

**TAVUK ETLERİNDE *Salmonella* spp'NİN
İMMUNOMANYETİK SEPARASYON ve
GELENEKSEL YÖNTEM KULLANILARAK
BELİRLENMESİ**

Mehmet YÜKSEL

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Selahattin SERT
2013
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TAVUK ETLERİNDE *Salmonella* spp'NİN İMMUNOMANYETİK
SEPARASYON ve GELENEKSEL YÖNTEM KULLANILARAK
BELİRLENMESİ

Mehmet YÜKSEL

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2013

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

TAVUK ETLERİNDE *Salmonella* spp.'NİN İMMUNOMANYETİK SEPARASYON
ve GELENEKSEL YÖNTEM KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Selahattin SERT danışmanlığında, Mehmet YÜKSEL tarafından hazırlanan bu çalışma 16/09/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr.Selahattin SERT

İmza :

Üye : Prof.Dr.Orhan ERDOĞAN

İmza :

Üye : Doç.Dr.Bülent ÇETİN

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2012/252

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TAVUK ETLERİNDE *Salmonella* spp.'NİN İMMUNOMANYETİK SEPARASYON ve GELENEKSEL YÖNTEM KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Mehmet YÜKSEL

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Selahattin SERT

Bu çalışmada tavuk etlerinde *Salmonella* spp. varlığını araştırmak amacıyla geleneksel yöntem (ISO 6579) ve immünomanyetik separasyon (IMS) yöntemi kullanılmıştır. İmmünomanyetik separasyon ve geleneksel yöntemde kullanılan XLD ve XLT4 agar seçici katı besiyerleri, hem de geleneksel yöntemde kullanılan RVB ve SCB selektif zenginleştirme sıvı besiyerleri izole edilen *Salmonella* spp. pozitif sonuçlar açısından değerlendirilmiştir. 30 tavuk parçası örneğinin (10 ciğer, 10 göğüs, 10 baget) 16'sından (%53,3) *Salmonella* spp. izole edilmiştir. Analiz bulguları sonucunda IMS yöntemiyle 30 örneğin 13'ü (%43,3), geleneksel yöntem ile 15'i (%50) *Salmonella* spp. pozitif olarak bulunmuştur. Bunun yanısıra, geleneksel yöntemle *Salmonella* spp. belirlenemeyen 1 örnek IMS yöntemiyle pozitif bulunurken, IMS yöntemiyle belirlenemeyen 2 örnek geleneksel yöntemle pozitif bulunmuştur. Geleneksel yöntemin hassasiyeti %93,75 iken, IMS yönteminin hassasiyeti %81,25 olarak belirlenmiştir. Geleneksel yöntemin selektif zenginleştirme basamağında kullanılan RVB sıvı besiyeri, SCB besiyerinden daha etkili olmuştur. Her iki yöntemde Selektif katı besiyeri olarak kullanılan XLD ve XLT4 agar arasında çok önemli bir fark görülmezken, hem IMS hem de geleneksel yöntemde XLD agarın daha etkili olduğu görülmüştür.

İzole edilen *Salmonella* spp. API 20E biyokimyasal test kitiyle %99,9 olasılıkla doğrulanmış, API 20E test kitinin geleneksel biyokimyasal doğrulama testlerine göre %100 hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir.

Ayrıca tavuk eti örneklerinde Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), maya-küf, psikrotrof bakteri, koliform bakteri, *Enterococcus* sayımı da yapılmıştır. Tavuk ciğeri, göğüsü sırasıyla TAMB sayısı 7,35 log kob/g, 7,39 log kob/g, psikrotrof bakteri sayısı 6,52 log kob/g, 6,51 log kob/g, koliform bakteri sayısı 3,26 log kob/g, 3,19 log kob/g, maya-küf sayısı 6,23 log kob/g, 7,43 log kob/g seviyesinde belirlenmiştir. Bagetlerde yıkama sıvısı (100 ml) dikkate alınarak TAMB 9,81, psikrotrofik bakteri 8,32, koliform bakteri 5,67, maya-küf 7,50 log kob/baget şeklinde belirlenmiştir. Toplam 30 tavuk parçasından 13 (%43) tanesinde *Enterococcus* spp. İzole edilmiştir. Tavuk ciğerinde 3 (%30) , tavuk göğüsünde 4 (%40) ve tavuk bagetinde 6 (%60) örnekten pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

2013, 71 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Salmonella*, tavuk eti, immünomanyetik separasyon (IMS), ISO 6579

ABSTRACT

MS Thesis

DETERMINATION OF *Salmonella* spp. IN CHICKEN MEATS USING IMMUNO MAGNETIC SEPARATION AND CONVENTIONAL METHOD

Mehmet YÜKSEL

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Selahattin SERT

In this study, conventional (ISO 6579) and immunomagnetic separation (IMS) methods were used for the investigation of presence of *Salmonella* spp. in chicken meat samples. XLD and XLT4 selective agars that used in immunomagnetic separation and conventional methods were compared in terms of positive results. RVB and SCB selective enrichment broths that used in conventional method were also evaluated.

Salmonella spp. were isolated as positive in the 16 of 30 (53.3) chicken meat samples (10 baguettes, 10 livers, 10 chests). As a result of the analysis, *Salmonella* spp. were found positive in the 13 of 30 (43.3%) samples by IMS method and in the 15 of 30 (50%) samples by conventional method. Also, *Salmonella* spp. not determined in one sample by conventional method while, were as positive by IMS method. Conversely, *Salmonella* spp. were found positive in two samples by conventional method that not found by IMS. Sensitivity of the conventional method which was determined as 93.75%, whilst sensitivity of the IMS method was determined as 81.25%. RVB that used for selective enrichment step of the conventional method and it was more effective from than SCB. There was not a significant difference between the XLD and XLT4 agar that used as a selective solid medium for both methods. But, XLD agar was found more effective in both methods.

Isolated *Salmonella* spp. were identified 99.9% probability using API 20E biochemical test kit and this kit showed 100% accuracy according to conventional identification method.

Furthermore, total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), yeast-mold, psychotropic bacteria, coliform bacteria and *Enterococcus* spp. were counted in chicken meat samples. The count of TAMB 7.35, 7.39 log cfu/g, the count of psychotropic bacteria 6.52, 6.51 log cfu/g, the count of coliform bacteria 3.26, 3.19 log cfu/g, the count of yeast-mold 6.23, 7.43 were determined in chicken liver, chicken chest, respectively. On the other hand, the counting results (TAMB 9.81, psychotropic bacteria 8.32, coliform bacteria 5.67, yeast-mold 7.50 cfu/b) in the chicken baguettes were determined considering rinsing water (100 ml). *Enterococcus* spp. were isolated in the 13 of the total 30 (43%) chicken meat samples. *Enterococcus* spp. were isolated in the 3 (30%) chicken liver, 4 (40%) chicken chest and 6 (60%) chicken baguette.

2013, 71 pages

Keywords: *Salmonella*, chicken meat, immunomagnetic separation (IMS), ISO 6579

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bir gıda üreticisi veya bir gıda tüketicisi olabilirsiniz. İster tüketici ister üretici olun bir şekilde *Salmonella* bakterisini duymuşsunuzdur. Çünkü gıda zehirlenmelerinde en sık rastlanan bakterilerin başında *Salmonella* bakterisi gelir. İşte tam bu bağlamda *Salmonella*'yı tanımak, tanımlamak, belirlemek çok büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada, tavuk etlerinde *Salmonella*'ların varlığının geleneksel kültür ve immunomanyetik separasyon yöntemi kullanılarak saptanması, elde edilen verilerin her iki yöntem açısından yorumlanması amaçlanmıştır. Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi 2012/252 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) ile desteklenmiştir.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikiminden faydalandığım, beraber çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli, danışmanım Sayın Prof. Dr. Selahattin SERT'e,

Çalışmalarım süresince, bilgisini ve deneyimlerini her zaman çok cömertçe paylaşan ve her manada yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Bülent ÇETİN'e,

Çalışmalarım esnasında gerek maddi gerek manevi desteklerini hissettiğim çok değerli arkadaşlarım Fatih İRTEM'e ve Fatih UÇAR'a,

Her zaman desteklerini gördüğüm çok değerli Aileme TEŞEKKÜR EDERİM.

Bu tez çalışmasını tanıştığımız ilk günden itibaren her konuda yanımda olan ve sürekli desteğini hissettiğim Eşim Arzu KAVAZ'a İTHAF EDERİM.

Mehmet YÜKSEL

Ağustos 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	28
3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Çalışmada kullanılan tavuk etleri	28
3.1.2. Genel mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve kimyasallar	28
3.1.2.a. Dilüsyon sıvısı	29
3.1.2.b. Plate Count Agar.....	29
3.1.2.c. Violet Red Bile Agar	29
3.1.2.d. Potato Dextrose Agar.....	29
3.1.2.e. Kanamycin Esculin Azide Agar.....	29
3.1.3. <i>Salmonella</i> spp. izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan materyaller... 30	
3.1.3.a. Tamponlanmış Peptonlu Su	30
3.1.3.b. Rappaport-Vassiliadis Enrichment Buyyon	30
3.1.3.c. Selenite Cystine Broth Base.....	30
3.1.3.d. Xylose Lysine Deoxycholate Agar	30
3.1.3.e. Xylose Lysine Tergitol-4 Agar	31
3.1.3.f. Triple Sugar Iron Agar	31
3.1.3.g. Lysine Iron Agar.....	31
3.1.3.h. Dynabeads® anti-Salmonella	32
3.1.3.i. Phosphate Buffered Saline.....	32
3.1.3.j. IMS yönteminde kullanılan DynaMag™-2 Magnet.....	32
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Genel mikrobiyolojik analizler	34
3.2.1.a. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı	34
3.2.1.b. Psikrotrof bakteri sayımı.....	34
3.2.1.c. Koliform bakteri sayımı sayımı	34
3.2.1.d. Maya-küf sayımı	35
3.2.1.e. Enterekok bakteri sayımı	35
3.2.2. <i>Salmonella</i> spp. izole aşamaları.....	35
3.2.2.a. Geleneksel kültür yöntemi	35
3.2.2.b. İmmünomanyetik separasyon (IMS) yöntemi.	38
3.2.3. İzole edilen <i>Salmonella</i> spp'lerin identifikasyonu ..	39
3.2.3.a. Geleneksel biyokimyasal identifikasyon.	39
3.2.3.b. API 20E biyokimyasal test kiti ile <i>Salmonella</i> spp. identifikasyonu.....	40
3.2.4. İstatistiksel analizler	41

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	42
4.1. Genel mikrobiyolojik analizlerin sonuçları	42
4.1.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı	42
4.1.2. Psikrotrofik bakteri (PB) sayısı	44
4.1.3. Koliform bakteri sayısı	45
4.1.4. Enterekok bakteri (EB) sayısı	47
4.1.5. Maya-küf sayısı	48
4.2. Geleneksel yöntem ve IMS yöntemi analiz sonuçları	48
4.2.1. İzole edilen <i>Salmonella</i> spp'lerin identifikasyon sonuçları	52
4.3. Geleneksel yöntem ve IMS yönteminin karşılaştırılması	55
5. SONUÇ	61
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	72

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
kg	Kilogram
g	Gram
ml	Mililitre
L	Litre
°C	Santrigrat derece
µl	Mikro litre
b	Baget
cfu	colony-forming unit
kob/g	Koloni oluşturan birim/gram
kob/b	Koloni oluşturan birim/baget
log	Logaritma
pH	Power of hydrogen-Potansiyel hidrojen
TAMB	Toplam aerobik bakteri
PB	Psikrotrof bakteri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Gıda zehirlenmelerinde sebep olan önemli bakteriler.....	3
Şekil 2.1. Gıda kaynaklı hastalıkların etmenleri.....	7
Şekil 2.2. Gıda kaynaklı <i>Salmonella</i> salgınlarının kaynakları.....	9
Şekil 2.3. Elektron mikroskopunda Dynabeadlerle bağlanmış T hücresi (1) ve <i>E.coli</i> O157 (2).....	23
Şekil 2.4. IMS yönteminin genel prensibi.....	25
Şekil 3.1. IMS yönteminde kullanılan DynaMag™-2 Magnet.....	33
Şekil 3.2. XLT4 agarda üreyen tipik şüpheli koloniler.....	36
Şekil 3.3. Triple Sugar Iron Agar'da ve Lysine Iron Agar'da <i>Salmonella</i> spp. görünümü.....	40
Şekil 4.1. Tavuk parçası örneklerinde geleneksel yöntem, IMS ve her iki yöntemle elde edilen <i>Salmonella</i> spp. pozitif sonuçların dağılım.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Tavuk etinin genel bileşimi.....	2
Çizelge 2.1. 2012 yılı ve 2013 yılı ABD’de <i>Salmonella</i> salgınları.....	5
Çizelge 2.2. <i>Salmonella</i> tür ve alt türleri.....	10
Çizelge 2.3. <i>Salmonella</i> spp. için biyokimyasal özellikler.....	13
Çizelge 2.4. <i>Salmonella</i> spp. için üreme özellikleri.....	14
Çizelge 2.5. Gıda mikrobiyolojisinde bazı IMS uygulamaları.....	27
Çizelge 3.1. <i>Salmonella</i> spp.'nin geleneksel yöntemle aranması.....	37
Çizelge 3.2. <i>Salmonella</i> spp.’nin IMS yöntemiyle aranması.....	39
Çizelge 4.1. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde TAMB sayım sonuçları.....	42
Çizelge 4.2. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde PB sayım sonuçları.....	44
Çizelge 4.3. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde koliform sayım sonuçları.....	45
Çizelge 4.4. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde EB sayım sonuçları.....	47
Çizelge 4.5. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde maya-küf sayım sonuçları.....	48
Çizelge 4.6. Geleneksel yöntem ve IMS yöntemiyle izole edilen <i>Salmonella</i> spp. pozitif örneklerin dağılımı.....	49
Çizelge 4.7 Tavuk göğsü, tavuk ciğeri, tavuk bageti örneklerinde izole edilen <i>Salmonella</i> spp. pozitif örneklerin yöntemlere göre dağılımı.....	49
Çizelge 4.8. RVB ve SCBB ile izole edilen <i>Salmonella</i> spp.'nin örneklere dağılımı.....	50
Çizelge 4.9. <i>Salmonella</i> spp. izolasyonunda kullanılan XLT4 ve XLD selektif katı besiyerlerindeki pozitif örneklerin dağılımı.....	51
Çizelge 4.10. Geleneksel yöntem ve IMS yönteminin duyarlılıkları.....	51
Çizelge 4.11. API 20E test kiti için değerlendirme kriterleri.....	53
Çizelge 4.12. API 20E test kitinde kullanılan reaktifler.....	54

1. GİRİŞ

Dünya kanatlı eti tüketimi genel olarak piliç, hindi, ördek, kaz, bıldırcın ve devekuşu etlerinden oluşmaktadır. Dünya genelinde kanatlı eti tüketimi içinde tavuk eti tüketimi %70, hindi eti yaklaşık %8 ve diğer kanatlılar %22 oranında yer almaktadır (Çetin 2006).

FAO (2013) verilerine göre Türkiye 2011 yılında 1 618 350 ton tavuk eti üretimi gerçekleştirmiştir. 2000 yılında bu miktar 643 436 ton olduğu dikkate alınarak on onbir yıldaki bu artışın ülkemizde tavukçuluk sektörünün önemli mesafeler kat ettiğini göstermektedir. Dünya tavuk üretiminde Amerika Birleşik Devletleri, Çin, Brezilya, Meksika, Rusya en yüksek üretime sahip olan ülkelerdir. Türkiye, 2004 yılı FAO verilerine göre Dünya piliç üretiminde 207 ülke arasında 17.sırada yer alırken, 2013 verileri itibariyle 9. sıradadır. Dünya tavuk üretimine kıtalar bazında bakıldığında Amerika kıtası birinci sırada yer alırken, Okyanusya son sıradadır. Piliç eti tüketimi ABD’de yıllık kişi başına 43,2, Kanada’da 30,1, Rusya’da 22,9, Avrupa Birliğinde 18,1, Türkiye’de ise 19,3 kg’dır (Anonymous 2013a).

Kanatlı sektörünün son yıllarda bu denli gelişmesindeki en önemli etkenler yemi ete dönüştürme verimliliğinin artırılması ve yetiştirme süresinin kısalmasıdır. Tavukçulukta 1,9 kg yemle 1 kg tavuk eti üretilirken, sığırlarda 10 kg yemle 1 kg sığır eti üretilmektedir. Ayrıca yetiştirilen civcivler 45 gün içerisinde kesime uygun büyüklüğe gelmektedir. Ülkemizde her geçen gün gerileyen kırmızı et üretimi ile oluşan hayvansal protein açığı, tavuk etinin üretiminin artışı ile dengelenebilmiştir. Tavuk eti ucuz, sağlıklı ve besleyici bir gıdadır. Yüksek protein ve düşük yağ içeriğine sahip olması ve uygun bir doymamış yağ asidi kompozisyonu sergilemesi tavuk etinin beslenme değerini artırmaktadır (Koçak vd 2005).

Kanatlı etleri, besin değerleri bakımından diğer etlere benzerler. Ancak, daha az yağ içerdiklerinden dolayı da enerji değerleri koyun ve sığır etlerine oranla düşüktür. Doymuş yağ ve kolesterol oranı da daha düşüktür. Genel olarak tavuk eti, koyun ve sığır etlerinden

daha fazla protein içeriğine sahiptir. Ancak demir içeriği daha düşüktür. Ayrıca tavuk eti, riboflavin, niasin, B₆ ve B₁₂ vitaminleri açısından zengin besinler arasında yer almaktadır (Baysal 2012).

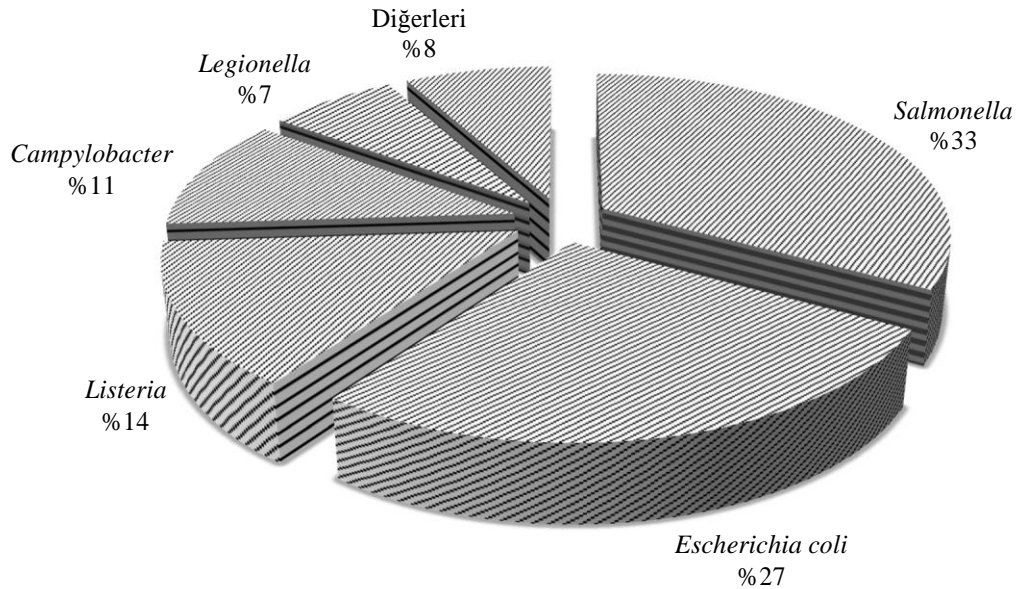
Çizelge 1.1. Tavuk etinin genel bileşimi (100 gram) (Anonymous 2013b)

Bileşen	Miktar (gram)
Su	66,2
Yağ	15,1
Karbonhidrat	0,0
Protein	18,7

Tavuk etinin ekonomimizdeki ve beslenmemizdeki yeri her geçen gün artmaktadır. Ancak bileşimi ve işleme basamakları gereği hızlı bozulma ve gıda kaynaklı hastalıklara sebep olma durumu söz konusudur. Bozulmaya uygunluğu nedeniyle raf ömrü oldukça düşüktür. Piliçlerde raf ömrüne enzimatik aktivitenin katkısı olmakla beraber, asıl etken bakteriyel gelişmedir. Bakteriyel kontaminasyonun kaynakları arasında hayvanın derisi (1 cm²'de yaklaşık 1,5x10³ kob bakteri içerir), işletmede hijyen kurallarına uygunluk, işçi ve ambalaj materyali gibi farklı etkenler sıralanabilmektedir. İşleme boyunca gerçekleştirilen kesim, haşlama, tüy yolma, yıkama, iç organların çıkarılması gibi aşamalarda da kanatlı karkası birçok mikroorganizma ile kontamine olmaktadır. Genel olarak tavuk ve tavuk ürünlerine kontamine olan mikroorganizmalar içerisinde *Campylobacter*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Clostridium*, *Yersinia*, *Shigella* ve *Salmonella* gibi bakteri cinsleri, funguslardan ise *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Yarrowia*, *Aspergillus* cinslerine ait türlerin izolasyon ve identifikasyonları bildirilmektedir (Çetin 2006).

Kanatlı eti yüksek besleyici değere sahip kompozisyonuna ilave olarak, uygulanan kesim işlemi, pH değeri, redoks potansiyeli ve muhafaza sıcaklığına bağlı olarak patojen ve bozulmaya neden olan birçok mikroorganizmanın kontaminasyonu ve gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Etlik piliçlerde pH değeri göğüs etinde 5,7-5,9, butta 6,4-6,7, deride yaklaşık 6,6'dır. Kanatlı etlerinin a_w değeri 0,98-0,99 arasındadır. Tüm bu özellikleriyle kanatlı eti aynı zamanda birçok mikroorganizmanın çoğalması için çok uygun bir ortam niteliğindedir. Kanatlı kesim işlemimin birçok aşamasında su kullanılması da mikroorganizmaların gelişimini arttıran diğer önemli bir faktördür (Yurdakul 2008).

Değişik ülkelerde yapılan çalışmaların sonuçları, kanatlı etlerinin başta *Salmonella* spp. ve *Campylobacter jejuni* olmak üzere, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi değişik patojen bakteriler ile önemli düzeyde kontamine olduğunu ve insanlarda görülen gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarında büyük rol oynadığını ortaya koymaktadır (Erol 2007).



Şekil 1.1. Gıda zehirlenmelerinde sebep olan önemli bakteriler (Lazcka *et al.* 2007)

Salmonella spp. kanatlı sektöründe gıda güvenliği açısından önemli bir risk faktörüdür. Bununla beraber gıda zincirinde en önemli *Salmonella* kaynağını kanatlılar oluşturmaktadır (Karapınar ve Gönül 2003).

