

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ
DOKTORA PROGRAMI

KANATLI KÜMESLERİNDEKİ MİKROBİYAL BİYOAEROSOL
ÇEŞİTLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

TANSU TANIR
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. ŞÜKRÜ KIRKAN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-21013 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2024

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana her an destek olan, hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a çalışmalarım süresince manevi desteğini her zaman hissettiğim Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ'a, tez çalışmalarım süresince yardıma ihtiyacım olduğu her an yanımda olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. K. Serdar DİKER'e, Sayın Prof. Dr. Serap SAVAŐAN'a, Sayın Prof. Dr. Göksel ERBAŐ'a, Sayın Prof. Dr. Uğur PARIN'a, Sayın Doç. Dr. H. Tuğba YÜKSEL DOLGUN'a, ayrıca Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ArŐ. Gör. Yiğit SEFEROĞLU'na ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tavukçuluk Endüstrisi.....	3
2.2. Biyoaerosoller.....	6
2.3. Biyoaerosollerin Kaynakları ve Taşınımı.....	10
2.4. Biyoaerosollerin Örnekleme Yöntemleri.....	13
2.4.1. Pasif Örnekleme Metodu.....	14
2.4.2. Aktif Örnekleme Metodu	14
2.5. Biyoaerosollerin Analiz Yöntemleri.....	17
2.5.1 Konvansiyonel Analiz Yöntemleri.....	18
2.5.2. Gelişmiş Analiz Yöntemleri.....	18
2.5.2.1. Moleküler Analiz Yöntemleri	188
2.5.2.2. Kütle Spektrometresi.....	22
2.5.2.3. Floresan Yöntemi ile Tanımlama	24
2.5.2.4. Mikroakışkan Damlacık Teknikleri.....	24
2.5.2.5. ATP Biyoluminesans Yöntemi.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereç.....	29
3.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Cihazlar	30
3.3. Yöntem	30
3.3.1. Bakteri İzolasyonu.....	30

3.3.2. MALDI-TOF Çalışması	31
3.4. NGS Çalışması	32
3.4.1. Örneklerden DNA Ekstraksiyonu	32
3.4.2. DNA Qubit Ölçüm Protokolü	33
3.4.3. Mikrobiyom Analizi	34
3.4.4. Biyoinformatik Analiz.....	35
4. BULGULAR	37
4.1.Fenotipik Bulgular	37
4.2.Genotipik Bulgular	38
4.2.1. Benzerlik Analizi Sonuçları	38
4.2.2. Mikrobiyom Analizlerinin Cins Bazında Değerlendirilmesi	39
4.2.3. Krona Analizi Sonuçları	40
4.2.4. Alpha Çeşitlilik Analizleri.....	47
4.2.5. PCA Analizleri	48
4.2.6. Mikrobiyom Analizleri Sonucunda Bakterilerin Taksonomik Dağılımları	50
4.2.7. İdentifiye Edilen Bakteriyel Etkenlerin Kümes Gruplarındaki Dağılımları	56
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR.....	69
BİLİMSEL ETİK BEYANI	93
ÖZ GEÇMİŞ.....	94

