell, C. N., Chazin, W. J., & Skaar, E. P. (2021). Neutrophil extracellular traps enhance macrophage killing of bacterial pathogens. *Science Advances*, 7(37), eabj2101. doi:10.1126/sciadv.abj2101
- Muller, E., & Ehlers, M. (2005). Biolog identification of non-sorbitol fermenting bacteria isolated on *E. coli* O157 selective CT-SMAC agar. *Water SA*, 31(2), 247-251.
- Munir, E. H., Khalifa, K. A., & Mohammed, A. M. (2014). Status of food safety due to bacterial contaminants of poultry meat and poultry products in Khartoum State. *Journal of Scientific Research and Reports*, 3(14), 1897-1904. doi:10.9734/JSRR/2014/9395
- Murray, P. R., Rosenthal, K., Kobayashi, G., & Pfaller, M. (1998). *Antibacterial agents*. Medical

Microbiology. 3rd ed. Philadelphia, PA: Mosby-Year Book, Inc, 165-168.

- Muzembo, B. A., Kitahara, K., Ohno, A., Khatiwada, J., Dutta, S., & Miyoshi, S.-I. (2024). Rapid diagnostic tests and loop-mediated isothermal amplification method for the detection of *Shigella* species: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection and Public Health*. doi:10.1016/j.jiph.2024.04.013
- Naidoo, S., Butaye, P., Maliehe, T. S., Magwedere, K., Basson, A. K., & Madoroba, E. (2022). Virulence factors and antimicrobial resistance in *Salmonella* species isolated from retail beef in selected KwaZulu-Natal municipality areas, South Africa. *Applied Sciences*, 12(6), 2843. doi:10.3390/app12062843
- Nakayama, S.-i., & Watanabe, H. (1995). Involvement of cpxA, a sensor of a two-component regulatory system, in the pH-dependent regulation of expression of *Shigella sonnei* virF gene. *Journal of Bacteriology*, 177(17), 5062-5069. doi:10.1128/jb.177.17.5062-5069.1995
- Nandhini, P., Kumar, P., Mickymaray, S., Alothaim, A. S., Somasundaram, J., & Rajan, M. (2022). Recent developments in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) treatment: a review. *Antibiotics*, 11(5), 606. Doi:10.3390/antibiotics11050606
- Nandy, P., Roy, S., Thakur, A. R., & Chaudhuri, S. R. (2009). Comparative study on characterization of three *Staphylococcal* isolates from varied origin.
- Nappi, F. (2025). Infectious Deployment of *Staphylococcus aureus* on the Endothelium of Blood Vessels and on Blood Components. doi:h10.20944/preprints202504.0393.v1
- Nassib, T., El-Din, M. Z., & El-Sharoud, W. (2003). Assessment of the presence of *Salmonella* spp. in Egyptian dairy products using various detection media. *Letters in Applied Microbiology*, 37(5), 405-409. doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01420.x
- Nataro, J. P., Bopp, C. A., Fields, P. I., Kaper, J. B., & Strockbine, N. A. (2011). *Escherichia, shigella, and salmonella. Manual of Clinical Microbiology*, 603-626. doi:https://doi.org/10.1128/9781555816728.ch35
- Nataro, J. P., Seriwatana, J., Fasano, A., Maneval, D. R., Guers, L. D., Noriega, F., . . . Morris Jr, J. G. (1995). Identification and cloning of a novel plasmid-encoded enterotoxin of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* strains. *Infection and Immunity*, 63(12), 4721-4728. doi:10.1128/iai.63.12.4721-4728.1995
- Navab-Daneshmand, T., Friedrich, M. N., Gächter, M., Montealegre, M. C., Mlambo, L. S., Nhiwatiwa, T., . . . Julian, T. R. (2018). *Escherichia coli* contamination across multiple environmental compartments (soil, hands, drinking water, and handwashing water) in urban Harare: correlations and risk factors. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(3), 803. doi:10.4269/ajtmh.17-0521
- Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M., & Solera, J. (2015). Real-time PCR detection chemistry. *Clinica Chimica Acta*, 439, 231-250. doi:10.1016/j.cca.2014.10.017
- Ncoko, P., Jaja, I. F., & Oguttu, J. W. (2020). Microbiological quality of beef, mutton, and water from different abattoirs in the Eastern Cape Province, South Africa. *Veterinary World*, 13(7), 1363. doi:10.14202/vetworld.2020.1363-1371
- Neely, M. N., & Friedman, D. I. (1998). Functional and genetic analysis of regulatory regions of coliphage H-19B: location of shiga-like toxin and lysis genes suggest a role for phage functions in toxin release. *Molecular Microbiology*, 28(6), 1255-1267. doi:10.1046/j.1365-2958.1998.00890.x
- Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., . . . Scheutz, F. (2010). Food-borne diseases—the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139, S3-S15. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021

- Nilla, S. S., Khan, M. A. R., Khan, M. M. R., Ahsan, D. A., & Mustafa, M. G. (2012). Bacteriological quality of marketed mola fish, *Amblypharyngodon mola* from Dhaka metropolis. *Bangladesh Journal of Zoology*, 40(1), 77-88.
- Nilsson, I.-M., Hartford, O., Foster, T., & Tarkowski, A. (1999). Alpha-toxin and gamma-toxin jointly promote *Staphylococcus aureus* virulence in murine septic arthritis. *Infection and Immunity*, 67(3), 1045-1049. doi:10.1128/iai.67.3.1045-1049.1999
- Niyonzima, E., Ongol, M. P., Kimonyo, A., & Sindic, M. (2015). Risk Factors and Control Measures for Bacterial Contamination in the Bovine Meat Chain: A Review on *Salmonella* and Pathogenic *E. coli*. *Journal of Food Research*, 4(5). doi:10.5539/jfr.v4n5p98
- Noll, L. W., Shridhar, P. B., Dewsbury, D. M., Shi, X., Cernicchiaro, N., Renter, D. G., & Nagaraja, T. G. (2015). A comparison of culture-and PCR-based methods to detect six major non-O157 serogroups of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle feces. *PLoS One*, 10(8), e0135446. doi:10.1371/journal.pone.0135446
- Novoslavskij, A., Terentjeva, M., Eizenberga, I., Valciņa, O., Bartkevičs, V., & Bērziņš, A. (2016). Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. *Annals of Microbiology*, 66, 1-15. doi:10.1007/s13213-015-1102-5
- Novotny, L., Dvorska, L., Lorencova, A., Beran, V., & Pavlik, I. (2004). Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *Veterinárni Medicína*, 49(9), 343-358. doi:10.17221/5715-Vetmed
- Ntuli, V., Sibanda, T., Elegbeleye, J. A., Mugadza, D. T., Seifu, E., & Buys, E. M. (2023). Dairy production: microbial safety of raw milk and processed milk products. *Present Knowledge in Food Safety* (pp. 439-454): Elsevier.
- Nursoy, G., & Akgün, S. (1997). Ankara'daki askeri birliklerin ihtiyacı için alınan sığır etlerinin mikrobiyolojik kaliteleri üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 22(3).
- O'brien, A., Tesh, V., Donohue-Rolfe, A., Jackson, M., Olsnes, S., Sandvig, K., . . . Keusch, G. (1992). Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis. *Pathogenesis of Shigellosis*, 65-94. doi:10.1007/978-3-642-77238-2_4
- O'Loughlin, E. V., & Robins-Browne, R. M. (2001). Effect of Shiga toxin and Shiga-like toxins on eukaryotic cells. *Microbes and Infection*, 3(6), 493-507. doi:10.1016/S1286-4579(01)01405-8
- Obaidat, M. M., & Salman, A. E. B. (2017). Antimicrobial resistance percentages of *Salmonella* and *Shigella* in seafood imported to Jordan: Higher percentages and more diverse profiles in *Shigella*. *Journal of Food Protection*, 80(3), 414-419. doi:10.4315/0362-028X.JFP-16-322
- Obrig, T. G. (2010). *Escherichia coli* Shiga toxin mechanisms of action in renal disease. *Toxins*, 2(12), 2769-2794. doi:10.3390/toxins2122769
- Odetokun, I. A., & Adetunji, V. O. (2016). Prevalence and persistence of *Listeria monocytogenes* in dairy and other ready-to-eat food products in Africa. *Microbes in Food and Health*, 349-362. doi:10.1007/978-3-319-25277-3_18
- Odu, N., & Imaku, L. (2013). Assessment of the microbiological quality of street-vended ready-to-eat bole (roasted plantain) fish (*Trachurus Trachurus*) in Port Harcourt metropolis, Nigeria. *Researcher*, 5(3), 9-18.
- Ogofure, A., & Igbinosa, E. (2021). Effects of rinsing on *Staphylococcus aureus* load in frozen meats and fish obtained from open markets in Benin City, Nigeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(2), 294-299. doi:10.4314/ajcem.v22i2.24
- Olaya, A. A. R., Lozano, S. d. R. C., Carrera, W. E. R., Cabrera, I. E. M., & Paucar, A. L. P. (2024). Analysis in municipal markets for the evaluation of the hygienic quality of beef. *Centrosur Agraria*, 1(21). doi:10.37959/revista.v1i21.262

