

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

AÇIKTA SATILAN KURU İNCİRLERİN MİKROBİYAL
FLORASININ ARAŞTIRILMASI

EZGİ ÜNLÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serdal ÖĞÜT

AYDIN 2023

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ezgi ÜNLÜ tarafından hazırlanan “Açıkta Satılan Kuru İncirlerin Mikrobiyal Florasının Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/06/2023

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Serdal ÖĞÜT	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Doç. Dr. Mümin POLAT	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK
Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaőan, kendisine ne zaman danıősam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaőadıęımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen kıymetli danışman hocam Prf. Dr. Serdal ÖĞÜT'e ve yine çalıőmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak sabırla yol gösteren Prf. Dr. Bülent BOZDOĞAN'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecinde ve hayatımın her noktasında benden desteklerini esirgemeyip her daim yanımda olan, beni bugnlerime getiren aileme sonsuz teőekkürlerimi borç bilirim.

Ezgi ÜNLÜ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLOLAR DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kuru İncir ve Fiziksel Özellikleri.....	2
2.2. Kuru İncir Besin Değeri	2
2.3. Kuru İncir Üretimi	3
2.4. Kuru İncir İhracatı	5
2.5. Besin Kaynaklı Hastalıklar	6
2.5.1. Besin kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi.....	7
2.5.2. Besin Kaynaklı Hastalıklara Neden Olan Mikroorganizmalar.....	8
2.5.2.1. <i>Staphylococcus Aureus</i>	9
2.5.2.2. <i>Bacillus Cereus</i>	11
2.5.2.3. <i>Clostridium Perfringens</i>	12
2.5.2.4. <i>Clostridium Botulinum</i>	13
2.5.2.5. <i>Listeria Monocytogenes</i>	14
2.5.2.6. <i>Escherichia Coli</i>	18

2.5.2.7. <i>Vibrio Cholera</i>	21
2.5.2.8. <i>Shigella</i>	22
2.5.2.9. <i>Salmonella</i>	23
2.5.2.10. <i>Yersinia Enterocolitica</i>	25
2.5.2.11. <i>Brucella</i>	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereç.....	29
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Çalışmanın Hazırlanması.....	30
3.2.2. Dizileme	32
3.2.3. Biyoinformatik Analiz.....	33
4. BULGULAR	34
4.1. Taksonomik Dağılım	36
4.1.1. Şube	36
4.1.2. Sınıf	37
4.1.3. Takım.....	37
4.1.4. Aile	38
4.1.5. Cins.....	39
4.2. Temel Bileşen Analizi (PCA).....	39
4.3. Hiyerarşik Kümeleme.....	40
4.4. Rarefaksiyon Eğrisi	41
4.5. Çeşitlilik	42
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR.....	47
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	55

ÖZ GEÇMİŞ.....	56
----------------	----

KISALTMALAR DİZİNİ

CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
CFSPH	: Gıda Güvenliği ve Halk Sağlığı Merkezi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EHEC	: Enterohemorajik Escherichia Coli
EIEC	: Enteroinvaziv Escherichia Coli
EPEC	: Enteropatojenik Escherichia Coli
ETEC	: Enterotoksijenik Escherichia Coli
FAO/WHO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
GOLD	: Genom Çevrimiçi Veritabanı
HC	: Hemorajik Kolit
HUS	: Hemorajik Üremik Sendrom
MID	: Minimum Enfektif Doz
NARMS	: Ulusal Antimikrobiyal Direnç İzleme Merkezi
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SAR	: Serum Aglütinasyon Testi
TE	: Tris- EDTA
TTP	: Trombotik Trombositopenik Purpura
VT	: Verotoksin
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 16S rRNA Gen Bölgesi ve Değişken (Variable) Bölgeleri	30
Şekil 2. Örnek başına elde edilen ve cins seviyesinde tanımlanan ve tanımlanamayan okuma sayıları	32
Şekil 3. Tüm numunelerde en yüksek oranda görülen 20 cins.....	35
Şekil 4. En yüksek oranda görülen şubelerin dağılımları.....	36
Şekil 5. En yüksek oranda görülen sınıfların dağılımları	37
Şekil 6. En yüksek oranda görülen takımların dağılımları.....	38
Şekil 7. En yüksek oranda görülen ailelerin dağılımları	38
Şekil 8. En yüksek oranda görülen cinslerin dağılımları.....	39
Şekil 9. Örneklerin PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki dağılımları.....	40
Şekil 10. Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme sonrası dağılımları	41
Şekil 11. Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme sonrası dağılımları	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Taze ve kuru incirin besin öğeleri (100 g başına).....	3
Tablo 2. Çalışmanın materyallerinin toplama zaman ve alanları.....	29
Tablo 3. Her bir örneğe ait okumaların farklı taksonomik basamaklardaki birimlere dair tanımlanması	34
Tablo 4. Her bir cinsin, minimum, maksimum, ortanca ve birinci-üçüncü çeyrek değerleri	35
Tablo 5. Seyreklik verileri.....	41
Tablo 6. Türlerin Shannon, Simpson ve Inverse Simpson endeksleri ve tespit edilen türlerin sayısı.....	43

ÖZET

AÇIKTA SATILAN KURU İNCİRLERİN MİKROBİYAL FLORASININ ARAŞTIRILMASI

Ünlü E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Çalışmanın amacı Aydın ilinden açıkta satılan kuru incir örneklerinde çapraz kontaminasyon sebebiyle bulunabilecek patojen varlığının araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Araştırma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Besin Kimyası Laboratuvarı ve Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Rekombinant DNA ve Rekombinant Protein Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür. Deney için kullanılacak kuru incirler Aydın'da 4 farklı pazardan 1 Aralık 2021 ile 6 Nisan 2022 tarihleri arasında 10 örnek olarak toplanmıştır. Çalışmada incir örneklerinden kontaminant DNA izolasyonu, saflaştırılan DNA'nın kontrolü ve pcr ile ribozomal rna geninin çoğaltılması adımları izlenmiştir.

Bulgular: Metagenomik analizi sonucunda, tüm örneklerde toplamda 61 şube, 134 sınıf, 315 takım, 500 aile ve 1508 cins belirlenmiştir. . Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme sonrası dağılımları değerlendirildiğinde makul sayıda birey örneklendiği görülmüştür. Toksonomik dağılımlar değerlendirildiğinde en yüksek, şubelerin dağılımlarında *Proteobacteria* (%64.6±17.6), sınıfların dağılımlarında *Gammaproteobacteria* (%46.4 ± 17.5), takımların dağılımlarında Burkholderiales (%20.3 ± 19.2), ailelerin dağılımlarında Burkholderiaceae (%9.1 ± 8.6) ve cinslerin dağılımlarında *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* (%4.6 ± 4.3) olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Tüm numunelerde yapılan analizler sonucunda en yüksek oranda görülen *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, *Serratia*, *Escherichia-Shigella*, *Pseudomonas*, *uncultured*, *Streptococcus*, *Alcaligenes*, *Candidatus Symbiobacter*, *Franconibacter*, *Enterobacter*, *Lachnospiraceae UCG-008*, *Thioalkalispira-Sulfurivermis*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Massilia*, *Corynebacterium*, *Enterobacillus*, *Bacillus* ve *Klebsiella* olmak üzere 20 cins belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beslenme, Kontaminasyon, Kuru incir.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MICROBIAL FLORA OF DRIED FIGS UNPACKED SPICES SOLD

Ünlü E. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Nutrition and Dietetics Program, Master Thesis, Aydın, 2023.

Objective: The aim of the study is to investigate the presence of pathogens due to cross-contamination in dried fig samples sold in open air from Aydın province.

Material and Method: The research was carried out at Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Health Sciences, Food Chemistry Laboratory and Aydın Adnan Menderes University, Recombinant DNA and Recombinant Protein Application and Research Center. Dried figs to be used xort he experiment were collected as 10 samples from 4 different markets in Aydın between 1 December 2021 and 06.04.2022. In the study, the steps of isolation of contaminant DNA from fig samples, control of purified DNA and amplification of ribosomal RNA gene with PCR were followed.

Results: As a result of metagenomic analysis, a total of 61 branches, 134 classes, 315 orders, 500 families and 1508 genera were determined in all samples. . When the distributions of the samples after Hierarchical Clustering were evaluated, it was seen that a reasonable number of individuals were sampled. When the toxonomic distributions are evaluated, the highest *Proteobacteria* (64.6±17.6%) in the distributions of the branches, *Gammaproteobacteria* in the distributions of the classes (46.4 ± 17.5%), *Burkholderiales* (20.3 ± 19.2%) in the distributions of the orders, *Burkholderiaceae* in the distributions of the families (9.1 ± 8.6%) and *Burkholderia- Caballeronia-Paraburkholderia* (4.6% ± 4.3%).

Conclusion: *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, *Serratia*, *Escherichia-Shigella*, *Pseudomonas*, *uncultured*, *Streptococcus*, *Alcaligenes*, *Candidatus Symbiobacter*, *Franconibacter*, *Enterobacter*, *Lachnospiraceae* *UCG-Shigella-* , *Aeromonas*, *Massilia*, *Corynebacterium*, *Enterobacillus*, *Bacillus* and *Klebsiella* were determined 20 genera.

Keywords: Contamination, Dried figs, Nutrition.

1. GİRİŞ

Ficus caria L yani bilinen adıyla incir, ılıman ve subtropik iklimlerin egemen olduğu yerlerin sıcak bölgelerinde bulunan ve besin değerleri olarak oldukça yüksek bir meyve türü olarak karşımıza çıkmaktadır. Üretimi Türkiye'nin de dahil olduğu Akdeniz çevresindeki ülkelerde yapılmaktadır. Öte yandan Türkiye'de, Doğu Karadeniz Bölgesi'ni de içine almak suretiyle Ege, Marmara, Akdeniz, bölgelerinin kıyı kesimlerinde ve ek olarak nehir vadilerinde bulunmaktadır.

Kuru incir, yüksek enerji içeriğinin dışında, mineral, vitamin ve kolay sindirimiyle insan sağlığı ve beslenmesi konusunda oldukça önem taşımaktadır. Kuru incirin, bünyesinde barındırdığı kalsiyum, bakır, magnezyum, potasyum ve kükürt değerleri açısından diğer meyvelere oranla daha zengin değerler taşıdığı bilinmektedir. Bünyesinde 10t he ve glikoz bulunduran kuru incir, beraberinde içerdiği protein miktarıyla da diğer pek çok kuru meyvenin önüne geçmiş vaziyettedir. Çözünür özellikteki lif, kan şekerinin denetim altına alınmasında ve kandaki kolesterol düzeyinin düşürülmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Öte yandan, meydana getirilen çalışmalar obezite tanısı olan kişilerde kilo vermeyi destekleyebileceğine değinmektedir.

İncir, eski zamanlardan beri geleneksel olarak çeşitli kültürler tarafından tıbbi amaçlı olarak kullanılmaktadır. İncir meyvesi (*Ficus carica L.*) önemli polifenoller, flavonoidler ve bazı vitaminleri içermesi ve yüksek antioksidan kapasitesine sahip olması ile diğer meyveler arasında ön plana çıkmaktadır. İncir meyvesi; kurutulmuş, taze, reçel, konserve veya meyve suyu (pekmez) olarak tüketilmektedir. Bu çalışma ile birlikte, Aydın ilinde açıkta satılan kuru incir örneklerinde çapraz kontaminasyon sebebiyle bulunabilecek patojen varlığı incelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kuru İncir ve Fiziksel Özellikleri

Ficus caria L yani bilinen adıyla incir, ılıman ve subtropik iklimlerin egemen olduğu yerlerin sıcak bölgelerinde bulunan ve besin değerleri olarak oldukça yüksek bir meyve türü olarak karşımıza çıkmaktadır. Üretimi Türkiye'nin de dahil olduğu Akdeniz çevresindeki ülkelerde yapılmaktadır. Öte yandan Türkiye'de, Doğu Karadeniz Bölgesi'ni de içine almak suretiyle Ege, Marmara, Akdeniz, bölgelerinin kıyı kesimlerinde ve ek olarak nehir vadilerinde bulunmaktadır.

Kuru incir, yüksek enerji içeriğinin dışında, mineral, vitamin ve kolay sindirimiyle insan sağlığı ve beslenmesi konusunda oldukça önem taşımaktadır. Kuru incirin, bünyesinde barındırdığı kalsiyum, bakır, magnezyum, potasyum ve kükürt değerleri açısından diğer meyvelere oranla daha zengin değerler taşıdığı bilinmektedir. Bünyesinde 200 mg ve glikoz bulunduran kuru incir, beraberinde içerdiği protein miktarıyla da diğer pek çok kuru meyvenin önüne geçmiş vaziyettedir. Çözünür özellikteki lif, kan şekerinin denetim altına alınmasında ve kandaki kolesterol düzeyinin düşürülmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Öte yandan, meydana getirilen çalışmalar obezite tanısı olan kişilerde kilo vermeyi destekleyebileceğine değinmektedir (Somuncuoğlu, 2007).

2.2. Kuru İncir Besin Değeri

Eski dönemlerden itibaren incirin birçok kültürde tıbbi amaçlar ile kullanıldığı bilinmektedir. İncir (*Ficus carica L.*) polifenol, flavonoid, vitaminler ve yüksek antioksidan kapasitesi nedeniyle ön plana çıkmaktadır. İncir; taze bir şekilde yenmesinin yanı sıra kurutulularak, reçel yapılarak, konserve halinde, meyve suyu ya da pekmez olarak tüketilebilmektedir.

İncir, içermekte olduğu karbonhidrat, kalsiyum, potasyum, B1 ve B2 vitaminlerle oldukça zengin bir besindir. İncir yaş haldeyken depolama stabilitesinin az olması sebebi ile

kuru formda depolanabilir. Yaş incir ve kuru incirin besin değeri karşılaştırıldığı zaman birtakım farklılıklar olduğu görülür. Kuru incir ve taze incirin besin değerine ait veriler tablo 1.'de yer almaktadır. Yaş incir ile kıyaslandığında kuru incirin enerji, protein, karbonhidrat ve kalsiyum miktarı bakımından daha yüksek olduğu görülür. İncir kurutulurken meydana gelen su kaybıyla beraber kuru madde miktarının artmasıdır (Soltana ve diğerleri, 2019).

Tablo 1. Taze ve kuru incirin besin öğeleri (100 g başına).

	Taze İncir	Kuru İncir
Enerji	80 kcal	217 kcal
Protein	1,2 g	4 g
Karbonhidrat	20,3 g	55,3 g
Kolesterol	-	-
Kalsiyum	25 mg	138 mg
Potasyum	194 mg	640 mg
Vitamin B1	0.06 mg	0,07 mg
Vitamin B2	0.05 mg	0,07 mg

2.3. Kuru İncir Üretimi

Türkiye kuru incir ihracat çalışmasında FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of The United Nations) elde edilen veriler sonucunda 1990-1994 yılları ortalamasına göre dünyada 407.554 bin hektar incir alanı bulunmaktadır. Bu rakam 1995-1999 döneminde 395.093 bin hektar, 2000-2004 döneminde 391.682 bin hektar, 2005-2009 döneminde 413.256 bin hektar, 2010 yılında 381.581 bin hektar, 2011 yılında 384.488 bin hektar, 2012 yılında 381.940 bin hektar olarak bulunmuş ve 2013 yılında %11.55'lik azalışla 358.492 bin hektar alana düşmüştür.

2013 yılında en fazla incir üretim alanı olan ülke, 82.824 bin hektar alan ile Portekiz'dir. Portekiz'den sonra en fazla incir üretim alanına sahip ülke 52.606 bin hektar ile Fas ve 49.401 bin hektar ile Türkiye'dir. Dünya incir üretim alanlarında son 24 yıllık dönem içerisinde bazı ülkelerde artışlar gözlenirken, bazı ülkelerde ise incir üretim alanlarında azalmalar olmuştur. Çalışmada ele alınan dönemlerde dünya incir üretim alanları içerisinde en fazla artış %35.68'lik artış ile Mısır'da gerçekleşmiştir. Bunu sırasıyla %32.18'lik artış ile Fas, %19.02'lik artış ile Tunus ve %4.13'lük artış ile Cezayir takip

etmektedir. Söz konusu dönemlerde incir üretim alanında en fazla azalışı %48.45'lik azalış ile İran'da gerçekleşmiştir. Bunu sırasıyla %17.59'luk azalış ile Türkiye, %2.29'luk azalış ile Portekiz izlemektedir.

Türkiye'nin ortalama incir üretim alanı incelendiğinde, 1990-1994 yılları ortalaması 59.943 bin hektar, 1995-1999 döneminde 59.605 bin hektar, 2000-2004 döneminde 59.188 bin hektar, 2005-2009 döneminde 59.847 bin hektar, 2010 yılında 58.131 bin hektar, 2011 yılında 58.694 bin hektar, 2012 yılında 59.094 bin hektar olarak bulunmuş ve 2013 yılında %17.59'luk azalışla 49.401 bin hektar alana düşmüştür.

Türkiye kuru incir ihracat çalışmasında FAOSTAT elde edilen veriler sonucunda incelenen dönem içinde dünya incir verimi 1990-1994 döneminde ortalama 18102.6 kg/ha iken, 1995-1999 döneminde 21134.4 kg/ha, 2000-2004 döneminde 23770.8 kg/ha, 2005-2009 döneminde 27173.7 kg/ha, 2010 yılında 27018.5 kg/ha, 2011 yılında 28437.5 kg/ha, 2012 yılında 28181.6 kg/ha ve 2013 yılında %64'lük artış ile 29683.6 kg/ha olarak gerçekleşmiştir. Dünya incir verimi yıllar içerisinde daima arttığı görülmektedir. Dünya incir verimi bakımından incelendiğinde 1990-1994 dönemine göre 2013 yılında en fazla artışı %159 ile Kıbrıs gerçekleştirmiştir. Bunu sırasıyla %120 ile Özbekistan, %84 ile Fransa, %52 ile Yemen, %33 ile Brezilya, %16 ile ABD takip etmektedir

Türkiye'nin ortalaması incir verimi incelendiğinde genel olarak arttığı gözlenmiştir. 1990-1994 döneminde 4713.0 kg/ha, 1995-1999 döneminde 4569.1 kg/ha, 2000-2004 döneminde 4322.3 kg/ha, 2005-2009 döneminde 4124.5 kg/ha, 2010 yılında 4383.9 kg/ha, 2011 yılında 4438.4 kg/ha, 2012 yılında 4645.7 kg/ha ve 2013 yılında %28'lik artışla 6050.8 kg/ha meydana gelmiştir. Yıllar itibariyle dünyada bazı ülkelerin ortalama incir verimi incelendiğinde Türkiye'nin ülkeler arası en yüksek verime sahip olduğu görülmektedir. Dünyada kuru incir üretimi FAOSTAT elde edilen veriler sonucunda, 1990-1994 dönemi 1.084.253 milyon ton, 1995-1999 döneminde 1.140.202 milyon ton, 2000-2004 döneminde 1.050.977 milyon ton, 2005-2009 döneminde 1.121.682 milyon ton, 2010 yılında 1.111.261 milyon ton, 2011 yılında 1.082.737 milyon ton, 2012 yılında 1.098.868 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. 2013 yılında %3.06 artış ile 1.117.452 milyon ton incir üretilmiştir. 2013 yılında en fazla incir üretimi gerçekleştiren ülke 298.914 milyon ton ile Türkiye'dir. Türkiye'den sonra en fazla üretim gerçekleştiren ülkeler, 153.089 bin ton ile Mısır, 78.392 bin ton ile İran, 117.100 bin ton ile Cezayir takip etmektedir.

