



T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİĞ SÜT SATIŞI YAPAN KÜÇÜK AİLE İŞLETMELERİNİN SÜT  
GÜĞÜMLERİNDE NOROVİRUS (GI, GII) VE HEPATİTİS A  
VİRUS VARLIĞININ REAL-TİME RT-PCR TESTİ İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**Mehmet Recai YILMAZ**

**DOKTORA TEZİ**

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman**

**Prof. Dr. Mehmet KALE**

**BURDUR-2023**



T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİĞ SÜT SATIŞI YAPAN KÜÇÜK AİLE İŞLETMELERİNİN SÜT  
GÜĞÜMLERİNDE NOROVİRUS (GI, GII) VE HEPATİTİS A  
VİRUS VARLIĞININ REAL-TİME RT-PCR TESTİ İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**Mehmet Recai YILMAZ**

**DOKTORA TEZİ**

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman**

**Prof. Dr. Mehmet KALE**

*Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinatörlüğü tarafından 0766-DR-21 proje numarası ile desteklenmiştir.*

**BURDUR-2023**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitim s¼recimde danıŐmanım olan laboratuvar ve klinik deneyimlerini hem akademik hem de insani değerlerini aktaran değerli hocam sayın Prof. Dr. Mehmet KALE'ye teŐekk¼r¼ borç bilirim. Doktora ders ve tez d¼nemim boyunca destek olan sayın Prof. Dr. Yakup YILDIRIM, Dr. Öğr. Üyesi Sibel HASIRCIOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Hasbi Sait SALTIK ve Dr. Öğr. Üyesi Kamil ATLI hocalarıma teŐekk¼r ederim. Tez s¼reci boyunca t¼m saha ve laboratuvar çalıŐmalarımda bana yardımcı olan sayın Doktoran Veteriner Hekim Yakup Sinan ORTA, Öğretim Görevlisi Ozan KOÇLU, Uzm. Biyolog AyŐeg¼l USTA'ya ve istatistiki hesaplamalarda Dr. Sevinç KANT'a teŐekk¼r ederim. Beni okutan meslek sahibi olmamı sağlayan ve akademik ilerlememde desteklerini esirgemeyen anneme, babama, eŐime ve kızıma teŐekk¼r¼ bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	<i>i</i>
KABUL VE ONAY	<i>ii</i>
TEŞEKKÜR	<i>iii</i>
ETİK BEYAN	<i>iv</i>
İÇİNDEKİLER	<i>v</i>
ŞEKİLLER	<i>vi</i>
TABLolar	<i>vii</i>
SİMGELER VE KISALTMALAR	<i>viii</i>
TÜRKÇE ÖZET	<i>x</i>
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	<i>xi</i>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. NoV Etiyoloji	3
2.2. NoV Epidemiyoloji	4
2.3. NoV Semptomlar ve Patogenez	6
2.4. NoV Zoonotik Özelliği	7
2.5. NoV Gıda ve Su Kaynaklı Bulaşma	8
2.6. NoV Teşhis	11
2.7. NoV Korunma ve Kontrol	13
2.8. HAV Etiyoloji	16
2.9. HAV Epidemiyoloji	17
2.10. HAV Semptomlar ve Patogenez	19
2.11. HAV Gıda ve Su Kaynaklı Bulaşma	21
2.12. HAV Teşhis	22
2.13. HAV Korunma ve Kontrol	24
2.14. Süt Somatik Hücreleri (SC)	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Süt Örnekleri ve İşlemler	28
3.2. Süt Serum Örneklerinin Hazırlanması	34
3.3. Süt Serum Örneklerinin RNA Ekstraksiyonuna Hazırlanması	36
3.4. Süt Serum Örneklerinin RNA Ekstraksiyon Protokolü	37
3.5. Real-Time PCR ile NoV ve HAV Genomlarının Tespiti	41
3.6. SCC Analizi	43
3.7. İstatistik Analizler	44
4. BULGULAR	45
4.1. NoV (GI-GII) ve HAV Varlığının Araştırılması Anket Sonuçları	45
4.2. NoV (GI-GII) ve HAV Real-Time PCR Sonuçları	49
4.3. SCC Sonuçları	51
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ	91

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 3.1.</b>	<b>İşletmelerde bulunan inek sayısı</b>	<b>28</b>
<b>Şekil 3.2.</b>	<b>Çalışmanın yapıldığı bir işletmede anket çalışması</b>	<b>34</b>
<b>Şekil 3.3.</b>	<b>RT-PCR testi için elde edilen süt serumu (15 ml)</b>	<b>35</b>
<b>Şekil 3.4.</b>	<b>SCC analizi için süt örnekleme (50 ml)</b>	<b>36</b>
<b>Şekil 3.5</b>	<b>Foodproof® sample preparation kit IV (A kutusu)</b>	<b>38</b>
<b>Şekil 3.6.</b>	<b>Foodproof® sample preparation kit IV (B kutusu)</b>	<b>39</b>
<b>Şekil 3.7.</b>	<b>Foodproof® sample preparation kit IV (C kutusu)</b>	<b>40</b>
<b>Şekil 3.8.</b>	<b>Foodproof® Norovirus GI, GII plus Hepatitis A virus detection kiti</b>	<b>42</b>
<b>Şekil 3.9.</b>	<b>SCC analizine hazırlanan süt örnekleri (50 ml)</b>	<b>43</b>
<b>Şekil 3.10.</b>	<b>Somatik hücre sayımı analizine kullanılan süt analizatörü</b>	<b>44</b>
<b>Şekil 4.1.</b>	<b>Süt güğümünde sinek kontaminasyonu</b>	<b>46</b>
<b>Şekil 4.2.</b>	<b>Güğümün soğuk su ile temizliği</b>	<b>47</b>
<b>Şekil 4.3.</b>	<b>Süt güğüm kapaklarının hijyen durumu</b>	<b>48</b>
<b>Şekil 4.4.</b>	<b>Real-Time PCR sonuçları (NoV GI pozitif)</b>	<b>50</b>
<b>Şekil 4.5.</b>	<b>Real-Time PCR sonuçları (HAV+NoV GI+NoV GII pozitif)</b>	<b>50</b>
<b>Şekil 4.6.</b>	<b>Real-Time PCR sonuçları (NoV GI+NoV GII pozitif)</b>	<b>51</b>

## TABLULAR

<b>Tablo 3.1.</b>	Örneklemenin yapıldığı işletmelerde anket formu	<b>29</b>
<b>Tablo 4.1.</b>	Sağım alanında/ahırda haşere, kuş, kemirgen varlığı	<b>45</b>
<b>Tablo 4.2.</b>	Sağım alanında/ahırda yer, duvar temizliğinin ve sağım makinelerinin temizlik sıklığı	<b>46</b>
<b>Tablo 4.3.</b>	Süt örneklerinde NoV (GI, GII) ve HAV pozitiflik düzeyi	<b>49</b>
<b>Tablo 4.4.</b>	FAM, HEX ve ROX kanallarının fluoresans dalga boylarının durumuna göre sonuç değerlendirme tablosu	<b>49</b>
<b>Tablo 4.5.</b>	Pozitif bulunan süt örneklerinin somatik hücre sayısı ortalamaları	<b>52</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	Derece Santigrat
µl	Mikrolitre
AB	Avrupa Birliği
AstV	Astrovirus
BCS	Vücut Kondisyon Skoru
BLV	Bovine Löykozis Virus
BSC-1	Afrika Yeşil Maymun Böbrek Hücresi
BVDV	Bovine Viral Diarrhea Virus
BHV-1	Bovine Herpesvirus-1
BHV-2	Bovine Herpesvirus-2
BHV-4	Bovine Hepresvirus-4
BTMSCC	Toplu Tank Sütü Somatik Hücre Sayısı
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum Diklorür
cm <sup>2</sup>	Santimetre kare
CPE	Sitopatojenik Effekt
DKID <sub>50</sub>	Doku Kültür Enfektif Doz 50
dk	Dakika
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EM	Transmission Elektron Mikroskopi
FMD	Foot and Mouth Disease
FRhK-4	Fetal Rhesus Maymun Böbrek Hücresi
FRhK-6	Fetal Rhesus Maymun Böbrek Hücresi
GHP	İyi Hijyen Uygulamaları
GMP	İyi Üretim Uygulamaları
HBGAs	Histo-Blood Grup Antijeni
HACCP	Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi
HAdV	Human Adenovirus
HAV	Hepatitis A Virus
HEV	Hepatitis E Virus
HF	İnsan Fibroblastları
HNoV	Human Norovirus
IgA	İmmunoglobulin A
IgG	İmmunoglobulin G
IgM	İmmunoglobulin M
kb	Kilobase
kg	Kilogram
L	Litre
LAMP	Loop Mediated Isothermal Amplification
mg	Miligram
mJ/cm <sup>2</sup>	Minimal Eritem Dozu
ml	Mililitre
MNV	Mürine Norovirus
NGS	Next Generating Sequencing
NoV	Norovirus

<b><i>p</i></b>	Predictive Value
<b>PBS</b>	Phosphate Buffer Solution
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PFU</b>	Plak Formation Unit
<b>pH</b>	Asitlik veya Baziklik Derecesi
<b>PI-3</b>	Parainfluenza-3
<b>RoV</b>	Rotavirus
<b>RT-PCR</b>	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
<b>SC</b>	Somatik Hücre
<b>SCC</b>	Somatik Hücre Sayımı
<b>STEC</b>	Shiga Toxin-Producing Escherichia coli
<b>ORF</b>	Open Reading Frame
<b>TBEV</b>	Tick Born Encephalitis Virus
<b>TRCR</b>	Transcription Reverse Transcription Concerned Reaction
<b>TSE</b>	Türk Standartları Enstitüsü
<b>USA</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>UV-B</b>	Ultraviyole B Aralığı
<b>UV-C</b>	Ultraviyole C Aralığı
<b>VLP</b>	Virus Like Partikül
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü

## ÖZET

Çiğ Süt Satışı Yapan Küçük Aile İşletmelerinin Süt Güğümlerinde Norovirus (GI, GII) ve Hepatitis A Virus Varlığının Real-Time RT-PCR Testi ile Araştırılması

Bu çalışmada Burdur-Merkez’de çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerinin 24 ay ve üzeri yaşlardaki süt ineklerinin sütlerinin toplandığı süt güğümlerinde Norovirus (NoV) GI, NoV GII ve Hepatitis A Virus (HAV) varlığı araştırıldı. Bu amaçla, 100 adet işletmedeki süt güğümlerinden 2 adet 15 ml ve 50 ml’lik steril tüplere süt örnekleri toplandı. Steril tüplere 15 ml kadar alınan süt örneklerinde Real-Time RT PCR ile NoV GI, NoVGII ve HAV varlığı araştırılırken, 50 ml steril tüplere alınan süt örneklerinde somatik hücre sayımı (SCC) gerçekleştirildi. Örnekleme yapıldığı işletmelerde sağım ve hijyen koşullarına yönelik anket uygulaması da yapıldı. İşletmelerde sağım ve hijyen koşullarına yönelik yapılan anket çalışması sonucunda; Hayvanların sağımının en çok aile bireylerince ve anne tarafından yapıldığı, sağımların yaygın olarak makine ile gerçekleştirildiği, sağım alanı ve ahırlarda çevresel kontaminasyon oluşturacak vektörün en fazla haşereler olduğu, sağım alanı ve ahırların genel olarak aylık temizliğinin yapıldığı, sağım alanlarının da günlük temizliğinin yapıldığı, süt güğümlerinde kullanım sonrası ve günlük temizliğin (soğuk su ve bir kez sudan geçirerek yapılması) yapıldığı ancak sağım makineleri ve güğümlerde haftalık dezenfeksiyon işleminin gerçekleştirildiği, işletmelerde sabun-su kullanımının ve sağım öncesi ve sonrası el yıkama alışkanlığının yaygın olduğu fakat el dezenfektan kullanımının yaygın olmadığı, sağım alanına girişte ve ahıra girişte önlük kullanımının yaygın olarak uygulanmadığı, sağım işlemi sırasında çalışanlarda takı kullanımının yaygın olduğu, çalışanların çiğ süt hijyeni ile ilgili herhangi bir eğitim alma oranının oldukça düşük düzeyde olduğu, işletmelerin yıllık süt analizlerinin yılda bir kez yaptırıldığı tespit edildi. Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan 100 adet küçük aile işletmelerinden alınan süt örneklerinde NoV ve HAV varlığının tespiti için yapılan Real-Time RT-PCR analizinde; %16 NoV GI, %12 NoV GII, %8 HAV pozitiflik tespit edildi. Ko-enfeksiyon olarak elde edilen sonuçlarda; %4 NoV GI + NoV GII ve %8 NoV GI + NoV GII + HAV olarak belirlendi. Bu çalışmada çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerinde toplanan sütlerde yüksekte düşüğe NoV GI, NoV GII ve HAV varlığı tespit edildi. Çalışmada elde edilen sütlerdeki SCC ortalaması  $339.020 \pm 249.230,9$  olarak belirlendi. Bu çalışmada, NoV GI, NoV GII ve HAV pozitif bulunan örneklerin SCC ortalamaları negatif örnek ortalamalarından istatistiksel olarak daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ). NoV GI pozitif saptanan örneklerde ortalama SCC  $225.375 \pm 60.018,9$  ( $p = 0,005$ ), NoV GII saptanan pozitif örneklerde ortalama SCC  $251.166,7 \pm 42.994,9$  ( $p = 0,01$ ) ve HAV saptanan pozitif örneklerde ortalama SCC  $248.750 \pm 49.969,1$  ( $p = 0,04$ ) belirlendi. Sütlerde NoV GI, NoV GII ve HAV varlığının SCC’yi etkilemediği ve sütlerde bir viral varlığın göstergesi olarak kullanılamayacağı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Çiğ süt, Güğüm, Hepatit A virus, Norovirus, Real-Time RT-PCR

## ABSTRACT

### Investigation of The Presence of Norovirus (GI, GII) and Hepatitis A Virus with Real-Time RT-PCR Test in Milk Cans of Small Family Enterprises that Selling Raw Milk

In this study, the presence of Norovirus (NoV) GI, NoV GII and Hepatitis A Virus (HAV) was investigated in milk cans where the milk of dairy cows aged 24 months and older were collected from small family enterprises selling raw milk in Burdur-Merkez. For this purpose, milk samples were collected in 2 sterile tubes of 15 ml and 50 ml from milk cans in 100 dairy farms. While the presence of NoV GI, NoVGII and HAV was investigated by Real-Time RT PCR in 15 ml milk samples taken in sterile tubes, somatic cell count (SCC) was performed in 50 ml sterile tubes. A questionnaire on milking and hygiene conditions was also carried out in the sampling establishments. As a result of the questionnaire study on milking and hygiene conditions in enterprises; Milking of animals is mostly done by family members and the mother, milking is commonly carried out by machine, the most common vector that may cause environmental contamination in the milking area and barns is pests, monthly cleaning of the milking area and barns is generally carried out, daily cleaning of the milking areas is also carried out, after use and daily cleaning (cold water and once through water) is carried out in milk cans, but weekly disinfection is carried out in milking machines and cans, It was determined that the use of soap and water and hand washing habits before and after milking were common in the enterprises, but the use of hand disinfectants was not common, the use of aprons at the entrance to the milking area and at the entrance to the barn was not widely applied, the use of jewellery by the employees during the milking process was common, the rate of receiving any training on raw milk hygiene by the employees was at a very low level, and the annual milk analyses of the enterprises were carried out once a year. In the Real-Time RT-PCR analysis performed to determine the presence of NoV and HAV in milk samples taken from 100 small family enterprises selling raw milk in Burdur-Centre; 16% NoV GI, 12% NoV GII, 8% HAV positivity was detected. In the results obtained as co-infection; 4% NoV GI + NoV GII and 8% NoV GI + NoV GII + HAV were determined. In this study, the presence of NoV GI, NoV GII and HAV was detected in the milk collected in small family enterprises selling raw milk. The mean SCC in the milk obtained in the study was determined as  $339.020 \pm 249.230.9$ . In this study, the mean SCCs of NoV GI, NoV GII and HAV positive samples were statistically lower than the mean SCCs of negative samples ( $p < 0,05$ ). The mean SCC of NoV GI positive samples was  $225.375 \pm 60.018,9$  ( $p = 0,005$ ), the mean SCC of NoV GII positive samples was  $251.166,7 \pm 42.994,9$  ( $p = 0,01$ ) and the mean SCC of HAV positive samples was  $248.750 \pm 49.969,1$  ( $p = 0,04$ ). It was concluded that the presence of NoV GI, NoV GII and HAV in milk did not affect SCC and could not be used as an indicator of viral presence in milk.

**Keywords:** Hepatitis A virus, Norovirus, Milk Can, Raw Milk, Real-Time RT-PCR.

## 1. GİRİŞ

Gıda güvenliği ülkelerin sosyo-ekonomik gelişmişliğinde önemli bir göstergedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2010 yılında dünya genelinde gıda kaynaklı 600.652,36 hastalık ve 418.608 ölüm vakasının olduğunu rapor etmiştir (Havelaar ve ark., 2015). Süt, insanlarda besleyici ve sağlıklı bir gıda olarak büyük değere sahiptir. İnsanın yaşamının çocukluk, gençlik ve yaşlılık döneminde önemli bir yere sahip besin ögesidir (Muehlhoff ve ark., 2013). Süt en önemli besinlerden biri olmasına rağmen, patojen etkenlerin (virus, bakteri, mantar, parazit) ve toksinlerin kolaylıkla ürediği ortamlar olarak bilinmektedir (Hempen ve ark., 2004). Yüzyıllardır çiğ sütlerin önemli patojen kaynağı olduğu bilinmektedir (Gillespie ve ark., 2003). Her yıl süt ürünlerinin tüketimi sonucu salgın hastalıkların görüldüğü de rapor edilmektedir (Jayarao ve ark., 2006).

Süt sığırı işletmeleri gıda kaynaklı patojenlerin en önemli rezervuar yerleridir. Sütteki gıda patojenleri genellikle direkt çevreden veya enfekte hayvanın memesinden gelen ekstrelerden kontaminasyonlar sonucu bulaşmaktadır. İşletmelerde gıda patojenlerinin en önemli kaynağı ruminant barsaklarıdır. Bununla birlikte feçes ile enfekte su ve gıda tüketimi, diğer enfekte hayvanların ekskresyon/ekskresyonları, çiğ sütlerin toplanmasında süt güğüm/tanklarının feçes ile direkt kontamine olması, mastitisli sütlerin direkt sütte bulunması, süt sağım makineleri ve süt sağım uygulamaları, sütlerin işlenmesi aşamaları ve post pastörizasyon aşamaları, enfekte hayvan varlığı, enfekte hayvanların otlakları ve yaşam alanlarını dışkılarıyla kontamine etmesi, süt güğüm ve tanklarının kontaminasyonu, insanların pastörize edilmemiş süt ve sütlerini (peynir vb.) tüketmesi, kuşlar, kemirgenler, haşereler, çiftlikte beslenen pet hayvanları (kedi ve köpek) ve diğer ajanlar da bakteri, mantar, virus ve parazitlerin bulaşmasında önemli yer tutmaktadır. Süt çiftliklerinde çiğ süt tank ve güğümleri meme sağlığı, çevresel patojenler, süt kimyasal kalıntıları ve antibiyotikler hakkında bilgi vermektedir (Bean ve ark., 1996; Şimsek ve ark., 2000; Murinda ve ark., 2002). Bu yüzden süt endüstrisi, büyük ve küçük süt çiftliklerinin küresel anlamda en büyük sorumlulukları içinde gıda kaynaklı hastalıkların insan popülasyonları arasında yayılmasını önlemek, yüksek kalitede ve güvenli süt ürünlerini üretmektir (Msalya, 2017).

Bu alışmada Burdur-Merkez'de çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerinin 24 ay ve üzeri yaşlardaki süt ineklerinin sütlerinin toplandığı süt ggmlerinde Norovirus (NoV) GI, NoV GII ve Hepatitis A Virus (HAV) varlığı moleküler yönden araştırıldı, alınan süt örneklerinde Somatik Hücre Sayımı (SCC) gerçekleştirildi ve örneklemenin yapıldığı işletmelerde sağım ve hijyen koşullarına yönelik anket uygulaması yapıldı.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. NoV Etiyoloji

NoV'ler *Caliciviridae* genusu içerisinde yer almaktadırlar. Yaklaşık 7,5 kilobase (kb) moleküler ağırlıkta tek zincirli RNA genomu içermektedir. Virus; zarsız, 30-35 nm çapında ve ikozahedral simetriye sahiptir (Gray ve Desselberger, 2009). Sezyum klorit gradyanda virus partikül canlılık densititesi 1,33-1,41 g/cm<sup>3</sup> ve virion moleküler ağırlığı yaklaşık 15x10<sup>6</sup>'dır (Kapikian ve ark., 1973). Virus, çevre koşullarında stabildir, çeşitli dezenfektan ve solventlere karşı oldukça dirençlidir (Duizer ve ark., 2004). Virus kapsidi 90 VP1 protein birimindeki dimerlerden oluşmuştur. Virus ikozahedral yapısında 32 büyük fincan benzeri oyuktan oluşmuş formda, virus yüzeyinde 5 ve 3 katlı eksenler yer almaktadır (Robilotti ve ark., 2015).

NoV genomu 3 open reading frame (ORF) içerisinde organize edilmiştir. ORF1 virus genomunun 5' sonunda yer almakta ve bir poliproteini kodlamaktadır (yaklaşık 200 kDa). ORF2 ve ORF3 sırasıyla VP1 ve VP2 adlı yapısal proteinleri kodlamaktadırlar (Jiang ve ark., 1993; Ettayebi ve Hardy, 2003).

NoV'ler 7 genogrupta (GI-GVII) klasifiye edilmişlerdir (Vinje, 2015). Bu genogrupların en az 31 adet genotipleri mevcuttur. NoV GI ve GII'nin sırasıyla 9 ve 22 genotipi, NoV GIII'ün 3 genotipi, GIV, GV ve GVI'nın 2 genotipi bulunmaktadır (Alfieri ve ark., 2017).

İnsan NoV suşları GI, GII ve GIV.1. içerisinde sınıflandırılmaktadır. Norwalk virus suşu GI.1. olarak klasifiye edilmektedir. Ancak, NoV GII en fazla tespit edilen genogrup olup, NoV GII.4. insanlarda oldukça fazla salgınlara yol açmaktadır (Lopman ve ark., 2004; Karst ve ark., 2014).

Domuz NoV suşları GII içerisinde sınıflandırılmış, GII.11, 0.18 ve 0.19 genotiplerde dağılımları bulunmaktadır (Zheng ve ark., 2006). NoV GII.18 domuz serotiplerinin insan NoV GII ile genetik ve antijenik yakınlığı bulunmuştur (Wang ve ark., 2005).

Sığır ve koyun NoV izolatları genogrup GIII içerisinde sınıflandırılmaktadırlar (Di Martino ve ark., 2014a). Bovine NoV GIII suşları iki farklı genotipe sahiptir. Bunlar; Bovine NoV GIII.1 için Jena ajan (Bo/Jena/80/DE) olarak ve Bovine NoV GIII.2 için Newbury ajan 2 (Bo/Newbury 2/76/UK) olarak isimlendirilmektedir (Di Martino ve ark., 2014a). Ovine NoV prototipi Norsewood30/2007/NZL GIII.3 olarak adlandırılmaktadır (Wolf ve ark., 2009). Bununla birlikte Bovine NoV'ların GIII.1/GIII.2, GIII.2/GIII.1 ve GIII.4 rekombinant suşları da belirlenmiştir (Bull ve ark., 2007; Ferragut ve ark., 2016).

Canine NoV suşları GIV.2, GVI ve GVII, Feline NoV suşları GIV.2 ve murine NoV suşları GV genogrupları olarak sınıflandırılmıştır (McFadden ve ark., 2011; Pinto ve ark., 2012; Tse ve ark., 2012).

## **2.2. NoV Epidemiyoloji**

NoV bulaşması konak türüne bakılmaksızın çoğunlukla fekal-oral yolla, dışkı veya kusuk ile temas ve direkt bireyden bireye kontakt temas ile gerçekleşmektedir. Enfeksiyonun meydana gelmesi için düşük doz (<10-100 virus) varlığı yeterli olmaktadır. Ayrıca NoV enfeksiyonuyla mücadelede kullanılan dezenfektan ve birçok kimyasal ürün virusun bu maddelere olan dirençliliği ve çevreye devamlı NoV saçılımı nedeniyle oldukça zordur (Kotwal ve Cannon, 2014).

NoV çevre sıcaklığında süspansiyon formda uzun süre kalabildiğinden yüzey/içme suyu, nemli fomitler veya çalışma yüzeylerinde devamlı bulunabilmektedir (Duizer ve ark., 2004). Ayrıca kusma esnasında aerolize partiküllerin solunması ile de NoV bulaşması gerçekleşebilmektedir (Atmar ve Estes, 2006).

Okul, bakımevleri, kruz gemileri, hastaneler ve barınaklar gibi kapalı ve yarı kapalı ortamlarda NoV salgınları oldukça yaygın olarak görülmektedir. Aşırı kalabalık ortamlarda bulunan enfekte bireyler insanlar arasında yüksek oranda sekonder salgınlara yol açabilmektedir (Atmar ve Estes, 2006).

Birçok ülkede insan NoV enfeksiyonuna bağlı gelişen salgınların kontamine sularla ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Duizer ve ark., 2004). NoV'un su kaynaklı bulaşan primer bir etken olduğu düşünüldüğünde diğer viral ajanların bu hastalık etkeni ile birlikte HAV, Hepatitis E Virus (HEV), Adenovirus, Astrovirus (AstV), Enterovirus ve Rotavirus (RoV) olabileceği işaret edilmiştir. Su kaynaklı hastalığa bağlı salgınlarda; rekreasyon suları, arıtılmış içme suları, arıtılmış veya arıtılmamış yeraltı suları kaynak olabilmektedir. Su ile ilişkili bu patojen etkenler düşük düzeyde de olsa salgın hastalık oluşturabilmektedir. Bunun nedeni; asemptomatik yayılımların uzun sürmesi ve virusun zarsız olması nedeniyle çevrede stabil kalmasına bağlanmaktadır (Gibson, 2014).

Çeşitli patojen etkenlerden kontamine olan yüzey/içme suları ve yer altı suları ile yıkanan sebzeler NoV ile de kontamine olabilmektedirler. Virus partikülleri ile enfekte olan gıdaların üretimi, hazırlanması, işlenmesi, paketlenmesi sırasında enfekte insan ellerinden kontaminasyon yaşanabilmektedir (Atmar ve Estes, 2006).

Semptomatik ve asemptomatik hayvanlar da virusu çevreye yayabilmektedirler (Scipioni ve ark., 2008a; Mesquita ve Nascimento, 2012a).

İnsanlarda NoV yüksek miktarlarda saçılım yapmaktadır. Bu miktar her gram dışkıda virus RNA titresi  $10^9$  ile  $10^{12}$  genomik kopye bulundurabilmekte ve semptomatik veya asemptomatik hastalarda 1-2 logaritmik düşük düzeyde görülebilmektedir (Newman ve Leon, 2015). Virusun çevreye yayılımı 5 ile 60 gün arasında devam edebilmektedir. NoV'un çevrede haftalar veya aylarca stabil kalması virus miktarının yüksekliğine bağlı olarak oluşabilmektedir. Bu durum NoV persistentliği sonucu enfekte ve duyarlı bireyler arasında virus bulaşması gerçekleşmektedir (Mathijs ve ark., 2012).

NoV'un farklı mevsimlerde kaynak ve işlenmiş atık sularda varlığı incelendiğinde en yüksek düzeyde kış mevsiminde tespit edilirken, diğer mevsimlerde daha düşük düzeylerde belirlendiği rapor edilmiştir (Blanco Fernandez ve ark., 2011; Fernandez ve ark., 2012; Poma ve ark., 2012).

### 2.3. NoV Semptomlar ve Patogenez

NoV GI, GII ve GIV genogruları insan hastalıklarına yol açmaktadır (Martella ve ark., 2011). NoV enfeksiyonu semptomatik veya asemptomatik olarak çevreye saçılımı sonucu 24 ile 48 saat arasında inkübasyon periyodunu tamamlamaktadır. Kusma yoğun ve ön planda olmak üzere; diyare, anoreksiya, karın ağrısı, hafif ateş hastalıkta görülen en belirgin semptomlardır. Hastalık süreci 12 ile 60 saat arasında devam etmektedir. Ancak, immün sistemi baskılanmış bireylerde kronik diyare ve virus saçılımının aylar veya yıllar sürdüğü ifade edilmektedir. NoV'un etkilediği bireylerin 1/3'ünde asemptomatik semptomlar görülmektedir (Karst ve ark., 2015).

NoV'lar insanlara genellikle oral yolla bulaşmaktadır. Bu viruslar aside dirençli olduklarından mideyi direkt geçmekte ve ince barsaklarda çoğalmaktadırlar (Kele, 2011). Virus, enterosit sitoplazma içerisinde replike olmakta ve pozitif zincirli RNA mRNA gibi görev yapmaktadır (Levett ve ark., 1996). NoV ile enfekte jejunumlarda villuslarda kısalma, epitel hücrelerinde bozulma ve vakuolizasyon, kript hipertrofisi ve lamina propria mononükleer hücre infiltrasyonu görülmektedir (Brian ve Mahy, 2005).

NoV'un ince barsak dokularında en çok barsak villi, en az kriplerdeki hücrelere bağlandığı gösterilmiştir (Marionneau ve ark., 2002). NoV olgularında anyon, sekresyon ve CD8+ lenfosit infiltrasyonunun arttığı belirlenmiştir (Troeger ve ark., 2009). NoV enfeksiyonu sonucu kusma merkezinin uyarıldığı, HCl, pepsin ve intrinsik faktörlerin etkilenmediği ve gastroenteritisli hastaların %15'inde NoV tespit edildiği bildirilmiştir (Meeroff ve ark., 1980; Guyton ve Hall, 2000; Takanashi ve ark., 2009).