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	:	Avrupa Birliği
eDNA	:	Çevresel DNA (eDNA)
FAO	:	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
HTS	:	Yüksek Verimli Dizileme
KNS	:	Koagülaz Negatif <i>Staphylococcus</i> sp.
KPS	:	Koagülaz Pozitif <i>Staphylococcus</i> sp.
NGS	:	Yeni Nesil Sekanslama
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PM 2.5	:	2.5 Mikron Ölçüsündeki Partiküler Madde
QPCR	:	Kantitatif PCR
rRNA	:	Ribozomal RNA
TSA	:	Trypcase Soy Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Havada bulunan farklı türdeki mikroorganizmaların boyutları	7
Şekil 2. Biyoaerosollerin kaynakları ve taşınımı	11
Şekil 3. Biyoaerosollerin toplanması için kullanılan farklı örnekleme teknikleri.....	16
Şekil 4. Biyoaerosollerin toplanması ve analizi için kullanılan farklı yöntemler	17
Şekil 5. Biyoaerosol çalışmalarının yıllara göre değişimi	21
Şekil 6. İzole kültürlerden MALDI-TOF MS ile bakteri ve maya identifikasyonunun genel şeması	23
Şekil 7. Farklı biyoaerosol türlerinin ve bunların analiz ve izleme tekniklerinin tasviri....	28
Şekil 8. MALDI-TOF MS slaytı	32
Şekil 9. Benzerlik analizi sonuçları.....	38
Şekil 10. Örneklerdeki mikroorganizmaların cins bazında dağılımları	39
Şekil 11. AT1 grubunun krona analizi	41
Şekil 12. AT2 grubunun krona analizi	42
Şekil 13. BS1 grubunun krona analizi.....	43
Şekil 14. BS2 grubunun krona analizi.....	44
Şekil 15. AS1 grubunun krona analizi.....	45
Şekil 16. AS2 grubunun krona analizi.....	46
Şekil 17. Araştırma örneklerinin Shannon index grafiği.....	48
Şekil 18. Örneklerin iki boyutlu PCA analizi grubunun krona analizi	49
Şekil 19. Örneklerin üç boyutlu PCA analizi grubunun krona analizi.....	49
Şekil 20. İdentifiye edilen bakteriyel etkenlerin gruplara göre yüzde dağılımları.....	55
Şekil 21. AS1 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.....	56
Şekil 22. AS2 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.....	57
Şekil 23. AT1 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar	58
Şekil 24. AT2 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar	58
Şekil 25. BS1 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.....	59
Şekil 26. BS2 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.....	60
Şekil 27. Örnek gruplarımızda %1 ve üzerindeki bakterilerin taksonomik dağılımları.....	61

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Mikroorganizmalar ve ortaya çıkan başlıca hastalıklardan bazıları	10
Tablo 2. Biyoaerosol tespit ve izleme yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları	27
Tablo 3. Örnekleme yapılan broyler kümesler	29
Tablo 4. Örnek DNA'larının yoğunlukları	33
Tablo 5. PCR karışım oranları	34
Tablo 6. PCR işlemi ısıl döngü tablosu	34
Tablo 7. MALDI-TOF identifikasyon sonuçları.....	37
Tablo 8. Mikrobiyom analizleri sonucunda belirlenen bakterilerin yüzde dağılımı.....	50

ÖZET

KANATLI KÜMESLERİNDEKİ MİKROBİYAL BİYOAEROSOL ÇEŞİTLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Tanır T. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2024.

Amaç: Bu tez çalışmasında, broyler kümeslerinden alınacak biyoaerosol örneklerinin MALDI-TOF ve NGS yöntemleri ile mikrobiyal çeşitliliğinin belirlenmesi ile elde edilecek veriler ışığında, hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek biyoaerosoller ile ilgili önlem ve tedbirlerin alınması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmamızda İzmir ili ve çevresinde bulunan 3 farklı üreticiye ait 15 adet kümeden hem MALDI-TOF hem de NGS yöntemleri için ayrı ayrı biyoaerosol numuneleri alınmıştır. MALDI-TOF yöntemi için aktif hava örnekleme sonrasında izolasyon ve saflaştırma aşamaları gerçekleştirilmiş ve identifikasyon işlemi yapılmıştır. NGS için alınan numunelerden önce DNA ekstraksiyonları yapılmış ve sonrasında izole edilen DNA'daki hedef bölgeler seçilerek enzimatik reaksiyonla kesilmesi sonucunda DNA kütüphanesi oluşturulmuştur. Kütüphaneyi oluşturan DNA parçalarının çoğaltılması sonrasında DNA Parçalarının yeni nesil sekans sistemi ile dizilenmesi gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Konvansiyonel metotlarla kültüre ettiğimiz 35 adet mikrobiyal etkenden 32 adet etken (%91) MALDI-TOF yöntemi ile tanımlanmış ve tanımlanmış etkenlerden 23'ü (%71.9) *Staphylococcus* sp. olarak belirlenmiştir. NGS yöntemi ile yapılan çalışmamızda 4 filum, 6 sınıf, 10 takım, 16 familya, 35 cins ve 125 tür tanımlanmış olup identifikasyonu yapılan türler arasında *Staphylococcus* sp. (n:24) %19 ile baskın tür konumunda olduğu belirlenmiştir. Örnek gruplarımızda dominant olan filumlar ise *Bacillota* (AT1 %61; AT2 %99; AS2 %78) ve *Pseudomonadota* (AS1 %54; BS1 %87; BS2 %76) olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonucunda, *Staphylococcus* sp hem MALDI-TOF (%72) hem de NGS (%19) yöntemleri ile tanımlanmış etkenler arasında baskın tür konumunda olduğu tespit edilmiştir ve bu durumun antibiyotik direnç genlerinin kazanımı ve aktarılması konusunda getirdiği riskleri ortaya çıkarmıştır.

