

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BOLU'DA TÜKETİME SUNULAN SALATALARDAN İZOLE
EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE *ESCHERICHIA
COLI* TÜRLERİNİN MALDI TOF MS BIOTYPER SİSTEMİ
İLE TANIMLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLEK KARTAL

BOLU, EYLÜL - 2019

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI



**BOLU'DA TÜKETİME SUNULAN SALATALARDAN İZOLE
EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE *ESCHERICHIA
COLI* TÜRLERİNİN MALDI TOF MS BIOTYPER SİSTEMİ
İLE TANIMLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLEK KARTAL

BOLU, EYLÜL - 2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

Dilek KARTAL tarafından hazırlanan “Bolu’da Tüketime Sunulan Salatalardan İzole Edilen *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* türlerinin MALDI TOF MS BioTyper Sistemi ile Tanımlanması” adlı tez çalışması Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda 6.09.2019 tarihinde savunularak **Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Danışman
Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Doç. Dr. Esra ACAR SOYKUT
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Oğuz AYDEMİR
Çankırı Karatekin Üniversitesi

İmza



Prof. Dr. Ömer ÖZYURT



Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

✓

Eşime ve canım kızıma,

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Dilek KARTAL

ÖZET

BOLU'DA TÜKETİME SUNULAN SALATALARDAN İZOLE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE ESCHERICHIA COLI TÜRLERİNİN MALDI TOF MS BIOTYPER SİSTEMİ İLE TANIMLANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLEK KARTAL

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)

BOLU, EYLÜL - 2019

Bu çalışmada, Bolu Merkez ve bazı ilçelerinde (Gerede, Yeniçağa, Dörtdivan, Göynük, Mengen) bulunan lokanta ve kafeteryalardan 100 adet tüketime hazır salata (mevsim salata, çoban salata, söğüş) toplanmıştır. Toplanan örnekler mikrobiyal kalitelerinin belirlenmesi amacıyla hijyen indikatörü mikroorganizmalardan olan *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* sayısı bakımından analiz edilmiştir. Sayımı yapılan tipik koloniler Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) BioTyper Sistemi ile tanımlanmıştır. Tanımlama sonuçlarına göre örneklerin %18'inde *E. coli*, %5'inde ise *S. aureus* tespit edilmiştir. Bolu Merkez ve ilçelerdeki mikroorganizma içeren örnekler karşılaştırıldığında ilçelerde mikrobiyal yükün daha fazla olduğu görülmüştür. Salata örneklerinde *E. coli* sayısı 0,69-3,25 log kob/g, *S. aureus* sayısı 1-2 log kob/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Tanımlanan örneklerden %50'sinin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde belirtilen *E. coli* limitlerine uygun olmadığı tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Tüketime Hazır Salata, MALDI-TOF MS, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *ESCHERICHIA COLI* SPECIES ISOLATED FROM SALADS CONSUMED IN BOLU BY MALDI TOF MS BIOTYPER SYSTEM

MSC THESIS

DİLEK KARTAL

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF
NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
(SUPERVISOR: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)

BOLU, SEPTEMBER 2019

In this study, 100 ready-to-eat salads (seasonal salads, shepherd salads, cold cuts) were collected from restaurants and cafes located in Bolu Merkez and some districts (Gerede, Yeniçağa, Dörtdivan, Göynük, Mengen). The collected samples were analyzed for the number of microorganisms *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, which are hygiene indicators, in order to determine their microbial quality. Typical colonies counted were identified by the Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) BioTyper System. According to the identification results, *E. coli* was detected in 18% and *S. aureus* was detected in 5% of the samples. When the samples containing microorganisms in Bolu Merkez and districts were compared, it was seen that microbial load was higher in districts. It was found that the number of *E. coli* in the salad samples varied between 0,69-3,25 log cfu/g and the number of *S. aureus* ranged from 1-2 log cfu/g. It was determined that 50% of the identified samples did not comply with the *E. coli* limits specified in the Turkish Food Codex Microbiological Criteria Regulation.

KEYWORDS: Ready-to-eat-salads, MALDI-TOF MS, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE LİTERATÜR TARAMASI.....	3
2.1 Tüketime Hazır Salataların Mikrobiyal Kalitesi	3
2.2 Mikroorganizmaların Tüketime Hazır Salatalara Bulaşma Kaynakları.....	4
2.3 Tüketime Hazır Salatalarda Hijyen İndikatörü Mikroorganizmalar	9
2.3.1 <i>Escherichia coli</i>	9
2.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.4 MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile Tanımlama.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1 Materyal.....	16
3.2 Yöntem	16
3.2.1 Örneklerin Hazırlanması.....	16
3.2.2 <i>E. coli</i> Sayısının Saptanması.....	17
3.2.3 <i>S. aureus</i> Sayısının Saptanması	17
3.2.4 İzole Edilen <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> Türlerinin MALDI-TOF MS	
BioTyper Sistemi ile Tanımlanması	18
3.2.4.1 Kültürlerin Saflaştırılması.....	18
3.2.4.2 Organik Çözücünün Hazırlanması ve Matriks ile	
Karıştırılması.....	19
3.2.4.3 MALDI-TOF MS Plakasının Hazırlanması	19
3.2.4.4 İzolatların Tanımlanması	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4.1 <i>Escherichia coli</i> Sayım Sonuçları	21
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i> Sayım Sonuçları.....	23
4.3 İzolatların MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile Tanımlanması....	26
4.3.1 <i>E. coli</i> Tanımlama Sonuçları	26
4.3.2 <i>S. aureus</i> Tanımlama Sonuçları	29
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
6. KAYNAKLAR.....	36
7. EKLER	42

EK A

8. ÖZGEÇMİŞ.....	52
-------------------------	-----------



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin iş akış şeması	14
Şekil 3.1. Besiyerinde tipik <i>E. coli</i> kolonilerinin görünümü	17
Şekil 3.2. Besiyerinde tipik <i>S. aureus</i> kolonilerinin görünümü	18
Şekil 3.3. İzole edilen genç kolonilerin görünümü	19
Şekil 4.1. <i>E. coli</i> referans suşuna ve S ₂ E ₁₉ izolatına ait spektrum	28
Şekil 4.2. <i>S. aureus</i> referans suşuna ve S ₁ Sa ₂ izolatına ait spektrum	32



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Patojen mikroorganizmaların taze meyve sebzelere bulaşma kaynakları	5
Çizelge 2.2. MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin bakterileri cins ve tür düzeyinde tanımlama etkinliği	15
Çizelge 3.1. MALDI-TOF MS BioTyper cihazının güven aralıklarının anlamı	20
Çizelge 4.1. Salata örneklerinin <i>E. coli</i> sayım sonuçları	21
Çizelge 4.2. Salata örneklerinin <i>S. aureus</i> sayım sonuçları	23
Çizelge 4.3. <i>E. coli</i> için MALDI-TOF MS tanımlama sonuçları ve güven aralıkları	26
Çizelge 4.4. <i>E. coli</i> için tanımlanan bakteri türlerinin sayısı ve dağılımı	27
Çizelge 4.5. <i>S. aureus</i> için MALDI-TOF MS tanımlama sonuçları ve güven aralıkları	29
Çizelge 4.6. <i>S. aureus</i> için tanımlanan bakteri türlerinin sayısı ve dağılımı	31
Çizelge A.1. MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker).....	42
Çizelge A.2. Tüm örneklerden izole edilen mikroorganizmaların tanımlama ve sayım sonuçları.....	49

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

BPA	: Baird Parker Agar
BTS	: Bacterial Test Standard
°C	: Santigrat Derece
CDC	: Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri
cfu	: Colony forming unit
cm	: Santimetre
DAEC	: Diffuz adeziv <i>E. coli</i>
EAEC	: Enteroaggregative <i>E. coli</i>
EC	: European Commission
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ESI	: Elektrospray İyonizasyon
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
GAP	: İyi Tarım Uygulamaları
GHP	: İyi Hijyen Uygulamaları
HACCP	: Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları
TS-EN-ISO	: Uluslararası Kalite Standartları Serisi
kob	: Koloni oluşturan birim
mL	: Mililitre
MALDI TOF MS	: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi
MPN	: Most Probable Number
MRD	: Maximum Recovery Diluent
PCA	: Plate Count Agar
PMF	: Protein Parmak İzi
RTE	: Tüketime Hazır
TBX	: Tryptone Bile X-glucuronide
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yön gösteren ve destekleyen değerli tez danışmanım Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR'a, MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile mikroorganizmaların tanımlamasını gerçekleştiren Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel, Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına, çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Bolu Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Mikrobiyoloji Bölümündeki değerli arkadaşlarıma, Sevim ÖZTÜRK ORUÇ'a ve Şeyma Betül KULOĞLU'na ve bu günlere gelmemdeki en büyük destekçilerim olan canım aileme ve eşim Emre KARTAL'a teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Tüm dünyada insanların yaşamlarını ve fiziksel gelişimlerini sağlıklı olarak sürdürebilmeleri için yeterli ve dengeli beslenebilmeleri elzemdir. Bu amaçla yeterli miktarda güvenli gıdayı tüketmek gerekmektedir (Erkmen, 2010). Günlük diyetin önemli bir bölümünü oluşturan taze ürünler sağlıklı beslenme için kilit gıdalardandır. Bu ürünlerin tüketilmesinin aralarında kanser ve çeşitli kardiyovasküler hastalıkların da bulunduğu birçok hastalığa karşı koruyucu etki sağladığı bildirilmektedir. Birçok ülkede, sağlık kurumları tarafından başlatılan kampanyalar ile taze ürün tüketimi teşvik edilmekte, günde en az beş porsiyon meyve ve sebze tüketilmesi önerilmektedir (Fallik, 2014).

Son yıllarda insanların sağlıklı yaşam tarzına ilgisinin artmasıyla birlikte yeme alışkanlıkları değişmiş, yapraklı yeşil sebzelere ve tüketime hazır (Ready to eat; RTE) salatalara olan talebi artmıştır. Ancak taze yapraklı yeşil sebzeler ve bunların RTE salataları, dünyanın birçok yerinde gıda kaynaklı hastalık salgınlarının kaynağı olarak kabul edilmektedir (Taban ve Halkman, 2011). Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC), Amerika’da her yıl gıda kaynaklı hastalıklardan 48 milyon insanın hastalandığını, 128.000’inin hastanede yattığını ve 3.000’inin öldüğünü tahmin etmektedir. Hem Avrupa’da hem de ABD’de, son zamanlarda gıda kaynaklı hastalık salgınları bazı patojenler ile yeşil yapraklı sebzeler ve RTE salataları arasındaki bağlantıları ortaya çıkarmıştır. Çünkü taze yapraklı yeşil sebzeler, arıtılmamış sulama suyunun kullanımı, uygun olmayan gübreleme ve çiftlikten sofraya kadar hasat, işleme ve paketlenme sırasındaki uygunsuz koşullar nedeniyle mikrobiyolojik kontaminasyon riski taşımaktadır (Taban ve Halkman, 2011).

Yemek üretimi ve tüketimi önceleri genellikle evlerde yapılmaktayken; seyahatler, kentleşme, artan sanayileşme, kadınların çalışma hayatına katılması gibi faktörler, beslenme alışkanlıklarında önemli değişikliklere yol açmış ve genellikle çalışan insanlar için ev dışında yemek yeme bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu tercihin artmasına bağlı olarak tüketime hazır sıcak ve soğuk gıdaları üreten birçok işletme hizmete açılmıştır (Uçak, 2014; Hampikyan vd., 2008; Özkan, 2009). Bunun

bir neticesi olarak da sanayileşmiş ülkelerde gıda zehirlenmesi ve enfeksiyonlarının %20-40 oranında ev dışında hazırlanan gıdalardan kaynaklandığı bildirilmiştir (Özkan, 2009; Hampikyan vd., 2008; Mankee vd., 2005).

Bu çalışma kapsamında, Bolu ili ve bazı ilçelerindeki lokanta ve kafelerde RTE olarak sunulan salataların halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, 100 adet salata örneği *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* varlığı açısından analiz edilmiştir. İzole edilen bakteriler klinik mikrobiyolojide sıklıkla kullanılan ancak gıda mikrobiyolojisinde daha güncel bir yöntem olan MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1 Tüketime Hazır Salataların Mikrobiyal Kalitesi

RTE gıdalar, satış noktasında anında tüketime hazır olarak bulunan gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Bu gıdalar; çiğ veya pişmiş, sıcak veya soğuk olarak tüketilebilmektedir (Tsang, 2002). Ham sebzelerin vitamin, mineral ve antioksidan bakımından zengin olması sağlıklı bir diyet için önemlidir (Gritli, 2015). Günümüzde sağlıklı ve bilinçli beslenmeye önem verilmesiyle birlikte minimal işlem görmüş meyve ve sebzelere olan talep artış göstermiştir (Yücel ve Halkman, 2009).

Minimal işlem uygulanmış sebzeler özellikle soyma, doğrama ve parçalama gibi işlemler uygulandığı için mikrobiyolojik ve enzimatik bozulmaya daha yatkındır ve ideal koşullarda hazırlanıp depolansalar bile raf ömürleri kısadır (Uçak, 2014). Bu gıdalar *E. coli* ve *S. aureus* gibi patojen bakterilerle kontamine olduklarında gıda kaynaklı hastalıklara neden olmakta ve bu durum bazı yararlı özelliklerinin önüne geçebilmektedir (Gritli, 2015).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO) uzmanlarının taze ürünlerle ilgili mikrobiyolojik tehlikeler hakkında Kodeks Gıda Hijyeni Komitesine bilimsel tavsiyede bulunmak için yaptığı toplantıda bu gıdalar 3 grup altında toplanmıştır:

i) Mikrobiyolojik tehlikelere göre bakıldığında yapraklı yeşil sebzelerin (marul, ıspanak, lahana, hindiba, yapraklı taze otlar vb.), sıralama kriterlerine göre en yüksek önceliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sebzeler artan talebi karşılamak amacıyla büyük hacimlerde yetiştirilip ihraç edildiği için dünyanın en az üç bölgesinde gıda kaynaklı salgınlarla ilişkilendirilmiş ve bu sebzelerin güvenliği dünya çapında önemli bir konu haline gelmiştir. Birçok ülkede, yapraklı yeşil sebzeler artık endüstriyel ölçekte üretilmekte, üretim, hasat ve ambalajlama 24 saat boyunca pratik olarak gerçekleştirilmektedir. Ancak hasat öncesi ve sonrası çeşitli uygulamalar, gıda kaynaklı patojenlerin çoğalmasına neden olmaktadır (FAO/WHO, 2008).

ii) Tanımlanan ikinci risk kaynağı olarak küçük meyveler, yeşil soğan, kavunlar, filizlenmiş tohumlar ve domates belirlenmiştir. Yeşil yapraklı sebzelerin

aksine, bu ürünlerin küresel etkileri bakımından daha fazla çeşitliliğin olduğu, yeşil yapraklı sebzeler kadar geniş aralıkta üretilmediği ve bazılarının sadece belli bölgelerde risk oluşturduğu düşünülmektedir (FAO/WHO, 2008).

iii) Son risk kaynağının havuç, salatalık, badem, bebek mısıırı, susam, soğan ve sarımsak, mango, pençe pençesi, kereviz ve maimaiyi içeren en büyük grup olduğu belirlenmiştir. Tüm bu gıdalar gıda kaynaklı hastalık vakalarında veya salgınlarında görülmüş olsa da mevcut bilgilere dayanarak halk sağlığı etkisinin düşük olduğu kabul edilmiştir (FAO/WHO, 2008).

Yapılan bir çok araştırmada tüketime hazır sunulan gıdalarda *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin gıda kaynaklı hastalıklara sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu gıdalarda patojenlerin bulunması, gıdanın başlangıç mikroorganizma yükünün fazla olması, yetersiz ısı işlem, uygun olmayan saklama koşulları, yeterli hijyenin sağlanmaması, çapraz kontaminasyon, bilinçsiz ve eğitimsiz personel gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (Gülmez vd., 2005; Uçak, 2014). İki yüz elliden fazla gıda kaynaklı hastalık tanımlanmakta olup birçok durumda kayıt dışı kaldığı için gıda kaynaklı hastalıkların gerçek durumunun değerlendirilmesi zordur (Loir vd., 2003).