Gerçekleştirilen bir çok araştırma, tavuk eti ve ürünlerinden gıda kaynaklı enfeksiyon ve zehirlenmelerinin başlıca etmenleri olan *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, patojenik *Escherichia coli* suşları ve *Bacillus cereus*'un sıkça izole edildiğini göstermektedir. Tavuklardan izole edilen patojenler arasında önem verilen ve üzerinde en çok durulanlar *Salmonella* serotipleri, *Campylobacter jejuni* ve diğer *Campylobacter* türleri, *Listeria monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri, *Clostridium perfringens* ve *Staphylococcus aureus*'tur. Çiğ tavuk etinden izole edilen diğer patojen bakteriler ise *Aeromonas*, *Shigella* ve *Streptococcus* türleri ile *Yersinia enterocolitica*'dır. Hayvanların uygun olmayan koşullarda kesimhanelere taşınması ve kesimhanelerde haşlama, tüy yolma ve soğutma aşamalarında meydana gelen çapraz kontaminasyonlar da enfeksiyonun yayılmasında önemli faktörlerdir. Tavukların bağırsaklarında *Salmonella* ve *Campylobacter* gibi enterik patojenler yüksek sayıda bulunabilmektedir. Bu nedenle iç organ çıkarma basamağı kontaminasyon riski açısından önemli bir noktadır. İşlem esnasında bağırsağın kesilmesi, delinmesi veya kullanılan aletin düzenli ve iyi bir şekilde temizlenip dezenfekte edilmemesi bu riski artırmaktadır (Şener ve Temiz 2004).

Salmonella ilk dikkat çektiği 1940'lardan günümüze kadar en önemli gıda ve su kaynaklı hastalık etkeni olarak bilinmektedir. Bu özelliğini bu gün dahi koruması dört faktöre bağlanmaktadır (Çetin 2006):

1. *Salmonella* izolatları arasındaki antimikrobiyal dirençliliğin artışı
2. *Salmonella* ile kontamine gıda üretiminin hala devam ediyor olması
3. Bağışıklık sistemi zayıf fertlerin toplumda artışı
4. Yumurta ve ürünlerinin kullanımının artışı şeklindedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Gıda patojenlerinin sebep olduğu hastalıklar insan sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. *Salmonella* insan sağlığını etkileyen gıda patojenleri arasında en sık görülenlerinden biridir. Bu bakteri et, süt, yumurta gibi hayvansal kaynaklı kontamine olmuş gıdalar aracılığıyla insanlara taşınmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri, gıda salgınlarının en yoğun yaşandığı bölgedir. Buna bağlı olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde salgınları önleme ve kontrol etme adına birçok sağlık ve araştırma merkezleri kurulmuştur (Newell *et al.* 2010).

2012 yılında, Hastalık Önleme ve Control Merkezi (CDC)'ne göre *Salmonella* ile kontamine olmuş gıdaların tüketimi sonucunda 12 *Salmonella* salgını meydana gelmiş ve bu salgınlardan yüzlerce kişi etkilenmiştir. Bu salgınların kontrol edilmesi ve salgından etkilenen insanların tıbbi tedavi masrafları binlerce dolar maliyet getirdiği belirtilmektedir (Anonymous 2013c).

Çizelge 2.1. 2012 yılı ve 2013 yılı ABD'de *Salmonella* salgınları (Anonymous 2013c)

2013 ilk 5 ay
1. Tahinli susamlı pasta – <i>Salmonella</i> Montevideo and <i>Salmonella</i> Mbandaka
2. Canlı kümes hayvanı– <i>Salmonella</i> Typhimurium
3. Canlı kümes hayvanı– <i>Salmonella</i> Infantis, <i>Salmonella</i> Lille, <i>Salmonella</i> Newport
4. Salatalık – <i>Salmonella</i> Saintpaul
5. Tavuk – <i>Salmonella</i> Heidelberg
6. Sığır bifteği – <i>Salmonella</i> Typhimurium

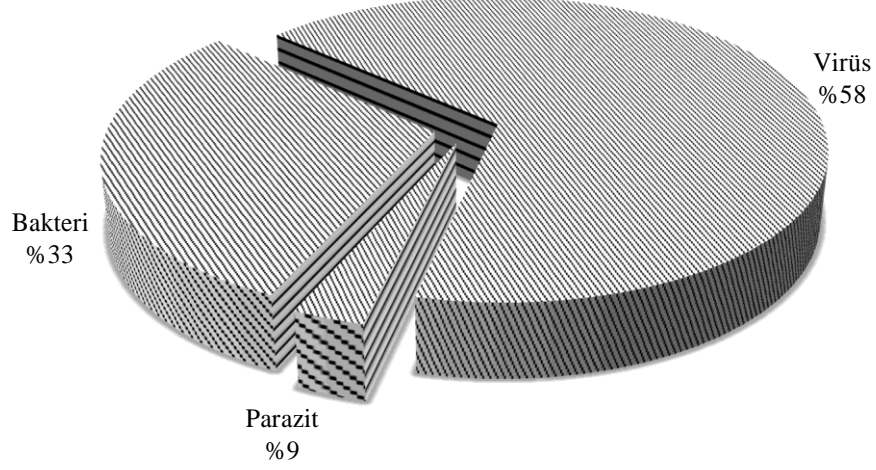
Çizelge 2.1 (Devam)

2012
1. Fıstık ezmesi – <i>Salmonella</i> Bredeney
2. Kirpi – <i>Salmonella</i> Typhimurium
3. Mango – <i>Salmonella</i> Braenderup
4. Kavun – <i>Salmonella</i> Typhimurium and <i>Salmonella</i> Newport
5. Sığır bifteği – <i>Salmonella</i> Enteritidis
6. Canlı kümes hayvanı – <i>Salmonella</i> Hadar
7. Canlı kümes hayvanı – <i>Salmonella</i> Montevideo
8. Canlı kümes hayvanı– <i>Salmonella</i> Infantis, <i>Salmonella</i> Newport, and <i>Salmonella</i> Lille
9. Köpek maması – <i>Salmonella</i> Infantis
10. Ton balığı ürünü – <i>Salmonella</i> Bareilly and <i>Salmonella</i> Nchanga
11. Kaplumbağa– <i>Salmonella</i> Sandiego, <i>Salmonella</i> Pomona, and <i>Salmonella</i> Poona
12. Bir Çin lokantası– <i>Salmonella</i> Enteritidis

Dünya Sağlık Örgütü'nün (World Health Organisation-WHO) bildirdiği verilere göre gıda kaynaklı hastalıkların artış gösterdiği ve endüstrileşmiş ülkelerde her yıl nüfusun %5-10'unun gıda kaynaklı hastalıklardan etkilendiği belirtilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Ofisi'nin tanımına göre, iki veya daha fazla kişinin aynı gıdayı tüketimi sonucunda benzer etkiler gösteren rahatsızlıklara gıda kaynaklı salgın denmektedir. Kurum, tek bir gıdanın doğrudan veya çapraz olarak da hastalığın etkeni olabileceğini de belirtmiştir (Anonymous 1997b; Allos *et al.* 2004).

Hastalık önleme ve kontrol merkezi (CDC) Amerika Birleşik Devletleri'nde her altı kişiden birinin gıda kaynaklı rahatsızlıklardan dolayı hastahaneye başvurduğunu ve 2011 yılında 3 000 kişinin bu rahatsızlıklardan dolayı hayatını kaybettiğini bildirmiştir. Gıda kaynaklı rahatsızlıkların %58'nin virüs, %33'ünün patojen bakteri, %9'unun ise parazit kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde *Salmonella* spp. ölümle

sonuçlanan gıda kaynaklı rahatsızlıkların ilk sebebi olarak görülmektedir (Anonymous 2013e).

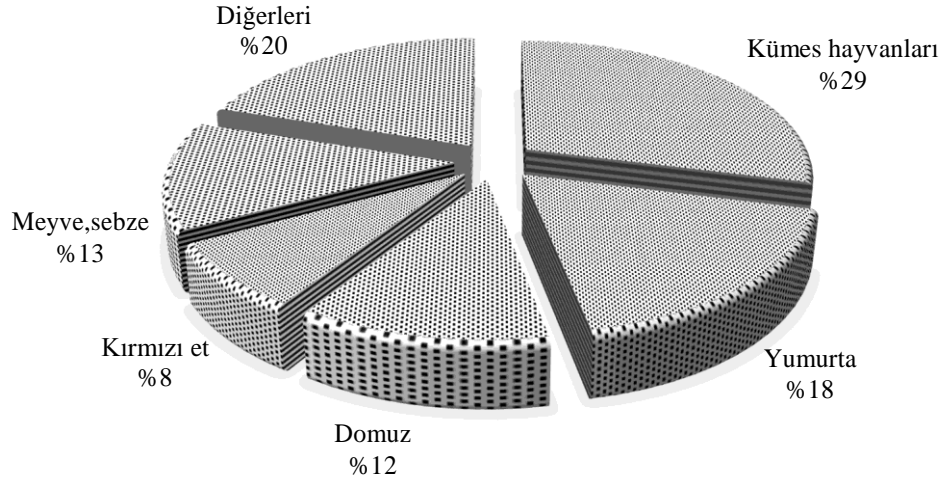


Şekil 2.1. Gıda kaynaklı hastalıkların etmenleri (Anonymous 2013e)

Gıda kaynaklı patojenler arasında en önemli yere sahip olan *Salmonella* uzun yıllardır hastalık yapıcı, veteriner kökenli bir bakteri olarak bilinmektedir. Bugün *Salmonella enterica* spp. *Cholerasuis* olarak anılan, *Bacterium cholerasuis*'i Daniel E. Salmon'un 1885 yılında izole ettiği günden bugüne kadar olan süreç içerisinde, *Salmonella*'ya bağlı olarak meydana gelen gastroenterit-tifoid hastalıklar ve zehirlenme vakaları toplum sağlığını tehdit ettiği görülmektedir. Dünyada her yıl *Salmonella*'ya bağlı olarak 16 milyon tifoid ateş, 1,3 milyon gastroenterit hastalık ve 3 milyon ölüm meydana gelmektedir (Bhunia 2008).

The European Food Safety Authority (EFSA)'ya ve The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)'ye göre 2010 yılında 27 üye ülkede yapılan araştırmalara göre 99 020 *Salmonella* vakası meydana gelmiş ve *Salmonella* vakaları diğer yıllara oranla artış göstermiştir.

Üye ülkelerde meydana gelen vakaların çoğunluğunun kümes hayvanlarından ve bu hayvanlardan elde edilen ürünlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. *Salmonella* vakaları en sık taze piliçlerde ve hindi etlerinde görülmüştür (Şireli 2010).



Şekil 2.2. Gıda kaynaklı *Salmonella* salgınlarının kaynakları (Anonymous 2013c)

Türkiyede *Salmonella* enfeksiyonları hakkında değerlendirme yapılmaya çalışıldığında yeterli veriye ulaşılamadığından sağlıklı bir sonuç ortaya çıkmamaktadır. Bu durumun temel sebebi, ulusal sağlık sistemimizde gelişmiş ülkelerdeki sistemlere benzer doğru ve sürekli veri akışını sağlayan hastalık bildirim merkezlerinin eksikliğidir. Genel olarak Türkiye'ye ait verilere uluslararası veritabanlarından ulaşmak mümkün olmaktadır. En sağlıklı veriler Dünya Sağlık Örgütü'nün 8. raporunda yer almaktadır. Raporda Türkiye'de 1999 senesinde 28 884 vaka ve %49,3 insidens olduğu, 2000 yılında ise 26 489 vaka ve insidensinin de %39,2 olduğu bildirilmektedir (Şireli 2010).

2008 yılında Türkiye'de Sarıgerme'de şekillendiği bildirilen bir salgında İngiltere'den gelen 100'e yakın turist *Salmonella* enfeksiyonu geçirdiği ve enfeksiyona neden olan sorumlu ürünün otelde servis edilen gıdaların yetersiz ısı işlem görmüş olduğu veya çapraz kontaminasyona maruk kaldığı belirtilmektedir (Disley 2008).

Salmonella spp. *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan Gram negatif, çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen fakültatif anaerob bakterilerdir. *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hariç tüm *Salmonella* türleri peritrik flagellaları ile hareket yeteneğine sahiptirler (Anonymous 2002).

Salmonella ilk kez tifoid basili olarak 1880 yılında Alman bakteriyologlar Ebert ve Koch tarafından tanımlanmış ve 1884 yılında Gaffky *Salmonella*'yı kültüre etmeyi başarmıştır. 1885 yılında Amerikalı veteriner hekim D. E. Salmon domuz vebasına neden olan domuz kolera mikroorganizmasını karakterize ederek *Bacterium suispestifer* olarak adlandırmıştır. Söz konusu bakterinin adı daha sonraki yıllarda *Salmonella choleraesuis* olarak değiştirilmiştir (Bell and Kyriakides 2002).

Salmonella bakterisinin sebep olduğu salmonellozis salgınının ilk defa laboratuvarında doğrulanması, 1888 yılında Gaertner tarafından sığırdan ve bu hayvanın etini tüketen bir insanın intestinal organlarından *Bacterium enteritidis*'in (*S. Enteritidis*) izole edilmesiyle gerçekleşmiştir (Bell and Kyriakides 2002).

Salmonella serotipleri adlarını yaptığı hastalıktan (*S. Enteritidis*), izole edildiği hayvandan (*S. Gallinarum*), hem izole edildiği hayvandan hem hastalıktan (*S. Typhimurium*), izole eden araştırmacıdan (*S. Schottmuelleri*), izole edildiği ülkeden veya bölgeden (*S. Panama*, *S. Kentucky*), şehirden (*S. İstanbul*, *S. Adana*), hastaneden (*S. Virchow*) alırlar. Bunlardan *S. İstanbul* ve *S. Adana* dünyada ilk kez Türkiye'de izole edilmişlerdir (Töreci ve Ang 1991; Mutlu vd 1999).

Salmonella'nın klasifikasyonu için antijenik şema ilk olarak 1926 yılında White tarafından önerilmiş ve 1941 yılında Kauffmann tarafından Kauffmann-White şeması olarak genişletilmiştir (D'Aoust 1997).

Çizelge 2.2. *Salmonella* tür ve alt türleri (Guibourdenche *et al.* 2010)

<i>Salmonella</i> Tür Ve Alt Türleri	Alt Tür Dahilinde Serotip Sayısı	Kaynakları
<i>S. enterica</i>		
<i>S.enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	1 547	Sıcak kanlı hayvanlar
<i>S.enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	513	Soğuk kanlı hayvanlar ve çevre
<i>S.enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	100	Soğuk kanlı hayvanlar ve çevre
<i>S.enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	341	Soğuk kanlı hayvanlar ve çevre
<i>S.enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)	73	Soğuk kanlı hayvanlar ve çevre
<i>S.enterica</i> subsp. <i>indica</i> (VI)	13	Soğuk kanlı hayvanlar ve çevre
<i>S. bongori</i>		
<i>S. bongori</i> (V)	23	Soğuk kanlı hayvanlar ve çevre
Toplam	2610	

Salmonella'ların sınıflandırılması, Kauffmann tarafından ortaya konulan O (somatik), H (flagellar) ve K (kapsüler) antijenlerinin serolojik tanımlanmasını esas almakta ve her serotip ayrı bir tür (*S. Paratyphi A*, *S. Newport*, *S. Enteritidis* vb.) olarak belirtilmektedir (Brenner *et al.* 2000).

Salmonella'nın 2007 yılına kadar belirlenen 2610 serotipi olduğu bildirilmektedir (Çizelge 2.2). 2003-2007 yılları arasında Dünya sağlık örgütü araştırmalar ve referanslar işbirliği merkezi tarafından 70 yeni *Salmonella* serotipi karakterize edilmiştir. 44 serotip *S. enterica* subsp. *enterica*, 11 serotip *S. enterica* subsp.*salamae*, 5 serotip *S. enterica* subsp.*arizonae*, 8 serotip *S. enterica* subsp.*diarizonae*, 1 serotip *S. enterica* subsp.*houtenae*, 1 serotip *S. bongori* şeklinde karakterize edilmiştir (Guibourdenche *et al.* 2010).

Salmonella'larda önem taşıyan dominant üç çeşit antijen bulunmaktadır. Bunlar; Somatik "O" antijenleri, Flagellar "H" antijenleri ve yüzeysel antijenlerdir. *Salmonella*'lar O antijenleri ile gruplara, H antijenleriyle de serovarlara ayrılır. O somatik antijenleri, bakterilerin hücre duvarındaki lipopolisakkarit katmanın polisakkarit biriminden ibarettir. Isıya, alkole (%96'lık alkole 4 saat) ve asite dirençlidirler. Formol etkisi ile aktiviteleri kaybolur veya çok azalır. Hareketli olsun veya olmasın tüm *Salmonella*'lar çoğu kez birden çok sayıda O antijeni bulundurur. *Salmonella* cinsi bakterilerde saptanmış 60'dan fazla ve değişik yapıda O antijenik grup vardır. *Salmonella*'lardaki O antijenlerinin bazıları *Escherichia*, *Citrobacter*, *Shigella* ve *Proteus* spp. gibi başka bakterilerde de bulunabilirler (Bilgehan 2004).

DNA hibridizasyon çalışmaları *Salmonella*'nın tek bir türden (*S. enterica*; bu mikroorganizma önceleri *S. choleraesuis* olarak isimlendirilmiştir) ibaret olduğunu göstermektedir. Bu tek cins yedi alt türe ayrılmaktadır. Ancak Judicial Commission of the International Committee on the Systematics of Prokaryotes tarafından yayınlanan belgede (Opinion 80) bazı özelliklerinin farklılığından dolayı bu yedi alt türden birisi olan *S. bongori*'nin tür seviyesine yükseltilmesi önerilmiştir. Dolayısıyla *Salmonella* cinsi *S. enterica* ve *S. bongori* olmak üzere iki ayrı türden oluşmaktadır (Tindall 2005; Çetin 2006).

Salmonella'lar yaygın olarak antijen yapılarına göre incelenip kendi aralarında sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırma Kauffman-White şeması esas alınarak yapılmaktadır. Bu semada mikroorganizma; somatik (O), flagella (H) ve kapsül (Vi) antijenlerine göre değerlendirilmektedir. Bahsedildiği üzere *Salmonella* 2600'den fazla serotipe sahiptir. Bu kadar çok serotipin bulunduğu bir cinsin sadece iki türü olması farklı suşların yazımında zorlukların yaşanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle son dönemlerde cins isminden sonra italik olmayacak biçimde serolojik adın yazılması önerilmektedir. Örneğin; "S. enterica subsp. enterica serovar Typhimurium" yerine sadece "*Salmonella* Typhimurium" yazılması uygun görülmektedir (Çetin 2006).

Salmonella 'ların besin ihtiyaçları oldukça basittir ve üremelerini destekleyen karbon ve nitrojen ihtiva eden çoğu besiyerinde üreyebilirler (Gast 2003).

Salmonella'lar fermentasyon yoluyla besinleri metabolize edebilme özelliğinden dolayı kemoorganotrofik bakterilerdir. Bu bakteriler D-glikoz ve diğer karbonhidratları asit ve gaz üretmek için katabolize ederler. Oksidaz, Voges-Proskauer, üreaz ve indol negatif olup katalaz pozitifdir. Nitratı nitrite indirgerler. Tipik *Salmonella* izolatları Triple Sugar Iron Agar'da (TSIA) glikozdan gaz ve asit üretirken, Brilliant Green Agar (BGA), Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) ve Hektoen Enteric (HE) agarlarda laktoz ve sakkarozu kullanmazlar. Ayrıca Lysine Iron Agar'da (LIA) kadaverin ile lizinin dekarboksilasyonu sonucu alkali reaksiyonların hızlı bir şekilde oluşumunu sağlamaktadırlar. Genel olarak TSIA ve LIA'da hidrojen sülfür ve gaz oluştururlar (D'Aoust 1997).

Çizelge 2.3. *Salmonella* spp. için biyokimyasal özellikler (Bolat 2006)

Reaksiyon	Değerlendirme
Katalaz	+
Oksidaz	-
İndol	-
Metil kırmızı	+
Voges- Proskauer	-
Sitrat kullanımı*	+
Üreaz üretimi	-
Laktozdan asit üretimi	-
Glukozdan gaz üretimi*	+
Triple Sugar Iron (TSI)	+
Lizin dekarboksilaz	+
Ornitin dekarboksilaz	+

*: *Salmonella* Typhi bu testler için negatiftir.

-: Reaksiyon yok +: Reaksiyon var

Salmonella cinsi bakteriler başta glikoz olmak üzere arabinoz, maltoz, mannitol, mannoz, ramnoz, sorbitol, ksiloz ve diğer birçok karbonhidratı ve polihidroksi alkolü asit ya da asit ile beraber gaz oluşturarak fermente eden bakteriler olarak bilinmektedirler. Ancak *Salmonella* Typhi'nin hiçbir zaman gaz üretmediği de saptanmıştır. *Salmonella* cinsi bakteriler ayrıca, katalaz pozitif olup, lizin ve ornitin dekarboksilaz testlerinde pozitif

reaksiyon verirler. Nitratı nitrite indirgeyebilen, safra tuzlarını tolere edebilen ve üreyi hidrolize edemeyen bakteriler olarak da bilinirler. *Salmonella* cinsi bakteriler genellikle hidrojen sülfid (H₂S) üretebilmekle beraber *Salmonella* Pratyphi A gibi H₂S üretmeyen türleri de mevcuttur. *Salmonella* cinsi bakterilerin çoğu laktozu fermente etmez fakat *Salmonella enteritidis*'in ve *Salmonella arizonae*'in bazı üyeleri laktozu fermente edebilme özelliğine sahiptir. Bu nedenle, laktoz içeren bir besiyerinde laktoz pozitif olan *Salmonella* cinsi bakterileri *Salmonella* olmayan bakterilerden ayırmak oldukça zordur (Taban 2007).

Salmonella'ların gelişmeleri için gereken optimal a_w değeri 0,99 olmasına rağmen *Salmonella*'ların büyük bir kısmının 0,93 gibi düşük a_w değerlerinde canlılıklarını sürdürebildikleri bildirilmiştir (Adams and Moss 1995).

Salmonella'lar için optimal pH değeri 6,5-7,5 arasında olmasına rağmen 4,5-9,9 pH aralığında üreme yeteneğine sahiptir. Yapılan bir çalışmada *S. Pullorum*, *S. Oranienburg* ve *S. Senftenberg*'in sıvı yumurta albümini içindeki gelişiminin pH değeri 8'e yaklaştıkça ilerleyen bir şekilde azaldığı, pH değeri 9,5'in üzerinde olduğunda gelişemediği bildirilmiştir (D'Aoust 1989).

Salmonella'lar, 5-47°C arasında üreyebilmekte, optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir (Adams and Moss 1995).

Çizelge 2.4. *Salmonella* spp. için üreme özellikleri (Erkmen 2007)

Parametre	Minumum	Optimum	Maksimum
a _w	0,94	>0,99	0,99
pH	4,0	6,5-7,5	9,5
% NaCl	0	0	8
Sıcaklık (°C)	5,8 (2,0) ¹	35-37	47 (54) ¹

1: Bazı *Salmonella* alt türlerinde olan değerdir.