Anahtar kelimeler: Biyoaerosol, Broiler Kümesi, Yeni Nesil Dizileme, MALDI-TOF

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MICROBIAL BIOAEROSOL DIVERSITY IN POULTRY HOUSES

Tanir T. Aydin Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Microbiology Programme, Doctorate Thesis, Aydın, 2024.

Objective: The objective of this study was to assess the microbial diversity of bioaerosol samples collected from broiler poultry houses using MALDI-TOF and NGS methods. The data obtained from this analysis is intended to guide the implementation of preventive measures concerning bioaerosols that may pose risks to both animal and human health..

Material and Methods: Bioaerosol samples were collected separately for MALDI-TOF and NGS methods from 15 poultry houses belonging to three different producers in and around Izmir province. For the MALDI-TOF method, after active air sampling, isolation and purification processes were carried out, followed by the identification process bioaerosol samples were collected separately for MALDI-TOF and NGS methods from 15 poultry houses belonging to three different producers in district of Izmir. For the MALDI-TOF method, after active air sampling, isolation and purification processes were carried out, followed by the identification process. For NGS, DNA extractions were performed on the collected samples, and the target regions in the isolated DNA were enzymatically cut to create a DNA library. After amplifying the DNA fragments constituting the library, next-generation sequencing was performed..

Results: Out of the 35 microbial agents cultured using conventional methods, 32 agents (91%) were identified using the MALDI-TOF method, with 23 of them (71.9%) determined as *Staphylococcus* sp. In our study using the NGS method, 4 phyla, 6 classes, 10 orders, 16 families, 35 genera, and 125 species were identified, with *Staphylococcus* sp. (n:24) representing the dominant species at 19%. The dominant phyla in our sample groups were determined as *Bacillota* (AT1 61%; AT2 99%; AS2 78%) and *Pseudomonadota* (AS1 54%; BS1 87%; BS2 76%).

Conclusion: The study revealed that *Staphylococcus* sp. is the dominant species identified by both MALDI-TOF (72%) and NGS (19%) methods, highlighting the potential risks associated with the acquisition and transfer of antibiotic resistance genes.

Key Words: Bioaerosol, Broiler Poultry House, NGS, MALDI-TOF

1. GİRİŞ

Biyoaerosoller genellikle organik tozla eşanlı olarak kullanılan mikrobiyal, bitki veya hayvan kaynaklı aerosoller veya partikül madde olarak tanımlanır. Biyoaerosoller, patojenik veya patojenik olmayan canlı veya ölü bakteriler, mantarlar, virüsler, alerjenler, bakteriyel endotoksinler, mikotoksinler, peptidoglikanlar, β glükanlar, polen, bitki lifleri gibi yapılardan oluşabilir (Douwes, 2003).

Biyoaerosoller, “canlıları enfektivite, alerjenite, toksisite, farmakolojik veya diğer işlemler yoluyla etkileyebilecek biyolojik kökenli partiküllerden oluşan aerosoller” olarak da tanımlanmaktadır (Hirst ,2020; Shale ve Lues, 2007).