2.2 Mikroorganizmaların Tüketime Hazır Salatalara Bulaşma Kaynakları

Mikroorganizmalar, meyve ve sebzelerin doğal florasının bir parçasını oluşturmakta ve tüketim sırasında çoğu mevcut bulunmaktadır. Meyve ve sebzelerin iç dokuları genellikle steril kabul edilmekte, dış yüzeyi ise çoğu insanlar için patojenik olmayan *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait bazı Gram negatif bakterilerle kontamine olmuş halde bulunmaktadır (Lund, 1992). Kabuk mikroflorasındaki bakterilere ek olarak meyve ve sebzelerde bozulmanın yaklaşık üçte ikisi küflerden kaynaklanmaktadır. Bozulma genellikle bitki yapılarının yumuşamasına ve zayıflamasına neden olan selüloolitik veya pektinolitik aktivite ile ilişkilidir. Bitkinin mekanik parçalanması, kesilmesi ve dilimlenmesi içsel, dışsal ve işlemsel faktörlerin de birleşimiyle bitki yüzeylerini mikrobik saldırılara açık hale getirmektedir (EC, 2002).

Çizelge 2.1. Patojen mikroorganizmaların taze meyve sebzelere bulaşma kaynakları

Hasat Öncesi	Hasat Sonrası
Dışkı	Dışkı
Toprak	İnsan eli (çalışanlar, tüketiciler)
Sulama suyu	Hasat ekipmanları
Olgunlaşmamış veya yetersiz içerikli gübre	Taşıma kapları (tarladan pakete kadar)
	Yabani ve evcil hayvanlar
Hava (toz)	Hava (toz)
Yabani ve evcil hayvanlar	Yıkama ve durulama suyu
İnsan eli	Ayıklama, kesme, paketlenme vb. ekipmanları
	Buz
	Taşıma araçları
	Uygun olmayan depolama
	Çapraz kontaminasyon
	Satın alındıktan sonra yanlış kullanım

Patojenler ve diğer mikroorganizmalar meyve ve sebzeleri hasat öncesi ve sonrası birçok farklı yoldan kontamine etmektedir (Çizelge 2.1) (Beuchat, 1996). Çizelge incelendiğinde hasat öncesi kontaminasyon kaynakları arasında toprak, dışkı, sulama suyu, hava, böcekler, yetersiz içerikli gübre, yabani ve evcil hayvanlar ve insan kullanımı bulunmaktadır. Hasat sonrası kaynaklar ise dışkı, insan kullanımı, hasat ve işleme ekipmanları, taşıma kapları, vahşi ve evcil hayvanlar, böcekler, toz, durulama suyu, buz ve taşıma araçları gibi faktörleri içermektedir (Beuchat, 2002).

Gıda üretiminde çalışan personel gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonların ana kaynağıdır. Mikroorganizmalar gıdalara insanlardan doğrudan öksürme, hapşırmaya, açık yara, dışkı ya da çiğ gıdalarla kontamine olmuş eller yoluyla bulaşabileceği gibi, dolaylı olarak gıda üretimi ve hazırlanmasındaki koşulların yetersiz olması, kontamine alet ekipman ve su kullanılması, güvenilir olmayan yerlerden gıda temin edilmesi, çapraz kontaminasyon, uygun olmayan muhafaza ve servis koşulları gibi nedenlerle de bulaşabilmektedir (Erkmen, 2010). Yapılan araştırmalar sonucunda gıda işletmesinde çalışanların %60'ının ellerini doğru bir şekilde yıkamadığı ve gıda kaynaklı hastalıkların %25-40'ının gıda işleme ve gıda servisinde çalışan kişilerden bulaşma sonucu görüldüğü ortaya konmuştur. İnsan ve hayvanların burun, boğaz, deri ve bağırsaklarında birçok bakteri ve virüs bulunmakta

olup burun, boğaz ve derideki lezyonlar *Staphylococcus* cinsinin, bağırsak ise *E. coli*'nin başlıca kaynağını oluşturmaktadır (Özkan, 2009).

Toprak, *B. cereus*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *L. monocytogenes* ve *Aeromonas* spp. gibi çeşitli patojenler için doğal bir ortamdır. Bu patojenlerin profili hayvan atıklarının toprağa eklenmesiyle büyük ölçüde genişleyebilmekte ve toprak tipine, nem seviyesine, sıcaklığa ve kirlenme kaynağına bağlı olarak bu patojenler toprakta haftalarca canlı kalabilmektedir (Olaimat ve Holley, 2012). Toprak florasının yapısını bozan özellikler, meyve ve sebzelerin taşınması ve depolanması sırasında hasara neden olarak onları kontaminasyona açık hale getirmektedir (EC, 2002).

Sulama suyunun kalitesi ve sulama sisteminin türü taze ürünlerin mikrobiyal güvenliğini etkilemektedir. Örneğin; taşkın ve sprey sulama en büyük riski teşkil etmekte ve kirli sular yenilebilir ürünün yapraklarında doğrudan birikebilmektedir (Olaimat ve Holley, 2012). Sulama suyu, kanalizasyon veya gübrelemeden kaynaklanan doğrudan kirlenmeye karşı çok hassastır. Özellikle yoğun yağış sırasında gübre yığınlarından ya da kanalizasyondan kaynaklanan kirlenme, sızıntı yoluyla su kaynaklarına kolayca karışıp dereler veya nehirler yoluyla büyük mesafelere yayılabilmektedir. Bu suyun sulamada kullanılması insan patojenlerinin doğrudan bitki dokularına bulaşmasına ve hasat boyunca bu kirliliğin devam etmesine neden olmaktadır. Ayrıca atık suyun geri dönüşümünün sulama amaçlı kullanıldığı bazı ülkelerde insan patojenlerinin ortaya çıkma riskinin arttığı bildirilmiştir (Warriner vd., 2009). WHO (2006), taze ürünlerin sulanması için kullanılan suyun fekal koliform seviyesinin 1000 kob veya MPN/100 mL'yi geçmemesini tavsiye etmiştir.

Gübreleme işlemi taze ürünlerin mikrobiyal güvenliğini etkileyen ana faktörlerden biridir. Arıtılmamış gübrelerin büyümekte olan ürünlere uygulanması, sebzelerin doğrudan kontamine olmasına neden olmaktadır. Bunu önlemek için gübrenin sebzelerle doğrudan teması engellenmeli, gübrenin toprağa ya da suya atılmasından önce bir arıtma işlemi uygulanmalı ya da uygulama ve mahsul üretimi arasında önemli bir zaman aralığı bırakılmalıdır (Warriner vd., 2009).

Hava ve tozda bulunan mikroorganizmalar bazı patojenler dışında tüm cinsleri içermektedir. Hava ve tozda bulunan mikroorganizmalar arasında değişik düzeylerde düşük su aktivitesine dayanıklı olan *Bacillus* ve *Micrococcus* cinslerine ait türler önem

arz etmekle birlikte, havanın doğal florasına küf sporları hâkimdir (Ayhan, 2000; Özkan, 2009). Havadaki mikrobiyal yük gıda işletmelerinin farklı alanlarında değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin; işlem görmemiş hammaddelerin bulunduğu alanlarda mikrobiyal yük nispeten daha yüksektir. Havadaki mikrobiyal yükü kontrol etmek için temiz alanlara giren hava bakteriyolojik filtrelerden geçirilerek veya bu alanlara pozitif hava basıncı uygulanarak mikroorganizmalardan arındırılabilir. Bunun dışında işletme içerisindeki hava hareketi temiz alandan kirli alana doğru olması da mikrobiyolojik riski azaltmaktadır (Özkan, 2009).

Alet ve ekipmanlar, doğru şekilde temizlenip dezenfekte edilmediklerinde önemli bir kontaminasyon kaynağıdır. Üretim hattındaki ürüne bulaşma büyük ölçüde alet ve ekipmanların yüzeylerinden ve çalışan işçilerin ellerinde bulunan mikrobiyal yükten kaynaklanmaktadır. Ayrıca çiğ ve pişmiş gıdaların ayrı kaplarda olması çapraz kontaminasyonu önlemek adına oldukça önemlidir (Özkan, 2009).

Meyve ve sebzeler, hasat sırasında da çeşitli kaynaklardan kontamine olabilmektedir. Uygun zamanda hasat, hasat edilmiş ürünün kontrollü çevre koşulları altında tutulması, tarım işçilerinin hijyen kurallarına dikkat etmesi ve gıdaya uygun steril ekipmanlar kullanılması hasat sonrası bozulmanın ve patojenik mikroorganizmaların üremesinin önlenmesine yardımcı olmaktadır (EC, 2002).

Meyve ve sebzelerin hasat sonrası işlemleri elle muamele, depolama, nakliye ve temizliği içermektedir. Kesimden sonra taze ürünler daha yüksek su aktivitesine sahiptir ve kesikli yüzeylerde daha kolay bulunan besinler çeşitli mikroorganizmaların gelişmesine neden olmaktadır. Taze ürünler, çiftlikten tüketiciye ulaşana kadar bir çok noktada gıda kaynaklı patojenlerle kontamine olabilmektedir. Bu kirlilik en sık tarlada, ilk işleme sırasında ve ticari veya evdeki mutfakta son hazırlık sırasında meydana gelmektedir (Olaimat ve Holley, 2012).

Yıkama işleminin mikrobiyal yükü azaltma etkisi olmakla birlikte tüketime hazır meyve ve sebzelerin (taze yapraklı bitkiler dâhil) etkili bir şekilde yıkanması ve dekontaminasyonu zordur. Çalışmalar, mevcut bakteri sayısında yıkamanın etkisinin 0,1-1 logaritma birimlik azalmaya neden olduğunu göstermektedir (EC, 2002). Basit bir uygulama olarak ham meyve ve sebzelerin sıcak suda veya deterjan veya permanganat tuzları içeren suda yıkanması patojen mikroorganizmaların bir kısmını

uzaklaştırmaktadır, ancak bu yöntemin etkinliğini gösteren çalışmalar azdır. Etkinliği meyve ve sebzelerin yapısına göre değişmekle birlikte yıkamada klor, klor dioksit, trisodyum fosfat, organik asit, hidrojen peroksit, ozon gibi dezenfektanların kullanılması mikrobiyolojik olarak 10 ila 100 kat azalma sağlayabilmektedir (Beuchat, 1998).

Taze salatalık sebzelerden kaynaklanan bazı mikrobiyal sağlık risklerinin araştırılması kapsamında yapılan bir tez çalışmasında, İzmir'deki bir hazır yemek işletmesinde hazırlanan salatalardaki ve onu oluşturan sebzelerdeki bakteriyel yükü ve kaliteyi belirlemek amacıyla üretimin çeşitli aşamalarında sebzelerden, bunların yıkama sularından, karışımlarından ve son ürün olan salatadan 3 ayrı tarihte alınan 10'ar numune örneği, toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam koliform bakteri, *S. aureus* ile *E. coli* varlığı açısından incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar sebzelerdeki bakteriyel yükün yıkama işlemleri sonrasında belirgin bir biçimde azaldığını göstermiştir. Bununla birlikte, soyma, dilimleme, kesme, süzme gibi işlemlerin, muhtemelen çapraz bulaşmadan dolayı bakteriyel yükü arttırdığı saptanmıştır (Ay Yiğit, 2016).

İstanbul'da bulunan üç özel hastanenin HACCP kalite güvence sistemine sahip mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi amacı ile yapılan bir çalışmada, toplam 200 mutfak personeline hijyen bilgi düzeyini belirlemeye yönelik hazırlanmış 20 soruluk anket uygulanmıştır. Ayrıca hastane mutfaklarında çalışan personelin el ve kıyafetlerinden, mutfak alet ve ekipman yüzeylerinden (bıçak, kepçe, et doğrama tahtası, sıcak ve soğuk üretim tezgahı, pastane tezgahı) alınan swap örneklerinde toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, koliform ve fekal koliform bakteri, *S. aureus* ve küf-maya sayımı yapılmıştır. Ankette sorulan sorulara verilen cevaplar göz önüne alındığında hijyen eğitimi alan personelin eğitim almayan personele oranla daha bilgili olduğu, ancak hijyen eğitimi alan personelin de yeterli bilgi düzeyine sahip olmadığı belirlenmiştir. Hastane mutfaklarında çalışan personelden alınan el örneklerinde *S. aureus*'un ortalama değeri $0,34 \pm 0,08$ log kob/cm² olarak belirlenmiştir. Çalışmada soğuk üretim tezgâhı, fekal koliform bakteri yükünün; personel eli, toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, *S. aureus* ve koliform bakteri yükünün; personel önlüğü ise küf/maya yükünün en yoğun olduğu yüzeyler olarak belirlenmiştir. Çalışma

kapsamındaki mutfaklarda HACCP sistemi uygulanmasına rağmen özellikle personel hijyeninde halen birtakım eksikliklerin bulunduğu, bunun en büyük sebebinin ise personel tarafından hijyen kurallarının tam olarak benimsenmemesi olduğu bildirilmiştir (Ünal ve Özmen Toğay, 2017).

Yeşil yapraklı sebzelerin ve bunların RTE salatalarının kontaminasyonunu azaltabilmek için kontaminasyon noktalarını bilmek önemlidir. Bununla birlikte, gıda zincirinin bir noktasında uygulanabilecek benzersiz bir kontrol önlemi yoktur. Bu nedenle, yeşil yapraklı sebzelerin ve bunların RTE salatalarının mikrobiyal güvenliğini sağlamak, üretim, işleme, dağıtım ve kullanımın tüm yönlerini kapsayan multidisipliner bir sistem yaklaşımı gerektirir. Ayrıca, hem üreticiler hem de tüketiciler tarafından, yapraklı yeşil sebzelerin ve onların salatalarının uygun şekilde depolanması, taşınması ve tarladan sofraya uygun sanitasyon yapılması çok önemlidir (Mercanoğlu Taban ve Halkman, 2011). Taze ürünlerin güvenliğini sağlamak için öncelikle iyi tarım uygulamalarının (GAP), ardından iyi hijyen uygulamalarının (GHP) uygulanması ve gıda güvenliği yönetim sistemlerinin belgelendirilmesi gerekmektedir (Fallik, 2014).

2.3 Tüketime Hazır Salatalarda Hijyen İndikatörü Mikroorganizmalar

2.3.1 *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyası üyeleri gıda mikrobiyolojisinde üzerinde en çok çalışılan bakterilerdendir. Gıdalardan izole edilen en önemli temsilcileri olarak; *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Yersinia* cinsleri örnek gösterilebilir (Tunail, 2009).

Escherichia coli bağırsak dışında da bir süre yaşamını sürdürdüğü için indikatör bakteri olarak kabul edilmektedir. Scardinger'in 1982 yılında içme sularında *Salmonella* Typhi yerine fekal bulaşıklığın göstergesi olarak *E. coli* aranmasını önermesinden bu yana fekal kontaminasyonu belirlemede indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (Tunail, 2009).

E. coli ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından dışkıdan izole edilerek *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilmiş, sonraları bu bakteriye *Escherichia coli* adı verilmiştir. *Enterobacteriaceae* familyasında koliform grup bakteriler arasında yer alan *E. coli* Gram negatif, fakültatif anaerob, mezofilik, sporsuz, çubuk şeklinde, fermantasyon yoluyla laktozdan 37 °C’de 24-48 saatte asit ve gaz oluşturan bir bakteridir. Familyanın bu tipik özelliklerine ilaveten fekal koliformlar alt grup üyesi olarak 44,5 °C’de fermantasyon yoluyla laktozdan gaz oluşturmaktadır. *E. coli*’nin identifikasyonunda kullanılan IMViC testine göre; indol pozitif, metil red pozitif, Voges-Proskauer negatif ve sitrat negatiftir (Halkman, 2013).

E. coli dışkı içinde bulunan bir bakteri olduğu için diğer bağırsak bakterileri gibi çeşitli antijenlere sahiptir. *E. coli* O, H, K antijenlerine göre tiplendirilerek isimlendirilmekte ve sahip olduğu antijene göre bağırsak ve bağırsak dışı hastalıklara neden olmaktadır (Omerovic vd., 2017).