Salmonella'lar için D değeri (decimal reduction time) 60°C'de genellikle 2-6 dakika, 70°C'de ise 1 dakika olarak belirlenmiştir. *S. Senftenberg* gibi bazı serotiplerin diğer serotiplere göre ısıya daha dirençli oldukları belirtilmiştir (Doyle and Mazzotta 2000).

Veeramuthu *et al.* (1998)'nin, hindi etinden yapılan kıymalarda *S. Senftenberg*'in ısıya dirençliliğini belirlemek için yaptıkları çalışmada D değeri 55°C'de 227,1, 60°C'de 13,5 ve 65°C'de 3 dakika olarak belirlenmiştir. Tavuk kıyması ile yapılan bir çalışmada ise, *S. Senftenberg*'i de içeren serotiplerin D değerleri, 67,5°C'de 2,8 ve 70°C'de 1,7 dakika olarak bulunmuştur. Juneja ve Eblen (2000)'in çeşitli yağ içeriklerine sahip sığır etinde yaptıkları çalışmada, *S. Typhimurium* DT104'ün termal inaktivasyonu için gereken sürenin uzunluğunun yağ içeriğiyle orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada %7 yağ varlığında 58°C'de "lag" periyodu 4 dakika, %24 yağ varlığında ise 28 dakika olarak bulunmuştur (İşeri 2007).

Salmonella'lar çevresel koşullara yüksek direnç göstererek, bazı gıdalarda uzun süre canlılıklarını koruyabilmektedir. *Salmonella*'ların yaklaşık olarak sığır gübresinde 34 ay, balık yeminde 24 ay, bahçe toprağında 9 ay, kanatlı altlığında 4 ay, kanatlı gübresinde 1 ay ve çeşme suyunda 2 ay süreyle canlı kaldığı, ayrıca taze ette 14 gün, dondurulmuş ette 1 500 günden fazla, sütte 140 gün, peynirde 270 gün, tereyağında 105 gün, süttozunda 590 gün, dondurmada 2 500 gün, kurutulmuş yumurtada 4 700 gün ve balık ununda 360 gün süreyle canlılıklarını koruyabildiği bildirilmektedir (Erol 2007).

Salmonella'ların buzdolabı koşullarında uzun sürelerde yaşayabileceği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Salmonella*'ların -23°C depolanan tereyağında 2,5 aydan daha uzun bir süre, buzdolabında muhafaza edilen sebzelerin yüzeyinde 1 aydan daha uzun bir süre, oda sıcaklığında veya buz kutuları içinde depolanan sütlerde ise 6 ay canlılığını koruduğu bildirilmiştir. Ayrıca *Salmonella*'lar çikolata, karabiber ve jelatin gibi düşük su aktivitesine sahip gıdalarda bir yıl veya daha uzun süre canlılığını koruyabildiği bildirilmektedir (Anonymous 2002).

Salmonella enfeksiyonlarının oluşmasında hayvanlar, yemler, gıdalar ve insanlar arasında bir etkileşim söz konusudur. *Salmonella* enfeksiyonlarının hayvanlarda görülmesinde en büyük etken çiftlik hayvanlarının sürüler halinde bulunması, yemlerin, yem katkı maddelerinin bulaşmış olmasıdır. Ayrıca atık sular, kuşlar, hastalıklı veya taşıyıcı hayvanlar, fareler, böcekler, *Salmonella* enfeksiyonu zincirinde yer alabilmektedir. Özellikle kanatlı hayvanlar ve diğer kasaplık hayvanlar kesim öncesi bulaşmayı kolaylaştırır (Erkmen 2007).

Gıdaya *Salmonella* bulaşmasının üç ana yolu vardır. Birincisi *Salmonella* taşıyıcı hayvanların et ve süt üretiminde kullanılmasıdır. Kanatlı etleri ve yumurtaları, kırmızı et ve süt en önemli kaynaklardır. İkinci yol, çevreye ve sulara dışkı, mezbaha atıkları gibi atıkların bulaşmasıdır. Bu yolla *Salmonella* daha çok sebzelere geçmektedir. Üçüncü yol ise gıda hazırlanması veya servisi sırasında çapraz bulaşma ile başka bir çiğ gıdaya veya pişmiş gıdaya bulaşmasıdır (Erkmen 2007; Halkman 2013).

Gıda kaynaklı bakteriyel hastalıklar dünya genelinde insan sağlığını tehdit eden bir unsur olarak devam etmektedir. Son yirmi yılda, gıda kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi sosyal çevre değişikliklerinin ve patojen mikroorganizmaların yeni ortam ve gıdalara adaptasyonunun sonucu olarak hızla artmıştır. *Salmonella*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Campylobacter* ve *Yersinia enterocolitica* patojen mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıkların insidensi toplumda artış göstermiştir. Bu mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıklar halk sağlığı açısından bir sorun haline gelmiştir. *Salmonella* bakterisi *Campylobacter*'den sonra Kanada'da gıda kaynaklı bakteriyel hastalıklara sebep olan etmen olarak görülmektedir (Abouzeed 1998).

Salmonellosis dünya genelinde öneme sahip zoonotik bir hastalıktır. Özellikle insanlarda subklinik rahatsızlıklara sebep olan geniş bir kaynağa sahiptir. Hastalığa birçok *Salmonella* serotipi sebep olur ve hastalık geniş bir klinik spektruma yayılmıştır. İnsanlarda salmonellosis hastalığı akut, kendiliğinden geçen, kendini sınırlayan gastrointestinal veya sistemik bir enfeksiyon şeklinde bağırsak sistemine lokalize olarak ortaya çıkabilir. Hastalığın gastrointestinal formu intoksikasyondan ziyade bir enfeksiyon

şeklindedir ve “gıda zehirlenmesi sendromu” olarak tanımlanır. Sistemik rahatsızlık ise enterik ateş olarak tanımlanan tifonun klasik bir şeklidir. Genellikle bütün *Salmonella* serotipleri insanlar için patojenik olarak kabul edilir. *Salmonella* enfeksiyonları önemli salgınlara, ölümlere ve ekonomik kayıpara sebep olur. Özellikle çocuklarda ve immün sistemi baskılanmış veya hasar görmüş yaşlı bireylerde mortalitesi yüksek olabilir (Abouzeed 1998).

Salmonella'nın sebep olduğu rahatsızlıklar için genellikle iki terim kullanılır: Morbidite ve Mortalite. Morbidite terimi, belirli bir nüfusta belirli bir zaman dilimi içerisinde hastalığa tutulanların sayısı, hastalık nispetidir. Mortalite ise nüfus içerisinde hastalığa yakalananlar arasında ölüm oranıdır.

Salmonellozis olgularında infeksiyöz doz 10^5 - 10^6 kob/g olarak bildirilmekle birlikte, minimal infeksiyon dozu, serotipin virülensine, bireysel savunma mekanizmasına ve gıdanın kompozisyonuna bağlı olarak büyük farklılıklar göstermektedir. Yeni doğanlarda ve küçük çocuklarda immün sistemin tam olarak gelişmemesi, yaşlılarda immün sistemin geç yanıt vermesi veya çok zayıf olması ve küçük çocuklarda gastrik asit üretiminin az olması *Salmonella*'ların intestinal kolonizasyonu kolaylaştırmaktadır. Çocuklarda, yaşlılarda, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde hastalık oluşturma dozunun 10^2 kob/g kadar indiği saptanmıştır (Erkmen 2007; İşeri 2007)

Salmonella'lar oluşturdukları proteinler ile ince bağırsak yüzeyine tutunurlar. Böylece epitelyum altına geçebilirler. Bu bölgede çoğalarak vücudun diğer yerlerine yayılırlar. Bazı *Salmonella* serotipleri ısıya duyarlı (LT) ve ısıya dirençli (ST) özellikte enterotoksinler üretirler. *Salmonella*'ların bir kısmı yalnız insanlarda (*S. Typhi*) bazıları ise insan ve hayvanlarda hastalık yaparlar. Hastalık semptomları genellikle bakterinin alımından 24–36 saat sonra başlamakla beraber 8 saat kadar erken veya 42 saat kadar da geç gözlemlenebilir. Bu belirtiler 2–3 gün sürmektedir (Ray 2004; Çetin 2006).

Gıdalar için uluslararası mikrobiyolojik spesifikasyonlar hazırlayan ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) ve uluslararası standartlar hazırlayan ISO (International Organization for Standardization) tarafından gıdalarda *Salmonella* aranması ve tanımlanması için önerilen geleneksel kültürel yöntemler vardır. Geleneksel yöntemler kantitatif ve kalitatif bilgi verebilirler, ancak numunelerin analizi için bir ön zenginleştirmeye ihtiyaç vardır. Ayrıca geleneksel yöntemlerde gıdalardan patojenlerin izolasyonu uzun bir süre gerektirmekte ve yoğun bir iş gücü gereksinimi ortaya çıkartmaktadır. Gıdaların çoğunun sınırlı bir raf ömrüne sahip olduğu düşünüldüğünde geleneksel yöntemlerle izolasyon yapılmadan, bu gıdaların tüketildikleri veya raf ömürlerini tamamladıkları görülmektedir (İşeri 2007).

Gıdalarda patojen mikroorganizmaların izolasyonu, identifikasyonu için son yıllarda hızlı metodlar üretmek ve geliştirmek için çaba harcanmaktadır. Geliştirilmeye çalışılan metodlarda amaç kısa sürede sonuç almak, hassasiyeti artırmak, seçici ve kolay olan işlemi tespit etmektir. Bu yöntemlerin geliştirilmesi gıda hijyeni açısından büyük önem arz etmektedir. Bu geliştirilen yeni metodların başında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), biyosensör teknolojisi, antijen-antikor temelli reaksiyonlar gelmektedir. Bu yöntemler hızlı tepki süresine sahip olan ve bunun da ötesinde daha duyarlı, güvenilir, kullanımı kolay, geleneksel kültürel yöntemlerle kıyaslandığında alternatif olarak görülen yöntemlerdir (Liebana *et al.* 2009a; Liebana *et al.* 2009b; Salam and Tothill 2009).

Gıda mikrobiyolojisinde analizler, hızlı yöntemler ve geleneksel kültürel yöntemlere dayalı olarak iki farklı şekilde yürütülmektedir. Geleneksel kültürel yöntemler geliştiği günden bu yana altın standart olarak kabul görmektedir. Hızlı yöntemler; klinik, gıda ve çevresel örneklerde bulunan bakteri, mantar, virüs ve protozoon gibi mikroorganizmalar ile onlara ait metabolitlerin izolasyonu, identifikasyonu, sayımı ve bakterilerin antibiyotiklere olan dirençlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Mikrobiyologlar 1960'lı yıllarda hızlı yöntemler alanında başarılı çalışmalar yapmış ve 1970'li yıllarda bu çalışmalar ivme kazanmıştır (Fung 2006).

Mikrobiyoloji alanında ivme kazanan güvenli, spesifik, hassas özelliğe sahip hızlı yöntemlerin yıllara göre gelişimi aşağıdaki gibi özetlenebilir (Fung 1995):

- 1965-1975: Minyatürize edilmiş biyokimyasal tanımlama yöntemleri
- 1975-1985: İmmünolojik, manyetik ayırma, antijen-antikor temelli yöntemler
- 1985-1995: Polimeraz zincir reaksiyonu ve DNA hibridizasyon yöntemleri
- 1995-.....: Biyosensör, mikroarray teknolojisi

Manyetik ayırma, bir heterojen karışımda bulunan manyetik özellikteki bileşenleri ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem düşük tenörlü demir cevherlerinin zenginleştirilmesinde, geleneksel ve nükleer enerji tesislerindeki kazan sularında ferromanyetik özelliğe sahip safsızlıkları uzaklaştırmada, üretim işlemleri sırasında makinalardan veya çevreden gıdaya geçebilecek olan metal parçacıklarının uzaklaştırılmasında ve daha birçok endüstriyel alanda kullanılmıştır. Bu yöntemin biyolojik bilimlere uygulanabilirliği ise 1970’li yıllarda mümkün olmuştur. Bu tekniğin biyolojik bilim alanında ilk kullanımı, memeli hayvan hücrelerinin ayırımında kendini göstermiştir. Manyetik ayırma ile doğrudan kan, kemik iliği, doku homojenatlarından hedeflenen hücrelerin ayrılabilirdikleri bildirilmiştir (Kohn 1999).

Dynal dynabeads teknolojisi, biyolojik materyallerin separasyonunda devrim niteliğindeki önemli bir gelişmedir. Norveç’li bilim adamı Prof. Dr. John Ugelstad 1976 yılında, tamamen aynı büyüklükte polimer partikülleri oluşturabilen bir proses geliştirmiştir. Daha önce NASA tarafından yerçekimi olmayan, ağırlıksız koşullarda eşit boyutta küresel partiküller elde edilmişti. NASA tarafından başarılan bu proses, Ugelstad ve ekibinin çalışmaları neticesinde, çapları 0,5-100 µm arasında olan uniform simetrik küresel partiküller üretilmeye başlanmıştır. Ticari olarak partiküllerin üretiminde ilk önemli gelişme Norveç’de Dynal A.S tarafından gerçekleştirildiği bildirilmektedir. Bu gelişmeleri, manyetik partiküllerin yapılabilmesi gibi inanılmaz bir başarı takip etmiştir. Ekibin daha sonraki çalışmaları Dynabeads olarak adlandırılmış ve manyetik özelliğe sahip uniform partiküllerin üretimi şeklinde devam etmiştir (Anonymous 1997a). Parç

acı biçiminde bazı manyetik katı fazlar, biyolojik organizmaların, organellerin veya moleküllerin manyetik separasyonu (MS) için ticari olarak elde edilmektedir. Spesifik olarak moleküller bunlara bağlanabilir. Partiküllerin çoğu manyetik bir alanda bulduklarında süper paramanyetik fakat manyetik alan kaldırılır kaldırılmaz manyetik özelliği kaybolmaktadır. Partiküllerin birbirine yapışmaması için öncelikle bir magnet yardımıyla intermanyetik bir güçle ayrılmaları gereklidir fakat daha sonrasında partiküller süspansiyon içine geri dönebilmelidir. Partiküllerin şekil ve boyutları gibi fiziksel parametreler oldukça önemlidir. Bir süspansiyon içindeki partiküllerin, sedimentasyon ve diğer moleküllere bağlanma kinetikleri, boyutlarının belirlenmesi ve partiküllerin formu bakımından oldukça önemlidir. Ticari olarak temin edilen, partiküller çeşitli boyutlardaki pul şekilli manyetik oksitlerdir ve bu partiküller yüzeyinde bir tabaka halinde çeşitli kimyasal gurupları ihtiva etmektedir. Diğer taraftan bu partiküller, doğal ve sentetik polimerlerle manyetik oksitlerin küçük granüllerinin karıştırılmasıyla hazırlanmakta ve bunun ardından uygun partikül boyutu elde edilmektedir. Manyetik oksitler, aynı zamanda polimer faz prosesi içinde üretilmektedir. Manyetik parçacıklar, suda çözünmez bileşiklerden ve vinil monomerlerin karışımı içindeki disperse manyetik oksitlerden hazırlanmaktadır. Bu dispersiyon, manyetik oksitleri içeren bir sıvı dispersiyonundan oluşmaktadır. Manyetik oksitler, manyetik partiküller içindeki monomerlerin polimerizasyonu ile yapılabilmektedir. Bu polidispers parçacıkların tümü, manyetik bir alanda manyetik özellik göstermektedir fakat boyutları farklı olduğu için aynı manyetik güce sahip değildir (Sachar and Goldstein 1990; Liberti and Feeley 1991).

En sık kullanılan monomereik, üniform manyetik küreler, Fe^{+2} ile tek boyutlu gözenekli polimerlerin karışımından yapılmaktadır. Yeni bir polimer yüzeyi daha sonra porlarla kaplanmakta ve demir partiküller içinde tutulmaktadır. İnoört bir yüzey, spesifik moleküller dışındaki biyolojik elementlere bağlanamaz ve IMS için bu durum doğal olarak arzu edilmektedir. Partikül yüzeyinin kimyasal kompozisyonu, partiküllerin izolasyonun başarısı bakımından oldukça önemlidir (Ugelstad *et al.* 1991, 1992).

Manyetik separasyon amacıyla kullanılan partiküller homojen, süperparamanyetik polistren yapılı mikro partiküllerdir. Mikro partiküller γ -Fe₂O₃ veya Fe₃O₄ içeren manyetik bir çekirdek bölgesine sahiptir. Bu mikropartiküller çekirdek bölgesini saran ve çekirdeğe çeşitli moleküller ile birleşme veya çeşitli molekülleri adsorblayabilmesi için yüzey alanı kazandıran polimer özellikte hidrofobik bir kabuk ile kaplanmışlardır. Partikül ölçüleri ve şekillerinin homojen olması, fiziksel ve kimyasal açıdan kararlı bir sistemin oluşmasını sağlamaktadır (Anonymous 2000).

Partikül boyutlarının ve şekillerinin homojen olmasının kazandırdığı birçok özellik şöyle izah edilebilmektedir:

1. Partikül boyutlarının homojen olması partiküller ile hedef mikroorganizma arasındaki reaksiyon kinetiğinin optimal olmasını sağlamaktadır. Böylece hızlı ve etkin bir bağlanmanın gerçekleşebildiği belirtilmektedir.
2. Küresel yapının düzgün olması, özgül olmayan bağlanmayı en aza indirebilmektedir. Homojen yüzey alanın, verimli kullanım ve hedef ile optimal bir etkileşimi sağladığı bildirilmektedir.
3. Partiküllerin dış yüzündeki polimer kılıf, hedef mikroorganizmayı demirin toksik etkisinden korumaktadır.
4. Süperparamanyetik özellikteki partiküller manyetize özelliklerini sadece dış bir manyetik alanın etkisiyle gösterdikleri ve bunun dışında normal maddeler gibi davrandıkları bilinmektedir. Süperparamanyetik partiküller birbirleriyle manyetik etkileşime girmemektedir.
5. Partiküllerin hidrofobik karakterde olması, hedef hücrelerin kolaylıkla adsorbe olmasını sağlamaktadır.

Spesifik mikroorganizmaların izolasyonu amacıyla kullanılan Dynabeads® partiküllerin çapları 2,8 µm (Dynabeads® M-280), 4,5 µm (Dynabeads® M-450) ve 5 µm (Dynabeads® M-500) şeklindedir. Partiküllerin yüzeyleri, bakterilerle birleşebilecek özellikteki saflaştırılmış antikorlar ile kovalent olarak bağlanacak şekilde kaplanmıştır. γ -Fe₂O₃ (Demir II oksit), Fe₃O₄ (Manyetit), Cr₂O₃ (kromdioksit), Er⁺³ (Erbium) gibi manyetize özelliğe sahip veya mikroorganizma hücrelerini manyetize hale getirebilen maddeler, polimerlerle birlikte partiküllerin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Polimer bileşenler partiküllerin aktivasyonu için gerekli olan fonksiyonel grupların kaynağıdır. 4,5 µm çapındaki Dynabeads® M-450 partiküllerin yüzey alanının 1-4 m² g⁻¹, yoğunluğunun 1,5 g cm³ ve demir ihtivasının hacimsel olarak %20 olduğu ve 1 mg süspansiyon içinde 1,7x10⁷ partiküle sahip olduğu bildirilmektedir. Bakterileri manyetize hale getirebilmek amacıyla genellikle (Er⁺³) iyonları kullanıldığı bildirilmektedir. Bu iyonlar mikroorganizmanın dış yüzeyine güçlü bir şekilde afinite gösterip ve bu afinitesini koruyabildiği için tercih edilmiştir. Er⁺³ iyonlarının mikroorganizma yüzeyinde bağlanma bölgesinin glikoproteinlerdeki karboksil gruplarının olduğu bildirilmektedir (Özbaş 2002).

Dynabeads anti-Salmonella (DynaL, Oslo), spesifik antikorlarla kaplanmış manyetize olabilme özelliğine sahip partiküller, toplanan bütün çevre ve gıda örneklerindeki *Salmonella* serotiplerine uygulanabilir. Ürünün kullanımı ve performansı kapsamlı bir şekilde Cudjoe *et al.* (1993), (1994a), (1994b), (1995) tarafından rapor edilmiş ve benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Mansfield and Forsythe 1993, 1996; Molla *et al.* 1994; Coleman *et al.* 1995).

IMS 15-20 dakika sürmektedir ve 18-20 saatlik geleneksel selektif zenginleştirmeyle performansı değiştirilebilmekte veya artırılabilir. İmmünomanyetik ayırma yönteminde, çiğ gıda örnekleri peptonlu su ile zenginleştirilmektedir. Bunun ardından bazı durumlarda plaklama (IMS-Plaklama) yapılmakta ve plaklardaki besi yerlerinde hedef *Salmonella*'nın rekabetçi floradan ayrılarak gelişmesi sağlanmaktadır (Cudjoe *et al.* 1994a; Coleman *et al.* 1995). Bu rekabetçi flora non-spesifik olarak boncuklara bağlanmakta veya boncuklar üzerine kaplanmış antikorlarla çapraz reaksiyona

girmektedir. Bu problem, *Proteus* spp., *Eschericcia coli* gibi mukoid koliformlar, *Kelbsiella aeogenes* ve *Enterobacter* spp. gibi mikroorganizmaları içeren ön zenginleştirilmiş örneklerde ortaya çıkmaktadır. Şüpheli kolonilerin teşhisi için titiz belirleme yapılmazsa *Salmonella* pozitif örnekler için hatalı sonuçlar alınmasına neden olabilir (Cudjoe *et al.* 1994a).

Yukarıda anlatılan sorunların giderilmesi için, bir çok çalışmanın sonucunda IMS kaplama için uygun modifikasyonlar ortaya konulmuş ve ileride uygulanacak testler için 2 yaklaşım seçilmiştir. Bacto SBG Sulfa Enrichment (SBG), yumurta ürünlerinden *Salmonella*'nın izolasyonu için orijinal olarak geliştirilmiş selektif ön zenginleştirme sıvı besiyeridir (Stokes and Osborne 1955).