Dünya çapında tavukçuluk endüstrisi, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından 2012'de yapılan tahminlere göre yılda 103.5 milyon ton tavuk eti üretimiyle, küresel et üretiminin yaklaşık %34.3'ünü oluşturarak önemli bir sektör haline gelmiştir (Pawar ve diğerleri, 2016). Türkiye’de ise üretim, piliç etinde 1 milyon 894 bin ton; hindi etinde 48.6 bin ton düzeyindedir (TÜİK 2014). Dolayısıyla dünya tavuk eti üretiminin yaklaşık %2’si Türkiye’de gerçekleştirilmektedir. Broiler yetiştiriciliği, yetiştirme süresi kısa, birim alanda fazla sayıda üretim yapılmasına uygun, yemden yararlanma oranı oldukça yüksek, diğer tarımsal ürünlere göre iş gücü oranı az, gelişmiş ve teknolojiye açık bir sektördür (Çiftçi ve Azman, 2008). Bununla birlikte, kümes hayvanı tesisleri, içeriğinde mikroorganizma içeren biyoaerosol kaynaklarıdır (Clark ve diğerleri, 1983). Bu aerosollerin solunması hayvanlarda ve insanlarda çeşitli akciğer hastalıklarını oluşturabilir ya da bu hastalıkları tetikleyebilmektedir (Donham ve diğerleri, 1989). Kanatlı kümes hayvanlarında hastalıklara neden olan patojenik mikroorganizmaların birçoğunun hava yolu ile bulaştığı bilinmektedir (Wathes, 1994).

Tavuk çiftliğindeki çevresel durum, tavukların sağlıklı büyümesi ile yakından ilişkilidir (Sun ve diğerleri, 2020). Tavuk yetiştirme sürecinde, çiftlik ortamındaki mikroorganizma konsantrasyonu, diğer kapalı ortamlardakinden önemli ölçüde daha yüksek olacaktır (Huang ve diğerleri, 2019). Uzun vadede, bu düşük çevresel kaliteye sahip ortamda, tavukların mikrobiyal hastalıklara yakalanma olasılığı büyük ölçüde artacaktır, bu da tavukların bireysel sağlık seviyesini ciddi şekilde tehdit eder (Urbain ve diğerleri, 1996; Sun ve diğerleri, 2020).

Kümes hayvanları tesisleri, bakteriler, mantarlar, polenler, sporlar, bakteriyel endotoksinler, mikotoksinler, peptidoglikanlar, alerjenler ve bitki lifleri gibi bir dizi biyoaerosol

içeren önemli organik toz kaynaklarıdır (Douwes ve diğerleri, 2003; Vučemilo ve diğerleri, 2008). Broyler kümeslerinde bulunan farklı biyoaerosol kaynakları, yatak malzemesi, yem, altlık ve kuş tüyleridir (Chang ve diğerleri, 2010; Chi ve Li, 2006). Ayrıca temizlik uygulamaları, binaların yaşı, sıcaklık ve havalandırma oranı da toz emisyonlarını şiddetlendirir (Banhazi ve diğerleri, 2008). Broyler kümeslerinde bulunan 1 gram tavuk dışkısı, kültüre edilebilir 1.000 bakteri kolonisi açığa çıkarabilir ve bu biyoaerosollerin yaklaşık %80'i solunabilir. Bu nedenle kümes hayvanı tesisleri, biyoaerosollere maruz kalmanın önemli bir kaynağı olabilir (Chien ve diğerleri, 2011).

Kanatlı kümeslerindeki biyoaerosoller, içeriğindeki patojen mikroorganizmalar nedeniyle hem burada çalışan işçiler hem de kümeslerdeki hayvanlar için ciddi sağlık riski oluşturabilmektedir. Bu patojen mikroorganizmaların kanatlı hayvanlarda neden olabileceği hastalıklar hem verimliliği etkilemekte hem de kanatlı etleri vasıtası ile kolayca insanlara da geçebileceğinden dolayı insan sağlığı açısından da risk teşkil etmektedir.