- Oliver, S. P., Jayarao, B. M., & Almeida, R. A. (2005). Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens & Disease*, 2(2), 115-129. doi:10.1089/fpd.2005.2.115
- Ombarak, R. A., Hinenoya, A., Awasthi, S. P., Iguchi, A., Shima, A., Elbagory, A.-R. M., & Yamasaki, S. (2016). Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*, 221, 69-76. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.009
- Omurtag, A. C., & Türker, S. (1978). Et ve Balık Kurumu Ankara Kombinasında Kesilip Piyasaya Arzedilen Parça-Paket Etlerin Hijyenik Kalitelerinin robiyolojik Yönden Analizleri Üzerinde Ara ştırma. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1(8)
- On, S., Lake, R., & Whyte, R. (2007). *Risk profile: Shiga-toxin producing Escherichia coli in raw milk*.
- Onmaz, N. E., Abay, S., Karadal, F., Hizlisoy, H., Telli, N., & Al, S. (2015). Occurence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in retail fish samples in Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 90(1-2), 242-246. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.10.046
- Onmaz, N. E., Yildirim, Y., Karadal, F., Hizlisoy, H., Al, S., Gungor, C., . . . Tegin, R. A. A. (2020). *Escherichia coli* O157 in fish: Prevalence, antimicrobial resistance, biofilm formation capacity, and molecular characterization. *Lwt*, 133, 109940. doi:10.1016/j.lwt.2020.109940
- Orsi, R. H., Liao, J., Carlin, C. R., & Wiedmann, M. (2024). Taxonomy, ecology, and relevance to food safety of the genus *Listeria* with a particular consideration of new *Listeria* species described between 2010 and 2022. *MBio*, 15(2), e00938-00923. doi:10.1128/mbio.00938-23
- Orsi, R. H., & Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 5273-5287. doi:10.1007/s00253-016-7552-2
- Osaili, T. M., Alaboudi, A. R., & Nesiari, E. A. (2011). Prevalence of *Listeria* spp. and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan. *Food Control*, 22(3-4), 586-590. doi:10.1016/j.foodcont.2010.10.008
- Osek, J., Lachtara, B., & Wiczorek, K. (2022). *Listeria monocytogenes*—how this pathogen survives in food-production environments? *Frontiers in Microbiology*, 13, 866462. doi:10.3389/fmicb.2022.866462
- Osman, K. M., Samir, A., Abo-Shama, U. H., Mohamed, E. H., Orabi, A., & Zolnikov, T. (2016). Determination of virulence and antibiotic resistance pattern of biofilm producing *Listeria* species isolated from retail raw milk. *BMC Microbiology*, 16, 1-13. doi:10.1186/s12866-016-0880-7
- Öncül, N., & Yıldırım, Z. (2019). Microbiological quality of raw meat sold in tokat province. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, 62-97. doi:10.24925/turjaf.v7isp3.62-67.3185
- Ös, F. B., & Karaboz, İ. (2005). İzmir'de piyasada açıkta satışa sunulan bazı gıdaların *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinleri bakımından incelenmesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(6), 6-9.
- Özkaya, K., & Yıldırım, Y. (2010). Kayseri'de Satışa Sunulan Çiğ Süt Numunelerinde *Listeria Monocytogenes* Varlığının Klasik Kültür Yöntemi ile Belirlenmesi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 3(2), 25-29.
- Özmen, G., & Kılıç, H. (2006). GEMLİK GARNİZONU'NDA TÜKETİME SUNULAN TAVUK ETLERİNDEN *LISTERIA* SPP. İZOLASYONU. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15(3), 194-197.
- Pakbin, B., Amani, Z., Allahyari, S., Mousavi, S., Mahmoudi, R., Brück, W. M., & Peymani, A. (2021). Genetic diversity and antibiotic resistance of *Shigella* spp. isolates from food products. *Food Science & Nutrition*, 9(11), 6362-6371. doi:10.1002/fsn3.2603

- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. (2021). Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 9922. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
- Palmqvist, N., Josefsson, E., & Tarkowski, A. (2004). Clumping factor A-mediated virulence during *Staphylococcus aureus* infection is retained despite fibrinogen depletion. *Microbes and Infection*, 6(2), 196-201. doi:10.1016/j.micinf.2003.10.014
- Palomino-Camargo, C., & González-Muñoz, Y. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31, 535-546.
- Pamuk, Ş., Demirel, Y. N., & Gürler, Z. (2019). Investigation of the microbiological quality of sea breeding (Sparus aurata) and sea bass (Dicentrarchus labrax) fishes in Afyonkarahisar province. doi:10.30607/kvj.526068
- Pamuk, Ş. (2018). Investigation of the Presence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in Bovine Origin Foods. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 22-29.
- Pandey, P., Bastola, A., Shrestha, B., Dahal, P. R., & Shah, P. K. (2020). Methicillin resistant and biofilm producing *Staphylococcus* species isolated from different clinical specimens and antibiotic susceptibility pattern of isolates. *TUJM*, 7(1), 43-50. doi:<https://doi.org/10.3126/tujm.v7i0.33796>
- Panel, E. B., Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bover-Cid, S., Chemaly, M., . . . Hilbert, F. (2020). Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal*, 18(1), e05967. doi:10.2903/j.efsa.2020.5967
- Panwar, S., Duggirala, K. S., Yadav, P., Debnath, N., Yadav, A. K., & Kumar, A. (2023). Advanced diagnostic methods for identification of bacterial foodborne pathogens: Contemporary and upcoming challenges. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(7), 982-1000. doi:10.1080/07388551.2022.2095253
- Park, S., Szonyi, B., Gautam, R., Nightingale, K., Anciso, J., & Ivanek, R. (2012). Risk factors for microbial contamination in fruits and vegetables at the preharvest level: a systematic review. *Journal of Food Protection*, 75(11), 2055-2081. doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-160
- Parks, D. H., Chuvochina, M., Reeves, P. R., Beatson, S. A., & Hugenholtz, P. (2021). Reclassification of *Shigella* species as later heterotypic synonyms of *Escherichia coli* in the Genome Taxonomy Database. *bioRxiv*, 2021.2009. 2022.461432. doi:10.1101/2021.09.22.461432
- Parsons, B. D., Zelyas, N., Berenger, B. M., & Chui, L. (2016). Detection, characterization, and typing of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 478. doi:10.3389/fmicb.2016.00478
- Parsot, C. (2005). *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* pathogenicity factors. *FEMS Microbiology Letters*, 252(1), 11-18. doi:10.1016/j.femsle.2005.08.046
- Paton, J. C., & Paton, A. W. (1998). Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(3), 450-479. doi:10.1128/cmr.11.3.450
- Patrick, M., Gray, M. D., Sandkvist, M., & Johnson, T. L. (2010). Type II secretion in *Escherichia coli*. *EcoSal Plus*, 4(1), 1124. doi:10.1128/ecosalplus.4.3.4
- Pattabhiramaiah, M., & Mallikarjunaiah, S. (2023). Foodborne pathogens and food safety regulations. *Food Microbial and Molecular Biology*, 1(34).
- Peñas, E., & Martínez-Villaluenga, C. (2020). Advances in production, properties and applications of sprouted seeds. *Foods*, 9(6), 790. doi: 10.3390/foods9060790