Şempanzelerde NoV GI ile deneysel enfeksiyon çalışmalarında enfeksiyon sonrası bu hayvanlarda 2 haftadan daha uzun süre virus saçılımının görüldüğü ve antikor cevaplarının geliştiği rapor edilmiştir. Şempanzelerde yapılan biyopsilerde ise jejunum ve duodenumdaki hücrelerde viral RNA varlığına rastlanmıştır. Ayrıca, bu şempanzelerde 2-24 ay içinde NoV GI'e karşı bağışıklık geliştiği belirlenmiştir (Bok ve ark., 2011).

## 2.4. NoV Zoonotik Özelliği

NoV insan ve hayvanların başta dışkı olmak üzere atıklarının gıda ve çevreyi kontamine ederek indirekt bulaşmanın gerçekleşmesinden ötürü, bu virusun zoonoz karakterde olduğu düşünülmektedir (Rodriguez-Lazaro ve ark., 2012).

Serolojik çalışmalarda insanlarda hayvan NoV'lerine karşı antikor tespitleri yapılmıştır (Widdowson ve ark., 2005; Mesquita ve ark., 2013). 2005 yılında sığır ve domuzlar ile çalışan veteriner hekimlerde yüksek seroprevalansta anti-bovine NoV IgG antikorları tespit edilmiş ve bu durum NoV hayvan suşları ile insanların enfekte olabileceği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde küçük hayvan hekimliği yapan veterinerlerde anti-canine NoV IgG antikorlarının diğer insan popülasyonlarından oldukça yüksek bulunmuştur (Widdowson ve ark., 2005).

İnsan popülasyonlarında yapılan çalışmalarda anti-NoV GIV.1, kedi ve köpeklerde tespit edilen GIV.2 antikorları belirlenmiştir (Di Martino ve ark., 2014b). Özellikle pet hayvanlarının, sığır ve domuz poplasyonlarına göre daha yüksek zoonotik özellikte olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni insanlar ve evde beslenen pet hayvanları arasında yakın temas/ilişkinin olmasına bağlanmıştır (Mesquita ve Nascimento, 2012a; Di Martino ve ark., 2014b). Burdur ilinde evde beslenen diyare semptomu gösteren farklı ırk, cinsiyet ve yaştaki 128 adet köpeğin dışkısında insan NoV GI, GII ve GIV varlığı Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) metodu ile araştırılmış ve 128 adet köpek gaita örneğinin 5 (%3.91) adedinde sadece insan NoV GII bulunmuştur. Çalışma sonucunda köpeklerin sahipleri tarafından evlat kabul edilmesi ve çok yakın temas kurulması sonucu köpeklerde görülmeyen NoV GII'nin insanlardan köpeklere bulaşmış olabileceği tahmin edilmiştir (Sökel ve Kale, 2019). Bu durumun tam tersi olarak domuz ve köpeklerde de insan NoV'lere karşı antikor varlığı tespit edilmiştir (Farkas ve ark., 2005; Mesquita ve ark., 2014; Caddy ve ark., 2015).

Moleküler çalışmalarda da sığır, domuz ve köpek dışkılarında büyük oranda en yaygın GII.4'de dahil insan NoV suşlarının bulunduğu belirlenmiştir (Mattison ve ark., 2007; Summa ve ark., 2012). Evlerde beslenen asemptomatik köpeklerde ve

gastroenteritis semptomu gösteren insanlarda insan NoV GII.4 ve GII.12 RNA'ları belirlenmiştir (Summa ve ark., 2012).

Dik ve ark. (2023) 2019-2020 yılları arasında kesim için Konya'daki bir mezbahaya getirilen 2-5 yaş arası toplam 80 sığırdan dışkı örnekleri toplamışlar ve klinik semptomlara ve cinsiyete bakılmaksızın Bovine NoV nükleik asitlerin varlığı açısından incelemişlerdir. RT-PCR test ile dışkı örneklerinden 6 örnekte (%7,5) Bovine NoV nükleik asit varlığı açısından pozitiflik belirlemişlerdir. Elde edilen veriler doğrultusunda ve yapılan filogenetik analiz sonucunda örnekleme bölgesinde dolaşan virüs genotipinin GIII.2 kümesi-2'ye dahil olduğu belirlemişlerdir.

Domuzlarda insanlar için potansiyel patojen rezervuarlardır. Bu hayvan türleri birçok virus için reassortment özelliği taşımaktadır. Bu sayede farklı virus türlerinin veya suşlarının adaptasyonu ve yeni genotip veya genogrupların oluşmasına yol açabilmektedir. Bu tür vakalara RoV ve Influenza A viruslarında rastlanılmıştır (Engering ve ark., 2013). Porcine NoV GII.18, insan NoV GII ile genetik ve antijenik yakın ilişkiye sahiptir (Wang ve ark., 2005).

İnsan NoV GIV'ün köpek ve aslanlarda genetik benzerliği olduğu rapor edilmiştir (Martella ve ark., 2007; Martella ve ark., 2008; Mesquita ve ark., 2010). Bu durum canine NoV'lerin hem köpekler hem de insanlarda histo-blood grup antijeni (HBGAs) ortak yaygın olması ve bunun hücre yüzey karbonhidratlarının yapısında bulunmasına dayandırılarak hipotezin desteklenebileceği ifade edilmiştir. Sonuç olarak canine NoV insan hücrelerine bağlanabilmektedirler (Caddy ve ark., 2014).

## **2.5. NoV Gıda ve Su Kaynaklı Bulaşma**

NoV enfeksiyonunun bulaşmasında en önemli yollardan biri kontamine gıda ve su tüketimidir. İnsan NoV GII.4 çiğ domuz etlerinde moleküler olarak tespit edilmiştir. Bu durum NoV'nin insanlara zoonotik bulaşmasının kontamine et ve sütle geçebileceğini ön plana çıkarmıştır (Mattison ve ark., 2007). Daha önceki yıllarda Amerika Birleşik Devletleri (USA) marketlerinde satılan ıstiridyeler üzerinde insan ve hayvan enterik calicivirus varlığı incelenmiştir. Özellikle yoğun hayvan yetiştiriciliği yapan eyaletlerde çiğ ıstiridyelerde domuz ve sığır NoV'lerin varlığı belirlenmiştir

(Costantini ve ark., 2006). Bu durumun hayvan yetiştirilen bölgelerde kaynak sularının atıklarından kirlenmesi sonucu meydana gelebileceği ifade edilmiştir (Martella ve ark., 2009). Benzer şekilde İtalyan canine NoV suşu (Bari/91/07/ITA) Japonya'da çiğ tüketime sunulan istiridyelerde belirlenmiştir (Nishida ve ark., 2007; Martella ve ark., 2009). Uruguay'da da canine NoV GVII ev kanalizasyon sularında tespit edilmiştir. Bunun özellikle rekreasyon ve içme sularını ve çevreyi kontamine edebileceği bildirilmiştir (Lizasoain ve ark., 2015).

NoV'ların atık ve çevre sularından alınan örneklerde genetik ve evrimleşme temelinde yapılan çalışmalarda NoV enfeksiyonlarının miks enfeksiyonlar ve rekombinasyon riski taşıyabileceği açıklanmıştır (Blanco Fernandez ve ark., 2011). Yapılan farklı çalışmalarda da insan enterik virusların nehirlerde, kuyu ve yeraltı sularında belirlendiği ve bu durumun su kaynaklı hastalıklar insan ve hayvanlarda risk oluşturabileceği gösterilmiştir (Blanco Fernandez ve ark., 2011; Gibson, 2014).

Kim ve ark. (2016) Güney Kore'de örnekledikleri 504 adet suyun 104'ünde (%20.6) Human Norovirus (HNoV) pozitiflik belirlemişlerdir. Coşkun ve ark. (2021) yapmış olduğu bir derleme çalışmasında Mardin, Şanlıurfa, Gaziantep ve Kahramanmaraş il ve ilçelerinde bulunan kuyu ve derelerden alınan 60 adet su örneğinin 10'unda (%16.67) HNoV GI, GII ve GIV bulunduğu, pozitiflik tespit edilen örneklerin 3'ünün lokal kuyulardan, 7'sinin ise derelerden elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, HNoV tespit edilen 6 örneğin GII (%10), 3 örneğin GI (%5) ve 1 örneğin (%1.67) ise GIV genotipine ait olduğu belirlenen çalışma sonuçları, HNoV salgınlarında kontamine suların önemli bir kaynak oluşturabileceği ifade edilmiştir (Demirci ve ark., 2018).

İspanya'da 168 adet vahşi ve kültür midye, kum midyesi, deniz tarağı örneklerinde, NoV GI, GII ve HAV varlığını araştırmışlardır. NoV GI %32,1, NoV GII %25,6 ve HAV %10,1 oranlarında pozitiflik bulmuşlardır. Kontamine deniz kabukluları içerisinde kültür midyesinde (%61,4), kum midyesinde (%59,4), vahşi midyede (%54,3) ve deniz tarağında (%38,7) pozitiflik belirlenmiştir (Polo ve ark. 2015). Tan ve ark. (2018) Çin'de çiftlik, market ve restoranlardan topladıkları 463 adet istiridyenin 96'sında (%20,7) NoV varlığını belirlemişlerdir. Çalışmada pozitif

bulunan 94 örnekte (%20,3) NoV GII ve 2 adet örenkte (%0,4) NoV GI buunduğunu açıklamışlardır.

Cook ve ark. (2019) 568 marul, 310 taze ve 274 donmuş ahududu örneğinde NoV varlığını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda marullarda %5,3, taze ahududularda %2,3 ve dondurulmuş ahududularda %3,6 oranında pozitiflik belirlemişlerdir.

Soya ile marine edilmiş taze su ıstırdyeleri, yıllanmış şaraplarda marine edilmiş kısa boyunlu ıstırdyeler, kabuklu deniz ürünleri ile hazırlanmış salatalarda NoV kaynağı olarak bilinmektedir (Bellou ve ark., 2013).

Yılmaz ve ark. (2010) İstanbul Boğazından toplanan midyelerde insan NoV GI ve GII sıklığını araştırmışlardır. Balık dağıtıcılarından Boğaziçi kıyısı menşeli 110 örneği temsil eden toplam 320 midye toplamışlardır. NoV GI ve GII'ye özel primerler kullanılarak gerçek zamanlı RT-PCR gerçekleştirmişlerdir. 110 örnek arasından 5'inin (%4,5) SYBR Green testiyle NoV GII için pozitif olduğunu ancak hiçbir örnekte NoV GI tespit edilmediğini rapor etmişlerdir. Çalışma sonucunda İstanbul Boğazı'ndan toplanan midyelerde NoV GII'nin bulunduğunu ve insan sağlığı açısından risk oluşturabileceği açıklanmıştır.

Hazır yiyeceklerden; sandviç, domuz pırzolası, meyve salatası, haşlanmış ıspanak, tavuk pırzolası, spagetti salata, lahana, fasülye nişastalı erişteli salata, havuç sotesi, pastırma, turp salata, yengeç türü ürünlerin yıkama suları veya mutfakta çalışanların elleri ile NoV kontaminasyonunun mümkün olduğu belirtilmiştir (Payne ve ark., 2006; Ethelberg ve ark., 2010; European Food Safety Authority, 2014; Ushijima ve ark., 2014).

Soya fasulyesinden hazırlanmış ekmek ve kek, yoğun tereyağlı rulolar, japon tatlısı, pirinçli kek, krep ve badem jölesinin de mutfak çalışanlarının ellerinden kaynaklı NoV kontaminasyonu olabileceği açıklanmıştır (Ushijima ve ark., 2014). Horm ve ark. (2012) yüksek basınç ile homojenize edilen ve içerisine bitki veya hayvanlardan elde edilen doku veya yumurta sarısı ve soya fasulyesinden ekstrakte edilen lesitin benzeri maddelerin süt ve meyve sularında NoV, marine(?) NoV-1 ve

feline calicivirusların daha hızlı inaktive olabileceğini tespit etmişlerdir. Lesitinin viral kapsit proteinlerinin yok edilmesine yardımcı olduğunu ve bu nedenle inaktivasyonda daha az basınca gereksinime yol açtığı bildirilmiştir (Horm ve ark., 2012; Ramadan ve Asker, 2009).

Mattison ve ark. (2007) domuz ve sığır dışkı örneklerinde NoV GII.18 (domuz) ve NoV GII.4 (insan) sekanslarının varlığını göstermişlerdir. Ayrıca retail et örneklerinde de NoV GII.4 benzeri tespitler yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre NoV'lerin yiyecek zincirinde indirekt zoonoz bulaşmasında bir yol olabileceği sonucuna varmışlardır.

Elviss ve ark. (2022) ticari gıda üretim ortamlarında 256 adet tesisten 2038 virolojik ve 944 bakteriyolojik olmak üzere 2982 örnek toplamışlardır. Örneklenen tesislerin %11,7'sinde (30/256) en az bir NoV pozitif örnek (çevresel ve/veya gıda işleyen kişilerin el sürüntüsü) elde etmişler ve sürüntülerinde %2,5 oranında NoV pozitiflik belirlemişlerdir. NoV pozitifliği ile bakteriyolojik sonuçlar arasında veya bakteriyolojik sonuçlar ile hijyen değerlendirilmeleri arasında herhangi bir ilişki bulunamadığı açıklanmıştır. Çalışmada gıda tesislerinin ve gıda işleyen kişilerin NoV bulaşması ve salgınları için potansiyel bir kaynak olmaya devam ettiği gösterilmiştir.

## 2.6. NoV Teşhis

NoV enfeksiyonunun laboratuvar teşhisinde Elektron mikroskopi (EM) ve moleküler analizler kullanılmaktadır. EM tekniği çeşitli virusları tespit etme yeteneğine sahiptir. Ancak gaitada  $10^6$  partikül/ml'de enterik virusları tespit etme düzeyinde düşük hassiyete sahiptir. NoV ile diğer küçük yuvarlak enterik virusların ayırılması yapılamadığı açıklanmıştır (Wang ve ark., 2007).

Günümüzde insan ve hayvanlarda konvansiyonel RT-PCR ve Kantitatif SYBR Green ve TaqMan tabanlı RT-PCR moleküler teknikler kullanılmaktadır. Moleküler teknikler virusun genogruplar/genotipler halinde sınıflandırılmasında yüksek hassasiyet ve spesifik testler olma özelliğine sahiptir. Bu durumun aksine, testlerdeki duyarlılık/özgüllük; örnek kalitesi, nükleik asit ekstraksiyonu ve saflaştırılması aşamaları, oligonükleotid primerler ve/veya tahlil koşullarından etkilenmektedir.

Dahası, ikinci tur amplifikasyon (nested-PCR) gerekli olduğunda, çapraz kontaminasyon riski örnekleme nedeniyle risk oluşturabilmektedir (Scipioni ve ark., 2008b; Vinje, 2015). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP), transcription-reverse transcription concerted reaction (TRCR), Seeplex-MultiNA ticari olarak uygundur (Ushijima ve ark., 2011). Multiplex RT-PCR yöntemi teşhiste kullanılmaktadır (Yan ve ark., 2003).

Veteriner teşhis sistemlerinde yaygın olarak bulunmayan, pahalı ekipman ve malzeme gerektirmesine rağmen Next Generation Sequencing (NGS) sistemi viral popülasyon dinamiklerinin daha derinlemesine araştırılmasında fayda sağlamaktadır (Bull ve ark., 2012). NGS; yeni virusların keşif edilmesinde, viruslar dahil mikrobiyal popülasyonun farklı konakçılarda karakterizasyonu, klinik ortamlarda direnç/virülans genlerinin tespiti ve NoV epidemiyolojisi ile ilişkili olarak evrimsel değişikliklerin tanımlanması teknolojilerin keşfinde yararlı bir araç olmuştur (Bavelaar ve ark., 2015; Zhou ve ark., 2016).

Mikroarray hibridizasyonu ve immünohistokimya yöntemleri de virus teşhisinde kullanılabilir (Wang ve ark., 2006; Otto ve ark., 2011; Caddy ve ark., 2015). Buna karşın, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) gibi immünojenik testler daha sıkça kullanılmakta viral antijenleri ve antikörlerin tespiti yapılmaktadır. ELISA testi çok duyarlı bir test olup, çoklu dışkı örneklerin hızlı taranması hem viral partikülleri hem de çözünür antijenlerin tespitinde yararlı bir metottur. Antijenik olarak farklı NoV suşlarının dolaşımında bulunması nedeniyle, rekombinant virus like partikülleri (VLP'ler) üretimine bağımlı olması da tekniğin dezavantajıdır. Ayrıca, domuz NoV VLP temelinde hazırlanmış ELISA antikor testi insan NoV antikörler ile çapraz reaksiyon vermektedir (Wang ve ark., 2007; Almanza ve ark., 2008; Di Martino ve ark., 2010).

Viral enfeksiyonların teşhisinde hücre kültürüne dayalı virus izolasyon çalışmaları altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak, NoV replikasyonunu ve enfeksiyöz NoV partiküllerinin salınımını etkin bir şekilde destekleyen bir hücre kültürü sisteminin mevcut olmaması, virusun replikasyon mekanizması, hücre konak-virus etkileşimi, antijenik karmaşıklık ve evrim gibi biyolojik özellikleri üzerinde derinlemesine çalışmalar yapılmasını engellemiştir (Ettayebi ve ark., 2016). 2016

yılında çoklu insan NoV suşlarının ilk başarılı ekimi kök hücre türevi enterositlerin transforme edilmemiş insan bağırsak enteroid tek katmanlı kültürlerinde üretimi yapılmıştır (Ettayebi ve ark., 2016). In vitro yetiştirme sisteminde sağlam ve tekrarlanabilir uygulamalar insan NoV enfeksiyonlarının korunması ve tedavi edilmesinde kullanılan metotlardır.

## 2.7. NoV Korunma ve Kontrol

Konak türüne bakılmaksızın NoV profilaktik tedavisi için aşı ve spesifik bir tedavi yoktur. Bu yüzden temel olarak tüm duyarlı canlıların korunması ve önlemler en iyi yöntemdir. Hayvanların ve çevrenin NoV'ye maruz kalmasını ve bulaşmayı önleme için gübre atıkları dahil çevresel kirlenme ve kontaminasyonlar engellenmelidir. NoV'ların potansiyel zoonotik bulaşması göz önüne alındığında, yönetimler tarafından halk sağlığı konusuna odaklanması gerekmektedir (Alfieri ve ark., 2017).

NoV'un kontrol edilmesi, enfeksiyonun önlenmesi ve çevrede persistentliğini kaldırmak için dışkıının uzaklaştırılması, temiz tesisler, dezenfeksiyon ve diğer sıhhi önlemlerin alınması gerektiği vurgulanmaktadır. NoV su kaynaklı bir patojendir. İyi kalitede, temiz ve eşit derecede klorla arıtılmış su tedarik edilmesini temel olan su yönetim uygulamaları gerektirir (Alfieri ve ark., 2017).

İshalli dışkı ve kusmuk çoğunlukla sıvı formdadır. İnsan elleriyle tuvaletin düğmelerine vb. yüzeylere kolayca bir şekilde dokunur. Tutunan virusların yüzeyden uzaklaştırılması zordur. Sebze ve meyvelerin kontamine olmuş yüzeyleri temiz su ile dikkatlice ve tekrar tekrar yıkanmalıdır. Düşük konsantrasyonda hipoklorit kullanılması tavsiye edilmektedir. Yüzeylerin temizliğinde 200 ppm sodyum hipokloritin kullanılması tavsiye edilmektedir. Kabuklu deniz ürünleri, tabaklar, giysiler ve kontamine olabilecek diğer her şeyin 85 veya 90 °C'nin üzerinde en az 90 sn süreyle tutulması tavsiye edilmektedir (Ushijima ve ark., 2014).

İşletmelerde otomatik musluk anahtarı veya kolu, tuvaletler için otomatik kapı kullanımı, çalışanlar ve müşterilerin (ziyaretçiler) ayrı tuvaletlere sahip olması ve el yıkama lavabolarının tuvalet odasının içinde olması vurgulanmaktadır. Ayrıca

asemptomatik gıda çalışanların ellerinin düzenli olarak kontrol edilmesi önerilmektedir. Sıcak su, sabun, alkol türevleri ve sodyum hipoklorit ile yıkama, temizleme ve dezenfeksiyon işlemlerinin uygulanmaları da önerilmektedir (Ushijima ve ark., 2014).

NoV'un ısı ile inaktivasyonu zamana ve sıcaklığa bağlıdır ve NoV enfektivitesinde bir miktar azalma olması için 30 dakika ve üstü zaman diliminde 56°C'yi aşması gerekir (Nims ve Plavsic, 2013; Duizer ve ark., 2004). Calicivirus suş/türlerine bakılmaksızın 60°C'yi aşan ısı uygulamaları NoV'u inaktive etmektedir. Dondurma/çözdürme uygulamalarına karşı NoV'un dirençli olduğu belirtilmiştir (Nims ve Plavsic, 2013). Yüksek basınç yardımıyla gerçekleştirilen sterilizasyon uygulamalarında gıdalarda besin profillerindeki değişimlerin yanında bakteri, virus ve bazı enzimlerin inaktive olabileceği belirtilmektedir (Mazri ve ark., 2012). Bu durum insan sağlığı açısından besinlerden yararlanılması açısından dezavantaj oluştururken, mikroorganizma kontaminasyonundan korunmak açısından avantaj yaratmaktadır.

Calicivirus'un farklı kimyasal ürünler kullanılarak inaktivasyonu sağlanabilir. NoV, 7000 ppm/≥30 dk. konsantrasyonda formaldehit kullanılırsa inaktive olmaktadır. Serbest klor veya glutaraldehit'in ≥2500 ppm konsantrasyonda sırasıyla ≥30 sn ve ≥5 dk. boyunca işleme tabi tutulması, ≥5 dakika veya ≥15 dakika boyunca hidrojen peroksit buharı uygulamalarının yapılması gerekmektedir (Nims ve Plavsic, 2013). NoV partikülleri düşük pH'ta inaktivasyona karşı direnç göstermekte, oda sıcaklığında pH 2,7'de 3 saat süreyle tam inaktivasyonu sağlanmaktadır (Dolin ve ark., 1972). Etanol veya hipoklorit çözeltisinin kısa süreli temaslarının da (konsantrasyonlara bağlı olarak 1-10 dakika) Calicivirusları tam olarak inaktive etmediği bildirilmiştir (Doultree ve ark., 1999). Bu kimyasal maddelerle inaktivasyona karşı duyarlılıktaki farklılıklar, NoV'un yeterli inaktivasyonunu sağlamayabilir.

Caliciviruslar, 22-40 mJ/cm<sup>2</sup> akıcılıkta C aralığında (UV-C, 254 nm) ultraviyole radyasyon ile inaktivasyona duyarlıdır. Calicivirus inaktivasyonunu sağlamak için ~60 mJ/cm<sup>2</sup> akıcılıkta B aralığında (UV-B, 280-320 nm) UV radyasyonu gereklidir (Nims ve Plavsic, 2013).

Tarla arazisine biyogübre olarak normal gübre dağıtımında tarımsal faydalı yönetim uygulamaları ve güvenlik parametreleri uygulanmalıdır. Bitkisel üretime yönelik yapay yüzey altı drenajı, fekal kirlilik de dahil olmak üzere tarla sistemlerinden gelen tarımsal kirleticilerin yüzey suyu ortamına girebilmesi mümkündür (Wilkes ve ark., 2014). Çiftlik hayvanlarının kanalizasyon kirliliğinin su ortamının kirlenmesini etkileyebileceği göz önünde bulundurularak, hayvan atıklarında NoV ve diğer virusların kalıcılığını azaltmak ve su kaynakları da dahil olmak üzere çevrenin gübre kaynaklı fekal kirlenmesini azaltmak için çiftlik ünitelerindeki atık arıtımı da dahil olmak üzere tarımsal yönetim uygulamalarına geçilmesi tavsiye edilmektedir (Alfieri ve ark., 2017).

Rekreasyonel veya içme suyunu yutan duyarlı insan ve hayvan konakçılarda kanalizasyon kirliliği deşarjları da dahil olmak üzere NoV yayılımına dayalı çevre çalışmalarında enfeksiyon risklerini belirlemek önemlidir (Fernandez ve ark., 2012; Poma ve ark., 2012).

Günümüzde Avrupa Birliği (AB) yönetim makamları NoV ile mücadelede: a. NoV ve diğer gıda kaynaklı virusların karakterizasyonu için tüm genom dizilimi, b. Gıdalarda ortaya çıkan NoV seviyeleri hakkında daha fazla bilgi elde etmek için sörvey çalışmaları, c. Tüm gıda matrislerinde düşük seviyedeki NoV partiküllerinin tespiti için kullanılan RT-PCR testinde yeni modifikasyonların yapılması, d. NoV'un bağlanma özellikleri ve olası inaktivasyon yöntemleri, e. NoV'un istirdiyelerden uzaklaştırılmasında yüksek basınç, UV, ozon, ışınlama gibi alternatif etkin yöntemlerin kullanılması, f. Kabuklu deniz ürünleri ve taze ürünler (marul ve çilek) de dahil olmak üzere farklı gıda ürünlerinde bulaşıcı dozun belirlenmesi konularına odaklanmışlardır (Velebit ve ark., 2019).

## 2.8. HAV Etiyoloji

HAV, Hepatovirus genusunda ve *Picornaviridae* ailesinde yer almaktadır. Çapı 27-30 nm olan zarfsız ikozahedral bir kapside sahiptir ve kapsid yaklaşık 7,5 kb'lik pozitif anlamlı bir ssRNA molekülü içermektedir (Koopmans ve Duizer, 2004; Nainan ve ark., 2006). RNA genomu tek bir Open Reading Frame (ORF) ve farklı bölgeler içermektedir. HAV P1 bölgesini kodlayan viral yapısal proteinler VP1, VP2, VP3, VP4'tür. P2 ve P3 yapısal olmayan proteinleri; viral RNA helikaz, 3C proteaz (3Cpro) ve 3D polimeraz (3Dpol), bir RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) dahil kodlamaktadır. Bu proteinler konak hücre içinde HAV enfeksiyon döngüsünün replikasyonunda rol oynar (Nainan ve ark., 2006; Pinto ve ark., 2010). HAV'ın 6 genotipi bulunmaktadır. HAV genotipleri I ve III <math><7,5\text{'lik}</math> dizi değişkenliği ile alt genotiplere (A ve B) sınıflandırılmaktadır (Pinto ve ark., 2010; Robertson ve ark., 1992). Genotip I, II ve III insan enfeksiyonları ile ilişkilidir ve genotip IV, V ve VI simian kökenlidir. Genotip I ve III insanlardan izole edilen en yaygın HAV genotipleridir. Alt genotip IA dünya genelindeki hepatit A vakalarının çoğundan sorumlu görünmektedir ve alt genotip IB Güney Amerika (Brezilya ve Peru), Afrika, Avustralya, Avrupa (İsveç, Norveç, Finlandiya ve Danimarka) ve Japonya'da bulunmuştur. HAV genotip IIIA'nın Güneydoğu ve Orta Asya (Hindistan, Nepal, Sri Lanka ve Malezya), Amerika Birleşik Devletleri (USA) ve Avrupa'da (İsveç, Norveç, İngiltere ve Estonya) insan enfeksiyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Sadece birkaç HAV vakası IIIB genotipinde yer almaktadır (Costa-Mattioli ve ark., 2003; Stene-Johansen ve ark., 2005). HAV'ın tüm genotipleri tek bir serotipi paylaşır ve antijenik tek tip olup, bu da HAV aşılamasından sonra ömür boyu bağışıklığı mümkün kılmaktadır (Atreya, 2004; Jothikumar ve ark., 2005; Sanchez ve ark., 2007).

HAV 5°C'de 20°C veya 35°C'ye kıyasla daha uzun süre canlılığını devam ettirmektedir. Virus 35°C'de ve %95 bağıl nemde 4 saat sonra tespit edilemezken, 5°C'de ve %95 bağıl nemde virus partikülünün %50 oranında enfekte güce sahip olduğu belirlenmiştir (Mbithi ve ark., 1991). HAV asit ortamlarda stabildir ve 24°C'de 5 saat boyunca pH 1,0 değerinde maruz kaldıktan sonra bile enfektivite göstermektedir

(Scholz ve ark., 1989). HAV'ın 60°C'ye kadar olan sıcaklıklara dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (van Boekel ve ark., 2010). HAV ve HEV viruslarının fekal süspansiyonları 1 saat boyunca 45°C ile 70°C arasındaki sıcaklıklara ısıtılarak virusların kalıntı enfektivitesi bir hücre kültürü sistemi ile belirlenmiştir. HAV'ın sadece %50'sinin 60°C'de 1 saat inkübasyonla inaktive olduğu ve HAV'ın 66°C'de 1 saat inkübasyonla neredeyse tamamen inaktive olduğu belirlenmiştir (Emerson ve ark., 2005). Virus çok kararlıdır; kurutma, ısı, düşük pH ve çözücüler gibi kimyasal ve fiziksel etkenlere karşı yüksek direnç göstermekte ve deniz suyu ve deniz çökeltileri de dahil olmak üzere çevrede 3 aydan fazla canlı kalabilmektedir (Sobsey ve ark., 1988). HAV, 20 °C'de 15 dakika süreyle 300 mg/L perkloroasetik asit veya 1 g/L kloramin'de inaktive edilememiştir. Ancak HAV; formalin (25 °C'de 5 dakika süreyle %3 veya 1 dakika süreyle %8), iyot (5 dakika süreyle 3 mg/L) ve β-propiolaktone (4 °C'de 72 saat süreyle %0,03) duyarlıdır (Hollinger ve Emerson, 2007). Virus pH 1.0'da stabildir ve midyelerde pH 3.75'te asit marinasyonuna en az 4 hafta dayanmaktadır (Hewitt ve Greening, 2004; Hollinger ve Emerson, 2007). Taze meyve ve sebzelerde HAV'ın inaktivasyonu için uygulanan gamma ışınlaması etkili değildir ve inaktivasyon için yüksek dozda ultraviyole radyasyona ihtiyaç bulunmaktadır (Hollinger ve Emerson, 2007). Günümüzde bozulabilir gıdalar için izotermal bir koruma yöntemi olarak kullanılan hidrostatik basınç, 400 MPa'da 5 dakika uygulanması ile HAV inaktive edilmiştir (Kingsley, 2013). Oda sıcaklığında, 5-15 dakika süre ile 10 ppm'den düşük serbest klor konsantrasyonları HAV'ı inaktive etmektedir (Hollinger ve Emerson, 2007).