Çalışmada ele alınan dönemde 1990-1994 dönemi baz alındığında 2013 yılında incir üretiminde en fazla artış gösteren ülke %242.17 ile Hindistan olmuştur. Hindistan'ı %84.60

artış ile Cezayir, %83.30 artış ile Fas, %17.77 artış ile Mısır, %5.77 artış ile Türkiye, %3.10 artış ile İran takip etmektedir.

İncelenen dönem içinde 1990-1994 dönemine göre 2013 yılında seçilen ülkeler arasında incir üretim miktarında en fazla azalış gösteren ülkeler %47.97 azalış ile İspanya olmuştur, İspanyayı %44.43 azalış ile ABD takip etmektedir.

Çalışmada ele alınan dönemde Türkiye'nin incir üretim rakamları incelendiğinde 1990-1994 döneminde 282.600 bin ton, 1995-1999 döneminde 272.600 bin ton, 2000-2004 döneminde 256.000 bin ton, 2005-2009 döneminde 246.944 bin ton, 2010 yılında 254.838 bin ton, 2011 yılında 260.508 bin ton, 2012 yılında 274.535 bin ton, 2013 yılında %5.77 artış ile 298.914 bin ton olarak gerçekleşmiştir.

2.4. Kuru İncir İhracatı

Dünyada ülkelere göre kuru incir ihracat miktarları 1990-1994 dönemi ortalamasına göre dünyada 53.037 bin ton, 1995-1999 döneminde 66.124 bin ton, 2000-2004 döneminde 74.328 bin ton, 2005-2009 döneminde 80.579 bin ton, 2010 yılında 92.351 bin ton, 2011 yılında 76.398 bin ton, 2012 yılında 94.543 bin ton ve 2013 yılında 110.048 bin tona kuru incir ihracatı gerçekleşmiştir. Kuru incir ihracat miktarlarının yıllar itibariyle arttığı gözlenmiştir. 1990-1994 dönemi baz alındığında 2013 yılında kuru incir ihracat miktarı %107.49'lük oranında artış meydana gelmiştir.

2013 yılı içerisinde en fazla kuru incir ihracatı gerçekleştiren ülke 76.268 bin ton ile Türkiye'dir. Türkiye'den sonra en fazla kuru incir ihracatı gerçekleştiren ülke 6.502 bin ton ile Afganistan, 4.596 bin ton ile ABD, 3.305 bin ton ile Yunanistan, 3.083 bin ton ile İspanya, 2.568 bin ton ile Almanya ve 1.654 bin ton ile Hollanda olmuştur. Çalışmada ele alınan dönemde 1990-1994 dönemine göre 2013 yılında kuru incir ihracatında en fazla artış gösteren ülke 2.3 kat artış ile Afganistan olmuştur. Afganistan'ı sırasıyla %463.54' lük artış ile Hollanda, %190.22'lik artış ile Almanya, %136.52'lik artış ile Türkiye, %44.57'lik artış ile İspanya ve %25.70'lik artış ile ABD takip etmektedir. Afganistan'ın yüksek çıkmasının sebebi baz alınan yılın düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Kuru incir ihracatında azalış gösteren tek ülke %53.11'lik azalış ile Yunanistan olmuştur.

Dünyada ülkelere göre kuru incir ihracat değerleri 1990-1994 dönemi ortalamasına göre dünyada 99.778 bin \$, 1995-1999 döneminde 112.118 bin \$, 2000-2004 döneminde 123.065 bin \$, 2005-2009 döneminde 219.804 bin \$, 2010 yılında 293.564 bin \$, 2011 yılında 263.736 bin \$, 2012 yılında 308.389 bin \$ ve 2013 yılında %262.79'lük bir artış göstererek 361.984 bin \$ olarak gerçekleşmiştir. 2013 yılında en fazla kuru incir ihracatı gerçekleştiren ülke 241.539 bin \$ ile Türkiye'dir. Türkiye'den sonra en fazla kuru incir ihracatı gerçekleştiren ülke 20.613 bin \$ ile ABD, 16.905 bin \$ ile Afganistan, 13.468 bin \$ ile Almanya, 11.691 bin \$ ile Yunanistan, 6.958 bin \$ ile İspanya, 6.938 bin \$ ile Avusturya, 6.541 bin \$ ile Hollanda ve 4.792 bin \$ ile Fransa'dır. Çalışmada ele alınan dönemde 1990-1994 dönemi baz alındığında 2013 yılında kuru incir ihracat değerinde en fazla artış gösteren ülke 6.1 kat ile Avusturya olmuştur. Avusturya'yı 5.5 kat artış ile Afganistan, 1.4 kat artış ile Hollanda, %649.30'lük artış ile Almanya, %497.80'lik artış ile Fransa, %286.63'lük artış ile Türkiye, %188.84'lük artış ile ABD, %147.47'lik artış ile İspanya takip etmektedir. Dünyada ülkelerde kuru incir ihracatı değerlerinde yıllar itibariyle genel olarak bütün ülkelerde artışlar meydana geldiği görülmektedir.

2.5. Besin Kaynaklı Hastalıklar

Gıda işletmelerinde gıda tüketim alanlarında sanitasyonun temel amacı gıdaların işlenmesi sırasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerin ortadan kaldırılmasını sağlamaktır. FoodNet tarafından belirlenen dokuz mikroorganizma yaygın olarak gıda kaynaklı hastalığa neden olan mikroorganizmalardır (American Dietetic Association, 2003). FoodNet mikroorganizmaları Amerika Birleşik Devletleri'nde önemli oranda mortalite ve morbiditeden sorumluyken, gıda kaynaklı hastalığın önde gelen nedeni daha yaygın olarak Norwalk benzeri veya Norovirüs olarak bilinen *Caliciviridae* ailesinin virüsleridir (Lederberg, 1997; Tauxe, 2002).

Uygun olmayan sıcaklık gıda kaynaklı hastalığa neden olan mikroorganizmaların gelişmesi açısından temel faktör olarak bilinmektedir (Olsen ve diğerleri, 2000). *C. Perfringens* ve *B. Cereus* pişmiş gıdaların uygun olmayan sıcaklıkta saklanmasıyla ilişkiliyken, *Caliciviridae* ise, gıda işçilerinin yetersiz kişisel hijyeni ile ilişkilendirilmiştir. 1993-1997 yılları arasında gıda kaynaklı hastalıklara katkıda bulunan faktörler Olsen ve diğerleri (2000) tarafından; uygun olmayan sıcaklıkta saklama, yetersiz pişirme, çapraz kontaminasyon, sağlıksız kaynaktan gıda temini ve personelin hijyen kurallarına yeterli

uymaması olarak sıralanmıştır.

Önceden riskli olarak kabul edilmeyen gıdalara artan dikkat ile gıda kaynaklı hastalık nedenleri listesine yeni organizmalar eklenmeye devam etmektedir. Örneğin, bir *Yersinia psödotüberküloz* salgını, Finlandiya'daki 47 vakayı ve eşleştirilmiş bir vaka kontrolünü içeren bir zehirlenme olayında taşıyıcı olarak ortak tüketilen bir marul çeşidi (İceberg Lettuce) tanımlamıştır. Yapılan araştırmalarda, kontamine marulun kaynağının yabani geyik dışkısı daha sonra sistematik olarak marul içine alınan topraktaki mikroorganizmaların olduğu kabul edilmiştir. Kontamine su daha önceki diğer gıda kaynaklı salgın vakalarında olduğu gibi ilişkilendirilmemiştir (Nuorti ve diğerleri, 2004)

Genel olarak tüketime hazır ürün ve çiğ etin çapraz kontaminasyonu sonucu oluşan zehirlenme daha yaygındır. Örnek olarak, *Campylobacter* enterit salgını daha önce aynı doğrama tahtasında kesilmiş çiğ kümes hayvanlarından çapraz kontaminasyon sonucu marula bulaşması ile ilişkilendirilmiştir (Noormohamed ve Fakhr, 2014). Bu vakalar, özellikle Guillain-Barre Sendromu'nun gelişiminde katkıda bulunan bir faktör olarak *Campylobacter*'in tanınmasıyla, doğrama tahtalarının ve mutfak yüzeylerinin sanitasyonunun sürekli olarak sağlanması gerekliliğini vurgulamıştır.

2.5.1. Besin kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi

Besin kaynaklı infeksiyon ve intoksikasyonlar global bir halk sağlığı sorunu olmanın yanında, ulusal ve uluslararası ticaret ve turizmde kayıplara, tedavi masraflarının yükselmesine, etkilenen bireylerin çalışma kapasitelerinde kayba neden olarak ekonomiyi de kötü etkileyebilmektedir. Epidemiyolojik araştırmaların uzun zamandır sistemli olarak yapıldığı Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl 48 milyon kişinin besin kaynaklı patojenler ile infekte olduğu, bu kişilerden 3.000'inin ölüm, 128.000'ini hospitalizasyon ile sonuçlandığı ve tedavi masraflarının yaklaşık 77 milyar dolara kadar çıktığı bildirilmiştir (Erol, 2016)

Besin kaynaklı hastalıklarla ilgili verilerin belirli sağlık merkezlerinden ve diğer kaynaklardan alınanlarla sınırlı olduğunun ve bu verilerin besin kaynaklı salgınların çok az bir kısmını yansıttığının bilincinde olarak, CDC (The Centers for Disease Control and Prevention) son zamanlarda, eyalet halk sağlığı bölümleri ve federal gıda düzenleme kuruluşları (örn. FDA) ile birlikte bazı durumlarda daha detaylı bilgi elde etmek için birçok

yeni yaklaşım başlatmıştır. Son yıllarda ortaya konulan bu yeni yaklaşımlar FoodNet, PulseNet ve National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) gibi sistemleri içermektedir (Tauxe, 2002). Fakat Amerika Birleşik Devletleri'nde halk sağlığı kuruluşları tarafından kullanılan FoodNet, halkın %13'ünden ve sadececa 10 patojen hakkında veri toplayan bir sistemdir. Bu konudaki eksiklikleri gidermek amacıyla, WHO bir grup uluslararası düzeydeki bilim insanıyla 2006 yılında besin kaynaklı hastalıkların global durumunu tahmin etmek üzere düzenlediği strateji geliştirme toplantısında, besin kaynaklı hastalıkların genel durumunu takip etmek ve epidemiyolojisi hakkında var olan bilgileri derlemek için bir yapı oluşturulması şart koşulmuş ve besin kaynaklı hastalıkların global düzeydeki etkilerini tahmin etmek ve bu önerileri uygulamak ile görevli "Besin Kaynaklı Hastalıklar Epidemiyolojisi Referans Grubu" kurulmuştur (Tauxe ve diğerleri, 2010).

2.5.2. Besin kaynaklı hastalıklara neden olan mikroorganizmalar

Günümüzde mikrobiyoloji alanındaki gelişmeler sayesinde besinlerin bozulmalarının ve besin kaynaklı hastalıkların büyük çoğunluğunun sebebinin mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir (Uylaşer ve Başoğlu, 1992)

Dünya çapında besin kaynaklı infeksiyonlara neden olan vakalar, salgınlar ve ölümlerin büyük bir kısmına bakteriyel patojenler sebep olmaktadır. Bazı besin patojenleri genellikle spesifik besinlerle ilişkilendirilmektedir. Bu doğrultuda *S. Enteritidis* yumurtadan, *Salmonella spp.* Ve *Campylobacter spp.* Tavuk etinden, *E. Coli O157:H7* sığırtından, *L. Monocytogenes* tüketime hazır besinlerden, *Vibrio spp.* Deniz ürünlerinden, *C. Botulinum* ev yapımı konservelerden, *Brucella spp.* Süt ürünlerinden, *Trichinella spp.* Domuz etinden izole edilmektedir (Baron ve diğerleri, 2016; Gerner-Smidt ve Whichard, 2009; Guenther ve diğerleri, 2009; Le Guyader ve diğerleri,2009; Purslow, 2016).

Besin kaynaklı hastalıklar içinde büyük bir orana sahip olan bakteriyel zehirlenmelerin etkeni olan mikroorganizmaları *Clostridium botulinum*, *Salmonela*, *Staphylococ*, *Yersinia enterocolitica* ve küfler olarak genellemek mümkündür (Uylaşer ve Başoğlu, 1992). Besin kaynaklı hastalıklara sebep olabilecek bakterilerin yer alabileceği besinler ayrı başlıklar altında ele alınacaktır.

2.5.2.1. *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus'lar, gram pozitif bakterilerdir. Beyaz ve altın sarısı renk skalasında koloniler meydana getirirler. Katalaz pozitif, oksidaz negatiftir. Aerob ve fakültatif anaerob bakterilerdir. Üremeleri için yeterli olan ısı aralığı oldukça geniştir. Fakat optimal üreme için sıcaklık 30° - 37°C, pH ise 7 – 7,5 aralığındadır. 18 ve 24 saat aralığında kanlı agarda 1 ve 4 mm çapında hafif konveks ve yuvarlak koloniler meydana getirirler (Yıkılmazsoy,2019).

Staphylococcus aureus gram pozitif bakterinin 1 mikrometre çapında bir bakteri olduğu belirlenmiştir. Yapılmış olan mikroskopik inceleme sonucuna *S. Aureus* tek, çift ve üzüm salkımı formunda kok şeklinde gözlemlendiği belirlenmiştir. *S. Aureus* hücre duvarının lizozim dirençli olduğu fakat lizostafine duyarlı, hareketsiz, katalaz ile koagülaz pozitif, oksidaz negatif olarak görülmektedir.

S.aureus'un hemoliz yapma yeteneği bulunmaktadır. Bu nedenle koyun kanlı agar içerisinde sarı renkte koloni pigmentasyonu bulunduğu görülmektedir. Stafilokoklar incelendiğinde bunların hücre içerisinde peptidoglikan tabaka ile teikokik asit içeren bir tipik gram pozitif bakteri hücre duvarına sahip olduğu belirlenmiştir. *S. Aureus* incelendiğinde bunların içerisinde antibakteriyellere karşı direnç geliştirmiş suşlarının hücre duvarında farklı yapıların bulunduğu belirlenmiştir.

S. aureus bulundurduğu virulens faktörleri nedeni ile canlılarda birçok enfeksiyonun oluşumuna sebebiyet verebilir. Bunlar ortamın şartlarına dayanıklıdır ve çevresel kaynaklarda sıklıkla bulunan mikroorganizmalar arasındadır. Etken patojen bir türdür. Fakat bireylerin burun ve deri mukozalarında da bulunmaktadır. Böylece etkenin yayılması konusunda rol oynar. Ayrıca *S. Aureus*'a hem gıdalarda hem de gıda işletmelerinde çalışmakta olan kişilerde sık sık karşılaşılmaktadır. Gıda sektöründe, işletmelerinde asemptomatik personel olası kontaminasyon ihtimali nedeniyle Stafilokok'un neden olduğu intoksikasyonların en önemli kaynağı olarak kabul edilir. Gıda işleme prosesinde hijyen uygulamaları üzerine düşünülmediği durumlarda çalışanlar dışında gıdaların hazırlanması için kullanılmakta olan alet ve ekipmanın da kontaminasyonda mihim bir payı olduğu görülmektedir (Doyle ve diğerleri, 2012; Koçak Kızanlık, 2019).

S. aureus incelendiğinde fakültatif anaerob olduğu bunun yanında aerob koşulları altında ise daha fazla üreme gösterdiği belirlenmiştir. Bunun sonucunda da *S.aureus*'un ise

glikoz metabolizmasının son ürünü olan asetoini ürettiği görülmektedir. *S. Aureus* suşlarının identifikasyonu içerisinde kullanılan en önemli özelliklerden biri olarak koagulaz enzimi gösterilmektedir fakat bunun belirleyici kesin bir faktör olmadığı görülmektedir. Burada identifikasyonun gerçekleşmesinde etkenin mannitolünün fermente edilmesinin önemli olduğu belirlenmiştir

1960'lı yıllardan itibaren *S. Aureus* için yaygın olarak kullanılan ve başarılı olunan Baird Paker, CHROMagar, Dnase agar gibi hazır besiyerleri olduğu görülmektedir. Bu besiyerlerinin selektif özelliğinin oldukça iyi olduğu belirlenmiştir. Baird Paker besiyeri içerisinde bulunan lityum klorür ile suplement içerisinde yer alan tellürit ile birlikte rekabetçi floranın inhibisyonunun sağlandığı ortaya çıkmaktadır. Burada yapısı içerisinde bulunan piruvat ve glisin hazırlanmasından sonra ilave edilmiş olan yumurta sarısının hasar görmüş olduğu hücrelerin toparlanmasına yardımcı olmaktadır. *S. Aureus* içerisinde tellüritin indirgenmesi ile birlikte karakteristik siyah kolonilerin görüldüğü belirlenmiştir. Kolonilerin çevresinde ise yumurta sarısındaki lipovitellinin lestinaz tarafından hidrolizi ile birlikte şeffaf zon oluştuğu bunun sonucunda da *S. Aureus* için iki tipik özellik belirlendiği tespit edilmiştir. Bu noktada sonuçların test edilmesi gerekmektedir. Bu noktada kullanılan testler termonükleaz ve koagulaz testleridir. Bu testlerden elde edilen sonuçların doğrulanması gerekmektedir

S. aureus'un oluşturmuş olduğu enfeksiyonlar incelendiğinde bunların en önemli özelliği abse oluşumu veya piyojenik eksuda gelişimi olduğu belirlenmiştir.

S. aureus'un oluşturmuş olduğu deri enfeksiyonları şu şekilde sıralanmaktadır. Bunlar;

- Follikülit,
- Fronkül ve karbonkül,
- İmpetigo,
- Süpüratif hidradenit,
- Mastit,
- Cerrahi ya da posttravmatik yara enfeksiyonlarıdır.

Yüzde sakallı bölgede ortaya çıkan yaygın follikülit sycosis barbae olarak tanımlanmaktadır. Bu noktada impetigo etkenler %80 *S.aureus*, %10 A grubu streptokoklar, %10 *S.aureus*+ A grubu streptokoklar olarak belirlenmiştir. Posttravmatik ya da cerrahi

yara enfeksiyonlarının en sık karşılaşılan etkeni olarak *S. Aureus* görülmektedir. Toksine bağlı hastalıklar ise; Haşlanmış Deri Sendromu, Besin Zehirlenmesi, Toksik Şok Sendromu'dur.

S.aureus bakteriyemisine neden olan ekstravasküler (Sellülit, osteomyelit, pnömoni vs.) ya da intavasküler (kateterle, IV uyuşturucu kullanımı) olabilmektedir.