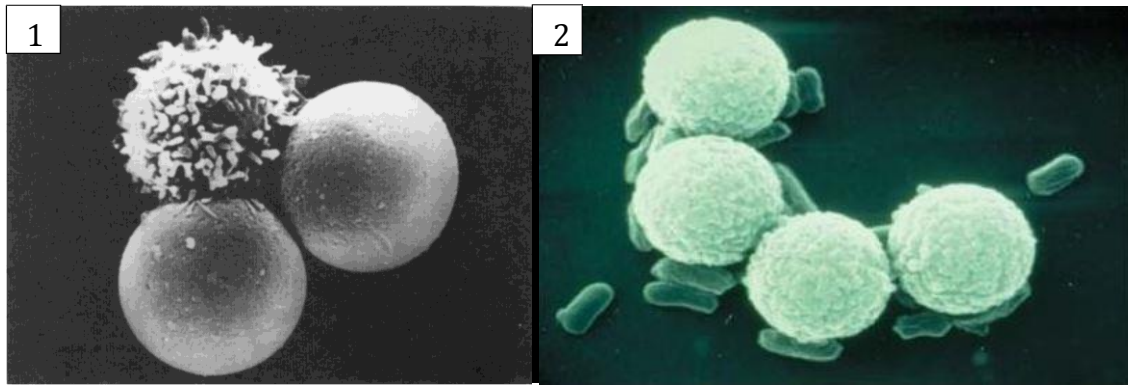
Bu besiyeri, gram pozitif ve enterik mikroorganizmaları inhibe ederek *Salmonella*'dan ayrılmasını sağlamak için Birillant Green, Selenit ve Taurokolat gibi selektif ayırıcı maddeler ihtiva etmektedir. Bu ortamın selektif özelliklerinin organik maddenin varlığına bağlı olarak azalabileceği kabul edilmektedir. Buna karşılık formülasyonda Sulphapyridine'nin olması selektiviteyi stabilize etmektedir. Bu besi yeri ham ve işlenmemiş numunelerin doğrudan selektif zenginleştirme aşaması için uygun kabul edilmiştir. Yapılan çalışmalarda çiğ örneklerden veya yüksek dirençli floradan *Salmonella*'nın belirlenmesinde, SBG ve BPW gibi ön zenginleştirme brothlarının performansı konusunda yapılan çalışmalar rapor edilmiştir. *Salmonella* türlerinin ön zenginleştirilmiş örneklerden etkili izolasyon ve belirlenmesi için International Standards Organisation (ISO) 6579'daki metot ve plaklara ekim yapılmadan önce Rapaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth (RVS) içinde 42°C'de 18-24 saat IMS'nin selektif zenginleştirmesini içeren metot kullanılmaktadır (Cudjoe *et al.* 1994a, b).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, IMS'de kullanılan Dynabeads anti-Salmonellanın, karışık örneklerden *Salmonella*'nın belirlenmesinde geleneksel yöntemle göre daha güvenli, spesifik ve duyarlı olduğu sonucunu ortaya koymuştur. Ancak bazen ortamda *Proteus* spp., *E. coli* gibi mukoid koliformlar, *Kelbsiella aeogenes* ve *Enterobacter* spp. gibi karışık türlerin gelişmesi ve ortamda bulunması, kolonilerin izolasyonunu ve

saflaştırılmasını zorlaştırmaktadır (Mansfield and Forsythe 1993, 1996; Cudjoe *et al.* 1994a,b; Molla *et al.* 1994; Coleman *et al.* 1995).

İmmünomanyetik purifikasyon ve konsantrasyon, immünomanyetik separasyon (IMS)'de kullanılan küçük süperparamanyetik partiküller veya boncuklar antikorlarla hücrelerin yüzeyinde bulunan antijenlere bağlanmakta ve kan sıvısı gibi sıvılardan bazı ökaryotik hücrelerin izolasyonunu sağlamaktadır (Şekil 2.3). Bu yöntem çeşitli medikal uygulamalarda da kullanılmaktadır (Ugelstad *et al.* 1992).

Son zamanlarda bu yöntemin bakteriler gibi prokaryotik organizmaların belirlenmesinde uygun olduğu tespit edilmiştir. Antijen antikor reaksiyonu sonucunda boncuklara bağlanan spesifik bakterilerin izolasyonu hedef mikroorganizma için seçici olan brotha veya katı besiyerine aktarma sonucunda yapılmaktadır. Daha sonra tanımlama rutin veya geleneksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Ushijima *et al.* 1990).



Şekil 2.3. Elektron mikroskopunda Dynabeadlerle bağlanmış T hücresi (1) ve *E.coli* O157 (2) (Safarik *et al.* 1995)

IMS veya immünomanyetik zenginleştirmede, immünolojik olarak manyetik boncuklara yapışmış bakterilerin genellikle canlı kaldığı ve eğer besinsel ihtiyaçları sağlanırsa çoğalmaya devam edecekleri kabul edilmektedir (Torensma *et al.* 1993).

Uygun besiyerine ekim yapılmadan önce immünomanyetik olarak izole edilmiş olan süspansiyon spesifik olmayan ve yapışan mikroorganizmaları uzaklaştırmak için yıkanabilir. Hem poliklonal ve hem de monoklonal antikolar IMS için kullanılabilir. Bu antikolar, ya doğrudan doğruya ya da dolaylı olarak partiküller ile bağlantılı olabilir (Lund *et al.* 1988; Skjerve *et al.* 1991; Okrend *et al.* 1992).

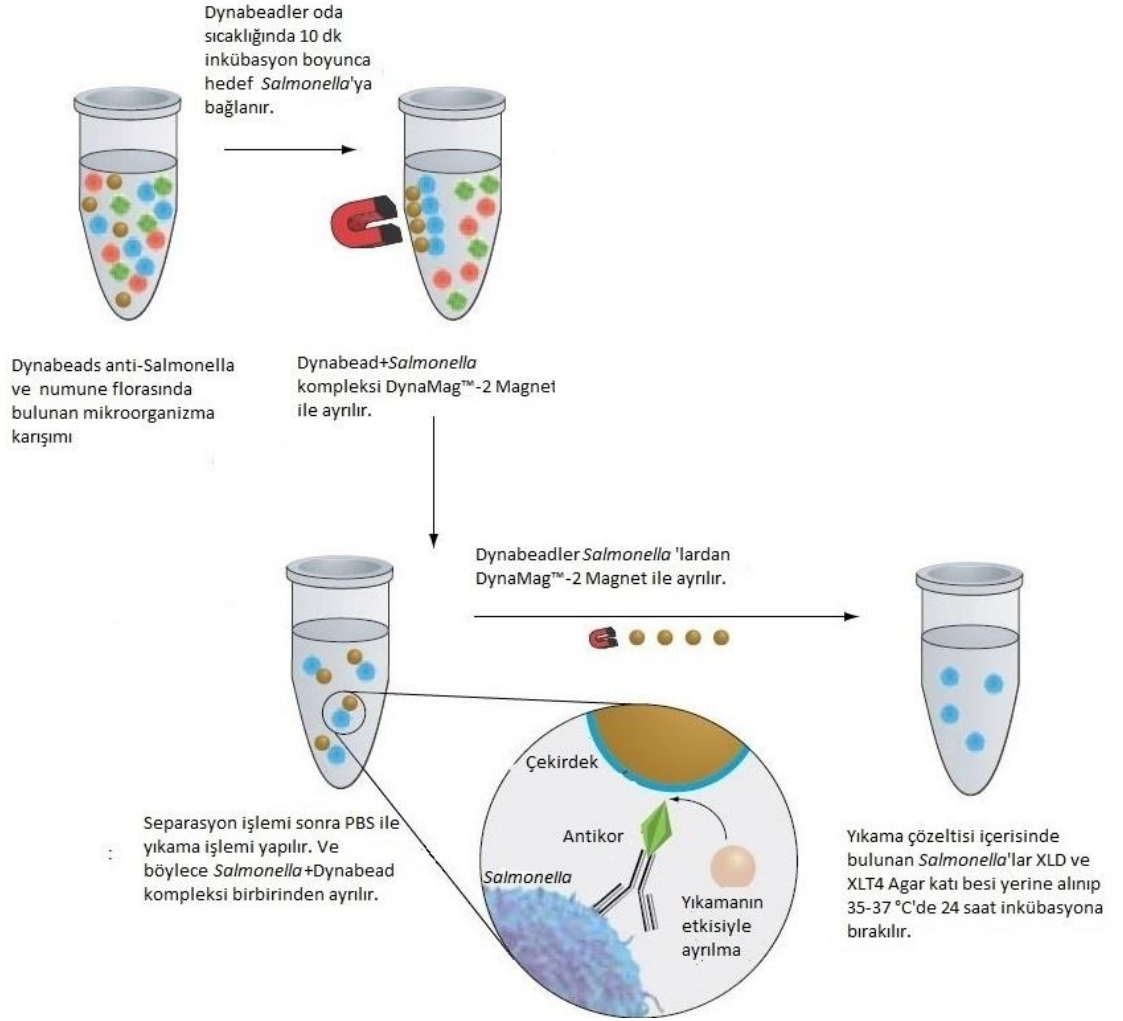
IMS yöntemi çeşitli avantajlara sahiptir. Hedef mikroorganizma, çevreden ayrılmakta ve yüksek konsantrasyonlarda konsantre edilmektedir. Elde edilen bu konsantrasyon plaktaki besiyerine ve broth'da ekim için uygun olmaktadır. Örnekteki gelişme inhibitörü olan ajanların ortamdan uzaklaştırılması partiküllere bağlı olan bakterinin gelişimini artırır. Buna karşılık bu yöntemin kullanımı, hedef mikroorganizmanın yüzeyine direk olarak yönlendirilmiş antikolara gereksinimden dolayı ve test örneği içinde serbest antijenlerin yüksek konsantrasyonda bulunması zorunluluğu olduğundan dolayı kısıtlıdır (Olsvik *et al.* 1991).

Dynabead manyetik separasyon protokolü temel olarak 3 basamaktan oluşmaktadır:

1. Bağlama veya bağlanma: Dynabeads içeren bir ortama numune ilave edildiğinde, Dynabeads istenen hedefe (hücreler, patojenik mikroorganizmalar, nükleik asitler, peptit, protein veya protein kompleksi vb.) bağlanmaktadır. Bu etkileşim, partikülün yüzeyine ait ligantın spesifik afinitesine dayanmaktadır.

2. Yıkama: Dynabead-hedef kompleksi bir manyetik alan etkisiyle spesifik olmayan bileşenlerden ayrı bir alana çekilir. Dynabeads-hedef kompleksi dışında kalan bileşenler dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla alınır. Bu durum bağlı hedefin geri kalanından etkili bir şekilde ayrılmasına imkân sağlar.

3. Ayırma: Dynabead tarafından bağlanan hedef iki şekilde sonraki aşamalar için kullanılabilir. Dynabeads-hedef kompleksi doğrudan sonraki analizler için kullanıma uygundur. Veya Dynabeads-hedef kompleksi yıkama sıvısına muamele edilir ve böylece bağlı olan hedefler yıkama sıvısına geçmiş olmaktadır.



Şekil 2.4. IMS yönteminin genel prensibi

IMS protokolünde geliştirilmiş yöntem olarak yer alan analiz şekli, tüm gıda ve çevresel örneklerde önerilen yöntemdir. Şüpheli kabul edilen *Salmonella* pozitif sonuçlar, numunelerin alınmasından sonraki 3 gün sonunda elde edilebilmektedir. konsantratin transferi, yeniden süspansiyon edilmiş bakteri-boncuk kompleksinin 10 ml Rappaport Vassilliadis Soya peptone broth (RVS)'a transfer edilmekte ve 42°C'de 18-24 saat inkübe edilmektedir. Standart prosedürde izolasyon için bir öze dolusu RVS kültürün herhangi bir *Salmonella* besiyerine aktarılması işlemi uygulanmaktadır.

Hızlı yöntem, işlenmiş, mikroorganizma ihtiva etmeyen veya çok az miktarda flora ihtiva eden gıdalar için tavsiye edilen bir yöntemdir. Şüpheli kabul edilmiş *Salmonella* pozitif sonuçlar numune alındıktan iki gün sonraya kadar da kullanılabilir. 50 µL yeniden süspanse edilebilir partikül-bakteri kompleksi, selektif *Salmonella* agar plaklarının (BGA, XLD, BSA, HE, XLT4, SSA) üzerine aktarılmaktadır.

Dynabeads anti-Salmonella, gıda, yem ve çevre örneklerinde bulunan insan ve hayvanlarda hastalığa neden olan mevcut *Salmonella* serotipleri üzerinde reksiyon göstermektedir. Dynabeads anti-Salmonella için kullanılan yöntemde, 25 gram örnekteki canlı *Salmonella*'nın varlığı araştırılmaktadır.

Dynabeads anti-Salmonella, karışık bir kültürden *Salmonella*'yı dikkate değer bir şekilde konsantre edebilmektedir. Belirli ölçüde çapraz bir reaktivite ve spesifik olmayan bağlanma olabilir ancak ürünün karışık bir kültür içindeki *Salmonella*'ya bağlanma yeteneği kaybolmamaktadır.

İMS yönteminin gıda mikrobiyolojisi alanında uygulamaya konması, Dynabeads teknolojisinin biyolojik sistemlere uygulanabilirliğinin hemen ardından gelişmiştir. Bu uygulamalar arasında çeşitli gıda kaymaklı patojen bakterilerin tespiti, bazı bakterilerin toksinlerinin (*Staphylococcus* ve *C. Perfringes*) belirlenmesi bulunmaktadır. *Salmonella* Spp., *Pseudomonas puti*, *E.coli* O157, *Listeria* spp., *Yersina pestis*, *Yersina enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Mycobacterium* spp., *Coxiella burnetii*, *Bacillus cereus*, *Legionella* spp., *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium* spp. IMS yöntemiyle izole edilebilen mikroorganizmalar arasındadır (Çizelge 2.5). Birçok bakteriyel antijen IMS yönteminde asıl hedeftir. Örneğin hücre duvarındaki O-antijenleri, kamçı veya fimbria antijenleri hedef bakterinin yakalanabilmesi için kullanıldıkları bildirilmektedir. Yakalanan bakteriler kültürel ve mikroskopik yöntemlerin yanı sıra ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), MEIA(magnetic enzyme immunoassay), PCR(polymerase chain reaction), MIPA(magnetic immuno PCR assay) gibi ileri yöntemlerle kombine edilerek de incelenebilmektedir (Adcliffe and Holbrook 2000).

Çizelge 2.5. Gıda mikrobiyolojisinde bazı IMS uygulamaları

Mikroorganizma	Yöntem
<i>Clostridium perfringens</i> (Enterotoksin A)	IMS-ELISA
<i>Staphylococcus aureus</i> (Enterotoksin B)	MEIA
<i>Salmonella</i> spp.	IMS-ELISA, IMS-PCR, IMS-Kültürel
<i>Echerichia coli</i> O157	IMS-Kültürel
<i>Echerichia coli</i> O26	IMS-Kültürel
<i>Listeria</i> spp.	IMS-Kültürel, IMS-PCR
<i>Aeromonas salmonicida</i>	IMS
<i>Cryptosporidium</i>	IMS
<i>Pseudomonas putida</i>	IMS
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	IMS
<i>Thermodesulfobacterium mobile</i>	IMS

Gıda mikrobiyolojisinde ilk IMS uygulamaları, 1984'de J.H. Mattingly tarafından *Salmonella*'ların gıdalardan ve fekal örneklerden izole amacıyla başlatılmıştır. Daha çok klinik alanlarda sürdürülen IMS çalışmaları daha sonraları, E. skjerve ve O. Olsvik adlı iki mikrobiyolog tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu iki bilim adamı süt tozu, yoğurt, et ve sebzelerde bulunan *Salmonella* bakterilerini IMS duyarlılığında ayırabildiklerini rapor etmişlerdir (Skjerve and Olsvik 1991).

Salmonella'ların gıda örneklerinden izole edilmesinde, geleneksel kültürel yöntemler ve IMS yönteminin detaylı olarak karşılaştırılması ilk defa 1993 yılında yapılmıştır. 120 gıda örneğinde gerçekleştirilen araştırmada, dynabead partiküllerin geleneksel kültürel yöntemlerde Selenit broth besiyerinde zenginleştirme basamağındaki kadar etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca toplam analiz süresinde 1 günlük kazanım sağlandığı belirtilmektedir. Yine bu çalışmada baharatlarda bulunan zarar görmüş, geleneksel kültürel yöntemlerle izole edilemeyen *Salmonella*'ların da IMS yöntemiyle izole edilebildiği belirtilmiştir (Patel 1995).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Çalışmada kullanılan tavuk etleri

Çalışmada kullanılan 10 adet tavuk göğsü, 10 adet tavuk ciğeri, 10 adet tavuk bageti (100±5 gram) Erzurum piyasasından çalışma günleri temin edilmiş, uygun koşullarda laboratuvara getirilip analize tabi tutulmuştur. Kullanılan her bir materyal farklı satış yerinden ve farklı günlerde alınmıştır. Satın alınan yerlerde muhafaza sıcaklığı 8-12°C arasında değişiklik göstermiştir.

3.1.2. Genel mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve kimyasallar

3.1.2.a. Dilüsyon sıvısı

Seyreltme amacıyla dilüsyon sıvısı olarak %0,85 NaCl ve %0,1 pepton içeren steril fizyolojik çözelti kullanılmıştır. Standart 16x160 mm tüplere 9'ar ml dağıtılıp, tüpler 121°C'de 15 dk sterilize edilmiştir.

Bagetlerin analizi için Lattuada *et al.* (1998) ve Çetin (2006) önerdiği metod kullanılmıştır. Bagetler 100 ml steril seyreltme sıvısı ile yıkanmışlardır. Desimal seyreltme işlemi ardından uygun dilüsyonlardan ekim gerçekleştirilmiştir. Sayım sonuçları dilüsyon faktörü ve seyreltme sıvısı miktarı göz önünde bulundurularak hesaplanmıştır. Bagetlerde yıkama sıvısı 100 ml kullanıldığı için sayım sonuçları 100 ile çarpılmıştır (Lattuada *et al.* 1998; Çetin 2006).

3.1.2.b. Plate Count Agar (PCA) (Merck 1.05463)

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam psikrofil aerob bakteri (TPAB) sayımında kullanılmak üzere genel katı besiyeri 22,5 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş ve steril petri kutularına 12-15'er mL dökülmüştür.

3.1.2.c Violet Red Bile Agar (VRB) (Merck 1.01406)

Koliform grubu bakteri sayımında kullanılmak üzere, dehidre besiyeri, 39,5 g/L olacak şekilde damıtık su içinde karıştırılarak kaynatılarak hazırlanmıştır. Yöntem gereği dökme kültür ve 2. kat ilave yöntemi kullanılacağı için besiyeri analiz aşamasında hazırlanmıştır.

3.1.2.d. Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck 1.0130)

Maya-küf sayımı için dehidre besiyeri, 39 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritilip, 121°C'de otoklavda 15 dakika sterilize edilmiş ve asitlendirme için %10'luk laktik asit %1.4 oranında kullanılmış ve besiyeri steril petri kutularına 12-15'er mL dökülmüştür.

3.1.2.e Kanamycin Esculin Azide Agar (KEAA) (Merck 1.05222)

Enterekok bakteri sayımında kullanılmak üzere dehidre besi yeri 47,5 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritilip, 121°C'de otoklavda 15 dakika sterilize edilmiştir. Hazırlanan besi yeri steril petri kutularına 12-15'er ml olacak şekilde dökülmüştür.

3.1.3. *Salmonella* spp. izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan materyaller

3.1.3.a Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) (Oxoid CM0509)

Geleneksel yöntem ve IMS yönteminin ön zenginleştirme aşamasında ve diğer mikrobiyolojik analizler için kullanılmak üzere, hazır dehidre besi yerinden 20 g tartılarak 1 litre distile suda çözündürülmüş ve pH değeri $7,2\pm 0,1$ 'e ayarlandıktan sonra 121°C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

3.1.3.b. Rappaport -Vassiliadis (RV) Enrichment Buyyon (Oxoid CM669)

Geleneksel kültür yönteminin selektif zenginleştirme aşamasında kullanılmak üzere, hazır besi yerinden 30 g tartılarak 1 litre distile suda çözündürülmüş ve pH değeri $5,2\pm 0,1$ 'e ayarlandıktan sonra 16x150 mm tüplere 10'ar ml paylaştırılarak 115°C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

3.1.3.c. Selenite Cystine Broth Base (SCBB) (Oxoid CM699)

Geleneksel kültür yönteminin selektif zenginleştirme aşamasında kullanılmak üzere, hazır dehidre besi yerinden 19 g tartılarak ve 4 gram Sodyum Biselenit (Sodium hydrogen selenite) ilave edilerek 1 litre distile suda çözündürülmüş ve pH değeri 7.0 ± 0.2 'ye ayarlandıktan sonra su banyosunda 15 dakika tutuldu ve aseptik koşullarda 16x160 mm'lik steril tüplere 9'ar ml paylaştırılmıştır.

3.1.3.d. Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (Fluka 95586)

Geleneksel kültür ve IMS yönteminde selektif katı besi yeri olarak kullanılmak üzere, hazır besi yerinden 56,7 g alınıp 1 litre distile suda çözündürülerek pH $7,4\pm 0,2$ 'ye

ayarlanmıştır. Daha sonra ısıtıcı ocak ile sık sık karıştırılıp tamamen eritilip 50°C'ye kadar soğutulmuş ve besi yeri steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır.

3.1.3.e. Xylose Lysine Tergitol-4 Agar Base (XLT4) (Merck 1.13919)

Geleneksel kültür ve IMS yönteminde selektif katı besi yeri olarak kullanılmak üzere, hazır besi yerinden 59 g alınıp ve 4,6 ml/L olacak şekilde XLT4 Agar Supplement (Merck 1.08981) ilave edilip 1 litre distile suda çözündürülerek pH 7,4±0,2'ye ayarlanmıştır. Daha sonra ısıtıcı ocak ile sık sık karıştırılıp tamamen eritilerek 50°C'ye kadar soğutulmuş ve besi yeri steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır.

3.1.3.f. Triple Sugar Iron Agar (TSIA) (Merck 1.03915)

Geleneksel kültür ve IMS yönteminin biyokimyasal tanımlama testlerinde kullanılmak üzere, hazır besi yerinden 65 g tartılarak 1 litre distile suda çözündürülmüş ve pH değeri 7,4±0,2'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda iyice eritilmiştir. Daha sonra 16x160 mm tüplere 9-10 ml paylaştırılarak 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra 1,5-2 cm yükseklikteki çubuklara yatık bir pozisyona getirilip katılaşması sağlanarak yatık agar elde edilmiştir.

3.1.3.g. Lysine Iron Agar (LIA) (Merck 1.11640)

Geleneksel kültür ve IMS yönteminin biyokimyasal tanımlama testlerinde kullanılmak üzere, hazır besi yerinden 65 g tartılarak 1 litre distile suda çözündürülmüş ve pH değeri 6,7±0,2'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda iyice eritilmiştir. Daha sonra 16x160 mm tüplere 9-10 ml paylaştırılarak 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra 1,5-2 cm yükseklikteki çubuklara yatık bir pozisyona getirilip katılaşması sağlanarak yatık agar elde edilmiştir.