Patojenik *E. coli* altı virotipte sınıflandırılmıştır (Bhunia, 2008):

- Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC)
- Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)
- Enterohemorajik *E.coli* (EHEC)
- Enteroaggregative *E.coli* (EAEC)
- Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC)
- Diffuz adeziv *E.coli* (DAEC)

E. coli’nin birçok türü bağırsak sisteminin zararsız mikrobiyotasıdır ve sadece belirli grup suşlar patojenik özellik göstermektedir. Bununla birlikte, son zamanlarda salgınlarda ve *E. coli* ile ilişkili enfeksiyonlarda meydana gelen artış, bakteriyel türler arasında virülens genlerin yatay veya dikey olarak transferinin muhtemel olduğunu göstermektedir. EHEC, EPEC ve ETEC en bilinenleri olmakla birlikte tüm *E. coli* virotipleri genel olarak epitel hücrelerine yapışmakta, protein sentezinin engellenmesine, hücre iskeleti yapısını değişmesine, iyon pompalarının etkilenmesine ve sıvı kaybını artmasına neden olan sinyal olaylarını başlatarak hücrelere zarar vermekte veya hücre ölümüne neden olmaktadır (Bhunia, 2008).

E. coli sıcakkanlı hayvanların bağırsak mikrobiyotasında yaygındır ve dışkı yoluyla çevreye bulaşmaktadır. Özellikle işlenmemiş gübrelerin kullanımı bu

bakterileri meyve ve sebzeye kadar taşımaktadır. Son yıllarda ölümle sonuçlanabilen gıda kaynaklı *E. coli* enfeksiyonlarının sorumlusu olan tip, enterohemorajik *E. coli* O157:H7'dir. Amerika'da yapılan araştırmada, biraraya getirilen sığır eti ve yapraklı sebzelerin, bildirilen *E. coli* salgınlarının %25'inden ve ilgili hastalıkların %40'ından fazlasının kaynağı olduğu, çiğ tüketilen gıdaların neden olduğu salgınların genellikle pişirilmiş gıdalara kıyasla daha yüksek hastaneye yatma oranlarında olduğu (%35'e karşılık %28) rapor edilmiştir (Heiman vd., 2015).

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

Önceden *Micrococcaceae* familyası üyesi iken 2009 yılında yayımlanmış olan "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'e (Second Edition, Volume Three)" göre *Staphylococcaceae* familyası içerisinde yer almıştır (Halkman, 2013). Stafilocoklar enterotoksijenik özellikte, Gram pozitif, spor oluşturmeyen, katalaz pozitif, lesitinaz pozitif ve fakültatif anaerob bakterilerdir. Günümüzde stafilocokların koagülaz üretim potansiyeline bağlı 35 farklı türü bulunmaktadır (Yıldırım vd., 2016). Bu cins içinde yer alan *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphin*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* türleri koagülaz pozitif stafilocokları oluşturmaktadır. *S. aureus* birçok hayvan türünden izole edilmiş olmasına rağmen, normal olarak insanlardan, özellikle burun ve boğazdan izole edilen tek koagülaz pozitif türdür (Bergdoll ve Wong, 2006).

S. aureus, çok çeşitli sıcaklıklarda (7-48 °C arasında optimum 30-37 °C), pH'da (4,2 ila 9,3 arasında optimum 7-7,5) ve %15'lik sodyum klorür konsantrasyonlarında gelişim gösterebilmektedir. Bu özellikler *S. aureus*'un çok çeşitli gıda maddelerinde üreyebilmesine neden olmaktadır (Loir vd., 2003).

S. aureus, spor oluşturmadağı halde vücut dışında canlılığını uzun süre koruyabilen, ağır metaller ve özellikle hastane enfeksiyonlarında önemli olan metisiline dirençli bir patojendir. *S. aureus*'un tüm suşları enterotoksin oluşturmamakla birlikte, sığır kökenli olanlar ender olarak enterotoksin oluşturabilmektedir. *S. aureus* uygun koşullarda hızla çoğalmakta ve A, B, C1, C2, C3, D, E, G, H toksinlerinden bir ya da birkaçını oluşturabilmektedir. Bunlar arasında

en toksik olanı enterotoksin A iken, ısıya en dayanıklı olan enterotoksin B'dir (Halkman, 2013).

S. aureus intoksikasyonlarının görülmesi için gıda üzerinde bu bakterinin çoğalarak hücre sayısının 10^5 - 10^6 kob/g düzeyine veya üzerine çıkması gerekmektedir. Bakteri varlığı ile toksin salgılama arasındaki ilişki gıdanın bileşimine ve başta sıcaklık olmak üzere korunduğu ortam koşullarına bağlıdır. Bakteri gelişmiş olsa dahi toksin oluşturmamış olabilir. Tersine ve daha önemlisi analiz edilen gıdada koagülaz pozitif *S. aureus*'a rastlanmamış olması, bu gıdanın stafilokokal toksinler açısından tehlikeli olmadığını göstermez. Bakteri, ısıl işleme dayanıksızdır ancak toksinleri biyolojik stabilitesini yüksek sıcaklık uygulamalarında dahi koruyabilmektedir (Halkman, 2013).

Gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar içinde stafilokokal intoksikasyonların payı ülkelere göre değişmekle birlikte %15-40 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Halkman, 2013). Ülkemizde olduğu gibi bir çok ülkede de *S. aureus*'a bağlı gıda zehirlenmesi belirtilerinin hafif seyretmesi ve genellikle sağlık kuruluşlarına gidilmemesi nedeniyle gerçek veriler bilinmemektedir (Çakıcı vd., 2015).

S. aureus doğal olarak en fazla burunda, boğazda, deride ve ellerde yer almakta, özellikle apseli yaralarda, sivilce ve çıbanlarda yoğun olarak bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada farklı ülkelere ait gıda üretim yerlerinde çalışan personelin *S. aureus* taşıyıcılığı araştırılmış ve personelin yüzde %26,0-38,5'inin *S. aureus* taşıyıcısı olduğu, %8,0-44,4'ünün ise enterotoksijenik *S. aureus* suşlarını taşıdığı tespit edilmiştir (Stewart vd., 2003).

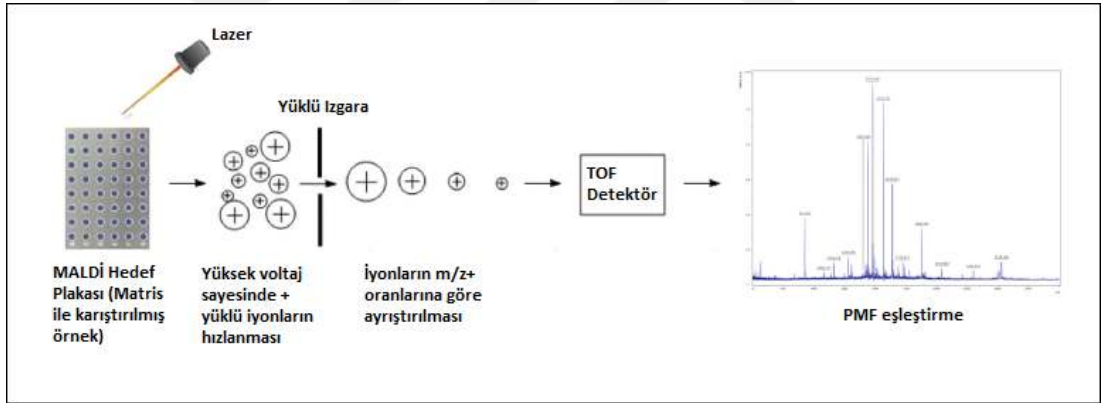
Başka bir çalışmada, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hastanesi'nde çalışan 30 mutfak personelinin sağ ve sol ellerinden işe başlamadan önce ve iş sırasında, çıplak ve eldivenli ellerden olmak üzere toplam 180 örnek alınmış, alınan örneklerin %70'inde *S. aureus* izole edilmiştir. Eldivenli el numuneleri üzerindeki bakteri yükleri, el değmemiş el örneklerinden düşük bulunsa da kabul edilebilir sınırlar içinde olmadığı tespit edilmiştir (Ayçiçek vd., 2004). Eldivenin uzun süre çıkarılmadan kullanılması ve farklı bir işe geçerken değiştirilmemesi eldiven kullanmamayla aynı etkileri göstermektedir (Çakıcı vd., 2015).

2.4 MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile Tanımlama

Gıda kaynaklı bakterilerin hızlı ve güvenilir olarak tanımlanması ürün kalitesi açısından kritik bir öneme sahiptir. Mikroorganizmaların fenotipik karakterlerini baz alarak yapılan klasik kültürel yöntemlerin uzun sürmesi, tekrar edilebilirliğinin düşük olması ve doğru sonuçlar vermemesi gibi nedenler araştırmacıları farklı yöntemler bulmaya zorlamıştır. Bu amaç doğrultusunda özellikle 2000’li yılların başından günümüze kullanımı artan moleküler genetik yöntemler biyokimyasal yöntemlerle kıyaslandığında tiplendirilebilirlik, tekrarlanabilirlik ve türleri/alt türleri birbirinden ayırmada sağladığı üstün özelliklerinden dolayı birçok araştırmacı tarafından kullanılmaktadır. Fakat moleküler yöntemlerin deneyim gerektirmesi ve pahalı olması araştırmacıları alternatif yöntemler bulmaya itmiştir. Alternatif yöntemlerden olan kütle spektrometresi bir proteomik yöntem olup, 1975 yılından bu yana bakteri tanımlaması amacıyla zaman zaman kullanılmış ancak MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi geliştirilene kadar pek etkili olamamıştır (Mazzeo vd., 2006).

Proteomik; bir hücre, organ veya organizmanın farklı gelişim evreleri, çevresel koşullar, çeşitli hastalıklar, yaşlılık gibi süreçlerde bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği sadece genler tarafından kodlanan polipeptit yapıları değil, aynı zamanda sentez sonrası modifikasyonları da içeren proteinlerin toplamının tanımlanmasıdır (Özenoğlu vd., 2016). Proteomik çalışmalarda kullanılan yöntemlerden biri olan kütle spektrometresi manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük (m/z) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt ederek analizleme esasına dayanmaktadır (Rıfaat, 2014). Kütle spektrometresi uzun yıllardır özellikle kimya alanında kullanılmakla birlikte mikrobiyoloji alanında kullanımı 1970’lerden itibaren başlamaktadır. Anhalt ve Fenselau (1975) yaptıkları analizlerde bakterilerin tür ve cins bazında kendilerine has bir kütle spektralarının olduğunu ortaya koymuşlardır. 1980’lerde desorpsiyon/iyonizasyon teknolojisinin gelişmesiyle beraber mikroorganizmalardan iyonik karakterde biyomarkırların oluşması sağlanmıştır. Ancak örneklerin hazırlanmasının uzun sürmesi bu uygulamaların rutin mikrobiyoloji alanında kullanılmasına engel olmuştur. 1980’li yılların sonu ve 1990’lı yılların başında gelişen soft iyonizasyon tekniklerinin (MALDI ya da elektrospray iyonizasyon (ESI)) sisteme entegre olması ile beraber protein gibi büyük moleküllerin incelenmesi olanağına kavuşulmuştur (Yılmaz vd., 2014).

MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi mikrobiyolojide katı besiyerinde saf kültürden protein parmak izi üretmek için kullanılmaktadır. Tanımlamada ilk adım kültürü saf bir şekilde elde ettikten sonra matriks ve örnek arasında bir kristal oluşturmaktır. Bu doğrultuda koloni steril bir kürdan yardımıyla MALDI-TOF plakasına sürülüp üzerine uygun miktarda organik bir matriks çözeltisi eklenmekte ve böylece kurumaya bırakılmaktadır. Kuruduktan sonra plaka cihazın içine yerleştirilerek lazer ışınması gerçekleştirilmektedir. Lazer ışınları ile birlikte bakteri kültürü gaz iyon fazlarına ayrılarak bir tüp boyunca yürütülmektedir. Bunun sonucunda, iyonlar moleküler kütle (m) / yük (z) oranı ve bağıl yoğunluklarına göre bir dedektör sayesinde ayrılmaktadır. Her bakteri türüne özgü olan bu karakteristik özellikler ise daha sonra cihazın veritabanındaki referans spektrumlarla karşılaştırılarak mikroorganizmanın tanısı dakikalar içinde gerçekleştirilmektedir (Yılmaz vd., 2014; Singhal vd., 2015) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin iş akış şeması

Yapılan bazı çalışmalarda değişik bakteri türlerinin farklı tanımlama yöntemleri baz alınarak MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi sonuçlarının cins ve tür düzeyinde doğruluğunun karşılaştırılması Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin bakterileri cins ve tür düzeyinde tanımlama etkinliği

Cins Düzeyinde Tanımlama (%)	Tür Düzeyinde Tanımlama (%)	Bakteri Grubu	Kaynak
95,4	84,1	Karışık	(Seng vd., 2009)
-	99,3	Stafilokoklar	(Dubois vd., 2009)
98,8	92,0	Karışık	(Van veen vd., 2010)
100	97,7	<i>Enterobacteriaceae</i>	(Van veen vd., 2010)
100	94	Karışık	(Cherkaoui vd., 2010)
97	91,7	Karışık	(Sogawa vd., 2011)
100	97	<i>E. coli, S. aureus</i>	(Elbehiry vd., 2017)

MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin veritabanının her geçen sene daha da iyileştirilmesiyle son yıllarda yapılan çalışmalar bu metodun birçok bakteride uygulanabilir olduğunu ve bir çok tanımlama yönteminden daha iyi sonuçlar verdiğini göstermiştir (Elbehiry vd., 2017; Sogawa vd., 2011; Cherkaoui vd., 2010; Van veen vd., 2010; Dubois vd., 2009; Seng vd., 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada Bolu ili ve bazı ilçelerindeki (Gerede, Yeniçağa, Dörtdivan, Göynük, Mengen) restoran ve kafeterya gibi toplu tüketim yerlerinde tüketime hazır olarak satışa ve servise sunulan salatalar (çoban salata, mevsim salata, söğüş) materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler 2018-2019 yılının Aralık, Ocak ve Şubat aylarında toplanmıştır. Buna göre 100 adet salata örneğinden 70 tanesi Bolu il merkezinden, 30 tanesi ilçelerden (Gerede 9 adet, Yeniçağa 5 adet, Dörtdivan 5 adet, Göynük 6 adet, Mengen 5 adet) temin edilerek soğuk zincir bozulmadan laboratuvara getirilmiş ve mümkün olan en kısa sürede analize alınmıştır.

3.2 Yöntem

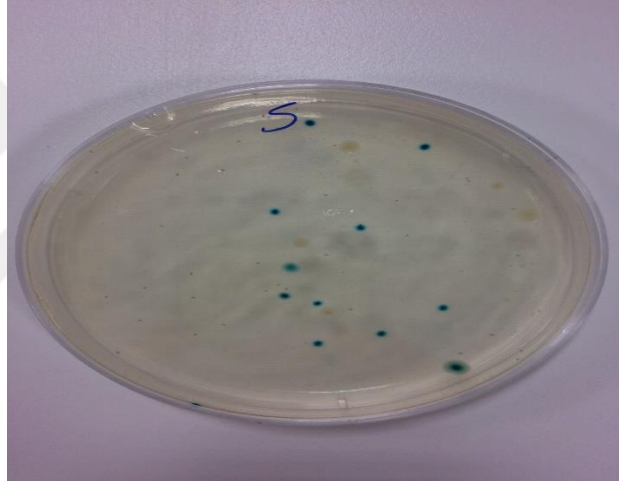
Laboratuvara soğuk zincirde getirilen her bir numune; *E. coli* sayısının belirlenmesi amacıyla klasik ISO 16649-2 yöntemi ve *S. aureus* sayısının belirlenmesi amacıyla TS EN ISO 6888-1 yöntemi ile analiz edilmiştir. Her örnek için *E. coli* ve *S. aureus* gelişiminin olduğu besiyerlerindeki tüm tipik koloniler sayılarak sonuçlar kaydedilmiş, her örnekten *E. coli* ve *S. aureus* için seçilen 2'şer tipik koloni MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlanmıştır.