- Percival, S. L., & Williams, D. W. (2014). *Shigella*. In *Microbiology of waterborne diseases*
- Perdomo, J. J., Gounon, P., & Sansonetti, P. J. (1994). Polymorphonuclear leukocyte transmigration promotes invasion of colonic epithelial monolayer by *Shigella flexneri*. *The Journal of Clinical Investigation*, 93(2), 633-643. doi:10.1172/JCI117015
- Perelle, S., Dilasser, F., Grout, J., & Fach, P. (2007). Screening food raw materials for the presence of the world's most frequent clinical cases of Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* O26, O103, O111, O145 and O157. *International Journal of Food Microbiology*, 113(3), 284-288. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.08.014
- Pérez, V. K. C., da Costa, G. M., Guimarães, A. S., Heinemann, M. B., Lage, A. P., & Dorneles, E. M. S. (2020). Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 792-802. doi:10.1016/j.jgar.2020.06.010
- Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N., & Nostro, A. L. (2007). Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control*, 18(3), 196-200. doi:10.1016/j.foodcont.2005.09.013
- Pestariati, P., & Mufidah, M. (2021). Sorghum Agar (*Sorghum bicolor*) as Substitute Nutrient Agar Media for Cultivation *Escherichia coli*. *Health Notions*, 5(07), 258-261. doi:10.33846/hn50706
- Petat, E., Carteron, B., Reguer, M., Lemmens, P., Vandepitte, J., & Ghysels, G. (1987). *Shigella* and *Salmonella* isolated in Burundi from 1980 to 1985. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses Filiales*, 80(2), 171-179.
- Pickens, C. I., & Wunderink, R. G. (2022). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospital-acquired pneumonia/ventilator-associated pneumonia. *Respiratory and Critical Care Medicine*, 43(02), 304-309. doi:10.1055/s-0041-1740583
- Piérard, D., De Greve, H., Haesebrouck, F., & Mainil, J. (2012). O157: H7 and O104: H4 Vero/Shiga toxin-producing *Escherichia coli* outbreaks: respective role of cattle and humans. *Veterinary Research*, 43, 1-12. doi:10.1186/1297-9716-43-13
- Pinchuk, I. V., Beswick, E. J., & Reyes, V. E. (2010). Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*, 2(8), 2177-2197. doi:10.3390/toxins2082177
- Pingulkar, A. K., Dilip Bongirwar, Kiran. (2001). Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52(1), 15-23. doi:https://doi.org/10.1080/09637480020027219
- Pizarro-Cerdá, J., & Cossart, P. (2019). Microbe profile: *Listeria monocytogenes*: a paradigm among intracellular bacterial pathogens. *Microbiology*, 165(7), 719-721. doi:10.1099/mic.0.000800
- Podpečan, B., Pengov, A., & Vadnjal, S. (2007). The source of contamination of ground meat for production of meat products with bacteria *Staphylococcus aureus*. *Slov Vet Res*, 44, 25-30.
- Pormohammad, A., Nasiri, M. J., & Azimi, T. (2019). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. *Infection and Drug Resistance*, 1181-1197. doi:10.2147/IDR.S201324
- Porter, M. E., & Dorman, C. J. (1994). A role for H-NS in the thermo-osmotic regulation of virulence gene expression in *Shigella flexneri*. *Journal of Bacteriology*, 176(13), 4187-4191. doi:10.1128/jb.176.13.4187-4191.1994
- Prakasan, S., Lekshmi, M., Ammini, P., Balange, A. K., Nayak, B. B., & Kumar, S. H. (2022). Occurrence, pathogroup distribution and virulence genotypes of *Escherichia coli* from fresh seafood. *Food Control*, 133, 108669. doi:10.1016/j.foodcont.2021.108669

- Pugazhendhi, A. S., Wei, F., Hughes, M., & Coathup, M. (2022). *Bacterial adhesion, virulence, and biofilm formation*. Musculoskeletal Infection (pp. 19-64): Springer.
- Pupo, G. M., Lan, R., & Reeves, P. R. (2000). Multiple independent origins of *Shigella* clones of *Escherichia coli* and convergent evolution of many of their characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(19), 10567-10572. doi:10.1073/pnas.180094797
- Qiu, S., Xu, X., Yang, C., Wang, J., Liang, B., Li, P., . . . Cui, X. (2015). Shift in serotype distribution of *Shigella* species in China, 2003–2013. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(3), 252. e255-252. e258. doi:10.1016/j.cmi.2014.10.019
- Rajagopala, S. V., Casjens, S., & Uetz, P. (2011). The protein interaction map of bacteriophage lambda. *BMC Microbiology*, 11, 1-15. doi:10.1186/1471-2180-11-213
- Ray, B., & Bhunia, A. (2007). *Fundamental food microbiology*: CRC press.
- Ray, B., & Bhunia, A. K. (2016). *Temel gıda mikrobiyolojisi*: Nobel Akademik.
- Recep, K., Acaröz, U., Gürler, Z., Soylu, A., & Küçükurt, O. (2019). Taze marul örneklerinde *Escherichia coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*(16), 870-873. doi:10.31590/ejosat.573247
- Reiland, H. A., Omolo, M. A., Johnson, T. J., & Baumler, D. J. (2014). A survey of *Escherichia coli* O157: H7 virulence factors: The first 25 years and 13 genomes. *Advances in Microbiology*, 2014. doi:10.4236/aim.2014.47046
- Ricke, S. C. (2021). Strategies to improve poultry food safety, a landscape review. *Annual Review of Animal Biosciences*, 9, 379-400. doi:10.1146/annurev-animal-061220-023200
- Riggio, G. M., Wang, Q., Kniel, K. E., & Gibson, K. E. (2019). Microgreens—A review of food safety considerations along the farm to fork continuum. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 76-85. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.027
- Rinn, N., Braun, A.-S., Müller, A., Wadepohl, K., Gerulat, B., Kumm, F., . . . Kehrenberg, C. (2024). Microbiological quality of raw beef imported into the European Union from third countries. *Food Control*, 160, 110358. doi:10.1016/j.foodcont.2024.110358
- Rios, E. A., Santos, J., García-Meniño, I., Flament-Simon, S. C., Blanco, J., Garcia-Lopez, M.-L., . . . Rodriguez-Calleja, J. M. (2019). Characterisation, antimicrobial resistance and diversity of atypical EPEC and STEC isolated from cow's milk, cheese and dairy cattle farm environments. *Lwt*, 108, 319-325. doi:10.1016/j.lwt.2019.03.062
- Rivas, L., Mellor, G. E., Gobius, K., & Fegan, N. (2015). *Detection and typing strategies for pathogenic Escherichia coli*: Springer.
- Rodríguez-Rubio, L., Haarmann, N., Schwidder, M., Muniesa, M., & Schmidt, H. (2021). Bacteriophages of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and their contribution to pathogenicity. *Pathogens*, 10(4), 404. doi:10.3390/pathogens10040404
- Rothrock Jr, M. J., Micciche, A. C., Bodie, A. R., & Ricke, S. C. (2019). *Listeria* occurrence and potential control strategies in alternative and conventional poultry processing and retail. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 33. doi:10.3389/fsufs.2019.00033
- Rahman, F., Klementina, P., Qenan, M., Beqe, H., & Kemajl, B. (2015). ANALYSES OF MICROBIOLOGICAL DATA INDICATES FROM PHYSIC-CHEMICAL PARAMETERS, IN FISH SPECIES FROM SITNICA, LEPENCI AND LUMBARDHI I PRIZRENIT RIVERS (KOSOVA). *International Journal of Ecosystems & Ecology Sciences*, 5(2).
- Ruban, S. W., Thiyageeswaran, M., & Sharadha, R. (2010). Isolation and identification of *Salmonella* spp.