Araştırmamızda kanatlı kümeslerinden alınan biyoaerosol örneklerindeki mikroorganizma çeşitliliği, matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ve yeni nesil sekans (NGS) yöntemleri ile tespit edilecek ve elde edilecek sonuçlar karşılaştırılacaktır. Bu alanda yapılan çalışmaların artmasıyla elde edilecek veriler ışığında, hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek biyoaerosoller ile ilgili önlem ve tedbirlerin alınması kolaylaşacaktır. Çalışmamız sonrasında elde ettiğimiz verilerin ülkemizdeki çok önemli bir sektör olan kanatlı sektörüne faydalı olması düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tavukçuluk Endüstrisi

Uygun bir protein kaynağı olmasından dolayı tavuk eti talebi hızla artmakta olup, günümüzde dünya genelinde en çok tüketilen et türüdür (Whitton ve diğerleri, 2021). Tavuklar, geleneksel çiftlik hayvanları arasında (sığır, domuz, hindi gibi) yemin protein ağırlığına dönüştürülmesinde en verimli olan hayvan türüdür ve bu durum, tavuk ürünlerine olan talebin artmasına katkıda bulunmaktadır (Diaz ve diğerleri, 2019). Ancak, tavukların çiftliklerde yoğun popülasyonlar halinde olması neticesinde oluşan nihai tavuk ürününün zoonotik patojenlerle kontaminasyonu, genellikle arzda kıtlığa ve ekonomik kayıplara neden olabilmekte ve bununla beraber halk sağlığı sorunlarına da neden olmaktadır (Berrang ve diğerleri, 1999). Yüz yıldan fazla bir süredir tavuklar, zoonotik enfeksiyonun önemli bir kaynağı olarak kabul edilmektedir (Higgins, 1898).

Kümes hayvancılığı, doğal kaynak kullanımı ve protein kazancı açısından en verimli hayvan yönetimi biçimlerinden biri olmasına rağmen, insan sağlığı ve çevre üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir (De Vries ve De Boer, 2010). Endüstriyel tavuk üretiminin büyük bir kısmı, et üretimi için yetiştirilen broylerler ve yumurta üretimi için kullanılan yumurtacı tavuklardan oluşur ve genellikle yoğun üretim yapılan çiftliklerde gerçekleştirilir. Bu tür yoğun tavuk üretimi, genellikle birkaç bin ile birkaç yüz bin birim arasında değişen sürülerle yürütülür ve genellikle iç mekanlarda açık zeminli barınaklarda veya otomatik besleme ve sulama sistemlerine sahip batarya tipi (pil) kafeslerde gerçekleştirilir ve çok yüksek hayvan yoğunluğuna (33 kg m² veya daha yüksek) sahiptir (Augère, 2019; Mottet ve diğerleri, 2017).

Çevrenin koruması, Avrupa Birliği'nin (AB) sürdürülebilir kalkınma standartlarının en önemli önceliklerinden birisidir. FAO tahminlerine göre, dünya çiftlik hayvanı üretiminin %35'ini oluşturan tavuk üretimi, toplam atık emisyonlarının ve su tüketiminin yalnızca %7'sinden sorumludur (FAO, 2006). Yine de tavuk yetiştiriciliği, her türlü çiftlik hayvancılığı gibi, çevre üzerinde negatif bir etkiye sahip olabilen atıklar ve yan ürünler üretir. Genel algıda, bunlar arasında en sorunlu olanlar katı atıklar (kullanılmış talaş, dışkı) ve sıvı gübre, ayrıca organik ve inorganik uçucu kimyasal maddelerin karışımları (kokular) olarak kabul edilir.

Tavuk yetiştiriciliği genellikle bu tür kirlilikle ilişkilendirilse de mikrobiyolojik kontaminantların çiftlik içine ve dışına salınımına çok daha az dikkat edilmektedir (Gržinić ve diğerleri, 2023).