3.1.3.h. Dynabeads® anti-Salmonella (Dynal A.S., Oslo, Norway, Prod. No. 71002)

IMS yönteminde kullanılmak üzere Dynabeads® anti-Salmonella (5 mL) kullanılmıştır. +4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.1.3.i. Phosphate Buffered Saline (PBS) (Oxoid BR 0014G)

IMS tekniğinin yıkama işleminde kullanılmak üzere, 100 ml distile su içerisine 1 tablet PBS (Oxoid BR 0014G) atılarak tamamen eritildikten sonra içerisine %0,05’lik Tween 20 (Merck 822184) eklenmiş ve hazırlanan karışım 115°C’de 10 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.1.3.j. IMS yönteminde kullanılan DynaMag™-2 Magnet

Yeni DynaMag™-2 magnet küçük numune hacimlerinde (1,5-2 µl) manyetik ayırma için optimize edilmiş bir yapıya sahiptir. DynaMag™-2 Magnet esnek, ergonomik tasarımı ile etkili bir ayırma işlemi sağlamaktadır. Vortex ile veya elle karışımı sağlamak için mükemmeldir. Çoklu numune çalışmaları için uygun olup 16 numune tüpü alabilecek kapasitededir. Optimal tüp hacimleri 10-2000 µL’dir. Tüplerin yerleştirildiği portal çıkarılabilir yapıya sahiptir.



Şekil 3.1. IMS yönteminde kullanılan DynaMag-2 Magnet

3.2. Yöntem

örnekler temin edildikten sonra laboratuvara derhal getirilip analize alınmıştır. Genel mikrobiyolojik analizler ve *Salmonella* analizleri öngörülen plana göre yapılmıştır. Bu kapsamda *Salmonella*'lar İMS ve geleneksel kültür yöntemiyle izole edilmiş ve İzole edilen *Salmonella*'lar identifikasyon amacıyla geleneksel yöntemde varsayılan biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur. Ayrıca izole edilen *Salmonella*'lar API 20E biyokimyasal test kiti ile de doğrulanmıştır. Yöntem gereği olarak tavuk etlerinde yapılan analizler aşağıda sırasıyla izah edilmiştir.

3.2.1. Genel mikrobiyolojik analizler

3.2.1.a. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı

TAMB sayımı için PCA besiyeri kullanılmıştır. Yayma kültür yöntemi kullanılarak, uygun dilüsyonlardan 0,1'er ml petri plağına aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile yüzeye yayma yapılmıştır. Petri plakları 30-32°C 48 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası gözlenen koloniler sayılmıştır. Sayım sonuçları dilüsyon faktörü göz önüne alınarak TAMB sayısı kob/g şeklinde tespit edilmiştir (Harrigan 1998; Maturin and Peeler 1998)

3.2.1.b. Psikrotrof bakteri sayımı

Psikrotrof bakteri sayımı PCA besiyerinde yapılmıştır. Yayma kültür yöntemi kullanılarak, uygun dilüsyonlardan 0,1'er ml petri plağına aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile yüzeye yayma yapılmıştır. Petri plakları 7-10°C 10 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası gözlenen koloniler sayılmıştır. Sayım sonuçları dilüsyon faktörü göz önüne alınarak psikrotrof bakteri sayısı kob/g şeklinde tespit edilmiştir (Bailey *et al.* 2000).

3.2.1.c. Koliform bakteri sayımı

Koliform sayımında VRB Agar besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan, petri plağına 1 ml aktarılmış ve üzerine 45°C'de 15 ml VRB agar dökülerek homojen karışım sağlanmaya çalışılmıştır. VRB Agar katılaştıktan sonra üzerine 5 ml daha ilave edilerek 35-37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tipik koloniler sayılmıştır (Harrigan 1998)

3.2.1.d. Maya-küf sayımı

PDA besiyeri sterilize edildikten sonra %10'luk steril laktik asit çözeltisi kullanılarak asitlendirilmiş (pH 3,5±0,1) ve petri plaklarına dökülmüştür. Petriler katılaştıktan sonra uygun dilüsyonlardan ekim yapılmış ve oda sıcaklığında (25 °C) 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon esnasında üçten fazla petri istiflemesi yapılmamış ve petriler hareket ettirilmemiştir (Tournas *et al.* 1998).

3.2.1.e. Enterekok bakteri sayımı

Enterekok bakteri sayımında KEAA besiyeri kullanılmıştır. Yayma kültür yöntemi kullanılarak, uygun dilüsyonlardan 0,1'er ml petri plağına aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile yüzeye yayma yapılmıştır. Petri plakları 35-37°C 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası gözlenen koloniler sayılmıştır (Harrigan 1998).

3.2.2. *Salmonella* spp. izole aşamaları

3.2.2.a Geleneksel kültür yöntemi

Analiz örneklerinde *Salmonella* spp 'nin geleneksel kültür yöntemi ile izolasyonunda ISO 6579 (The International Organization for Standardization) ve FDA (Food and Drug Administration) tarafından belirtilen yöntem takip edilmiştir (Anonymous 2007).

Salmonella spp. izolasyonunda geleneksel kültür yönteminde başlıca olarak ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine ekim, biyokimyasal doğrulama test basamakları takip edilir

Ön zenginleştirme

Her bir analiz örneğinden aseptik koşullarda filtreli steril stomacher poşetlere (Tempo SPCC BAGS, Biomerieux SA 12061.3, Fransa) 25'er gr tartılıp, üzerine 225'er ml tamponlanmış peptonlu su (TPS, Oxoid CM0509) ilave edildikten sonra karışım stomacherde (Mayo SEWARD Homogenius) 2-3 dakika homojenize edilmiş ve ön zenginleştirme amacıyla 37°C'de aerob koşullarda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Selektif zenginleştirme

Ön zenginleştirme işleminin ardından selektif zenginleştirme amacıyla, 10 ml Rappaport-Vassiliadis Buyyon , 9 ml Selenite Cystine Broth Base bulunan tüplere sırasıyla 0,1, 1 ml ön zenginleştirme homojenatından ilave edilerek yine sırasıyla 43, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

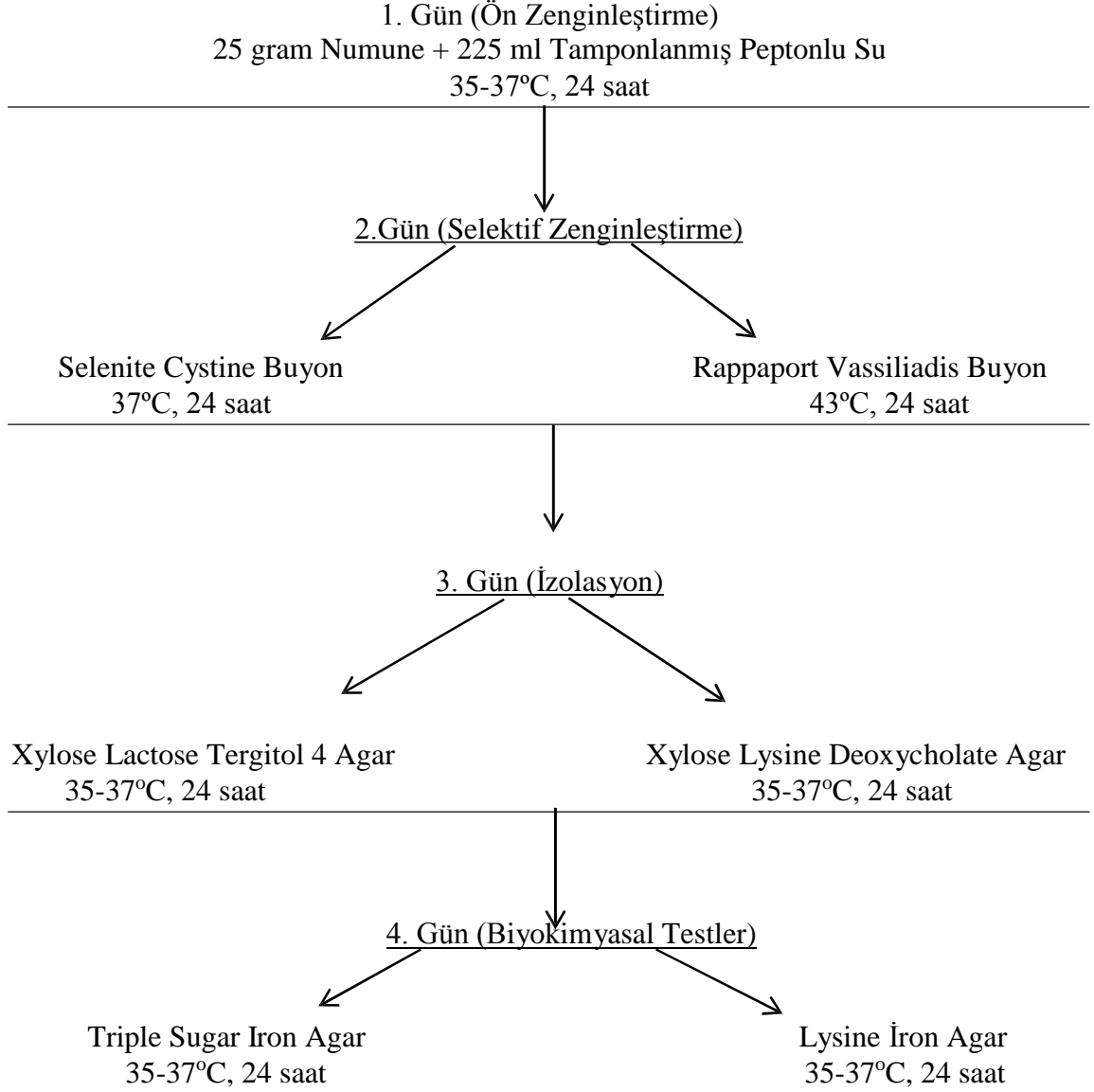
Selektif katı besi yerine ekim

Selektif zenginleştirme buyyonlarından bir öze dolusu alınarak XLD ve XLT4 Agar'a çizme yöntemi ile ekim yapılarak petri plakları 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. XLT4 ve XLD agarda üreyen merkezi siyah olan tipik kolonilerden seçilerek biyokimyasal testler için PCA besiyerine ekim yapılmıştır.



Şekil 3.2. XLT4 agarda üreyen tipik şüpheli koloniler

Çizelge 3.1. *Salmonella* spp.'nin geleneksel yöntemle analizi (Anonymous 2007)

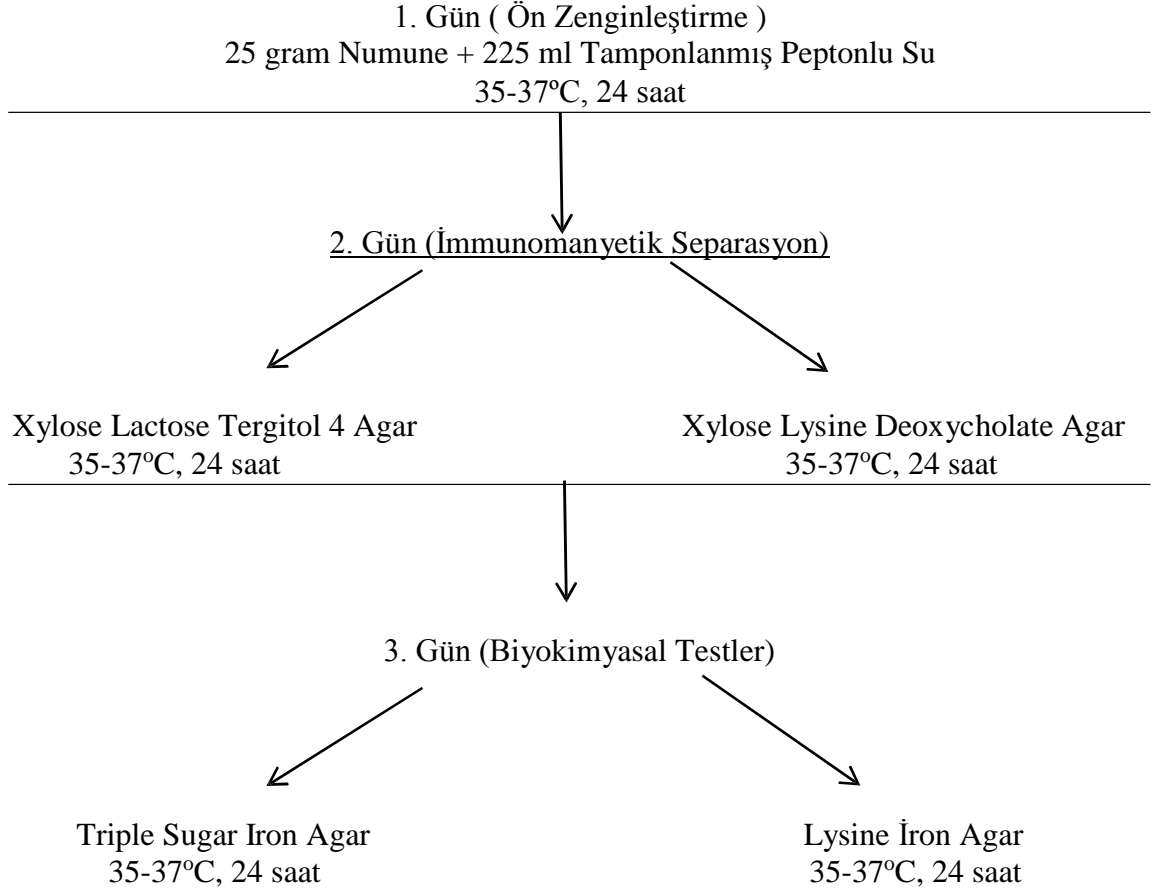


3.2.2.b. İmmünomanyetik separasyon (IMS) yöntemi

Her bir örnek için steril eppendorf tüplerine, vortex ile homojen karışımı sağlanan immunomanyetik mikro partiküllerden (Dynabeads® anti-Salmonella) 20'şer µl konularak üzerine TPS'de ön zenginleştirmesi yapılan homojenattan 1 ml ilave edilmiştir. Eppendorf tüplerindeki karışım vortekslenerek magnetin (DynaMag™-2 Magnet) çıkarılan portüpüne yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika sürekli karıştırılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında immunomanyetik mikro partiküllerin *Salmonella*'lar ile spesifik antijen-antikor etkileşimi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası eppendorf tüplerinin bulunduğu portüp yerine yerleştirilmiş ve oluşan manyetik çekimle, *Salmonella* spp. ile bağlanan dynabead'ler eppendorf tüplerinin magnete değdiği yüzeye doğru yoğunlaşmış orada tutulmuştur. Dynabeadlerin karışımdan tamamen ayrılıp bir tarafta yoğunlaşması için 3 dakika beklendikten sonra manyetik manada bağlı olmayan kısım mikro pipet ile dikkatlice alınarak atılmış ve sonrasında portüp manyetik alanı sağlayan kısımdan ayrılarak yıkama işlemine geçilmiştir.

Yıkama işlemi için %0,05 Tween 20 içeren Phosphate-Buffered Saline kullanılmıştır. Yıkama çözeltisinden 1 ml alınarak eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Yıkama işlemi 3 defa tekrarlanmıştır. Yıkama işleminden sonra dynabeadler 200 µl yıkama sıvısı PBS ile muamele edilmiş ve portüp manyetik alan oluşturan magnet'e yerleştirilip dynabeadlerin yoğunlaşması sağlanmış ve bu sıvıdan XLD ve XLT4 agar'a ekim yapılmıştır. Petri plakları 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve İnkübasyon sonrası tipik *Salmonella* spp. kolonilerine biyokimyasal testler uygulanmıştır (Anonymous 2013d).

Çizelge 3.2. *Salmonella* spp.'nin IMS yöntemiyle aranması (Anonymous 2000)



3.2.3. İzole edilen *Salmonella* spp'lerin identifikasyonu

3.2.3.a. Geleneksel biyokimyasal identifikasyon

XLD ve XLT4 agarda üreyen merkezi siyah olan tipik kolonilerden seçilip Triple Sugar Iron Agar'a ve Lysine Iron Agar'a platin iğne ile dibe batırma ve yüzeye çizme yöntemiyle ekim yapılarak tüpler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası test sonuçlarına göre TSIA ve LIA testleri pozitif olan koloniler *Salmonella* şüpheli olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3. Triple Sugar Iron Agar'da ve Lysine Iron Agar'da *Salmonella* spp. görünümü

3.2.3.b. API 20E biyokimyasal test kiti ile *Salmonella* spp. identifikasyonu

IMS ve Geleneksel kültür yöntemiyle izole edilen *Salmonella*'lar PCA besiyerine alınmış ve daha sonra API 20E biyokimyasal test kiti ile tanımlanmıştır. API 20 E stribi dehidrate substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır. Bu testler ortamın yeniden hazırlanmasını sağlayan bir bakteriyel süspansiyon ile inoküle edilir. İnkübasyon sırasında, metabolizma sonucu spontan olarak ya da reaktiflerin eklenmesiyle renk değişimi oluşmaktadır. Reaksiyonlar, okuma tablosuna göre okunur ve tanımlama, analitik profil indeksi ya da bilgisayar ortamında tanımlama programı kullanılarak sonuçlar elde edilir.

IMS ve geleneksel kültür yöntemiyle izole edilen *Salmonella* şüpheli kolonilerden PCA besiyerine alınanlardan %0.85 NaCl Medium ampul'e (5 ml) öze ile tek koloniden ekim yapılmıştır. Alınan tek koloni süspansiyon sıvısı içinde iyice ezilip homojen hale getirildikten sonra sterilize pastör pipetiyle strip tüplerine, tüpün dibinde hava kabarcığı olmayacak şekilde bakteri süspansiyonu inoküle edilmiştir. CIT, VP ve GEL strip tüpleri

küpüle kadar bakteriyel süspansiyon ile tam doldurulmuştur. Diğer striplerin sadece tüp kısmı doldurulmuştur. ADH, LDC, ODC, H₂S ve URE tüpleri mineral yağ ile kapatılıp anaerobik ortam oluşturulmuştur. Stripin yerleştirileceği inkübasyon kutusu 5 ml distile veya demineralize su ile nemlendirildikten sonra inkübasyon kutusu dikkatli bir şekilde kapatılıp 18-24 saat süreyle 36°C'de inkübe edilmiştir.

3.2.4 İstatistiksel analizler

Mikrobiyolojik analiz bulgularının istatistiksel değerlendirmesi için SPSS-14.01 istatistik hazır paket programı kullanıldı. Geleneksel yöntem ve IMS yöntemini karşılaştırmak, yöntemlerde kullanılan selektif sıvı ve katı besiyerlerini karşılaştırmak amacıyla istatistiksel analizler yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, piyasaya taze ve paketlenmiş olarak tüketime sunulan (10 tavuk ciğeri, 10 tavuk göğsü, 10 tavuk bageti) toplamda 30 tavuk parçası örneğinde geleneksel yöntem (ISO 6579) ve immunomanyetik separasyon (IMS) yöntemleriyle *Salmonella* spp. varlığı araştırılmıştır. Bunun yanısıra toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, maya-küf sayısı, psikrotrofik bakteri sayısı, koliform bakteri sayısı, enterokok bakteri sayısı da tespit edilmiştir.

4. 1. Genel mikrobiyolojik analizlerin sonuçları

4. 1. 1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı

Tavuk ciğeri, bageti ve göğsünde yapılan toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları Çizelge 4.1’de görülmektedir.

Çizelge 4.1. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde TAMB sayım sonuçları (log kob/g)*

Örnek	Örnek kodları										Ort	Min Max
	A	B	C	D	E	F	G	H	İ	J		
Ciğer	7,69	7,47	7,00	7,00	7,54	7,54	7,00	7,47	7,30	7,54	7,35	7,00 7,69
Göğüs	7,01	7,44	7,45	7,46	7,39	7,40	7,47	7,39	7,46	7,43	7,39	7,01 7,47
Baget*	9,70	9,81	9,60	9,85	9,76	10,1	9,96	9,86	9,68	9,92	9,81	9,60 10,01

*: Sonuçlar tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

** : Bagetlerde sayım sonuçları log kob/baget şeklinde verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde, genel olarak ciğer ve göğüs örneklerinde 7 log kob/g seviyesinde TAMB sayısı tespit edilmiştir. TAMB sayısı ortalama olarak en düşük değer

tavuk ciğerinde tespit edilmiştir. Bagetlerde sayım sonucu 9-10 log kob/b seviyesinde belirlenmiştir.

Tavuk eti, mikrobiyel gelişme için oldukça uygun bir ortamdır. TAMB sayılarındaki yüksek değerler bunun en önemli göstergesidir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar alınmıştır. Örneğin, Çetin (2006), tavuk bagetinde TAMB sayısını log 7,32 kob/b seviyesinde bulmuştur. Yine Efe (2005) yaptığı çalışmada tavuk butlarında Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını; en düşük log 2,32 kob/g, en yüksek log 7,81 kob/g ve ortalama log 5,49 kob/g olduğunu bildirmiştir.

Sağun vd (1996), Van'da tüketime sunulan piliç but ve göğüs etlerinin hijyenik kalitesi üzerine yaptıkları bir çalışmada, çeşitli satış yerlerinde tüketime sunulan 20 piliç but ve 20 piliç göğüs olmak üzere toplam 40 numune incelemişlerdir. Araştırmacılar, toplam canlı sayısını butlarda $1,4 \times 10^6$ kob/g, göğüslerde $1,0 \times 10^7$ kob/g olarak bulmuşlardır.

Saunders (1983), piliçlerde toplam aerobik bakteri sayısını maksimum $1,0 \times 10^5$ kob/g, Jay (1970), ise etlerdeki toplam koloni sayısını maksimum $1,0 \times 10^5$ kob/g- $1,0 \times 10^7$ kob/g olarak bildirmiştir.

Yurtyeri (1980), paketlenmiş piliçlerin yüzey mikroflorası üzerine yaptıkları çalışmada, toplam koloni sayısı $1,36 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^4$ /cm² aralığında bulmuşlardır. Gökalp vd (1987), ise tavuk gövde etlerinde toplam koloni sayısını ortalama olarak $4,5 \times 10^5$ kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Gıda hijyeni ve güvenliği bakımından gıdalarda patojen bakterilerin bulunmasına izin verilmemektedir. Benzer şekilde patojen olmasa dahi fekal kontaminasyon göstergesi olan bakteriler de gıdalarda bulunmamalıdır. Bu çerçevede gıdalarda bulunmasına izin verilenler sadece saprofitik karakterli mikroorganizmalardır. Bunlar arasında toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı gıdalarda mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde yaygın şekilde başvurulan ölçütlerdendir. Gıdanın TAMB analizinde önemli olan mezofilik ve aerobik sınırlarda gelişen bakterilerdir. Bunun nedeni; gıdalarda

bulunan mikroorganizmaların büyük çoğunluğunun aerobik-mezofilik olarak tanımlanan sınırlar içinde gelişebilmesi, özel besin maddelerine gereksinim göstermemesi ve gıdaların büyük çoğunluğunda olduğu gibi hafif asitli ortamlarda gelişebilmesidir. Bu aşamada önemli olan konu bunların cins ve türleri değil toplam sayısıdır (Tunail 1999).

Gıdalarda toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ile işletme koşulları, işleme sonrası depolama ve taşıma koşulları hakkında genel bilgi sahibi olunmakta ve ayrıca bunların asgari standartlara uyup uymadığı belirlenebilmektedir. Böylece gıdada bozulmanın başlaması ve raf ömrü Plate Count Agar (PCA)'da toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ile saptanabilir (Efe 2005).