- from retail chicken meat by polymerase chain reaction. *Int J Microbiol Res*, 1(3), 106-109.
- Ruiz Gomez, J., Lorente Salinas, I., Perez Salmerón, J., Simarro Cordoba, E., & Martinez Campos, L. (1998). Evaluation of methods for isolation of *Salmonella* species using modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium and *Salmonella-Shigella* agar. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 17, 791-793. doi:10.1007/s100960050188
- Růžicková, V., Pantůček, R., Petráš, P., Doškař, J., Sedláček, I., & Rosypal, S. (2003). Molecular typing of exfoliative toxin-producing *Staphylococcus aureus* strains involved in epidermolytic infections. *International journal of medical microbiology*, 292(7-8), 541-545. doi:https://doi.org/10.1078/1438-4221-00225
- Saad, A., Almujaali, D., Babiker, S., Shuaib, M., Abdelgadir, K., & Alfadul, Y. (2007). Prevalence of *Salmonellae* in broiler chicken carcasses and poultry farms in the central region, KSA.
- Saad, M. S., Hassan, M. A., Hassnien, F. S., Abdel-Aal, M. M., Zakar, A. H., & Elshfey, S. A. (2018). Prevalence of *Escherichia coli* in fish obtained from retail fish markets in Gharbia Governorate, Egypt. *Benha Veterinary Medical Journal*, 34(1), 254-260. doi:10.21608/bvmj.2018.54248
- Sackey, B. A., Mensah, P., Collison, E., & Sakyi-Dawson, E. (2001). *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 21-28. doi:10.1016/S0168-1605(01)00595-5
- Sağun, E., Sancak, Y., Ekici, K., & Durmaz, H. (1996). Van'da tüketime sunulan piliç, but ve göğüs etlerinin hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. *Yüziüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(1), 62-66.
- Sağun, E., Sancak, Y. C., İşleyici, Ö., & Ekici, K. (2001). The presence and prevalence of *Listeria* species in milk and herby cheese in and around Van. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 25(1), 15-19.
- Sahl, J. W., Morris, C. R., Emberger, J., Fraser, C. M., Ochieng, J. B., Juma, J., . . . Nataro, J. P. (2015). Defining the phylogenomics of *Shigella* species: a pathway to diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(3), 951-960. doi:10.1128/jcm.03527-14
- Saima, A. S., Ferhat Abbas, R., Rizwan, M., Yousaf, M., Hassan, Y., Naeem, M., . . . Saifullah, S. (2018). Isolation & identification of *Shigella* species from food and water samples of Quetta, Pakistan. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 7(1), 227-235.
- Saito, E., Yoshida, N., Kawano, J., Shimizu, A., & Igimi, S. (2011). Isolation of *Staphylococcus aureus* from raw fish in relation to culture methods. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(3), 287-292. doi:10.1292/jvms.10-0198
- Samet Bali, O., Lajnef, R., Felfoul, I., Attia, H., & Ayadi, M. (2024). Detection of *Escherichia coli* in unpasteurized raw milk. *International Journal of Agricultural and Food Science*. https://hdl.handle.net/2268/325418
- Sancak, H., & Sağun, E. (2020). Presence and Prevalence of *Listeria* Species in the Inci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811). *Van Veterinary Journal*, 31(2), 78-82. doi:https://doi.org/10.36483/vanvetj.650722
- Sanchez, S., Lee, M. D., Harmon, B. G., Maurer, J. J., & Doyle, M. P. (2002). Animal issues associated with *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(8), 1122-1126.
- Sangwan, A. (2016). *Escherichia Coli (E. Coli): Meaning, Morphology and Characteristics*. *Biol. Discuss.*, May.
- Sano, G.-i., Takada, Y., Goto, S., Maruyama, K., Shindo, Y., Oka, K., . . . Matsuo, K. (2007). Flagella facilitate escape of *Salmonella* from oncotoc macrophages. *Journal of Bacteriology*, 189(22), 8224-

- Sansonetti, P. J., Arondel, J., Fontaine, A., d'Hauteville, H., & Bernardini, M. L. (1991). OmpB (osmo-regulation) and icsA (cell-to-cell spread) mutants of *Shigella flexneri*: vaccine candidates and probes to study the pathogenesis of shigellosis. *Vaccine*, 9(6), 416-422. doi:10.1016/0264-410X(91)90128-S
- Sansonetti, P. J., Hale, T. L., Dammin, G. J., Kapfer, C., Collins Jr, H. H., & Formal, S. B. (1983). Alterations in the pathogenicity of *Escherichia coli* K-12 after transfer of plasmid and chromosomal genes from *Shigella flexneri*. *Infection and Immunity*, 39(3), 1392-1402. doi:10.1128/iai.39.3.1392-1402.1983
- Santos, M., Cavaco, A., Gouveia, J., Novais, M., Nogueira, P., Pedroso, L., & Ferreira, M. (2012). Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. *Food Control*, 23(1), 275-281. doi:10.1016/j.foodcont.2011.06.022
- Sarantis, H., & Grinstein, S. (2012). Subversion of phagocytosis for pathogen survival. *Cell Host & Microbe*, 12(4), 419-431. doi:10.1016/j.chom.2012.09.001
- Sarkar, S. (2016). Microbiological safety concerns of raw milk. *Safety*, 24, 1-7.
- Sauders, B. D., Overdevest, J., Fortes, E., Windham, K., Schukken, Y., Lembo, A., & Wiedmann, M. (2012). Diversity of *Listeria* species in urban and natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(12), 4420-4433. doi:10.1128/AEM.00282-12
- Savelli, C. J., Bradshaw, A., Ben Embarek, P., & Mateus, C. (2019). The FAO/WHO international food safety authorities network in review, 2004–2018: learning from the past and looking to the future. *Foodborne Pathogens and Disease*, 16(7), 480-488. doi:10.1089/fpd.2018.2582
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M.-A., Roy, S. L., . . . Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States. *Unspecified Agents*, 17, 16-22. doi:10.3201/eid1701.P11101
- Schechter, M. C., Satola, S. W., & Stephens, D. S. (2019). Host defenses to extracellular bacteria. *Clinical immunology* (pp. 391-402. e391): Elsevier.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., & Barker, G. C. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6), 580-592. doi:10.4161/viru.2.6.18122
- Scheutz, F., Beutin, L., & Smith, H. R. (2004). Clinical detection of verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC). *Verocytotoxigenic E. coli*, 25-56.
- Schindler, J. (2010). *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*: Grada Publishing as.
- Schmidt, H., & Karch, H. (1996). Enterohemolytic phenotypes and genotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111 strains from patients with diarrhea and hemolytic-uremic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(10), 2364-2367. doi:10.1128/jcm.34.10.2364-2367.1996
- Schmitt, C. K., Ikeda, J. S., Darnell, S. C., Watson, P. R., Bispham, J., Wallis, T. S., . . . O'Brien, A. D. (2001). Absence of all components of the flagellar export and synthesis machinery differentially alters virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in models of typhoid fever, survival in macrophages, tissue culture invasiveness, and calf enterocolitis. *Infection and Immunity*, 69(9), 5619-5625. doi:10.1128/iai.69.9.5619-5625.2001
- Schnupf, P., & Sansonetti, P. J. (2019). *Shigella* pathogenesis: new insights through advanced methodologies. *Bacteria and Intracellularly*, 15-39. doi:10.1128/9781683670261.ch2
- Schroeder, G. N., & Hilbi, H. (2008). Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(1), 134-156. doi:10.1128/cmr.00032-07