3.2.1 Örneklerin Hazırlanması

Steril koşullar altında 10 g salata örneği, stomacher poşetine alınarak içerisine önceden hazırlanarak otoklavda steril hale getirilen 90 mL Maximum Recovery Diluent (MRD; Merck, Almanya) solüsyonu ilave edilerek 1/10 oranında seyreltilmiştir. Örnekler Stomacher cihazı (Mayo Homogenius, Brezilya) ile iki dakika süreyle homojenize edilerek analiz için hazır hale getirilmiştir.

3.2.2 *E. coli* Sayısının Saptanması

Bu amaçla 1/10'luk dilüsyondan her örnek için dökme kültür yöntemi kullanılarak iki paralel ekim yapılmıştır. Bu amaçla her bir Petriye hazırlanan dilüsyondan 1 mL örnek aktarılmıştır. Bu örneklerin üzerine daha önce otoklavda steril hale getirilip 44-46°C'ye soğutulan Chromocult TBX Agar (Merck, Almanya) besiyerinden 12-15 mL ilave edilmiştir. Ekimden sonra katılaşması beklenen Petriler ters çevrilerek 44°C'de 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi sonrasında Petrilerdeki mavi-yeşil koloniler sayılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır (Şekil 3.1).

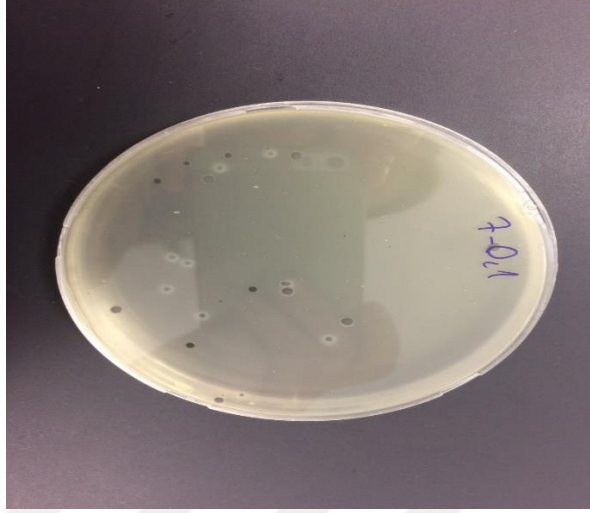


Şekil 3.1. Besiyerinde tipik *E. coli* kolonilerinin görünümü

3.2.3 *S. aureus* Sayısının Saptanması

Öncelikle talimatlara uygun olarak otoklavlanıp hazırlanan Baird-Parker Agar (BPA; Merck, Almanya) besiyeri 44-46 °C'ye soğutulmuş ve kullanım talimatına uygun olarak içerisine Egg Yolk Tellurite (Merck, Almanya) ilave edilerek Petrilere 15-20 mL kadar dökülmüştür. Petrilerde bulunan besiyeri soğuduktan sonra 1/10'luk dilüsyondan 0,1 mL örnek alınarak yayma plak yöntemi ile iki paralel ekim yapılmıştır. Hazırlanan Petriler ters çevrilerek 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Siyah renkli, parlak, çevresinde opak bir zon oluşturmuş olan, konveks,

ortalama 1,5 mm çapındaki tipik koloniler şüpheli *S. aureus* olarak kabul edilmiştir (şekil 3.2).

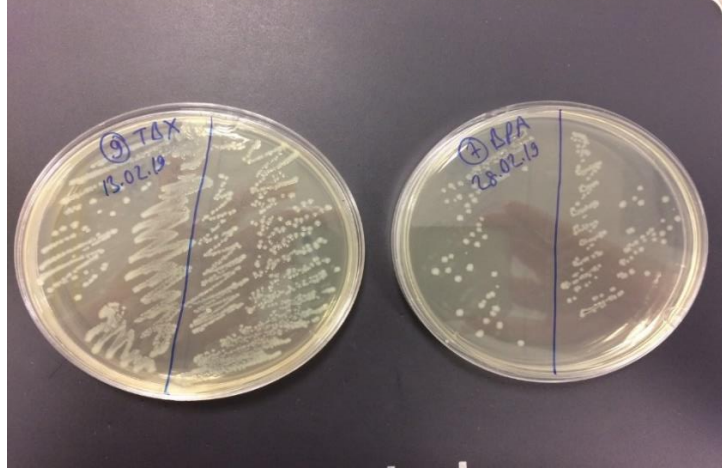


şekil 3.2. Besiyerinde tipik *S. aureus* kolonilerinin görünümü

3.2.4 İzole Edilen *E. coli* ve *S. aureus* Türlerinin MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile Tanımlanması

3.2.4.1 Kültürlerin Saflaştırılması

MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi tanımlamada genç kültürlere ihtiyaç duyduğundan şüpheli tipik koloniler cihaza verilmeden 18-24 saat önce saflaştırma için Plate Count Agar (PCA; Merck, Almanya) besiyerine ekilmiştir. Bu amaçla PCA besiyeri kullanım talimatına uygun olarak otoklavlanıp 44-46°C'ye soğutularak Petrilere 12-15 mL dökülmüştür. Besiyeri katılaştıktan sonra *E. coli* ve *S. aureus* şüpheli kolonilerinin bulunduğu Petrilere seçilen 2'şer tipik koloni aseptik şartlar altında yuvarlak uçlu zeyle PCA içeren Petrilere sürme yöntemiyle ekilmiş ve ters vrilerek 18-24 saat süreyle 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır (şekil 3.3).



Şekil 3.3. İzole edilen genç kolonilerin görünümü

3.2.4.2 Organik Çözücünün Hazırlanması ve Matriks ile Karıştırılması

İlk olarak, 2 mg HCCA (α -siyano-4-Hidroksisinnamik Asit) matriks kimyasalı 150 μ L organik çözücü ile karıştırılmıştır. Organik çözücünden 1 mL hazırlamak için de 475 μ L ddH₂O, 500 μ L ACN (asetonitril solüsyonu) ve 25 μ L TFA (Trifluoroasetik asit) çözeltilerinden alınmış ve steril bir Eppendorf tüpü içerisinde iyice homojenize olana kadar karıştırılmıştır (Han vd., 2014).

3.2.4.3 MALDI-TOF MS Plakasının Hazırlanması

Tek koloni düşürülen saf kültürler aseptik şartlar altında steril bir kürdan yardımıyla alınarak MALDI-TOF plakasının (MTP 384; Bruker Daltonik GmbH, Karlsruhe, Almanya) haznelerine sürülmüştür. Hazırlanan organik çözelti ve matriks karışımından 1 μ L bakteri kültürünün üzerine damlatılmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Bu işlem 66 örnek için her birinden iki izolat olacak şekilde toplam 132 izolat için gerçekleştirilmiştir. Plaka son olarak MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik, Karlsruhe, Almanya) cihazının içerisine yerleştirilmiştir.

3.2.4.4 İzolatların Tanımlanması

MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminde tanımlama amacıyla örneklerde 2.000-20.000 Da aralığında spektrum taraması yapabilen MBT-FC.par yöntemi seçilmiştir. Cihazın kalibrasyonu BTS (Bacterial Test Standart, Bruker) ile yapılmıştır. Lazer şiddeti %50 (50 Hz) seçilmiş, tanımlanması istenen spotlar MALDI BioTyper 3.4 yazılımı kullanılarak okutulmuştur. Her spotta yaklaşık 4-5 farklı yere yapılan lazer uygulaması tanımlamaya uygun pikler alınıncaya kadar devam etmiş ve bir sonraki spota geçilmiştir. Sonuçlar MALDI BioTyper RTC programında değerlendirilmiştir. Cihazın en büyük avantajı olarak tanımlama sonuçları dakikalar içinde elde edilmiştir.

İzolatların MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlanması, bilinmeyen organizmanın protein parmak izinin (PMF) veritabanında yer alan PMF'lerle karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir. PMF eşleşmesinde, bilinmeyen mikrobiyal izolatların spektrumu, veri tabanında bulunan bilinen mikrobiyal izolatların spektrumları ile karşılaştırılmaktadır (Singhal, 2015). Bu karşılaştırma sonucu bir güven aralığında veriler elde edilmektedir. MALDI-TOF MS cihazının tedarikçisi tarafından önerilen güven aralıklarına göre tanımlama güvenilirlik verileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. MALDI-TOF MS BioTyper cihazının güven aralıklarının anlamı

Güven Aralığı	Tanımlama	Sembol	Renk
2,300-3,000	Çok yüksek ihtimalli tür tanımlaması	(+++)	Yeşil
2,000-2,299	Cins bazında kesin tanımlama, yüksek ihtimalli tür tanımlaması	(++)	Yeşil
1,700-1,999	Yüksek ihtimalli cins tanımlaması	(+)	Sarı
0,000-1,699	Güvenilir olmayan tanımlama	(-)	Kırmızı

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 *Escherichia coli* Sayım Sonuçları

Çalışılan salata örneklerine ait *E. coli* sayım sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelgeye göre Bolu Merkezden toplanan 70 adet salata örneğinin 14’ünde, ilçelerden toplanan 30 adet salata örneğinin 10’unda *E. coli* tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Salata örneklerinin *E. coli* sayım sonuçları

Örnekleme Alanı		Örnek Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log kob/g)
Bolu Merkez		S ₁ E ₁	0,69
		S ₁ E ₂	0,69
		S ₁ E ₃	1,47
		S ₁ E ₄	1,3
		S ₁ E ₅	1,17
		S ₁ E ₆	1
		S ₁ E ₇	1,17
		S ₁ E ₈	0,69
		S ₁ E ₉	0,69
		S ₁ E ₁₀	1,17
		S ₁ E ₁₁	3,19
		S ₁ E ₁₂	3,04
		S ₁ E ₁₃	2,14
		S ₁ E ₁₄	1,17
İlçeler	Gerede	S ₂ E ₁₅	1,92
		S ₂ E ₁₆	3,59
		S ₂ E ₁₇	0,69
		S ₂ E ₁₈	1,17
		S ₂ E ₁₉	1,6
	Göynük	S ₂ E ₂₀	0,69
		S ₂ E ₂₁	3,25
	Yeniçağa	S ₂ E ₂₂	1,17
		S ₂ E ₂₃	0,69
		S ₂ E ₂₄	1,17

S₁E_n: Merkezden toplanan örneklerde *E. coli* tespit edilen örnek kodları

S₂E_n: İlçelerden toplanan örneklerde *E. coli* tespit edilen örnek kodları

Sonuçlar incelendiğinde analize alınan toplam salata örneklerinde *E. coli* tespit edilen örnek sayısı oranı %24 iken Merkez ve İlçeler karşılaştırıldığında bu oran sırasıyla %20 ve %33,3 olarak bulunmuştur. İlçelerdeki sonuçlara bakıldığında Gerede'den toplanan 9 adet örneğin 5'inde, Göynük'teki 6 adet örneğin 2'sinde, Yeniçağa'daki 5 adet örneğin 3'ünde *E. coli* tespit edilmiş olup, Mengen ve Dörtdivan'dan toplanan örneklerde *E. coli* bulunamamıştır. Salatalardaki toplam sayım sonuçları en düşük 0,69 log kob/g ve en yüksek 3,59 log kob/g olarak bulunmuştur. İlçelerden toplanan salatalarda *E. coli* oranının daha yüksek olduğu ve örneklerin Aralık-Ocak-Şubat aylarında toplanmasından dolayı nispeten mikrobiyal yükün daha az olduğu görülmüştür.

Ankara'da bir askeri hastanenin yemek servis birimlerinde örneklenen sıcak yemeklerin ve salataların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada Eylül 2001 ve Ekim 2002 arasında 70 adet salata toplanmıştır. Bu örneklerin %11,4'ünde *E. coli* tespit edilmiş olup yemek örnekleriyle kıyaslandığında daha yüksek mikrobiyal yükün olduğu görülmüştür (Ayçiçek vd., 2004).

Başka bir çalışmada Kars ili merkezindeki 4 farklı lokantadan toplanan 40 adet salata örneğinde yapılan analizde örneklerin 8'inde (%20) Türk Gıda Kodeksinin limitlerinin üstünde *E. coli* tespit edilmiştir (Gülmez vd., 2005).

Brezilya'da minimal olarak işlenmiş yapraklı yeşil sebzelerin RTE salatalarından 162 tane örneğin toplandığı bir çalışmada bu örneklerin 86 tanesinde (%53,1) *E. coli* tespit edilmiştir (De Oliveira vd., 2011).

Bir başka çalışmada tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi amacıyla tüketime sunulan toplam 666 hazır yemek ürünü incelenmiştir. Bu gıdalar Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde yer alan parametreleri açısından incelemeye alınmış olup tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb. ürünlerden 58 adet örnek alınmıştır. Bunlardan 8 tanesinin (%13,8) *E. coli* açısından tüketime uygun olmadığı tespit edilmiştir (Şenses Ergül vd., 2015).

Samsun il merkezindeki toplu tüketim yerlerinde servise sunulan sebze salatalarının bazı kalite özellikleri üzerinde yapılan bir araştırmada kafe, alakart ve

lokantalardan alınan toplam 40 adet sebze salatası örneğinin 12'sinde *E. coli* (1-3,72 log kob/g) bulunmuştur (İnan, 2015).

İstanbul'da tüketime sunulan hazır sebze salatalarının mikrobiyal güvenliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir tez çalışmasında, İstanbul'un ilçeleri arasında yer alan Esenler, Fatih, Beşiktaş, Üsküdar, Kadıköy ve Ümraniye'de bulunan lokanta ve restoranlardan 180 örnek toplanmıştır. Analiz edilen örneklerin %7,22'sinde *E. coli* izole edilmiştir (Uçak, 2014).

4.2 *Staphylococcus aureus* Sayım Sonuçları

Çalışılan salata numunelerine ait *S. aureus* sayım sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Çizelgeye göre Bolu Merkezden toplanan 70 adet salata örneğinin 31'ünde, ilçelerden toplanan 30 adet salata örneğinin 11'inde *S. aureus* tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Salata örneklerinin *S. aureus* sayım sonuçları

Örnekleme Alanı	Örnek Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log kob/g)
Bolu Merkez	S ₁ Sa ₁	1,3
	S ₁ Sa ₂	1
	S ₁ Sa ₃	1,69
	S ₁ Sa ₄	2,61
	S ₁ Sa ₅	1,81
	S ₁ Sa ₆	1,93
	S ₁ Sa ₇	1,77
	S ₁ Sa ₈	1
	S ₁ Sa ₉	1
	S ₁ Sa ₁₀	1,47
	S ₁ Sa ₁₁	1,47
	S ₁ Sa ₁₂	2,6
	S ₁ Sa ₁₃	2,67
	S ₁ Sa ₁₄	2,2
	S ₁ Sa ₁₅	3,19
	S ₁ Sa ₁₆	1
	S ₁ Sa ₁₇	2,89
	S ₁ Sa ₁₈	2,14

Çizelge 4.2. (Devamı) Salata örneklerinin *S. aureus* sayım sonuçları

Bolu Merkez		S ₁ Sa ₁₉	2,07
		S ₁ Sa ₂₀	2,86
		S ₁ Sa ₂₁	1,3
		S ₁ Sa ₂₂	1,95
		S ₁ Sa ₂₃	2,17
		S ₁ Sa ₂₄	2,07
		S ₁ Sa ₂₅	1,9
		S ₁ Sa ₂₆	1,6
		S ₁ Sa ₂₇	1,6
		S ₁ Sa ₂₈	3,13
		S ₁ Sa ₂₉	1,3
		S ₁ Sa ₃₀	2,93
		S ₁ Sa ₃₁	2,38
İlçeler	Dörtdivan	S ₂ Sa ₃₂	1,77
		S ₂ Sa ₃₃	2
	Göynük	S ₂ Sa ₃₄	2,11
	Mengen	S ₂ Sa ₃₅	1
		S ₂ Sa ₃₆	1,9
		S ₂ Sa ₃₇	2,74
		S ₂ Sa ₃₈	2,04
	Gerede	S ₂ Sa ₃₉	2,5
		S ₂ Sa ₄₀	1,69
	Yeniçağa	S ₂ Sa ₄₁	3,34
		S ₂ Sa ₄₂	1,69

S₁Sa_m: Merkezden toplanan örneklerde *S.aureus* tespit edilen örnek kodları

S₂Sa_m: İlçelerden toplanan örneklerde *S. aureus* tespit edilen örnek kodları

Sonuçlar incelendiğinde analiz yapılan toplam salata örneklerinden *S. aureus* tespit edilen örnek sayısı %42 iken Merkez ve İlçeler karşılaştırıldığında bu oran sırasıyla %44,2 ve %36,6 olarak bulunmuştur. İlçelerdeki sonuçlara bakıldığında Dörtdivan'dan toplanan 5 adet örneğin 2'sinde, Göynük'teki 6 adet örneğin 1'inde, Mengen'deki 5 adet örneğin 4'ünde, Gerede'deki 9 adet örneğin 2'sinde ve Yeniçağa'daki 5 adet örneğin 2'sinde *S. aureus* tespit edilmiştir. Salatalardaki toplam *S. aureus* sayım sonuçları en düşük 1 log kob/g ve en yüksek 3,34 log kob/g olarak

bulunmuştur. Ancak bu analizlerde ikinci bir doğrulama testi yapılmadığı için şüpheli 2'şer tipik koloni MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlanmıştır.