2.5.2.2. Bacillus Cereus

Bacillaceae familyasında yer alan *B. Cereus*, Gram pozitif, 2-6 µm uzunluğunda ve 0,8-1,2 µm genişliğinde çubuk şeklinde, aerob-fakültatif anaerob, endospor oluşturan, peritrik flagellaları ile hareketli, katalaz ve lesitinaz pozitif ve bir bakteridir (Granum, 1994; Dufrenne ve diğerleri, 1995; Erol, 2007). Doğada yaygın olarak rastlanmakla birlikte, genellikle toprak, hububat, baharat, kuru gıdalar, et, süt ve yumurtada bulunur (Roberts ve diğerleri, 1996).

Bacillus cereus çevre, toprak, süt, su ve bitki materyallerinde yaygındır. Bu mikroorganizma ısıya çok dayanıklı hatta kaynar suda hayatta kalan bir spor üretir (Doyle ve diğerleri, 1997). 4°C'den (40°F) düşük ve 55 °C'ye kadar (131° F) olan sıcaklıklarda *B. Cereus* gelişebilir ancak uç noktalarda büyüme çok yavaştır. *B. Cereus*'un psikotrofik suşları sütte ve pastörizasyon sonrası süt ürünlerinde bulunabilir. Optimum sıcaklıkları *C. Perfringens* ile benzerdir. *B. Cereus* pişmiş etler, sebzeler, pişmiş süt ürünleri, pişmiş pirinç dahil tahıl ve makarnalara karışarak muhtemel zehirlenmelere neden olabilir. Mikroorganizmanın patolojik suşları emetik ve diyarejenik toksin üretebilir. Her iki toksin de emetik toksinal, ısıya dayanıklı ve *S. Aureus* enterotoksinine benzer şekilde aktif olarak büyüyen hücreler tarafından üretilir. İshalli toksin ısıya karşı kararlı değildir.

İshalli toksin 24 saat içinde semptomlara neden olur (Granum, 1994). Mikroorganizma bağırsak yolunda büyür, kramp ve ishale neden olan enterotoksini üretir; ancak nadiren bulantı görülür. Belirtiler genelde 24 saat içinde düzelir ancak nadir de olsa hastalık haftalarca sürebilir. İshalli *B. Cereus* suşları et ürünleri, süt ve süt ürünleri ve bu ürünlerden yapılan gıdalarda bulunur (Meer ve diğerleri, 1991). İshal ve kusma belirtileriyle gözlenen *B. Cereus* kaynaklı gıda zehirlenmelerinde emetik sendromdaki inkübasyon süresi 1 ile 5 saat arasındadır. Diyareyle birlikte seyreden sendromdaki inkübasyon süresinin ise 8 ile 16 saat arasında olduğu kaydedilmiştir. Bunun yanında immün sistemi hasarlı bireylerde

ölümcül tablolara, kalıcı göz enfeksiyonlarına sebep olabilmektedir (Blackburn ve McClure, 2002).

2.5.2.3. *Clostridium Perfringens*

Clostridium perfringens, *Bacillaceae* familyası içerisinde yer alan Gram pozitif, anaerobik, sporlu, hareketsiz, kapsüllü(Tunail, 2009; Ayhan, 2013) ve agar yüzeyinde koloniler meydana getiren bakteriler olarak nitelendirilebilir (Brynstad ve Granum, 2002). *C. Perfringens* için en uygun pH aralığı 6.0 – 7.5 olarak verilebilir. Asidik koşullara *C. Botulinum*'dan daha duyarlı olmasının bir göstergesi olarak pH gelişme aralığı gösterilmektedir (Jay, 2000). Bakteri optimum olarak 0.93 – 0.97 su aktivitesi değerlerinde gelişmektedir (Hobbs ve Roberts, 2007; Sert, 2014).

Clostridium perfringens çevrede yaygın olarak bulunur ve insan ve hayvanların bağırsak mikroflorasının bir üyesi olabilir. Kanıtlar, bu organizmanın sadece birkaç suşunun gastroenteriti indükleyen enterotoksini ürettiğini göstermektedir (Jay, 2000; Doyle, 2007). Bütün suşlar spor üretir; Bazı gıda ile ilgili suşlar, kaynar et suyu da dahil olmak üzere çoğu pişirme sıcaklığında hayatta kalabilen sporlar üretir. Bakterinin çoğalması 20 ile 50° C derece arasında gerçekleşebilir. İdeal koşullarda (protein ağırlıklı gıdalarda olduğu gibi) büyüme çok hızlıdır ve 7 ila 10 dakikada sayıca ikiye katlanır. Proteince zengin etli yemeklerin tüketilmesi sonucunda enteritis nöktansın ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Hunter ve diğerleri, 1992). Stres koşulları altında ve insan bağırsağında, organizma spor oluşturur ve enterotoksinler hücrenin parçalanması sonrasında salınmaktadır.

Clostridium perfringens enterotoksinin neden olduğu hastalık, ishal ve karın krampları ile 8 ile 24 saat içinde görülen semptomlar ile başlar ve 48 saatten az sürede enterotoksin bağırsak elektrolitlerini etkili bir şekilde tersine çevirerek su emilimine sebep olur (Jay, 2000; Doyle, 2007). Sporların fekal dökülmesi süresiz olarak devam edebilir ve zaman zaman bazı insanlar taşıyıcı olmaktadır. Gıda Kaynaklı Salgın Müdahale ve Gözetim Birimi verilerine göre 2001 yılında, *C. Perfringens* aktif veya pasif gözetim sistemlerinde bulunmasa da CDC'ye bildirilen bakteri salgınlarının ikinci nedeni olmuştur (Centers for Disease Control and Prevention, 2020). Aynı zamanda 1991-1998 yıllarında Minnesota'da Norwalk benzeri virüslerden sonra ikinci gıda kaynaklı hastalık sebebi olarak belirlenmiştir (Valerie ve diğerleri, 2000). Çoğu insanda hastalık kısa sürer ancak yaşlılarda uzun

sürebilmektedir. Bu durumda uzun süreli ishal ve hastalık süresi su tutma, dehidrasyon ve potansiyel olarak ölümlerle sonuçlanabilmektedir

Clostridium perfringens sebepli gıda kaynaklı hastalıklar yaygın olarak uygun olmayan sıcaklıkta saklanan pişmiş etler veya kümes hayvanlarıyla ilişkilidir (Jay, 2000; Doyle, 2007). Büyüme için en uygun sıcaklığa sahip olan sıcak yiyecekler hastalık için yeterli olan yüksek sayılara ulaşmayı sağlar. Sıcak yiyeceklerin yavaş soğutulması da organizmanın patolojik seviyelere ulaşmasına izin vermektedir. Salgınlar tipik olarak yiyeceklerin buhar ve sıcak su ile belirli seviyede sıcak tutulduğu sırada, 60°C'nin (140°F) altındaki sıcaklıklara düşmesiyle ilişkilidir. 21°C (70°F) dereceden düşük sıcaklıklar organizmanın büyümesini yavaşlatmaktadır. Dolayısıyla Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), gıdaların 2 saatten kısa bir sürede ortam sıcaklığına düşürülmesini ve daha sonra 4 saat içinde de 5°C'ye (41° F) düşürülmesini önermektedir (U.S Food&Drug Administration, 2020).

Clostridium perfringens tipi gıda enfeksiyonlarının, kanlı diyare, bazen kusma sonrası ince bağırsakta oluşan nekrotik bir yangı, birden oluşan abdominal ağrıya neden olduğu belirtilmiştir. İnkübasyon süresinin 5 ile 6 saat olduğu kaydedilmiştir. Hastalık tedavi edildiğinde mortalite oranının düştüğü, tedavi edilmediği takdirde ise ölüm oranının arttığı belirtilmiştir.

2.5.2.4. Clostridium Botulinum

C. botulinum, *Clostridiaceae* familyasındaki, zorunlu anaerob, Gram (+), hareketli, 3 µm'den 20 µm'ye kadar değişen uzunlukta, yaklaşık 1 µm genişliğinde ve 4 µm çapında basil biçimindeki bir bakteridir. Şartlar uygun değil ise ısı direnci olan spor meydana getirirler. Etkenin sporlu bir mikroorganizma olması çevresel stres faktörleri konusunda daha dayanıklı olması ve ubiquiter karakter kazanması konusunda önem taşımaktadır. Su ve toprakta bulunmakta olan sporları ovalden silindire, terminalden subterminale değişimin yanı sıra olgun sporları tenis raketi biçimindedir (Güran ve Öksüztepe, 2012)

Gıda kaynaklı botulizm, *Clostridium botulinum* ve nadiren ilgili türlerin ürettiği nörotoksinlerle kontamine gıdaların tüketilmesinden kaynaklanan potansiyel olarak ölümcül bir hastalıktır. En yaygın kaynak ev yapımı konserve ve bozulmuş konserve ürünleridir. Bilinen botulinum toksini tiplerinden A, B, E ve F tipleri insanların hastalanmasına ve

ölümüne neden olmaktadır. Salgınlar dünya çapında rapor edilmiş olsa da botulizm salgınlarının özellikleri hiçbir zaman sistematik olarak incelenmemiştir. Salgınların özelliklerini daha iyi anlamak, gelecekteki botulizm olaylarının planlanmasına yardımcı olabilir (Fleck-Derderian ve diğerleri, 2018). 2018 yılında yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, gıda kaynaklı botulizmde en yüksek zehirlenmeye sebep olan toksin türünün Toksin A olduğu belirlenmiştir (Fleck-Derderian ve diğerleri, 2017).

Botulizm vakalarında mide bulantısı, kusma, yorgunluk, vertigo ve diyare gibi semptomlar görülmektedir. Bu belirtileri ise bulanık görme, yutkunma ve konuşmada zorlanma, mesane atonisi ve kabızlık eşlik eder. İlerleyen zamanlarda ise el ve ayaklarda güç kaybı, solunum felci ve sonrasında ölüme sebep olabilmektedir (Fleck-Derderian ve diğerleri, 2018; Güran ve Öksüztepe, 2012). Günümüzde hala gıda kaynaklı botulizm vakalarına rastlanmaktadır. Bu zehirlenmelerin görülme sıklığı ülkelerin beslenme şekline, gıda hazırlama yöntemlerine, gıda tercihlerine ve gıda güvenliği düzenlemelerine göre farklılık gösterebilmektedir (Fleck-Derderian ve diğerleri, 2018).

Botulizm toksinin dozuna ve tipine bağlı olarak, belirtiler 12-72 saat sonunda ortaya çıkmakta ve hastada gastrointestinal semptomlar ile kendini göstermektedir. Hasta kişilerde bu belirtilerin ardından, deri ve boğazda kuruma, çift görme, baş ağrısı, soluk alıp vermede güçlük izlenmektedir (Güran ve Öksüztepe, 2012). Zehirlenmelerde ölüm oranının yaklaşık olarak %7-10 arasında değiştiği ve riskin 60 yaş üzeri bireylerde iki katına çıktığı gözlenmiştir (Taillac, 2021).

2.5.2.5. *Listeria Monocytogenes*

L. monocytogenes; gram pozitif, fakültatif anaerob mikroorganizmadır (McMullen ve Freitag, 2015). *Listeria monocytogenes* psikrotrofik, 1 ile 45 °C arasında değişen sıcaklıklarda büyüebilmekle birlikte, yüksek tuz oranlarına dayanıklıdır. Ayrıca düşük pH seviyesinde büyümeyi başlatabilir (Sorrells ve diğerleri, 1989; Farber ve Peterkin, 1991). Bu tip başlıca özellikler *Listeria*'nın gıdalardaki kontrolünü zorlaştırarak bu bakteri tarafından bulaşı olmuş gıdalar, insan sağlığı açısından potansiyel riske ve tehlikeye sebep olmaktadır (Bizani ve diğerleri, 2008).

İlk zamanlarda *Corynebacteriaceae* familyası içinde verilen *Listeria*, “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition, Volume Three” kaynağının 2009

yayım referansı baz alınarak taksonomik olarak *Bacilli* sınıfı, *Bacillales* takımı, *Listeriaceae* familyasına yerleştirilmiştir. *L. Monocytogenes*'in 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e 5,7,6a, 6b gibi değişik serotipleri bulunurken, bunlardan (1/2a, 1/2b, 4b) daha çok insan listeriozu ile ilişkilidir (Clark ve diğerleri, 2010). *Listeria*; *L. Monocytogenes*, *L. Innocua*, *L. Seeligeri*, *L. Welshimeri*, *L. İvanovii* ve *L. Grayi* gibi 6 tür içerir. *L. Monocytogenes*, *L. İvanovii* ve *L. Innocua* bu türler arasında patojen türlerdir. Hem insanlar hem de hayvanlar için en baskın ve etkili patojen *L. Monocytogenes*'tir. *Listeria* cinsi bakteriler doğada çok yaygındırlar bu sebeple yeme, süte ve ete kolaylıkla bulaşabilmektedirler (Farber, 1991).

Listeria'lar 0.5-2 mm uzunluğunda olup gram pozitif bakterilerdir. *Listeria*'lar 0 ile 45°C arasındaki sıcaklıklarda gelişebilen, minimum 0,92 su aktivitesine ihtiyaç duyan, pH istekleri 4,4 ile 9,4 arasında olup geniş pH aralıklarında canlılığını koruyabilen bakterilerdir. *Listeria* spor oluşturmeyen gram pozitif fakültatif bir bakteridir (Rodrigues ve diğerleri, 2017). *Listeria* hücreleri yuvarlak uçlu kısa ve kokobasil şeklindedir (Juntilla ve diğerleri, 1988; Norrung, 2000; Yavuz ve Korukoğlu, 2010). Yüksek konsantrasyonlardaki NaCl (%10-12) varlığında bile çoğalabilen bu bakteriler halotoleranttırlar (Farber, 1991; Norrung, 2000; Yavuz ve Korukoğlu, 2010).

L. monocytogenes içeren besin maddelerini tüketen duyarlı insanlarda, çok fazla sepsis oluşurken çocuklarda ve erişkinlerde meningoensefalit ve ateşli gastroenteritis belirtileri ortaya çıkmaktadır (Schlech, 2001). Hamile kadınlarda ana belirti abortus iken yeni doğanlarda ise septisemi, meningitis ve ölümdür (Farber ve Peterkin, 1991).

L. monocytogenes, tabiatta nemli yerlerde birkaç ay, tuzlu ve kuru yerlerde ise iki yıla kadar canlılığını sürdürebilmektedir. Geniş ve büyük bir alanda bulunabilmesi, çok çetin koşullar altında dahi birçok sporsuz bakterilere nazaran daha uzun canlılığını devam ettirebilmesi nedeni ile gıda sektörü bakımından en fazla sorun teşkil eden patojenler arasında bulunmaktadır. Diğer birçok zararlı gıda mikroorganizmasının aksine daha düşük sıcaklıklarda (buzdolabı sıcaklığı) gelişim gösterebilmektedir (Posfay-Barbe ve Wald, 2004; Erol, 2007).

L. monocytogenes, tatlı-tuzlu sular, kanalizasyon suları, bitkiler, yemler, hayvan gübreleri, hayvansal kökenli pişmemiş gıdalar, kümes hayvanları, deniz mahsulleri, çiğ veya pastörize edilmiş sütler, peynirler, dondurma, pişmiş-pişmemiş et ve et ürünleri, sebzeler ve meyveler gibi geniş bir alandan izolasyonu sağlanmaktadır (Berктаş ve diğerleri, 2006).

L. monocytogenes'in ana kaynakları arasında sığırlar fazlaca yer kaplamaktadır. Birçok çalışmada, *L. Monocytogenes* sığırların dış yüzeylerinde ve karkaslarda tespit edilmiştir. Sığırların derilerinde bulunan bu patojenler hayvanların kesilmesi ve işlem görmesi esnasında, mezbaha alet ve ekipmanları ile personel gibi farklı yollarla karkaslara ve etlere bulaşmaktadır. Bu şekilde kontamine olmuş et ve et ürünleri yetersiz hijyen ile birleştiğinde insanlarda zehirlenmelere, farklı hastalık ve semptomlara hatta ölümlere bile yol açtığı açıklanmıştır (Erol, 2007; Akkaya ve diğerleri. 2008a, 2008b).

L. monocytogenes, gıdaların hazırlanması sırasında çapraz kontaminasyon ile gıdalara bulaşabilmektedir. Bu kapsamda özellikle gıda işletmelerinde kirli temiz ayırımına uyulması, buna göre hammaddeler ile işlenmiş ürünlerin birbirinden ayrılması, hammaddelerin kontaminasyonunun engellenmesi, işletmede ürün işlemenin her aşamasında (toplama, işleme, taşıma ve satış esnasında) hijyen kurallarına uyulması gerekmektedir (Yerlikaya, 2015). Gıdalarda *L. Monocytogenes*'in belirlenmesinde sıfır tolerans koşulu izlenmektedir. Bunun için 25 g örnekte var/yok testi uygulanmaktadır (Tunail, 2000).

Pamuk ve Sırken (2018)'de, et ürünlerini içeren 100 adet sığır orjinli gıdada *L. Monocytogenes*'in prevalansını araştırmışlardır. *L. Monocytogenes*'i sucuk örneklerinde (0/25) saptamamışlardır.

Büyükunal ve diğerleri (2016) tarafından yapılan bir araştırmada, İstanbul, Afyon, Kayseri ve Adapazarı'nda perakende satış noktaları ve üreticilerden toplanan 132 sucuk örneğinde *L. Monocytogenes* %1,51 (2 pozitif) olarak tespit etmişlerdir.

Gökmen ve diğerleri (2016), Balıkesir ilindeki farklı marketlerde ve restoranlarda satışa ve tüketime hazır et ürünlerini *L. Monocytogenes* yönünden araştırmışlardır. Sucuk örneklerinin hiçbirinde *L. Monocytogenes*'e (0/25) rastlamamışlardır.

Sezer ve diğerleri (2013b), Kars ilinde kasapların doğal metotlar ile yaptıkları fermente sucuklar (30 adet) ile endüstriyel olarak üretilen ısıtılmış sucuk ve sucuk benzeri ürünlerin (10 adet) mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Fermente sucukların 4 tanesinde (%13,33) *L. Monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Yalçın ve Can (2013), Mersin ve Adana illerindeki yaylalarda doğal usuller ile yapılan (yaylalarda satılan ve servis edilen) 60 sucuk örneğinde *L. Monocytogenes* açısından incelenmiştir. *L. Monocytogenes*'i 7 (%11,66) örnekte tespit etmişlerdir.

Öksüztepe ve diğerleri (2011)'de, Elazığ ilinde satışa çıkarılan 100 adet fermente sucuk örneğinin mikrobiyolojik kalitesini incelemişlerdir. İncelenen örneklerin %4'ünde

(4/100) *L. Monocytogenes* bakterisine rastlamışlardır.

Çolak ve diğerleri (2007), İstanbul'daki çeşitli pazarlarda satılan 300 sucuk örneğinde *L. Monocytogenes* varlığını değerlendirmişlerdir. *L. Monocytogenes*'i 35 (%11,6) örnekte belirlemişlerdir.

Kök ve diğerleri (2007), Aydın ilindeki birçok marketten satın aldıkları toplam 100 fermente sucuk numunesinin 4 adedinde (%4) *L. Monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Sancak ve diğerleri (2007), Van ilinde satışa sunulan sucuklarda *L. Monocytogenes*'in mevcudiyetini ve prevalansını tespit etmek amacıyla 20 adet ambalajlanmamış ve 20 adet de vakumlu paketlenmiş olmak üzere toplam 40 sucuk örneğini analize almışlardır. *L. Monocytogenes*, vakumlu paketlenmiş sucuklarda belirlenmezken (0/20), ambalajlanmamış sucuklarda %15 (3/20) oranında identifiye etmişlerdir.