- Semenov, A. V., van Overbeek, L., Termorshuizen, A. J., & van Bruggen, A. H. (2011). Influence of aerobic and anaerobic conditions on survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Luria–Bertani broth, farm-yard manure and slurry. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 780–787. doi:10.1016/j.jenvman.2010.10.031
- Servin, A. L. (2005). Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(2), 264–292. doi:10.1128/cmr.18.2.264-292.2005
- Shabarinath, S., Kumar, H. S., Khushiramani, R., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2007). Detection and characterization of *Salmonella* associated with tropical seafood. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 227–233. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.012
- Shahin, K., Bouzari, M., Wang, R., & Yazdi, M. (2019). Prevalence and molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* species of food origins and their inactivation by specific lytic bacteriophages. *International Journal of Food Microbiology*, 305, 108252. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108252
- Shelobolina, E. S., Sullivan, S. A., O'Neill, K. R., Nevin, K. P., & Lovley, D. R. (2004). Isolation, characterization, and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate-and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella* subterranea sp. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 2959–2965. doi:10.1128/AEM.70.5.2959-2965.2004
- Shen, J., Zhi, S., Guo, D., Jiang, Y., Xu, X., Zhao, L., & Lv, J. (2022). Prevalence, antimicrobial resistance, and whole genome sequencing analysis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from imported foods in China during 2015–2021. *Toxins*, 14(2), 68. doi:10.3390/toxins14020068
- Shi, Y., Kang, L., Mu, R., Xu, M., Duan, X., Li, Y., . . . Li, S. (2022). CRISPR/Cas12a-enhanced loop-mediated isothermal amplification for the visual detection of *Shigella flexneri*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 845688. doi:https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.845688
- Shiga, K. (1898). Ueber den Disenteriebacillus (*Bacillus dysenteriae*). *Zentralblatt fuer Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten Erste Abteilung*, 24, 870–874.
- Sievert, D. M., Ricks, P., Edwards, J. R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A., . . . Fridkin, S. (2013). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 34(1), 1–14. doi:https://doi.org/10.1086/668770
- Silk, B. J., Date, K. A., Jackson, K. A., Pouillot, R., Holt, K. G., Graves, L. M., . . . Marcus, R. (2012). Invasive listeriosis in the Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 2004–2009: further targeted prevention needed for higher-risk groups. *Clinical Infectious Diseases*, 54(suppl_5), S396–S404. doi:10.1093/cid/cis268
- Singer, A. U., Rohde, J. R., Lam, R., Skarina, T., Kagan, O., DiLeo, R., . . . Tyers, M. (2008). Structure of the *Shigella* T3SS effector IpaH defines a new class of E3 ubiquitin ligases. *Nature Structural & Molecular Biology*, 15(12), 1293–1301. doi:10.1038/nsmb.1511
- Siriken, B. (2004). The microbiological quality of ground beef in Aydin and Afyon Provinces, Turkey. *Revue Méd Vét*, 155(12), 632–636.
- Skandamis, P. N., Stopforth, J. D., Ashton, L. V., Geornaras, I., Kendall, P. A., & Sofos, J. N. (2009). *Escherichia coli* O157: H7 survival, biofilm formation and acid tolerance under simulated slaughter plant moist and dry conditions. *Food Microbiology*, 26(1), 112–119. doi:10.1016/j.fm.2008.09.001
- Smith, D. L., James, C. E., Sergeant, M. J., Yaxian, Y., Saunders, J. R., McCarthy, A. J., & Allison, H. E. (2007). Short-tailed stx phages exploit the conserved YaeT protein to disseminate Shiga toxin genes among enterobacteria. *Journal of Bacteriology*, 189(20), 7223–7233. doi:10.1128/jb.00824-07

- Soares, D., Lerin, L. A., Cansian, R. L., Oliveira, J. V., & Mazutti, M. A. (2013). Inactivation of *Listeria monocytogenes* using supercritical carbon dioxide in a high-pressure variable-volume reactor. *Food Control*, 31(2), 514-518. doi:10.1016/j.foodcont.2012.11.045
- Solmaz, L. (2014). İHRACATA YÖNELİK ÜRETİLEN SU ÜRÜNLERİNİN MİKROBİYOLOJİK YÖNDEN YÖNETMELİĞE UYGUNLUĞUNUN BELİRLENMESİ. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*(9).
- Soomro, A., Arain, M., Khaskheli, M., & Bhutto, B. (2002). Isolation of *Escherichia coli* from raw milk and milk products in relation to public health sold under market conditions at Tandojam. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(3), 151-152.
- Soria, M. A., & Bueno, D. J. (2016). *Culture based methods to detect Salmonella from different poultry products*. Food Microbiology (Chapter 4)
- Soultos, N., Koidis, P.-R., & Madden, R. (2003). Presence of *Listeria and Salmonella* spp. *Letters in Applied Microbiology*, 5(37), 421-423. doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01423.x
- Soyutemiz, E., Çetinkaya, F., Özakın, C., & Gedikoğlu, S. (2001). Presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk samples from West Anatolia. *Turkish Journal of Infection*, 1(15),5-9.
- Speelman, P., Kabir, I., & Islam, M. (1984). Distribution and spread of colonic lesions in shigellosis: a colonoscopic study. *Journal of Infectious Diseases*, 150(6), 899-903. doi:10.1093/infdis/150.6.899
- Speziale, P., & Pietrocola, G. (2021). Monoclonal antibodies targeting surface-exposed and secreted proteins from staphylococci. *Vaccines*, 9(5), 459. doi:10.3390/vaccines9050459
- Stenutz, R., Weintraub, A., & Widmalm, G. (2006). The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(3), 382-403. doi:10.1111/j.1574-6976.2006.00016.x
- Stewart, G. (2017). *Staphylococcal Food Poisoning*. Foodborne Diseases (pp. 367-380): Elsevier.
- Stuart, J. C., van den Munckhof, T., Voets, G., Scharringa, J., Fluit, A., & Leverstein-Van Hall, M. (2012). Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 212-214. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.034
- Sun, Y.-H., Rolán, H. G., & Tsois, R. M. (2007). Injection of flagellin into the host cell cytosol by *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Journal of Biological Chemistry*, 282(47), 33897-33901. doi:10.1074/jbc.C700181200
- Sun, Y., & Kim, S. W. (2017). Intestinal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* in pigs, and nutritional intervention to prevent postweaning diarrhea. *Animal Nutrition*, 3(4), 322-330. doi:10.1016/j.aninu.2017.10.001
- Swamy, S. C., Barnhart, H. M., Lee, M. D., & Dreesen, D. W. (1996). Virulence determinants invA and spvC in salmonellae isolated from poultry products, wastewater, and human sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(10), 3768-3771. doi:10.1128/aem.62.10.3768-3771.1996
- Şanlıbaba, P. (2022). Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw beef, sheep, and lamb meat in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 361, 109461. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109461
- Şimşek, M. (2021). AFYONKARAHİSAR İLİNDE ÜRETİLEN VE TÜKETİME SUNULAN BAZI ET VE SÜT ÜRÜNLERİNİN MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 22(1), 64-69. doi:10.18229/kocatepetip.826634
- Takeuchi, S., Ishiguro, K., Ikegami, M., Kaidoh, T., & Hayakawa, Y. (1998). Production of toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. *Veterinary Microbiology*, 59(4), 251-258. doi:10.1016/S0378-1135(96)01253-9