Pakistan'ın Quetta şehrinin marketlerinde satılan tüketime hazır salatalardaki *S. aureus* kontaminasyonunu değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada analiz edilen 100 numuneden 54'ünde *S. aureus* tespit edilmiştir. Bu izolatlardan 32'si (%59) koagülaz pozitif bulunmuştur (Saifullah vd., 2018).

Bir diğer çalışmada, Afyonkarahisar'da 2011-2012 döneminde restoran, kafe ve çeşitli satış merkezlerini içeren 7 farklı özel işletmeye ait 261 salata/meze örneği (58 rus salatası, 52 sezar salatası, 45 ton balıklı salata, 57 akdeniz salatası, 49 çiğ köfte) mikrobiyolojik yönden incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda toplam 261 örneğin %13'ünün >2 log kob/g *S. aureus* içerdiği bildirilmiştir (Pamuk vd., 2013).

İstanbul'da tüketime sunulan hazır sebze salatalarının mikrobiyal güvenliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir tez çalışmasında, İstanbul'un bazı ilçelerinden toplanan 180 adet salata örneğinde *S.aureus* sayısı Esenler, Fatih ve Beşiktaş'ta sırasıyla 2,00-3,52 log kob/g, 2,00-2,59 log kob/g, 2,00-2,51 log kob/g aralığında değişirken, Üsküdar, Kadıköy ve Ümraniye'de 2,00-2,44 log kob/g, 2,00-2,50 log kob/g ve 2,00-2,26 log kob/g'dır. *S. aureus* sayımı yapılan örneklerden %22,77'si koagülaz pozitif bulunmuştur (Uçak, 2014).

Yapılan bir tez çalışmasında, Samsun il merkezinde toplu tüketim yerlerinde servise sunulan salatalardan alınan 40 adet numunenin 19'unda *S. aureus* (3,53-5,06 log kob/g) bulunmuştur (İnan, 2015).

İstanbul'da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada 30 adeti salata (yeşil ve çoban salata) olmak üzere toplam 225 adet örnek analize alınmıştır. Analiz sonuçlarına göre, 30 adet salatanın 6'sında (%20) koagülaz pozitif *S. aureus* (2-4 log kob/g) tespit edilmiştir. Çıkan sonuçlara göre tüketime hazır salatalar halk sağlığı açısından bir risk olarak değerlendirilmiştir (Hampikyan vd., 2008).

Bir araştırma projesi kapsamında hazır yemek sektöründen alınan 108 numune (27 tavuk ızgara, 27 köfte, 27 rus salatası, 27 sütlu tatlı) *S. aureus* ve enterotoksin içeriği, *E. coli* ve koliform açısından değerlendirilmiştir. 4 farklı örnek grubu içinden

rus salatası örneklerinin *S. aureus*, koliform ve *E. coli* açısından kontaminasyon oranı en fazla olan grubu oluşturduğu, ayrıca *E. coli* varlığının tespit edildiği tek örnek grubu olduğu tespit edilmiştir (Aslan, 2017).

4.3 İzolatların MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile Tanımlanması

4.3.1 *E. coli* Tanımlama Sonuçları

Çizelge 4.3. *E. coli* için MALDI-TOF MS tanımlama sonuçları ve güven aralıkları

Örnekleme Alanı		Örnek Kodu	Tanımlama Sonucu	Güven Aralıkları
Bolu Merkez		S ₁ E ₁	<i>Escherichia coli</i>	2,463
		S ₁ E ₂	Tanımlanamadı	0
		S ₁ E ₃	<i>Enterobacter asburiae</i>	2,37
		S ₁ E ₄	<i>Enterobacter kobei</i>	2,337
		S ₁ E ₅	<i>Escherichia coli</i>	2,203
		S ₁ E ₆	<i>Escherichia coli</i>	2,369
		S ₁ E ₇	<i>Escherichia coli</i>	2,401
		S ₁ E ₈	Tanımlanamadı	0
		S ₁ E ₉	<i>Escherichia coli</i>	2,309
		S ₁ E ₁₀	<i>Escherichia coli</i>	2,345
		S ₁ E ₁₁	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,299
		S ₁ E ₁₂	<i>Escherichia coli</i>	2,402
		S ₁ E ₁₃	<i>Escherichia coli</i>	2,415
		S ₁ E ₁₄	<i>Escherichia coli</i>	2,41
İlçeler	Gerede	S ₂ E ₁₅	<i>Escherichia coli</i>	2,378
		S ₂ E ₁₆	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,373
		S ₂ E ₁₇	<i>Escherichia coli</i>	2,247
		S ₂ E ₁₈	<i>Escherichia coli</i>	2,351
		S ₂ E ₁₉	<i>Escherichia coli</i>	2,413
	Göynük	S ₂ E ₂₀	<i>Escherichia coli</i>	2,283
		S ₂ E ₂₁	<i>Escherichia coli</i>	2,147
	Yeniçağa	S ₂ E ₂₂	<i>Escherichia coli</i>	2,446
		S ₂ E ₂₃	<i>Escherichia coli</i>	2,376
		S ₂ E ₂₄	<i>Escherichia coli</i>	2,474

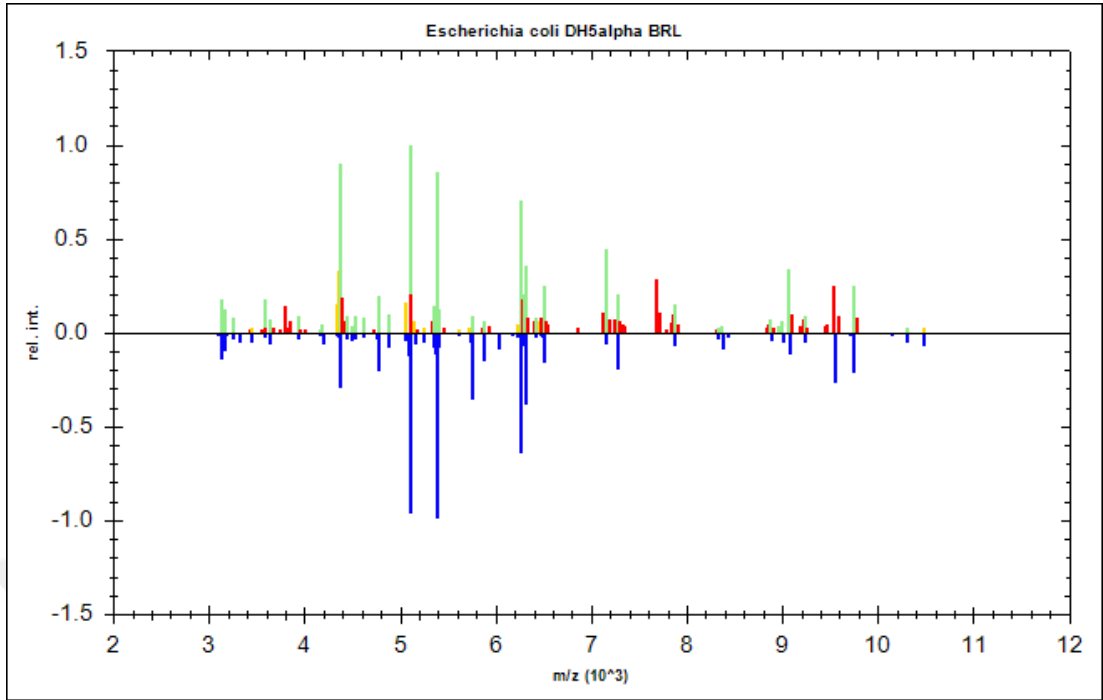
E. coli için MALDI-TOF MS tanımlama sonuçları ve güven aralıkları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Bu çizelgeye göre *E. coli* olarak tespit edilen 24 izolatın 18’i *Escherichia coli*, 2’si *Klebsiella pneumoniae*, 1’i *Enterobacter asburiae* ve 1’i de *Enterobacter kobei* olarak tanımlanırken 2’si tanımlanamamıştır (Çizelge 4.4). Merkezdeki 14 örnekten *E. coli* olarak tanımlanan 9 adet salata örneğinin *E. coli* sayısı 0,69-3,04 log kob/g arasında değişirken, ilçelerdeki 10 örnekten 9’undaki *E. coli* sayısı 0,69-3,25 log kob/g aralığındadır. İlçelerdeki sonuçlara bakıldığında Gerede’den toplanan 9 adet örneğin 4’ünde (0,69-3,25 log kob/g), Göynük’teki 6 adet örneğin 2’sinde (0,69-3,25 log kob/g) ve Yeniçağa’daki 5 adet örneğin 3’ünde (0,69-1,17 log kob/g) *E. coli* tanımlanmış olup, Mengen ve Dörtdivan’dan toplanan örneklerde *E. coli* bulunamamıştır. Güven aralıklarına baktığımızda tanımlaması yapılan tüm izolatların yüksek ya da çok yüksek ihtimalli tür tanımlamasına sahip olduğu görülmüştür.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde “tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb.” için *E. coli* limitlerine bakıldığında, bu ürünlerde bulunmasına izin verilen en yüksek *E. coli* değeri 10 kob/g’dır. Buna göre bizim çalışmamızda *E. coli* pozitif örneklerin %50’sinin mevzuata uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. *E. coli* için tanımlanan bakteri türlerinin sayısı ve dağılımı

Bakteri Türü	İzolat Sayısı	İzolat Oranı (%)
<i>Escherichia coli</i>	18	75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	8,33
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	4,16
<i>Enterobacter kobei</i>	1	4,16
Tanımlanamadı	2	8,33

Şüpheli izolatlardan %75’i *E. coli* olarak tanımlanmış olup bunun toplam salata örneklerindeki oranı %18’dir. Çizelgede 4.4’te *E. coli* dışında tanımlanan bakterilerden *K. pneumoniae* ve *Enterobacter* türleri *Enterobacteriaceae* familya üyelerinin genel karakterlerine sahip olan, insanlarda üst solunum yolu ve dışkı mikrobiyotasında bulunan bakteriler olup uygunsuz koşullar karşısında fırsatçı patojen olarak açığa çıkmaktadır (Anonim, 2019).



Şekil 4.1. *E. coli* referans suşuna ve S₂E₁₉ izolatına ait spektrum

Yukarıdaki Şekil 4.1’de MALDI-TOF MS BioTyper Sistemindeki bakteri suşunun ayırt edici pik grafiği incelendiğinde, iyonların mutlak yoğunlukları y ekseninde, iyonların kütleleri (Da cinsinden) x ekseninde gösterilmiştir. m/z değeri kütle/yük oranını göstermekte ve bu değer tek bir pozitif yük için proteinin moleküler ağırlığına karşılık gelmektedir (Barbuddhe vd., 2008).

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin gıda örneklerinde *E. coli* tanımlamasına ilişkin çok az çalışmaya rastlanmış olup daha çok klinik örneklerde çalışıldığı görülmüştür.

Gıda kaynaklı patojenlerin MALDI-TOF MS ile hızlı bir şekilde tanımlanmasının amaçlandığı bir çalışmada, Al-Qassim bölgesindeki Suudi Arabistan Krallığı’nın çeşitli restoranlarından izole edilen 80 gıda örneğinden izole edilmiş 69 bakteri ve 32 mantar izolatı kullanılmıştır. Ön tanımlama kültür ve BD Phoenix yöntemleri ile yapılmış ve sonrasında MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi kullanılarak doğrulama yapılmıştır. Sonuçlar kıyaslandığında bakterilerin %97’sini (67/69 izolat) %100 oranında *E. coli* ve *S. aureus* olarak doğru tanımlamıştır (Elbehiry vd., 2017).

Başka bir çalışmada, sağlıklı ve hastalıklı tavuklardan toplam 110 adet örnek (karaciğer, dalak ve/veya safra kesesi) toplanmış ve bunlardan 42'sinde *E. coli* tespit edilmiştir. API 20E tanımlama sistemi kullanılarak yapılan biyokimyasal tanımlamaya göre 42 adet şüpheli *E. coli* izolatından 33'ünün *E. coli* olduğu ortaya konmuştur. Elde edilen *E. coli* izolatları MALDI-TOF MS kullanılarak geleneksel tanıma uygun olarak 2'si hariç diğer örneklerden %93,9 oranında tanımlanmıştır (Shell vd., 2017). Buna göre farklı tanımlama yöntemleriyle desteklenen çalışmaların daha doğru sonuçlar verdiği görülmüştür.

Birçok *E. coli* patotipinin önemli ölçüde hastalığa neden olduğu bilinmektedir. Bu organizmaların izlenmesi zordur, çünkü farklı patotipleri saptamak ve ayırt etmek için basit, hızlı yöntemler yoktur veya çok azdır. MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin farklı *E. coli* patotipleri için uyarlanıp uyarlanamayacağını belirlemek için yapılan bir çalışmada Bruker BioTyper metodu ve bilimsel literatürden uyarlanan ikinci bir yöntem sekiz ayrı patotip (EHEC, EPEC, STEC, EAEC, UPEC, ETEC, EIEC, DAEC) üzerinde test edilmiştir. Çalışılan toplam 136 izolatın sonuçlarına bakıldığında bakteriyel hücrelerden protein ekstraksiyonu içeren Bruker BioTyper metodunun, bütün patotiplerden tür seviyesine kadar *E. coli* izolatlarını belirleyebildiği tespit edilmiştir (Clark vd., 2013).