Sancak ve diğerleri (2007), Van'da tüketime sunulan salamlarda *L. Monocytogenes*'in varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla 20'şer adet ambalajlanmamış ve 20'şer adet de vakumlu paketlenmiş olmak üzere toplam 40 salam örneğini analize almışlardır. *L. Monocytogenes*, vakumlu paketlenmiş salamlarda belirlenmezken (0/20), ambalajlanmamış salam %10 (2/20) oranında identifiye etmişlerdir.

Benhalima ve diğerleri (2019), Doğu Cezayir'de toplanan toplam 45 sosis numunesini *L. Monocytogenes* kontaminasyonu bakımından analiz etmişlerdir. Sosiste %2,22 (1/45) oranında *L. Monocytogenes* varlığına rastlamışlardır.

Rodrigues ve diğerleri (2018), Brezilya'da üretilen sosislerde *L. Monocytogenes* varlığını tahmin etmek ve olası kontaminasyonlar ile ilgili konuları belirlemek için 98 sosis numunesi analiz etmişler ve 8 tanesinde (%8,16) *L. Monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Trimoulinard ve diğerleri (2017), Reunion adasında 67 yerel satış noktasından (süpermarketler, manavlar ve kasaplar) 203 sosis örneğini toplamışlardır. *L. Monocytogenes* %5,9 (12/203) oranında varlığına rastlamışlardır.

Modzelewska-Kapitula ve Maj-Sobotka (2014) yılında yayınladıkları bir araştırmada, Polonya'da hazır et ürünlerinin mikrobiyal güvenliğini değerlendirmişlerdir. Çiğ ve pişmiş sosislerde *L. Monocytogenes* varlığını incelemişlerdir. *L. Monocytogenes*'i pişmemiş 180 sosis numunesinin 47'sinde (%26,1) ve pişmiş 1068 sosis numunesinin 19'unda (%1,8) kaydetmişlerdir.

2.5.2.6. *Escherichia Coli*

Escherichia coli; *Escherichia* genusuna bağlı, fakültatif anaerob, genellikle hareketli, sporsuz, çubuk biçimindeki bir bakteridir. Son senelerde, konakçı hücrelerine bakteriyel yapışma modellerini, bağlanmanın etkilerini, toksin yayılması ve üretimini kapsamakta olan virulens faktörleri içeren virotipik gruplandırmaya göre, gastrointestinal hastalıklara sebep olan *E.coli*'nin 5 virotipi bildirir. ETEC, EPEC, EIEC, EHEC ve yeni tanımlanmış olan EaggEC'dir (Temelli, 2002)

Enterohemorajik E. Coli (EHEC) zoonotik orijinli patojenik gruptur ve birçok hayvan türünün sindirim sisteminde bulunabilmektedir. Farklı bilimsel araştırmalar bu etkenin özellikle süt amaçlı yetiştirilen sığırın, memelilerin ve kanatlıların dışkılarından etlerine, sütlerine, su kaynaklarına ve toprağa olmak üzere bütün her yere dağıldıklarını işaret etmiştir (Bosworth ve diğerleri, 1996). Birçok araştırmada geviş getirenlerin, çoğunlukla da sağlıklı sığırın *E. Coli O157:H7* kaynaklı enfeksiyonlara karşı çok dayanıklı oldukları ifade edilmiştir (Mainil, 1999; Wray ve diğerleri, 2000). Dışkılarında yoğun bir şekilde etkenin tespit edilmesi bu serotipin kaynağının sığırın olduğunu ve etrafa dağılmasında etkili olduğunu göstermekte ve bu nedenle sığırın, dünyanın hemen her yerinde *E. Coli O157:H7* enfeksiyonları açısından primer rezervuar şeklinde ifade edilmektedir. Günümüze kadar sığır kaynaklı ortalama 500 EHEC serotipinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Sığırın bu etkeninin neden olduğu enfeksiyonlar semptom vermediği için, *O157:H7* serotipi sığırın açısından konakçısına zarar vermeyen bir etken şeklinde ifade edilmektedir. Ancak sığırın açısından *E. Coli O157:H7* komensal özellik göstermez. Etken bağırsaklarda değişik düzeylerde yangıya neden olmakta beraber, sığırın açısından patojen oldukları ifade edilmektedir. Hastaların sindirim sistemlerine bakıldığında bağırsak mukozalarında minik hemoraji odakları, sınırları belirgin peteşi odakları bulunmakta olup sığırın dışkılarında patojenin aylar boyunca bulunduğu bildirilmektedir. Ancak yoğun şekilde etkenin bulunuyor olması rektum, kolon ve sekumlarında doku harabiyetine sebep olmaktadır. Yapılan son araştırmalarda insan sağlığı açısından son derece tehlikeli olan etkenin yalnızca bulaşık gıdaların ya da suların ağız yolundan alınması ile değil, EHEC yönünden pozitif hayvanlar ve çevre ile temas etmenin de hastalığa sebep olduğu tespit edilmiştir (Ferens ve Hove, 2011; Riley, 2014). İnsanlar her yaşta *E. Coli O157:H7*'nin sebep olduğu enfeksiyonlara duyarlıdır fakat çocukların, yaşlıların ve immun sistemleri zayıf olanların duyarlılıkları daha fazladır. Kırsal kesimde yaşayanlar, çiftliklerde ve kesimhanelerde

çalışanlar bu hayvanlara ait dışkıları ile daha fazla temas etmeleri nedeniyle enfeksiyona daha fazla yakalanmaktadır. Sığırlardan elde edilen gıdaları tüketenler daha fazla risk altındadır. Çoğunlukla salgına neden olan gıdalar hayvanların kesimleri esnasında bulaşmış olan ve yeterli miktar ısıya ulaştırılmadan pişirilen sığır kıyması olarak tespit edilmiştir (Petridis ve diğerleri, 1998). Etken ishale, hemorajik üremik sendroma (HUS), kanlı ishale-hemorajik kolite (HC) ve trombotik trombositopenik purpuraya (TTP) sebep olmaktadır. Bu enfeksiyon hiçbir semptom vermeyeceği gibi sindirim sistemi haricinde de şekillenebilmekte ve ölüm ile sonuçlanabilmektedir (Feder ve diğerleri, 2003; Tarr ve diğerleri, 2005; Kaper ve Karmali, 2008).

2011 tarihli 5996 sayılı numaralı “Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu” nun 4. Maddesi, 639 sayılı numaralı “Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın Teşkilat ve Görevleri Hakkında Kanun Hükmünde Kararname” nin 7. Maddesine göre, ve “Zoonozlar ve Zoonotik Etkenlerin İzlenmesine dair 2003/99/EC sayılı Avrupa Birliği Konsey Direktifi” eşliğinde, besin maddeleri kökenli birtakım zoonoz etkenlerin içerisinde bulunduğu “Türk Gıda Kodeksi Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler, İlgili Antimikrobiyal Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgınların İzlenmesi Yönetmeliği” yayımlanarak yürürlük kazanmıştır. Yönetmeliklerde zoonoz hastalıklar ve zoonotik kökenli patojenler içinde listeriyozis, salmonellozis ile verotoksijenik *E. Coli*’ de bulunmaktadır. İnsan ve hayvan hastalıklarının tedavilerinde yaygın olarak antibiyotik kullanımı *Listeria spp.*, *Salmonella spp.* Ve *E. Coli O157*’yi içine alan pek çok önemli bakteriyel patojenlerin dirençlilik kazanmasına yol açmaktadır (Sakaridis ve diğerleri, 2011).

1884 yılında aynı zamanda mikrobiyoloji ve çocuk hastalıkları uzmanı olan Alman kökenli bilim adamı Theodor Escherich, yeni doğanların gastrointestinal florasında bulunan mikroorganizmalar ve zararları ile ilgili bir araştırma başlatmış olup, araştırma sonucunda (1885); günümüzde *E. Coli* olarak bilinen ve biyolojik anlamda çok hızlı gelişen *Bacterium coli commune* ismini verdiği bakteriyi izole etmiştir (Escherich, 1988; Shulman ve diğerleri, 2007). Theodor Escherich’ in bakteriyi ilk izole eden kişi olması nedeniyle bakterinin bugünkü ismi, 1919 senesinde *E. Coli* olarak yeniden düzenlenmiştir (Shulman ve diğerleri, 2007).

E. coli uzun yıllar boyunca insanların, hayvanların ve kanatlıların sindirim sistemlerinde patojenik bir etki göstermeden yaşayan fakültatif bir mikroorganizma şeklinde düşünülmüştür (Nataro ve Kaper 1998; Wasteson, 2002; Fairbrother ve Nadeau, 2006; Walker, 2008). Fakat 1920 yılına gelindiğinde boşaltım sistemi enfeksiyonu ve 1940’lara

gelindiğinde ise çocukların sindirim sistemlerinde enfeksiyona neden oldukları saptanmıştır (Fratamico ve Smith, 2005). İlerleyen yıllarda, enteritlere, ürogenital enfeksiyonlara, mastitlere, septisemi tablolarına, yara enfeksiyonlarına ve meninjit enfeksiyonlarına neden oldukları tespit edilmiştir (Wasteson, 2002).

Enterobacteriaceae ailesinin temel özelliklerine özgü olarak, *E. Coli*'nin çok miktarda alt türü bulunmaktadır. İlk defa 1921 yılında Dodgeon tarafından *E. Coli*'nin alt türleri arasında bulunan serolojik bağlantılar belirlenmiş olup, 1937 yılında Lowel *E. Coli*'nin somatik ve kapsül olarak iki ayrı antijen bulundurduğunu belirlenmiş olup, 1943' de ise Kauffmann bunların haricinde flagellar antijene sahip olduğunu tespit etmiştir. 1944 yılına gelindiğinde ise Kauffmann, *E. Coli*'nin serolojik olarak sınıflandırmasında kullanılan ve günümüz içinde yenilenerek kullanılan bir şema şekillendirmiştir (Orskov ve Orskov, 1984).

1955 yılında HUS ilk kez üç klinik özelliği ile tanımlanmıştır, bunlar hızlı gelişen böbrek yetersizliği, mikroanjyopatik hemolitik anemi ve trombosit düşüklüğü şeklindedir (Gasser ve diğerleri, 1995). 1977 yapılan araştırmada diareye sebep olan *E. Coli* suşlarının Vero hücrelerini öldüren bir sitotoksin ürettiğini tespit etmişler ve adını verotoksin (VT) olarak koymuşlardır (Konowalchuck ve diğerleri, 1977). 1982 yılında Oregon ve Michigan' da çok ciddi bir kanlı diare semptomları ile seyreden iki salgın meydana gelmiş olup ve hazır gıda şeklinde tüketilen hamburgerlerin tüketilmesiyle ilişkilendirilmiştir (Riley ve diğerleri, 1983). 1983'de ise ABD'de hemorajik kolit salgınında yer alan *E. Coli O157: H7* suşunun şiga toksini oluşturduğunu tespit edilmiştir (O'Brien ve diğerleri, 1982).

1980' li yılların sonlarına gelindiğinde ise Almanya'da HUS ile ilişkili oldukları tespit edilen, stx2 geni içeren ve *E. Coli O157:H7*' den farklı (SF) sorbitol fermentasyon yeteneği daha hızlı olan ve hareket yeteneği olmayan (NM) sorbitolü fermente edebilen *E. Coli O157:H?* Tespit edilmiş olup, bundan sonraki yıllarda çok fazla (%3,2 ila %17,7) oranında Hemorajik Üremik sendrom vakasından mesul oldukları ifade edilmiştir. Temel özellikler bakımından virülans özellikleri itibariyle STEC serotip *O157:H7*'ye benzemelerine rağmen, (SF) sorbitolü fermente edebilen *O157:H?* Suşlarında stx2, eae- γ 1, etp, EHEC hlyA ve haricen spf genleri bulunmakta olup, katP ile espP genleri bulunmadığı bildirilmiştir (Karch ve Bielaszewska, 2001). SF sorbitolü fermente edebilen *O157:H?* Suşlarında, *E. Coli O157:H7* suşlarına adezyon özelliği (Iha) ve tellürit direnci edindiren patojenite adası TAI (tellurite resistance and adherence-conferring island) bulunmadığı ifade edilmektedir (Tarr ve diğerleri, 2000).

Patojen etkili mikroorganizmaların, konakta enfeksiyona neden olabilen minimum mikroorganizma sayısı miktarları minimum efektif doz (MID) olarak adlandırılmaktadır. *E. Coli*'ye ait serotiplerin enfeksiyona neden olabilmeleri için belirli bir dozda ya da koloni sayısı şeklinde konakçı vücuduna yerleşmeleri gerekmektedir. *Enterohemorajik E. Coli O157*'nin (EHEC) minimum efektif dozu 10 ile 100 koloni arasında olmakla beraber, bu miktar sayı olarak oldukça düşüktür. O157 haricindeki EHEC suşlarına ait minimal efektif doz miktarları ise O157'den biraz daha fazladır. Semptomlar ise genel olarak 3 ile 4 gün arasında şekillenmektedir. *Enterotoksijenik E. Coli* (ETEC) serotiplerinin minimum efektif dozu, yetişkinler için 10 milyon ile 10 milyar koloni arasında değişmekle birlikte, çocuklarda daha düşük dozlar enfeksiyona sebep olmaktadır. Enfeksiyon tablosu genel olarak bulaşık gıdanın tüketilmesinden ortalama 26 saat sonra ortaya çıkmaktadır (FDA, 2012).

Enterohemorajik E. Coli O157 insanlar açısından meydana gelen hastalık tablolarında en fazla izolasyonu yapılan alttırdür. Patojenik anlamda tarifi yapıldığı ilk andan itibaren minimum enfeksiyon dozu bakımından *Enteropatojenik E. Coli* (EPEC) serotipleri bebeklerde çok düşük dozlarda bile enfeksiyona neden olabilmektedir. Yetişkinler için ise bu miktar 10 milyon ile 10 milyar koloni arasında değişmektedir. Enfeksiyon tablosu ise genel olarak bulaşık gıdanın tüketilmesinden ortalama 4 saat sonra gelişmektedir. *Enteroinvaziv E. Coli*'nin (EIEC) minimum efektif dozu 10 kolonidir. Enfeksiyon tablosu ise genel olarak bulaşık gıdanın tüketilmesinden ortalama 12-72 saat sonra şekillenmektedir (FDA, 2012).

2.5.2.7. *Vibrio Cholera*

Vibrinoceae familyası; virgül şeklinde, gram negatif, polar flagellalarıyla hareketşeri olan, fakültatif anaerob, katalaz ve oksidaz pozitif basillerden meydana gelmektedir. *Vibrio* türleri; D-glikoz, dekstrin, glikojen, N-asetil-D-glikozamin, Dfruktoz, maltoz, D-trehaloz, metil pirüvat, L-asparjin asonitat, L-prolin ya da inosini karbonhidrat kaynağı şeklinde kullanılmaktadırlar (Doğruer ve diğerleri, 2022).

Vibrio cinsi bakteriler nehir ağzı ve tatlı suların sakinleridir. Bazı türler insanlar, deniz omurgalıları ve omurgasızlar için patojeniktir. Üç ana tür; *Vibrio cholerae*, *V. Parahaemolyticus* ve *V. Vulnificus* insan enfeksiyonlarının çoğundan sorumludur (Bahunia,

2008). İnsanlarda, bazı *vibrio* türleri, kontamine yiyecek veya suyun tüketilmesinin ardından gastroenterite ve ciltte önceden var olan kesikler veya sıyrıklar kontamine su veya deniz ürünleri ile temas ettiğinde septisemiye neden olabilir. *Vibrio*'lar, kontamine su ve balık ürünlerinden kaynaklanan sürekli hastalık yükü nedeniyle hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde bir endişe kaynağı olarak görülmektedir.

2.7.2.8. Shigella

Enterobacteriaceae familyasına üye olan *Shigella*'lar gram negatif, hareket yetenekleri olmayan, spor oluşturmayan, fakültatif anaerob ve insanlar için patojenik bir basildir. Shigellalar hareket yeteneklerinin olmamasıyla *Salmonella*'lardan ayrılmaktadır. (Ertürk, 2002)

Shigella bakterileri, shigeloz adı verilen bir enfeksiyona neden olur. *Shigella* enfeksiyonuna sahip çoğu insanda ishal (bazen kanlı olabilir), mide krampları ve ateş görülür. Semptomlar genellikle enfeksiyondan 1-2 gün sonra başlayıp, genellikle 7 gün sürer. Çoğu insan antibiyotiğe gerek kalmadan iyileşir. Bu durumun yanında, ciddi hastalığı olan ve altta yatan bağışıklık sistemini zayıflatan hastalıkları olan kişilere antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Verilen antibiyotik tedavisi hastalığın süresini kısaltabilir (ortalama 2 gün) ve hastalığın başkalarına yayılmasına engel olabilir. Ellerinizi sık sık sabun ve akan bir su ile yıkamak ve diğer hijyen önlemlerini almak hastalıktan korunmada yardımcı olmaktadır (CDC, 2021).

Shigella enfeksiyonlarının neredeyse %20'sinde tavuk eti ya da deniz ürünlerini içermekte olan salatalar, çiğ olarak tüketilmekte olan sebzeler, çiğ kıyma ve diğer deniz ürünleri, belli şartlarda üretilmemekte olan içme suyu benzeri yiyecekler aracılıkla bulunur. Kontaminasyon, sıcak ülkelerde su ve gıdaların insan dışkıyla kirletilmesi ile ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple, en büyük etkenin su ve su kaynakları olduğu düşünülmektedir. Bulaşıcı olduğu ve yiyecekler ile aktarıldığı fakat, yiyeceklerin bahsedilen bakterilerin artmasına fırsat sunduğu, yalnızca vektör olduğu da açıktır (Baylis ve diğerleri, 2006; Halkman, 2013; Sağlam ve Şeker, 2016).

2.7.2.9. *Salmonella*

Salmonella cinsi, *Enterobacteriaceae* ailesi altında sınıflandırılmakta ve *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olmak üzere iki türden oluşmaktadır. Bu iki türden, sıcak kanlı memelilerin bağırsak florasında bulunan *S. Enterica* ise; *S. Enterica subsp. Salamae*, *S. Enterica subsp. Arizonae*, *S. Enterica subsp. Diarizonae*, *S. Enterica subsp. Houtenae* ve *S. Enterica subsp. Indica* olarak adlandırılan altı alt türe ayrılmaktadır. Bu alt türlere ait suşların büyük bir çoğunluğunun insanlar ve diğer memeliler için patojen özellikte olduğu belirlenmiştir (Popoff ve diğerleri, 2005; Threlfall ve diğerleri, 2005). Genellikle sıcakkanlı hayvanların bağırsak sistemlerinde kolonize olma yeteneğine sahip bu bakteriler; yüksek sıcaklık ve asitlik derecesi, düşük su aktivitesi gibi stres koşullarına kolayca adapte olabilirler. Bu sebeple, çok farklı çevresel koşullara sahip habitatlarda ve bitkiler üzerinde canlılıklarını uzun süreler koruyabilirler (Kaufman, 1998; White ve diğerleri, 2006).