HAV benzersiz bir picornavirustur çünkü düzenlenmiş bir ribozom trafik hızına izin vermek için konak hücre protein sentezini inhibe etmemektedir, böylece uygun protein katlanmasını sağlamaktadır (Aragones ve ark., 2010). Kapsid katlanması, fekal-oral yolla bulaşan bir virusun uzun süreli çevresel stabilitesine izin vermek için kritik öneme sahiptir (Velebit ve ark., 2019).

## **2.9. HAV Epidemiyoloji**

Küresel olarak, yılda tahmini 1,4 milyon HAV vakası ve 200 milyon asemptomatik taşıyıcı bulunmaktadır (World Health Organization, 2014). İyi sağlık altyapılarına sahip gelişmiş ülkelerde enfeksiyon oranı düşüktür ve bu ülkelerin çoğu endemik bölgelere seyahat eden çocuklar ve yetişkinler için bir aşılama programı

oluşturmuştur (Advisory Committee on Immunization Practices, 2016). HAV kişiden kişiye veya kontamine su ve gıdalar, özellikle de virusu etkisiz hale getirmek için yeterince ısıtılma işlemi görmemiş meyve veya hazır gıdalar yoluyla bulaşmaktadır. HAV endemik bölgelerden düzenli olarak ithal edilen ürünleri tüketen düşük hastalık insidansına ve aşılanmamış bireylerin yoğun olduğu endemik olmayan ülkelerde insanlar hastalığa karşı daha duyarlıdır. Bu ürünlerin bazılarının raf ömrü uzun olduğundan, özellikle de dondurulmuş veya muhafaza edilmişlerse, uzun süreli HAV salgınları için potansiyel kaynak oluşturmaktadırlar. Bir gıda üretim tesisinde çalışan personelde HAV enfeksiyonu tespit edildiğinde, maruz kalan kişi bilgilendirilmekte ve tedavi önerilmektedir (Advisory Committee on Immunization Practices, 2016). Taze ürünler arasında çapraz kontaminasyon olasılığını azaltmak için klor, peroksiasetik asit ve hidrojen peroksit gibi dezenfektanların eklenmesi marjinal düzeyde virusun azaltılmasında yararlı olmaktadır.

Uygun sanitasyon ve iyi hijyenik koşullar HAV'ın bulaşma oranını büyük ölçüde azalttığından, yaygınlığı NoV'ların yaygınlığından önemli ölçüde daha düşüktür (Jacobsen ve Wiersma, 2010). Yüksek endemik bölgelerde HAV, vakaların çoğunda asemptomatik seyreden ve uzun, hatta muhtemelen ömür boyu süren koruyucu bir bağışıklık tepkisini tetikleyen çocukluk çağı enfeksiyonlarından biridir (Hollinger ve Emerson, 2007). HAV konakçı dışında oldukça stabildir ve bu nedenle kontamine ortamlarda, yiyeceklerde ve suda oldukça uzun süre kalabilir. Şu anda gıda kaynaklı HAV insidans riski, nüfusun bağışıklığının nispeten sınırlı olduğu bölgelere gıda yoluyla giriş yapmaktadır. Üretim aşamasında çift kabuklu filtre beslemeli istiridye, istiridye, midye gibi gıda ürünleri veya suyla sulanan kontamine olabilecek marul, yeşil soğan ve ahududu ve çilek gibi yumuşak meyve ürünleri kontaminasyona duyarlıdır. Bildirilen HAV vakalarının yaklaşık %40'unda enfeksiyon kaynağı tespit edilememektedir (Fischer Walker ve ark., 2012). Kabuklu deniz ürünleri kaynaklı ilk belgelenmiş "bulaşıcı hepatit" salgını 1955 yılında İsveç'te meydana gelmiş ve 629 vaka çiğ istiridye tüketimi ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, HAV enfeksiyonunun en önemli salgını 1988 yılında Çin'in Şangay kentinde meydana gelmiş ve yaklaşık 300.000 vaka kanalizasyonla kirlenmiş bir bölgeden toplanan istiridyelerin tüketilmesinden kaynaklanmıştır. Kabuklu deniz ürünleri ile ilgili mevcut mikrobiyolojik kalite kontrol kriterleri E. coli kontaminasyonu ile ilgili

kantitatif testlere dayanmaktadır ve bu testlerin genellikle virusların varlığını veya yokluğunu tahmin etmede başarısız olmasıdır. Suda kurutulmuş kabuklu deniz ürünleri NoV, HAV, gastroenterit ve diğer viral hastalık salgınları ile ilişkilendirilmiştir (Ueki ve ark., 2007).

HAV ile enfekte midye, istiridye, yeşil soğan, yarı kurutulmuş domates, nar taneleri ve dondurulmuş meyveler üzerine birçok vaka bildirimini yapılmıştır (Wheeler ve ark., 2005; Pinto ve ark., 2009; Gallot ve ark., 2011; Psychology of Medicine, 2015; Collier ve ark., 2014).

## **2.10. HAV Semptomlar ve Patogenez**

İnsanlarda semptomlar başlamadan önce virus inkübasyon süresi 10-14 gün arasında değişkenlik göstermektedir (Koopmans ve Duizer, 2004). İnsanlarda doğal görülen enfeksiyon büyük çocuklar ve ergin bireylerde ateş, sarılık, açık renk dışkı, koyu renkli idrar, karın ağrısı, sıklıkla diyare semptomları görülmektedir (Nainan ve ark., 2006). Ayrıca hastalarda yüksek serum bilirubin ve aminotransferaz seviyeleri ile tanımlanmaktadır (Cuthbert, 2001). Hastalıkta 1-2 haftada oluşan viremi ile sarılık tablosu şekillenmektedir. Genel olarak enfeksiyonun 4.-7. haftalarında sarılık döneminde etkenin dışkı ile saçılımı söz konusudur (Greening ve Cannon, 2016). Klinik hastalık genellikle 2 aydan uzun sürmez ve vakaların %99'undan fazlası tamamen iyileşmektedir. Bununla birlikte hastaların sırasıyla %3-20'sinde ve %0,015-0,15'inde uzun süreli veya tekrarlayan semptomlar ve akut karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilmektedir (Lemon ve ark., 2018). HAV için beş farklı enfeksiyon türü i) asemptomatik (çoğunlukla çocuklarda); ii) semptomatik; iii) tekrarlayan; iv) kolestatik hepatit ve fulminan hepatit (esas olarak altta yatan kronik karaciğer hastalığı olan hastalar arasında) olarak tanımlanmıştır. Bazı vakalar; fulminan hepatit, hepatik ensefalopati ve ölümlü sonuçlanmaktadır (Maki ve ark., 2020). Enfeksiyon altı yaş altı çocuklarda anikterik ve asemptomatik olarak görülmektedir (Hadler ve ark., 1980). Enfeksiyon akut seyirlidir (Jacobsen ve Koopman, 2004). HAV enfeksiyonu çocuklar arasında asemptomatik olarak seyrettiği için salgınlar nadir olarak görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde yaşam standartları iyi olduğu için enfeksiyona daha az rastlanılmaktadır. Çocukluk döneminde çok az birey enfekte olmasına rağmen ergin

bireyler HAV enfeksiyonuna daha duyarlıdır. Bu yüzden ergin bireyler arasında hastalığa yakalanma ve salgın hastalıklar şekillenebilmektedir (Koopmans ve Duizer, 2004). Bunun en tipik örneği 1988 yılında Çin'in Şanghay kentinde HAV ile enfekte istiridyelerin tüketimine bağlı 250.000 ergin bireyde hastalık semptomlarının görülmüş olmasıdır (Halliday ve ark., 1991). Haftalar önce tüketilen gıdalarla hastalık arasında ilişki kurmanın zorluğu ve HAV'ın inkübasyon süresinin uzun olması nedeniyle HAV kaynaklı sporadik veya küçük gıda kaynaklı vakaların tespitinde zorluklar yaşanabilmektedir (Koopmans ve Duizer, 2004).

HAV genellikle fekal-oral yolla enfekte kişiden direkt veya virus ile kontamine gıda ve su ile bulaşma sağlamaktadır. Enfeksiyon döngüsü çıplak partiküllerin yutulmasıyla başlar. Bu parçacıklar çevrede oldukça stabildir. (Cromeans ve ark., 1994; Cliver, 1997b; Fiore, 2004; Keeffe, 2004). HAV ince barsaklarda epitel hücreleri, primatlarda hepatositleri enfekte etmektedir (Balayan, 1992). HAV hepatositleri enfekte eder, ancak virusun bağırsaktan karaciğere nasıl ulaştığı hala anlaşılammıştır. HAV'ın bağırsak bariyerinden kana nasıl geçtiğini açıklamak için iki hipotez öne sürülmüştür: Epitelyal bağırsak hücrelerinde replikasyon veya "M" hücreleri yoluyla transsitoz durumlarıdır (Asher ve ark., 1995; Ouzilou ve ark., 2002; Lemon ve ark., 2018). Çıplak virionların polimerik immünoglobulin reseptörü aracılığıyla İmmunoglobulin A (IgA) aracılı bir ters transsitoz kullanabileceği öne sürülmüştür (Dotzauer ve ark., 2005). Bu bağırsak hücrelerinin bazolateral membranından çıkan virionların doğası bilinmemekle birlikte, bunların muhtemelen IgA ile kaplı çıplak partiküller olduğu bildirilmektedir. Buna göre, HAV'ın hepatositleri IgA moleküllerini bağlayarak, asialoglikoprotein reseptörü aracılığıyla enfekte edebileceği gösterilmiştir (Dotzauer ve ark., 2000). Ayrıca, IgA'lardan yoksun çıplak partiküller, integrin  $\beta 1$  tarafından kolaylaştırılan bir süreçte klatrin ve dynamin bağımlı endositoz yoluyla hepatosite girmektedir (Rivera-Serrano ve ark., 2019). Hepatositlerden çıkış çoğunlukla yarı zarflı virionlar şeklinde (Feng ve ark., 2014) ve hem apikal hem de bazolateral membranlar yoluyla gerçekleşmektedir (Hirai-Yuki ve ark., 2016). HAV antiviral tepkilerden kaçma yeteneğine sahiptir. Vücudun yetersiz bağışıklığı hepatoselüler hasarlara yol açmaktadır ve ayrıca kandaki temizleme mekanizmalarından da virus geçiş yapabilmektedir (Gagneux ve Varki, 1999; Lanford ve ark., 2011).

## 2.11. HAV Gıda ve Su Kaynaklı Bulaşma

Günümüzde kanalizasyon arıtma ve hijyen uygulamaları geliştikçe birçok ülkede HAV enfeksiyonu insidansı azalmıştır. Ancak popülasyonlarda bağışıklığın genel olarak azalması karşı duyarlılıkta artış meydana getirmiştir. Dünyada HAV'ın endemik olduğu ve genel hijyen standartlarının düşük olduğu bölgelerinden ithal edilen taze gıdalardan HAV enfeksiyonuna yakalanma riski artmaktadır. HAV gıda kaynaklı ciddi bir enfeksiyondur ve bu nedenle gelişmiş ülkelerin çoğunda bildirim zorunlu bir hastalıktır (Greenig ve Canon, 2016). HAV kaynaklı gıda enfeksiyonlarının globalleşme ve uluslararası gıda ticareti sonucu gerçekleştiği belirtilmektedir (Hu ve ark., 2020). Bunun sonucunda HAV yeniden görülen hastalıklar arasında halk sağlığı sorunu olarak yer almaktadır (Sprenger, 2014). USA'da HAV, hepatitin en yaygın nedeni olarak bildirilmekte ve laboratuvarca doğrulanmış vakalarda ölüm oranı %2,4 olarak tahmin edilmektedir (Scallan ve ark., 2011). Hastalıkların çoğunluğu (%41) seyahatle ilişkilidir. Ancak USA'da her yıl yaklaşık 1500 (%7) vaka yurt içinde edinilen gıda kaynaklı hastalıklardan kaynaklanmaktadır (Scallan ve ark., 2011).

HAV, gıda kaynaklı birçok hastalık salgınıyla ilişkilendirilmiştir; kontaminasyon genellikle uygulama öncesi veya gıda işleme sırasında meydana gelmektedir. HAV ile kontamine olmuş kabuklu deniz hayvanlarının tüketiminden kaynaklanan bir dizi belgelenmiş hastalık salgını vardır; bunların en büyüğü 1988 yılında Çin'de meydana gelmiş ve yaklaşık 300.000 kişi enfekte olmuştur. Yetiştirme alanında toplanan az pişmiş istiridyelerin kanalizasyon suyu ile temizlenmesi sonrası hastalık şekillenmiştir (Halliday ve ark., 1991). Kabukla ilişkili diğer salgınlar Avustralya, Brezilya ve İspanya'da istiridyeler (Conaty ve ark., 2000; Bosch ve ark., 2001; Coelho ve ark., 2003), İtalya'da midyelerde (Crocchi ve ark., 2000) oluşmuştur. Bu salgınların çoğunda kirliliğin kaynağı genellikle kanalizasyon suları olmuştur. Kabukların HAV ile kontaminasyonu hala İtalya, İspanya ve diğer Avrupa ülkelerinde yaygın olarak devam etmektedir. HAV'ın çilek (Niu ve ark., 1992), ahududu (Ramsay ve Upton, 1989; Reid ve Robinson, 1987), yaban mersini (Calder ve ark., 2003),

dondurulmuş nar taneleri (Anonim, 2013), marul (Pebody ve ark., 1998), yarı kurutulmuş domates (Donnan ve ark., 2012; Pettrignani ve ark., 2010) ve yeşil soğan (Center for Disease Control and Prevention, 2003) gibi ürünlere de bulaştığı ve Finlandiya, Hollanda, USA, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi hastalığa karşı bağışıklığının düşük olduğu veya hiç olmadığı ülkelerde hastalığın salgınlara neden olduğu bildirilmiştir (Pebody ve ark., 1998; Calder ve ark., 2003; Donnan ve ark., 2012). Bu salgınlarda kontaminasyon kaynağının ya enfekte gıda sektöründe çalışan işçilerin ya da kontamine sulama sularının olduğu ifade edilmiştir (Greening ve Canon, 2016).

HAV enfeksiyonunun diğer ana kaynağı gıda çalışanları ve gıda işlenmesinde kullanılan aletlerdir. HAV, insanlarda semptomlar ortaya çıkmadan önce yayıldığı için (dışkı gramında  $>10^6$  enfeksiyöz virüs partikülü atılabilir), virus ile enfekte gıda çalışanları ve gıda işlenmesinde kullanılan aletler farkında olmadan kontaminasyon kaynağı haline gelebilmektedir. Hijyen uygulamalarının zayıf olduğu bölgelerde bu durum insan sağlığı açısından çok yüksek bir risk oluşturabilir. Gıda kaynaklı HAV enfeksiyon salgınları, gelişmekte olan ülkelerde yerel nüfusta yüksek düzeyde bağışıklık bulunduğu için nadir olarak görülmektedir. Ancak bu bölgelere gelen turistler aşılamadıkları takdirde hastalığa yakalanmaları oldukça yüksektir (Greening ve Canon, 2016).

## **2.12. HAV Teşhis**

HAV, Afrika yeşil maymun böbrek hücreleri (BSC-1), fetal rhesus maymun böbrek hücreleri (FRhK-4 ve FRhK-6) ve insan fibroblastları (HF) dahil olmak üzere birkaç farklı primat hücre hattında üretilebilir. Ancak vahşi tip suşların üretilmesi zor ve genellikle hücre kültürlerinde Sitopatojenik Effekt (CPE) meydana getirmemektedir. Enfekte hücrelerde CPE oluşmadığı için HAV antijeninin tespiti için genellikle immüno Floresan testi kullanılmaktadır. Virus genellikle yavaş üremekte ve bu üreme diğer picornaviruslarından oldukça düşük görülmektedir. Bu yüzden klinik, gıda veya çevresel kaynaklardaki örneklerden virusu hücre kültürüne dayalı izole ve tanımlama yapmak oldukça zordur (Greening ve Canon, 2016).

Normal koşullar altında HAV'ın hücre kültürü ortamında üretilmesi için 3 hafta gerekmektedir. HM 175 gibi laboratuvara uyarlanmış HAV suşları CPE üretebilmektedir. Bu suşlar in vitro şartlarda daha hızla ürerler ve plak benzeri CPE meydana getirmektedirler. Moleküler teknikler, HAV'ın tespiti için en çok tercih edilen yöntemlerdir. Ayrıca HAV antijenleri korunmuştur ve virus yüzeyindeki VP3 ve VP1 proteinlerinin amino asitlerinden oluşan tek bir antijenik bölgeye karşı antikor üretmektedirler. Bu temelde üretilen ELISA kitleri de yaygın olarak kullanılmaktadır (Greening ve Canon, 2016).

HAV normalde serumda virusa özgü antikorların tespit edilmesiyle teşhis edilir. Antikorlar enfeksiyonun erken aşamalarında mevcuttur ve HAV'a özgü immünoglobulin M (IgM) semptomların başlamasından 45-60 gün sonra tespit edilebilir. HAV'a özgü immünoglobulin G (IgG) uzun yıllar boyunca tespit edilebilir ve enfeksiyondan iyileşme yaşam boyu bağışıklık ile ilişkilidir. HAV enfeksiyonu RT-PCR kullanılarak genom tespiti ile teşhis edilebilir (Qiu ve ark., 2013). Viruslar, akut hastalıktan sonra benzer bir süre boyunca kan ve dışkıda tespit edilebilir.

RT-PCR, gıda zincirinde bu virusları tespit etmek için kullanılan standart yöntem olsa da HAV için etkili kültür yöntemleri de mevcuttur (Millard ve ark., 1987). Bunlar, farklı gıda matrislerinde Real-Time PCR ile virus tespiti ve enfektivite arasındaki ilişkiyi incelemek için kullanılmaktadır. Çok çeşitli gıda matrislerine göre özel işlemler gerekli olsa da gıdalarda virus tespiti genellikle gıda matrisinden virus ekstraksiyonu, viral genomik materyal saflaştırma aşaması ve moleküler tespit, genellikle Real Time RT-PCR teknikleriyle gerçekleştirilen RNA tespiti aşamalarını içermektedir (Stals ve ark., 2012). HAV'ın ısıyla inaktivasyonu üzerine yapılan ilk çalışmalar, 90°C'de 90 saniyelik standart ısıl işlem protokolünü oluşturmak için kullanılmıştır. Bunun hem HAV hem de NoV için uzun yıllar boyunca etkili olduğu kanıtlanmıştır (Appleton, 2000).

### 2.13. HAV Korunma ve Kontrol

HAV'a karşı insanların aşılama ile korunması mümkündür. Dünya'da, 1995 yılından itibaren HAV aşısı kullanılmaya başlanmıştır. Birçok ülke HAV aşısını ulusal bağışıklama programlarına dahil ederek hastalık morbidite oranlarında ve viral dolaşımında azalmaya yol açmıştır. Salgın durumunda da HAV yayılımını azaltmak için aşılama kampanyaları yapılması tavsiye edilmiştir (Sattar ve ark., 2000). Ülkemizde 2012 yılından itibaren, bebeklik döneminde 18. ve 24. aylarda olmak üzere iki doz olarak uygulanmaktadır. Aşı koruyuculuğunun ortalama 20 yıl olduğu bir hatırlatma dozu da yapılması gerektiği belirtilmektedir (Afyon ve ark., 2018).

HAV enfeksiyonu; gıda ve su kaynaklı viral kontaminasyonlar, güvenli ham madde, üretim sırasında hijyen prosedürlerine uyulması, güvenli su kullanımı, işleme öncesi, sırası ve sonrasında çapraz kontaminasyonların önlenmesi, çevre hijyeni, personel eğitimi, İyi Üretim Uygulamaları (GMP), İyi Hijyen Uygulamaları (GHP) ve Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi (HACCP) prosedürlerine uyulması ile etkin şekilde önlenmektedir (Coşkun ve ark., 2021). Gıdaların işlenmesi sırasında uygulanan soğutma, dondurma, asidifikasyon, su aktivitesinin düşürülmesi, modifiye atmosfer paketlenme, pastörizasyon, yüksek hidrostatik basınç, gıda ışınlama gibi birçok teknolojik uygulamanın, gıda kaynaklı virusların eliminasyonunda yetersiz kalabileceği de bildirilmiştir (Keyvan ve ark., 2018).

HAV eliminasyonuna yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır. HAV üzerinde aktif klor (15 ppm) dezenfektanların düşük etkili (Fraisse ve ark., 2011), Ultraviyole-C (UV-C) uygulamalarının tek başına yeterli bir yöntem olmadığı (Butot ve ark., 2018), geleneksel pişirme yönteminin HAV üzerinde inaktive edici etkisi olduğu (Pascoli ve ark., 2016) ve yüksek hidrostatik basınç uygulamalarının HAV miktarında azalmalar meydana getirdiği (Shukla ve ark., 2018) ortaya konmuştur. Bunların yanı sıra doğal kaynaklardan elde edilen bazı antiviral etki potansiyeli bulunan bileşik ve ekstraktların ya da gıdanın kendi içerisinde doğal olarak bulunabilen antimikrobiyal etkili maddelerin de HAV'a etkili olduğu (Seo ve ark., 2017) veya HAV miktarında düşüş sağladığı (Joshi ve ark., 2015) yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur.

Gıda işletmelerinde çalışanlar, dünya çapında rapor edilen birçok gıda kaynaklı virus salgınının ana kaynağı olmuştur. Enfekte olmuş tek bir gıda işletmesi işçisi, gıda hazırlama veya sunumu sırasında onlarca veya yüzlerce kişiye virus bulaştırabilir. Bu nedenle, bu aşamada yeterli sanitasyon ve kişisel hijyen, HAV'ın bulaşmasını kontrol etmenin önemli bir yoludur (Tricco ve ark., 2006). Viral kontaminasyon ayrıca HAV veya HEV ile enfekte işçiler tarafından gıdanın yetiştirilmesi, hasat edilmesi, işlenmesi, dağıtımı ve depolanması sırasında veya sulama, taşıma ve yıkama sırasında viral kontamine su ile temas yoluyla da meydana gelebilir (Fiore, 2004; Koopmans ve Duizer, 2004). Yeterli miktarda güvenli içme suyu temini, toplum içinde kanalizasyonun uygun şekilde bertaraf edilmesi ve uygun atık su arıtımı gibi sağlık ve yaşam standartlarının iyileştirilmesine yönelik tedbirler, düzenli el yıkama gibi kişisel hijyen uygulamaları viral yayılmanın azaltılmasına katkıda bulunacaktır (Franco ve ark., 2012).

HAV ve HEV'in kurumuş dışkı, insan eli, gıda yüzeyleri, iç mekanlardaki çevresel yüzeyler, tatlı veya tuzlu su, toprak ve kökler gibi çok çeşitli canlı ve cansız yüzeylerde uzun süre hayatta kaldıkları ve bulaşıcı oldukları iyi bilinmektedir (Chancellor ve ark., 2006; Pettrignani ve ark., 2014). Hepatit viruslarının zarfsız viral yapıları olumsuz çevre koşullarına oldukça direnç göstermektedirler. Farklı çevresel koşullara ve fiziksel etkenlere karşı yüksek direnç, bu virusların gıdalar yoluyla kolaylıkla yayılmasını sağlayacaktır. Hijyenik bir ortam sağlayan sanitasyon sistemleri, iyi yemek pişirme (yüksek sıcaklıklarda ve yeterli sürelerde) ile birlikte gıdalardaki viral kontaminasyonu azaltacak ve hastalık bulaşmasını önleyecektir (Bae ve ark., 2014).

Güvenli olmayan gıda ürünlerini engellemek için gıda güvenliği standartlarının ve kontrol yönetmeliklerinin oluşturulması ve gıda endüstrisi tarafından etkili yıkama ve sanitasyon süreçlerinin geliştirilmesi, HAV ve HEV kaynaklı hastalıkların önlenmesine yardımcı olacaktır (Di Cola ve ark., 2021).

## 2.14. Süt Somatik Hücreleri (SC)

Süt somatik hücreleri sütte düşük seviyelerde bulunan vücuttan türetilen hücreler anlamına gelmektedir. Normal sütteki bu hücrelerin çoğunluğu meme salgı dokusundaki hücreler (epitelyal hücreler) olup, bazıları ise lökositlerdir (beyaz kan hücreleri). Süt somatik hücreleri ikinci savunma hattını temsil etmektedir. İlki meme başı apeksinin ve meme bezindeki kanalın anatomik ve kimyasal bariyerleridir. Sütteki epitel hücreleri, alveollerin ve kanalların meme epitelinin dökülmesinden kaynaklanır. Sütte bulunan bu tür hücrelerin varlığı normal bir fizyolojik olaydır ve normal epitelin yenilenmesi için gereklidir. Sütte bulunan dökülmüş epitel hücrelerinin çoğunluğu canlıdır ve tamamen farklılaşmış alveolar hücrelerin özelliklerini sergilemektedir (Boutinaud ve Jammes, 2002). İkinci olarak sütle gelen beyaz kan hücrelerinin tamamı kanla taşınan SCC olup, savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapmaktadırlar. Başlıca işlevleri hastalıklarla savaşmak ve hasarlı dokuyu onarmaya yardımcı olmaktır. Herhangi bir meme içi enfeksiyon (mastitis), sütte bu hücrelerin artmasına neden olur ve üretilen sütün hijyeninin kötü olduğunu gösterir. SCC, sütün ml'si başına hücre sayısı olarak ölçülmektedir. SCC miktarının 1 lakh (100.000/10<sup>5</sup>) civarında olması, bir hayvanın enfeksiyon ajanlarından etkilenmediğini göstermektedir (Hillerton, 1999). İnek ve mandaların 1 ml sütünde 200.000'den fazla hücre olması memenin enfekte olma olasılığının yüksek olduğunu göstergesidir (Vishnoi ve ark., 2007; Dang ve ark., 2008). Hücre sayısı arttıkça enfeksiyonun riski ve ciddiyeti artmaktadır.

Sütteki SC salınımını pek çok faktör etkilemektedir. Bunlar; süt verimliği (Mukherjee ve Dang, 2011), laktasyonun farklı aşamaları (Kennedy ve ark., 1982), süt paritesi (Saravanan ve ark., 2015), vücut kondisyon skoru (BCS) ve vücut ağırlığı (Berry ve ark., 2007), mevsimler (Alhussien ve Dang, 2017), sağım (Dang ve Anand, 2007), ırk (Geneurova ve ark., 1993), fizyoloji (Alhussien ve ark., 2016), enfeksiyona neden olan patojenler (Sharma ve ark., 2011), yüksek süt SCC'sinin süt verimi ve bileşimi (Mukherjee ve ark., 2017) çiftliklerde süt SCC'sinin salınımını etkileyen ve

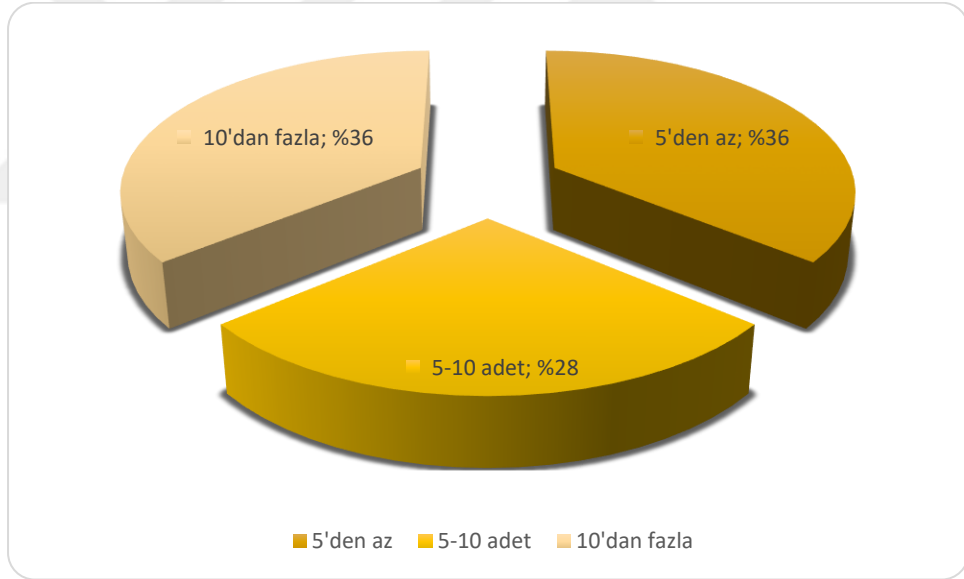
seviyelerinin azalmasına veya artışına neden olabilecek birçok faktör ve yönetim (Syridion ve ark., 2012, Vissio ve ark., 2018) uygulamalarıdır.

Süt hayvanlarının meme dokusunda yer alan patojenler sürünün çevresinde bulunan malzemeler, gübre ve toprak vb. çevresel bulaşma ile sağlanmaktadır. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus disgalactiae* meme bezinin ortamına etkili bir şekilde uyum sağlayabilen ve sağım sırasında inekten ineğe yayılabilen bulaşıcı patojenler olarak sınıflandırılmaktadırlar (Sharma ve ark., 2011). *Streptococcus uberis*, *Enterococcus spp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, Koagülaz negatif stafilokoklar ve koliformlar gibi patojenler çevresel patojenler olarak sınıflandırılmakta ve meme bezinin fırsatçı patojenleri olarak kabul edilmektedirler. Bu bakteriyel etkenler esas olarak kontamine ortamdan sağım sırasında ineğin meme bezine aktarılmaktadır. Meme enflamasyon yoğunluğu ve enfekte meme bezinden dökülen mastitis patojenlerinin sayısı ile ilişkilidir (Junior ve ark., 2012). Yüksek hacimli tanklarda *Staphylococcus aureus* ve *Arcanobacterium pyogenes* ile SCC arasında belirgin ölçüde ilişki kurulmuştur. Küçük aile işletmelerinde ve büyük ölçekli işletmelerden alınan toplu tank sütlerinde *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus disgalactiae*'nin varlığında önemli farklılıklar bulunduğu da rapor edilmiştir (Bi ve ark., 2016).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Süt Örnekleri ve İşletmeler

Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerinin süt güğümlerinden (40 kg) 2 adet 15 ml ve 50 ml santrifüj tüplerine süt örneği toplandı. Bu amaçla, 100 adet işletmeden örnekleme yapıldı. 24 ay ve üzeri yaşlardaki süt ineklerinin bulunduğu işletmeler tercih edildi. İşletmelerde bulunan inek sayısı Şekil 3.1'de gösterildi. Örneklemenin yapıldığı işletmelerde sağım ve hijyen koşulları da incelendi. Bu amaçla, örneklemenin yapıldığı işletmelerde anket çalışması yapıldı (Şekil 3.2; Tablo 3.1).