- Tamburro, M., Sammarco, M. L., Fanelli, I., & Ripabelli, G. (2019). Characterization of *Listeria monocytogenes* serovar 1/2a, 1/2b, 1/2c and 4b by high resolution melting analysis for epidemiological investigations. *International Journal of Food Microbiology*, 310, 108289. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108289
- Tamminen, L.-M., Söderlund, R., Wilkinson, D. A., Torsein, M., Eriksson, E., Churakov, M., . . . Emanuelson, U. (2019). Risk factors and dynamics of verotoxigenic *Escherichia coli* O157: H7 on cattle farms: An observational study combining information from questionnaires, spatial data and molecular analyses. *Preventive Veterinary Medicine*, 170, 104726. doi:10.1016/j.prevetmed.2019.104726
- Tankoano, A., Kabore, D., Savadogo, A., Soma, A., Fanou-Fogny, N., Compaore-Sereme, D., & Hounhouigan, J. D. (2016). Evaluation of microbiological quality of raw milk, sour milk and artisanal yoghurt from Ouagadougou, Burkina Faso. *African Journal of Microbiology Research*, 10(16), 535-541. doi:10.5897/AJMR2015.7949
- Tarr, P. I., Gordon, C. A., & Chandler, W. L. (2005). Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *The Lancet*, 365(9464), 1073-1086. <https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736%2805%2971144-2/fulltext>
- Tauxe, R. V. (2001). Food safety and irradiation: protecting the public from foodborne infections. *Emerging Infectious Diseases*, 7(3 Suppl), 516. doi:10.3201/eid0707.017706
- Tauxe, R. V., Doyle, M. P., Kuchenmüller, T., Schlundt, J., & Stein, C. (2010). Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections. *International Journal of Food Microbiology*, 139, S16-S28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.014
- Tavakoli, H., Soltani, M., & Bahonar, A. (2012). Isolation of some human pathogens from fresh and smoked shad (*Alosa kessleri*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(2), 424-429.
- Tegegne, B., & Tesfaye, S. (2017). Bacteriological milk quality: possible hygienic factors and the role of *Staphylococcus aureus* in raw bovine milk in and around Gondar, Ethiopia. *International Journal of Food Contamination*, 4, 1-9. doi:https://doi.org/10.1186/s40550-016-0046-2
- Telli, N., Yörük, N. G., Telli, A. E., Cebirbay, M. A., & Güner, A. (2018). Beyaz peynir, çiğ süt, kıyma ve İnegöl köftede *Staphylococcus aureus* kaynaklı intoksikasyon riskini değerlendirmede kültür ve immunolojik yöntemlerin karşılaştırılması. doi:10.15312/EurasianJVetSci.2018.207
- Temesgen, L., Tufa, T. B., & Abunna, F. (2025). Isolation, Identification and Antimicrobial Resistance Profile of *Salmonella* in Raw cow milk & its products in Bishoftu city, central Ethiopia: implication for public health. *One Health Outlook*, 7(1), 10. doi:10.1186/s42522-025-00134-y
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3), 207-217. doi:10.1038/nrmicro2298
- Tesfaw, L., Taye, B., Alemu, S., Alemayehu, H., Sisay, Z., & Negussie, H. (2013). Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* isolates from dairy products in Addis Ababa, Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*, 7(43), 5046-5050. doi:10.5897/AJMR2013.5635
- TGK. (2025). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=41291&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>
- Theocharis, A. D., Skandalis, S. S., Gialeli, C., & Karamanos, N. K. (2016). Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 97, 4-27. doi:10.1016/j.addr.2015.11.001
- Thomas, M. K., Murray, R., Flockhart, L., Pintar, K., Pollari, F., Fazil, A., . . . Marshall, B. (2013). Estimates of the burden of foodborne illness in Canada for 30 specified pathogens and unspecified agents,

- circa 2006. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(7), 639-648. doi:10.1089/fpd.2012.1389
- Todar, K. (2006). Todar's online textbook of bacteriology. In: University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology Madison, WI.
- Topalcengiz, Z., & Danyluk, M. D. (2019). Fate of generic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Central Florida surface waters and evaluation of EPA Worst Case water as standard medium. *Food Research International*, 120, 322-329. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.045
- Torres, A. G., Hernandez, M. M. A., & Martínez-Laguna, Y. (2012). Overview of *Escherichia coli*. *Pathogenic Escherichia coli in Latin America* (pp. 1-7); Bentham Science Publishers.
- Torres, A. G., Jeter, C., Langley, W., & Matthyse, A. G. (2005). Differential binding of *Escherichia coli* O157: H7 to alfalfa, human epithelial cells, and plastic is mediated by a variety of surface structures. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8008-8015. doi:10.1128/AEM.71.12.8008-8015.2005
- Torres, A. G., Zhou, X., & Kaper, J. B. (2005). Adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* strains to epithelial cells. *Infection and Immunity*, 73(1), 18-29. doi:10.1128/iai.73.1.18-29.2005
- Tosun, Ş. Y., Alakavuk, D. Ü., & Mol, S. (2016). Isolation of *Salmonella* spp. and other members of Enterobacteriaceae from horse mackerel (*Trachurus trachurus*), sold in public markets of Istanbul, Turkey. *Food and Health*, 2(2), 82-89. doi:10.3153/JFHS16009
- Traoré, O., Nyholm, O., Siitonen, A., Bonkougou, I. J. O., Traoré, A. S., Barro, N., & Haukka, K. (2015). Prevalence and diversity of *Salmonella enterica* in water, fish and lettuce in Ouagadougou, Burkina Faso. *BMC Microbiology*, 15, 1-7. doi:10.1186/s12866-015-0484-7
- Trent, M. S., Stead, C. M., Tran, A. X., & Hankins, J. V. (2006). Invited review: diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *Journal of Endotoxin Research*, 12(4), 205-223. doi:10.1177/09680519060120040201
- Trippa, D., Scalenghe, R., Basso, M. F., Panno, S., Davino, S., Morone, C., . . . Yousefi, S. (2024). Next-generation methods for early disease detection in crops. *Pest Management Science*, 80(2), 245-261. doi:10.1002/ps.7733
- Tuncay, R. M., Sancak, Y. C., Çakmak, T., & İşleyici, Ö. (2022). Van'da Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde Mikrobiyolojik Kalite ve Antibiyotik Varlığı. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 12(1), 53-63. doi:10.53518/mjavl1033318
- Turner, E. R., Luo, Y., & Buchanan, R. L. (2020). Microgreen nutrition, food safety, and shelf life: A review. *Journal of Food Science*, 85(4), 870-882. doi:10.1111/1750-3841.15049
- Tusa, H., Alemayehu, T., Subussa, B. W., Ayalew, H., & Ali, M. M. (2024). Hygienic Practices of Vendors and Their Contribution to *Coliform*, *Salmonella*, and *Shigella* Bacteria of Raw Milk at Asella Town, Oromia, Ethiopia. *International Journal of Food Science*, 2024(1), 8869022. doi:10.1155/2024/8869022
- Uhlich, G., Sinclair, J., Warren, N., Chmielecki, W., & Fratamico, P. (2008). Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates associated with two multistate food-borne outbreaks that occurred in 2006. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(4), 1268-1272. doi:10.1128/AEM.01618-07
- Ullah, S., Khan, S. U. H., Khan, M. J., Khattak, B., Fozia, F., Ahmad, I., . . . Goyal, S. M. (2024). Multiple-drug resistant Shiga toxin-producing *E. coli* in raw milk of dairy bovine. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(3), 64. doi:10.3390/tropicalmed9030064
- Umesha, S., & Manukumar, H. (2018). Advanced molecular diagnostic techniques for detection of food-borne pathogens: Current applications and future challenges. *Critical Reviews in Food Science and*