4.1.2. Psikrotrofik bakteri (PB) sayısı

Psikrotrofik bakteri sayısı Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi ortalama olarak en düşük değer tavuk bagetinde görülürken, en yüksek değer tavuk ciğerinde görülmüştür.

Çizelge 4.2. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde PB sayım sonuçları (log kob/g)*

Örnek	Örnek kodları										Ort	Min	
	A	B	C	D	E	F	G	H	İ	J		Max	
Ciğer	6,04	6,60	6,30	6,77	6,69	6,34	6,01	6,84	6,91	6,74	6,52	6,04	6,91
Göğüs	6,35	6,83	6,65	6,68	6,53	6,32	6,35	6,81	6,10	6,55	6,51	6,10	6,83
Baget*	8,47	8,27	8,43	8,14	8,11	8,34	8,49	8,20	8,17	8,67	8,32	8,11	8,67

*: Sonuçlar tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

** : Bagetlerde sayım sonuçları log kob/baget şeklinde verilmiştir.

Tespit edilen değerlere bakıldığında 6 log kob/g seviyesindeki psikrotrof bakteri sayısı ürünün 8-10 °C sıcaklıkta muhafazası sırasında mikrobiyal bozulmanın en önemli etkenlerinden biri olduğu görülmüştür. Çetin (2006), yaptığı çalışmada bagetlerde psikrotrof bakteri sayısını en düşük log 6,12 kob/b, en yüksek log 6,93 kob/b seviyesinde

tespit etmiştir. Yine aynı çalışmada depolamanın sonraki günlerinde sonuçlar log 10 kob/b seviyelerinde görüldüğü bildirilmiştir.

Kundakçı vd (1991), PVC ambalajlı olarak 0°C’de depolamanın 16. gününde psikrofilik bakteri sayısının göğüste 1.8×10^5 kob/g, butta ise $1,1 \times 10^5$ kob/g olduğunu ifade etmektedir. Bailey *et al.* (2000), psikrofilik bakteri sayısını 4°C’de muhafazada 0. günde log kob 3,60/ml, 7. günde log kob 7,47/ml ve 14. günde log kob 7,60/ml olarak saptamışlardır.

Soğukta muhafaza edilen gıdalarda psikrofilik ve psikrotrofik bakteriler önemlidir. Bu bakteriler için optimum gelişme sıcaklığı genellikle 15-20 °C civarında olmakla beraber donma noktasının altında -10°C’ye kadar gelişme gösterebilirler. Soğukta saklanan et, süt ve diğer hayvansal ürünlerde bozulma genellikle *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* ve *Alteromonas* gibi aerobik psikrotrof bakterilerin metabolik aktivitesi sonucu meydana gelmektedir. Psikrotrof bakterilerin dondurulmuş gıdalarda uzun süre canlılığını koruduğu bulunmuştur (Ünlütürk 1998).

4.1.3 Koliform bakteri sayısı

Çizelge 4.3. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde koliform sayım sonuçları (log kob/g)*

Örnek	Örnek kodları											
	A	B	C	D	E	F	G	H	İ	J	Ort	Min Max
Ciğer	3,39	3,54	3,30	3,30	3,47	3,0	3,0	3,30	3,0	3,30	3,26	3,0 3,54
Göğüs	3,23	3,11	3,27	2,90	3,20	3,04	3,39	3,22	3,25	3,36	3,19	2,90 3,39
Baget*	5,69	5,25	5,39	5,55	5,61	5,74	5,87	5,81	5,85	5,94	5,67	5,25 5,94

*: Sonuçlar tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

** : Bagetlerde sayım sonuçları log kob/baget şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.3.'de görüldüğü üzere koliform grubu bakteri sayısı çığır ve göğüs örneklerinde log 3 kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. Bagetlerde 100 ml yıkama sıvısı göz önüne alınarak sayım sonuçları log 5 kob/b seviyesinde belirlenmiştir.

Sağun vd (1996)'nın, inceledikleri 20 piliç but ve 20 piliç göğüs numunesinde koliform grubu mikroorganizma sayısını sırasıyla ortalama $9,6 \times 10^2$ kob/g ve $1,4 \times 10^3$ kob/g olarak saptamışlardır. İncelenen but örneklerinin %45'inde ve göğüs örneklerinin %80'inde standartların üzerinde ($>1,0 \times 10^1$ kob/g) koliform grubu mikroorganizma bulunduğu ortaya konulmuştur.

Kundakçı vd (1991), koliform grubu mikroorganizma sayısını 0°C 'de depolamanın 16. gününde PVC ambalajlı örneklerin boyun, göğüs ve but kısımlarında sırasıyla $9,1 \times 10^3$ kob/cm², $6,3 \times 10^3$ kob/cm² ve $6,9 \times 10^3$ kob/cm²; PE/PA ambalajlı örneklerde ise sırasıyla $8,3 \times 10^3$ kob/cm², $5,2 \times 10^3$ kob/cm² ve $5,0 \times 10^3$ kob/cm² olarak tespit etmişlerdir. Gökalp vd. (1987), yaptıkları bir araştırmada tavuk göğüs ve but etlerinde ortalama koliform bakteri sayısını, sırasıyla $1,2 \times 10^4$ kob/g ve $1,7 \times 10^5$ kob/g olarak bulmuşlardır.

Anar vd (1992), tavuk butları üzerine yaptıkları bir araştırmada koliform grubu bakteri sayısını en düşük $6,0 \times 10^1$ kob/g, en yüksek $3,0 \times 10^5$ kob/g, ortalama $1,9 \times 10^5$ kob/g olarak bulmuşlar ve örneklerin %17,5'inde koliform grubu bakteriye rastlayamadıklarını bildirmişlerdir. Guang-Hua and Xiano-Ling (1994), tavuk eti numunelerinde koliform bakteri sayısını %50'sinde 10^2 kob/g'dan büyük, %50'sinde ise 10^2 kob/g'dan küçük bulmuşlardır.

Koliform grup bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, Gram negatif, spor oluşturmayan, 35°C 'de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan, çomak şeklindeki bakterilerdir. Bu grupta yer alan ve gıda mikrobiyolojisi açısından önemli olan mikroorganizmalar; *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'dir (Erol 1999).

Koliform grup mikroorganizmalara pek çok gıda hammaddesinde rastlanmaktadır. Gıdalarda koliform mikroorganizmaların bulunması, kötü sanitasyon koşullarının, yetersiz veya yanlış pastörizasyon uygulamalarının, pişirme ve pastörizasyon sonrası tekrar bulaşma olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Tunail 1999).

4.1.4. Enterekok bakteri (EB) sayısı

Çizelge 4.4. Tavuk ciğeri, göğsü ve bağetinde EB sayım sonuçları (log kob/g)*

Örnek	Örnek kodları										Min	
	A	B	C	D	E	F	G	H	İ	J	Max	
Ciğer	<1	2,47	<1	2,60	<1	<1	<1	<1	3,00	<1	<1	3,00
Göğüs	<1	<1	<1	2,74	2,69	<1	2,59	2,84	<1	<1	<1	2,84
Baget*	<1	4,88	4,94	4,74	4,87	<1	4,87	<1	<1	4,94	<1	4,94

*: Sonuçlar tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

** : Bagetlerde sayım sonuçları log kob/baget şeklinde verilmiştir.

Toplam 30 tavuk parçasından 13 (%43) tanesinde *Enterococcus* spp. İzole edilmiştir. Tavuk ciğerinde 3 (%30) örnekten, tavuk göğsünde 4 (%40) örnekten ve tavuk bağetinde 6 (%60) örnekten pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Bayram vd (2011), Mersin ilinde satışa sunulan 40 adet tavuk eti örneklerinde yaptıkları analizler sonucunda 5 (%12,5) örnekte *Enterococcus* spp. tespit etmişlerdir.

Enterokoklar tekli, ikili veya kısa zincirler oluşturan gram pozitif koklardır. Bu mikroorganizmalar insan ve hayvanlarda normal intestinal sistem florasının önemli bir kısmını oluştururlar. Tavuk eti örneklerinde *Enterococcus* spp. saptanması hayvan kesim işleminin ve tavuk etlerinin hazırlandığı ortamın sanitasyonuna dikkat edilmediğini göstermektedir (Bayram vd 2011).

4.1.4. Maya-Küf sayısı

Küfler ve mayalar tavuk etinin bozulmasında etkili olan diğer bir mikroorganizma grubudur. Maya ve küfler, oldukça geniş pH aralığında (pH 2-9), depolama sıcaklığında (10-35°C) ve su aktivitesinde (0,85 ve üzeri) üreyebilmektedirler. Ayrıca pektin ve diğer kompleks karbonhidratları, organik asitleri, proteinleri ve lipitleri kullanabilmektedirler.

Çizelge 4.5. Tavuk ciğeri, göğsü ve bagetinde maya-küf sayım sonuçları (log kob/g)*

Örnek	Örnek kodları											Min	
	A	B	C	D	E	F	G	H	İ	J	Ort	Max	
Ciğer	6,17	6,30	6,54	6,39	6,00	6,47	6,30	6,00	6,17	6,00	6,23	6,00	6,47
Göğüs	6,49	6,46	6,40	6,46	6,62	6,28	6,19	6,62	6,29	6,46	6,43	6,19	6,62
Baget**	7,47	7,39	7,69	7,30	7,47	7,55	7,60	7,64	7,46	7,51	7,50	7,30	7,69

*: Sonuçlar tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

** : Bagetlerde sayım sonuçları log kob/baget şeklinde verilmiştir.

Sayım sonuçları incelendiğinde maya-küf sayısı 6-7 log kob/g arasındadır. En yüksek maya-küf sayısı göğüs etinde görülmüştür. Çetin (2006), tavuk etinde yaptığı analizler sonucunda maya-küf sayısını ilk günde 5-6 log kob/b seviyesinde tespit etmiştir. Aynı çalışmada 10.günde maya-küf sayısı 8-10 log kob/b seviyesinde olduğu bildirilmiştir.

4. 2. Geleneksel yöntem ve IMS yöntemi analiz sonuçları

Geleneksel yöntem ve IMS yöntemiyle analize alınan toplam 30 tavuk parçası (10 tavuk ciğeri, 10 tavuk göğsü, 10 baget) örneğinin 16 tanesi (%53,3) *Salmonella* spp. bakımından pozitif olarak bulunmuştur. Çalışmada geleneksel yöntemle 15 örnek (%50) ve IMS yöntemiyle 13 örnek (%43,3) *Salmonella* spp. yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir. Çalışmada 12 örnek her iki yöntemle *Salmonella* spp. ortak pozitif olarak bulunurken, aynı örneklerden geleneksel yöntem ile *Salmonella* spp. tespit edilen 2 örnek IMS

yöntemiyle izole edilemezken, yine IMS yöntemiyle tespit edilen 1 örnek geleneksel yöntemle *Salmonella* spp. izole edilememiştir.

Çizelge 4.6. Geleneksel yöntem ve IMS yöntemiyle izole edilen *Salmonella* spp. pozitif örneklerin dağılımı

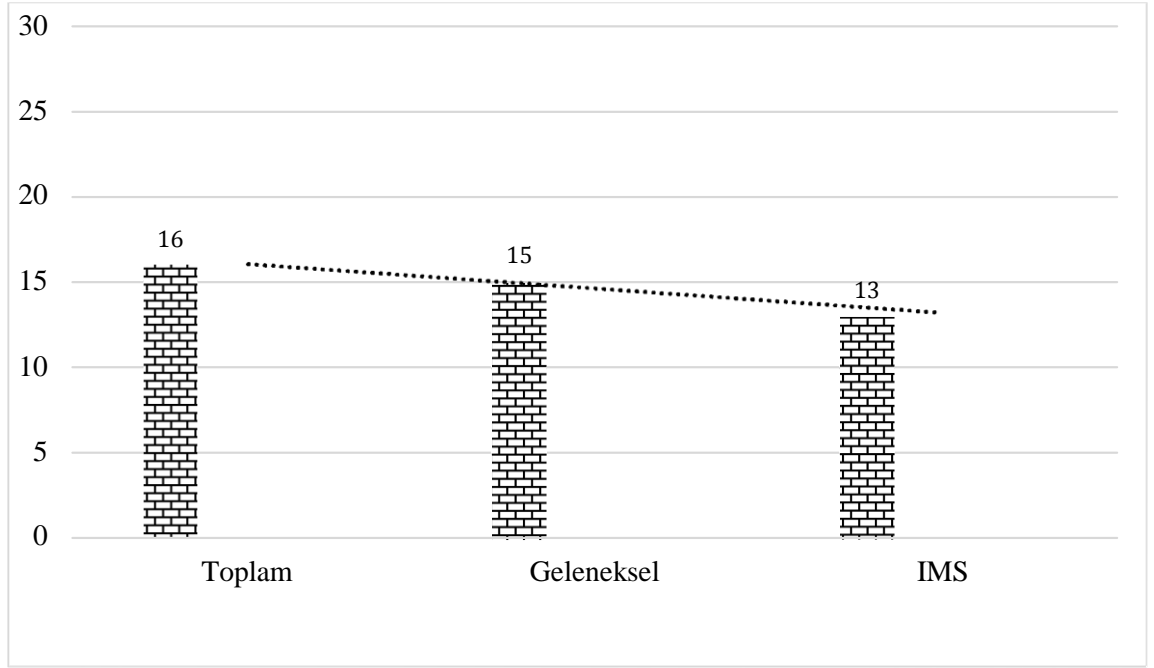
	Geleneksel	IMS	IMS+Geleneksel
n/N	15/30	13/30	16/30
%	50	43,3	53,3

(n: pozitif örnek sayısı; N: Toplam örnek sayısı)

IMS yöntemiyle *Salmonella* spp. pozitif olarak tespit edilen 13 adet örneğin 4'ü göğüs, 4'ü ciğer, 5'i baget şeklinde bulunmuştur. Geleneksel yöntemle 10'ar adet analize alınan tavuk göğsü, tavuk ciğeri ve tavuk bagetlerinden 5'er tanesi *Salmonella* spp. pozitif olarak belirlenmiştir. Geleneksel yöntem ile %50, IMS yönteminde ise %43,3 oranında izolasyon sağlanmıştır.

Çizelge 4.7. Tavuk göğsü, tavuk ciğeri, tavuk bageti örneklerinde izole edilen *Salmonella* spp. pozitif örneklerin yöntemlere göre dağılımı

	Göğüs	Ciğer	Baget
Geleneksel	5/10	5/10	5/10
IMS	4/10	4/10	5/10



Şekil 4.1. Tavuk parçası örneklerinde geleneksel yöntem, IMS ve her iki yöntemle elde edilen *Salmonella* spp. pozitif sonuçların dağılımı

Geleneksel yönteminin seçici zenginleştirme basamağında kullanılan RVB (Oxoid CM669) geleneksel yöntemle izole edilen toplam 15 örnekten 15'inin, SCBB (Oxoid CM699) 6 örneğin *Salmonella* spp. pozitif olarak izole edilmesini sağlamıştır (Çizelge 4.8). Yapılan istatistiksel analizlerde kullanılan selektif zenginleştirme ortamları arasındaki fark önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0,01$).

Çizelge 4.8. RVB ve SCBB ile izole edilen *Salmonella* spp.'nin örneklerin dağılımı

	RVB	SCB
n/N	15/15	6/15
%	100	40

n: RVB ve SCB selektif zenginleştirme besiyerleriyle *Salmonella* spp. izole edilen örnek sayısı; N: geleneksel yöntemle *Salmonella* spp. izole edilen örnek sayısı

Salmonella spp.'nin geleneksel yöntemle izolasyonu için kullanılan seçici katı besi yerlerinden XLD agar ile 15 (%100) örnek, XLT4 agar ile 14 (%93,3) örnek *Salmonella* spp. açısından pozitif olarak bulunmuştur. IMS yöntemiyle *Salmonella* spp. pozitif olarak saptanan 13 örnek (%100) hem XLD agar ile hem de XLT4 agar ile izole edilmiştir. Her iki yöntemde kullanılan XLD ve XLT4 seçici katı besi yerleri arasında çok önemli bir fark görülmemiştir.

Çizelge 4.9. *Salmonella* spp. izolasyonunda kullanılan XLT4 ve XLD selektif katı besiyerlerindeki pozitif örnek dağılımı

	Geleneksel	IMS	Geleneksel+IMS
XLD Agar	15/15	13/13	16/16
XLT4 Agar	14/15	13/13	15/16

Geleneksel yöntem ve immünomanyetik separasyon yönteminin hassasiyetleri pozitif ve hatalı sonuçlar dikkate alınarak hesaplanmıştır. Bir yöntemde hassasiyet şu şekilde hesaplanır (De Boera and Beumer 1999).

$$\text{Hassasiyet} = \frac{\text{pozitif sonuçların sayısı}(p)}{p + \text{hatalı negatiflerin sayısı}} = \frac{\text{pozitif sonuçların sayısı}(p)}{\text{toplam pozitif sonuçların sayısı}}$$

Çizelge 4.10. *Salmonella* spp. tespit etmede kullanılan yöntemlerin hassasiyetleri (n:30)

	Pozitif	Negatif	Hatalı	Hassasiyet (%)
Geleneksel	15	15	1	93,75
IMS	13	17	3	81,25

Geleneksel yöntemin %12,5 daha fazla hassasiyete sahip olduğu görülmektedir. Hassasiyet yöntemlerin güvenilirliğini belirlemek için sıkça kullanılan bir kriterdir.

4.2.1 İzole edilen *Salmonella* spp.'lerin identifikasyon sonuçları

Salmonella spp. şüpheli olan kolonilere oksidaz testi uygulanmış oksidaz negatif olan kolonilere geleneksel biyokimyasal testler ve API 20E test kiti (BioMérieux, Inc., France) ile uygulanarak doğrulama testleri tamamlanmıştır.

XLD ve XLT4 agarda üreyen merkezi siyah olan tipik kolonilerden seçilip Triple Sugar Iron Agar'a ve Lysine Iron Agar'a platin iğne ile dibe batırma ve yüzeye çizme yöntemiyle ekim yapılarak tüpler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası test sonuçlarına göre TSIA ve LIA testi pozitif olan koloniler *Salmonella* spp. şüpheli olarak değerlendirilmiştir.

API 20E biyokimyasal testi için izolatlar plastik stripteki 20 minyatür test tüpüne inoküle edilmiştir. Üç tüp (CIT, VP ve GEL) tamamen doldurulurken, beş test tüpü (ADH, LDC, ODC, H₂S, URE) aneorobik reaksiyonların gerçekleşmesi için mineral yağ ile kapatılmıştır. 37°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra stripte yer alan test tüplerine Çizelge 4.11'de belirtilen reaksiyon ve renk değişimlerine göre (Çizelge 4.12) değerlendirilmiştir. Elde edilen bilgiler apiweb (<https://apiweb.biomerieux.com/>) veritabanına işlenmiş ve program verisi sonucunda şüpheli koloniler %99,9 olasılıkla *Salmonella* spp. olarak bulunmuştur.

Geleneksel yöntemle 15 örnekten pozitif olarak elde edilen izolatlar geleneksel biyokimyasal testlerle doğrulanmıştır. IMS yöntemiyle tespit edilen 13 izolatın geleneksel biyokimyasal testleri yapıp toplamda 16 pozitif örneğin doğrulanması API 20E biyokimyasal test kitiyle tekrarlanmıştır. Her iki biyokimyasal doğrulama test yöntemi elde edilen *Salmonella* spp. şüpheli izolatları aynı hassasiyette doğrulamışlardır.

Çizelge 4.11. API 20E test kiti için değerlendirme kriterleri (Bolat 2006)

Test	Substrat	Reaksiyon	Değerlendirme	
			Negatif	Pozitif
ONPG	Ortho-nitro-fenil - P-D- galaktopiranosit	Beta-galaktosidaz	Renksiz	Sarı
ADH	Arjinin	Arjinin dehidrolaz	Sarı	Kırmızı/Oranj
LDC	Lizin	Lizin dekarboksilaz	Sarı	Oranj
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	Sarı	Kırmızı/Oranj
CİT	Sodyum sitrat	Sitrat kullanımı	Soluk yeşil/sarı	Mavi yeşil/mavi
H₂S	Sodyum tiyosülfat	H ₂ S üretimi	Renksiz/gri	Siyah dip
ÜRE	Üre	Üreaz	Sarı	Kırmızı/Oranj
TDA	Triptofan	Triptofan deaminaz	Sarı	Koyu kahverengi
IND	Triptofan	İndol üretimi	Sarı halka	Kahverengi halka
VP	Sodyum pirüvat	Aseton üretimi	Renksiz	Pembe/Kırmızı
GEL	Kohn's jelatin	Jelatinaz	Parçalanmamış siyah pigment	Parçalanmış siyah pigment
GLU	Glukoz	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
MAN	Mannitol	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
INO	İnositol	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
SOR	Sorbitol	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
RHA	Ramnoz	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
SAC	Sükroz	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
MEL	Melibioz	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
AMY	Amigdalin	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
ARA	Arabinoz	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
OKSİDAZ	Filtre kağıdı üzerinde	Sitokrom-oksidaz	Renksiz	Menekşe rengi
NO₃-NO₂	Glukoz	NO ₂ üretimi	Sarı	Kırmızı

Çizelge 4.12. API 20E test kitinde kullanılan reaktifler (Bolat 2006)

Test	Ayıraç damlatılacak stripler	Ayıraç	Bekleme süresi	Değerlendirme	
				Negatif	Pozitif
TDA	TDA	1 damla TDA ayıracı	Hemen	Sarı	Koyu kahve
IND	IND	1 damla IND ayıracı	2 dakika	Sarı halka	Kırmızı halka
VP	VP	1'er damla VP1 ve VP2	10 dakika	Renksiz	Pembe/kırmızı
NO₂	Glukoz	1 damla NIT1 1 damla NIT2	2-3 dakika	Sarı	Kırmızı
NO	Glukoz	1 damla ZN	5 dakika	Kırmızı	Sarı
OKSİDAZ	Filtre kağıdı üzerine alınmış koloni	1 damla OX ayıracı	1-2 dakika	Renksiz	Menekşe rengi

Swanson and Collins (1980), tarafından hayvansal örnekten elde edilen Enterobacteriaceae familyasına ait patojen enterik bakterileri kullanarak yaptıkları bir çalışmada, API 20E test kitini identifikasyon amacıyla kullanılıp kullanılamayacağını araştırmışlardır. Test kiti izolatların %96'sını doğru, %3'ünü yanlış identifiye etmiş ve %1'ini identifiye edememiştir.

Nucera *et al.* (2006), yaptıkları çalışmada API 20E biyokimyasal testini ve *invA* PCR yöntemiyle kıyaskamış ve API 20E test kitinin hassasiyetini %96, spesifikliğini %86, *invA* PCR yöntemi için hassasiyeti %96, spesifikliği %79 olarak bulmuştur.

Taşkale (2010), Türkiye'de farklı bölgelerde satısa sunulan 217 adet hayvansal kaynaklı gıda kullanılarak yürütülen çalışma sonucunda 41 farklı örnekte *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleştirmiş ve API 20E biyokimyasal test sonuçlarına göre izolatların %89,4-%99,9 olasılıkla *Salmonella* spp. olduğunu göstermiştir.