Şekil 3.1. İşletmelerde bulunan inek sayısı

**Tablo 3.1.** Örnekleme yapıldığı işletmelerde anket formu

---

**ÇİĞ SÜT SATIŞI YAPAN KÜÇÜK AİLE İŞLETMELERİNİN SÜT  
GÜĞÜMLERİNDE**

**NOROVİRUS VE HEPATİTİS A VİRUS VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI ANKETİ**

---

Norovirus ve Hepatitis A virusları hayvanlarda ve insanlarda önemli ve yaygın salgınlara yol açabilirler. Çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerinde bu virusların ekipmanlarda (güğümlerde) varlığını tespit amacıyla araştırma yapılmaktadır. Anket ve çalışma sonuçları sadece bilimsel amaçla kullanılacaktır. Kişisel bilgileriniz (İsim, adres vb.) istenmemektedir. Tüm soruları cevaplamanız ülke ve bölge hayvancılığımıza yeni bilgilerin eklenmesi açısından önemlidir. Vakit ayırdığınız ve katılımınız için teşekkür ederiz.

Anket Tarihi :

Anket No :

**1. Kaç adet sağmal ineğiniz var?**

1. 5 ten az
2. 5 ten fazla
3. 5-10 Arası
4. 10 dan fazla

**2. Hayvanlarınızın sağım alanının bakım ve temizliğini nasıl tarif edersiniz?**

1. Kötü
2. Orta
3. İyi

### **3.Sağımı kim yapıyor?**

1. Anne
2. Baba
3. Çocuklar
4. Bakıcı/Sağımcı

### **4.Sağımı nasıl yapıyorsunuz?**

1. El ile
2. Makine ile
3. Sağım Ünitesi ile

### **5.Alanı / ahır girişı var mı? Sağımı yapan kişiler dışında başka kişiler bu alanlara girebiliyor mu?**

1. Sadece sağımcı veya bakıcı giriyor
2. Dışarıdan herkes giriyor
3. Ailenin her bireyi giriyor.

### **6.Sağım alanında /ahırda haşere, kuş, kemirgen aktivitesi var mı?**

1. Haşere
2. Fare
3. Kuş

### **7.Sağım alanı /Ahır temizliği yer, duvar hangi sıklıkta yapılıyor?**

1. Günlük
2. 2 günde 1
3. Haftalık
4. Aylık

**8. Sağım makineleri temizlikleri hangi sıklıkta yapılıyor?**

1. Günlük
2. 2 günde 1
3. Haftalık
4. Aylık

**9. Sağım makineleri ve ggmleri temizlik ve dezenfeksiyonu yapılıyor mu?**

1. Her kullanım sonrası
2. Günlük
3. 2 günde bir
4. Haftalık

**10. Sağım alanında / ahırda temiz su ve lavabo var mı?**

1. Temiz su var, lavabo yok.
2. Temiz su yok, lavabo yok.
3. Temiz su var, lavabo var.

**11. Sağım alanında / ahırda sıcak su var mı? (en az 50 °C)**

1. Var
2. Yok

**12. Sağım alanında / ahırda Katı/Sıvı Sabun var mı?**

1. Var
2. Yok

**13. Sağım alanında / ahırda el dezenfektan var mı?**

1. Var
2. Yok

**14. Sağım alanında/ahırda iş önlüğü kullanıyor musunuz?**

1. Günlük elbiselerimi kullanıyorum
2. Her zaman
3. Zaman Zaman
4. Hiç Kullanmıyorum

**15. Sağım öncesi ve sonrasında ellerinizi yıkıyor musunuz?**

1. Her sağım öncesi ve sonrasında
2. Arada sırada
3. Yıkamıyorum

**16. Sağım esnasında yüzük, saat, künye vb. takı takılıyor mu?**

1. Evet
2. Hayır

**17. Sağılan sütü sağım alanında/ahırda bekletiyor musunuz?**

1. Bir saatten az
2. Bir saatten fazla
3. İki saat
4. İki saatten fazla

**18. Sütünüzün ne kadarını çiğ süt olarak satıyorsunuz?**

1. Hepsini ( %100 nü)
2. Dörtte üçünü (% 75 ini)
3. Yarısını ( % 50 sini )
4. Dörtte birini (% 25 ini)

**19. Çiğ süt hijyeni ile ilgili herhangi bir eğitim aldınız mı?**

1. Evet
2. Hayır

**20. Stnze herhangi bir laboratuvar analizi yaptırđınız mı?**

1. Evet, Yılda 1 yaptırım
2. Evet, ayda bir Yaptırım
3. Evet, 2 ve daha fazla bir sürede yaptırım
4. Hiç Yaptırmadım.

Cevaplarınız ve katılımınız için teşekkür ederiz.

---



**Şekil 3.2.** Çalışmanın yapıldığı bir işletmede anket çalışması

### **3.2. Süt Serum Örneklerinin Hazırlanması**

Süt güğümlerinden steril tüplere 15 ml kadar alınan süt örneklerinin üzerine 0.2 ml rennin ve 0.1 ml doymuş  $\text{CaCl}_2$  ilave edildikten sonra 37 °C’de 1 saat inkubasyona bırakıldı. Daha sonra 3000 devir’de 20 dk. santrifüje edilip bir spatül yardımıyla krema tabakası uzaklaştırıldı (Şekil 3.3). Pastör pipeti yardımıyla süt serumları alındı. Süt serum örnekleri steril pipet (yaklaşık 1 ml) yardımıyla steril tüpe

aktarılarak, üzerilerine 5 ml kadar RNAfter™ (GeneMark, GMbiolab Co., Ltd., Taichung, Taiwan) solüsyonu ilave edilerek, 5 dakika vortekslendi. Daha sonra bu karışım test uygulamasına kadar -30°C'lik derin dondurucuda saklandı. Steril tüplere alınan diğer 50 ml süt örnekleri (Şekil 3.4) aynı gün içerisinde somatik hücre analizinde direkt kullanıldı.



**Şekil 3.3.** RT-PCR testi için elde edilen süt serumu (15 ml)



**Şekil 3.4.** SCC analizi için süt örnekleme (50 ml)

### **3.3. Süt Serum Örneklerinin RNA Ekstraksiyonuna Hazırlanması**

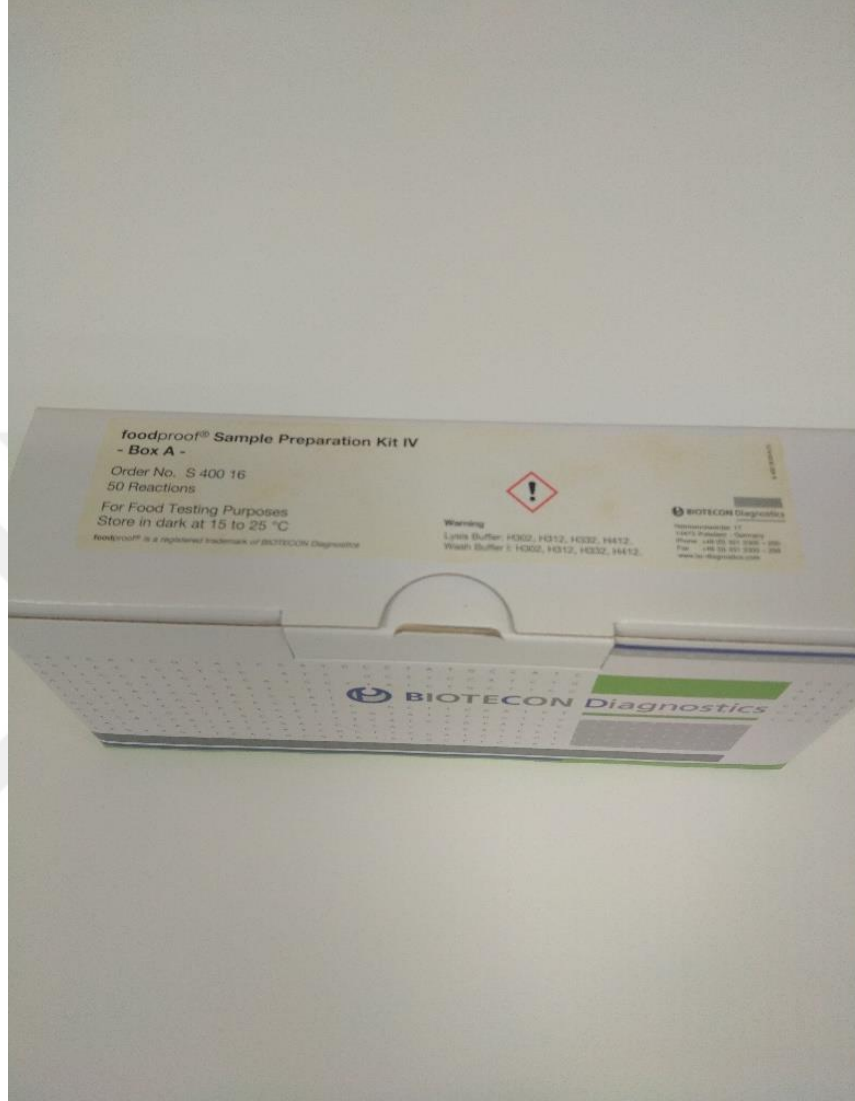
Uygun şartlarda (soğuk zincir) toplanan ve RNAafter™ solüsyonu içinde -30°C'de saklanan süt serum örnekleri oda sıcaklığında çözündürüldü. Çözünen karışımdan 1 ml kadar süt örneği steril pipet yardımıyla alındı. Daha önce hazırlanmış steril eppendorf tüplere aktarıldı. Bu tüplere 1 ml kadar Phosphate Buffer Solüsyonu (PBS) ilave edildi. Eppendorf tüpündeki bu yeni karışım 10 dakika vortekslendi. Daha sonra eppendorf tüpleri + 4 °C'de 2500 devir/dk. 25 dakika süreyle santrifüjasyon işlemine tabi tutuldu. Santrifüjasyon sonrası eppendorf tüplerindeki süpernatantlardan

0.25 ml alınarak, başka bir steril eppendorf tüpüne aktarıldı. Bu aşamadan sonra RNA ekstraksiyon protokolüne geçildi.

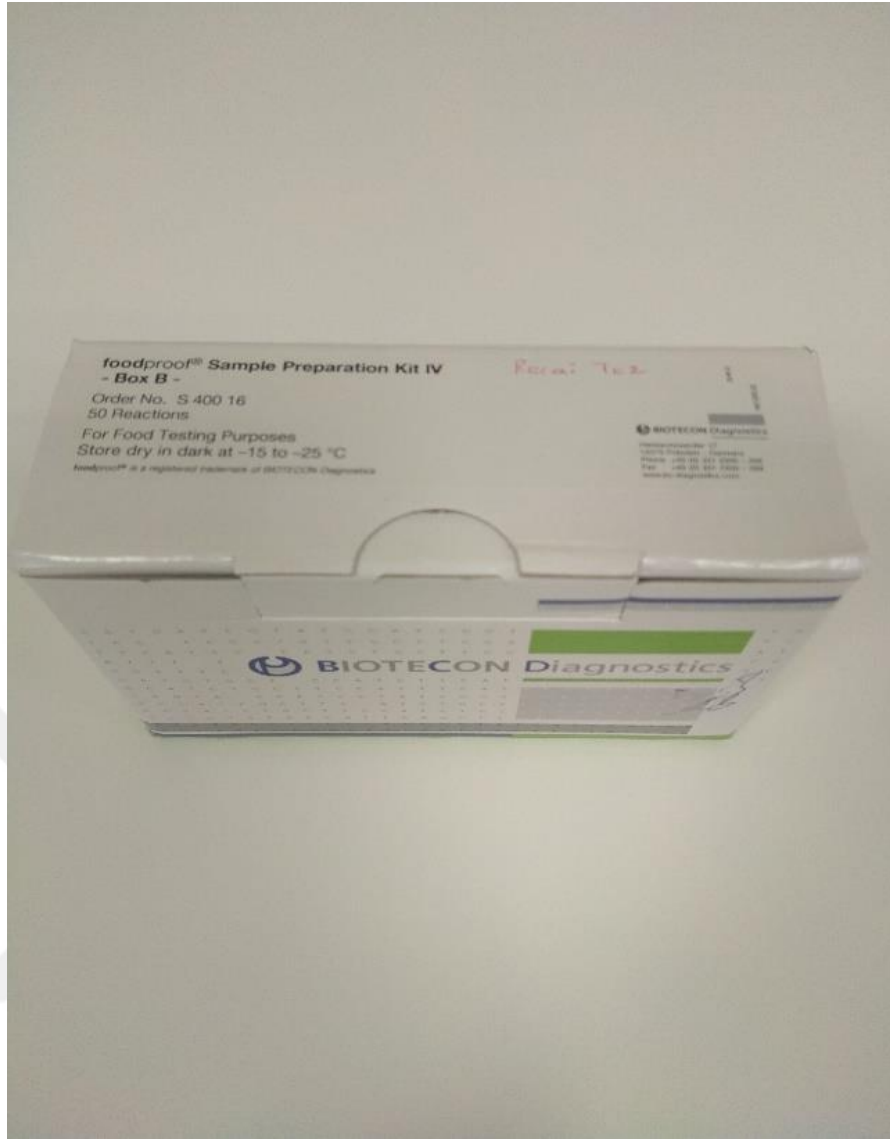
### **3.4. Süt Serum Örneklerinin RNA Ekstraksiyon Protokolü**

Süt serumu örneklerinde virus genomunun tespitini yapmak üzere RNA ekstraksiyonu protokolü uygulandı. Bu amaçla Foodproof Sample Preparation Kit IV (BIOTECON Diagnostic®, Potsdam, Germany) kiti kullanıldı (Şekil 3.5; Şekil 3.6; Şekil 3.7). Uygulama firmanın bildirdiği prosedüre (BIOTECON Diagnostic®, Potsdam, Germany) göre gerçekleştirildi. Buna göre; 13-15 ml reaksiyon tüpüne süt serumundan 500 µl, içerisinde taşıyıcı-tRNA bulunan 2 ml lysis buffer eklendi ve 15 saniye vortekslendi. Ardından 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 10 saniye 7.000 x g'de kısa santrifügasyon işlemi yapıldı. Aynı tüp içerisine 2 ml absolute etanol eklendi ve 15 saniye vortekslendi. Tekrardan 10 saniye 7.000 x g'de kısa santrifügasyon işlemi yapıldı. Filtreli toplama tüpünün üst haznesine pipet yardımıyla 700 µl işlem görmüş süt serumu aktarıldı. 1 dakika süreyle 7.000 x g'de santrifügasyon işlemi yapıldı. İstenen hacimde örnek için filtreli toplama tüpü değiştirildi ve 1 dakika süreyle 7.000 x g'de santrifügasyon işlemi yapıldı. İstenen hacimdeki süt serumu yeni bir filtreli toplama tüpüne konarak üzerine 500 µl Yıkama Solüsyonu I eklendi ve 1 dakika süreyle 7.000 x g'de santrifügasyon işlemi yapıldı. Tekrardan elde edilen süt serumu yeni bir filtreli toplama tüpüne konarak üzerine 500 µl Yıkama Solüsyonu II eklendi ve 3 dakika süreyle 20.000 x g'de santrifügasyon işlemi yapıldı. Buradan elde edilen süt serumu yeni bir filtreli toplama tüpüne konarak 1 dakika süreyle 20.000 x g'de santrifügasyon işlemi yapıldı. Temiz 1,5 ml reaksiyon tüpüne filtreli tüp yerleştirilerek üzerine 60 µl Elution Buffer eklendi ve 1 dakika oda sıcaklığında inkübe

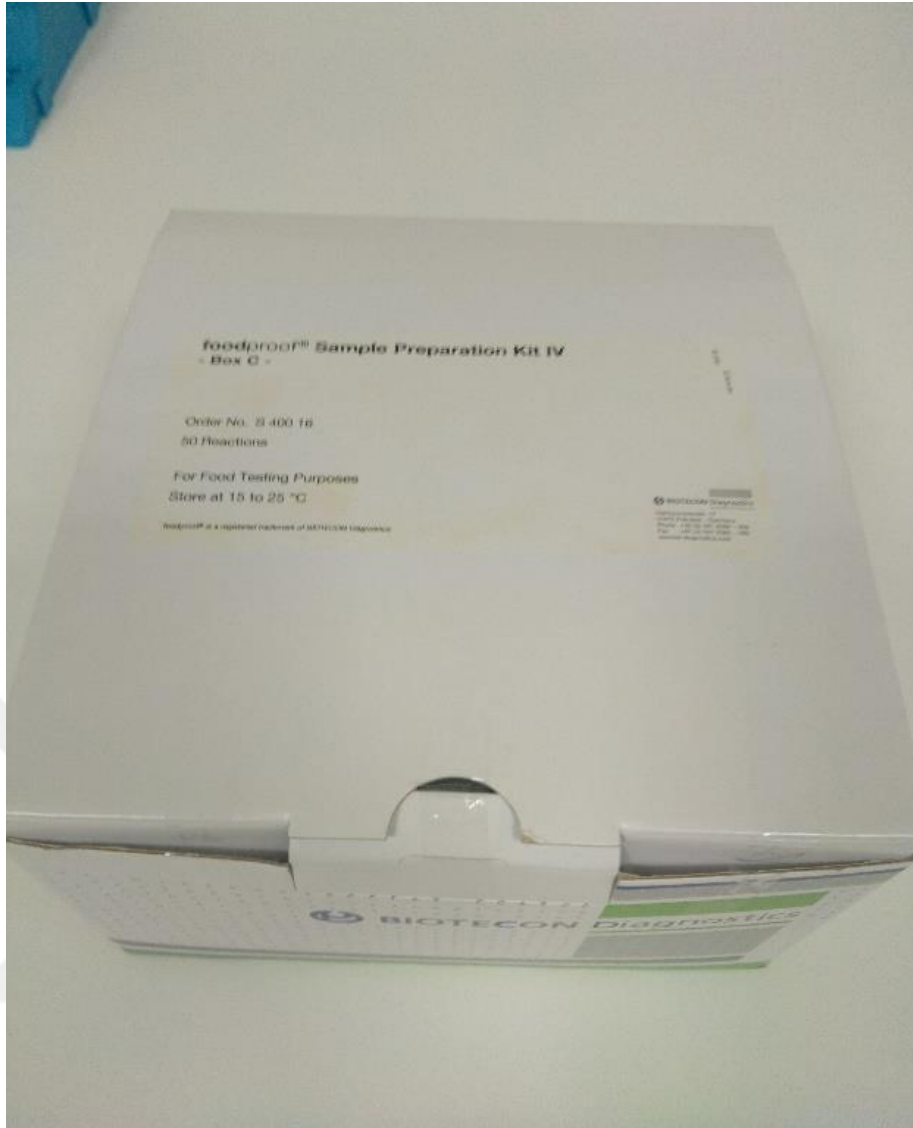
edildi. Bu süre sonunda 1 dakika süreyle 7.000 x g'de santrifügasyon işlemi yapıldı. Nihai olarak 1,5 ml reaksiyon tüpünde eluted RNA elde edilmiş oldu.



Şekil 3.5. Foodproof sample preparation kit IV (A kutusu)



Şekil 3.6. Foodproof sample preparation kit IV (B kutusu)



**Şekil 3.7.** Foodproof sample preparation kit IV (C kutusu)

### 3.5. Real-Time PCR ile NoV ve HAV Genomlarının Tespiti

Süt örneklerinde Real-Time PCR yöntemi ile NoV GI, GII ve HAV tespitinde foodproof® Norovirus GI, GII plus Hepatitis A virus Detection Kit-5'Nuclease- (BIOTECON Diagnostic®, Potsdam, Germany) kitleri kullanıldı (Şekil 3.8). Bu amaçla, öncelikle her bir örnek için bir reaksiyon tüpünde foodproof® Norovirus GI, GII plus Hepatitis A virus kit'i master miksten 14 µl ve enzim solüsyonu 1µl olacak şekilde toplamda 15 µl PCR karışımı hazırlandı. RNA ekstraksiyonu yapılan örneklerin her birinden farklı bir reaksiyon tüpüne 10 µl alındı ve üzerilerine daha önceden hazırlanmış 15 µl PCR karışımı eklendi. Bir örneğe ait reaksiyon tüpünde toplamda 25 µl karışım hazırlanmış oldu. Ayrıca, iki farklı reaksiyon tüpünün birine 10 µl Negatif kontrol ve diğer tüpe 10 µl Pozitif kontrol ilave edildi. Tüm reaksiyon tüplerindeki örnekler içlerindeki miktar kadar PCR pleytlerine aktarılarak, ağızları sıkıca şeffaf folya ile kapatılarak, uygun bir santrifüj aletinde kısa süreli (10-15 sn.) santrifüj edildiler. Real-Time PCR cihazında (BioRad, Cfx96™ Real-Time System C1000 Touch Thermal Cycler, USA) sıcaklık-zaman programı kit üreticisi firmanın belirttiği doğrultuda amplifikasyon aşamasına geçildi. Hazırlanan pleyt, cihaza yerleştirilerek program çalıştırıldı. Kit üreticisi firmanın belirttiği sıcaklık-zaman programı uygulandı: Reverse transkripsiyon için 1 siklus 45<sup>0</sup>C 30 dakika, pre-inkübasyon için 1 siklus 95<sup>0</sup>C 5 dakika ve amplifikasyon için birinci basamak olarak 95<sup>0</sup>C 15 saniye, ikinci basamak olarak 60<sup>0</sup>C 60 saniye ve üçüncü basamak olarak 72<sup>0</sup>C 10 saniye olmak üzere PCR için 50 siklus olarak gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonuçları BioRad, Cfx96™ Real-Time System cihazında fluoresan okunması sonrasında elde edilen veriler kit üreticisi firmanın belirttiği sonuç değerlendirme tablosuna göre değerlendirildi.



Şekil 3.8. Foodproof® Norovirus GI, GII plus Hepatitis A virus detection kiti

### 3.6. SCC Analizi

Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerinin süt güğümlerinden (40 kg) 50 ml'lik santrifüj tüplere alınan süt  rnekleri (Şekil 3.9) soğuk zincir altında Burdur Mehmet Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (B LTEKMER)'ne getirilerek aynı gün Süt Analizör cihazında (Şekil 3.10) (Bentley 150, Infrared Milk Analyser, USA) somatik hücre sayımı yapıldı. Bu analizde Türk Standartları Enstitüsünün (TSE) Süt Somatik Hücrelerin Sayımı, Elektronik Tanecik Sayıcı Metodu (2007; 2008) prosedürleri dikkate alındı.



Şekil 3.9. SCC analizine hazırlanan süt örnekleri (50 ml)



Şekil 3.10. Somatik hücre sayımı analizine kullanılan süt analizatörü

### 3.7. İstatistik Analizler

Çalışmadaki istatistik analizlerde IBM SPSS versiyon 15 yazılımı kullanıldı. Tanımlayıcı analizler ortalama ve standart sapma kullanılarak verildi. NoV GI, NoV GII ve HAV pozitif bulunan süt örneklerinin SCC ortalamaları için *Student t testi* ile karşılaştırıldı. Anket çalışmasında ikili grupların karşılaştırması *Khi-kare testi* ile yapıldı. *P* değeri 0,05'in altında olan durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. NoV (GI, GII) ve HAV varlığının araştırılması anket sonuçları

NoV GI, NoV GII, HAV pozitifliği ve hayvan sayısı arasında istatistiki olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerde yapılan anket sonuçlarında; Ankete katılanların %74'ü erkekti. Katılımcıların %67,3'ü "Hayvanlarınızın sağım alanının bakım ve temizliğini nasıl tarif edersiniz?" sorusunu "Orta" olarak cevapladı. Hayvanların sağımını sırasıyla en fazla %51 "Anne", %36,7 "Bakıcı/Sağımıcı" yapmaktaydı. Hayvanların sağımı "Makine" (%94) ve "Sağım ünitesi" (%6) ile yapıldığı belirlendi. Ahıra "Bakıcı/Sağımıcı" (%37) ve "Aile bireyleri (%63) haricinde giren kişiler" bulunmadığı görüldü. Çevre kontaminasyonuna neden olabilecek "Haşere, kemirgen ve kuşların" sağım alanı/ahırda bulunma durumu Tablo 4.1'de gösterildi. Süt güğümlerinde en sık karşılaşılan haşere sinek olarak belirlendi (Şekil 4.2).

**Tablo 4.1.** Sağım alanında /ahırda haşere, kuş, kemirgen varlığı

<b>Tür</b>	<b>Var Sayı (%)</b>	<b>Yok Sayı (%)</b>
<b>Haşere</b>	80 (%80)	20 (%20)
<b>Kuş</b>	26 (%26)	74 (%74)
<b>Kemirgen<sup>¥</sup></b>	24 (%24)	76 (76)

<sup>¥</sup>Kemirgen olarak fare sorulmuştur.



**Şekil 4.1.** Süt güğümlerinde sinek kontaminasyonu

“Sağım alanı/ahır yer, duvar temizliğinin ve sağım makinelerinin temizlik sıklığı” ile ilgili anket sorusunun sonuçları Tablo 4.2’de verildi.

**Tablo 4.2.** Sağım alanı/ahır yer, duvar temizliğinin ve sağım makinelerinin temizlik sıklığı

<b>Temizlik Sıklığı</b>	<b>Sağım alanı/ahır Sayı (%)</b>	<b>Sağım makineleri Sayı (%)</b>
<b>Günlük</b>	32 (%32)	72 (%72)
<b>İki günde bir</b>	2 (%2)	8 (%8)
<b>Haftalık</b>	18 (%18)	18 (%18)
<b>Aylık</b>	48 (%48)	2 (%2)

Güğümlerin temizliği her “Kullanım sonrası” (%48) ve “Günlük” (%36) yapılmaktaydı. Katılımcıların sadece %8’i sağım makineleri ve güğümlerde dezenfeksiyonu “Haftalık” yaptığını beyan etti. Güğümlerin temizliğinin soğuk su ile uygulanması bir kez sudan geğirme şeklinde yapıldığı gözlemlendi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.2.** Güğümlerin soğuk su ile temizliği

Ancak süt güğümü plastik kapaklarının temizliğine dikkat edilmediği tespit edildi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Süt güğüm kapaklarının hijyen durumu

Bütün ahırlarda temiz su bulunduğu, sadece dört işletmede lavabo bulunmadığı belirlendi. İşletmelerin %10'unda "Sıcak su" ve %4'ünde "Sabun" bulunmadığı, %22'sinde "El dezenfektanı" yer aldığı belirlendi. İşletmelerde "Sağım alanına" girişte her zaman önlük kullanımı %34 düzeyinde ve "Ahıra" ise %54 oranında günlük elbiseler ile girilmekteydi. İşletmelerde "Sağım öncesi ve sonrası el yıkama alışkanlığı" (%92) bulunurken, %4'ünün ise böyle bir alışkanlığı bulunmadığı tespit edildi. Sağım işlemi sırasında takı (yüzük, kolye, bilezik, saat vb.) kullanımı %53'dü. Katılımcılar "Sağılan sütlerin bir saatten az süre bekletildiği" ve tamamının "Çiğ süt" olarak satıldığını beyan ettiler. İşletmelerde "Çiğ süt hijyeni ile ilgili herhangi bir eğitim alanların oranı" %24'dü. İşletmelerin %10'unda "Sütlere herhangi bir laboratuvar analizi" yaptırdığı ve bu laboratuvar analizinin %8'inde "Yılda bir" analiz yaptırıldığı beyan edildi.

#### 4.2. NoV (GI, GII) ve HAV Real-Time PCR sonuçları

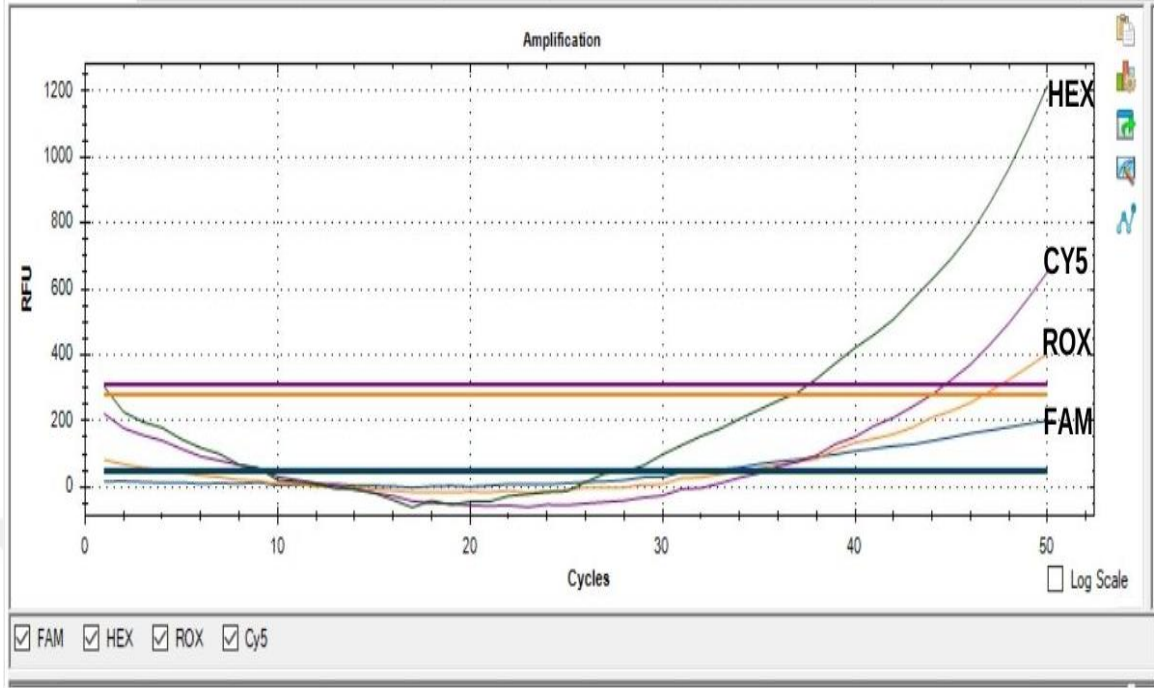
Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan 100 adet küçük aile işletmelerinden alınan süt örneklerinde NoV ve HAV varlığının tespiti için yapılan Real-Time PCR analizinde; %16 NoV GI, %12 NoV GII ve %8 HAV pozitiflik tespit edildi (Tablo 4.3; Şekil 4.5). Ayrıca ko-enfeksiyon olarak elde edilen sonuçlar %4 NoV GI + NoV GII ve %8 NoV GI + NoV GII + HAV olarak belirlendi (Şekil 4.6; Şekil 4.7). Sonuçlar test kitinin vermiş olduğu değerlendirme tablosuna göre değerlendirildi (Tablo 4.4).