- USDA. (2021). FSIS Industry Guideline for Minimizing the Risk of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) in Beef (including Veal) Processing Operations. <https://www.fsis.usda.gov/guidelines/2021-0007>
- Uysal, H. K., & Anđ, O. (2003). Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Listeria* türleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 33, 163-169.
- Uyttendaele, M., De Troy, P., & Debevere, J. (1999). Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *International Journal of Food Microbiology*, 53(1), 75-80. doi:10.1016/S0168-1605(99)00155-5
- Valero, A., Pérez-Rodríguez, F., Carrasco, E., Fuentes-Alventosa, J. M., García-Gimeno, R. M., & Zurera, G. (2009). Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology*, 133(1-2), 186-194. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023
- Valilis, E., Ramsey, A., Sidiq, S., & DuPont, H. L. (2018). Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*—A poorly appreciated enteric pathogen: Systematic review. *International Journal of Infectious Diseases*, 76, 82-87. doi:10.1016/j.ijid.2018.09.002
- Van 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. doi:10.1038/ismej.2010.187
- Van Rijen, M. M., Kluytmans-van den Bergh, M. F., Verkade, E. J., Ten Ham, P. B., Feingold, B. J., Kluytmans, J. A., & Group, C. S. (2013). Lifestyle-associated risk factors for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in the Netherlands: an exploratory hospital-based case-control study. *PLoS One*, 8(6), e65594. doi:10.1371/journal.pone.0065594
- Van, T. T. H., Moutafis, G., Istivan, T., Tran, L. T., & Coloe, P. J. (2007). Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21), 6885-6890. doi:10.1128/AEM.00972-07
- Varcasia, B. M., Tomassetti, F., De Santis, L., Di Giamberardino, F., Lovari, S., Bilei, S., & De Santis, P. (2018). Presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in fresh beef marketed in 13 regions of Italy (2017). *Microorganisms*, 6(4), 126. doi:https://doi.org/10.3390/microorganisms6040126
- Varnam, A., & Sutherland, J. P. (2001). *Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology* (Vol. 1): Springer Science & Business Media.
- Veenendaal, A. K., Hodgkinson, J. L., Schwarzer, L., Stabat, D., Zenk, S. F., & Blocker, A. J. (2007). The type III secretion system needle tip complex mediates host cell sensing and translocon insertion. *Molecular Microbiology*, 63(6), 1719-1730. doi:10.1111/j.1365-2958.2007.05620.x
- Vena, A., Castaldo, N., Magnasco, L., Bavastro, M., Limongelli, A., Giacobbe, D. R., & Bassetti, M. (2023). Current and emerging drug treatment strategies to tackle invasive community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection: what are the challenges? *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 24(3), 331-346. doi:10.1080/14656566.2022.2161885
- Verhaegen, B., De Reu, K., Heyndrickx, M., & De Zutter, L. (2015). Comparison of six chromogenic agar media for the isolation of a broad variety of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serogroups. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6), 6965-6978. doi:10.3390/ijerph120606965
- Vidhya Ramaswamy, V. R., Cresence, V., Rejitha, J., Lekshmi, M., Dharsana, K., Prasad, S., & Vijila, H. (2007). *Listeria*-review of epidemiology and pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 40, 4-13.

- Vieira, M. A., Andrade, J. R., Trabulsi, L. R., Rosa, A. C., Dias, A. M., Ramos, S. R., . . . Gomes, T. A. (2001). Phenotypic and Genotypic Characteristics of *Escherichia coli* Strains of Non-Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) Serogroups that Carry eae and Lack the EPEC Adherence Factor and Shiga Toxin DNA Probe Sequences. *The Journal of Infectious Diseases*, 183(5), 762-772. doi:10.1086/318821
- Vijay-Kumar, M., Wu, H., Jones, R., Grant, G., Babbin, B., King, T. P., . . . Neish, A. S. (2006). Flagellin suppresses epithelial apoptosis and limits disease during enteric infection. *The American Journal of Pathology*, 169(5), 1686-1700. doi:10.2353/ajpath.2006.060345
- Visai, L., Xu, Y., Casolini, F., Rindi, S., Höök, M., & Speziale, P. (2000). Monoclonal Antibodies to CNA, a Collagen-binding Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules, Detach *Staphylococcus aureus* from a Collagen Substrate. *Journal of Biological Chemistry*, 275(51), 39837-39845. doi:10.1074/jbc.M005297200
- Viswanathan, P., & Kaur, R. (2001). Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203(3), 205-213. doi:10.1078/S1438-4639(04)70030-9
- von Tils, D., Blädel, I., Schmidt, M. A., & Heusipp, G. (2012). Type II secretion in *Yersinia*—a secretion system for pathogenicity and environmental fitness. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 160. doi:10.3389/fcimb.2012.00160
- Vural, A., & Erkan, M. E. (2006). Diyarbakır Kenti'ndeki Dicle Nehri balıklarında mikrobiyolojik kalite parametreleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 33(3), 153-156.
- Walk, S. T., Alm, E. W., Gordon, D. M., Ram, J. L., Toranzos, G. A., Tiedje, J. M., & Whittam, T. S. (2009). Cryptic lineages of the genus *Escherichia*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(20), 6534-6544. doi:10.1128/AEM.01262-09
- Wang, H., & Hammack, T. (2014). *Salmonella* Detection by classical cultural techniques.
- Wang, J.-T., Wang, J.-L., Fang, C.-T., Chie, W.-C., Lai, M.-S., Lauderdale, T.-L., . . . Chang, S.-C. (2010). Risk factors for mortality of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bloodstream infection: with investigation of the potential role of community-associated MRSA strains. *Journal of Infection*, 61(6), 449-457. doi:10.1016/j.jinf.2010.09.029
- Wang, M., Zhang, Y., Tian, F., Liu, X., Du, S., & Ren, G. (2021). Overview of rapid detection methods for *Salmonella* in foods: Progress and challenges. *Foods*, 10(10), 2402. doi:10.3390/foods10102402
- Wasilenko, J. L., Fratamico, P. M., Sommers, C., DeMarco, D. R., Varkey, S., Rhoden, K., & Tice, G. (2014). Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157: H7, O26, O45, O103, O111, O121, and O145, and *Salmonella* in retail raw ground beef using the DuPont™ BAX® system. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4, 81. doi:10.3389/fcimb.2014.00081
- Wei, X., & Zhao, X. (2021). Advances in typing and identification of foodborne pathogens. *Current Opinion in Food Science*, 37, 52-57. doi:10.1016/j.cofs.2020.09.002
- Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., Van Leeuwen, W., Van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(12), 751-762. doi:10.1016/S1473-3099(05)70295-4
- West, N. P., Sansonetti, P., Mounier, J., Exley, R. M., Parsot, C., Guadagnini, S., . . . Tanguy, M. (2005). Optimization of virulence functions through glucosylation of *Shigella* LPS. *Science*, 307(5713), 1313-1317. doi:10.1126/science.110847
- WHO. (2002). Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Interpretative summary.
- WHO. (2018). *Escherichia coli* (*E. coli*). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