4.3 Geleneksel yöntem ve IMS yönteminin karşılaştırılması

Yaptığımız bu çalışmada *Salmonella* spp. izole etmek için kullanılan geleneksel yöntem (ISO 6579) ve IMS yöntemi duyarlılıkları açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmada geleneksel yöntem %93,75 duyarlılıkta iken, IMS yöntemi %81,25 duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür.

Geleneksel yöntemin ve IMS yönteminin karşılaştırıldığı birçok çalışmada yaptığımız çalışmanın sonuçlarına benzerlik ve farklılık arzeden bulgular elde edilmiştir.

Mansfield and Forsythe (1993), 120 adet doğal kontamine ve *Salmonella* spp. kültürü ile kontamine edilen 60 adet gıda örnekleriyle yaptıkları çalışmada IMS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen seçici zenginleştirme basamağının, geleneksel yöntemde selenit sistin (SC) broth, tetrasyonat (TT) broth ya da Rappaport-Vassiliadis (RV) broth kullanılarak gerçekleştirilen seçici zenginleştirme basamakları kadar etkili bir izolasyonu daha kısa sürede sağladığını bildirmişlerdir.

Cudjoe *et al.* (1994), IMS yöntemini kullanarak, 180 adet kanatlı etinin 135 (%75) adedinin *Salmonella* spp. ile kontamine olduğunu saptayabilmişken, ISO 6579 geleneksel yöntemini kullanarak aynı örneklerin yalnızca 98 (%54,4) adedinin *Salmonella* spp. ile kontamine olduğunu belirleyebilmişlerdir.

Elde ettiğimiz IMS sonuçları Coleman *et al.* (1995a) yaptığı çalışmalar sonucunda elde ettiği bulgular ile örtüşmektedir. Araştırmada IMS yöntemi ile %20 oranında yanlış pozitif sonuç alınabileceğini, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas* ve mukoid koliformlar (*E. coli*, *Enterobacter* spp. ve *Klebsiella aerogenes*) dışında spesifik olmayan bağlanmaların çok düşük olduğunu ve diğer araştırmacılar arasında da (Blackburn *et al.* 1991; Skjerve and Olsvik 1991), bu konunun tartışıldığını belirtmişler ve mukoid koliformların selektif agar üzerinde çoğalarak, bol miktarda eksopolisakkarit üretilip şüpheli kolonilerin saf olarak elde edilmesini zorlaştırdığını bildirmişlerdir.

Safarik *et al.* (1995)'nin yaptığı çalışmada, IMS yönteminin geleneksel yöntemle göre daha az duyarlı olmasının sebebini, manyetik partiküllerin yüzeyleri üzerinde birden fazla mikroorganizmayı taşıyabilmesine ve bu mikroorganizmaların selektif besiyerlerinde koloni oluşturmaya bağlamışlardır. Bunun sonucunda da *Salmonella* spp.'nin izolasyonunun zorlaştığı belirtilmiştir.

IMS yönteminde yıkama işleminin ardından selektif katı besiyerine ekim yönteminin, besiyeri üzerinde *Salmonella*'dan ayırt edilemeyen *Citrobacter freundii*'den dolayı yanlış pozitif sonuçlara neden olduğu ve duyarlılığı azalttığı bildirilmiştir. RVB gibi zenginleştirme besiyeri kullanıldığında ise *Citrobacter freundii*'nin çok az geliştiği ve bu nedenle IMS sonrası RVB'a geçilmesi ile *Salmonella* spp.'nin izolasyon şansının arttığı belirtilmiştir. Ayrıca *Enterobacter agglomerans*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes* ile spesifik olmayan bağlanmalar sonucu *Salmonella* spp. izolasyon şansının düştüğü belirtilmiştir (Coleman *et al.* 1995b).

Poppe *et al.* (1996), *Salmonella* spp.'nin izole edilmesi amacıyla farklı yöntemleri karşılaştırdıkları çalışmalarında, 60 hindi eti örneğinde geleneksel yöntem ile %78, IMS yöntemiyle % 45 oranında pozitiflik saptamışlardır. Geleneksel yöntemin IMS yöntemine göre daha etkin olduğunu göstermişlerdir.

Cudjoe and Krona (1997) yaptıkları bir çalışmada, 100 adet gıda örneğinden yalnızca 31 (%31) adedinin *Salmonella* spp ile kontamine olduğunu geleneksel yöntem kullanarak saptayabilmişken, IMS yöntemini kullanarak 39 (%39) adedinin *Salmonella* ile kontamine olduğunu belirleyebilmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda IMS yönteminin, geleneksel yöntemle kıyasla daha etkili bir izolasyon yaptığı vurgulanmıştır.

Ripabelli *et al.* (1997), 69 adet domuzdan yapılmış sucukta ve 68 adet tavuk parçasında *Salmonella* spp. varlığını araştırmak amacıyla geleneksel yöntem ve IMS yöntemini kullanmıştır. Toplamda 18 (%13,13) adet örnekte *Salmonella* spp. izole edilmiş ve izole edilen örneklerin 15 (%83,3) tanesinin geleneksel kültür yöntemiyle, 12 (%66,7) tanesinin IMS yöntemiyle izole edildiği bildirilmiştir.

Mercanoğlu (2002), Çeşitli gıdalarda *Salmonella* spp. varlığını araştırmak amacıyla yaptığı çalışmada 50 adet gıda örneğinin 12'sinin (%24) *Salmonella* spp. ile kontamine olduğunu geleneksel yöntem ile tespit ederken, IMS yöntemi ile 14 (%28) örneğin *Salmonella* spp. ile kontamine olduğunu belirlemiştir. Ayrıca aynı çalışmada 10^3 kob/mL seviyesinde *S. enteritidis* inokülasyonu gerçekleştirilen 14 adet gıda örneği arasında IMS, geleneksel yöntem (ISO 6579) göre 1 adet daha fazla *Salmonella* spp. pozitif örnek belirlendiği bildirilmiştir.

Lynch *et al.* (2004), kanatlı hayvanların örneklerinden *Salmonella* spp. izolasyonunda IMS yöntemiyle, geleneksel yöntemle kıyasla, hem daha hızlı hem de %15,5 daha duyarlılıkta sonuçlar alınabileceğini saptamışlardır.

Özer ve Kimiran-Erdem (2010), İstanbul ilinde 50 kıyma örneği üzerinde yaptıkları çalışmada hem geleneksel yöntem hem de IMS yöntemi kullanarak *Salmonella* spp varlığını tespit etmeye çalışmışlardır. İncelenen 50 kıyma örneğinin, geleneksel kültür yöntemi ile 5'inden (%10), IMS yöntemi ile 3'ünden (%6) *Salmonella* cinsi bakteri izole edildiği belirtilmiştir. Gerek geleneksel kültür yöntemi gerekse de IMS yönteminde besiyeri üzerinde üreyen kolonilerden elde edilen izolatlar API 20E test kitiyle *Salmonella choleraesuis* spp. *arizonae* ve *Salmonella* spp. olarak tanımlanmıştır.

Türk (2012), 2008 ve 2009 yıllarında Samsun ilinde tüketime sunulan 150 tavuk eti örneğini (75 karkas ve 75 parça eti) *Salmonella* spp. varlığı yönünden geleneksel yöntem ve IMS yöntemini kullanarak analiz etmiştir. Analiz bulguları çerçevesinde; 150 örnekten 67 (%44,66)'sinin *Salmonella* spp. ile kontamine olduğu saptanmıştır. Ayrıca analiz bulgularının örneklere göre dağılımı incelendiğinde; *Salmonella* spp. izole ve tanımlanmış olan 67 örneğin 41 (%54,66)'inin tavuk karkasına ve 26 (%34,66)'sının ise tavuk parça etlerine ait olduğunu belirtmiştir. Geleneksel yöntem ile toplam 38 (%25,33), IMS yöntemi ile ise toplam 57 (%38,00) örnekten etkeni izole ettiğini belirtmiştir.

Geleneksel yöntem kullanılarak kanatlı etlerinde *Salmonella* spp. izole etmek için yapılan bazı çalışmaların sonuçları aşağıda verildiği gibidir. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarıyla

karşılaştırıldığında benzerlik olduğu görülmüş ve *Salmonella* spp. dağılımı %12,5 ile %88,4 arasında değişmiştir. Bu değişim kontaminasyon seviyesine bağlı olarak farklılık arz edebilmektedir. Kesim şartları, işleme yöntemleri, işletmenin hijyen ve sanitasyon durumu, hayvanın intestinal organlarındaki patojen bakteri seviyesi bu değişime sebep olabilmektedir. Tavukların bulunduğu ortamın hijyen durumu, beslendikleri yemin mikrobiolojik kalitesi, kesim yöntemi, tavuk kesim aletlerinin ve parçalama ekipmanlarının sterilizasyonu, personel hijyeni, ambalajlama materyalinin kontaminasyonu gibi çeşitli etkenler tavuk etinin raf ömrünü belirlerken beraberinde patojen mikroorganizma taşıma riskini de getirmektedir.

Lammerding *et al.* (1988), 1983 yılında yaptıkları bir çalışmada 230 hindi karkasının 159'unda (%69,1) *Salmonella* izole etmişlerdir.

Telo *et al.* (1998), tarafından yapılan bir çalışmada , kanatlı etlerinden oluşan 80 örnekte 7'si tavuk, 2'si hindi eti ve 1'i de hindi karaciğeri olmak üzere toplam 10 örnekten *Salmonella* izole edilmiştir.

Chang (2000), Kore'de tavuk etlerinde *Salmonella* spp.'nin varlığının belirlenmesi amacıyla yaptığı bir çalışmada toplam 27 örneğin %25,9'undan *Salmonella* spp. izole etmiştir.

Dominguez *et al.* (2002), süpermarket ve perakende satış yerlerinden topladıkları 198 tavuk eti örneğinin 71'inden (%35,8) *Salmonella* spp. izole etmişlerdir.

Capita *et al.* (2003), İspanya'da kanatlı eti ve ürünlerinde *Salmonella*'nın varlığını araştırmak amacıyla tavuk karkası, tavuk parçaları ve iç organları (kanat, but, karaciğer ve yürek) ve işlenmiş tavuk ürünleri (sosis, hamburger köftesi) üzerine yaptıkları çalışmada örneklerde ortalama %49 oranında *Salmonella* spp. belirlemişlerdir.

Fratamico (2003), ABD’de 1999-2001 yılları arasında 104 hindi kıyma ve 86 tavuk kıyma örneği üzerinde yaptığı bir çalışmada geleneksel yöntemle sırasıyla %16,8 ve %18,0 oranlarında *Salmonella* spp. izole etmiştir.

Erol vd (2004), piliç karkaslarında *Salmonella*’ların varlığını saptamak için yapmış oldukları çalışmada 69 örneğin 61’inde (%88,4) *Salmonella* izole etmişlerdir.

Yazıcıoğlu vd (2005), tavuk kesimhanelerinin parçalama ünitelerinden topladıkları 662 boyun ve kanat örneklerinin 58’inden (%8,7) *Salmonella* izole etmişlerdir.

Efe (2005), Ankara Garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinde yaptığı analizler sonucunda tavuk butlarında %18, tavuk derisinde %26, tavuk göğsünde %16 seviyesinde *Salmonella* spp. izole etmiştir.

Fakhr *et al.* (2006), Amerika’da satışa sunulan hindi etleri üzerinde yaptıkları çalışmada, 99 hindi etinin 49’unun (%49,4) *Salmonella* ile kontamine olduğunu saptamışlardır.

Ünlü (2011), Ankara, Bolu ve Balıkesir’deki kesimhanelerden gelen, 721 tavuk karkas örneğinden, 100 adedinin (%13,8) *Salmonella* spp. içerdiğini tespit etmiş ve identifiye etmiştir.

Tavuk etlerinde gerçekleştirdiğimiz izolasyon oranı Erol vd (2004) ve Yazıcıoğlu vd (2005) yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri izolasyon oranları (%88,4-%8,7) arasındadır. Ülkemizde yapılan bir çok çalışmanın *Salmonella* spp. izolasyon oranlarının yüksek olduğu görülmektedir.

Geleneksel yöntemin selektif zenginleştirme basamağında kullanılan RVB ve SCBB besiyerleri, yine geleneksel yöntem ve IMS yönteminde kullanılan XLD ve XLT4 selektif katı besiyerleri çeşitli çalışmalarda karşılaştırılmıştır.

Mansfield and Forsythe (1993), yağsız süt tozu, kakao tozu, baharat, karides, yem ve donmuş tavuk etinden oluşan 120 örnekte *Salmonella* varlığını IMS ve geleneksel yöntem kullanarak incelemiştir. IMS yöntemi ile 120 örneğin 63'ü (%52,5) *Salmonella* spp. pozitif olarak belirlenmiştir. Geleneksel yöntemde SCB, Mueller-Kauffmann Tetrathionate (MKT) buyyon ve RVB'nin karşılaştırmasını da yapmışlar ve SCBB ve RVB ile 62 örnek (%51,66), MKT buyyon ile 61 örnek (%50,83) pozitif olarak bulunmuştur.

Molla *et al.* (1994), tavuk, hindi eti ve sakatatı, çığ yumurta ve yumurta sarısı, baharat, sığır ve domuz kıymasından oluşan toplam 165 örneğin 54'ünden (%32,7) *Salmonella* spp. izole ederken, IMS ve geleneksel yöntem arasındaki performansın farklı olmadığını bildirmişler ve IMS tekniğinin RVB ve SCB gibi selektif zenginleştirme besiyerlerine bir alternatif olabileceğini göstermişlerdir.

Cudjoe ve Krona (1997), tavuk derisi, fekal swablar, tavuk ciğeri, tavuk eti ve kanatlı yemi olmak üzere toplam 100 örnek üzerinde *Salmonella*'nın izolasyonu amacıyla çalışmışlardır. IMS-RVB kombinasyonu ile 39 pozitif örnek (%39), geleneksel kültür yöntemiyle ise 31 pozitif örnek (%31) belirlenmiştir. IMS işlemi sonucunda selektif zenginleştirme yapılmadan selektif besiyerine ekildiğinde ise bu çalışmaya benzer şekilde geleneksel yöntemle göre IMS yöntemi ile pozitiflik oranı daha düşük olarak (%20) bulunmuştur. Ripabelli ve ark. (1999), kontamine edilen 86 sığır kıyması örneğinden *Salmonella*'nın izolasyonunda selektif zenginleştirme besiyeri olarak SCB'nin kullanıldığı geleneksel yöntemin IMS yöntemine göre daha üstün olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmaya göre, ön zenginleştirmeyi takiben IMS uygulanması sonucunda *Salmonella*'nın daha düşük oranda izole edilmesinin nedeninin spesifik olmayan bağlanmaların selektif katı besiyerlerindeki izolasyonu zorlaştırması olduğu şeklinde açıklanmıştır.

5. SONUÇ

Gıda güvenliği açısından patojen mikroorganizmaların gıdalarda bulunmaması gerektiği sağlık kurumları ve kuruluşları tarafından belirtilmektedir. Mutfaklarımıza çiğ olarak giren ve *Salmonella* spp. gibi önem arzeden bir patojen mikroorganizmayı taşıma riski yüksek olan tavuk etleri, insan sağlığı için önemli olan çapraz kontaminasyona sebep olabilmektedir. Tavuk etlerinin uygun sıcaklık ve sürede pişirilmesi varolan patojen mikroorganizmaların yok edilmesini sağlasa da asıl önemli olan çapraz kontaminasyon riskidir. Bu yüzden tavuk etlerinin ve diğer gıdaların *Salmonella* spp. açısından kontrol edilmesi önemlidir.

Tavuk etleri; kesim, parçalama, taşıma ve depolama işlemleri sırasında kontaminasyona maruz kalmakta ve bu şekilde pazarlandığında hızlı bir şekilde bozulmaktadır. Kanatlı etleri içerisinde en yüksek tüketim seviyesine sahip olan tavuk etleri, bu gıda patojenleriyle kontamine olma riski yüksek olan bir gıdadır. *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter* gibi gıda patojenlerinin gastroenterit rahatsızlıklara sebep olduğu bilinen bir gerçektir.

Günümüzde insan nüfusunun özellikle şehirlerde yoğunlaşmasına paralel olarak, tavuk etinin tüketiminde de artış meydana gelmiştir. Tavuk eti tüketimine bağlı olarak mikroorganizmalardan kaynaklanan gastroenterit vakaların da artışı, araştırmacıları bu iki olay arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere harekete geçirmiştir.

Bu çalışma ile diğer çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde tavuk etlerinin *Salmonella* spp. ile kontaminasyon oranlarının yüksek olduğu görülmüştür. İzolasyon oranlarının % 80 gibi oldukça yüksek seviyelere kadar yükselmesi salmonellozisin en önemli kaynaklarından birisinin niçin tavuk eti olarak kabul edildiğini açıklamaktadır.

Çapraz kontaminasyona sebep olması ve potansiyel gıda zehirlenmesi etkeni olmasından dolayı mikrobiyolojik kriterler tebliğinde 25 g gıda örneğinde *Salmonella spp.* bulunmamalıdır. Erzurum ilinde Satış yerlerinden toplanan örneklerden *Salmonella spp.* izolasyonu; tavuk etlerinin üretimi, taşınması, depolanması ve işlenmesi gibi aşamaların herhangi birinde ya da birden fazla aşamasında hijyen kurallarına uyulmadığını göstermektedir. Salmonellozis sorununu engelleyebilmek için birbiriyle ilişkili olan bu aşamaların izlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular ile genel olarak şu sonuçlar çıkarılmıştır:

1. Yapılan bu çalışmada patojen ve diğer mikroorganizmaların yüksek seviyede bulunması üretim, yıkama, paketlenme ve depolama koşullarının iyi olmadığını, teknolojinin gelişmesine rağmen hijyen kurallarının yeterince uyulmadığını göstermektedir. Genel olarak tavuk etlerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptığımız analizlere bakıldığında sonuçlar diğer araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermekte ve yüksek seviyelerde görülmektedir.
2. Gıdalarda patojen mikroorganizma aramada geleneksel yöntemler altın standart olarak kabul görmektedir. Bunun yanında geleneksel yöntemlerin zaman alıcı olması, kullanılan sarf malzemenin çokluğu, analizler için yoğun iş gücüne gereksinim duyulması gibi dezavantajlar bilim insanlarını ve bu konuda çalışmalar yapan akademisyenleri yeni yöntemlere yönlendirmiştir.
3. Bu çalışma sonucunda yeni ve hızlı yöntemlerin geleneksel yöntemlerin spesifikliğini, hassasiyetini artırabildiği gibi, daha güvenilir, hızlı sonuçlar almaya da katkı sağladığı görülmüştür. Yaptığımız çalışmada 30 tavuk parçası örneğinden 16 tanesi *Salmonella spp.* pozitif olarak saptanmıştır. Pozitif örneklerin 15'i geleneksel yöntem ile izole edilirken, 13'ü IMS yöntemiyle izole edilmiştir. Geleneksel yöntemin 1 örnekte izole edemediği *Salmonella spp.* IMS yöntemiyle belirlenebilmiştir.

4. *Salmonella* spp. prevalansı bakımından bu çalışma bulguları ile diğer araştırıcıların bulguları arasında görölen farklılığın, kesimhane hijyeni, ürünlerin çapraz kontaminasyonu, araştırılan örneklerin farklılığı, örneklerin işlenme prosedürü, ürünün mikrobiyal yükü ve uygulanan izolasyon ve identifikasyon metodlarının etkinliğinden ileri geldiği düşünölmektedir. Ayrıca kümeslerdeki populasyonun fazla olduğu durumlarda veya taşıma esnasında oluşan strese bağlı olarak fekal içerikteki patojen yükün artabileceği ve sonuçta da karkaslar arasında çapraz kontaminasyonun şekillenmesiyle son ürünün kontaminasyon düzeyinin değişeceği bildirilmiştir (İşeri 2007).

5. Bu çalışma ile geleneksel yöntemin IMS yöntemine göre üstünlük sağladığı belirlenmiş, geleneksel yöntemde kullanılan sıvı besiyerleri içerisinde ise RVB'nin SCB buyyona göre üstünlük sağladığı ortaya konulmuştur. Her iki yöntemde kullanılan XLD ve XLT4 selektif katı besiyerleri arasında ise önemli bir fark bulunamamıştır.

6. Örneklerden elde edilen izolatların biyokimyasal identifikasyonu için API 20E biyokimyasal test kiti kullanılmış ve bu test kitinin hasassiyeti geleneksel yöntemde identifikasyon amacıyla kullanılan TSI ve Lİ agar'a göre %100 olarak tespit edilmiştir.

7. Gıda üretiminde *Salmonella* spp. ile kontamine olan ürünlerin hızlı ve güvenilir olarak kontrolü için, *Salmonella* varlığını belirleyen yöntemlere her geçen gün daha çok ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yöntemlerin kullanılabilirliği geleneksel yöntemlerle kıyaslanıp yorumlanarak geliştirilmesi için daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulduğu görölmüştür.

8. Bu çalışmada, güvenilir analiz sonuçları için geleneksel yöntem ve IMS yönteminin kombine halde kullanılmasının daha faydalı olacağı sonucuna varılmıştır. Geleneksel yöntem ve IMS yönteminin birlikte kullanılmasıyla, her bir yöntemin tek başına gösterdikleri spesifiklik ve duyarlılık özelliklerinin arttığı görölmüştür.