Salmonella cinsi; Gram-negatif, küçük ve kısa (0,7-1,5 × 2,0-5,0 µm) çubuk morfolojisinde ve *Enterobacteriaceae* ailesinin tüm karakteristik özelliklerini barındıran üyelerden oluşmaktadır. *Salmonella* cinsinin tüm türleri fakültatif anaerob (düşük oksijen varlığını tolere edebilen) özelliktedir. 37 °C inkübasyon sıcaklığında, 24-48 saat sonunda küçük, yuvarlak ve S-tipinde koloniler oluştururlar. Sıvı besiyerinde ise homojen şekilde üreyip, hafif bulanıklık meydana getirirler. *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hareketsiz *Salmonella* serotipleridir. Hareketli serotipler, hareketlerini genellikle peritrik flagella ile sağlarlar (Kaufman, 1998; White ve diğerleri, 2006).

Salmonella cinsi üyelerinin sınıflandırılmasında, esas olarak antijenik yapılarından yararlanılmaktadır. Serotiplendirme işlemi, alt türlere ait bireylerde antijenik farklılıkların belirlenmesi olarak tanımlamak olasıdır. *Salmonella* için bu işlem, Kauffmann-White-Le Minor şemasından faydalanılarak gerçekleştirilmektedir. Kauffmann-White-Le Minor şemasında, antijenik farklılıkların tanımlanmasında belirleyici başlıca unsurlar; flagellar “H”, somatik “O”, virülans “Vi”, ve kapsüller “K” antijenleridir. *Salmonella* serotiplendirmesinin ilk yıllarında bu şema kapsamında 20 serotip yer alırken, günümüzde sadece *S. Enterica* türüne ait serotip (ya da serovaryete) sayısı 3000’e yaklaşmıştır (Ahmer ve diğerleri, 1998; ISO, 2012). *Salmonella* izolasyonu ise, tüm dünyada “altın standart” olarak kabul edilmiş olan ISO 6579 standardına göre gerçekleştirilmektedir (ISO 2012).

Salmonella enfeksiyonları, temelde çapraz kontaminasyon olasılığının yüksek olması nedeniyle, kısa sürede ve büyük bir hızla yayılma karakteristiği göstermektedir. Buna ilave olarak, nerede ise tüm suşlarında bulunan biyofilm oluşturma yetenekleri sayesinde, kontamine ettikleri çeşitli habitatlarda uzun süre canlılıklarını, kalıcılıklarını ve sürekliliklerini koruyabilmektedirler. *Salmonella* biyofilm yapıları, doğal ekosistemlerde tek tür bakteriden oluşabildiği gibi, birkaç tür bakteri topluluğunun bir araya gelmesi ile de oluşabilmektedir. Özellikle birden fazla türün oluşturduğu kompleks biyofilm yapılarında; bakteriler arası yatay gen transferinin gerçekleşmesi için uygun fiziksel temas ortamı oluşturularak, genetik çeşitliliğin ve elastisitenin artışı tetitklenmektedir. Bu olayın en tipik sonucu; enfeksiyon hastalıklarla mücadelenin en büyük sorunlarından biri olan patojen bakterilerdeki çoklu antibiyotik dirençliliğin ortaya çıkışı ve bu durumun, kontrolsüz antibiyotik kullanımının yarattığı seçici baskı nedeniyle giderek yaygınlaşmasıdır. *Salmonella* biyofilm yapıları; başta memeli ve kanatlı hayvanların bağırsakları olmak üzere; kümes ortamında, büyükbaş hayvan ahırlarında, marketlerde satışa hazır bulunan tavuk karkaslarında ve kırmızı etlerde, sebzelerde, bazı uzak doğu ülkelerinde kurulan vahşi hayvan pazarlarında ve ülkemizde hizmet veren kanatlı ve büyükbaş hayvan kesimhanelerinde, çok sık gözlenmektedir. Kemirgenlerin, bahsi geçen tüm bu yetiştirme ve satış alanlarında bol miktarda bulunmaları ve sıklıkla yer değiştirmeleri, onları *Salmonella* bulaşının ve yayılmasının ana vektörlerinden biri haline getirmektedir. Diğer potansiyel *Salmonella* taşıyıcısı mamul ya da yarı mamul gıdaların üretim ya da dağıtım yerlerindeki hijyen koşullarının yetersizliğinden kaynaklanan bulaşılara ilave olarak, özellikle kanatlı hayvanların yetiştirildiği kümes ve kesimhanelerdeki *Salmonella* bulaşları, çevre ve halk sağlığı için, dünya genelinde önemli sorunlar oluşturmaktadır. *Salmonella* halen, gıda kaynaklı enfeksiyonlara bağlı morbidite sıklığında dünyada ikinci sırada ve aynı enfeksiyonlara bağlı mortalite sıklığında ise, ilk sırada yer almaktadır. Bu sebeple, bu gıdaları tüketen bireyler yüksek salmonelloz riskini taşımaktadır (Ahmer ve diğerleri, 1998; Zhang ve diğerleri, 2000; Hohmann, 2001; Popoff ve diğerleri, 2005; Threlfall ve diğerleri, 2005).

Salmonella'ların sebep olduğu enfeksiyonlar genellikle kontamine gıdanın tüketilmesinden 12-36 saat sonrasında belirti göstermeye başlamaktadır. Abdominal kramplar, mide kasılmaları, şiddetli ishal ve yüksek ateş enfeksiyonun ilk semptomlarıdır. Bazı durumlarda şikayetlere baş ağrısı, kusma ve mide bulantısı da eklenebilmektedir. Salmonellozis ilaçla tedavi edilmediği durumlarda genellikle 2-5 gün

arasında kendiliğinden düzelmektedir ancak hafif ishal ve ateş 14 güne kadar devam edebilmektedir. (Atasever, 2017).

Et, tavuk, süt ve deniz ürünleri, çocuk mamaları, salatalar, kuru çorbalar, pastane ürünleri, hazır yiyecekler bulaşma konusunda araçlardır. Bu yiyeceklerdeki türlerse *Salmonella Enteritidis* ve *Salmonella Typhimurium*'dur (Linam ve Gerber, 2007; Finstad ve diğerleri, 2012; Sağlam ve Şeker, 2016).

2.7.2.10. *Yersinia Enterocolitica*

Enterobacteriaceae familyasına ait olan *Yersinia* türü bakteriler gram negatif, kokobasil görünümünde ve fakültatif anaerob olan bakterilerdir. *Yersinia* türleri psikrotrof bakteri özelliği göstererek, -1.3-42 °C'ler arasında üremelerine devam edebilirken optimum üreme sıcaklıkları 28-30 °C'dir. Ayrıca, 4.2-9.6 pH değerleri arasında gelişim gösterebilirlerken, optimum pH aralığının 7.0-7.2 değerleri arasında olduğu bildirilmektedir. Su aktivitesinin 0.96'nın üzerinde olduğu ortamlarda iyi gelişmektedirler. *Yersinia* türleri arasında besin kaynaklı hastalıklar yönünden en fazla öneme sahip olan türün özellikle *Y. Enterocolitica* olduğu bilinmektedir (Chlebicz ve Ślizewska, 2018).

Yersinia enterocolitica, insanlarda hafif bir ishalden, akut apandisit veya crohn hastalığını taklit edecek düzeyde ağır seyredabilen enterokolite, hatta sepsise kadar giden farklı klinik tablolara neden olabilmektedir (Abdel-Haq ve diğerleri, 2000). Çiğ ve pastörize süt, çikolatalı süt, krema, peynir, dondurma, tereyağı, hamburger, sığır, domuz ve tavuk eti, et ürünleri, istiridye, balık ve çeşitli sebzeler bu mikroorganizma yönünden riskli besinlerdir. Özellikle düşük ısı derecelerinde muhafaza edilen kontamine besinler *Yersinia enterocolitica* ile enfeksiyon riskini artırmaktadır (Jay ve diğerleri, 2005). *Yersinia enterocolitica*'nın hastalığa neden olan minimum dozu 10⁹ hücre/g'dir. Hastalığın ortaya çıkmasında serotipler önemlidir. İnsanlarda hastalığa neden olan serotipler arasında O:3, O:8, O:9 ve O:5 yer almaktadır. Kontamine besinler ile alınan bakteri, alındıktan 16-48 saat sonra ateş, kusma, karın ağrısı ve ishale neden olur. Belirtiler genellikle 5-14 gün sürer. *Yersinia enterocolitica* enfeksiyonlarına özellikle çocuklarda yetişkinlere oranla daha sık rastlanmaktadır. (Bottone, 1999).

2.7.2.11. *Brucella*

Brucella spp., gram negatif, aerobik, hareketsiz, kapsülsüz ve sporsuz bakterilerden oluşur (Greene ve Carmichael, 2015). Farklı türlere sahiptir, her biri bulunduğu konaktan etkilenir, bu nedenle konağın, morfolojik, metabolik özelliklerine, serotipleme ve fenotiplemeye göre tanımlanırlar (Wanke, 2004).

Brucella etkenine ait antikolar, Güney Amerika'daki kedilerde de tespit edilmiştir. Etkenin oral olarak alımından sonra deneysel olarak enfekte olmuş 14 kediden 3'ünde bakteriyemi gelişmiş ve aglütine edici antikolar tespit edilmemiştir (The Center for Food Security & Public Health (CFSPH), 2018). *B.canis* antikoları vahşi doğada da zaman zaman bildirilmiştir (CFSPH, 2018). Deneysel enfeksiyonlar, insan olmayan primatlar, laboratuvar kemirgenleri (fareler, kobaylar) ve tavşanlarda kurulmuştur. Koyun, domuz ve sığırların oral ve konjonktival aşılama ile enfeksiyona karşı oldukça dirençli olduğu; ancak sığırlarda *B.canis* ile seyrek görülen enfeksiyonlar bildirilmiştir (CFSPH, 2018)

Bruselloz, özellikle Akdeniz, Avrupa ve Kuzey Afrika, Orta Doğu, Güney ve Orta Asya ile Orta ve Güney Amerika ülkelerinde ve dünyanın birçok yerinde önemli bir zoonoz hastalıktır. Bu kadar yaygın olmasına rağmen genellikle teşhis edilemez ve sıklıkla bildirilmez (Corbel, 2006). *Brucella*, Türkiye ve çevresi dahil olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde endemiktir. Dünyada hastalığa olan duyarlılık birçok koruma ve kontrol programı (pastörizasyon, gıda hijyeni vb.) sayesinde özellikle kentsel bölgelerde azalma olmuştur. Bu önlemlerle birlikte yıllar içerisinde görülme oranında azalma olmakla birlikte, hastalığın halk sağlığı ile ilişkisi devam etmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde, özellikle kırsal güneydoğuda, serbest dolaşan köpeklerde *B.canis* prevalansının yüksek olduğu bildirilmiştir (Holleth, 2006). *B.canis*'e ait antikor aramak için bölgede yaşayan köpeklerden alınan örneklerin kullanıldığı çalışmalarda (Marassi ve diğerleri, 2004; Ferreira ve diğerleri, 2007) Rio de Janeiro'da %7,2 ve %2,2'lik bir yaygınlık bildirilmiştir. Nijerya'da 739 köpek test edilmiş, %10,39'u hızlı serum aglütinasyon testi (SAR) ile *B.canis*'e karşı antikor ve Rosa Bengal testinde *B.abortus* için %12,72 seropozitiflik göstermiştir (Ayoola ve diğerleri, 2016). Macaristan'da, *B.canis*'in ilk salgını 2009 yılında gerçekleşmiş ve aynı ortamdan 31 köpeğe bulaşmıştır (Gyuranecz ve diğerleri, 2011). Avustralya ilk *Brucella canis* enfeksiyonunu, bir kulübede patojen plasentanın ve fetüslerin doğrudan ve immüno histokimyasal kültüründe izole edilerek tespit

edilmiştir (Hofer ve diğerleri, 2012). Chinyoka ve diğerleri 2014 yılında Zimbabwe’de, *B.canis* serolojik araştırmasında IgG’yi saptamak amacıyla ImmunoComb® Antikor Test Kiti kullanarak, örnekledikleri 324 köpeğin % 17,6’sında bir yaygınlık elde etmiştir.

En yaygın bulaşma, enfekte köpeklerin abortusu sonucu ortaya çıkan plesanta ve dokuların ya da abortus sonrası akıntı ile bulaşık gıdaların diğer hayvanlar tarafından yenilmesiyle olmaktadır. Süt, salya, nazal sekresyon, sperma ve idrar etken içerebilmekte ve bulaşma açısından önem taşımaktadır (Carmichael ve Joubert, 1988). Bakteriler; oro-nazal, konjonktival veya vajinal mukoza teması (Carmichael, 1990; Pretzer, 2008) sonucu alınabilir. Erkek köpeklerde ise spermle yayılır (Carmichael ve Joubert, 1988). Enfeksiyon, enfekte olmayan bir dişi köpek ile enfekte bir erkek köpeğin çiftleşmesinden sonra gelişebilir (Greene ve George, 1984). Bakteriler her iki cinsiyette de idrarla atılır.

Brusellozis, kişilerde birtakım farklı belirtileri bulunan sistemik enfeksiyon olarak nitelendirilebilir. Kişilerde Brusellozise sebebiyet veren türler içerisinde akut ciddi hastalık tablosuna sebep olan ve komplikasyonlara sebep olan en virulent tür *B. Melitensis*’tir (Xavier ve diğerleri, 2010). *B. Suis* enfeksiyonlarıysa daha çok subakut ve kronik seyirli, suppuratif destrüktif lezyonlar ile seyredir. *B. Abortus* sporadik seyirli ve daha az komplikasyonu olan bir enfeksiyon oluşturur iken, *B. Canis* genel olarak sinsi başlangıçlı, sık sık tekrar eden, kronik hale gelen bir enfeksiyona sebebiyet verir (Young, 2006; Xavier ve diğerleri, 2010). Hastalık geceleri artmakta olan belirtiler ile başlamaktadır (Godfroid ve diğerleri, 2011).

Abort sonrası vajinal akıntılar yüksek düzeyde bakteri içerir ve diğer köpekler ve insanlar için bir enfeksiyon kaynağıdır (Carmichael ve Joubert, 1988). Kastrasyondan sonra bile, köpekler hala enfeksiyon kaynağı olurlar. Çünkü bakteriler prostat ve lenfoid dokularda kalmaya devam edebilir (Carmichael ve Zoha, 1984)

Sütteki bakteri sayısı yüksek olmakla birlikte yavruların intrauterin olarak etkeni almalarından dolayı başka yavruların emmesi söz konusu olmadıkça yayılma açısından çok önem taşımamaktadır. Salya, nazal ve oküler salgılar ve dışkıda da etken izole edilmiş olmakla birlikte bunlardaki bakteri konsantrasyonu düşük olduğu bildirilmektedir (Kalender ve Küplülü, 2002).

İnsanlar genellikle etkenleri, sindirim veya mukozal temas ve hasarlı cilt ile kontaminasyon sonucu alırlar. Olgu raporlarında, *B.canis* enfeksiyonları insanlarda; köpekler ile yakın temastan sonra veya çalışmalar sırasında etkene büyük oranda maruz

kaldıktan sonra meydana gelir. Bununla birlikte, bakteri kaynağının belirlenemediği klinik durumlar da olmuştur. Teorik olarak mümkün olmasına rağmen, *B.canis*'in kişiden kişiye bulaştığı bir vaka raporu yoktur (CFSPH, 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışma için kullanılacak kuru incirler Aydın'da 4 farklı pazardan 1 Aralık 2021 ile 30 Aralık 2021 tarihleri arasında 10 örnek olarak toplanmıştır (Tablo 2.). Pazarda kuru incirler alınırken steril eldiven kullanılmış veya satıcı poşete koyduktan sonra alınmıştır.

Tablo 2. Çalışmanın materyallerinin toplama zaman ve alanları.

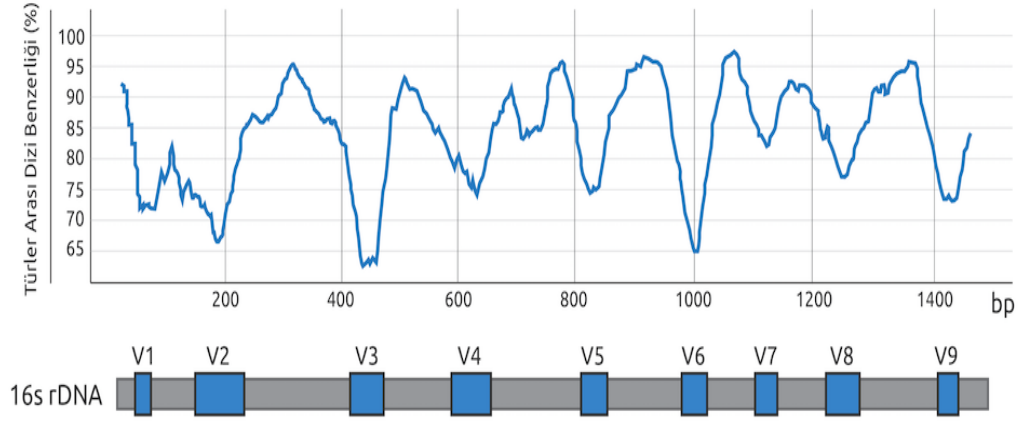
Sıralama	Tarih	Örnek materyallerin alındığı alan
1	07.12.2021	Aydın Salı Pazarı
2	09.12.2021	Aydın Perşembe Pazarı
3	18.12.2021	Aydın Cumartesi Pazarı
4	22.12.2021	Aydın Çarşamba Pazarı
5	01.03.2022	Aydın Salı Pazarı
6	09.03.2022	Aydın Çarşamba Pazarı
7	19.03.2022	Aydın Cumartesi Pazarı
8	27.03.2022	Aydın Pazar Pazarı
9	31.03.2022	Perşembe Pazarı
10	06.04.2022	Çarşamba Pazarı

Çalışma kapsamında farklı DNA numunelerinin metagenomik yaklaşımlar ile bakteriyel ve arkeal profilinin çıkarılması hedeflenmiştir. Bu amaçla 16S rRNA geni içindeki V3-V4 bölgeleri hedefli olarak yeni nesil dizileme uygulaması gerçekleştirilmiştir.

3.2. Yöntem

16S rRNA tabanlı metagenomik analizlerde, 16S rRNA geninin bir bölgesi hedefli olarak PCR ile zenginleştirilip, elde edilen tüm PCR ürünleri dizilenmektedir. Ribozomal RNA'ların kodlanmasını sağlayan yaklaşık 1500 baz uzunluğundaki bu gen, büyük oranda tüm bakteri ve arkea türlerinde bulunmaktadır. Gen içerisinde son derece korunmuş bölgeler yer almakla beraber, aynı zamanda farklı bakteri türlerinin filogenetik olarak sınıflandırılmasına olanak verecek kadar değişkenlik gösteren bölgeler de içermektedir.

Genetik dizi olarak değişkenlik gösteren bu bölgeler “variable” (V1, V2, V3 ...) olarak isimlendirilir (Şekil 1.).