4.3.2 *S. aureus* Tanımlama Sonuçları

S. aureus için şüpheli koloni sayımlarına ilişkin tanımlama sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. *S. aureus* için MALDI-TOF MS tanımlama sonuçları ve güven aralıkları

Örnekleme Alanı	Örnek Kodu	Tanımlama Sonucu	Güven Aralıkları
Bolu Merkez	S ₁ Sa ₁	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2,212
	S ₁ Sa ₂	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,409
	S ₁ Sa ₃	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,971
	S ₁ Sa ₄	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1,936
	S ₁ Sa ₅	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2,225
	S ₁ Sa ₆	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,28

Çizelge 4.5. (Devamı) *S. aureus* için MALDI-TOF MS tanımlama sonuçları ve güven aralıkları

Bolu Merkez	S ₁ Sa ₇	<i>Stapylococcus epidermidis</i>	1,952		
	S ₁ Sa ₈	<i>Stapylococcus epidermidis</i>	1,944		
	S ₁ Sa ₉	<i>Stapylococcus epidermidis</i>	2,049		
	S ₁ Sa ₁₀	<i>Staphylococcus warneri</i>	2,161		
	S ₁ Sa ₁₁	<i>Staphlococcus pasteuri</i>	2,173		
	S ₁ Sa ₁₂	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,87		
	S ₁ Sa ₁₃	<i>Candida lusitaniae</i>	1,919		
	S ₁ Sa ₁₄	<i>Staphylococcus pasteuri</i>	2,293		
	S ₁ Sa ₁₅	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,83		
	S ₁ Sa ₁₆	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,989		
	S ₁ Sa ₁₇	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,204		
	S ₁ Sa ₁₈	<i>Corynebacterium falsenii</i>	2,091		
	S ₁ Sa ₁₉	<i>Staphylococcus pasteuri</i>	1,841		
	S ₁ Sa ₂₀	<i>Staphylococcus warneri</i>	2,062		
	S ₁ Sa ₂₁	<i>Tanımlanamadı</i>	0		
	S ₁ Sa ₂₂	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,087		
	S ₁ Sa ₂₃	<i>Staphylococcus pasteuri</i>	2,043		
	S ₁ Sa ₂₄	<i>Staphylococcus pasteuri</i>	1,842		
	S ₁ Sa ₂₅	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,217		
	S ₁ Sa ₂₆	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,013		
	S ₁ Sa ₂₇	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,892		
	S ₁ Sa ₂₈	<i>Corynebacterium callunae</i>	2,313		
	S ₁ Sa ₂₉	<i>Staphylococcus pasteuri</i>	2,034		
	S ₁ Sa ₃₀	<i>Aeromonas caviae</i>	2,356		
	S ₁ Sa ₃₁	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1,717		
	İlçeler	Dörtdivan	S ₂ Sa ₃₂	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,048
			S ₂ Sa ₃₃	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,14
		Göynük	S ₂ Sa ₃₄	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,86
		Mengen	S ₂ Sa ₃₅	<i>Staphylococcus saaprophyticus</i>	1,7
			S ₂ Sa ₃₆	<i>Stapylococcus epidermidis</i>	2,091
			S ₂ Sa ₃₇	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,826
S ₂ Sa ₃₈			<i>Staphylococcus pasteuri</i>	2,084	
Gerede		S ₂ Sa ₃₉	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,96	
		S ₂ Sa ₄₀	<i>Staphylococcus pasteuri</i>	2,005	
Yeniçağa	S ₂ Sa ₄₁	<i>Shewanella putrefaciens</i>	2,072		
	S ₂ Sa ₄₂	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,282		

MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi tanımlama sonuçlarına göre *S. aureus* olarak şüpheli duyulan 42 izolatın sadece 5'i *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Diğer izolatlardan 7'si *S. epidermidis*, 11'i *S. pasteurii*, 6'sı *S. warneri*, 5'i *S. saprophyticus*,

1'i *S. xylosus*, 1'i *S. haemolyticus*, 5'i de farklı cinslere ait türler (*Candida lusitanae*, *Corynebacterium falsenii*, *Corynebacterium callunae*, *Aeromonas caviae*, *Shewanella putrefaciens*) olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.6).

S. aureus olarak tanımlanan örneklerden 3'ü merkezdeki, 2'si ilçelerdeki salatalardan izole edilmiştir. Merkezdeki 31 örnekten *S. aureus* olarak tanımlanan 3 adet salata örneğinin *S. aureus* sayısı 1-1,95 log kob/g arasında değişirken, ilçelerdeki 11 örnekten 2'sinde tanımlanan *S. aureus* sayısı Dörtdivan'daki 1 örnekte 2 log kob/g ve Yeniçağa'daki 1 örnekte 1,69 log kob/g olarak bulunmuştur. Gerede, Mengen ve Göynük'teki salatalarda *S. aureus* bulunamamıştır. Güven aralıklarına göre baktığımızda daha düşük cins tanımlama oranında (1,700-1,999) 16 adet (%38) izolat bulunmuştur. Bu oran MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminde *S. aureus* için daha az güvenilir sonuçlar elde edildiğini göstermektedir.

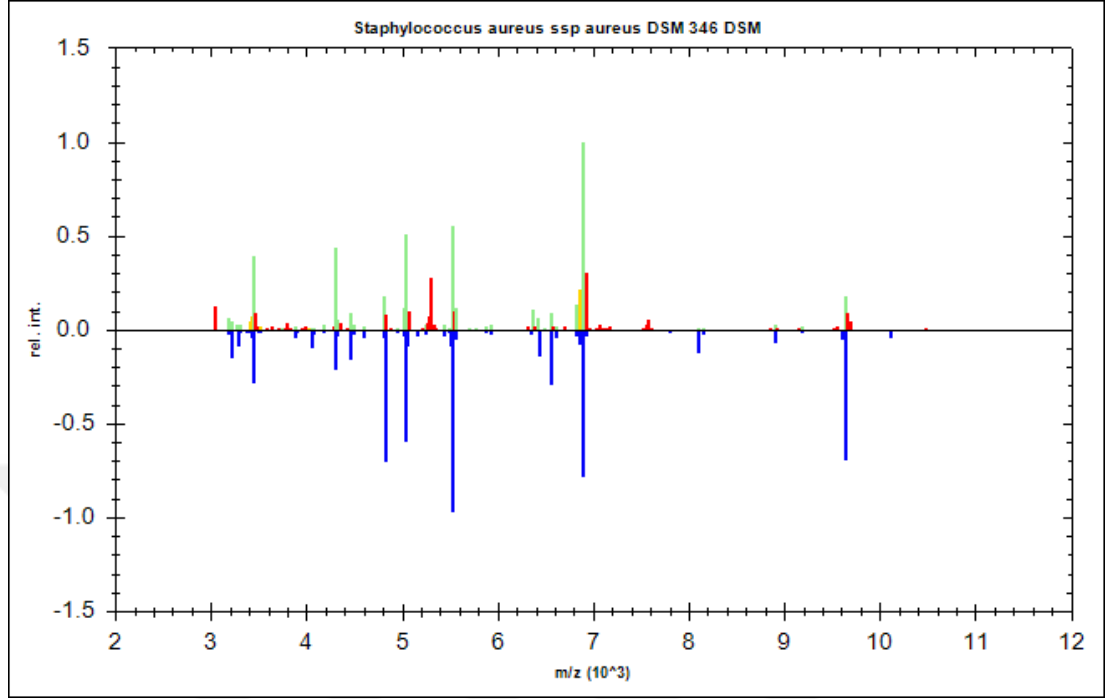
Çizelge 4.6. *S. aureus* için tanımlanan bakteri türlerinin sayısı ve dağılımı

Bakteri Türü	İzolat Sayısı	İzolat Oranı (%)
<i>S. aureus</i>	5	11,9
<i>S. epidermidis</i>	7	16,6
<i>S. pasteurii</i>	11	26,2
<i>S. warneri</i>	6	14,3
<i>S. saprophyticus</i>	5	11,9
<i>S. xylosus</i>	1	2,4
<i>S. haemolyticus</i>	1	2,4
Tanımlanamadı	1	2,4
Diğerleri	5	11,9

İzole edilen tipik koloniler herhangi bir tanımlama testi ile elemeye tabi tutulmadan doğrudan tanımlama testine alınmıştır. Buna göre izole edilen tipik kolonilerin %11,9'unun *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir.

Tanımlanan *S. epidermidis*, *S. pasteurii*, *S. warneri*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus* ve *S. haemolyticus* gibi koagülaz negatif stafilocok türleri insanların normal deri ve mukoza florasının önemli bir üyesidir. Başta *S. epidermidis* olmak üzere bütün koagülaz negatif stafilocok türlerinin nozokomiyal enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir (Khorshed ve Özbal, 2012).

İzolatlardan elde edilen ve MALDI-TOF MS’de *S. aureus* suşunun ayırt edici pik grafiği Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. *S. aureus* referans suşuna ve S₁Sa₂ izolatına ait spektrum

MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlama çalışmalarına bakıldığında gıda örneklerinden *S. aureus* tanımlamasına ilişkin çok az çalışmaya rastlanmış olup klinik örneklerde tanımlama ve antibiyotiklere direnç mekanizmaları üzerine çok sayıda çalışmanın olduğu görülmüştür.

Staphylococcus aureus’u tanımlamak ve metisiline dirençli *S. aureus*’u (MRSA) metisiline duyarlı *S. aureus*’dan ayırt etmek için MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile yapılan bir çalışmada klinik örneklerden ve çiftlik çalışanlarından izole edilen toplam 100 *S. aureus* suşu MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile analiz edilmiştir. Buna göre 92 suş MALDI-TOF MS tarafından *S. aureus* olarak güvenli cins ve muhtemel türler düzeyinde tanımlanmış ve olası cinslerden ekim, spektral toplama ve veri ön işleme tabi tutulduktan sonra 4 suş daha tanımlanmıştır. 1 tane suş daha düşük skorlu *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. *S. aureus*’un MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlanmasının biyokimyasal ve serolojik yöntemlerle yapılan

tanımlama ile %97'ye kadar yüksek korelasyonda olduğu görülmüştür (Wang vd., 2013).

Başka bir çalışmada, MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlama yapmak için 36 tanesi İtalyan süt ürünlerinden ve dört tanesi de insan örneklerinden olmak üzere 40 *S. aureus* suşu izole edilmiştir. Tüm isolatlar spektral parmak izleri ile açıkça *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. M/z oranı 3444, 5031 ve 6887 pik kütlelerinin, *S. aureus* için spesifik biyobelirteçler olduğu belirlenmiştir. Daha sonra izole edilmiş 40 *S. aureus* suşunun spektral profilleri referans suşlarının spektral kütüphanesi ile karşılaştırılmış ve referans profillerine büyük benzerlik gösterdiğinden tüm spektrumlar açıkça *S. aureus* olarak tanımlanmıştır (Bohme vd., 2012). Bizim çalışmamızda da m/z oranı 6890 olan S₁Sa₂ izolatına ait *S. aureus* spektrumunun (Şekil 4.2) bu çalışmayla uyumlu olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Bolu ili ve bazı ilçelerindeki toplu tüketim işletmelerinde tüketime hazır olarak satışa ya da servise sunulan salatalarda geleneksel yöntemlerle *E. coli* ve *S. aureus* analizi yapılmıştır. Şüpheli tipik koloniler gıda mikrobiyolojisi için yeni bir yöntem olan ve bir kütle spektrometresi olan MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi ile tanımlanmıştır.

Tanımlama sonuçlarına göre çalışılan 100 adet salata örneğinin %18'inde *E. coli*, %5'inde *S. aureus* tespit edilmiştir. *E. coli* tespitinde güvenilirliği kanıtlanan bir kromojenik besiyeri olan Chromocult TBX Agar besiyeri kullanılmış ve bakterilerin bu besiyerinde yaptıkları tipik koloni görünümü ve rengi(mavi-yeşil) nedeni ile ayrıca saflaştırma işlemlerine gerek kalmamıştır. Ancak *S. aureus* için kullanılan BPA Agar besiyerinde birçok *Staphylococcus* türünün geliştiği ve *S. aureus*'la benzer görünümde koloniler üreyebildiği için ek testlere ihtiyaç duyulmuştur. *S. aureus* sayım sonuçları çok sayıda tipik koloninin MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminde tanımlanmasına neden olmuştur.

MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi mikrobiyolojik tanımlama için nispeten yeni bir yöntem olduğundan yanlış tanımlama yapılan ya da tanımlama yapılamayan mikroorganizmaların nedeni genellikle incelenen bakterinin yeterli miktarda olmaması, bakterinin lizise dayanıklı yapıda olması ve bakteriden elde edilen spektrumu kıyaslayabilecek yeterli mikroorganizma suş çeşitliliğinin veri tabanında bulunmamasıdır (Yılmaz, 2014). Bu çalışmada izole edilen 3 izolatta tanımlama yapılamamış ve pik bulunamamıştır. Güven aralıklarına baktığımızda *E. coli* olarak tanımlaması yapılan tüm isolatların yüksek ya da çok yüksek ihtimalli tür tanımlamasına sahip olduğu görülmüştür. Ancak *S. aureus* için daha düşük güven aralığında (1,700-1,999) yüksek ihtimalli cins tanımlaması yapılan 16 izolatin (%38) olması *S. aureus* için MALDI-TOF MS BioTyper Sistemi sonuçlarının tür bazında güvenilirliğini azaltmıştır.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında geleneksel yöntemlere alternatif olarak karşımıza çıkan MALDI-TOF MS BioTyper Sisteminin dakikalar için tanımlama yapabilmesinin özellikle patojen mikroorganizmaların aranmasında, gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmelerde, meyve sebze gibi raf ömrü kısa ürünlerde, ihracat ve

ithalat gibi zamanın önemli olduğu işlemlerde oldukça önemli bir avantaj olduğu düşünölmektedir.

Çalışılan salata örneklerinin Aralık-Ocak-Şubat döneminde toplanmasından dolayı mikrobiyal yük nispeten düşük çıkmıştır. Merkez ve ilçeler karşılaştırıldığında; Merkezdeki 70 adet salata örneğinin %12,8 'sinde *E. coli*, %4,28'inde *S. aureus* tespit edilmişken, İlçelerdeki 30 adet örneğin %30'unda *E. coli*, %6, 66'sında *S. aureus* tespit edilmiştir. İlçelerden toplanan salatalardaki hijyen indikatörü olarak kabul edilen mikroorganizmaların nispeten daha fazla olmasının nedeni; ilçelerdeki işletmelerin eğitimli ve bilinçli çalışan bulmakta yaşadıkları sıkıntılar, hitap ettikleri tüketici sayısının azlığı ve işletmelerin teknik koşullarının yetersizliği olarak düşünölmektedir.

Örneklerde *E. coli* varlığının tespit edilmiş olması; bu ürönlere doğrudan ya da dolaylı yoldan fekal bulaşı olduğunun bir göstergesidir. Ayrıca bazı örneklerde az sayıda da olsa tanımlanan *Klebsiella pneumoniae* gibi fırsatçı patojen bakterilerin de örneklerde bulunabileceği anlamına gelmektedir.

S. aureus'un doğal yaşam ortamı insan ve hayvanların burun, boğaz, deri ve tüyleridir. Tüketime hazır salataların hazırlandığı işletmelerde elle işleminin fazla olması, sıcaklık kontrolünün iyi yapılamaması, kullanılan sebzelerin etkili şekilde yıkanmaması ve kontamine alet ekipmanların kullanılması gibi sorunların olduğu görölmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre gelişmekte olan ölkelerde ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların %80'inden hijyen ve sanitasyon konusundaki yetersizlik sorumludur. Yetkili kurumlar tarafından işletmelerin etkin ve sık denetimi, bilinçli tüketicinin ve eğitimli çalışanların artması, kaliteli ve güvenilir hammaddelerin kullanılması gıdalarda mikrobiyal yükü azaltacak ve gıda kaynaklı hastalıkları önleyecektir.

Ölkemizde 02.11.2011 tarihine kadar gıda sektöründe çalışan kişilerden belirli periyotlarda portör muayenesi yaptırmaları istenirken mevzuat değışikliğiyle bu kontrol kaldırılmış ve 05.07.2013 tarihli Hijyen Eğitim Yönetmeliğı uyarınca gıda işletmelerinde çalışan kişilerin tanımlanan eğitimleri almaları zorunlu hale getirilmiştir. Böylece gıda sektöründe çalışanların genel ve özel hijyen kurallarını öğrenerek gıda güvenliğine uygun olarak çalışmaları sağlanmış olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Anhalt JP ve Fenselau C (1975) "Identification of bacteria using mass spectrometry", *Analytical Chemistry*, 47: 219-225.
- Anonim, *Klebsiella*, <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/yonlendir.aspx?F6E10F8892433CFFAAAF6AA849816B2EFCE63E3F350D54BF9>, 22 Mart 2019.
- Aslan Ö (2017) "Hazır Yemeklerin *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksin İçeriği Açısından Risk Değerlendirmesi", *Gıda ve Yem Bilimi Teknoloji Dergisi/ Journal of Food and Feed Science-Technology* 17: 34-40.
- Ay Yiğit Y (2016) Taze salatalık sebzelerden kaynaklanan bazı mikrobiyel sağlık risklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Aydın.
- Ayçiçek H, Sarimehmetoğlu B ve Çakiroğlu S (2004) "Assessment of the microbiological quality of meals sampled at the meal serving units of a military hospital in Ankara, Turkey", *Food Control*, 15: 379-384.
- Ayhan K (2000) *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Ankara.
- Barbuddhe SB, Maier T, Schwarz G, Kostrzewa M, Hof H, Domann E, Chakraborty T ve Hain T (2008) "Rapid identification and typing of *Listeria* species by matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry", *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 5402-5407.
- Bergdoll MS ve Wong ACL (2006) *Staphylococcal intoxications*, In *Foodborne Infections and Intoxications*, Chapter 14, Third Edition, Elsevier, USA.
- Beuchat LR (1996) "Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce", *Journal of Food Protection*, 59 (2): 204-216.
- Beuchat LR (1998) Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review, WHO/FSF/FOS/98.2.
- Beuchat LR (2002) "Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables", *Microbes and Infection*, 4: 413-423.
- Bhunia AK (2008) *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, Springer Science & Business Media, USA.
- Bohme K, Morandi S, Cremonesi P, No ICF, Barros-Velazquez J, Castiglioni B, Brasca M, Canas B ve Calo-Mata P (2012) "Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from Italian dairy products by MALDI-TOF mass fingerprinting", *Electrophoresis*, 33: 2355-2364.