**Tablo 4.3.** Süt örneklerinde NoV (GI, GII) ve HAV pozitiflik düzeyi

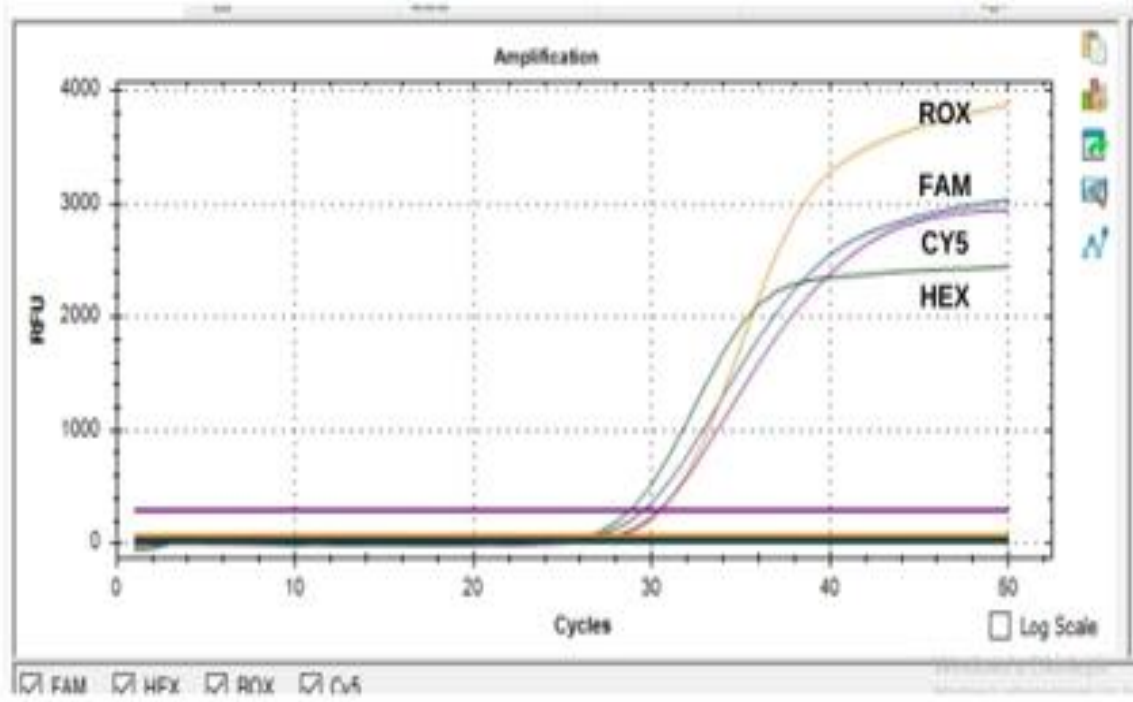
<b>Etken</b>	<b>Pozitif (%)</b>	<b>Negatif (%)</b>	<b>Toplam</b>
HAV	8 (%8)	92 (%92)	100 (%100)
NoV GI	16 (%16)	84 (%84)	100 (%100)
NoV GII	12 (%12)	88 (%88)	100 (%100)

**Tablo 4.4.** FAM, HEX ve ROX kanallarının fluoresans dalga boylarının durumuna göre sonuç değerlendirme tablosu

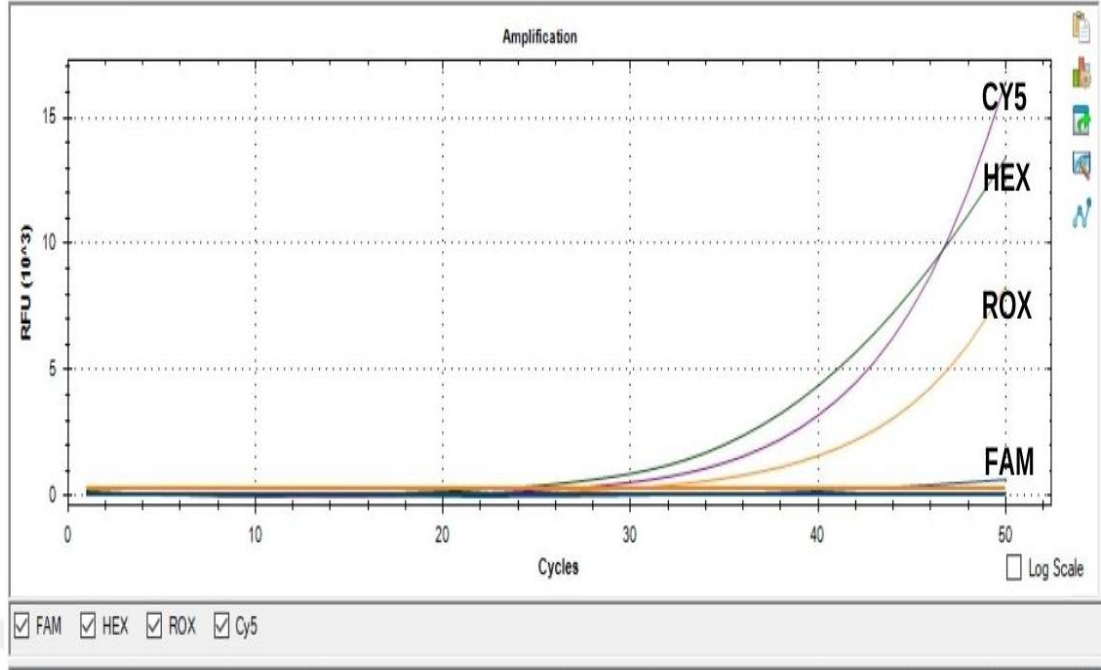
<b>FAM</b>	<b>HEX</b>	<b>ROX</b>	<b>Pozitif kontrol (Cy5)</b>	<b>Sonuçların yorumlanması</b>
+	+	+	+ / -	HAV, NoV GI, NoV GII pozitif
-	+	+	+ / -	NoV GI, NoV GII pozitif
+	-	+	+ / -	HAV, NoV GII pozitif
+	+	-	+ / -	HAV, NoV GI pozitif
-	+	-	+ / -	NoV GI pozitif
+	-	-	+ / -	HAV pozitif
-	-	+	+ / -	NoV GII pozitif
-	-	-	+	HAV, NoV GI, NoV GII negatif
-	-	-	-	Geçersiz



Şekil 4.4. Real-Time PCR sonuçları (NoV GI pozitif)



Şekil 4.5. Real-Time PCR sonuçları (HAV + NoV GI + NoV GII pozitif)



**Şekil 4.6.**Real-Time PCR sonuçları (NoV GI + NoV GII pozitif)

### 4.3. SCC Sonuçları

Viral etkenlerin tespitinin yapıldığı işletmelerdeki süt güğümlerinde SCC'leri; NoV GI, NoV GI+NoV GII ve NoV GI+NoV GII+HAV için Tablo 4.5'de detaylı olarak verildi. SCC'nin belirlenmesinde 27 Nisan 2017 tarihli Sayı: 30050 Resmî Gazetede Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliğ (Tebliğ No:2017/20) Ek:6 Süt Üreten Hayvancılık ve Gıda İşletmecilerinin Uyacağı Kriterler'de Çiğ İnek Sütü için 30 °C'deki koloni sayısı (her mililitrede)  $\leq 100.000$  ve SCC (her mililitrede)  $\leq 400.000$  olarak bildirilmiştir. Yapılan istatistik analizler bu kriter göz önünde bulundurularak yapıldı.

Çalışmada elde edilen sütlerdeki SCC ortalaması  $339.020 \pm 249.230,9$ 'du. Bu çalışmada elde edilen NoV GI ( $225.375 \pm 60.018,9$ ;  $p=0,005$ ), NoV GII ( $251.166,7 \pm 42.994,9$ ;  $p=0,01$ ) ve HAV ( $248.750 \pm 49.969,1$ ;  $p=0,04$ ) SCC ortalamaları, negatif örnek ortalamalarından istatistiksel olarak daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 4.5.** Pozitif bulunan süt örneklerinin SCC ortalamaları

<b>Örnek No</b>	<b>NoV GI</b>	<b>NoV GII</b>	<b>HAV</b>	<b>SCC Ortalaması ± Standart sapma</b>
10	+	-	-	146.000
14	+	+	+	194.000
22	+	+	+	281.000
30	+	+	-	227.000
43	+	-	-	150.000
44	+	+	+	220.000
46	+	+	+	300.000
47	+	+	-	285.000
56	+	-	-	161.000
61	+	+	+	173.000
68	+	+	+	202.000
75	+	+	-	225.000
86	+	-	-	172.000
87	+	+	+	218.000
91	+	+	+	289.000
94	+	+	-	297.000

## 5. TARTIŞMA

Süt'ün Dünya'da 6 milyar insan tarafından tüketildiği ve Dünya'da yıllık 730 milyon ton üretiminin yapıldığı bildirilmiştir (Visioli ve Strata, 2014). Süt ve süt ürünleri çocuklar ve gebe kadınlar için temel besin kaynağıdır. Süt protein ve kalsiyum içerir, iyi bir vitamin B12, thiamin ve riboflavin kaynağıdır (Dror ve Allen, 2011; Grace ve ark., 2017). Dünya genelinde süt üretiminin %85,4'ü sığırlardan, %11,1'i mandalardan, %2,1'i keçilerden, %1,4'ü koyunlardan ve %0,2'si develerden elde edilmektedir (Gerosa ve Skoet, 2012). Ayrıca yak, at ve eşeklerden %0,1'den az oranda da sağlanmaktadır. Diğer ruminantlarda, geyik ve lamadan da insan tüketimi için süt elde edilmektedir (Faye ve Konuspayeva, 2012).

AB mevzuatına göre çiğ sütün tanımı; çiftlik hayvanlarının memelerinden salgılanan, 40°C'den fazla ısı işlem uygulanmamış ve herhangi bir tedavi uygulaması yapılmamış ürün olarak ifade edilmektedir (European Commission, 2004).

Sütte mikrobiyal kontaminasyonun 3 ana kaynağı bulunmaktadır; Meme loblarının dışı, süt sağımçıların elleri ve saklama ekipmanları olarak sınıflandırılmaktadır (Murphy ve Boor, 2000). Sütte iç kaynaklı kontaminasyon genel sistemik veya lokal meme enfeksiyonları sonucu, meme bezi yangısı olan mastitis ile şekillenir. Mastitise neden olan 150'den fazla mikroorganizma (bakteri, mikoplazma, mantar ve alg) bulunmaktadır (Kuang ve ark., 2009). Salmonella, Campylobacter ve Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) gıda patojenleri mastitisli sütlerden nadiren izole edilmesine rağmen ince barsakta yaşamaktadır. Bu mikroorganizmalar süt tanklarına süt sağımı esnasında fekal kontaminasyonlarla bulaşmaktadır (Oliver ve ark., 2005). Ayrıca çiğ sütlere tüketim öncesi süt sağım makinelerinin kontaminasyonu, süt sağımı yapanların el hijyeni, sütün aktarımı ve stoklanmasındaki aksamalar da etkili olmaktadır (Murphy ve Boor, 2000).

Gıda kaynaklı viruslar insan barsak ve gaitalarında çoğalabilmektedir. Bu viruslar genellikle fekal-oral yolla ve kontamine gıda/su ile bulaşmaktadır. NoV, HEV, HAV ve RoV'lar en önemli gıda kaynaklı bulaşma sağlayan viruslardır (Bosch ve ark., 2018). Ayrıca kontamine atık sulardan toplanan deniz ürünlerinin tüketimi, çevre, su

ve diğerk kaynaklar ile de viral gıda kaynaklı enfeksiyonlar şekillenebilmektedir (European Food Safety Authority, 2006; Hall ve ark., 2014; Parron ve ark., 2019).

Çalışmada işletmelerde yapılan anketler sonucunda elde ettiğimiz verilerde en belirgin çıktılar; sağım alanlarının bakım ve temizliğinin “orta” düzeyde olduğu, sağım alanı ve ahır temizlik sıklığının aylık (%48) yapıldığı, sağım alanı ve ahırlarda %80 oranında haşerelerden sineklerin bulunduğu belirlendi. İşletmelerde sağıma “anne”lerin (%51) ve ahıra girenlerin aile bireylerinin (%68) olduğu tespit edildi. Sağım öncesi ve sonrası el yıkama alışkanlığının yüksek (%92) düzeyde olmasına rağmen, sağım işlemi sırasında takı kullanımının %53 oranında olduğu görüldü. İşletmelerde sağımın makineleriyle (%94), sağım makinelerinin temizlik sıklığının günlük (%72) olmasına rağmen sağım alanında önlük (%34) ve ahıra girişte günlük elbise (%54) kullanımının olduğu belirtilmiştir. İşletmelerde güğüm temizliğinin soğuk su ve bir kez sudan geçirerek (%48) yapıldığı, ancak sağım makine ve güğümlerde dezenfeksiyonunun çok düşük (%8) düzeyde haftalık yapıldığı belirlendi. İşletmelerde sıcak su (%10) ve el dezenfektanı (%22) bulundurma oranları oldukça düşük bulundu. Sağılan sütün bir saatten az süreyle güğümlerde bekletildiği, sütün tamamının çiğ süt olarak satıldığı, işletmelerde çiğ süt hijyeni ile ilgili eğitim alma (%24), süt analizi yaptırma (%10) ve süt analizlerinin yılda bir kez laboratuvara gönderme (%8) oranının oldukça düşük düzeyde olduğu belirlendi.

Çiğ sütte mikroorganizmaların varlığı meme bezlerindeki süt ve süt sağımında görev yapan sağımcılarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Süt sağımı yapan kişilerden direkt süte geçen tipik mikroorganizmaların *Streptococcus* spp., HAV, insan enteroviruslar, caliciviruslar ve RoV’lar olduğu açıklanmıştır (Center for Disease and Prevention, 1998). Süt kaynaklı viral, bakteriyel, fungal ve paraziter enfeksiyonlardan korunmak için süt güğümleri, tankları, depoları ve bu işlemler için kullanılan aletlerin periyodik olarak temizliklerinin yapılması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu amaçla sıcak su (80°C), kostik sıcak su, özel deterjanlar veya nitrik asit solüsyonları (65°C) kullanılması önerilmektedir. Ayrıca süt işi ile uğraşan üreticilerin yüz maskesi, saç bonesi ve eldiven kullanımı (her yarım saatte bir dezenfektan kullanımı) tavsiye edilmektedir (Dhanashekar ve ark., 2012). Shalaby ve ark. (2017) elle sağım yapılan işletmelerde HEV insidens yüksekliğini elden veya çevresel kontaminasyonlar sonucu olabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca makine ile sağılan işletmelerde sağım

makinelerinin sanitasyonundan kaynaklanan eksiklerin de bulunduğu belirtilmiştir. Araştırmada enteroviral enfeksiyonların yaz ve erken dönem sonbahar döneminde yaygın olduğu da bildirilmiştir (Greenings ve Conan, 2016). Sütten bulaşan virusların gelişmekte olan ülkelerde düşük sanitasyon koşullarından kaynaklandığı ve bunun bazı virüslere karşı uygulanan ısı inaktivasyon sıcaklıklarında pastörizasyon (LTLT'de 61,5°C'de 30 dk, HTHT'de 71-72°C'de 15 dk) uygulamalarına dikkat edilmemesi sonucu olduğu belirtilmiştir. Ancak gelişmiş ülkelerde bu durumun pastörizasyon sonrası kontaminasyonlar sonucu şekillendiği ifade edilmektedir (Dhanashekar ve ark., 2012).

Sütte bulunan virus çoğalmayabilir ancak uzun süre canlı kalabilir ve virus süt aracılığıyla bulaşma sağlayabilir. Ancak sütlere yapılan pastörizasyon işlemi virüsleri inaktive eder (Hassan ve Frank, 2011). Nitekim çiğ sütlerde insan NoV varlığına rastlandığı rapor edilmiştir (Yavarmanesh ve ark., 2015). Süt ve süt ürünlerinde viral ajanların çoğunlukla çapraz kontaminasyon sağladığı ve bunların pastörizasyon veya ısıl işlemler sonrası personel, ekipman ve gıda aracılığı ile bulaşmalar olduğu bildirilmiştir (Aydoğan ve ark., 2021). NoV'un başlıca bulaşma yolu feçes, kusmuk, bireyden bireye fiziksel temas ve fekal-oral yolla olmaktadır. Bu durum tüm canlı türleri için geçerlidir. Düşük enfeksiyöz doz (<10-100 virus partikülü) enfeksiyon oluşumu için yeterlidir (Robilotti ve ark., 2015; Ettayebi ve Hardy, 2003). Çiğ olarak gıda ürünlerini üreten tarımsal işletmelerin yöneticilerinin, bulaşıcı gıda kaynaklı hastalıklara maruz kalma ile uyumlu semptomları olan gıda çalışanlarını iyileştikten 48 saat sonrasına kadar dışarıda bırakması gerektiği önerilmektedir (Cowden ve ark., 1995). Hastalıktan sonra işe dönen gıda çalışanlarının, iyileştikten sonra haftalarca önemli sayıda NoV saçabileceği için bu çalışanların sıkı takip edilerek, hijyen kurallarına uymaları gerektiği konusunun detaylı olarak anlatılması gerekmektedir (Koopmans ve Duizer, 2004). NoV dezenfektanlara ve birçok kimyasala dirençli olduğu için enfekte yüzey ortamlarından temizlenmesi zordur ve bu yüzden NoV enfeksiyonu ile karşılaşılabilir (Kotwal ve Cannon, 2014). NoV'un kontamine olduğu sütlerde 71,3°C'de (pastörizasyon ısısı) 1dk'de 3log düzeyinde inaktivasyonunun sağlandığı belirtilmiştir (Duizer ve ark., 2004). NoV'un en iyi inaktivasyon ısısının 63°C'de 30 dk veya 70°C'de 2 dk olduğu belirtilirken, gıdalarda en iyi ısıl işlemi olarak 85-90°C'de 90 saniye olması gerektiği tavsiye edilmiştir (Cliver, 1998). NoV

çevre sıcaklığındaki ortamlarda uzun süre kalabildiğinden; yüzey/içme suyu, nemli fomitler, yüzeyler, kapalı ve yarı-açık ortamlar, kalabalık ortamlarda bulunabilir (Duizer ve ark., 2004; Atmar ve Estes, 2006). NoV'un primer bulaşma yollarından biri de sulardır. Bu durumda HAV, HEV, adenovirus, AstV, enterovirus ve RoV'larda eşlik edebilmektedir (Gibson, 2014). Yapılan bir çalışmada insan NoV GII'nin kirli nehir sularında, atık su tesislerinde, arıtılmamış atık sularda tespiti yapılmıştır (Poma ve ark., 2012). Yapılan diğer çalışmalarda da NoV'da dahil insan enterik virusların çevresel su kirliliği ile yeraltı su kaynaklarının kontamine olduğu hem insan hem de hayvanların enfekte olabileceği ifade edilmiştir (Blanco Fernandez ve ark., 2011; Gibson, 2014). NoV birçok süt ve süt ürünlerine dayalı salgınlarda tespit edilen bir mikroorganizmadır (Langer ve ark., 2012). Mısır'da enterovirusların çiğ sütlerde (süt çiftlikleri, süt tankları, çiftlik evlerinde) farklı düzeylerde varlığı bulunmuştur. Sütlerde enterovirus varlığının yağlı sütlerde, süt yağı alınmış sütlerden daha yaygın olduğu belirlenmiştir (Shalaby ve ark., 2017). Sütlerdeki kontaminasyonun (viral kaynaklı - RoV, HAV, NoV) süt kapakları, tankları ve süt sağımı yapan kişilerden veya süt işletme tesislerinde süt işleyen kişiler tarafından bulaştığı bildirilmiştir (El-Senousy ve ark., 2020a).

HAV, hepatovirus genusunda yer alan tek türdür. HAV genellikle gıda kaynaklı enfeksiyonlara yol açmaktadır. HAV insanlarda ateş, mide bulantısı, kusma, diyare ve sarılığa yol açmaktadır. Dışkıda yoğun miktarda bulunmaktadır. HAV; enfekte kişilerle yakın kontakt ilişki, enfekte gıdalardaki veya sudaki virus yoğunluğu (süt iyi bir ortam sağlar), salgının yaşandığı ortamlar ve uluslararası seyahatlerle bulaşmaktadır (European Food Safety Authority, 2006). HAV, UV ışınlarına duyarlıdır, ışınlar viral partiküllerden geçer ve virüsü inaktive eder. Ancak bu tekniğin birçok gıda ürünlerinde kullanılması oldukça zordur (Nuanualsuwan ve ark., 2002). HAV'ın kontamine olduğu sütlerde 62,8°C'de 30 dk veya 71,6°C'de 15 saniye ısıtma işlemi uygulandığında yalnız kısmi düzeyde inaktivasyon sağlandığı bildirilmiştir (Bidawid ve ark., 2000a). HAV, birçok enterik bakteri ve zarlı virüslere göre kimyasal dezenfektanlara daha duyarlıdır. Ancak, HAV'ların kontamine ettiği yüzeylerde birçok ticari dezenfektan etkili olmamaktadır (Bigliardi ve Sansebastiano, 2006; Terpstra ve ark., 2007). Aktif etanol içeren ticari el dezenfektanının el ve yüzeylerde bulunan HAV titresinin azaltılmasında sınırlı olduğu ifade edilmiştir (Mbithi ve ark.,

1990; Bidawid ve ark., 2000b). En etkili dezenfektanların %2 gluteraldehit ve %10 sodyum hipoklorit içerenler olduğu belirtilmektedir (Abad ve ark., 1997; Jean ve ark., 2003). Ausar ve ark. (2006) 60°C'ye kadar ısının Norwalk-like virusların kapsidindeki kuarternler yapıyı etkilemediğini, ancak 60°C'nin üzerindeki ısılarda ise tertiary protein yapısında değişimler meydana geldiği, bunun sonucunda termal enerji geçişinin nükleik asitlerde olduğu ve nükleik asitlerin korunmasında görev alan kapsitlerin azaldığı belirlenmiştir. Bu yüzden hem Norwalk-like viruslar hem de HAV'ın kapsit proteinlerinin 65°C ve üzerinde ısı işlemine tabi tutulması gerektiği vurgulanmıştır (Volking ve ark., 1997; Ausar ve ark., 2006). Süt ürünlerinde termal direncin ölçümüne yönelik yapılmış bir çalışmada sütte HAV'ın %66, murine NoV'nin %16 ve poliovirusun %16 oranlarında termal dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir (Bozkurt Cekmer, 2014). Gıdalarda bulunan yüksek yağ ve şeker miktarlarından dolayı enterik viruslara karşı uygulanan sıcaklık uygulamaları yetersiz kalabilmektedir. Bu durumda HAV kontamine süt bazlı hazırlanan gıda ürünlerinde, virus canlılığını kolayca devam ettirebilmekte ve elde edilen son ürün tüketicilerini enfekte edebilmektedir (Bidawid ve ark., 2000a; Deboosere ve ark., 2004; Battistini ve ark., 2020). Yağlı sütlerde HAV'ın ısı işlem sonucu inaktivasyonunun tamamıyla mümkün olamayacağı, bu durumun sütteki yüksek yağ içeriği nedeniyle süte daha güçlü/fazla ısı işlem uygulanması gerektiği belirtilmiştir (Bidawid ve ark., 2000a). Ancak bunun yanısıra pastörizasyon sonrası da gıda çalışanlarından ve pastörizasyon uygulaması sırasında meydana gelen aksaklıklar sonucu kontaminasyon olabileceği de düşünülmelidir (Wu ve Griffiths, 2014). Battistini ve ark. (2020) süt temelinde hazırlanan yoğurt, süt ve dondurmalarda HAV tespiti için var olan ISO yöntemlerinde yüksek santrifügasyon, elüsyon, konsantrasyon teknikleri uygulayarak virus varlığının daha yüksek duyarlılıkta tespit edilebileceğini açıklamışlardır. Wu ve ark. (2019) inek sütlerinde (kazein, yağ vb. herhangi bir komponenti kaldırmadan) HAV'ın tespiti için protamin kaplı demir oksit magnetik nanopartiküllerin kullanımı ile başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu yöntemin şu an için HAV tespiti için kullanılan metotlara göre hızlı, basit, ucuz, özel bir alete gereksinim olmayan, uygulaması kolay bir laboratuvar yöntemi olduğunu rapor etmişlerdir. Atık su ve sularda bulunan viruslarda yapılan uygulamalarda HAV'ın RoV'lerden daha dirençli olduğu en az dirence de NoV'lerin sahip olduğu tespit edilmiştir (El-Senousy ve ark., 2004). Hellmer ve ark. (2014) İsveç'teki atık sularda hem NoV GII hem de HAV varlığını tespit etmişlerdir. Yapılan

çalışmada insan enterik virusların süt üretiminde kullanılan alanlarda atık suları veya kontamine sulardan kaynaklanmış olduğunu belirlemiştir. Bu sonuca dayanarak süt ürünlerinde enterovirus, HAV'ların en önemli gıda patojenleri olduğu bildirilmiştir (Cuevas Ferrando ve ark., 2020; Pexara ve Govaris, 2020).

Bozkurt Cekmer (2014) adlı araştırmacının bildirdiğine göre gıda kaynaklı enterik virusların zarsız, pozitif zinciri RNA virusları olduğu ve kapsomer proteinlerinin kapsomeri oluşturarak virusun etrafını sardığını belirtmiştir (Dimmock ve ark., 2001). Virus kapsitlerinin hem hücreye bağlanmaya hem de virus genomu ve diğer komponentlerin korunmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden virüslara uygulanan termal inaktivasyon işlemlerinin virus kapsidindeki değişikliklere yol açabilmektedir. Pollard (1960) virus inaktivasyon teorisinde ısı uygulamaları sonucunda virusun çeşitli parçalarında farklı yayılımlara bağlı olarak viral proteinlerde yapısal değişiklikler meydana gelebileceği sonucuna varmıştır. Isı, viral proteinlerin yapısal entegrasyonunu sağlayan hidrojen bağlarını kopartmaktadır. Ancak bu komponentlerin bozunma değerleri (regradasyon) virus kapsit ve nükleik asitlerine göre farklılık göstermektedir. Benzer şekilde Song ve ark. (2010) termal inaktivasyon mekanizmasının viral proteinlerin denatürasyonu, non enfeksiyöz viral subunit ve tek protein içeren viral partiküllerin parçalanması biçiminde gerçekleştiğini açıklamışlardır. Aynı araştırmacılar sıcaklık derecesine bağlı olarak ısı uygulamalarının etkinlik gösterdiği sonucuna varmışlardır. Orta dereceli sıcaklık uygulamalarının (<56°C) kapsitteki viral reseptörlerin ve yapısal değişimlerin yıkılmasına sonucu virusun konağı tanınması ve bağlanmasının engellenmiş olacağı belirtilmiştir (Wigginton ve ark., 2012). Aynı araştırmacılar 60°C'ye kadar kapsidin quartern (dördüncü) yapısının etkilenmediğini bildirmiş olmalarına rağmen 60°C'nin üzeri ısı uygulamalarında tertiary (üçüncü) yapısının değişeceğini ve termal enerjinin nükleik aside kolaylıkla geçebileceğini ifade etmişlerdir. Bunun sonucu olarak kapsidin koruyucu rolünün tamamen ortadan kalkacağı ve nükleik asit materyalinin inaktive olacağı açıklanmıştır (Katen ve ark., 2013). 65°C üzeri ısı uygulamalarında da virusların tertiary yapısının değiştiği diğer araştırmacılar (Bozkurt ve ark., 2013; Bozkurt ve ark. 2014a, 2014b) tarafından da belirtilmiştir.