Şekil 1. 16S rRNA Gen Bölgesi ve Değişken (Variable) Bölgeleri.

Farklı türler arasındaki 16S rRNA variable bölgelerindeki dizi farklılıkları, evrimsel uzaklık ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu sebeple 16S rRNA dizisi, farklı bakteri türlerinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Şu ana kadar yapılmış çok sayıda çalışma ile kültür ve çevresel örneklerden elde edilmiş sayısız bakteriyel türünün 16S rRNA dizileri çıkarılmıştır. Bu diziler, Green Genes , Ribosomal Database Project ve SILVA da dahil olmak üzere çeşitli veri tabanlarında kayıt altına alınmıştır. Yeni nesil dizileme gibi yöntemlerle elde edilen yüksek hacimli dizi verileri, bu veritabanları ile kıyaslanarak tespit edilen DNA parçalarının hangi türe ait olduğu oransal olarak hesaplanabilmektedir.

3.2.1. Çalışmanın Hazırlanması

Pazardan alınan incirler 50 ml’lik falkonlara alındıktan sonra 30-40 ml T.E. Buffer eklenerek çalkalanmış ve vortekslenmiştir. Daha sonra 10 dakika santrifüjlenir (5000 rpm, +4 °C) ve supernatant uzaklaştırılmıştır. Atılmayan supernatant ve pellet 1.5 ml’lik tüplere alınarak 10 dakika santrifüjlenmiştir (5000 rpm, +4 °C). Supernatant uzaklaştırıldıktan sonra pelletler soil kit SPB buffer kullanılarak üretici firmanın önerdiği aşağıda açıklanan modifiye protokol kullanılarak homojenize edilmiştir (GeneMark, Taiwan).

1. Pelletler, 1 ml SPB Buffer ile vortekslenerek homojenize edilecek ve 1 dakika boyunca +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlenmiş, supernatant atılmıştır.

2. Örneğe 720 µl GBA Buffer eklenmiş ve 15 saniye vortekslenmiştir.

3. 180 µl GB Buffer eklenecek ve homojen bir çözelti oluşması için vortekslenmiş, 1 dakika boyunca +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlenmiş ve supernatant temiz 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.

4. 150 µl BF Buffer eklenecek ve 5 saniye vortekslenmiş,. 4 °C'de 5 dakika boyunca inkübe edilmiştir. 1 dakika boyunca +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlenmiş ve supernatant temiz 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.

5. 1 ml BH Buffer eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.

6. Hazırlanan lizat C2 santrifüj kolonuna aktararak (2 ml'lik bir toplama tüpü içinde), 1 dakika boyunca +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlene edilmiştir. Alttaki sıvı atılarak ve C2 kolonu toplama tüpüne tekrar yerleştirilmiştir.

7. C2 santrifüj kolonuna 600 µl PW Buffer eklenerek ve +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlenmiş, alttaki sıvı atılarak ve C2 kolonu toplama tüpüne tekrar yerleştirilmiştir.

8. 1.adım tekrarlanmıştır.

9. Boş kolon 2 dakika boyunca +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlenmiş ve toplama tüpü atılmıştır.

10. C2 santrifüj kolonu 1.5 ml'lik yeni toplama tüpüne yerleştirilerek, 50-100 µl TE Buffer membrana bırakılmıştır. Oda sıcaklığında 3-5 dakika inkübe edilerek, 2 dakika boyunca +4 °C'de 12.000 rpm'de santirüjlenmiştir.

İzolasyon sonrasında her bir DNA örneğindeki 16S rRNA V3-V4 bölgelerinin zenginleştirilmesi için 16S Forward ve 16S Reverse kodlu 16S Universal Eubakteriyal primerler kullanılmıştır. Klindworth ve diğerleri (2012)'ın gerçekleştirdiği kapsamlı çalışmada, seçilen bu primerler, en yüksek etkinlik sunan primer seti olarak seçilmiştir.

Projede, kütüphane hazırlığı sırasında 2 basamaklı PCR işlemi gerçekleştirilmiş. Bu işlemlerde, PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (Takara, Japan, #R050B) enzimi kullanılarak her bir örnek için ayrı ayrı 25 döngülü PCR gerçekleştirilmiştir. Birinci PCR aşamasında, 95°C'de 3 dk. Ardından 25 döngü boyunca 95°C-30sn + 55°C-30sn + 72°C-30sn; ve son olarak tek döngü 72°C'de 5dk. Koşulları uygulanmıştır.

16S Forward (CCTACGGGNGGCWGCAG)

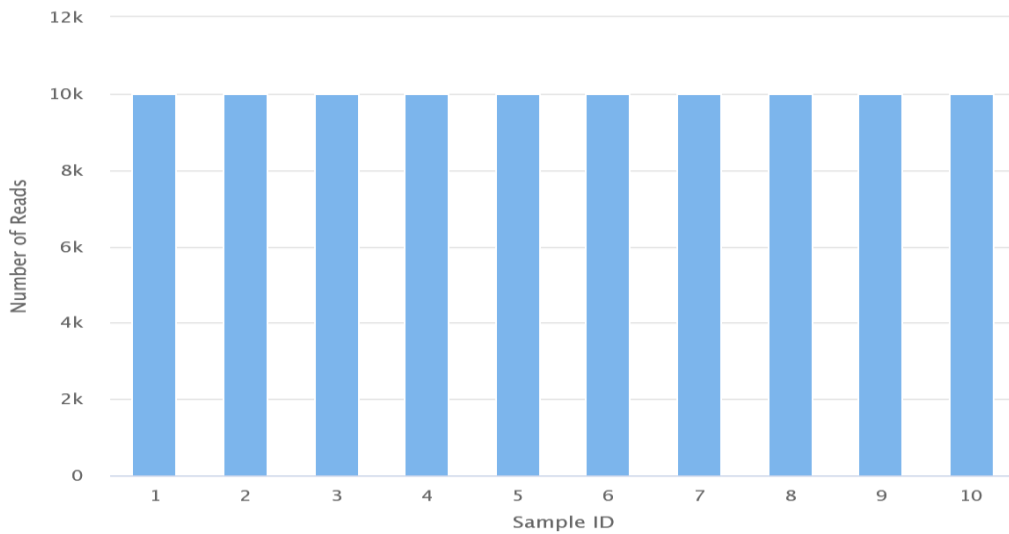
16S Reverse (GACTACHVGGGTATCTAATCC)

İkinci PCR uygulamasında, Illumina index ve adaptör dizilerinin eklenmesi için Nextera XT Index Primer 1 ve Nextera XT Index Primer 2 setleri (illumina, USA, #FC-131-2001) kullanılmıştır. Bu PCR aşamasında, 95°C’de 3 dk. Ardından 8 döngü boyunca 95°C-30sn + 55°C-30sn + 72°C-30sn; ve son olarak tek döngü 72°C’de 5dk. Koşulları uygulanmıştır. Her iki PCR işlemi sonrasında Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA, #A63881) kiti ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

PCR sonrasında, hazırlanan kütüphanenin Qubit florometresi ile ölçümü yapılmış ve normalizasyon sonrası dizileme işlemine alınmıştır. Belirtilen protokolün detaylarına illumina’nın 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation 1 dokümanından erişilebilir.

3.2.2. Dizileme

Dizileme uygulaması, Refgen tarafından (Refgen Biyoteknoloji, Turkey), NextSeq 550 (Illumina, USA) yeni nesil dizileme platformu ve NextSeq 550 High Output Reagent kiti (Illumina, USA, #20024908) ile çift yönlü (2x150bp) okuma ile ve üretici firma yönergeleri 2 takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnek başı okuma değerleri Şekil 2.’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Örnek başına elde edilen ve cins seviyesinde tanımlanan ve tanımlanamayan okuma sayıları.

Kalite kontrolü geçen okumalar, farklı taksonomik seviyelerde en yüksek benzerlik gösteren taksonomik birime atanmıştır. Aşağıdaki grafikte, her bir örnekte tespit edilen toplam okuma sayıları ve cins seviyesine kadar bir taksonomik birime tanımlanmış (açık mavi renkli) okumalar gösterilmiştir. Varsa koyu mavi renkli çubuklar, cins seviyesinden daha üst taksonomik birime atanmış okumaları göstermektedir.

3.2.3. Biyoinformatik Analiz

Dizileme işlemi sonrasında, elde edilen okuma verilerinin kalite kontrolü amacıyla FASTQC aracı kullanılmıştır. Kalite kontrol sonuçlarına göre her bir örneğin, veri miktarları, okuma kaliteleri, GC dağılımları, kmer dağılımları, olası adaptör kontaminasyonları incelenmiştir. Dizileme sürecinde, ham okuma verilerindeki düşük kalitedeki baz okumaları ve olası adaptör-indeks kontaminasyonlarının sonraki analiz basamaklarında sapmalara neden olmaması için, okumalardan kırılmıştır. Kalite değerlerine göre kırma işlemleri için Trimmomatic (v0.39) aracı kullanılmıştır (Bolger ve diğerleri, 2014). Bu basamakta, okuma uçlarındaki düşük kaliteli baz okumaları, olası adaptör kontaminantları ile kimerik diziler, Genomes OnLine Database (GOLD) temel alınarak ve Trimmomatic aracı ile kırılmıştır. Taksonomik profillendirme için okumalar, Kraken aracı kullanılarak SILVA (2022) veritabanı temel alınarak hedef organizmalara hizalanmıştır. Hizalama sonrasında her bir örnekteki OTU grupları belirlenmiştir. Çeşitlilik endekslerinin hesaplanmasında Revegan paketi kullanılmıştır (Wood ve diğerleri., 2019; Quast ve diğerleri., 2013). Verilerin raporlanması, istatistik analizleri ve veri görselleştirme çalışmalarında R betikleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmanın amacına uygun olarak Aydın ilinden açıkta satılan kuru incir örneklerinde çapraz kontaminasyon sebebiyle bulunabilecek patojen varlığının araştırılması sonucunda elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

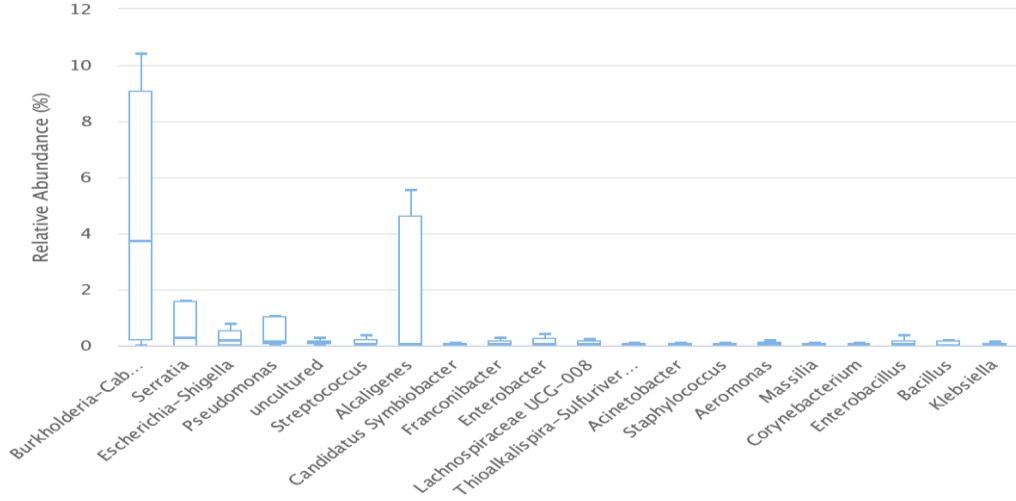
Her bir örneğe ait okumaların farklı taksonomik basamaklardaki birimlere ne oranda tanımlanabildiği Tablo 3.'de gösterilmektedir.

Tablo 3. Her bir örneğe ait okumaların farklı taksonomik basamaklardaki birimlere dair tanımlanması.

Örnek	Alem	Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins
1	1370517	1070599	775629	482459	202583	62128
2	1338315	1038353	742311	452346	253190	109259
3	1375173	1075202	806060	541865	340801	157690
4	1560611	1260626	961965	666583	410117	191353
5	1719183	1419246	1121251	826238	536268	262414
6	1384893	1085404	797028	527069	346396	170963
7	1685583	1385615	1086546	788033	491915	244228
8	1632514	1332582	1034632	738641	475200	233351
9	1781896	1481912	1183181	884864	588271	293475
10	1420422	1120449	835082	560433	333557	156378

Tablo 3.' de görüldüğü gibi tür seviyesindeki düşüş 16S rRNA temelli çalışmalarda beklenen bir durumdur. Seçilen bölgeler (V3-V4) açısından bazı türlerin dizi olarak farklılık göstermemesinden kaynaklanmaktadır.

Tüm numunelerde en yüksek oranda görülen 20 cins listelenmiştir (Şekil 3.). Sıralama, ilgili cinsin tüm örnekler dikkate alındığında, medyan değerine göre gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. Tüm numunelerde en yüksek oranda görülen 20 cins.

Aşağıdaki Tablo 4.' de her bir cinsin, minimum, maksimum, ortanca ve birinci-üçüncü çeyrek değerleri bulunmaktadır.

Tablo 4. Her bir cinsin, minimum, maksimum, ortanca ve birinci-üçüncü çeyrek değerleri.

Cins	Veri				
	En düşük	1. çeyrek	Ortalama	3. çeyrek	En yüksek
<i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i>	0,00	0,21	3,72	9,09	10,38
<i>Serratia</i>	0,00	0,00	0,28	1,55	1,55
<i>Escherichia-Shigella</i>	0,02	0,04	0,18	0,52	0,77
<i>Pseudomonas</i>	0,01	0,09	0,12	1,02	1,02
<i>uncultured</i>	0,03	0,06	0,11	0,14	0,26
<i>Streptococcus</i>	0,01	0,05	0,06	0,21	0,34
<i>Alcaligenes</i>	0,00	0,00	0,06	4,60	5,54
<i>Candidatus Symbiobacter</i>	0,00	0,00	0,05	0,08	0,09
<i>Franconibacter</i>	0,00	0,01	0,05	0,17	0,25
<i>Enterobacter</i>	0,00	0,00	0,05	0,24	0,38
<i>Lachnospiraceae UCG-008</i>	0,00	0,01	0,04	0,15	0,22
<i>Thioalkalispira-Sulfurivermis</i>	0,03	0,03	0,04	0,05	0,05
<i>Acinetobacter</i>	0,01	0,02	0,04	0,05	0,05
<i>Staphylococcus</i>	0,01	0,02	0,04	0,07	0,07
<i>Aeromonas</i>	0,00	0,00	0,03	0,11	0,16
<i>Massilia</i>	0,00	0,01	0,03	0,07	0,09
<i>Corynebacterium</i>	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
<i>Enterobacillus</i>	0,00	0,00	0,03	0,18	0,32
<i>Bacillus</i>	0,00	0,01	0,02	0,16	0,16
<i>Klebsiella</i>	0,00	0,00	0,03	0,08	0,12

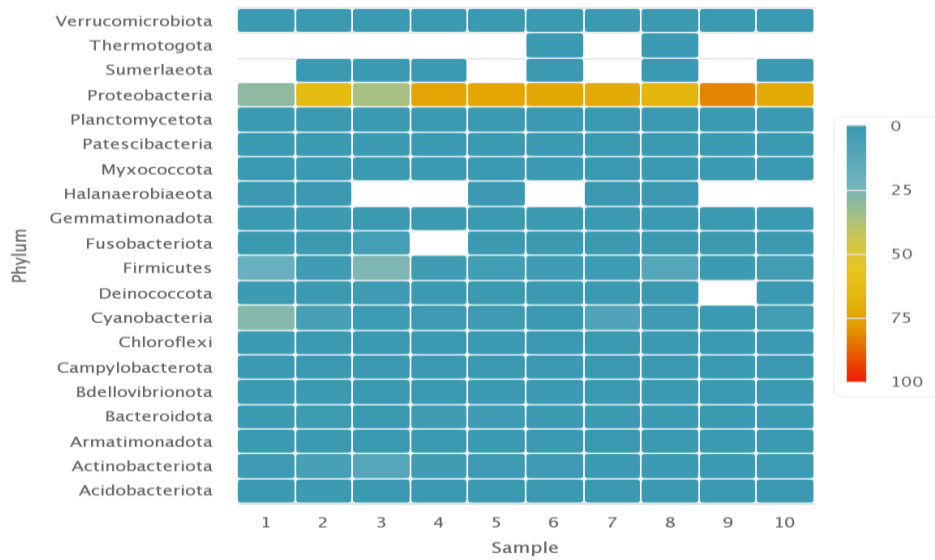
Tablo 4.' de görüldüğü gibi “*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*” en yüksek ortalama 3,72 (en düşük 0,00; en yüksek 10,38), en düşük “*Bacillus*” ortalama ise 0,02 (en düşük 0,00; en yüksek 0,16) olarak belirlendi.

4.1. Taksonomik Dağılım

Isı grafiklerinde (heatmap), her bir taksonomik basamakta en yüksek oranda gözükten maksimum 20 takson, göreceli oranlarına göre görselleştirilmiştir (Şekil 4.-Şekil 8.). Renk kodları maviden kırmızıya doğru, göreceli olarak artacak şekilde kullanılmıştır. Beyaz renkli kutucuklar, o taksonun, ilgili örnekte hiç tespit edilmediğini gösterir. Organizmalar alfabetik olarak sıralanmıştır.

4.1.1. Şube

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 61 şube tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 şube aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 4.).

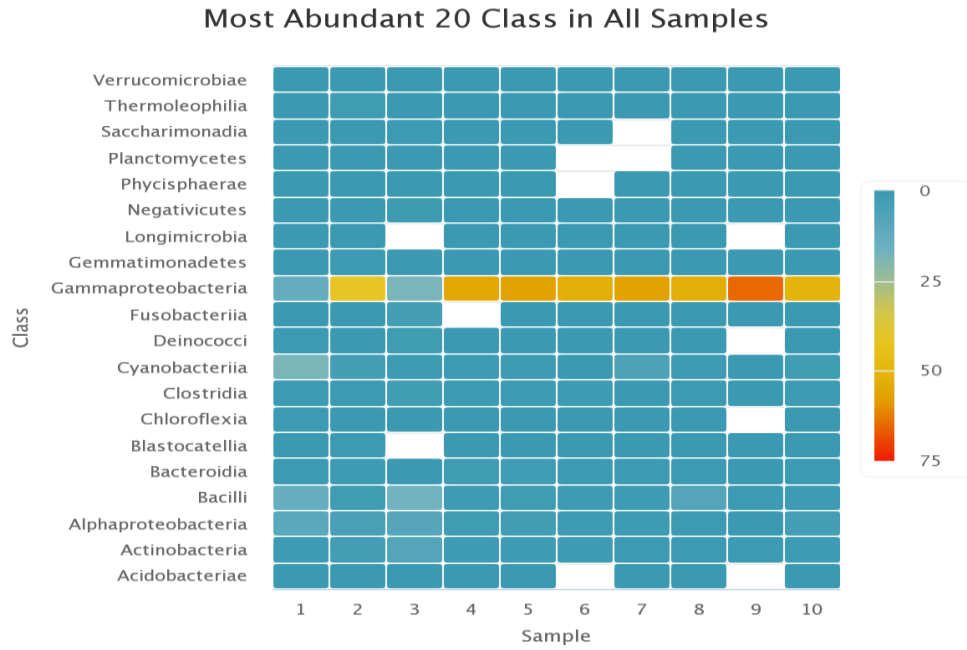


Şekil 4. En yüksek oranda görülen şubelerin dağılımları.