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Estimates of foodborne illness in the United States, <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>, 22 Mart 2019.
- Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet S, Tangomo M, Girard M, Francois P ve Schrenzel J (2010) "Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level", *Journal of Clinical Microbiology*, 48(4): 1169-1175.
- Clark CG, Kruczkiewicz P, Guan C, McCorrister SJ, Chong P, Wylie J, Caesele PV, Tabor HA, Snarr P, Gilmour MW, Taboada EN, Westmacott GR (2013) "Evaluation of MALDI-TOF mass spectroscopy methods for determination of *Escherichia coli* pathotypes", *Journal of Microbiological Methods*, 94: 180–191.
- Çakıcı N, Demirel Zorba NN ve Akçalı A (2015) "Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilkokkal gıda zehirlenmeleri", *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72 (4): 337-350.
- De Oliveira MA, De Souza VM, Bergamini AMM ve De Martinis ECP (2011) "Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil", *Food Control*, 22 (8): 1400-1403.
- Dubois D, Leyssene D, Chacornac JP, Kostrzewa M, Schmit PO, Talon R, Bonnet R ve Delmas J (2009) "Identification of a variety of *Staphylococcus* species by MALDI-TOF mass spectrometry", *Journal of Clinical Microbiology*.
- Elbehiry A, Marzouk E, Hamada M, Al-Dubaib M, Alyamani ., Moussa IM, AlRowaidhan A ve Hemeg HA (2017) "Application of MALDI-TOF MS fingerprinting as a quick tool for identification and clustering of foodborne pathogens isolated from food products", *New Microbiologica*, 40 (3): 169-178.
- Erkmen O (2010) "Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi", *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53: 220-235.
- EC. (2002) "Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw", *European Commission Report of the Scientific Committee on Food*, 24 Nisan 2002, Belgium.
- Fallik E (2014) "Microbial Quality and Safety of Fresh Produce", In *Postharvest handling*, Chapter 11: 313-339, Academic Press.
- FAO/WHO (2008) "Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: Meeting Report", *Microbiological Risk Assessment Series* 14.
- Gritli A (2015) "Occurrence and characterization of *Escherichia coli* in raw lettuce consumed in a military hospital", *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, JS-INAT(11): 899-907.

- Gülmez M, Sezer Ç, Duman B, Vatansever L, Oral N ve Baz E (2005) “Lokantalarda Tüketime sunulan Bazı Gıdaların ve İçme Sularının Mikrobiyolojik Kaliteleri”, Kafkas Ün. Vet Fak. Der., 11(1): 5-10.
- Halkman AK (2013) Gıda Mikrobiyolojisi II ders notları, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H ve Akhan M (2008) “İstanbul’da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi”, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 38 (2): 87-94.
- Han SK, Hong Y, Kwak HL, Kim ES, Kim MJ, Shrivastav A, Oh MH ve Kim HY (2014) “Identification of Lactic Acid Bacteria in Pork Meat and Pork Meat Products Using SDS-PAGE, 16 S rRNA Gene Sequencing and MALDI-TOF Mass Spectrometry”, Journal of Food Safety, 34(3): 224-232.
- Heiman KE, Mody RK, Johnson SD, Griffin PM ve Gould LH (2015) “*Escherichia coli* O157 Outbreaks in the United States, 2003–2012”, Emerging Infectious Diseases, 21 (8): 1293-1301.
- İnan N (2015) Samsun il merkezinde toplu tüketim yerlerinde servise sunulan sebze salatalarının bazı kalite özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun.
- Khorshed A, Özbal Y (2012) “Kan kültürlerinde izole edilen koagülaz negatif stafilkokların tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması”, Sağlık Bilimleri Dergisi, 21(3): 153-163.
- Loir YL, Baron F ve Gautier M (2003) “*Staphylococcus aureus* and food poisoning”, Genetics and Molecular Research, 2 (1): 63-76.
- Lund BM (1992) “Ecosystems in vegetable foods”, Journal of Applied Bacteriology, 73: 115-126.
- Mankee A, Ali S, Chin AL, Indalsingh R, Khan R, Mohammed F, Rahman R, Sooknanan S, Maharaj RT, Simeon D ve Adesiyun AA (2005) “Microbial quality of ‘doubles’ sold in Trinidad”, Food Microbiology, 22: 601–607.
- Mazzeo MF, Sorrentino A, Gaita M, Cacace G, Di Stasio M, Facchiano A, Comi G, Malorni A ve Siciliano RA (2006) “Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the discrimination of food-borne microorganisms”, Applied and Environmental Microbiology, 72(2): 1180-1189.
- Mercanoğlu Taban B ve Halkman AK (2011) “Do leafy green vegetables and their ready-to-eat [RTE] salads carry a risk of foodborne pathogens?”, Anaerobe, 17: 286-287.

- Olaimat AN ve Holley RA (2012) “Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review”, *Food Microbiology*, 32: 1-19.
- Omerovic M, Müştak HK ve Kaya İB (2017) “*Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri”, *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28 (1):1-6.
- Özenoğlu S, Yıldızhan H, Özel-Demiralp D ve Cansaran Duman D (2016) “Farklı Biyolojik Organizmalarda Proteomik Uygulamalar”, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(4): 405-418.
- Özkan M (2009) Tüketime Sunulan Günlük Hazır Yemekler ve Salataların Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Pamuk Ş, Gürler Z, Yıldırım Y ve Ertaş N (2013) “The Microbiological Quality of Ready to Eat Salads Sold in Afyonkarahisar, Turkey”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19 (6): 1001-1006.
- Rıfaat EA (2014) Halk Sağlığı Açısından İçme ve Kullanma Sularının Koliform ve Fekal Koliform Kontaminasyonunun Klasik ve Mass Spektrometre Yöntemleriyle İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği, İstanbul.
- Saifullah S, Abbas F, Samad A, Rizwan M, Bugti FS, Saima, Roomeela, Yousaf M, Mykhaylo T ve Raziq A (2018) “*Staphylococcus aureus* prevalence in the fresh salad and vegetables of the Quetta city”, *Pure and Applied Biology*, 7(1): 255-262.
- Seng P, Drancourt M, Gouriet F, Scola BL, Fournier PE, Rolain JM ve Raoult D (2009) “Ongoing revolution in bacteriology: Routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry”, *Clinical Infectious Diseases*, 49:543–551.
- Shell WS, Sayed ML, Allah FMG, Gamal FEM, Khedr AA, Samy AA and Ali AHM (2017) “Matrix-assisted laser desorption-ionization-time-of-flight mass spectrometry as a reliable proteomic method for characterization of *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates”, *Veterinary World*, 10(9): 1083-1093.
- Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK ve Viridi JS (2015) “MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis”, *Frontiers in Microbiology*, 6:791.
- Sogawa K, Watanabe M, Sato K, Segawa S, Ishii C, Miyabe A, Murata S, Saito T ve Nomura F (2011) “Use of the MALDI BioTyper system with MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of microorganisms”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(7): 1905.

- Stewart CM, Cole MB and Schaffner DW (2003) “Managing the risk of Staphylococcal food poisoning from cream-filled baked goods to meet a food safety objective”, Journal of Food Protection, 66 (7): 1310-1325.
- Şenses-Ergül Ş, Sarı H, Ertaş S, Berberoğlu U, Cesaretli Y ve Irmak H (2015) “Tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi”, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 72(3): 199-208.
- Tsang D (2002) “Microbiological Guidelines for Ready to eat Food”, Road and Environmental Hygiene Department, Hong Kong.
- Tunail N (2009) Mikrobiyoloji, Palme Yayıncılık, 1. Baskı, Ankara.
- Uçak G (2014) İstanbul’da Tüketime Sunulan Hazır Sebze Salatalarının Mikrobiyal Güvenliğin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Ünal MM, Özmen Toğay S (2017) “İstanbul’daki hastane mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi”, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 74(4): 307-320.
- Van Veen SQ, Claas ECJ ve Kuijper EJ (2010) “High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories, Journal of Clinical Microbiology”, 48(3): 900-907.
- Wang YR, Chen Q, Cui SH ve Li FQ (2013) “Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Specimens by Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry”, Biomedical and Environmental Sciences, 26 (6): 430-436.
- Warriner K, Huber A, Namvar A, Fan W ve Dunfield K (2009) “Recent Advances in the Microbial Safety of Fresh Fruits and Vegetables” Advances in Food and Nutrition Research, 57: 155-208.
- WHO (2006) Wastewater use in Agriculture, In Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Grey Water, Volume 2.
- Yıldırım T, Sırıken B ve Yavuz C (2016) “Çiğ Süt ve Peynirlerde Koagülaz Pozitif Stafilocoklar”, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 87(2): 3-12.
- Yılmaz S, Duyan S, Artuk C ve Diktaş H (2014) “Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları”, TAF Preventive Medicine Bulletin, 13(5): 421-426.
- Yücel PK ve Halkman HBD (2009) “Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzelerin Işınlama ile Kalitesinin Arttırılması”, X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, 6-9 Ekim 2009, Muğla.

EKLER

7. EKLER

EK A

Çizelge A.1. MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

AnalyteName	AnalyteID	Organism(best match)	ScoreValue	Organism(second best match)	ScoreValue
D7(+) (B)	04.12.18_7_BPA	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.935	not reliable identification	1.691
D8(+) (B)	04.12.18_7_BPA	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.936	not reliable identification	1.631
D9(+) (B)	04.12.18_4_BPA	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.788	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.756
D10(+) (B)	04.12.18_4_BPA	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.971	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.834
D11(++)(A)	04.12.18_1_BPA	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.104	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.813
D12(++)(A)	04.12.18_1_BPA	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.212	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.905
D13(+++)(A)	04.12.18_2_BPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.409	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.367
D14(++)(A)	04.12.18_2_BPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.228	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.221
F9(+++)(A)	12.12.18_1_TBX	<i>Escherichia coli</i>	2.397	<i>Escherichia coli</i>	2.365
F10(+++)(A)	12.12.18_1_TBX	<i>Escherichia coli</i>	2.463	<i>Escherichia coli</i>	2.374
K1(++)(C)	21.12.18_1_0.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.225	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.992
K2(++)(A)	21.12.18_1_0.5	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.213	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.927
K3(++)(A)	21.12.18_2_0.5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.267	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.169
K4(++)(A)	21.12.18_2_0.5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.28	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.24
K5(+)(B)	21.12.18_3_0.5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.927	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.81
K6(+)(B)	21.12.18_3_0.5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.952	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.882
K7(+)(B)	11.01.19_5_0.5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.944	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.81

Çizelge A.1. (Devamı) MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

K8 (-)(C)	11.01.19_1_TBX	not reliable identification	1.541	not reliable identification	1.517
K9 (++)(A)	11.01.19_7_0.5	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2.024	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1.798
K10 (++)(A)	11.01.19_7_0.5	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2.048	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1.854
K11 (++)(A)	11.01.19_9_0.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.109	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.02
K12 (++)(A)	11.01.19_9_0.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.14	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.909
K13 (++)(A)	13.01.19_1_BPA	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.008	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.852
K14 (++)(A)	13.01.19_1_BPA	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.049	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.994
K15 (++)(A)	13.01.19_3_BPA	<i>Staphylococcus warneri</i>	2.135	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.945
K16 (++)(A)	13.01.19_3_BPA	<i>Staphylococcus warneri</i>	2.161	<i>Staphylococcus warneri</i>	2.075
K17 (++)(A)	13.01.19_8_BPA	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.173	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.743
K18 (++)(A)	13.01.19_8_BPA	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.168	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.931
K19 (+)(B)	13.01.19_9_0.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.87	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.767
K20 (+)(B)	13.01.19_9_0.5	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.754	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.721
K21 (++)(B)	16.01.19_1_TBX	<i>Enterobacter kobei</i>	2.267	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.232
K22 (+++)(B)	16.01.19_1_TBX	<i>Enterobacter asburiae</i>	2.37	<i>Enterobacter asburiae</i>	2.299
K23 (+++)(A)	16.01.19_5_TBX	<i>Escherichia coli</i>	2.369	<i>Escherichia coli</i>	2.341
K24 (+++)(A)	16.01.19_5_TBX	<i>Escherichia coli</i>	2.367	<i>Escherichia coli</i>	2.265
L1 (+++)(A)	16.01.19_6_TBX	<i>Escherichia coli</i>	2.446	<i>Escherichia coli</i>	2.273
L2 (+)(B)	16.01.19_6_TBX	<i>Enterobacter cloacae</i>	1.874	not reliable identification	1.646
L5 (-)(C)	16.01.19_2_BPA_0.1	not reliable identification	1.658	not reliable identification	1.641
L6 (++)(A)	16.01.19_2_BPA_0.5	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.293	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.923

Çizelge A.1. (Devamı) MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

<u>L7</u> (+++)(B)	16.01.19_2_TBX	<i>Enterobacter kobei</i>	<u>2.337</u>	<i>Enterobacter asburiae</i>	<u>2.133</u>
<u>L8</u> (+)(B)	16.01.19_2_TBX	<i>Enterobacter kobei</i>	<u>1.852</u>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<u>1.85</u>
<u>L9</u> (++)(A)	16.01.19_3_TBX	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.164</u>	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.014</u>
<u>L10</u> (++)(A)	16.01.19_3_TBX	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.203</u>	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.096</u>
<u>L11</u> (+++)(A)	16.01.19_8_TBX	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.401</u>	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.397</u>
<u>L12</u> (+++)(A)	16.01.19_8_TBX	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.346</u>	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.339</u>
<u>L13</u> (+)(B)	16.01.19_1_BPA_0.1	<i>Candida lusitanae</i>	<u>1.919</u>	<i>Candida lusitanae</i>	<u>1.869</u>
<u>L14</u> (-)(C)	16.01.19_1_BPA_0.5	not reliable identification	<u>1.23</u>	not reliable identification	<u>1.168</u>
<u>L15</u> (++)(A)	16.01.19_6_BPA_0.5	<i>Shewanella putrefaciens</i>	<u>2.07</u>	not reliable identification	<u>1.657</u>
<u>L16</u> (++)(A)	16.01.19_6_BPA_0.5	<i>Shewanella putrefaciens</i>	<u>2.072</u>	not reliable identification	<u>1.543</u>
<u>H1</u> (+)(B)	20.01.19_1_BPA_0.5	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.7</u>	not reliable identification	<u>1.69</u>
<u>H2</u> (-)(C)	20.01.19_1_BPA_0.5	not reliable identification	<u>1.656</u>	not reliable identification	<u>1.52</u>
<u>H5</u> (++)(A)	20.01.19_2_BPA_0.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<u>2.091</u>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<u>1.951</u>
<u>H6</u> (-)(C)	20.01.19_2_BPA_0.5	not reliable identification	<u>1.53</u>	not reliable identification	<u>1.524</u>
<u>H7</u> (+)(B)	20.01.19_3_BPA_0.5	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.826</u>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.78</u>
<u>H8</u> (+)(B)	20.01.19_3_BPA_0.5	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.809</u>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.769</u>
<u>H9</u> (+)(B)	20.01.19_5_BPA_0.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>1.945</u>	not reliable identification	<u>1.609</u>
<u>H10</u> (++)(A)	20.01.19_5_BPA_0.5	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>2.084</u>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.784</u>
<u>H11</u> (-)(C)	24.01.19_1_TBX	no peaks found	<u>≤ 0</u>	no peaks found	<u>≤ 0</u>
<u>H12</u> (-)(C)	24.01.19_1_TBX	no peaks found	<u>≤ 0</u>	no peaks found	<u>≤ 0</u>
<u>H13</u> (+++)(A)	24.01.19_3_TBX	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.309</u>	<i>Escherichia coli</i>	<u>2.304</u>