Çalışmamızda Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan 100 adet küçük aile işletmelerinden alınan süt örneklerinde NoV varlığının tespiti için yapılan Real-Time

PCR analizinde; %16 NoV GI ve %12 NoV GII pozitiflik tespit edildi. Ayrıca %4 NoV GI + NoV GII koenfeksiyon olarak belirlendi. İnsan NoV suşları GI, GII ve GIV olarak sınıflandırılmaktadır. GI.1 Norwalk virus suş prototip olarak sınıflandırılarak, NoV GII en fazla tespit edilen ve NoV GII 4 olarak bilinen türü de insanlarda geniş salgınlara yol açabilmektedir (Karst ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda pişirilmemiş gıdalarda genellikle primer etkenlerin AstV ve NoV olduğu (Miranda ve Schaffner, 2019), süt ve süt ürünlerinde ise en yüksek prevalansı NoV'lerin oluşturduğu bildirilmiştir (Hardstaff ve ark., 2018). Pakbin ve ark. (2022) İran'da süt ürünleri satan marketlerde 492 çiğ inek sütünde konvansiyonel ve nested RT-PCR yöntemiyle NoV GI, NoV GII, HAV, RoV, AstV, Bovine Leukemia Virus (BLV) ve Tick Born Encephalitis Virus (TBEV) yönünden araştırmışlardır. Araştırma sonucunda; NoV GI %34,95 ve NoV GII %7,72 düzeyinde kontaminasyon olduğunu belirlemişlerdir. İlginç olan ülkenin güney bölgesinde toplanan örneklerde AstV ve NoV GI'in birlikte en yaygın virus profilleri olduğu, en yüksek korrelasyonların RoV ve HAV, TBEV ve NoV GII arasında görüldüğünü tespit etmişlerdir. Çiğ sütlerde farklı gıda kaynaklı ve zoonotik virus profilleri ve prevalans oranlarının bulunmasını inek sütü üretim zincirinde ve pastörizasyon proseslerinden kaynaklanabileceği ihtimaline dikkat çekilmiştir. Silva ve ark. (2021) Brezilya'da çiğ sütlerden hazırlanan peynirlerde NoV GI, GII, ve Human Adenovirus (HAdV)'leri Real-Time PCR ile incelemişlerdir. 100 adet örneğin 2 adedinde (%26) NoV GI, 14 adedinde (%14) HAdV ve 3 adet (%3) hem NoV GI hem de HAdV belirlemişlerdir. Ancak NoV GII tespiti yapılamamıştır. Bu sonuçlara göre çiğ sütlerden hazırlanan peynirlerde; minimal düzeyde proseslerin uygulanması, çiğ sütlerden hazırlanılması, ısıl işlem uygulamalarının yapılmaması, örneklerin pazarlardan toplanılması ve taze tüketime hazır ürünler olmasının enfeksiyon bulaşma riskini arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu yüzden GMP ve HACCP uygulamalarına süt endüstrisi ve pazarlarda ihtiyaç bulunduğunu ifade etmişlerdir. Yavarmanesh ve ark. (2015) çiğ sütlerde HNoV GI, GII'nin E.coli, F<sup>+</sup> kolifaj varlığında dağılımını ve korrelasyonu üzerinde bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bunun sonucunda; E.coli'nin (log<sub>10</sub>5,51-5,75) %36,8, HNoV GI'in %10,5, Human Norovirus (HNoV) GII'nin %15,8 düzeyince sütlerde pozitiflik ve E.coli'nin (log<sub>10</sub>5,76-6,00) %21,1, HNoV GI'in %5,3, HNoV GII'nin %15,8 olarak pozitiflik belirlemişlerdir. Bununla birlikte E.coli'nin tespit edildiği bazı çiğ sütlerde genellikle NoV GI ve NoV GII tespit edilemezken, sadece E.coli log<sub>10</sub>6,26-6,50 düzeyinde

pozitif elde edilen süt örneklerinde HNoV GI belirlenmiştir. Bununla birlikte sadece F<sup>+</sup> kolifaj log<sub>10</sub>1,01-2,00 pozitiflerde (%21,1) HNoV GI %5,3; F<sup>+</sup> kolifaj log<sub>10</sub>2,01-3,00 pozitiflerde (%21,1), HNoV GII %5,3; F<sup>+</sup> kolifaj log<sub>10</sub>3,01-4,00 pozitiflerde (%15,8), HNoV GII %5,3; F<sup>+</sup> kolifaj log<sub>10</sub>4,01-5,00 pozitiflerde (%21,1), HNoV GI %15,8 ve HNoV GII %21,05 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda; F<sup>+</sup> kolifaj ve E.coli arasında korrelasyon bulunmamışken, benzer sonuç F<sup>+</sup> kolifaj ve NoV'ler arasında da tespit edilmiştir. Ancak çiğ sütlerin %75'inde 10<sup>4</sup> PFU/100ml'den yüksek konsantrasyonda F<sup>+</sup> kolifaj bulunduran örneklerde NoV'lerin pozitif çıktığı da rapor edilmiştir. Çalışmanın daha geniş çaplı bir kapsamda yapılmasının uygun olacağı da vurgulanmıştır. Bu durumu destekleyen bir başka çalışmada (Aydoğan ve ark., 2021) Burdur il merkezi ve Bucak ilçesindeki süt ve süt ürünleri işletmelerinde üretim yapan bölümlerde çalışan personelin ellerinde NoV, RoV, AstV antijen varlığını ELISA testleri ile araştırmışlardır. Çalışmada 1 personelin gaitasında NoV antijen varlığını belirlemişlerdir. Çalışmaya katılan personelden NoV antijen pozitif bulunan kişinin hijyen eğitimi almadığı, hijyen eğitimi almayan bir personelin eldiven kullanmadığı ve NoV antijen tespit edilen personelin hem diğer personele hem de ambalajlama sırasında temas ettiği gıda maddelerine viral bulaşma potansiyeli taşıdığı sonucuna varmışlardır. Çiğ sütlerde tespit edilen RoV, HAV, NoV GI ve GII etkenlerinin süt tankları, üretim tesisleri, paketlenme vb. aşamalarında enfekte insan eli ve yüzeylerden kolayca bulaşabileceği rapor edilmiştir (El-Senausy ve ark., 2020b). Hewitt ve ark. (2009) Murine Norovirus (MNV), HAV ve NoV GI ve GII enfekte su ve sütlerde 10 dk'ye yakın 63°C ve 72°C'de ısıtma işlem uygulamışlar ve sonuçlarını spesifik Real-Time PCR ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda NoV GI ve GII'nin Real-Time PCR ile daha düşük log elde ettiklerini, sütte ise tüm viruslar için önemli bir koruyucu etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca 63°C ve 72°C ısıtma işlem uygulamalarının NoV'ta HAV ve MNV'ye göre daha az duyarlı olduğu sonucuna varmışlardır.

Bu çalışmada, Burdur-Merkezde çiğ süt satışı yapan 100 adet küçük aile işletmelerinden alınan süt örneklerinde HAV varlığının tespiti için yapılan Real-Time PCR analizinde %8 HAV pozitiflik tespit edildi. Ayrıca %8 NoV GI + NoV GII + HAV koenfeksiyon olarak belirlendi. Pakbin ve ark. (2022) İran'da süt ürünleri satan marketlerde 492 çiğ inek sütünde konvansiyonel ve nested RT-PCR yöntemiyle NoV

GI, NoV GII, HAV, RoV, AstV, BLV ve TBEV yönünden araştırmışlardır. Araştırma sonucunda HAV %25,81 düzeyinde kontaminasyon olduğunu belirlemişlerdir. Hennechart-Collette ve ark. (2023) süt ve süt ürünlerinde HAV, HEV, NoV GI, GII, ve MNV-1 varlığını araştırmışlardır. 16 farklı süt ve süt ürünlerinde (süt, peynir, yoğurt ve krema) HAV, HEV, NoV varlığını aynı anda süt, peynir, yoğurt ve kremada belirlemişler ve HAV'ı %5,76 - %76,40 arasında bulmuşlardır. Terzi ve ark. (2010) Türkiye'de Samsun ilinde pazarlarda satılan çiğ süt ve peynir altı sularında Enterovirus ve HAV varlığını RT-PCR ile araştırmışlardır. 50 adet süttten 4 adet (%8) Enterovirus tespit edilirken, hiçbir sütte HAV varlığı bulunmamıştır. Ayrıca hem enterovirus hem de HAV peynir altı sularında pozitiflik belirlenmemiştir. Araştırma sonucunda; süt kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi için sütlerin pastörize edilmesi, soğutmasının kontrol altında tutulması, pastörizasyon sonrası kontaminasyonların önlenmesi için pastörizasyon ekipmanlarının eksiksiz olması ve kontamine sütlerden HAV ve Enterovirus tespiti için daha başarılı moleküler tekniklerin uygulanması gerektiği vurgulanmıştır. Hirneisen ve ark. (2009) süt inokulumunda  $10^6 - 10^7$  DKID<sub>50</sub>/ml seviyesinde virus bulunan sütlerde HAV'ın %33,8-%49 arasında tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Wu ve ark. (2023) çift basamaklı reverse transcription loop-mediated isothermal amplification bioluminescence based determination of amplification in real-time yöntemi ile yeşil soğan, çilek, midye ve sütlerde HAV tespiti yapmışlardır. Buna göre sütte  $8,3 \times 10^0$  PFU/40 ml tespit limiti belirlemişlerdir. Geliştirilen tekniğin HAV tespitinde etkili, basit, duyarlı ve güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır. Çiğ ve pastörize edilmemiş sütlerde indirekt kontaminasyon (fekal çapraz kontaminasyon) riski oluşturabilecek HAV, NoV GI, II ve Simian RoV'lerinde farklı ısı derecelerinde uygulamalar gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada Real-Time PCR ve plak deneme metotlarını kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda 85°C'de 1dk'da  $6,6 \log_{10} \pm 0.2$ , 2dk'de  $8 \log_{10} \pm 0$  HAV'ın genom kopyalarında azalma gözlemlemişlerdir. Benzer sonuçları NoV ve RoV genom kopyalarında elde etmişlerdir. Daha yüksek ısı derecelerinde tüm virus kopyalarında 90°C'de 90 saniyede ve 95°C'de 60 saniyede  $8 \log_{10} \pm 0$  düzeyinde azalmalar tespit etmişlerdir. Hem HAV hem de simian RoV genom kopyalarında sütlerde enfeksiyöz ünitelerinin NoV (GI ve GII)'den daha yüksek hassasiyete sahip olduğunu belirlemişlerdir. Sütün kaynama ısısında (100,5°C) 40 saniyede tüm virusların genom kopyalarının  $8 \log_{10} \pm 0$  düzeyinde azaldığı tespit edilmiştir. Ancak bu ısıda ve 10 saniye sürede ise HAV ve simian RoV'un enfeksiyöz

ünitelerinde  $6\log_{10} \pm 0$  düzeyinde azalmalar görüldüğünü de bulmuşlardır. Çalışmada enfeksiyöz virus birimlerinin ısıdan oldukça yüksek düzeyde etkilenirken, genom kopyalarındaki azalmanın virus enfeksiyözitesiyle ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır. Bidawid ve ark. (2000a) süt ve kremalarda HAV inaktivasyonunu araştırmışlardır. İnaktivasyon uygulamasını yağsız süt (%0 yağ), homojenize süt (%3,5 yağ) ve kremada (%18 yağ) uygulamışlardır. 65°C, 67°C, 69°C, 71°C, 73°C, 75°C, 80°C ve 85°C'lerde inaktivasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ancak 85°C'den 0,5dk'de  $5\log_{10}$  titre düşüşlerinin şekillendiği tespit edilmiştir. 80°C'ye kadar HAV'ın yağsız sütlerde, yağ içeren ürünlere göre daha hızlı inaktivasyonunun şekillendiğini belirlemişlerdir (Bidawid ve ark. 2000a). Gıda kaynaklı bulaşan virionların gıdaların yüzeylerine yapıştığını ve yüzeylerde stabilitelerinin artmasına yol açabileceği tahmin edilmektedir. Ayrıca, virionların bulaşmalar esnasında yüzeylerde toplandığı ve ardı ardına (=devamlı) enfeksiyona neden olabilmesi için dış hedef hücre membranına adhezyon için üst yüzeye ve aktivasyona ihtiyaçları olduğu belirtilmiştir (Roos, 2020).

Gıdalardaki düşük viral kontaminasyon seviyesi, süt ürünlerindeki yağ, kazein, peynir altı suyu proteinleri ve laktoz varlığı nedeniyle kapsamlı bir kontrol seti kullanılması gerektiği bildirilmektedir (Lee ve ark., 2012; Maunula ve ark., 2013; Suffredini ve ark., 2014). ISO 15216 yöntemi; amplifikasyonun herhangi bir inhibisyonunu değerlendirmek için bir proses kontrol virusunun ve harici kontrol RNA gibi harici amplifikasyon kontrollerinin kullanılmasını içermektedir (EN ISO 15216-1:2017, EN ISO 15216-2:2019). ISO 16140 prosedürü, gıdaların mikrobiyolojik analizi alanında alternatif yöntemlerin doğrulanması için teknik protokolün yanı sıra genel prensibi de belirlemektedir. Son uluslararası standart ISO 16140-4:2018; matrislerin, virus inokulum seviyelerinin ve çeşitli faktörler arasındaki etkileşimin etkisini test etmek için deneysel tasarımları tanımlamaktadır. Ayrıca rutin koşullar altında tek bir laboratuvar içindeki varyasyonu da yansıtmaktadır (Hennechart-Collette ve ark., 2023). Bu araştırmamızda da kullanmış olduğumuz kit ile HAV, NoV GI ve GII ve bir proses kontrolü olan bakteriyofaj MS2'nin ISO 15216 kriterlerine göre eş zamanlı, kalitatif tespiti ve ayrımı mümkündür. Kitte numuneye eklenebilen ve numune gibi muamele edilen bir bakteriyofaj MS2 çözeltisi de içermektedir. Proses kontrolünün belirli bir dizisi daha sonra her numunede tespit edilmektedir. Standart ISO protokollerinde gıda numunelerinin zenginleştirilmesi söz konusu değildir. Bunun

yerine matrise özgü virus konsantrasyon protokolleri sağlanmaktadır. Foodproof® Numune Hazırlama kiti IV'te numunelerin manuel ekstraksiyonu için hazırlanmıştır. Virus konsantrasyonu ve RNA ekstraksiyonundan sonra RNA, foodproof® NoV (GI, GII) ve HAV'ı Tespit Kiti ile test edilmektedir. Yapılan analizde HAV veya NoV'ye özgü sekansların amplifiye edilip edilmediği ve proses kontrolü için %1'den yüksek geri kazanım oranlarının elde edilip edilmediği gösterilmektedir. Bu sayede tespit sonuçları doğrulanmaktadır (Türk Standartları Enstitüsü, 2013; Rapid Microbiology, 2023).

Sütteki SCC artışları ineğin bağışıklık sisteminin ilk reaksiyonu olarak görülmektedir. Sütte yüksek sayıda SCC varlığı memenin mikroorganizmalar tarafından enfeksiyona maruz kaldığını göstermektedir (Rice ve Bodman, 1997).

Süt teknolojisi açısından içme sütü ve süt ürünlerinin üretiminde kullanılacak olan ham madde, çiğ sütün kalitesinde önem taşımaktadır. SCC, çoğu ülkede olduğu gibi ülkemizde de çiğ sütün kalite kriterleri arasında yer almakta ve ayrıca sütün fiyatlandırılmasında da üreticiye prim verilmesini sağlamaktadır. Yapılan araştırmalar, SCC'nin yüksek olduğu durumlarda süt veriminin düştüğü, sütün ürüne işlenebilirliğinin azaldığı, kazein oranının düşmesine bağlı peynir üretiminde randıman kaybına neden olduğu ve böyle sütlerden elde edilen pastörize sütlerde lipoliz ve proteolizin daha hızlı şekillenmesi sonucunda duyu kalite kayıpları (ransidite ve acılık) ile raf ömrünün kısaldığı bildirilmektedir (Temelli ve Şerbetçioğlu, 2011).

Sütte SCC'nin artışı klinik mastitis ve subklinik mastitis enfeksiyonlarında belirleyici bir faktör olması nedeni ile meme sağlığı hakkında fikir veren bir kriter olarak kabul edilir. Sütte SCC oluşumuna yol açan mikroorganizmaların; meme bezinde yer alan patojenler (*Streptococcus agalactia*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis*, *Corynebacterium bovis*, *Coagulase negatif Staphylococci*) ve çevreden bulaşan patojenler (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*, *Str. bovis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*) ile şekillenmektedir. Hayvanın sağlık durumu dışında ırk, yaş, laktasyon dönemi, sağım tekniği, yetiştirme sistemleri, besleme, meme yaralanmaları, çevre koşulları, mevsim, sıcaklık stresi, ineklerin sağım sırasına göre sağılması, sağım yeri ve şekli, sağım

makinelerinin düzenli çalışıp çalışmadığı, ineklerin kuruya çıkartılma şekli SCC’de değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (Aytekin ve Boztepe, 2014).

Bir ml sütte SCC’nin >200.000 hücre istendiği bildirilmiştir (Caraviello, 2004). Bir ml sütte SCC’nin 250.000-300.000 hücrenin üzerinde olması sütün sağlıklı olmadığını, memenin mastitise yakalanmış olma ihtimalinin yüksek olduğunu ve süt verimi ve kalitesine olumsuz etkileri olabileceği açıklanmıştır (Rice ve Bodman, 1997; Kirk, 2005).

Temelli ve Şerbetçioğlu (2011)’nin bildirdiğine göre; 1994-2003 yılları arasında çiftliklerden alınan süt örneklerinde ortalama 138.000 adet/ml, 2004 yılında 214.000 adet/ml ve tank sütüne ait örneklerde 65.000-489.000 adet/ml değerleri arasında olduğu rapor edilmiştir (Topaloğlu ve Güneş, 2005; Green ve ark., 2006; Haskell ve ark., 2009). Aynı yazarların (Temelli ve Şerbetçioğlu, 2011) bildirdiğine göre; İrlanda’da yapılan bir çalışmada, 2000 yılında ortalama sayının 240.039 adet/ml’den 2004 yılında 250.937 adet/ml’ye artış gösterdiği (Berry ve ark., 2006), USA’da yapılan bir diğer çalışmada da tank sütü ortalamasının 363.000 adet/ml olduğu ve her ay incelenen sütlerin %72-88’inin Avrupa Birliği kriterlerine uygun olduğu belirtilmiştir (van Schaik ve ark., 2002). Avrupa Birliği Komisyonu 1662/2006 No’lu “Hayvansal Gıdalarda Uyulması Öngörülen Spesifik Hijyen Kuralları” Tebliği’nde çiğ inek sütünde SCC’nin ayda en az 1 örnek alınmak sureti ile 3 aylık periyotlar boyunca belirlenmesi ve bulunan sayının geometrik ortalamasının da ml’de 400.000 adet ve altında olması istenmektedir (Anonim, 2006). Ülkemizde ise Türk Gıda Kodeksi (TGK) 2000/6 No’lu “Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri” Tebliği’ne göre çiğ inek sütlerinin ml’sindeki somatik hücre sayısının 500.000 adet ve altında olması gerektiği bildirilmektedir (Kodeksi, 2000).

Sığır mastitislerinde viral enfeksiyonların rolü incelenmiştir. Doğal sığır mastitis vakalarında Bovine herpesvirus 1 (BHV-1), Bovine herpesvirus 4 (BHV-4), Foot and mouth disease (FMD) virus ve parainfluenza tip 3 (PI-3) virusunun süttten izole edildiği belirlenmiştir. BHV-1, FMD virus ve PI-3 viral enfeksiyonlarının klinik mastitise, BHV-4’nin subklinik mastitise neden olduğu açıklanmıştır. Bovine herpesvirus 2 (BHV-2), sığır çiçeği, pseudocowpox, FMD virus, veziküler stomatit virusu ve papillomavirus meme başında lezyonlara neden olur. Bu viruslar memenin

bütünlüğüne zarar verebilir ve dolaylı olarak mastitise katkıda bulunabilir. Mastitisin altında virus kaynaklı immünsüpresyonun yattığı ancak bu varsayımı destekleyecek deneysel kanıtların eksik olduğu bildirilmiştir. Viral enfeksiyonlar ile sığır mastitisi arasında nedensel bir ilişki üzerine çok az sayıda epidemiyolojik çalışmalar yer almaktadır (Wellenberg ve ark., 2002; Çelik ve Kale, 2020). Shafaei Novdeh ve ark. (2020) Bovine viral diarrhea virus (BVDV) enfeksiyonlarının toplu tank sütü somatik hücre sayıları (BTMSCC) üzerindeki ilişkisini incelemişlerdir. Virusun meme, papiller kanallara zarar vererek ve bağışıklık sistemini baskılayarak sığırları mastitisin bakteriyel nedenlerine karşı daha duyarlı hale getirebildiğini açıklamışlardır. Ancak çalışmada BVDV enfeksiyonunun BTMSCC üzerine istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisinin bulunmadığı ortaya konmuştur. Herlekar ve ark. (2013) incelediği sürüde BHV-1, BHV-2 ve BHV-4'ün muhtemelen başlıca meme patojenleri olmadığını, sütteki SCC üzerinde ana etkinin meme içi bakteriyel etkenlerden kaynaklandığını ve viral etkenlerin mastitis üzerinde çok az etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Süt endüstrisi, süt üreticileri ve veterinerler tarafından yapılan toplu süt analizleri kalitenin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Gillespie ve ark., 2012). Mikrobiyolojik profiller sayesinde olası kontaminasyon noktalarının önlenmesi ve değiştirilmesi mümkün olacaktır. Bu nedenle sütteki bakteri sayımı, çevre hijyenin takibi, pastörize süt ve süt ürünlerinin kalitesi önem arz etmektedir. Bu sayede süt ürünlerinin raf ömrü ve duyu özellikleri durumdan doğrudan etkilenecektir (Barbano ve ark., 2006).

Çalışmada toplanan sütlerde SCC ortalaması  $339.020 \pm 249.230,9$  olarak belirlendi. Bu çalışmada NoV GI pozitif elde edilen sütlerde SCC ortalaması  $225.375 \pm 60.018,9$  ( $p=0,005$ ), NoV GII pozitif elde edilen sütlerde SCC ortalaması  $251.166,7 \pm 42.994,9$  ( $p=0,01$ ) ve HAV pozitif elde edilen sütlerde SCC ortalaması  $248.750 \pm 49.969,1$  ( $p=0,04$ ) olarak tespit edildi. Bu pozitif örneklerin ortalamaları, negatif örnek ortalamalarından istatistiksel olarak daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ). Elde edilen sonuçlara göre sütlerde NoV GI, NoV GII ve HAV varlığının SCC'yi etkilemediği ve sütlerde bir viral varlığın göstergesi olarak kullanılamayacağı sonucuna varıldı. Yapmış olduğumuz literatür taramalarında bireysel sığır sütlerinde, tank veya güğüm sütlerinde NoV GI, NoV GII ve HAV varlığının SCC arasında

ilişkiye dayalı bir çalışmaya da rastlanmadı. Elde ettiğimiz sonuçlar bu konuda ilk olma özelliği taşımaktadır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya genelinde süt örneklerinde birçok virus varlığı araştırılmış olmasına rağmen (Berge ve Baars, 2020), çiğ sütlerde gıda kaynaklı ve zoonotik viral patojenlerin prevalans oranı ve korrelasyonları hakkında tespitlerin oldukça kısıtlı olduğu belirtilmektedir (Pakbin ve ark., 2022). Bu çalışmada çiğ süt satışı yapan küçük aile işletmelerindeki süt örneklerinde yüksekte düşüğe NoV GI, NoV GII ve HAV varlığı tespit edildi. Aynı işletmelerde toplanan sütlerde NoV GI, NoV GII ve HAV varlığının SCC'yi etkilemediği ve sütlerde bir viral varlığın göstergesi olarak kullanılamayacağı sonucuna varıldı.

İşletmelerde yapılan anketler sonucunda; sağım ve ahır alanlarının bakım ve temizliğinde, sıklığında görülen eksiklikler, sağım alanı ve ahırlardaki sineklerin yoğunluğu, sağım öncesi ve sonrası el yıkama alışkanlığının var olmasına rağmen dezenfektan kullanımının yaygın olmaması, sağım makinelerinin temizliğinin soğuk su ve bir kez sudan geçirerek yapılmasının, sağım makine ve güğümlerde dezenfeksiyonunun çok düşük düzeyde haftalık yapılmasının ve sağım alanında önlük kullanımının nadir ve ahıra girişte günlük elbise kullanımının yaygın olmasına bağlı olarak sütlerde NoV GI, NoV GII ve HAV tespitinin yapıldığı kanaatine varılmaktadır. Ayrıca sağım alanı, ahırlar, sağım makineleri, çalışanların işletmelerde kullanmış olduğu suyun da enfeksiyon kaynağı teşkil edebileceği düşünülmektedir. İleride bu konuda da detaylı araştırmaların yapılması tavsiye edilmektedir.

## KAYNAKLAR

**Abad FX, Pinto RM, Bosch A (1997).** Disinfection of human enteric viruses on fomites, *FEMS Microbiol. Lett.*, **156**, 107–111.

**Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) (2016).** Fiore AE, Wasley A, Bell BP. Prevention of hepatitis a through active or passive immunization. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, **55(RR7)**,1–23.

**Afyon M, Zerman M, Şimşek B (2018).** Evaluation of susceptibility to Hepatitis A virus infection in naval academy students and staff. *Gülhane Medical Journal*, **60**, 1-4.

**Alfieri AA, Leme RA, Alfieri AF (2017).** Noroviruses in livestock, pets and public health impact. *CABI Reviews*, **12(5)**, 1-14.

**Alhussien M, Manjari P, Sheikh AA, Seman SM, Reddi S, Mohanty AK, Dang AK (2016).** Immunological attributes of blood and milk neutrophils isolated from crossbred cows during different physiological conditions. *Czech J. Anim. Sci.*, **61**, 223-231.

**Alhussien MN, Dang AK (2017).** Diurnal rhythm in the counts and types of milk somatic cells, neutrophil phagocytosis and plasma cortisol levels in Karan Fries cows during different seasons and parity. *Biol. Rhythm. Res.*, **49**, 187-199.

**Almanza H, Cubillos C, Angulo I, Mateos F, Caston JR, van der Poel WH, Vinje J, Barcena J, Mena I (2008).** Self-assembly of the recombinant capsid protein of a swine norovirus into virus-like particles and evaluation of monoclonal antibodies cross-reactive with a human strain from genogroup II. *J. Clin. Microbiol.*, **46(12)**, 3971–3979.

**Anonim (2006).** Commission Regulation (EC) No: 1662/2006. Amending Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council Laying Down Specific Hygiene Rules for Food of Animal Origin.

**Anonim (2013).** *Multistate outbreak of hepatitis A virus infections linked to pomegranate seeds from Turkey (final update)*. Centers for Disease Control and Prevention. Posted October 28, 2008. <https://www.cdc.gov/hepatitis/outbreaks/2013/a1b-03-31/key-resources.html>. (Erişim Tarihi: 10.11.2023)

**Appleton H (2000).** Control of food-borne viruses. *Br. Med. Bull.*, **56(1)**,172-183.

**Aragones L, Guix S, Ribes E, Bosch A, Pinto RM (2010).** Fine-Tuning Translation Kinetics Selection as the Driving Force of Codon Usage Bias in the Hepatitis A Virus Capsid. *PLoS Pathog.*, **6(3)**, e1000797.

- Asher LV, Binn LN, Mensing TL, Marchwicki RH, Vassell RA, Young GD (1995).** Pathogenesis of hepatitis A in orally inoculated owl monkeys (*Aotus trivirgatus*). *J. Med. Virol.*, **47**, 260–268.
- Atmar RL, Estes MK (2006).** The epidemiologic and clinical importance of norovirus infection. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **35(2)**, 275-290.
- Atreya CD (2004).** Major foodborne illness causing viruses and current status of vaccines against the diseases. *Foodborne Pathog. Dis.*, **1**, 89-96.
- Ausar SF, Foubert TR, Hudson MH, Vedvick TS, Middaugh CR (2006).** Conformational stability and disassembly of Norwalk virus-like particles: Effect of pH and temperature. *J. Biol. Chem.*, **281**, 19478–19488.
- Aydoğan H, Gürsoy O, Kale M (2021).** Detection of Norovirus, Rotavirus and Astrovirus Antigens in Hand Swabs and Stool Specimens of Employees in Dairy Processing Plants. *Akademik Gıda*, **19(4)**, 393-397.
- Aytekin İ, Boztepe S (2014).** Süt sığırlarında somatik hücre sayısı, önemi ve etki eden faktörler. *TURJAF.*, **2(3)**, 112-121.
- Bae SC, Park SY, Kim AN, Oh MH, Do Ha S (2014).** Survival of hepatitis A virus on various food-contact surfaces during 28 days of storage at room temperature. *Food Res. Int.*, **64**, 849–854.
- Balayan MS (1992).** Natural hosts of hepatitis A virus, *Vaccine*, **10(1)**, 27–31.
- Barbano DM, Ma Y, Santos MV (2006).** Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *J. Dairy Sci.*, **89**, 15-19.
- Battistini R, Rossini I, Listorti V, Ercolini C, Maurella C, Serracca L (2020).** HAV detection from milk-based products containing soft fruits: Comparison between four different extraction methods. *International J. Food Microbiol.*, **328**, 108661.
- Bavelaar HH, Rahamat-Langendoen J, Niesters HG, Zoll J, Melchers WJ (2015).** Whole genome sequencing of fecal samples as a tool for the diagnosis and genetic characterization of norovirus. *J. Clin. Virol.*, **72**, 122–125.
- Bean NH, Goulding Joy S, Lao C, Angulo FJ (1996).** Surveillance for foodborne disease outbreaks in the United States, 1988-1992. *MMWR.*, **45(5)**, 1-66.
- Bellou M, Kokkinos P, Vantarakis A (2013).** Shellfish-borne viral outbreaks: a systematic review. *Food Environ Virol.*, **5(1)**, 13–23.
- Berge AC, Baars T (2020).** Raw milk producers with high levels of hygiene and safety. *Epidemiology & Infection*, **148**, e14.
- Berry DP, O'brien B, O'callaghan EJ, Sullivan KO, Meaney WJ (2006).** Temporal trends in bulk tank somatic cell count and total bacterial count in Irish dairy herds during the past decade. *J. Dairy Sci.*, **89(10)**, 4083-4093.