- WHO. (2022). *Caring for those who care: guide for the development and implementation of occupational health and safety programmes for health workers*: World Health Organization.
- Wieczorek, K., & Osek, J. (2017). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology*, 64, 164-171. doi:10.1016/j.fm.2016.12.022
- Williams, S., Patel, M., Markey, P., Muller, R., Benedict, S., Ross, I., . . . Krause, V. (2015). *Salmonella* in the tropical household environment—everyday, everywhere. *Journal of Infection*, 71(6), 642-648. doi:10.1016/j.jinf.2015.09.011
- Willis, C., Baalham, T., Greenwood, M., & Presland, F. (2006). Evaluation of a new chromogenic agar for the detection of *Listeria* in food. *Journal of Applied Microbiology*, 101(3), 711-717. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02917.x
- Wu, F., Xu, X., Xie, J., Yi, S., Wang, J., Yang, X., . . . Li, H. (2016). Molecular characterization of *Salmonella enterica* Serovar Aberdeen negative for H₂S production in China. *PLoS One*, 11(8), e0161352. doi:10.1371/journal.pone.0161352
- Wu, S., Duan, N., Gu, H., Hao, L., Ye, H., Gong, W., & Wang, Z. (2016). A review of the methods for detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 8(7), 176. doi:10.3390/toxins8070176
- Wu, S., Huang, J., Wu, Q., Zhang, F., Zhang, J., Lei, T., . . . Xue, L. (2018). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from retail vegetables in China. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1263. doi:10.3389/fmicb.2018.01263
- Wu, X., & Su, Y. C. (2014). Effects of frozen storage on survival of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin production in precooked tuna meat. *Journal of Food Science*, 79(8), M1554-M1559. doi:10.1111/1750-3841.12530
- Wuenschel, M. D., Köhler, S., Bubert, A., Gerike, U., & Goebel, W. (1993). The iap gene of *Listeria monocytogenes* is essential for cell viability, and its gene product, p60, has bacteriolytic activity. *Journal of Bacteriology*, 175(11), 3491-3501. doi:10.1128/jb.175.11.3491-3501.1993
- Xu, D., Liao, C., Zhang, B., Tolbert, W. D., He, W., Dai, Z., . . . Liu, J. (2018). Human enteric α -defensin 5 promotes *Shigella* infection by enhancing bacterial adhesion and invasion. *Immunity*, 48(6), 1233-1244. e1236. doi:10.1016/j.immuni.2018.04.014
- Yagoub, S. O. (2009). Isolation of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. from raw fish sold in fish market in Khartoum state. *Journal of Bacteriology Research*, 1(7), 85-88.
- Yang, X., Wu, Q., Zhang, J., Huang, J., Chen, L., Liu, S., . . . Cai, S. (2015). Prevalence, enumeration, and characterization of *Salmonella* isolated from aquatic food products from retail markets in China. *Food Control*, 57, 308-313. doi:10.1016/j.foodcont.2015.03.046
- Yenilmez, F. (2022). Adana İlinde Satışa Sunulan Yaş ve Kuru Yolum Yapılmış Tavuk Etlerinin Mikrobiyolojik Yöneden Karşılaştırılması. *Turkish Journal of Agricultural Engineering Research*, 3(1), 78-85. doi:10.46592/turkager.1022270
- Yerlikaya, O. B., & Yıldırım, Y. (2015). Kayseri’de satışa sunulan kanatlı eti ürünlerinde *Listeria* spp. varlığının belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(3), 177-183.
- Yıldırım, İ., & Bıçakçı, S. İ. (2018). Antalya’da bulunan turizm konaklama tesislerindeki gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin incelenmesi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 31(3), 227-233. doi:10.29136/mediterranean.437200
- Yıldırım, Z., Ceylan, Ş., & Öncül, N. (2015). Tokat piyasasında satışa sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Akademik Gıda*, 13(4), 304-316.

- Yohans, H., Mitiku, B. A., & Tassew, H. (2022). Levels of *Escherichia coli* as bio-indicator of contamination of fish food and antibiotic resistance pattern along the value chain in Northwest Ethiopia. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 299-311. doi:10.2147/VMRR.S373738
- Younus, M. I., Sabuj, A. A. M., Haque, Z. F., Sayem, S. M., Majumder, S., Parvin, M. S., . . . Saha, S. (2019). Microbial risk assessment of ready-to-eat mixed vegetable salads from different restaurants of Bangladesh Agricultural University campus. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(1), 34. doi:10.5455/javar.2020.g390
- Yörük, N. G. (2018). Most probable number technique in *Escherichia coli* count using ISO 16649-3, ISO 7251, and rapid test enumeration device (TEMPO EC) methods in milk and dairy products. *Journal of Food Safety*, 38(5), e12502. doi:10.1111/jfs.12502
- Yu, D., Banting, G., & Neumann, N. F. (2021). A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 67(8), 553-571. doi:10.1139/cjm-2020-0508
- Zaccheo, A., Palmaccio, E., Venable, M., Locarnini-Sciaroni, I., & Parisi, S. (2016). *The Complex Relationships Between Humans, Food, Water, and Hygiene*. Food hygiene and applied food microbiology in an anthropological cross cultural perspective: Springer.
- Zarei, M., Maktabi, S., & Ghorbanpour, M. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in seafood products using multiplex polymerase chain reaction. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(2), 108-112. doi:10.1089/fpd.2011.0989
- Zecconi, A., & Scali, F. (2013). *Staphylococcus aureus* virulence factors in evasion from innate immune defenses in human and animal diseases. *Immunology Letters*, 150(1-2), 12-22. doi:10.1016/j.imlet.2013.01.004
- Zhang, X., McDaniel, A. D., Wolf, L. E., Keusch, G. T., Waldor, M. K., & Acheson, D. W. (2000). Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(2), 664-670. doi:10.1086/315239
- Zhang, Y., Rowehl, L., Krumsiek, J. M., Orner, E. P., Shaikh, N., Tarr, P. I., . . . Xiong, X. (2015). Identification of candidate adherent-invasive *E. coli* signature transcripts by genomic/transcriptomic analysis. *PLoS One*, 10(6), e0130902. doi:10.1371/journal.pone.0130902
- Zhu, Q., Gooneratne, R., & Hussain, M. A. (2017). *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods*, 6(3), 21. doi:10.3390/foods6030021

8. ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>		
Adı Soyadı	Adem SOYCAN	
İletişim Adresi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Umuttepe İzmit/KOCAELİ	
<u>Bilimsel Etkinlikler</u>		
Makaleler	Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:	
	1. Nuray Gamze Yörük, Feridun Yılmaz, Adem Soycan (2024). Verification Analyses fort he Detection of Bovine and Porcine Species in Foods Containing Animal Gelatin with Q-Exactive ORBITRAP Devicei. <i>Food Analytical Methods</i>, Q2, doi: 10.1007/s12161-024-02717-3 2. Adem SOYCAN, Doğanhan Kadir ER, Devrim DÜNDAR (2025) . Prevalence and serotype distribution of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> (STEC) in raw animal and plant food samples from Kocaeli province, Türkiye. <i>Food Control</i>, Q1, doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111382	
	Uluslararası ve Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler	
BİLDİRİ	1. Adem SOYCAN, Doğanhan Kadir ER, Devrim DÜNDAR (2025) Bacterial pathogens in various raw food products in Kocaeli provience. VIII- International Antalya Scientific Research and Innovative Studies Congress. January 25-27, 2025-Antalya (Özet Bildiri)(ISBN:979-8-89695-021-9)	
PROJELER	Proje Kodu: TDK-2024-3838 BAP: 2024-2025	Çeşitli gıdalarda shiga toksin üreten <i>Escherichia coli</i> (STEC) serotiplerinin ve bazı gıda patojenlerinin prevalansının araştırılması
KURS	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	Kocaeli Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası 04-15 Mart 2024

EKLER

1-EK-1: Etik Kurul Onayı

Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu tarafından 2024/210 proje numaralı araştırmaya, KÜ GOKAEK- 2024/07.25 karar numarası ile 02.05.2024 tarihinde etik kurul onayı verilmiştir.