Çizelge A.1. (Devamı) MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

H14 (++) (A)	24.01.19_3_TBX	Escherichia coli	2.262	Escherichia coli	2.258
H15 (+) (B)	24.01.19_3_BPA_0.1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.729	not reliable identification	1.648
H16 (+) (B)	24.01.19_3_BPA_0.1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.733	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.724
H17 (+) (B)	24.01.19_3_BPA_0.5	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.83	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.793
H18 (+) (B)	24.01.19_3_BPA_0.5	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.701	not reliable identification	1.483
H19 (+) (B)	24.01.19_4_BPA_0.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.98	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.797
H20 (+) (B)	24.01.19_4_BPA_0.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.989	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.948
I1 (++) (A)	24.01.19_5_BPA_0.5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.204	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.198
I2 (-) (C)	24.01.19_5_BPA_0.5	not reliable identification	1.42	not reliable identification	1.407
I3 (+) (B)	24.01.19_6_BPA_0.5	Corynebacterium falsenii	1.903	not reliable identification	1.529
I4 (++) (A)	24.01.19_6_BPA_0.5	Corynebacterium falsenii	2.091	not reliable identification	1.696
I5 (+++)(A)	30.01.19_1_TBX	Escherichia coli	2.345	Escherichia coli	2.333
I6 (++) (A)	30.01.19_1_TBX	Escherichia coli	2.178	Escherichia coli	2.017
I7 (++) (A)	30.01.19_2_TBX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.299	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.234
I8 (++) (A)	30.01.19_2_TBX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.212	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.081
I9 (+++)(A)	30.01.19_5_TBX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.312	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.282
I10 (+++)(A)	30.01.19_5_TBX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.373	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.221
I11 (+++)(B)	30.01.19_8_TBX	Escherichia coli	2.413	Escherichia coli	2.233
I12 (+++)(A)	30.01.19_8_TBX	Escherichia coli	2.374	Escherichia coli	2.18
I13 (++) (A)	30.01.19_6_TBX	Escherichia coli	2.247	Escherichia coli	2.242
I14 (++) (A)	30.01.19_6_TBX	Escherichia coli	2.241	Escherichia coli	2.194

Çizelge A.1. (Devamı) MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

<u>I15</u> (+++)(A)	30.01.19_7_TBX	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.351</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.286</u>
<u>I16</u> (+++)(B)	30.01.19_7_TBX	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.32</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.285</u>
<u>M1</u> (+)(B)	30.01.19_BPA_3	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>1.841</u>	not reliable identification	<u>1.635</u>
<u>M2</u> (+)(B)	30.01.19_BPA_3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<u>1.838</u>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<u>1.788</u>
<u>M3</u> (+)(B)	30.01.19_BPA_4	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.999</u>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.753</u>
<u>M4</u> (++)(A)	30.01.19_BPA_4_0.5	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>2.062</u>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.956</u>
<u>M5</u> (+)(B)	30.01.19_BPA_5	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.843</u>	not reliable identification	<u>1.697</u>
<u>M6</u> (+)(B)	30.01.19_BPA_5	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.96</u>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<u>1.931</u>
<u>M7</u> (++)(A)	30.01.19_BPA_6	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>2.005</u>	not reliable identification	<u>1.539</u>
<u>M8</u> (+)(B)	30.01.19_BPA_6	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>1.91</u>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>1.755</u>
<u>M9</u> (-)(C)	07.02.19_BPA_1	not reliable identification	<u>1.529</u>	not reliable identification	<u>1.514</u>
<u>M10</u> (+)(B)	07.02.19_BPA_1_0.5	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.86</u>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.8</u>
<u>M11</u> (++)(A)	07.02.19_TBX_4	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.014</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>1.985</u>
<u>M12</u> (++)(A)	07.02.19_TBX_4	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.283</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.238</u>
<u>M13</u> (++)(C)	07.02.19_TBX_5	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.147</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>2.066</u>
<u>M14</u> (++)(A)	07.02.19_TBX_5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<u>2.246</u>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<u>2.205</u>
<u>M15</u> (-)(C)	13.02.19_BPA_2	not reliable identification	<u>1.255</u>	not reliable identification	<u>1.236</u>
<u>M16</u> (-)(C)	13.02.19_BPA_2	not reliable identification	<u>1.506</u>	not reliable identification	<u>1.305</u>
<u>M17</u> (++)(A)	13.02.19_BPA_3	<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>2.087</u>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>2.078</u>
<u>M18</u> (+)(B)	13.02.19_BPA_3	<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>1.933</u>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>1.912</u>
<u>M19</u> (++)(A)	13.02.19_BPA_4	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>2.043</u>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<u>1.778</u>

Çizelge A.1. (Devamı) MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

M20 (+)(B)	13.02.19_BPA_4	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.713	not reliable identification	1.434
M21 (+)(B)	13.02.19_BPA_6	<i>Candida parapsilosis</i>	1.909	<i>Candida parapsilosis</i>	1.874
M22 (+)(B)	13.02.19_BPA_6_0.5	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.842	not reliable identification	1.543
M23 (++)(A)	13.02.19_BPA_9	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.217	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.193
M24 (++)(A)	13.02.19_BPA_9	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.161	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.131
N1 (+)(B)	13.02.19_BPA_12	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.966	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.952
N2 (++)(A)	13.02.19_BPA_12	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2.013	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.941
N3 (+++)(B)	13.02.19_TBX_9	<i>Escherichia coli</i>	2.402	<i>Escherichia coli</i>	2.31
N4 (+++)(A)	13.02.19_TBX_9	<i>Escherichia coli</i>	2.36	<i>Escherichia coli</i>	2.347
N5 (+++)(A)	20.02.19_TBX_1	<i>Escherichia coli</i>	2.31	<i>Escherichia coli</i>	2.298
N6 (+++)(A)	20.02.19_TBX_1	<i>Escherichia coli</i>	2.378	<i>Escherichia coli</i>	2.378
N7 (+++)(A)	20.02.19_TBX_6	<i>Escherichia coli</i>	2.376	<i>Escherichia coli</i>	2.318
N8 (+++)(A)	20.02.19_TBX_6	<i>Escherichia coli</i>	2.333	<i>Escherichia coli</i>	2.305
N9 (+++)(B)	20.02.19_TBX_8	<i>Escherichia coli</i>	2.334	<i>Escherichia coli</i>	2.324
N10 (+++)(A)	20.02.19_TBX_8	<i>Escherichia coli</i>	2.474	<i>Escherichia coli</i>	2.378
N11 (++)(A)	20.02.19_BPA_9	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.204	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.184
N12 (++)(A)	20.02.19_BPA_9	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.282	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.26
N13 (-)(C)	28.02.19_BPA_1	not reliable identification	1.515	not reliable identification	1.49
N14 (+)(B)	28.02.19_BPA_1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.892	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.816
N15 (+++)(A)	28.02.19_BPA_2	<i>Corynebacterium callunae</i>	2.313	not reliable identification	1.402
N16 (++)(A)	28.02.19_BPA_2	<i>Corynebacterium callunae</i>	2.242	not reliable identification	1.471

Çizelge A.1. (Devamı) MALDI-TOF MS Tanımlama Sonuçları (Bruker)

N17 (++) (A)	28.02.19_BPA_6	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2.034	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.732
N18 (+) (B)	28.02.19_BPA_6	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1.913	not reliable identification	1.611
N19 (+++)(B)	28.02.19_BPA_7	<i>Aeromonas caviae</i>	2.306	<i>Aeromonas caviae</i>	2.291
N20 (+++)(B)	28.02.19_BPA_7	<i>Aeromonas caviae</i>	2.356	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.279
N21 (-)(C)	28.02.19_BPA_8	not reliable identification	1.387	not reliable identification	1.293
N22 (+)(B)	28.02.19_BPA_8	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1.717	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1.708
N23 (+++)(A)	28.02.19_TBX_5	<i>Escherichia coli</i>	2.415	<i>Escherichia coli</i>	2.289
N24 (+++)(A)	28.02.19_TBX_5	<i>Escherichia coli</i>	2.359	<i>Escherichia coli</i>	2.358
O1 (+++)(A)	28.02.19_TBX_9	<i>Escherichia coli</i>	2.41	<i>Escherichia coli</i>	2.303
O2 (+++)(A)	28.02.19_TBX_9	<i>Escherichia coli</i>	2.371	<i>Escherichia coli</i>	2.304

Çizelge A.2. Tüm örneklerden izole edilen mikroorganizmaların tanımlama ve sayım sonuçları

Örnek Sayısı	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Tanımlama Sonucu	Sayım Sonucu (log kob/g)	Tanımlama Sonucu	Sayım Sonucu (log kob/g)
1. örnek (04.12.2018)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	1,3
2. örnek (04.12.2018)	-	-	<i>S. aureus</i>	1
3. örnek (04.12.2018)	-	-	-	-
4. örnek (04.12.2018)	-	-	<i>S. epidermidis</i>	1,69
5. örnek (04.12.2018)	-	-	-	-
6. örnek (04.12.2018)	-	-	-	-
7. örnek (04.12.2018)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	2,61
8. örnek (12.12.2018)	<i>E. coli</i>	0,69	-	-
9. örnek (12.12.2018)	-	-	-	-
10. örnek (21.12.2018)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	1,81
11. örnek (21.12.2018)	-	-	<i>S. epidermidis</i>	1,93
12. örnek (21.12.2018)	-	-	<i>S. epidermidis</i>	1,77
13. örnek (26.12.2018)	-	-	-	-
14. örnek (26.12.2018)	-	-	-	-
15. örnek (26.12.2018)	-	-	-	-
16. örnek (11.01.2019)	-	-	-	-
17. örnek (11.01.2019)	-	-	-	-
18. örnek (11.01.2019)	-	-	-	-
19. örnek (11.01.2019)	-	-	-	-
20. örnek (11.01.2019)	-	-	<i>S. epidermidis</i>	1
21. örnek (11.01.2019)	-	-	-	-
22. örnek (11.01.2019)	-	-	<i>S. haemolyticus</i>	1,77
23. örnek (11.01.2019)	-	-	-	-
24. örnek (11.01.2019)	-	-	<i>S. aureus</i>	2
25. örnek (13.01.2019)	Tanımlanamadı	0,69	<i>S. epidermidis</i>	1
26. örnek (13.01.2019)	-	-	-	-
27. örnek (13.01.2019)	-	-	<i>S. warneri</i>	1,47
28. örnek (13.01.2019)	-	-	-	-
29. örnek (13.01.2019)	-	-	-	-
30. örnek (13.01.2019)	-	-	-	-
31. örnek (13.01.2019)	-	-	-	-
32. örnek (13.01.2019)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	1,47
33. örnek (13.01.2019)	-	-	<i>S. warneri</i>	2,6

Çizelge A.2. (Devamı) Tüm örneklerden izole edilen mikroorganizmaların tanımlama ve sayım sonuçları

34. örnek (13.01.2019)	-	-	-	-
35. örnek (16.01.2019)	<i>Enterobacter asburiae</i>	1,47	<i>Candida lusitaniae</i>	2,67
36. örnek (16.01.2019)	<i>Enterobacter kobei</i>	1,3	<i>S. pasteurii</i>	2,2
37. örnek (16.01.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	-	-
38. örnek (16.01.2019)	-	-	-	-
39. örnek (16.01.2019)	<i>E. coli</i>	1	-	-
40. örnek (16.01.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	<i>Shewanella putrefaciens</i>	3,34
41. örnek (16.01.2019)	-	-	-	-
42. örnek (16.01.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	-	-
43. örnek (20.01.2019)	-	-	<i>S. saprophyticus</i>	1
44. örnek (20.01.2019)	-	-	<i>S. epidermidis</i>	1,9
45. örnek (20.01.2019)	-	-	<i>S. saprophyticus</i>	2,74
46. örnek (20.01.2019)	-	-	-	-
47. örnek (20.01.2019)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	2,04
48. örnek (24.01.2019)	Tanımlanamadı	0,69	-	-
49. örnek (24.01.2019)	-	-	-	-
50. örnek (24.01.2019)	<i>E. coli</i>	0,69	<i>S. saprophyticus</i>	3,19
51. örnek (24.01.2019)	-	-	<i>S. warneri</i>	1
52. örnek (24.01.2019)	-	-	<i>S. epidermidis</i>	2,89
53. örnek (24.01.2019)	-	-	<i>Corynebacterium falsenii</i>	2,14
54. örnek (30.01.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	-	-
55. örnek (30.01.2019)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,19	-	-
56. örnek (30.01.2019)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	2,07
57. örnek (30.01.2019)	-	-	<i>S. warneri</i>	2,86
58. örnek (30.01.2019)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,59	<i>S. warneri</i>	2,5
59. örnek (30.01.2019)	<i>E. coli</i>	0,69	<i>S. pasteurii</i>	1,69
60. örnek (30.01.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	-	-
61. örnek (30.01.2019)	<i>E. coli</i>	1,6	-	-
62. örnek (07.02.2019)	-	-	<i>S. saprophyticus</i>	2,11
63. örnek (07.02.2019)	-	-	-	-
64. örnek (07.02.2019)	-	-	-	-
65. örnek (07.02.2019)	<i>E. coli</i>	0,69	-	-
66. örnek (07.02.2019)	<i>E. coli</i>	3,25	-	-
67. örnek (07.02.2019)	-	-	-	-
68. örnek (13.02.2019)	-	-	-	-

Çizelge A.2. (Devamı) Tüm örneklerden izole edilen mikroorganizmaların tanımlama ve sayım sonuçları

69. örnek (13.02.2019)	-	-	Tanımlanamadı	1,3
70. örnek (13.02.2019)	-	-	<i>S. aureus</i>	1,95
71. örnek (13.02.2019)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	2,17
72. örnek (13.02.2019)	-	-	-	-
73. örnek (13.02.2019)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	2,07
74. örnek (13.02.2019)	-	-	-	-
75. örnek (13.02.2019)	-	-	-	-
76. örnek (13.02.2019)	<i>E. coli</i>	3,04	<i>S. aureus</i>	1,9
77. örnek (13.02.2019)	-	-	-	-
78. örnek (13.02.2019)	-	-	-	-
79. örnek (13.02.2019)	-	-	<i>S. saprophyticus</i>	1,6
80. örnek (15.02.2019)	-	-	-	-
81. örnek (15.02.2019)	-	-	-	-
82. örnek (15.02.2019)	-	-	-	-
83. örnek (20.02.2019)	<i>E. coli</i>	1,92	-	-
84. örnek (20.02.2019)	-	-	-	-
85. örnek (20.02.2019)	-	-	-	-
86. örnek (20.02.2019)	-	-	-	-
87. örnek (20.02.2019)	-	-	-	-
88. örnek (20.02.2019)	<i>E. coli</i>	0,69	-	-
89. örnek (20.02.2019)	-	-	-	-
90. örnek (20.02.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	-	-
91. örnek (20.02.2019)	-	-	<i>S. aureus</i>	1,69
92. örnek (28.02.2019)	-	-	<i>S. warneri</i>	1,6
93. örnek (28.02.2019)	-	-	<i>Corynebacterium callunae</i>	3,13
94. örnek (28.02.2019)	-	-	-	-
95. örnek (28.02.2019)	-	-	-	-
96. örnek (28.02.2019)	<i>E. coli</i>	2,14	-	-
97. örnek (28.02.2019)	-	-	<i>S. pasteurii</i>	1,3
98. örnek (28.02.2019)	-	-	<i>Aeromonas caviae</i>	2,93
99. örnek (28.02.2019)	-	-	<i>S. xylosum</i>	2,38
100. örnek (28.02.2019)	<i>E. coli</i>	1,17	-	-

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek KARTAL

Doğum Yeri ve Tarihi : Seben/ 16.05.1987

Lisans Üniversite : Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği

Elektronik posta : dilek.kartal@tarimorman.gov.tr

İletişim Adresi : Bolu İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

Yayın Listesi : -

Ödüller : -