- Berry DP, Lee JM, Macdonald KA, Stafford K, Matthews L, Roche JR (2007).** Associations among body condition score, body weight, somatic cell count, and clinical mastitis in seasonally calving dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **90**, 637-648.
- Bi Y, Wang YJ, Qin Y, Vallverdú RG, García JM, Sun W, Cao Z (2016).** Prevalence of bovine mastitis pathogens in bulk tank milk in China. *PLoS One*, **11**, e0155621.
- Bidawid S, Farber JM, Sattar SA, Hayward S (2000a).** Heat inactivation of hepatitis A virus in dairy foods. *J. Food Prot.*, **63(4)**, 522-528.
- Bidawid S, Farber JM, Sattar SA (2000b).** Contamination of foods by food handlers: experiments on hepatitis A virus transfer to food and its interruption, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 2759–2763.
- Bigliardi L, Sansebastiano G (2006).** Study on inactivation kinetics of hepatitis A virus and enteroviruses with peracetic acid and chlorine. New ICC/PCR method to assess disinfection effectiveness, *J. Prev. Med. Hyg.*, **47**, 56–63.
- Blanco Fernandez MD, Torres C, Martinez LC, Giordano MO, Masachessi G, Barril PA, Isa MB, Campos RH, Nates SV, Mbayed VA (2011).** Genetic and evolutionary characterization of norovirus from sewage and surface waters in Cordoba City, Argentina. *Infect. Genet. Evol.*, **11(7)**, 1631–1637.
- Bok K, Parra GI, Mitra T, Abente E, Shaver CK, Boon D, Engle R, Yu C, Kapikian AZ, Sosnovtsev SV, Purcell RH, Green KY (2011).** Chimpanzees as an animal model for human norovirus infection and vaccine development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **108**, 325-330.
- Bosch A, Sanchez G, Le Guyader F, Vanaelochia H, Haugarreau L, Pinto RM (2001).** Human enteric viruses in Coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak. *Water Sci. Technol.*, **43**, 61–65.
- Bosch A, Gkogka E, Le Guyader FS, Loisy-Hamon F, Lee A, Van Lieshout L, Marthi B, Myrmel M, Sansom A, Schultz AC, Winkler A, Zuber S, Phister T (2018).** Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing. *Int. J. Food Microbiol.*, **285**, 110-128.
- Boutinaud M, Jammes H (2002).** Potential uses of milk epithelial cells: A review. *Reprod. Nutr. Dev.*, **42**, 133-147.
- Bozkurt H, D'Souza DH, Davidson PM (2013).** Determination of the thermal inactivation kinetics of the human norovirus surrogates, murine norovirus and feline calicivirus. *J. Food Prot.*, **76**, 79-84.
- Bozkurt Cekmer, H (2014).** *Thermal Inactivation of Human Norovirus Surrogates and Hepatitis A Virus in Foods*. PhD. dissertation, University of Tennessee, Knoxville. [https://trace.tennessee.edu/utk\\_graddiss/2783](https://trace.tennessee.edu/utk_graddiss/2783). (Erişim Tarihi: 10.11.2023).

**Bozkurt H, Leiser S, D'Souza DH, Davidson PM (2014a).** Thermal inactivation of human norovirus surrogates in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Int. J. Food Microbiol.*, **172(17)**, 130-136.

**Bozkurt H, D'Souza DH, Davidson PM (2014b).** Thermal inactivation of human norovirus surrogates in spinach and measurement of its uncertainty. *J. Food Prot.*, **77(2)**, 276-283.

**Brian WJ, Mahy VM (2005).** *Topley and Wilson's microbiology and microbial infections*, 10th edition, London: Hodder Arnold Company, s: 1-7408.

**Bull RA, Tanaka MM, White PA. (2007).** Norovirus recombination. *J. Gen. Virol.*, **88(12)**, 3347–3359.

**Bull RA, Eden JS, Luciani F, McElroy K, Rawlinson WD, White PA. (2012).** Contribution of intra- and interhost dynamics to norovirus evolution. *J. Virol.*, **86(6)**, 3219–3229.

**Butot S, Cantergiani F, Moser M, Jean J, Lima A, Michot L, Putallaz T, Stroheker T, Zuber S (2018).** UV-C inactivation of foodborne bacterial and viral pathogens and surrogates on fresh and frozen berries. *Int. J. Food Microbiol.*, **275**, 8-16.

**Caddy S, Breiman A, le Pendu J, Goodfellow I (2014).** Genogroup IV and VI canine noroviruses interact with histo-blood group antigens. *J. Virol.*, **88(18)**, 10377–10391.

**Caddy SL, de Rougemont A, Emmott E, El-Attar L, Mitchell JA, Hollinshead M, Belliot G, Brownlie J, Le Pendu J, Goodfellow I (2015).** Evidence for human norovirus infection of dogs in the United Kingdom. *J. Clin. Microbiol.*, **53(6)**, 1873–83.

**Calder L, Simmons G, Thornley C, Taylor P, Pritchard K, Greening G, Bishop J (2003).** An outbreak of hepatitis A associated with consumption of raw blueberries. *Epidemiol. Infect.*, **131**, 745–751.

**Caraviello DZ (2004).** *Selection for clinical mastitis and somatic cell count*. The Babcock Institute University of Wisconsin. Dairy Updates. Reproduction and Genetics No: 613. [http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/productdownload/du\\_613.en\\_.pdf](http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/productdownload/du_613.en_.pdf). (Erişim Tarihi: 13.11.2014)

**Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (1998).** *Viral Gastroenteritis*. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/gastro.html> (Erişim Tarihi: 10.11.2023)

**Celik B, Kale M (2020).** Serodetection Bovine Herpesvirus Types 1, 4 and Bovine Parainfluenza Virus Type 3 Infections in Milk of Cows with Clinical Mastitis Based in Dairy Cattle Management in Turkey. *Ann. Res. Rev. Biol.*, **35(1)**, 30-38.

**Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2003).** Hepatitis A outbreak associated with green onions at a restaurant-Monaca, Pennsylvania, 2003. *Morb. Mortal Wkly. Rep.*, **52**, 1155–1157.

**Chancellor DD, Tyagi S, Bazaco MC, Bacvinskas S, Chancellor MB, Dato VM, De Miguel F (2006).** Green onions: potential mechanism for hepatitis A contamination. *J. Food Prot.*, **69**, 1468–1472.

**Cliver DO (1997).** Hepatitis A from strawberries: who's to blame? *Food Technol.*, **51(6)**, 132.

**Cliver DO (1998).** Transmisión de Virus a través de los Alimentos. *Food Technol.*, **42**, 241-248.

**Coelho C, Heinert AP, Simoes CM, Barardi CR (2003).** Hepatitis A virus detection in oysters (*Crassostrea gigas*) in Santa Catarina state, Brazil, by reverse transcriptionpolymerase chain reaction. *J. Food. Prot.*, **66**, 507–511.

**Collier MG, Khudyakov YE, Selvage D, Adams-Cameron M, Epton E, Cronquist A, Jervis RH, Lamba K, Kimura AC, Sowadsky R, Hasan R, Parki SY, Garza E, Elliott AJ, Rotstein DS, Beal J, Kuntz T, Lance SE, Dreisch R, Wise ME, Nelson NP, Suryaprasad A, Drobeniuc J, Holmber SD, Xu F (2014).** Outbreak of hepatitis A in the USA associated with frozen pomegranate arils imported from Turkey: an epidemiological case study. *Lancet. Infect. Dis.*, **14**, 976–981.

**Conaty S, Bird P, Bell G, Kraa E, Grohmann G, McAnulty JM (2000).** Hepatitis A in New South Wales, Australia from consumption of oysters: the first reported outbreak. *Epidemiol. Infect.*, **124**, 121–130.

**Cook N, Williams L, D'Agostino M. (2019).** Prevalence of norovirus in produce sold at retail in the United Kingdom. *Food Microbiol.*, **79**, 85-89.

**Costa-Mattioli M, Di Napoli A, Ferré V, Billaudel S, Perez-Bercoff R, Cristina J (2003).** Genetic variability of hepatitis A virus. *J. Gen. Virol.*, **84**, 3191-3201.

**Costantini V, Loisy F, Joens L, Le Guyader FS, Saif LJ. (2006).** Human and animal enteric caliciviruses in oysters from different coastal regions of the United States. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72(3)**, 1800–1809.

**Coşkun AG, Demircioğlu A, Temelli S, Eyigör A (2021).** Gıda ve su kaynaklı önemli viral enfeksiyonların güncel durumu ve korunma stratejileri. *Food and Health*, **7(3)**, 227-241.

**Cowden JM, Wall PG, Adak G, Evans H, Le Baigue S, Ross D. (1995).** Outbreaks of foodborne infectious intestinal disease in England and Wales: 1992 and 1993. *Communicable disease report. CDR review*, **5(8)**, 109-117.

**Croci L, De Medici D, Scalfaro C, Fiore A, Divizia M, Donia D, Cosentino AM, Moretti P, Costantini G (2000).** Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and *Escherichia coli* in Adriatic sea mussels. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 293–298.

**Cromeans T, Nainan OV, Fields HA, Favorov MO, Margolis HS (1994).** *Hepatitis A and B viruses*. In: Hui Y.H., Gorham J.R., Murrell K.D., Cliver D.O. (eds): *Foodborne Disease Handbook*. Editör: Marcel Dekker, New York, 1–55.

- Cuevas-Ferrando E, Randazzo W, Perez-Cataluna A, Sanchez G (2020).** HEV occurrence in waste and drinking water treatment plants. *Front. Microbiol.*, **10**, 2937.
- Cuthbert JA (2001).** Hepatitis A: Old and new. *Clin. Microbiol. Rev.*, **14**, 38–58.
- Dang AK, Anand SK (2007).** Effect of milking systems on the milk somatic cell counts and composition. *Livest. Res. Rural Dev.*, **19**, 1-9.
- Dang AK, Kapila S, Singh C, Sehgal JP (2008).** Milk differential cell counts and compositional changes in cows during different physiological stages. *Milchwissenschaft*, **63**, 239-242.
- Deboosere N, Legeay O, Caudrelier Y, Lange M (2004).** Modelling effect of physical and chemical parameters on heat inactivation kinetics of hepatitis A virus in a fruit model system. *Int. J. Food Microbiol.*, **93**, 73-85.
- Demirci M, Yiğın A, Eser N, Dinç H (2018).** Sularda insan enfeksiyonları ile ilişkili norovirus genogruplarının real-time PCR yöntemi ile saptanması. *J. Am Vet Med Ass.*, **29(2)**, 121-126.
- Dhanashekar R, Akkinapalli S, Nellutla A (2012).** Milk-borne infections. An analysis of their potential effect on the milk industry. *Germs*, **2(3)**, 101.
- Di Cola G, Fantilli AC, Pisano MB, Ré VE (2021).** Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review. *Int. J. Food Microbiol.*, **338**, 108986.
- Di Martino B, Marsilio F, Di Profio F, Lorusso E, Friedrich KG, Buonavoglia C, Martella V (2010).** Detection of antibodies against norovirus genogroup GIV in carnivores. *Clin. Vaccine Immunol.*, **17(1)**, 180–182.
- Di Martino B, Di Profio F, Di Felice E, Melegari I, Ceci C, Mauroy A, Theyry E, Martella V, Marsilio F. (2014a).** Genetic heterogeneity of bovine noroviruses in Italy. *Arch. Virol.*, **159(10)**, 2717–2722.
- Di Martino B, Di Profio F, Ceci C, Di Felice E, Green KY, Bok K, de Grazia S, Giammanco GM, Massirio I, Lorusso E, Buonavoglia C, Marsilio F, Martelle V. (2014b).** Seroprevalence of norovirus genogroup IV antibodies among humans, Italy, 2010-2011. *Emerg. Infect. Dis.*, **20(11)**, 1828–1832.
- Dik I, Bulut O, Avcı O, Hasoksuz M, Palancı HS, Aslım HP, Bulut Z. (2023).** Molecular detection and characterization of bovine noroviruses from cattle in Konya, Turkey. *Pak. Vet. J.*, **43(1)**, 67-72.
- Dimmock NJ, Easton AJ, Leppard KN (2001).** *Introduction to modern virology*, 6th edition, Malden, MA, USA: Blackwell Publishing, s: 1-480.
- Dolin R, Blacklow NR, DuPont H, Buscho RF, Wyatt RG, Kasel JA, Hornick R, Chanock RM (1972).** Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **140**, 578-583.

**Donnan EJ, Fielding JE, Gregory JE, Lalor K, Rowe S, Goldsmith P, Antoniou M, Fullerton KE, Knope K, Copland JG, Bowden DS, Tracy SL, Hogg GG, Tan A, Adamopoulos J, Gaston J, Vally H (2012).** A multistate outbreak of hepatitis A associated with semidried tomatoes in Australia, 2009. *Clin. Infect. Dis.*, **54**, 775–781.

**Dotzauer A, Gebhardt U, Bieback K, Göttke U, Kracke A, Mages J, Lemon SM, Vallbracht A (2000).** Hepatitis A virus-specific immunoglobulin A mediates infection of hepatocytes with hepatitis A virus via the asialoglycoprotein receptor. *J. Virol.*, **74**, 10950–10957.

**Dotzauer A, Brenner M, Gebhardt U, Vallbracht A. (2005).** IgA-coated particles of Hepatitis A virus are translocated antivectorially from the apical to the basolateral site of polarized epithelial cells via the polymeric immunoglobulin receptor. *J. Gen. Virol.*, **86**, 2747–2751.

**Doultree JC, Druce JD, Birch CJ, Bowden DS, Marshall JA (1999).** Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J. Hosp. Infect.*, **41**, 51-57.

**Dror DK, Allen LH (2011).** The importance of milk and other animal-source foods for children in low-income countries. *Food Nutr. Bull.*, **32(3)**, 227-243.

**Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De Groot A, Twisk F, Koopmans M. (2004).** Inactivation of caliciviruses. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70(8)**, 4538–43.

**El-Senousy WM, Pintó RM, Bosch A (2004).** *Epidemiology of human enteric viruses in the Cairo water environment.* Paper presented at the 1st International Conference of Environmental Research Division on Sustainable Development Environmental Challenges Facing Egypt. National Research Centre, Cairo.

**El-Senousy WM, Shalaby M, Deeb AM, Alhawary II (2020a).** Thermal inactivation of hepatitis A virus, noroviruses, and simian rotavirus in cows' milk. *Food Environ. Virol.*, **12**, 310-320.

**El-Senousy WM, Abu Senna ASM, Mohsen NA, Hasan SF, Sidkey NM (2020b).** Clinical and environmental surveillance of rotavirus common genotypes showed high prevalence of common P genotypes in Egypt. *Food Environ. Virol.*, **12(2)**, 99–117.

**Elviss NC, Allen DJ, Kelly D, Akello JO, Hau S, Fox AJ, Hopkins M, Derrick J, O'Brien S, Iturriza-Gomara M (2022).** Norovirus attribution study: Detection of norovirus from the commercial food preparation environment in outbreak and non-outbreak premises. *J. Appl. Microbiol.*, **133(6)**, 3391-3403.

**Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH (2005).** Thermal stability of hepatitis E virus. *J. Infect. Dis.*, **192**, 930-933.

**EN ISO 15216-1:2017. (2017).** *Microbiology of the Food Chain—Horizontal Method for Determination of Hepatitis a Virus and Norovirus Using Real-Time Rt-Pcr-Part1: Method for Quantification.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2017.

**EN ISO 15216-2:2019. (2019).** *Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for Determination of Hepatitis A Virus and Norovirus Using Real-Time Rt-Pcr- Part2: Method for Detection.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2019.

**Engering A, Hogerwerf L, Slingenbergh J (2013).** Pathogen-host-environment interplay and disease emergence. *Emerg. Microbes Infect.*, **2**, e5.

**Ethelberg S, Lisby M, Böttiger B, Schultz AC, Villif A, Jensen T, Olsen KE, Scheutz F, Kjelso C, Muller L (2010).** Outbreaks of gastroenteritis linked to lettuce, Denmark, January 2010. *Euro Surveill.*, **15**, 19484.

**Ettayebi K, Hardy ME (2003).** Norwalk virus nonstructural protein p48 forms a complex with the SNARE regulator VAP-A and prevents cell surface expression of vesicular stomatitis virus G protein. *J. Virol.*, **77(21)**, 11790–11797.

**Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Zeng XL, Qu L, Kou B, Opekun AR, Burrin D, Graham Dv, Ramani S, Atmar RL, Estes MK (2016).** Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Sci.*, **353(6306)**, 1387–1393.

**European Commission (2004).** *Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin.* *Off. J. Eur. Union*, L139: 55–205; Corrigendum: *Off. J. Eur. Union*, L226: 22–82.

**European Food Safety Authority (EFSA) (2006).** Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to the public health risks of feeding farmed animals with ready-to-use dairy products without further treatment. *EFSA J.*, **340**, 1–58.

**European Food Safety Authority. (2014).** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA J.*, **12**, 1–312.

**Farkas T, Nakajima S, Sugieda M, Deng X, Zhong W, Jiang X (2005).** Seroprevalence of noroviruses in swine. *J. Clin. Microbiol.*, **43(2)**, 657–661.

**Faye B, Konuspayeva G (2012).** The sustainability challenge to the dairy sector—The growing importance of non-cattle milk production worldwide. *Int. Dairy J.*, **24(2)**, 50–56.

**Feng Z, Hirai-Yuki A, McKnight KL, Lemon SM (2014).** Naked viruses that aren't always naked: quasi-enveloped agents of acute hepatitis. *Annu. Rev. Virol.*, **1**, 539–560.

**Fernandez MD, Torres C, Poma HR, Riviello-Lopez G, Martinez LC, Cisterna DM, Rajal VB, Nates SV, Mbayed VA (2012).** Environmental surveillance of norovirus in Argentina revealed distinct viral diversity patterns, seasonality and spatio-temporal diffusion processes. *Sci. Total Environ.*, **437**, 262–269.

**Ferragut F, Vega CG, Mauroy A, Conceicao-Neto N, Zeller M, Heylen E, Uriarte EL, Bilbao G, Bok M, Matthijssens J, Thiry E, Badaracco A, Parreno V (2016).** Molecular detection of bovine noroviruses in Argentinean dairy calves: circulation of a tentative new genotype. *Infect. Genet. Evol.*, **40**, 144–150.

**Fiore AE (2004).** Hepatitis A transmitted by food. *Clin. Infect. Dis.*, **38**, 705–715.

**Fischer Walker CL, Perin J, Aryee MJ, Boschi-Pinto C, Black RE (2012).** Diarrhea incidence in low- and middle-income countries in 1990 and 2010: a systematic review. *BMC Public Health*. **12**, 220.

**Fraisse A, Temmam S, Deboosere N, Guillier L, Delobel A, Maris P, Vialette M, Morin T, Perelle S (2011).** Comparison of chlorine and peroxyacetic-based disinfectant to inactivate Feline calicivirus, Murine norovirus and Hepatitis A virus on lettuce. *Int. J. Food Microbiol.*, **151**, 98-104.

**Franco E, Meleleo C, Serino L, Sorbara D, Zaratti L (2012).** Hepatitis A: epidemiology and prevention in developing countries. *World J. Hepatol.*, **4**, 68–73.

**Gagneux P, Varki A (1999).** Evolutionary considerations in relating oligosaccharide diversity to biological function. *Glycobiology*, **9**, 747–755.

**Gallot C, Grout L, Roque-Afonso AM, Couturier E, Carrillo-Santistevé P, Pouey J, Letort MJ, Hoppe S, Capdepon P, Saint-Martin S, De Valk H, Vaillant V (2011).** Hepatitis A associated with semidried tomatoes, France, 2010. *Emerg. Infect. Dis.*, **17**, 566–567.

**Geneurova V, Hanns O, Gabriel B, Zvackova I (1993).** Somatic cell counts of milk in relation to production factors. *Mod. Zivoč. Vyroba*, **38**, 359-367.

**Gerosa S, Skoet J (2012).** *Milk availability – trends in production and demand and medium-term outlook*. Rome (Italy): FAO, United Nations. <http://www.fao.org/docrep/015/an450e/an450e00.pdf>. (Erişim Tarihi: 10.11.2023)

**Gibson KE (2014).** Viral pathogens in water: occurrence, public health impact, and available control strategies. *Curr. Opin. Virol.*, **4**, 50–57.

**Gillespie IA, Adak GK, O'brien SJ, Bolton FJ (2003).** Milkborne general outbreaks of infectious intestinal disease, England and Wales, 1992–2000. *Epidemiol. Infect.*, **130**(3), 461-468.

**Gillespie BE, Lewis MJ, Boonyayatra S, Maxwell ML, Saxton A, Oliver SP, Almeida RA (2012).** Short communication: Evaluation of bulk tank milk microbiological quality of nine dairy farms in Tennessee. *J. Dairy Sci.*, **95**, 4275-4279.

**Grace D, Dominguez-Salas P, Alonso S, Lannerstad M, Muunda E, Ngwili N, Omar A, Khan M, Otopo E (2017).** The influence of livestock-derived foods on the nutrition of mothers and infants during the first 1,000 days of a child's life. Research Report 44. International Livestock Research Institute, Nairobi, Kenya.

**Gray J, Desselberger U (2009).** *Viruses other than Rotaviruses associated with acute diarrhoeal disease.* Eds: Arie J. Zuckerman, Jangu E. Banatvala, Barry D. Schoub, Paul D. Griffiths, Philip Mortimer. In: *Principles and Practice of Clin Virology* (6th Ed.), Singapore: John Wiley & Sons, Ltd., s: 355-372.

**Green MJ, Bradley AJ, Newton H, Browne WJ (2006).** Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: Investigations of the summer rise. *Prev. Vet. Med.*, **74**(4), 293-308.

**Greening GE, Cannon JL (2016).** Human and animal viruses in food (including taxonomy of enteric viruses). *Viruses in Foods*, **26**, 5-57.

**Guyton A, Hall J (2000).** *Textbook of Medical Physiology*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s: 1-1120.

**Hadler SC, Webster HM, Erben JJ, Swanson JE, Maynard JE (1980).** Hepatitis A in day-care centers. A community-wide assessment, *N. Engl. J. Med.*, **302**, 1222–1227.

**Hall AJ, Wikswo ME, Pringle K, Gould LH, Parashar UD (2014).** Vital signs: foodborne norovirus outbreaks—United States, 2009–2012. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, **63**(22), 491.

**Halliday LM, Kang LY, Zhou TK, Hu MD, Pan QC, Fu TY, Huang YS, Hu SL (1991).** An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J. Infect. Dis.*, **164**, 852–859.

**Hardstaff JL, Clough HE, Lutje V, McIntyre KM, Harris JP, Garner P, O'Brien SJ (2018).** Foodborne and food-handler norovirus outbreaks: a systematic review. *Foodborne Pathog. Dis.*, **15**(10), 589-597.

**Haskell MJ, Langford FM, Jack MC, Sherwood L, Lawrence AB, Rutherford KMD (2009).** The effect of organic status and management practices on somatic cell counts on UK dairy farms. *J. Dairy Sci.*, **92**(8), 3775-3780.

**Hassan AN, Frank, JF (2011).** *Microorganisms associated with milk. Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition. (Editor-in-Chief Fuquay J.W.) USA: Academic Press, s: 447- 457.

**Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, Gibb HJ, Hald T, Lake RJ, Praet N, Bellinger DC, de Silva NR, Gargouri N, Speybroeck N, Cawttein C, Angulo FJ, Devleeschauwer B (2015).** World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS Medicine*, **12**(12), e1001923.

**Hellmer M, Paxéus N, Magnus L, Enache L, Arnholm B, Johansson A, Bergstöröm T, Norder H (2014).** Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis A virus and norovirus outbreaks. *Appl. Environ. Microbiol.*, **80**(21), 6771-6781.

**Hempen M, Unger F, Münstermann S, Seck MT, Niamey V (2004).** *The Hygienic Status of Raw and Sour Milk from Smallholder Dairy Farms and Local Markets and Potential Risk for Public Health in The Gambia, Senegal and 39 Guinea.* Animal Health Research Working Paper No. 3. International Trypano Tolerance Centre, Banjul, Gambia, ss: 54.

**Hennechart-Collette C, Fourniol L, Fraisse A, Martin-Latil S, Perelle S (2023).** Evaluation of a Proteinase K-Based Extraction Method to Detect Hepatitis A Virus, Hepatitis E Virus and Norovirus in Artificially Contaminated Dairy Products. *Foods*, **12(7)**, 1489.

**Herlekar DA, Shashikant CS, Gurjar AA, Jayarao BM (2013).** Presence of viral and bacterial organisms in milk and their association with somatic cell counts. *J. Dairy Sci.*, **96(10)**, 6336-6346.

**Hewitt J, Greening GE (2004).** Survival and persistence of norovirus, hepatitis A virus, and feline calicivirus in marinated mussels. *J. Food Prot.*, **67**, 1743–1750.

**Hewitt J, Rivera-Aban M, Greening GE (2009).** Evaluation of murine norovirus as a surrogate for human norovirus and hepatitis A virus in heat inactivation studies. *J. Appl. Microbiol.*, **107(1)**, 65-71.

**Hillerton JE (1999).** Redefining mastitis based on somatic cell count. *IDF. Bull.*, **345**, 4-6.

**Hirai-Yuki A, Hensley L, Whitmire JK, Lemon SM (2016).** Biliary secretion of quasi-enveloped human hepatitis A virus. *MBio.* **7**, e01998.

**Hirneisen KA, Hoover DG, Kniel KE (2009).** Isolation and infectivity of potential foodborne viral pathogens by immunomagnetic capture. *Food Prot. Trends*, **29(9)**, 564-570.

**Hollinger FB, Emerson SU (2007).** *Hepatitis A virus.* In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin M, Roizman B, Straus SE (eds) *Fields virology*, 5th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, ss: 911–947.

**Horm KM, Harte FM, D'Souza DH (2012).** Human norovirus surrogate reduction in milk and juice blends by high pressure homogenization. *J. Food Prot.*, **75(11)**, 1984-1990.

**Hu X, Collier MG, Xu F (2020).** Hepatitis A outbreaks in developed countries: detection, control, and prevention. *Foodborne Pathog. Dis.*, **17**, 166–171.

**Jacobsen KH, Koopman JS (2004).** Declining hepatitis A seroprevalence: a global review and analysis, *Epidemiol. Infect.*, **132**, 1005–1022.

**Jacobsen K, Wiersma ST (2010).** Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005, *Vaccine*, **28(41)**, 6653-6657.

**Jayarao BM, Donaldson SC, Straley BA, Sawant AA, Hegde NV, Brown JL (2006).** A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. *J. Dairy Sci.*, **89(7)**, 2451-2458.

**Jean J, Vachon JF, Moroni O, Darveau A, Kukavica-Ibrulj I, Fliss I (2003).** Effectiveness of commercial disinfectants for inactivating hepatitis A virus on agri-food surfaces, *J. Food Prot.*, **66**, 115–119.

**Jiang X, Wang M, Wang K, Estes MK (1993).** Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology*, **195(1)**, 51–61.

**Joshi SS, Su X, D’Souza DH (2015).** Antiviral effects of grape seed extract against feline calicivirus, murine norovirus, and hepatitis A virus in model food systems and under gastric conditions. *Food Microbiol.*, **52**, 1-10.

**Jothikumar N, Cromeans TL, Sobsey MD, Robertson BH (2005).** Development and evaluation of a broadly reactive TaqMan assay for rapid detection of hepatitis A virus. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 3359-3363.

**Junior L, Ferreira JE, Lange CC, Brito MAVP, Santos FR, Silva MAS, Souza GND (2012).** Relationship between total bacteria counts and somatic cell counts from mammary quarters infected by mastitis pathogens. *Cienci. Rural*, **42**, 691-696.

**Kapikian AZ, Gerin JL, Wyatt RG, Thornhill TS, Chanock RM (1973).** Density in cesium chloride of the 27 nm “8FIIa” particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis: determination by ultra-centrifugation and immune electron microscopy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142(3)**, 874–877.

**Karst SM, Wobus CE, Goodfellow IG, Green KY, Virgin HW (2014).** Advances in norovirus biology. *Cell Host Microbe*, **15(6)**, 668–680.

**Karst SM, Zhu S, Goodfellow IG. (2015).** The molecular pathology of noroviruses. *J. Pathol.*, **235(2)**, 206–216.

**Katen SP, Tan ZN, Chirapu SR, Finn MG, Zlotnick A (2013).** Assembly-directed antivirals differentially bind quasiequivalent pockets to modify hepatitis B virus capsid tertiary and quaternary structure. *Struct.*, **21**, 1406-1416.

**Keeffe EB (2004).** Occupational risk for hepatitis A: a literature-based analysis. *J. Clin. Gastroenterol.*, **38**, 440–448.

**Kele B (2011).** *Comparative molecular genetic studies of nucleic acid detection in human noroviruses.* Ph. Thesis, Institute of Clinical Microbiology, Albert Szent-Györgyi Clinical Center, Faculty of Medicine, University of Szeged. ss: 1-51.

**Kennedy BW, Sethar MS, Tong AKW, Moxley JE, Downey BR (1982)** Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holsteins. *J. Dairy Sci.*, **65**, 275-280.

**Keyvan E, Kahraman HA, Şen E, Yurdakul Ö (2018).** Viral gıda enfeksiyonlarında korunma ve kontrol. *Türkiye Klinikleri J. Food Hyg. Technol-Special Topics*, **4(1)**, 54-60.

**Kim MS, Koo ES, Choi YS, Kim JY, Yoo CH, Yoon HJ, Kim TO, Choi HB, Kim JH, Choi JD, Park KS, Shin Y, Kim YM, Ko G, Jeong YS (2016).** Distribution of human norovirus in the coastal waters of South Korea. *PLoS ONE*, **11(9)**, e016800.

**Kingsley DH (2013).** High pressure processing and its application to the challenge of virus- contaminated foods. *Food Environ. Virol.*, **5**, 1–12.

**Kirk JH (2005).** *The effect of poor quality raw milk on finished products.* Extension Veterinarian School of Veterinary Medicine University of California Davis Tulare, CA.

**Türk Gıda Kodeksi (2000).** Çiğ süt ve ısıtılmış süt ve süt ürünleri için içme sütleri tebliği. *Tarih*, **14**, 2000-23964.

**Koopmans M, Duizer E (2004).** Foodborne viruses: An emerging problem. *International J. Food Microbiol.*, **90**, 23-41.

**Kotwal G, Cannon JL (2014).** Environmental persistence and transfer of enteric viruses. *Curr. Opin. Virol.*, **4**, 37–43.

**Kuang Y, Tani K, Synnott AJ, Ohshima K, Higuchi H, Nagahata H, Tanji Y (2009).** Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by culture-independent PCR–DGGE method. *Biochem. Eng. J.*, **45(1)**, 76-81.

**Lanford RE, Feng Z, Chavez D, Lemon SM (2011).** Acute hepatitis A virus infection is associated with a limited type I interferon response and persistence of intrahepatic viral RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **108**, 11223–11228.

**Langer AJ, Ayers T, Grass J, Lynch M, Angulo FJ, Mahon BE (2012).** Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks, and state laws—United States, 1993–2006. *Emerg. Infect. Dis.*, **18(3)**, 385–391.

**Lee KB, Lee H, Ha SD, Cheon DS, Choi C (2012).** Comparative analysis of viral concentration methods for detecting the HAV genome using real-time RT-PCR amplification. *Food Environ. Virol.*, **4**, 68–72.

**Lemon SM, Ott JJ, Van Damme P, Shouval D. (2018).** Type A viral hepatitis: A summary and update on the molecular virology, epidemiology, pathogenesis and prevention. *J Hepatol.*, **68**, 167–184.