Şekil 4.'deki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Proteobacteria* (%64.6±17.6) olarak belirlenmiştir.

4.1.2. Sınıf

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 134 sınıf tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 sınıf aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 5.).

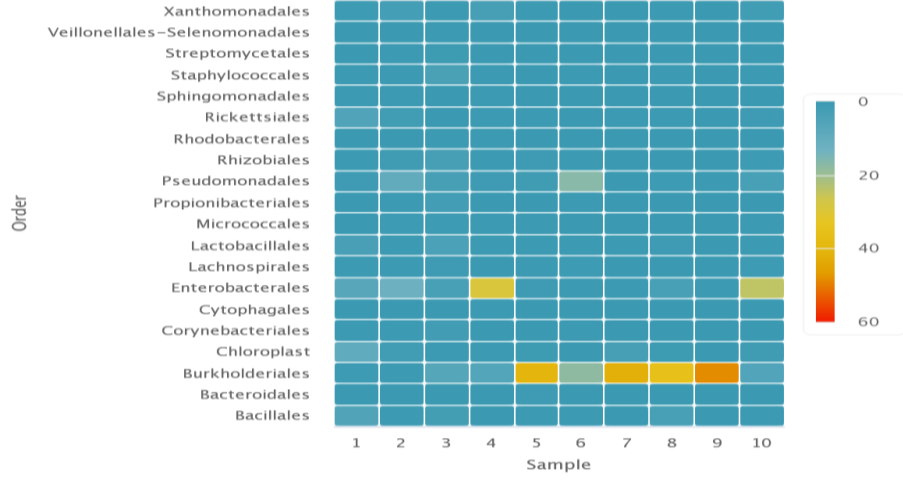


Şekil 5. En yüksek oranda görülen sınıfların dağılımları.

Şekil 5.'deki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Gammaproteobacteria* (%46.4 ± 17.5) olarak belirlenmiştir.

4.1.3. Takım

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 315 takım tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 takım aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 6.).

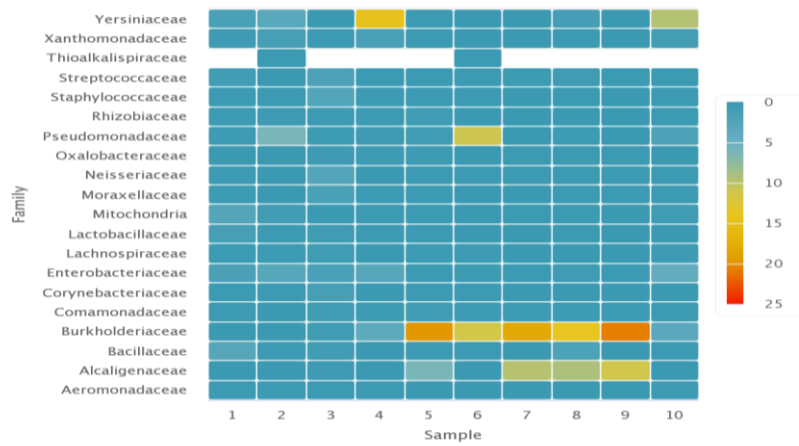


Şekil 6. En yüksek oranda görülen takımların dağılımları.

Şekil 6.'daki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Burkholderiales* (%20.3 ± 19.2) olarak belirlenmiştir.

4.1.4. Aile

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 500 aile tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 aile aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 7.).

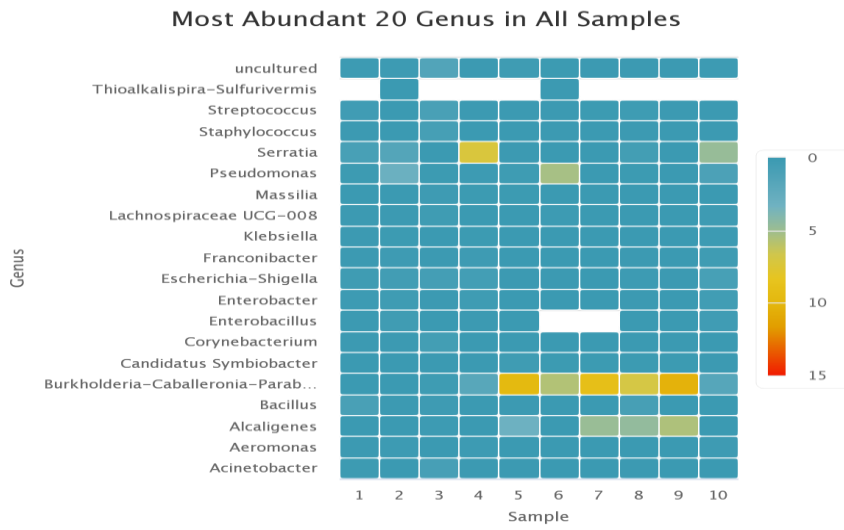


Şekil 7. En yüksek oranda görülen ailelerin dağılımları.

Şekil 7.'deki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Burkholderiaceae* (%9.1 ± 8.6) olarak belirlenmiştir.

4.1.5. Cins

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 1508 cins tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 cins aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 8.).



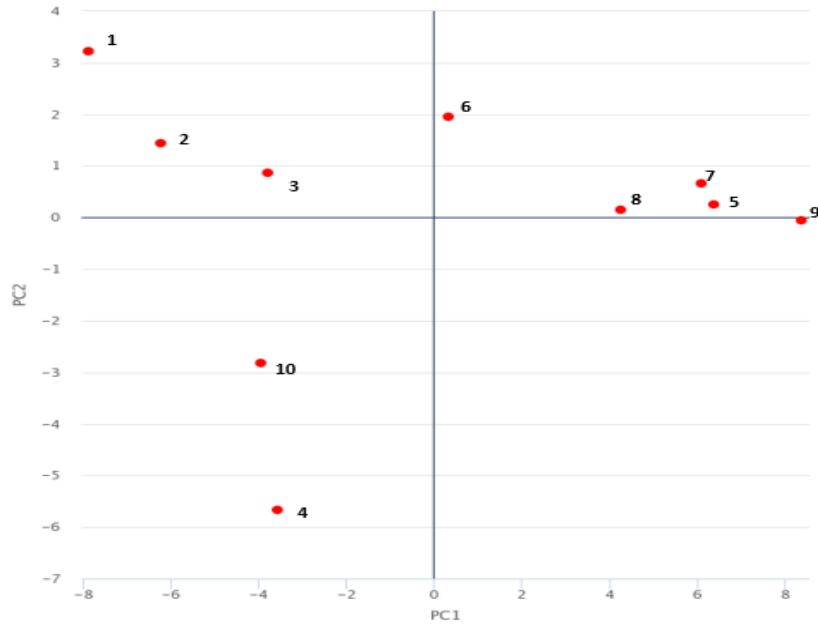
Şekil 8. En yüksek oranda görülen cinslerin dağılımları.

Şekil 8.'deki Tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* (%4.6 ± 4.3) olarak belirlenmiştir.

4.2. Temel Bileşen Analizi (PCA)

Bu dağılım grafiği, tüm örneklerin normalleştirilmiş göreceli mikrobiyal çeşitliliğini, Temel Bileşen Analizi (Principal Coordinate Analysis – PCA) yaklaşımı ile gösterir. PCA, numuneler arasında taksonomik sınıflandırmaların dağılımındaki sabit bir taksonomik seviyeye kadar olan farkları ölçer. Dağılım içinde, küme oluşturan örnekler, benzer mikrobiyal dağılım göstermektedir.

Numuneler arasında mikrobiyal çeşitlilik analizine yönelik profil benzerliklerin en iyi anlaşılmasını sağlayan yaklaşımlardan biri, çok boyutlu ölçekleme (Multidimensional scaling, MDS) veya Principal Component Analysis (PCA) grafiğidir. Bu görselleştirme, numuneler arasında ön bilgi olmadan benzerlikler ve farklılıkların görselleştirilmesini sağlar. Figür 4.7’de çalışmada analiz edilen örneklerin tüm organizmalar dikkate alındığında PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki dağılımları görülmektedir. PCA hesaplanmasında, cins basamağındaki mikrobiyal profil esas alınmıştır.

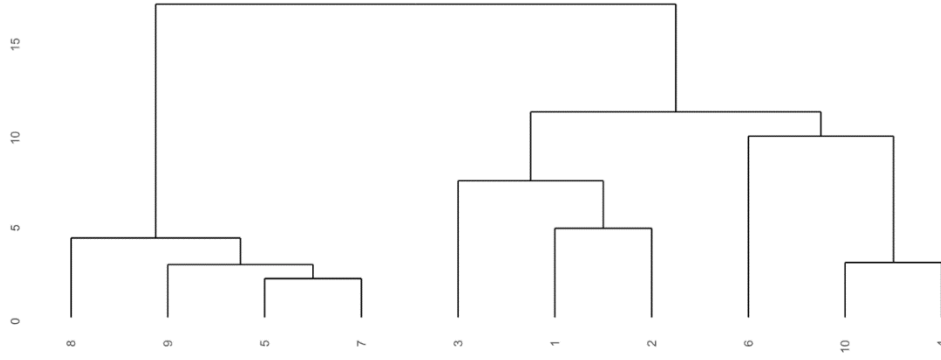


Şekil 9. Örneklerin PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki dağılımları.

Şekil 9.’de görüldüğü gibi alınan numunelerin dağılım içinde küme oluşturmadığı görülmektedir. Alınan numunelerin benzer mikrobiyal dağılım göstermediği görülmektedir.

4.3. Hiyerarşik Kümeleme

Hiyerarşik kümelemede benzer mikrobiyal profil dağılımı gösteren örnekler birbirine yakın dallarda gösterilmektedir. Hiyerarşik kümeleme hesaplanmasında cins basamağındaki mikrobiyal profil esas alınmış; analiz için R:hclust paketi kullanılmış ve grup ortalaması esas alınmıştır.



Şekil 10. Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme sonrası dağılımları.

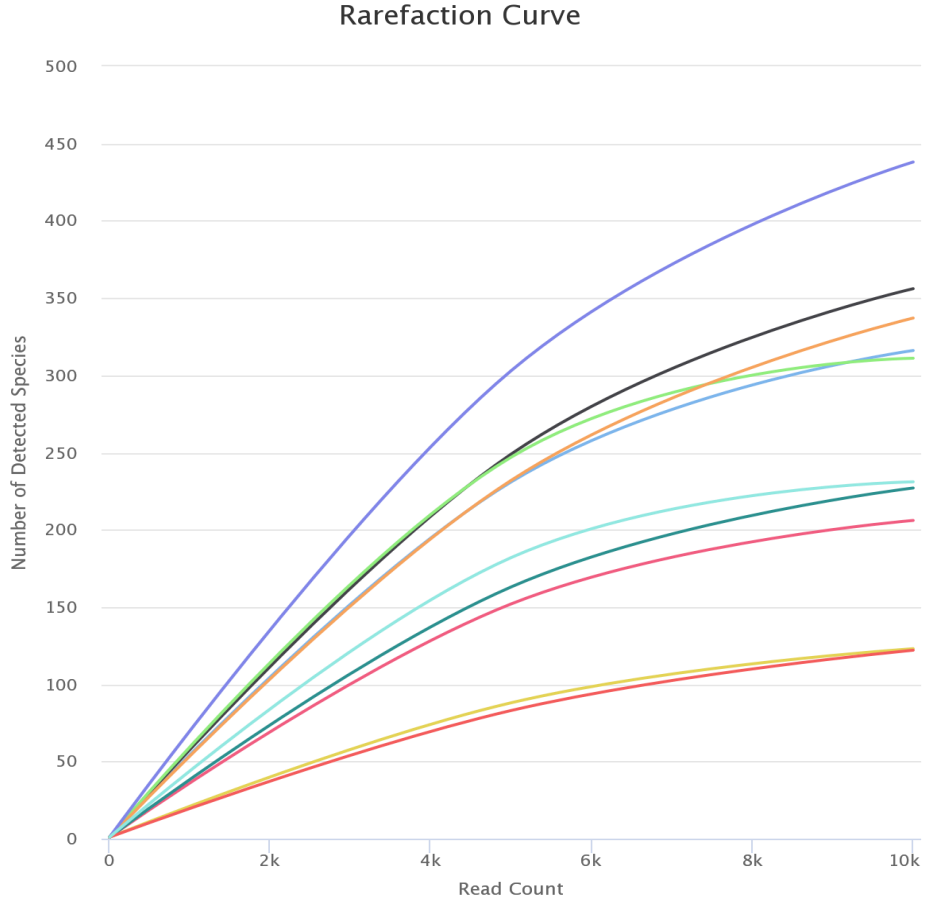
4.4. Rarefaksiyon Eğrisi

Bu eğri, elde edilen okuma sayısına bağlı olarak tespit edilebilen tür sayısının değişimini gösterir. Grafiğin solundaki dik eğim, tür çeşitliliğinin büyük bir kısmının artan okuma sayısı ile hızla keşfedilmeyi sürdürdüğünü göstermektedir. Eğri sağa doğru düzleşirse, makul sayıda birey örneklendiğini gösterir. Düzleşme olduğu durumda, daha yoğun örnekleme (daha fazla okuma) yeni tür keşfindeki etkisi azalır. Rarefaksiyon eğrileri genellikle ilk başta çok hızlı yükselir ve daha sonra toplanan okuma birimi başına daha az sayıda yeni tür bulunduğu için, bir asimptot seviyesine iner.

Tablo 5. Seyreklik verileri.

Seyreklik Verileri										
Okuma sayısı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
5000,00	231,00	249,00	247,00	232,00	303,00	152,00	88,00	163,00	83,00	182,00
10000,00	316,00	356,00	311,00	337,00	438,00	206,00	123,00	227,00	122,00	231,00

Aşağıdaki grafik (Şekil 11.), tespit edilebilen tür zenginliğinin rarefaksiyon eğrisini göstermektedir.



Şekil 11. Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme sonrası dağılımları.

Şekil 11.' de görüldüğü gibi makul sayıda birey örneklenmiştir.

4.5. Çeşitlilik

Çeşitlilik endeksi (alpha diversity veya filogenetik metrikler olarak da adlandırılır), bir veri kümesinde kaç farklı organizmanın bulunduğunu ve aynı zamanda dağıtılan bireyler arasındaki filogenetik ilişkileri (eş-dağılım, tür yakınlığı, tür zenginliğini) yansıtan nicel bir ölçüdür. Çalışma kapsamında, çeşitlilik hesaplamasında Shannon (Spellerberg and Fedor 2003) ve Simpson endeksleri (Simpson 1949) kullanılmıştır. Tablo 6.' de, her bir türün Shannon, Simpson ve Inverse Simpson endeksleri ve tespit edilen türlerin sayısı belirtilmiştir.

Tablo 6. Türlerin Shannon, Simpson ve Inverse Simpson endeksleri ve tespit edilen türlerin sayısı.

Örnek Adı	Shannon Endeksi	Simpson Endeksi	Inverse Simpson Endeksi	Tür Sayısı
1	3,59	0,92	12,41	648
2	2,97	0,83	5,76	833
3	3,68	0,95	21,62	647
4	2,03	0,63	2,69	739
5	1,61	0,55	2,21	944
6	1,44	0,6	2,53	465
7	0,94	0,5	1,98	354
8	1,66	0,66	2,9	625
9	0,9	0,49	1,96	335
10	2,37	0,77	4,43	565

Tablo 6.' de görüldüğü gibi Shannon Endeksi değerlendirmesinde 1. Yerden alınan örneklerde (3,59) türlerin sayısına göre bolluklarının en yüksek, 9. Yerden alınan örneklerde (0,90) türlerin sayısına göre bolluklarının en düşük olduğu görülmüştür. Simpson's çeşitlilik indeksi değerlendirmesinde 3. Yerden alınan örneklerde (0,95) tür zenginliği hem de türler arasındaki nispi bolluklarının en yüksek, 9. Yerden alınan örneklerde (0,49) tür zenginliği hem de türler arasındaki nispi bolluklarının en düşük olduğu belirlenmiştir. Tür sayısı değerlendirmesinde de en yüksek türün 5 yerdan (944), en düşük türün de 9. Yerden (335) olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Kuru incir hasat zamanından gıda işletmesine gelene kadar toprak, hava ve su açısından kontaminasyon riski altındadır. Gıda işletmesine geldikten sonraki işlem basamaklarında sürekli olarak elle temas halinde olduğundan çapraz kontaminasyon riski artmaktadır. Ayrıca tüketiciye sunulan kuru incir genellikle yıkanmadan tüketildiği için kontamine incir halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Bu sebeplerden dolayı bu çalışmada kuru incirde çapraz kontaminasyonla bulaşan bakteri varlığına bakılmıştır.

Çalışmada cinsler içerisinde 3,72 ortalama ile en yüksek *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, olduğu belirlenmiştir. *Burkholderia*, çok çeşitli çevresel (toprak, su, bitkiler, mantarlar) ve klinik (hayvan, insan) habitatlardan gelen patojenik, fitopatojenik, simbiyotik ve simbiyotik olmayan suşları içeren büyük ve karmaşık bir gruptur (Estrada-de ve diğerleri., 2018). En düşük 0,02 ortalama ise en düşük *Bacillus*'e ait olduğu görülmüştür. İmamoğlu (2008) çalışmasında incir ve çekirdeksiz üzümde özellikle hasat öncesi periyotta mikotoksin oluşumunun azaltılmasına yönelik biyokontrol amacıyla kitosanaz aktivitesi yüksek olan *Bacillus* izolatlarının belirlenmesini amaçlanmıştır. Çalışmada çeşitli kaynaklardan yapılan izolasyon çalışmaları sonunda 508 tane *Bacillus* izolatu elde edilmiştir. Toplam 18 *Bacillus* izolatının *Aspergillus niger* EGEKL-213, *Aspergillus foetidus* EGE-KL-211, *Aspergillus ochraceus* EGE-K-217 ve *Fusarium solani* KCTC 6328 test küflerine karşı antagonistik özellikleri incelenmiş ve hepsinde antagonistik aktivite saptanmıştır.

Çalışmamızda *Serratia* 0,28 ortalama ile elde edilen 20 cinsin arasında olduğu görülmüştür. Grimont ve diğerleri (1981) 623 bitki örneğinde *Serratia* türlerinin varlığının incelendiği bir çalışmada; toplam 167 *Serratia* ırkı izole edilmiş tür ve biyogrupları belirlenmiştir. İncir ve 44ort he44o cevizinde ise oldukça üniform ve karakteristik *Serratia* 44ort he44onları bulunduğu bildirilmiştir.