IMS yönteminin geleneksel yöntemle göre etkinliğinin düşük olmasının muhtemel sebepleri taranan literatürlerde görülmüş ve bu sorunun aşılması için fikirler önerilmiştir. Genel olarak sonuçlardan çıkarım yapıldığında IMS yönteminde kullanılan materyallerin sterilizitesine çok dikkat edilmesi gerektiğine vurgu yapmak gerekmektedir. Yıkama sıvısı dahil bütün materyalin sterilizitesi gözden geçirilerek analizler yapılmalıdır. Dynabead anti-salmonella ile diğer mikrofloranın etkileşmesi sonucu *Salmonella* 'ların izolasyonunun zorlaştığı görülmüştür. Özellikle yıkamanın etkin bir şekilde yapılmaması sonucunda katı besi yerine ekim yapıldığında yabancı mikroflora *Salmonella spp.* kolonilerinin izole edilmesini imkansız hale getirecek şekilde üreyebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonymous, 1997a. Biomagnetic techniques in molecular biology, technical handbook, p, 78, Oslo, Norway.
- Anonymous, 1997b. World Health Organization (WHO), Food safety and foodborne diseases. World Health statistic Quaterly, p. 50.
- Anonymous, 2000. Bioscience Product Catalogue, p, 59, Oslo, Norway.
- Anonymous, 2002. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management. *Salmonellae*, p. 96-105.
- Anonymous, 2007. Food and Drug Administration (FDA), *Salmonella*. Bacteriological Analytical Manual 8th Edition, Chapter 5.
- Anonymous, 2013a. FAO statics. <http://faostat3.fao.org/home/index.html>. 20.02.2013
- Anonymous, 2013b. The nutritional value of chicken meat. (Whole chicken, meat and skin). <http://www.nationalchickencouncil.org/chicken-the-preferred-protein-for-your-health-and-budget/the-nutritional-value-of-chicken/>. 18.08.2013.
- Anonymous, 2013c. Salmonella infections. <http://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks.html>. 06.04.2013.
- Anonymous, 2013d. The History of Dynabeads® and Biomagnetic Separation. <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/brands/Product-Brand/Dynal/The-History-of-Dynabeads.html>. 09.08.2013.
- Anonymous, 2013e. CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States. <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>. 08.08.2013
- Abouzeed, Y.M., 1998. Characterization of salmonella isolates from beef cattle, broiler chickens and human sources on prince Edward Island. Master Thesis. Charlottetown, Canada.
- Adams, M.R., Moss, M.O., 1995. Salmonella. In: Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry, p.192-200. Cambridge, UK.
- Adams, M.R. and Moss M.O., 2000. Food microbiology (Second Edition), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Adcliffe, D.M. and Holbrook, R., 2000. Detection of Microorganisms In Food: Principles and Application of immunological Techniques." In The Microbiological Safety and Quality of Food: Principles And Application of Immunological Techniques. "In The Microbiological Safety and Quality of Food. Eds. Lund, B. M., Baird Parker T.C., Gould, G.W. " p. 1804-1805., Aspen Pub. Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Allos, B.M., Moore, M.R., Griffin, P.M. and Tauxe, R.V., 2004. Surveillance for sporadic foodborne disease in the 21st century: The food net perspective. Clin. Infect. Dis., 38 (3), 20-115.
- Anar, Ş., Çarlı, T., Şen, A. ve Eyigör, A., 1992. Bursa'da tüketime sunulan piliç butlarından *S. Aureus* ve *E. coli* Tip 1 izolasyonu üzerine bir çalışma. U.Ü. Vet. Fak. Derg., 2 (11), 135-141.
- Aykut, A.S. ve Mercanoğlu, B., 2005. İmmunomanyetik ayırma yöntemi ile gıdalardan *Salmonella* spp. izolasyonu. Gıda, 30(5), 315-322.
- Bailey, J.S., Lyon B.G., Lyon C.E. and Windham W.R., 2000. The microbiological profile of chilled and frozen chicken. J Food Microbial., 63 (9), 1228-1230.

- Bayram, G., Delialioğlu, Emekdaş, N. ve Emekdaş, G., 2011. Mersin İlinde Tüketime Sunulan Etlerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Prevalansı ve Tiplendirilmesi. Mersin Univ Sağlık Bilim Derg., 4(2), 12-16.
- Baysal, A., 2012. Beslenme. Hatipoğlu Basım Yayın, p. 560. Ankara, Türkiye.
- Bell, C. and Kyriakides, A., 2002. *Salmonella*. In: Foodborne Pathogens. Ed.. Blackburn, Clive De W. and McClURE, P.J. Woodhead Publishing, p. 307-331, Boca Raton.
- Bhunja, A.K., 2008. Introduction to foodborne pathogens. Foodborne microbial pathogens. Soringer science, p.1-16, Newyork, USA.
- Bilgehan, H., 2004. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları., p. 425-455.
- Blackburn,C.W., Patel, P.D., Gibbs, P.A., 1991. Separation and detection of Salmonella using immunomagnetic particles. Biofouling, 5, 143-156.
- Bolat, S., 2006. Ankara yöresinde tüketime sunulan beyaz peynirlerde *salmonella* - bazı patojen bakterilerin bulunma sıklığı ve proteolitik lipolitik aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji, Gazi üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R. and Swaminathan, B., 2000. *Salmonella* nomenclature. J.Clin. Microbiol., 38 (7), 2465-2467.
- Capita, R., Alvarez-Astorga, M., Alonso-Calleja, C., Moreno, B., Del Camino Garcia-Fernandez, M., 2003. Occurrence of *Salmonella* in retail chicken carcasses and their products in Spain. Int. J. Food. Microbiol., 81(2), 169-173.
- Chang, Y.H., 2000. Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry broilers and shell eggs in Korea. J. Food Prot., 63 (5), 655-658.
- Coleman, D.J., Chick, K.E., Nye, K.J., Gagg, C.M., 1995b. A comparison of immunomagnetic separation plus conventional enrichment with *Salmonella* culture in the examination of raw sausages. Lett. Appl. Microbiol., 21(4), 249-251.
- Coleman, D.J., Cluck. K.E. and Nye, K.J., 1995a. An evaluation of imrnunomagnetic separation for the detection of *Salmonella* in raw chicken carcasses. Lett. Appl. Microbiol., 21, 152-154.
- Cudjoe, K.S. and Krona, R., 1997, Detection of *Salmonella* from raw food samples using DynabeadsÒ anti-Salmonella and a conventional reference method, Int. J. Food Microbiol., 37, 55-62.
- Cudjoe, K.S., Patel, P.D., Olsen, E., Skjerve. E. and Olsvik, Q., 1993. Immunomagnetic separation techniques for detection of pathogenic bacteria in foods. Ed. Kroll, R.G., Gilmour, A. and Susaman, M. New Techniques in Food and Beverage Microbiology. Society for Applied Bacteriology Technical Series No. 3 I., pp. 17-29., Blackwell, Oxford.
- Cudjoe, K.S., Krona. R. and Olsen, E., 1994a, Use of ferrous sulphate and immunomagnetic separation to recover *Salmonella enteridis* from raw eggs. Int. J. Food Microbiol., 23, 149-158.
- Cudjoe, KS., Krona, R. and Olsen, E.. 1994b. IMS-A new selective enrichment technique for detection of *Salmonella* in foods. Int. J. Food Microbiol., 23 (1),59-165.
- Cudjoe. KS., Hagtvedt and T., Dainty. R., 1995. Immunomagnetic separation of *Salmonella* from foods and their detection using immunomagnetic particle (IMP)-ELISA. Int. J. Food Microbiol., 27, 11-25.

- Çetin, B., 2006. Koruyucu kültür ve laktik asit uygulamalarının tavuk etlerinde raf ömrü ve *salmonella typhimurium* gelişimi ve önemli bazı mikroorganizmaların inhibisyonu üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enst., 34-35 s., Erzurum, Türkiye.
- D'aoust, J.Y., 1989. *Salmonella*. In: Foodborne Bacterial Pathogens. Ed. Doyle, M.P., Marcel Dekker, p.328-413, New York.
- D'aoust, J.Y., 1997. *Salmonella* species. In: Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers. Ed. Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.J. ASM Press, p. 129-157, Washington D.C.
- De Boera E. and Beumerb R.R., 1999. Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms. Int. J. Food Microbiol., 50, 119–130.
- Disley, J., 2008. British holidaymakers in Turkey hit by Salmonella. The mirror newspaper, 2008.
- Dominguez, C., Gomez, I., Zumalacarregui, J., 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. Int. J. Food Microbiol., 72 (1-2), 165-168.
- Doyle, M.E., Mazzotta, A.S., 2000. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. J. Food Prot., 63, 779-795.
- Efe, M., 2005. Ankara gornizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik analizi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Türkiye.
- Erkmen O., 2007. Gıda mikrobiyolojisi. 3. Baskı. Elif yayın evi. Ankara, Türkiye
- Erol, İ., 1999. Kanatlı eti hijyeni ders notları. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, 1-76 s., Ankara.
- Erol, İ., 2007. *Salmonella*: Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Sti., s. 60-70.
- Erol, İ., Yurtyeri, A., Hildebrandt, G., Kleer, J., Bilir Ormancı, F.S. ve Koluman, A., 2004. *Salmonella*'ların piliç karkaslarından kültür tekniği ve immunomanyetik PCR ile karşılaştırmalı olarak saptanması. 1.Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 29 Eylül-1 Ekim 2004, 29-38 s.
- Fakhr, M.K., McEvoy, J.M., Sherwood, J.S., Logue, J.M., 2006. Adding a selective enrichment step to the IQ-CheckReal time PCR improves the detection of *Salmonella* in naturally contaminated retail turkey meat products. Lett. Appl. Microbiol., 43 (1), 78-83.
- Fratamico, P.M., 2003. Comparison of culture, polymerase chain reaction (PCR), TaqMan *Salmonella*, and Transia Card *Salmonella* assays for detection of *Salmonella* spp. in naturally contaminated ground chicken, ground turkey, and ground beef. Mol.Cell. Probes, 17, 215-221.
- Fung, D.Y.C., 1995. What's needed in rapid detection of foodborne pathogens, Food Technol., 6, 64-72.
- Fung, D.Y.C., 2006. Rapid methods and automation in microbiology: 25 years of development and predictions. Bull. Tech. U., Ist, 54 (4), 45-55.
- Gast, R.K., 2003. *Salmonella* Infections. In: Diseases of poultry 11. Ed. Saif, Y.M. Iowa State Press, p: 567-613.
- Gökalp, H.Y., Yetim, H. ve Kaya, M., 1987. Ticari kuruluşlarda dondurularak muhafaza edilen tavuk etlerinin kokuşma düzeyleri ve bakteriyolojik durumları üzerine bir araştırma. Et ve Balık Endüst. Derg., 51 (8), 13-22.

- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P.I., Bockemühl, J., Grimont, P.A., Weill, F.X., 2010. Res Microbiol., Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. Jan-Feb., 161 (1), 9-26.
- Halkman, A.K., 2013. Gıda Mikrobiyolojisi II ders notu 01. s. 16-22.
- Harrigan, W.F., 1998. Laboratory Methods In Food Microbiology, Academic Press, San Diego, USA, 532 p
- İşeri, Ö., 2007. Hindi Kıymalarında *Salmonella*'ların Varlığı Ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstit., Ankara, Türkiye.
- İzgür, M., 2006. Salmonella İnfeksiyonları. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Ed. Aydın, N. and Paracıklıoğlu, J., İlke-Emek Yayınları, p. 116-121, Ankara.
- Jay, J.M., 1970. Modern Food Microbiology Reinhold Book Corp. p. 202-234, London.
- Juneja, V.K., Eblen, B.S., 2000. Heat inactivation of *Salmonella* Typhimurium DT104 in beef as affected by fat content. Lett. Appl. Microbiol., 30, 461-467.
- Karapınar, M. ve Gönül S.A., 1998. Gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklar, Gıda mikrobiyolojisi (Editörler: Ünlütürk, A. ve F. Turantas), Mengi Tan Basım Evi, İzmir.
- Koçak, Ç., Akbay R., Testik A., Türkoğlu M., Altan Ö., Yalçın S., Özkan S., Sarıca M. ve Şahan Ü., Elibol O., Akşit M., 2005. Kanatlı hayvan yetiştiriciliği. VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi. 3-7 Ocak 2005, Ankara.
- Kohn, B. 1999. Listeria/ Dedection by commercial immunomagnetic particle-Based Assays. In encyclopedia of food microbiology. Ed. Robinson, R.K, Batt, C.A. and Patel, P.D., Academic Press, 3rd volume, p. 1222-1228, Great Britain.
- Koneman, E., Washington, W.J., Allen, S., Janda, W., Procop, G., Schreckenberger, P. and Woods, G., 2006. Koneman' s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology sixth edition. Lippincott Willams and Wilkins, Chapter 6, USA.
- Kundakçı, A., Yücel, A., Uylaşer, V., Konca, R. ve Can S., 1991. Soğuk koşullarda depolanan ve satışa sunulan piliç etlerinin mikroflorası ve kalitesi, II. Uluslararası Gıda Sempozyumu Bildiri Kitabı, 191-200 s, Uludağ Üniversitesi, Bursa.
- Lammerding, A.M., Garcia, M.M., Mann, E.D., Robinson, Y., Dorward, W.J., Truscott, R.B., Tittiger, F., 1988. Prevalence of Salmonella and thermophilic Campylobacter in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. J. Food Protect., 51 (1), 47-52.
- Lattuada C. P., Dillard L. H. and Rose B. E., 1998. Examination of fresh, refrigerated and frozen prepared meat, poultry and pasteurized egg products (Chapter 3), USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook (3rd Edition), Washington.
- Lazcka, O., Del Campo F. J. and Munoz F.X., 2007. Review: Pathogen detection: A perspective of traditional methods and biosensors. Biosensors and Bioelectronics, 22, 1205–1217.
- Liberti, P. A., and Feeley, B.P., 1991. Ferrofluid as a matrix for magnetic separation. In Magnetic separation techniques applied to cellular and molecular biology. Ed. Kemshead, J.T., p. 47-61. Wordsmiths' Conference Publications, Somerset, England.
- Liebana, S., Lermo, A., Campoy, S., Barbe, J., Alegret, S. and Pividori, M.I., 2009a. Analytical Chemistry. 81, 5812–5820.

- Liebana, S., Lermo, A., Campoy, S., Cortes, M.P., Alegret, S. and Pividori, M.I., 2009b. Biosensors and Bioelectronics. 25, 510–513.
- Lund, A., Hellemann, A. L. and Vartdal, F., 1988. Rapid isolation of K88+ Escherichia coli by using immunomagnetic particles. J. Clin. Microbiol., 26, 2572-2575.
- Lynch, M.J., Leon-Velarde, C.G., McEwen, S., Odumeru, J.A., 2004. Evaluation of an automated immunomagnetic separation method for the rapid detection of *Salmonella* species in poultry environmental samples, J. Microbiol. Method., 58, 285-288.
- Mansfield, L.P. and Forsythe, S.J., 1993, Immunomagnetic separation as an alternative to enrichment broths for *Salmonella* detection. Lett. Appl. Microbiol., 18, 122-125.
- Manstield, L.P. and Forsythe, S.J., 1996, Collaborative ring-trial of Dynabeads anti-*Salmonella* for immunomagnetic separation of stressed *Salmonella* cells from herbs and spicch. Int. J. Food Microbiol., 29, 41-47.
- Maturin L.J. and Peeler J.T., 1998. Aerobic Plate Count, Chapter 3, Bacteriological Analytical Manual (BAM 8th edition), FDA, Gaithersburg, MD, USA. P 17-26.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S. and Shapiro, C., 1999. Food-related illness and death in the US. Emerg. Infect. Dis., 5, 25-607.
- Mercanoğlu, B., 2002. İmmunomanyetik ayırma (IMA) yöntemi ile gıdalardan *Salmonella* spp. izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Molla. B., Kleer. J. and Sinell. H.J., 1994. Detection of *Salmonella* in foods by immunomagnetic separation. Arch. Lebensmittelenhyg. 45, 97- 120.
- Mutlu, G., izmir, T., Cengiz, A.T., Ustaçelebi, S., Tümbay, E. ve Mete, Ö., 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, 489-502 s., Ankara.
- Newell, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., van der Giessen, J. and Kruse, H., 2010. Int. J. Microbiol., 139, 3–15.
- Nucera, D.M., Maddox, C.W., Dalen, P.H. and Weigel, R.M., 2006. Comparison of API 20E and *invA* PCR for Identification of *Salmonella enterica* Isolates from Swine Production Units. J Clin Microbiol., 44 (9), 3388–3390.
- Okrend, A.J.G., Rose, B.E. and Lattuada, C.P., 1992. Isolation of Escherichia coli 0157:H7 using 0157 specific antibody coated magnetic beads. J. Food Protect., 55, 214-217.
- Olsvik, O., Skjerve, E., Hornes, E., Rimstad, E., Wasteson, Y., Lund, A. and Black, C., 1991. Magnetic separation and PCR in clinical microbiology, Ed. Kemshead, J.T., p. 207-221. Magnetic separation techniques applied to cellular and molecular biology. Wordsmiths' Conference Publications, Somerset, England.
- Özer, D. Ve Kimiran-erdem, A., 2013. Kıyma Örneklerinde *Salmonella* spp. Tespitinde Farklı Yöntemlerin Karşılaştırılması. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 19 (5): 801-806.
- Özbaş, Z.Y., 2002. Gıda mikrobiyolojisinde immunomanyetik ayırma sistemleri. Gıda 27(3): 193-200.
- Patel, P.D., 1995. Microbiological applications on immunomagnetic techniques. In rapid analysis techniques in food microbiology. Eds. P.D. Patel, Chapman and Hall, Blackie Academic and Professional. P, 104-137, UK
- Poppe, C., Elliot, L.A., Duncan, C.L., 1996. Evaluation of immunomagnetic separation in combination with modified semi-solid Rappaport Vassiliadis medium and

- Rambach agar for the isolation of *Salmonella*. J. Microbiol. Methods, 25, 237-244.
- Ripabelli, G., Sammarco, M.L., Ruberto, A., Lannitto, G. and Grasso, G.M., 1997. Immunomagnetic separation and conventional culture procedure for detection of naturally occurring *Salmonella* in raw pork sausages and chicken meat. Lett. Appl. Microbiol., 24, 493-497.
- Sachar, K.S. and Goldstein, B., 1990. Optimization of the controlled separation of biologically active diagnostic magnetic probes. Comput. Phys. Nov/Oct: 837-844.
- Safarik, I., Safarikova, M. and Forsythe, S.J., 1995. The Application of Magnetic Separations in Applied Microbiology, J. Appl. Bacteriol., 78, 575-578.
- Sağun, E., Sancak, Y.C., Ekici, K. ve Durmaz, H., 1996. Van'da tüketime sunulan piliç but ve göğüs etlerinin hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. Y.Y.Ü. Vet. Fa.k Derg., 7 (2), 62-66.
- Salam, F. and Tothill, I.E., 2009. Biosensors and Bioelectronics. 24, 2630-2636.
- Saunders, G.C., 1983. Microbiological standards for Foodstuffs. Food Legislation Surveys, No:9, British Food Manufacturing Industries Research Association, 114-124
- Skjerve, E. and Olsvik, O., 1991. Immunomagnetic Separation of *Salmonella* from foods. Int. J. Food Microbiol., 14, 11-17.
- Stokes. J.L. and Osborne, W.W., 1955. A modified selenite brilliant green medium for the isolation of from egg products. Appl. Microbiol., 3, 295-299.
- Swanson, E.C. and Collins, M.T., 1980. Use of the API 20E System to Identify Veterinary Enterobacteriaceae. J. Clin. Microbiol., 10-14.
- Şener, A., Temiz, A., 2004. Tavuk Kesimhane ve İşletmelerinde Kullanılan Ticari Dezenfektanlar ve Etkinlikleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi., 2(10), 1-28.
- Şireli, U.T., 2010. *Salmonella* enfeksiyonlarına genel bakış ve yasal uygulamalar. Türkiye Klinikleri, J. Vet. Sci., 1 (2), 114-120
- Taban, B., 2007. İmmünomanyetik ayırma-polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin uygulanması ile tavuk etlerinde *Salmonella* spp. belirlenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Taşkale, N., 2010. Çoklu ilaç dirençli *Salmonella* suşlarının tanısı ve moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Telo, A., Beli, E., Dibra, A., Panariti, E., 1998. *Salmonella enteritidis* in imported poultry meat in Albania. Veterinarski- Arhiv., 68 (5), 173-176.
- Tindall B. J., Grimont P. A. D., Garrity G. M. and Euzéby J. P., 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*, Int J Systematic Evolutionary Microbiol, 55:521-524.
- Torensma, R., Vissner, M.J.C., Aarsman, C.J.M., Poppeier, M.J.J.G., Van Beurden, R., Fluit, A.C. and Verhoef, J., 1993. Monoclonal antibodies that detect live *Salmonellae*. Appl. Environ. Microbiol., 58, 3868-3872.
- Tournas V., Stack.M.E., Mislives P.B., Koch H.A and Bandler K., 1998. Yeasts, molds and mycotoxins (chapter 18), Bacteriological Analytical Manual (BAM 8th edition), FDA, Gaithersburg, MD, USA. 227-234.

- Töreci, K, ve Ang, Ö., 1991. Türkiye’de saptanmış olan *Salmonella* serovarları ve *Salmonellaların* genel değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 21 (1), 1-18.
- Tunail, N., 1999. Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. In: Akçelik M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB ve ark., *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Armoni Matbaacılık Ltd Şti, 59-90, Ankara.
- Türk, H., 2012. Tavuk karkas ve parça etlerinde *Salmonella* spp. varlığının ims tekniği ile saptanması. Doktora Tezi, Ondokuz mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye.
- Ugelstad, J., Berge A., Ellingsen, T., Schmid, R., Nilsen, T.N., Mork, P.C., Hornes, E., and Olsvik, O., 1992. Preparation and application of new monosized polymer particles. *Prog. Polym.Sci.*, 17, 87-161.
- Ugelstad, J., Kilaas, L., Stenstad, P., Ellingsen, T., Bjorgum, J., Aune, O., Nilsen T.N., Schmid, R., and Berge, A., 1991. Preparation and application of monosized polymer particles. In *Magnetic separation techniques applied to cellular and molecular biology*. Ed. Kemshead, J.T., p. 235-254. Wordsmiths' Conference Publications, Somerset, England.
- Ushijima, H., H. Honma, T. Tsuchie, T. Kitamura, and I. Takahashi. 1990. Removal of HIV antigens and HIV-infected cells in vitro using immunomagnetic beads. *J. Virol. Methods*, 29, 23-32.
- Ünlü, A.T., 2011. Tavuklarda salmonella tanısında kültür ve real time PCR’in kullanımı. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enst., Ankara, Türkiye.
- Ünlütürk A, Turantaş F., 1998. *Gıda Mikrobiyolojisi*. I. Baskı, Mengi Tan Basımevi, 195-199 s, Çınarlı/İzmir.
- Veeramuthu, G.J., Rice, J.F., Davis, C.E., Booren, A.M., Smith, D.M. (1998). Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Senftenberg, and enzymes with potential as time-temperature indicators in ground turkey thigh meat. *J. Food Protect.*, 61, 171-175.
- Yazıcıoğlu, N., Kaya, K., Ayaz, Y., Sen, S., Özkök, S., Aksoy, M., Yavuz, M.K., Kaplan, Y.Z., Tunca, S.T., Vural, S., Evgin, N., Karakoç, S.R., Miroğlu, M., Turut, N., 2005. Kanatlı kesimhanelerinin parçalama ünitelerinden alınan boyun ve kanat örneklerinden *Salmonella* izolasyonu, serotiplendirilmesi ve antibiyotik dirençliliğinin araştırılması. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.* 16 (1-2), 23-36.
- Yurdakul, N.E., 2008. Tavuk etlerinden Gram pozitif kokların izolasyonu ve antibiyotiklere karşı dirençliliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye.
- Yurtyeri, A., 1980. Paketlenmiş piliçlerin yüzey mikroflorası üzerinde araştırmalar. *Vet. Hek. Dern. Derg.*, 50 (1-2), 45-63.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlköğrenimini Gaziantep ilinde Mehmet Akif Ersoy İlköğretim okulunda ve Lise öğrenimini Arif Nihat Asya Lisesi'nde tamamladı. 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 2010-2011 Öğretim Yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans yapmaya hak kazandı.