**Levett PN, Gu M, Luan B, Fearson M, Stubber J, Jamieson F, Petric M (1996).** Longitudinal study of molecular epidemiology of small round-structured viruses in a pediatric population. *J. Clin. Microbiol.*, **34**, 1497-1501.

**Lizasoain A, Tort LF, Garcia M, Gomez MM, Leite JP, Miagostovich MP, Cristina J, Berois M, Colina R, Victoria M (2015).** Sewage surveillance reveals the

presence of canine GVII norovirus and canine astrovirus in Uruguay. *Arch. Virol.*, **160**(11), 2839–2843.

**Lopman B, Vennema H, Kohli E, Pothier P, Sanchez A, Negredo A, Buesa J, Schreier E, Reacher M, Brown D, Gray J, Iturriza M, Gallimore C, Bottiger B, Hedlund KO, Torvén M, von Bonsdorff CH, Maunula L, Poljsak-Prijatelj M, Zimsek J, Reuter G, Szücs G, Melegh B, Svennson L, van Duynhoven Y, Koopmans M (2004).** Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet.* **363**(9410), 682-688.

**Maki Y, Kimizuka Y, Sasaki H, Yamamoto T, Hamakawa Y, Tagami Y, Miyata J, Hayashi N, Fujikura Y, Kawana A (2020).** Hepatitis A virus-associated fulminant hepatitis with human immunodeficiency virus coinfection. *J. Infect. Chemother.* **26**, 282-285.

**Marionneau S, Ruvoën N, Le Moullac-Vaidye B, Clement M, Cailleau-Thomas A, Ruiz-Palacois G, Huang P, Jiang X, Le Pendu J (2002).** Norwalk virus binds to histo-blood group antigens present on gastroduodenal epithelial cells of secretor individuals. *Gastroenterol.*, **122**, 1967-1977.

**Martella V, Campolo M, Lorusso E, Cavicchio P, Camero M, Bellacicco AL, Decaro N, Elia G, Greco G, Corrente M, Desario C, Arista S, Banyai, Koopmans M, Buonavoglia C (2007).** Norovirus in captive lion cub (*Panthera leo*). *Emerg. Infect. Dis.*, **13**(7), 1071–1073.

**Martella V, Lorusso E, Decaro N, Elia G, Radogna A, D'Abramo M, Desario C, Cavalli A, Camero M, Germinario CA, Banyai K, di Martino B, Marsilio F, Carmicheal LE, Buonavoglia C (2008).** Detection and molecular characterization of a canine norovirus. *Emerg. Infect. Dis.*, **14**(8), 1306–1308.

**Martella V, Decaro N, Lorusso E, Radogna A, Moschidou P, Amorisco F, Lucente MS, Desario C, Mari V, Elia G, Banyai K, Carmicheal LE, Buonavoglia C. (2009).** Genetic heterogeneity and recombination in canine noroviruses. *J. Virol.*, **83**(21), 11391–11396.

**Martella V, Pinto P, Buonavoglia C. (2011).** Canine noroviruses. *Vet. Clin. North Am. Small Anim.*, **41**(6), 1171–1181.

**Mathijs E, Stals A, Baert L, Botteldoorn N, Denayer S, Mauroy A, Scipioni A, Daube G, Dierick K, Herman L, van Coillie E, Uyttendaele M, Thiry E (2012).** A review of known and hypothetical transmission routes for noroviruses. *Food Environ. Virol.*, **4**(4), 131–152.

**Mattison K, Shukla A, Cook A, Pollari F, Friendship R, Kelton D, Bidawid S, Farber FM (2007).** Human noroviruses in swine and cattle. *Emerg. Infect. Dis.*, **13**(8), 1184–1188.

**Maunula L, Kaupke A, Vasickova P, Soderberg K, Kozyra I, Lazic S, van der Poel WH, Bouwknegt M, Rutjes S, Willems KA, Moloney R, D'Agostino M, de Roda Husman AM, von Bonsdorff CH, Rzezutka A, Pavlik I, Petrovic T, Cook N**

- (2013).** Tracing enteric viruses in the European berry fruit supply chain. *Int. J. Food Microbiol.*, **167**, 177–185.
- Mazri C, Sánchez L, Ramos SJ, Calvo M, Pérez MD (2012).** Effect of high-pressure treatment on denaturation of bovine lactoferrin and lactoperoxidase. *J. Dairy Sci.*, **95(2)**, 549–557.
- Mbithi JN, Springthorpe VS, Sattar SA (1990).** Chemical disinfection of hepatitis A virus on environmental surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 3601–3604.
- Mbithi JN, Springthorpe VS, Sattar, S. A. (1991).** Effect of relative humidity and air temperature on survival of hepatitis A virus on environmental surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1394-1399.
- McFadden N, Bailey D, Carrara G, Benson A, Chaudhry Y, Shortland A, Heeney J, Yarovinsky F, Simmonds P, MacDonald A, Goodfellow I (2011).** Norovirus regulation of the innate immune response and apoptosis occurs via the product of the alternative open reading frame 4. *PLoS Pathogens*, **7(12)**, e1002413.
- Meeroff JC, Schreiber DS, Trier JS, Blacklow NR (1980).** Abnormal gastric motor function in viral gastroenteritis. *Ann. Intern. Med.*, **92**, 370-373.
- Mesquita JR, Barclay L, Nascimento MS, Vinje J (2010).** Novel norovirus in dogs with diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.*, **16(6)**, 980–982.
- Mesquita JR, Nascimento MS (2012a).** Serosurvey of veterinary conference participants for evidence of zoonotic exposure to canine norovirus-study protocol. *Viol. J.*, **9**, 250.
- Mesquita JR, Nascimento MS (2012b).** Gastroenteritis outbreak associated with faecal shedding of canine norovirus in a Portuguese kennel following introduction of imported dogs from Russia. *Transbound. Emerg. Dis.*, **59(5)**, 456–459.
- Mesquita JR, Costantini VP, Cannon JL, Lin SC, Nascimento MS, Vinje J (2013).** Presence of antibodies against genogroup VI norovirus in humans. *Viol. J.*, **10**, 176.
- Mesquita JR, Delgado I, Costantini V, Heenemann K, Vahlenkamp TW, Vinje J, Nascimento MSJ (2014).** Seroprevalence of canine norovirus in 14 European countries. *Clin. Vaccine Immunol.*, **21(6)**, 898–900.
- Millard J, Appleton H and Parry JV (1987).** Studies on heat inactivation of hepatitis A virus with special reference to shellfish. *Epidemiol. Infect.*, **98**, 397-414.
- Miranda RC, Schaffner DW (2019).** Virus risk in the food supply chain. *Curr. Opin. Food Sci.*, **30**, 43-48.
- Msalya G (2017).** Contamination levels and identification of bacteria in milk sampled from three regions of Tanzania: Evidence from literature and laboratory analyses. Hindawi Veterinary Medicine International.

**Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D (2013).** Milk and Dairy Products in Human Nutrition. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

**Mukherjee J, Dang AK (2011).** Immune activity of milk leukocytes during early lactation period in high and low yielding crossbred cows. *Milchwissenschaft*, **66**, 384-388.

**Mukherjee J, Chaudhury M, Dang AK (2017).** Alterations in the milk yield and composition during different stages of lactation cycle in elite and non-elite KaranFries cross-bred cows (Holstein Friesian x Tharparkar). *Biol. Rhythm. Res.*, **48**, 499-506.

**Murinda SE, Nguyen LT, Ivey SJ, Gillespie BE, Almeida RA, Draughon FA, Oliver SP (2002).** Molecular characterization of Salmonella spp. isolated from bulk tank milk and cull dairy cow fecal samples. *J. Food Prot.*, **65**, 1100-1105.

**Murphy SC, Boor KJ (2000).** Sources and causes of high bacteria counts in raw milk: an abbreviated review. *Dairy Food Environ. Sanit.*, **20**, 1-4.

**Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS (2006).** Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach, *Clin. Microbiol. Rev.*, **19**, 63-79.

**Newman KL, Leon JS (2015).** Norovirus immunology: of mice and mechanisms. *Eur. J. Immunol.*, **45(10)**, 2742-2757.

**Nims R, Plavsic M (2013).** Inactivation of caliciviruses. *Pharm.*, **6(3)**, 358-392.

**Nishida T, Nishio O, Kato M, Chuma T, Kato H, Iwata H, Kimura H (2007).** Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two distinct sea areas in Japan. *Microbiol. Immunol.*, **51(2)**, 177-184.

**Niu MT, Polish LB, Robertson BH, Khanna BK, Woodruff BA, Shapiro CN, Miller MA, Smith JD, Gedrose JK, Alter MJ, Margolis HS (1992).** Multistate outbreak of hepatitis A associated with frozen strawberries. *J. Infect. Dis.*, **166**, 518-524.

**Nuanualsuwan S, Mariam T, Himathongkham S, Cliver DO (2002).** Ultraviolet inactivation of feline calicivirus, human enteric viruses and coliphages, *Photochem. Photobiol.*, **76**, 406-410.

**Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA (2005).** Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog. Dis.*, **2(2)**, 115-129.

**Otto PH, Clarke IN, Lambden PR, Salim O, Reetz J, Liebler-Tenorio EM (2011).** Infection of calves with bovine norovirus GIII.1 strain Jena virus: an experimental model to study the pathogenesis of norovirus infection. *J. Virol.*, **85(22)**, 12013-12021.

**Ouzilou L, Caliot E, Pelletier I, Prevost MC, Pringault E, Colbere-Garapin F (2002).** Poliovirus transcytosis through M-like cells. *J. Gen. Virol.*, **83**, 2177-2182.

- Pakbin B, Rossen JW, Brück WM, Montazeri N, Allahyari S, Dibazar SP, Abdolvahabi R, Mahmoudi R, Peymani A, Samimi R (2022).** Prevalence of foodborne and zoonotic viral pathogens in raw cow milk samples. *FEMS Microbiol., Lett.*, **369**(1), e108.
- Parron I, Alvarez J, Jane M, Razquin E, Guix S, Camps G, Perez C, Dominguez A (2019).** Working group for the study of outbreaks of acute gastroenteritis in Catalonia. A foodborne norovirus outbreak in a nursing home and spread to staff and their household contacts. *Epidemiol. Infect.*, **147**, 225.
- Pascoli F, Pezzuto A, Buratin A, Piovesana A, Fortin A, Arcangeli G, Toffan A (2016).** Efficacy of domestic cooking inactivation of human hepatitis A virus in experimentally infected manila clams (*Ruditapes philippinarum*). *J. Appl. Microbiol.*, **121**, 1163-1171.
- Payne JK, Hall M, Lutzke M, Armstrong C, King J (2006).** Multisite outbreak of norovirus associated with a franchise restaurant – Kent County, Michigan, May 2005. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, **55**, 395–397.
- Pebody RG, Leino T, Ruutu P, Kinnunen L, Davidkin I, Nohynek H, Leinikki P (1998).** Foodborne outbreaks of hepatitis A in a low endemic country: an emerging problem? *Epidemiol. Infect.*, **120**, 55–59.
- Petrignani M, Harms M, Verhoef L, van Hunen R, Swaan C, van Steenberg J, Boxman I, Peran ISR, Ober H, Vennema H, Koopmans M, van Pelt W (2010).** Update: a food-borne outbreak of hepatitis A in the Netherlands related to semidried tomatoes in oil, January-February 2010. *Euro Surveill.*, **15**, 19572.
- Petrignani M, Verhoef L, Vennema H, Van Hunen R, Baas D, Van Steenberg JE, Koopmans MPG (2014).** Underdiagnosis of foodborne hepatitis A, the Netherlands, 2008–2010. *Emerg. Infect. Dis.*, **20**, 596–602.
- Pexara A, Govaris A (2020).** Foodborne viruses and innovative non-thermal food-processing technologies. *Foods*, **9**(11), 1520.
- Pinto RM, Costafreda MI, Bosch A (2009).** Risk assessment in shellfish-borne outbreaks of hepatitis A. *Appl. Environ. Microbiol.*, **75**, 7350–7355.
- Pinto RM, Costafreda MI, Pérez-Rodriguez FJ, D'Andrea L, Bosch A (2010).** Hepatitis A virus: State of the art. *Food Environ. Virol.*, **2**, 127-135.
- Pinto P, Wang Q, Chen N, Dubovi EJ, Daniels JB, Millward LM, Buonavoglia C, Martella V, Saif LJ (2012).** Discovery and genomic characterization of noroviruses from a gastroenteritis outbreak in domestic cats in the US. *PLoS ONE*, **7**(2), e32739.
- Pollard, E.C. (1960).** Theory of the physical means of the inactivation of viruses. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **83**, 654-660.
- Polo D, Varela MF, Romalde JL (2015).** Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int. J. Food Microbiol.*, **193**, 43-50.

**Poma HR, Gutierrez Cacciabue D, Garce B, Gonzo EE, Rajal VB (2012).** Towards a rational strategy for monitoring of microbiological quality of ambient waters. *Sci. Total Environ.*, **433**, 98–109.

**Psychology of Medicine (2015).** *Hepatitis A*. <http://monsterologist.blogspot.com/2014/12/hepatitis-a.html>. (Erişim Tarihi: 10.11.2023)

**Qui F, Zheng H, Yi Y, Jia Z, Cao J, Bi S (2013).** Comparative evaluation of a novel TaqMan realtime reverse transcription-polymerase chain reaction assay for hepatitis A virus detection. *J. Int. Med. Res.*, **41(2)**, 427-434.

**Ramadan MF, Asker MMS (2009).** Antimicrobial and antiviral impact of novel quercetin-enriched lecithin. *J. Food Biochem.*, **33**, 557–571.

**Ramsay CN, Upton PA (1989).** Hepatitis A and frozen raspberries. *Lancet*, **1**, 43–44.

**Rapid Microbiology (2023).** *Foodproof Sample Preparation Kit IV (BIOTECON Diagnostic®)*, Potsdam, Germany). <https://www.rapidmicrobiology.com/news/foodproof-norovirus-gi-gii-plus-hepatitis-a-virus-detection-kit>. (Erişim Tarihi: 10.11.2023).

**Reid TM, Robinson HG (1987).** Frozen raspberries and hepatitis A. *Epidemiol. Infect.*, **98**, 109-112.

**Rice DN, Bodman GR (1997).** *The Somatic Cell Count and Milk quality, cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln*. G 93-1151-A, ss: 2-4.

**Rivera-Serrano EE, Gonzalez-Lopez O, Das A, Lemon SM (2019).** Cellular entry and uncoating of naked and quasi-enveloped human hepatoviruses. *eLife*, **8**, e43983.

**Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OM, Siegl G, Widell A, Margolis HS, Isomura S, Ito K, Ishizu T, Moritsugu Y, Lemon SM (1992).** Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J. Gen. Virol.*, **73**, 1365-1377.

**Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA (2015).** Norovirus. *Clin. Microbiol. Rev.*, **28(1)**, 134–164.

**Rodriguez-Lazaro D, Cook N, Ruggeri FM, Sellwood J, Nasser A, Nascimento MSJ, D'Agostino M, Santos R, Saiz JC, Rzezutka A, Bosch A, Girones R, Carducci A, Muscillo M, Kovac' K, Diez-Valcarcel M, Vantarakis A, von Bonsdorff CH, Husman AMR, Hernandez M, van der Poel WHM (2012).** Virus Hazards from Food, Water and Other Contaminated Environments. *FEMS Microbiol. Rev.*, **36**, 786–814.

**Roos YH (2020).** Water and pathogenic viruses inactivation—food engineering perspectives. *Food Eng. Rev.*, **12**, 251–267.

- Sanchez G, Bosch A, Pinto RM (2007).** Hepatitis A virus detection in food: Current and future prospects. *Lett. Appl. Microbiol.*, **45**, 1-5.
- Saravanan R, Das DN, De S, Panneerselvam S (2015).** Effect of season and parity on somatic cell count across zebu and crossbred cattle population. *Indian J. Anim. Res.*, **49**, 383-387.
- Sattar SA, Tetro J, Bidawid S, Farber J (2000).** Foodborne spread of hepatitis a: recent studies on virus survival, transfer and inactivation. *Can. J. Infect. Dis.*, **11**, 159–163.
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM (2011).** Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.*, **17**, 7–15.
- Scholz E, Heinricy U, Flehmig B (1989).** Acid stability of hepatitis A virus. *J. Gen. Virol.*, **70**, 2481-2485.
- Scipioni A, Mauroy A, Vinje J, Thiry E (2008a).** Animal noroviruses. *Vet. J.*, **178(1)**, 32–45.
- Scipioni A, Bourgot I, Mauroy A, Ziant D, Saegerman C, Daube G, Thiry E (2008b).** Detection and quantification of human and bovine noroviruses by a TaqMan RT-PCR assay with a control for inhibition. *Mol. Cell. Probes*, **22(4)**, 215–222.
- Seo DJ, Lee M, Jeon SB, Park H, Jeong S, Lee BH, Choi C (2017).** Antiviral activity of herbal extracts against the hepatitis A virus. *Food Control*, **72**, 9-13.
- Shafaei Novdeh J, Narenji Sani R, Staji H, Jebelli Javan A, Hasjemyadeh H (2020).** Relationship between bulk tank milk somatic cell count and bovine viral diarrhea status in dairy farms in Semnan. *Iran. J. Vet. Res.*, **16(1)**, 40-48.
- Shalaby MM, El-Senousy WM, Deeb AMM, Alhawary II, Sobeih AMK (2017).** Detection of enteroviruses in raw milk by nested RT-PCR. *Glob. Vet.*, **18(4)**, 294–297.
- Sharma N, Singh NK, Bhadwal MS (2011).** Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian Aust. J. Anim. Sci.*, **24**, 429-438.
- Shukla S, Cho H, Kwon OJ, Chung SH, Kim M (2018).** Prevalence and evaluation strategies for viral contamination in food products: Risk to human health- a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **58(3)**, 405-419.
- Silva MR, Ferreira FC, Maranhão AG, Lanzarini NM, de Carvalho Castro KN, Miagostovich MP (2021).** Assessment of Viral Contamination of Five Brazilian Artisanal Cheese Produced from Raw Milk: a Randomized Survey. *Food Environ. Virol.*, **13**, 528-534.
- Simsek O, Gültekin R, Oksüz O, Kurultay S (2000).** The effect of environmental pollution on the heavy metal content of raw milk. *Die Nahrung*, **44(5)**, 360-363.
- Sobsey MD, Shields PA, Hauchman F, Davis A, Rullman V, Bosch A (1988).** *Survival and persistence of hepatitis A virus in environmental samples.* In:

Zuckermann A (ed) Viral hepatitis and liver disease. New York: Alan Liss, ss: 121–124.

**Song HS, Li J, Shi S, Yan L, Zhuang H, Li K (2010).** Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture. *Viol. J.*, **7(40)**, 1-12.

**Sökel S, Kale M (2019).** Investigation of Norovirus genogroups (GI, GII and GIV) in stool of pet dogs with diarrhea. *Pesqui. Vet. Bras.*, **39**, 402-408.

**Sprenger M (2014).** *More Can Be Done to Stop “Silent Disease” of Hepatitis.* Parliam. Mag. URL <https://www.theparliamentmagazine.eu/articles/news/more-can-be-done-stop-silent-disease-hepatitis>. (Erişim tarihi: 11.11.2023)

**Stals A, Baert L, Van Coillie E, Uyttendaele M (2012).** Extraction of food-borne viruses from food samples: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, **153**, 1–9.

**Stene-Johansen K, Jonassen TØ, Skaug K (2005).** Characterization and genetic variability of hepatitis A virus genotype IIIA. *J. Gen. Virol.*, **86**, 2739-2745.

**Suffredini E, Lanni L, Arcangeli G, Pepe TJ, Mazzette R, Ciccaglioni G, Croci L (2014).** Qualitative and quantitative assessment of viral contamination in bivalve molluscs harvested in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, **184**, 21–26.

**Summa M, von Bonsdorff CH, Maunula L (2012).** Pet dogs—a transmission route for human noroviruses? *J. Clin. Virol.*, **53(3)**, 244–247.

**Syridion D, Layek SS, Behera K, Mohanty TK, Kumaresan A, Manimaran A, Dang AK, Prasad S (2012).** Effects of parity, season, stage of lactation, and milk yield on milk somatic cell count, pH and electrical conductivity in crossbred cows reared under subtropical climatic conditions. *Milchwissenschaft*, **67**, 362-365.

**Takanashi S, Hashira S, Matsunaga T, Yoshida A, Shiota T, Tung PG, Khamrin P, Okitsu S, Mizuguchi M, Igarashi T, Ushijima H (2009).** Detection, genetic characterization, and quantification of norovirus RNA from sera of children with gastroenteritis. *J Clin Virol.*, **44**, 161-163.

**Tan DM, Lyu SL, Liu W, Zeng XY, Lan L, Qu C, Zhuge SY, Zhong YX, Xie YH, Li XG (2018).** Utility of droplet digital PCR assay for quantitative detection of norovirus in shellfish, from production to consumption in Guangxi, China. *Biomed. Environ. Sci.*, **31(10)**, 713-720.

**Temelli S, Şerbetcioğlu T (2011).** Bir süt işletmesinde işlenen inek sütlerinde somatik hücre sayısının dört yıllık periyottaki değişiminin incelenmesi. *Uludağ Univ. Vet. Fak. Derg.*, **30(1)**, 1-7.

**Terpstra FG, Van Den Blink AE, Bos LM, Boots AG, Brinkhuis FH, Gijzen E, Van Remmerden Y, Schuitemaker H, Van't Wout AB (2007).** Resistance of surface-dried virus to common disinfection procedures, *J. Hosp. Infect.*, **66**, 332–338.

**Terzi G, Albayrak H, Siriken B, Cadirci O, Okur-Gumusova S, Yazici Z (2010).** Detection of enteroviruses and hepatitis A virus RNA in cow milk by RT-PCR. *Acta Vet.*, **60(2-3)**, 197-204.

**Topaloğlu N, Güneş H (2005).** İngiltere de yetiştirilen Siyah-Alaca sığırların süt verimi özellikleri üzerinde araştırmalar. *İstanbul. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **31(1)**, 149-164.

**Tricco AC, Pham B, Duval B, De Serres G, Gilca V, Vrbova L, Anonychuk A, Krahn M, Moher D (2006).** A review of interventions triggered by hepatitis A infected food-handlers in Canada. *BMC Health Serv. Res.*, **6**, 1-7.

**Troeger H, Loddenkemper C, Schneider T, Schreier E, Epple HJ, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD (2009).** Structural and functional changes of the duodenum in human norovirus infection. *Gut*, **58**, 1070-1077.

**Tse H, Lau SK, Chan WM, Choi GK, Woo PC, Yuen KY (2012).** Complete genome sequences of novel canine noroviruses in Hong Kong. *J. Virol.*, **86(17)**, 9531-9532.

**Türk Standartları Enstitüsü (2007).** *Süt-Somatik Hücrelerin Sayımı-Bölüm 2: Elektronik Tanecik Sayıcı Metot.* ISO 13366-2/AC:2006. ss: 1-13.

**Türk Standartları Enstitüsü (2008)** *Süt-Somatik Hücrelerin Sayımı-Bölüm 2: Floro-Opto-Elektronik Sayıcı İşlemleri İçin Rehber.* ISO 13366-2/AC:2008. ss: 1-4.

**Türk Standartları Enstitüsü (2013).** *ISO/TS 15216-2:2013. Gıda ve hayvan yemlerinin mikrobiyolojisi-Gerçek zamanlı RT-PCR kullanılan gıdalarda hepatitis A ve norovirusun tayini için yatay yöntem-Bölüm 2: Kalitatif tespiti için yöntem.* ss: 1-54.

**Ueki Y, Shoji M, Suto A, Tanabe T, Okimura Y, Kikuchi Y, Saito N, Sano D, Omura T (2007).** Persistence of caliciviruses in artificially contaminated oysters during depuration. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73(17)**, 5698-5701.

**Ushijima H, Okitsu S, Khamrin P. (2011).** Calicivirus. *Uirusu*, **61(2)**, 193-203.

**Ushijima H., Fujimoto T, Müller WE, Hayakawa S (2014).** Norovirus and foodborne disease: a review. *Food Safety*, **2(3)**, 37-54.

**van Boekel M, Fogliano V, Pellegrini N, Stanton C, Scholz G, Lalljie S, Somoza V, Knorr D, Jasti PR, Eisenbrand G (2010).** A review on the beneficial aspects of food processing. *Mol. Nutr. Food Res.*, **54**, 1215-1247.

**Van Schaik G, Lotem M, Schukken YH (2002).** Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. *J. Dairy Sci.*, **85(4)**, 782-789.

**Velebit B, Djordjevic V, Milojevic L, Babic M, Grkovic N, Jankovic V, Yushina Y (2019).** The common foodborne viruses: A review. In *IOP Conference Series: Earth Environ. Sci.*, **333(1)**, e012110.

- Vinje J. (2015).** Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *J. Clin. Microbiol.*, **53(2)**, 373–381.
- Vishnoi PC, Dang AK, Kapila S (2007).** In vitro phagocytic activity of neutrophils in blood, normal and infected milk of Murrah buffaloes. *Buffalo J.*, **1**, 51-59.
- Visioli F, Strata A (2014).** Milk, dairy products, and their functional effects in humans: a narrative review of recent evidence. *Adv. Nutr.*, **5(2)**, 131-143.
- Vissio C, Bouman M, Larriestra AJ (2018).** Milking machine and udder health management factors associated with bulk milk somatic cell count in Uruguayan herds. *Prev. Vet. Med.*, **150**, 110-116.
- Volking DB, Burke CJ, Marfia KE, Oswald CB, Wolanski B, Middaugh CR (1997).** Size and conformational stability of the hepatitis A virus used to prepare VAQTA, a highly purified inactivated vaccine. *J. Pharm. Sci.*, **86**, 666–673.
- Wang QH, Han MG, Cheetham S, Souza M, Funk JA, Saif LJ (2005).** Porcine noroviruses related to human noroviruses. *Emerg. Infect. Dis.*, **11(12)**, 1874–1881.
- Wang QH, Souza M, Funk JA, Zhang W, Saif LJ (2006).** Prevalence of noroviruses and sapoviruses in swine of various ages determined by reverse transcription-PCR and microwell hybridization assays. *J. Clin. Microbiol.*, **44(6)**, 2057–2062.
- Wang QH, Costantini V, Saif LJ (2007).** Porcine enteric caliciviruses: genetic and antigenic relatedness to human caliciviruses, diagnosis and epidemiology. *Vaccine*, **25(30)**, 5453–5466.
- Wellenberg GJ, van der Poel WH, Van Oirschot JT (2002).** Viral infections and bovine mastitis: a review. *Vet. Microbiol.*, **88(1)**, 27-45.
- Wheeler C, Vogt TM, Armstrong GL, Vaughan G, Weltman A, Nainan UV, Dato V, Xia G, Waller K, Amon J, Lee TM, Highbaugh-Battle A, Hembree C, Evenson S, Ruta MA, Wilia, Bell BP (2005).** An outbreak of hepatitis A associated with green onions. *N. Engl. J. Med.*, **353**, 890–897.
- Widdowson MA, Rockx B, Schepp R, van der Poel WH, Vinje J, van Duynhoven YT, Koopmans MP (2005).** Detection of serum antibodies to bovine norovirus in veterinarians and the general population in the Netherlands. *J. Med. Virol.*, **76(1)**, 119–128.
- Wigginton KR, Pecson BM, Sigstam T, Bosshard F, Kohn T (2012).** Virus Inactivation Mechanisms: Impact of Disinfectants on Virus Function and Structural Integrity. *Environ. Sci. Technol.*, **46**, 12069-12078.
- Wilkes G, Brassard J, Edge TA, Gannon V, Gottschall N, Jokinen CC, Jones TH, Han IUH, Marti R, Sunohara MD, Topp E, Lapen DR. (2014).** Long-term monitoring of waterborne pathogens and microbial source tracking markers in paired agricultural watersheds under controlled and conventional tile drainage management. *Appl. Environ. Microbiol.*, **80(12)**, 3708–3720.

**Wolf S, Williamson W, Hewitt J, Lin S, Rivera-Aban M, Ball A, Scholes P, Savill M, Greening GE (2009).** Molecular detection of norovirus in sheep and pigs in New Zealand farms. *Vet. Microbiol.*, **133**(1–2), 184–189.

**World Health Organization (2014).** Health Topics: Hepatitis. Geneva, Switzerland. Available from: <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/> (Erişim Tarihi: 09.12.2014)

**Wu R, Griffiths MW (2014).** *Development of Novel Methods for the Concentration and Detection of Foodborne Hepatitis A virus* (Doctoral dissertation, University of Guelph), ss: 1-261.

**Wu R, Xing X, Corredig M, Meng B, Griffiths MW (2019).** Concentration of hepatitis A virus in milk using protamine-coated iron oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) magnetic nanoparticles. *Food Microbiol.*, **84**, e103236.

**Wu R, Meng B, Corredig M, Griffiths MW (2023).** Rapid Detection of Hepatitis A Virus in Foods Using a Bioluminescent Assay in Real-Time (BART) and Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Technology. *Food Environ. Virol.*, **15**(2), 144-157.

**Yan H, Yagyu F, Okitsu S, Nishio O, Ushijima H (2003).** Detection of norovirus (GI, GII), Sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J. Virol. Methods*, **114**(1), 37–44.

**Yavarmanesh M, Alum A, Abbaszadegan M (2015).** Occurrence of Noroviruses and their correlation with microbial indicators in raw milk. *Food Environ. Virol.*, **7**, 232–238.

**Yılmaz H, Bostan K, Turan N, Muratoglu K, Yılmaz A, Ozkul AA, Kocazeybek B, Helps C (2010).** Real-time PCR detection of norovirus in mussels collected from the Bosphorus in Istanbul, Turkey. *Food Environ. Virol.*, **2**, 64-68.

**Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS (2006).** Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virol.*, **346**(2), 312–323.

**Zhou Y, Wylie KM, El Feghaly RE, Mihindikulasuriya KA, Elward A, Haslam DB, Leylek GB, Weinstock GM (2016).** Metagenomic approach for identification of the pathogens associated with diarrhea in stool specimens. *J. Clin. Microbiol.*, **54**(2), 368–375.