Şubelerin dağılımlarında toksonomik dağılımlar değerlendirildiğinde en yüksek *Proteobacteria* (%64.6±17.6) olduğu görülmüştür. *Proteobacteria*, bakteri domainindeki en geniş ve en fazla çeşitlik gösteren ana gruptur. Bu gruba ait bakteriler, çok fazla metabolik çeşitlilik gösterirler ve tıbbi, endüstriyel ve tarımsal öneme sahip bilinen Gram negatif bakterilerin büyük çoğunluğunu temsil etmektedirler (İnan, 2011). Takımların dağılımlarında *Burkholderiales* (%20.3 ± 19.2) en yüksek belirlenirken Al-Kebisi, (2022)

çalışmasında *Burkholderiales* (2,20% ve 1,21%) olarak bildirmiştir.

Case ve diğeri (2007) mikrobiyal ekoloji çalışmalarında, 16S rRNA ve rpoB genlerinin moleküler markırlar olarak kullanımlarını araştırmak üzere, NCBI Mikrobiyal Genom Veri Tabanı'ndan tüm genom dizin analizi yapılmış 111 bakteri genomu üzerinde çalışma yapmışlar. *Aquificae* (1), *Thermotogae* (1), *Deinococci* (1), *Cyanobacteria* (4), *Chlorobi* (1), *Alphaproteobacteria* (9), *Betaproteobacteria* (4), *Gammaproteobacteria* (29), *Epsilonproteobacteria* (4), *Bacillales* (11), *Lactobacillales* (12), *Clostridiales* (3), *Thermoanaerobacteriales* (1), *Mollicutes* (6), *Actinobacteria* (11), *Chlamydiae* (7), *Spirochaetes* (3), *Bacteroidetes* (1), *Fusobacteria* (1), *Planctomycetes* (1), taksonomik gruplarından parantez içerisinde belirtildiği sayıda genom dizileri çalışılmış ve bu tüm genom dizilerden 16S rRNA ve rpoB dizileri belirlenmiştir.

6. SONUÇ

Kuru incirde çapraz kontaminasyonla bulaşan bakteri varlığının belirlenmesinin amaçlandığı çalışmada elde edilen sonuçlara aşağıda yer verilmiştir.

Metagenomik analizi sonucunda, tüm örneklerde toplamda 61 şube, 134 sınıf, 315 takım, 500 aile ve 1508 cins belirlenmiştir.

Tüm numunelerde yapılan analizler sonucunda en yüksek oranda görülen Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, Serratia, Escherichia-Shigella, Pseudomonas, uncultured, Streptococcus, Alcaligenes, Candidatus Symbiobacter, Franconibacter, Enterobacter, Lachnospiraceae UCG-008, Thioalkalispira-Sulfurivermis, Acinetobacter, Staphylococcus, Aeromonas, Massilia, Corynebacterium, Enterobacillus, Bacillus ve Klebsiella olmak üzere 20 cins belirlenmiştir. Bu cinsler içerisinde 3,72 ortalama ile en yüksek Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, 0,02 ortalama ise en düşük Bacillus olduğu görülmüştür.

Toksonomik dağılımlar değerlendirildiğinde en yüksek, şubelerin dağılımlarında *Proteobacteria* (%64.6±17.6), sınıfların dağılımlarında *Gammaproteobacteria* (%46.4 ± 17.5), takımların dağılımlarında *Burkholderiales* (%20.3 ± 19.2), ailelerin dağılımlarında *Burkholderiaceae* (%9.1 ± 8.6) ve cinslerin dağılımlarında *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* (%4.6 ± 4.3) olarak belirlenmiştir.

Alınan numunelerin benzer mikrobiyal dağılım göstermediği görülmektedir. Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme sonrası dağılımları değerlendirildiğinde makul sayıda birey örneklendiği görülmüştür. Shannon Endeksi değerlendirmesinde 1. Yerden alınan örneklerde (3,59) türlerin sayısına göre bolluklarının en yüksek, 9. Yerden alınan örneklerde (,90) türlerin sayısına göre bolluklarının en düşük olduğu görülmüştür. Simpson's çeşitlilik indeksi değerlendirmesinde 3. Yerden alınan örneklerde (0,95) tür zenginliği hem de türler arasındaki nispi bolluklarının en yüksek, 9. Yerden alınan örneklerde (0,49) tür zenginliği hem de türler arasındaki nispi bolluklarının en düşük olduğu belirlenmiştir. Tür sayısı değerlendirmesinde de en yüksek türün 5 yerdan (944), en düşük türün de 9. Yerden (335) olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Adams, M. R. Ve Moss, M. O. (2008). Food microbiology (3rd ed.). Cambridge, UK: RSC Publishing.
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C. Ve Rodicio, M. R. (2010). Food Poisoning and Staphylococcus aureus Enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751-1773. Doi:10.3390/toxins2071751
- Atasever, M. (2017). Kanatlı etlerinde Salmonella riski. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(1), 90-98.
- Balaban, N. Ve Rasooly, A. (2000). Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 61(1), 1-10. Doi:10.1016/s0168-1605(00)00377-9
- Bilgehan, H. (2000). Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (10. Bs.). İzmir: Fakülteler Kitabevi.
- Bizani, D., Morrissy, J.A.C., Dominguez, A.P.M., Brandelli, A., (2008). Inhibition of Listeria monocytogenes in dairy products using the bacteriocin-like peptide cerein 8A, *International Journal of Food Microbiology*, 121: 229-233.
- Bolger, Anthony M., Marc Lohse, and Bjoern Usadel. (2014). "Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data." *Bioinformatics* 30 (15): 2114–20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
- Cheung, G. Y. C., Yeh, A. J., Kretschmer, D., Duong, A. C., Tuffuor, K., Fu, C.-L., ... Otto, M. (2015). Functional characteristics of the Staphylococcus aureus δ -toxin allelic variant G10S. *Scientific Reports*, 5(1), 18023. Doi:10.1038/srep18023
- Cunha, R. C., Rosa, M. D. H. Da, Silva, C. Da, Santos, F. D. S. Ve Leite, F. P. L. (2019). Staphylococcal slime layers and biofilm from different origins. *Ciência Rural*, 49(5), e20180783. Doi:10.1590/0103- 8478cr20180783
- Deutsch, D. G. Ve Mertz, E. T. (1970). Plasminogen: Purification from Human Plasma by Affinity Chromatography. *Science*, 170(3962), 1095-1096. Doi:10.1126/science.170.3962.1095

- Doğruer, Y., Telli, A. E., Telli, N., Biçer, Y. (2022). Dondurulmuş Deniz Ürünlerinde *Vibrio spp.*'nin İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (Loop Mediated Isothermal Amplification, LAMP) Yöntemiyle Belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 14-19.
- Dufrenne J, Bijwaard M, Giffel M, Beumer R, Notermans S(1995) Characteristics of some psychrotrophic *Bacillus cereus* isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 27, 175-183,
- Duran-Reynals, F. (1933). Studies on a certain spreading factor existing in bacteria and its significance for bacterial invasiveness. *The Journal of Experimental Medicine*, 58(2), 161-181. Doi:10.1084/jem.58.2.161
- Erol E: Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi 70-77,2007
- Ertürk, Y.E. (2002). Hayvan Kökenli Salmonella ve Shigella Şuşlarında Çoklu Antibiyotik Direnci ve İntegron Sıklığı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Estrada-de los Santos P, Palmer M, Chavez-Ramirez B, Beukes C, Steenkamp ET, Briscoe L, Khan N, Maluk M, Lafos M, Humm E, Arrabit M, Crook M, Gross E, Simon MF, dos Reis FB, Whitman WB, Shapiro N, Poole PS, Hirsch AM, Venter SN, James EK. (2018). Whole Genome Analyses Suggests that *Burkholderia* sensu lato Contains Two Additional Novel Genera (*Mycetohabitans* gen. Nov., and *Trinickia* gen. Nov.): Implications for the Evolution of Diazotrophy and Nodulation in the *Burkholderiaceae*. *Genes*, 9(8), 389; <https://doi.org/10.3390/genes9080389>.
- Farber JM, Peterkin PJ, (1991). *Listeria monocytogenes*, *Microbiol Review*, 55: 476-511.
- Farber JM, Wang SL, Cai Y, Zhang S (1998). Changes in populations of *Listeria monocytogenes* inoculated on packaged fresh-cut vegetables. *Journal of Food Protection*, 61, 192-195.
- Farber, J.M. 1991. *Listeria monocytogenes*. *Journal of AOAC International*, 74(4): 701-704.
- Foster, T. (1998). Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 6(12), 484-488. Doi:10.1016/S0966-842X(98)01400-0

- Genestier, A.-L., Michallet, M.-C., Prévost, G., Bellot, G., Chalabreysse, L., Peyrol, S., ... Genestier, L. (2005). Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(11), 3117-3127. Doi:10.1172/JCI22684
- Granum PE(1994). Bacillus cereus and its toxins. *Journal of Applied Bacteriology*, 76, 61–66,
- Grimont, P. A.D., Grimont, F., and Starr, M.P., (1981). Serratia Species Isolated from Plants, *Current Microbiology*, 5:317-322.
- Güran, H. Ş., Öksüztepe, G. (2012). Gıda Kaynaklı Botulizm ve Önemi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 26(3), 191-195
- Henriques AO, Moran CP. (2007). Structure, assembly, and function of the spore surface layers. *Annual Reviews of Microbiology*, 61, 555-588.
- Hynes, W. L. Ve Walton, S. L. (2000). Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 183(2), 201-207. Doi:10.1111/j.1574-6968.2000.tb08958.x
- Ibberson, C. B., Jones, C. L., Singh, S., Wise, M. C., Hart, M. E., Zurawski, D. V. Ve Horswill, A. R. (2014). Staphylococcus aureus Hyaluronidase Is a CodY-Regulated Virulence Factor. *Infection and Immunity*, 82(10), 4253-4264. Doi:10.1128/IAI.01710-14
- Imanishi, I., Nicolas, A., Caetano, A.-C. B., Castro, T. L. De P., Tartaglia, N. R., Mariutti, R., ... Le Loir, Y. (2019). Exfoliative toxin E, a new Staphylococcus aureus virulence factor with host-specific activity. *Scientific Reports*, 9(1), 16336. Doi:10.1038/s41598-019-52777-3
- İmamoğlu, Ö., (2008). Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Bacillus sp. İzolatlarının Kitosanaz Aktivitesinin ve Antifungal Etkisinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- İnan, K. (2011). İzmir Ve Aydın İllerindeki Bazı Kaplıcalardan İzole Edilen Termofilik Bakteri İzolatlarının Moleküler Taksonomisi Ve D1021 İzolatının Glukoz İzomerazının Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Karaca, B. Ve Hatırlı, S.A., (2017), Türkiye, Kuru İncir İhracatının Ekonometrik Analizi, *Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 22(2), 439-448.
- Klindworth, Anna, Elmar Pruesse, Timmy Schweer, Jörg Peplies, Christian Quast, Matthias Horn, and Frank Oliver Glöckner. (2012). "Evaluation of General 16s Ribosomal RNA Gene PCR Primers for Classical and Next-Generation Sequencing-Based Diversity Studies." *Nucleic Acids Research* 41 (1): e1-1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>.
- Koçak Kızanlık, P. (2019). Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Staphylococcus Aureusun Bazı Virulens Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Koçan D., Halkman A.K., (2006). Listeria monocytogenes & Listeriozis. *Gıda* 31 (3): 131-140
- Laurent, T. C. Ve Fraser, J. R. (1992). Hyaluronan. *FASEB journal: Official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 6(7), 2397-2404.
- Lederberg, J. 1997. Infectious disease as an evolutionary paradigm. *Emerging Infectious Diseases*, 3(4), 417-423.
- Licitra, G. (2013). Etymologia: Staphylococcus. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9), 1553. Doi:10.3201/eid1909.ET1909
- Lovett, J., Wesley, I.V., Vandermaaton, M.J., Bradshaw, J.G., Francis, D.W., Crawford, R.G., Donnelly, C.W. ve Messer, J.W., (1990). High-temperature short time pasteurization inactivates Listeria monocytogenes. *Journal of Food Protection*. 53: 734-738.
- Lowy, F. D. (1998). Staphylococcus aureus Infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520- 532. Doi:10.1056/NEJM199808203390806
- Mawa, S., Husain, K. And Jantan, I., (2013), Ficus carica L. (Moraceae): Phytochemistry, traditional Uses and Biological Activities, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 8p.

- McMullen, P.D., Freitag, N.E., (2015). Assessing bacterial invasion of cardiac cells in culture and heart colonization in infected mice using *Listeria monocytogenes*. *Journal of Visualized Experiments*, 27;(99):e52497.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. Ve Pfaller, M. A. (2016). *Tıbbi Mikrobiyoloji* (7. Baskı., C. 1-1). Ankara: Pelikan Kitabevi.
- Nakamura, Y., Oscherwitz, J., Cease, K. B., Chan, S. M., Muñoz-Planillo, R., Hasegawa, M., ... Núñez, G. (2013). Staphylococcus δ -toxin induces allergic skin disease by activating mast cells. *Nature*, 503(7476), 397-401. Doi:10.1038/nature12655
- Nayak, N., Nag, T. C., Satpathy, G. Ve Ray, S. B. (2007). Ultrastructural analysis of slime positive & slime negative *Staphylococcus epidermidis* isolates in infectious keratitis. *Indian Journal of Medical Research*, 125(6), 767-771.
- Nishifuji, K., Sugai, M. Ve Amagai, M. (2008). Staphylococcal exfoliative toxins: “molecular scissors” of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals. *Journal of Dermatological Science*, 49(1), 21-31. Doi:10.1016/j.jdermsci.2007.05.007
- Noormohamed, A., and Fakhr, M. 2014. Outbreak of *Campylobacter* enteritis associated with cross-contamination of food – *Oklahoma*. *The Open Mikrobiyoloji Journal*(8), 130-137.
- Nuorti, J., Niskanen, T., Hallanvuori, S., Mikkola, J., Kela, E., Hatakka, M., Ruutu, P. (2004). A widespread outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* o:3 infection from iceberg lettuce. *Infectious Diseases*,(5) 189.
- O’Riordan, K. Ve Lee, J. C. (2004). *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharides. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(1), 218-234. Doi:10.1128/CMR.17.1.218-234.2004.
- Olsen, S. J., MacKinon, L. C., Goulding, J. S., Bean, N. H., & Slutsker, L. (2000). Surveillance for foodborne-disease outbreaks, United States, 1993-1997.
- Otto, M. (2014). *Staphylococcus aureus* toxins. *Current Opinion in Microbiology*, Host-microbe interactions: bacteria, 17, 32-37. Doi:10.1016/j.mib.2013.11.004

- Quast, Christian, Elmar Pruesse, Pelin Yilmaz, Jan Gerken, Timmy Schweer, Pablo Yarza, Jörg Peplies, and Frank Oliver Glöckner. (2013). "The SILVA Ribosomal RNA Gene Database Project: Improved Data Processing and Web-Based Tools." *Nucleic Acids Research*. 41 (Database issue): D590–6.
- Roberts TA, Baird-Parker AC, Tompkin RB (1996). *Bacillus cereus* İçinde: Microorganisms in Foods. 5. Microbiological Specification of Food Pathogens. Great Britain: Blackie Academic & Professional; 20-35
- Rocourt, J. & Buchrieser, C. (2007). The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy, and identification. In *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, 3rd edn, pp. 1–20. Edited by E. T. Ryser & E. H. Marth. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Rooijackers, S. H. M., van Wamel, W. J. B., Ruyken, M., van Kessel, K. P. M. Ve van Strijp, J. A. G. (2005). Anti-opsonic properties of staphylokinase. *Microbes and Infection*, 7(3), 476-484. Doi:10.1016/j.micinf.2004.12.014
- Rosenbach, F. J. (1884). Mikro-organismen bei den *Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen*. Wiesbaden: J.F. Bergmann. Doi:10.5962/bhl. Title.22955
- Sağlam, D., Şeker, E. (2016). Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 9(2), 105-113.
- Sert, M. (2014). Bazı Gıdalarda *Clostridium Perfringens* Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Simpson, E H. 1949. "Measurement of Diversity." *Nature* 163 (4148): 688–88.
- Soltana, H., Pinon, A., Limami, Y., Zaid, Y., Khalki, L., Zaid, N., Salah, D., Sabitaliyevich, U. Y., Simon, A., Liagre, B., Hammami, M. 2019. Antitumoral activity of *Ficus carica* L. On colorectal cancer cell lines. *Cellular and Molecular Biology*, 65(5).
- Somuncuoğlu, İ (2007). Kuru İncirlerde Siklopiazonik Asit Varlığının ve Miktarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, 169s.
- Sorrells KM, Enigl DC (1990). Effect of pH, acidulant, sodium chloride and temperature on the growth of *L. Monocytogenes*. *Journal of Food Safety*, 11, 31-37.

- Spellerberg, Ian F., and Peter J. Fedor. 2003. "A Tribute to Claude Shannon (1916-2001) and a Plea for More Rigorous Use of Species Richness, Species Diversity and the 'Shannon-Wiener' Index." *Global Ecology and Biogeography*. <https://doi.org/10.1046/j.1466-822x.2003.00015.x>.
- Şahin, B. Ve Konak, K., (2004), Ekolojik Kuru İncirin Üretim ve Pazarlaması Üzerine Bir Araştırma, *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(1), 53-61.
- Tauxe, R. V. (2002). Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 2(78), 31-41.
- Temelli, S. (2002). Gıda Zehirlenmesine Neden Olan E.Coli O157:H7 ve Önemi. *Uludağ Üniversitesi Journal of Research Veterinary Medicine*, 21, 133-138.
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L. Ve Fowler, V. G. (2015). Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-661. Doi:10.1128/CMR.00134-14
- Veberic, R., Colaric, M. And Stampar, F., (2008). Phenolic Acids and Flavonoids of Fig Fruit (*Ficus Carica L.*) in The Northern Mediterranean Region. *Food Chemistry*, 106(1), 153-157.
- Wadud S, Leon-Velarde CG, Larson N, Odumeru JA, 2010. Evaluation of immunomagnetic separation in combination with ALOA Listeria chromogenic agar 53ort he isolation and identification of listeria monocytogenes in ready-to-eat foods. *Journal of Microbiological Methods*, 81, 153–159.
- Wilson, G. J., Seo, K. S., Cartwright, R. A., Connelley, T., Chuang-Smith, O. N., Merriman, J. A., ... Fitzgerald, J. R. (2011). A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia. *PloS pathogens*, 7(10), e1002271. Doi:10.1371/journal. Ppat.1002271
- Wood, Derrick E, Jennifer Lu, and Ben Langmead. (2019). "Improved Metagenomic Analysis with Kraken 2." *Genome Biology*. 20 (1): 257.
- Yavuz, M. Ve Korukluoğlu, M., (2010), Listeria monocytogenes' in gıdalardaki önemi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(1), 1-10.

Yıkılmazsoy, E. (2019). İzmir ili ve çevresindeki gıda firmalarında çalışan gıda elleyicilerinde nazal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“AÇIKTA SATILAN KURU İNCİRLERİN MİKROBİYAL FLORASININ ARAŞTIRILMASI” başlıklı Yüksek Lisans/Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Ezgi ÜNLÜ

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÜNLÜ, Ezgi
Uyruk . : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : İzmir / 03.01.1998
Telefon : 0 5076619820
E-posta : ezgi_unlu1998@hotmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2020

BURSLAR VE ÖDÜLLER

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
-----	-----------	-------