Özellikle Avrupa Birliği'nin de, çiftlik koşullarını ve hayvan refahını iyileştirmek, çevresel etkiyi azaltmak ve sektörün sürdürülebilirliğini arttırabilmek amacıyla organik üretim, serbest dolaşım, düşük yoğunluklu ve çevresel etkileri azaltılmış üretim sistemleri gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu tür sistemler, daha yavaş büyüyen kümes hayvanı genotiplerinin kullanımı, dışarıdaki serbest dolaşım alanına erişimle birlikte daha düşük hayvan yoğunluğu ve yerel olarak üretilen yemlerin kullanımının artırılmasına vurgu yapılması ile karakterize edilir (Dal Bosco ve diğerleri, 2021). Örneğin, organik üretim hakkındaki AB Komisyonu Yönetmeliği No 889/2008, tavukların taze hava, gün ışığı ve dış mekan alanına erişim sağlaması gerektiğini belirtir, minimum 4 m² hareket alanına sahip olmalıdır. İlgili komisyon kararında yem koşulları ayrıntılı olarak belirttilmiş ve yemin en az % 20'sinin yerel veya bölgesel olarak üretilmesi, GDO içermemesi ayrıca böcek ilacı ve gübre kullanımının sınırlandırılması konularına yer verilmiştir (Dal Bosco ve diğerleri, 2021). Günümüzde, AB'de üretilen tavuk etinin yaklaşık %10'u bu tür düşük yoğunluklu veya genişletilmiş üretim sistemlerinden gelmektedir ve yılda %12'nin üzerinde sürekli bir büyüme kaydetmektedir (Augère, 2019).

Tavuk üreticiliğinde ekonomik kaygılarla, birim alandaki hayvan sayısının artırılması, kümeslerdeki hava kirliliğinin en önemli sebeplerinden birisidir. Bu durum hayvan sağlığını ve kilo alımını önemli ölçüde etkilemektedir. Ayrıca, tavuk yetiştiricileri ve yakın çevresinde yaşayanlar için de bir sağlık riski oluşturabilir (Donham ve Cumro, 1999; Donham ve diğerleri, 2002; Whyte, 2002). Tavuklar, çevreye, özellikle epitel dökülmesi ve yem, cilt, dışkı vb. kaynaklardan kaynaklanan toplu miktarda toz salarlar (Takai ve diğerleri, 1998).

Tavuk kümeslerinde genellikle hayvan derisi, dışkı ve yem içeriklerinden kaynaklanan yüksek miktarda biyoaerosol konsantrasyonları bulunmaktadır (Chang ve diğerleri, 2010). Biyoaerosol maruziyeti, üst solunum yolu enfeksiyonu, kronik bronşit, organik toz toksik sendromu ve diğer solunum semptomlarına neden olabilir (Donham ve diğerleri, 2000).

Yüksek düzeyde biyoaerosol, kümes çalışanlarının solunum fonksiyonlarını önemli ölçüde etkileyebilir (Clark ve diğerleri, 1983; Jones ve diğerleri, 1984; Olenchock ve diğerleri, 1982). Yapılan birçok epidemiyolojik çalışma, kümes hayvanları barakalarında çalışan işçilerde, geniş bir iş kesiminde çalışanlara kıyasla akut solunum problemlerinin çok daha

yüksek oranlarda görüldüğünü bildirmektedir (Morris ve diğerleri, 1991; Radon ve diğerleri, 2002; Rylander ve Carvalheiro, 2006; Schwartz ve diğerleri, 1992).

Patojen ve koşullu patojen mikroorganizmalar immünotoksin, alerjik etkiler ve hatta bulaşıcı hastalıklara neden olabilir (Chmielowiec-Korzeniowska ve diğerleri, 2021). Kümes hayvanlarında, kümes hayvanlarının sağlığına tehdit oluşturan bakteriler arasında *Chlamydia* sp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria* sp., *Streptococcus* sp. ve çeşitli *Salmonella* sp. bulunmaktadır ve bunlar solunum yollarını enfekte ederek interstisyel pnömoni, hava yolu inflamasyonu ve çeşitli solunum hastalıklarına neden olabilir (Dai ve Zhao, 2020).

Üretim verimliliğinin, kanatlıların refahı ve ortam hava kalitesi ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Feddes ve diğerleri, 1995; Hayter ve Besch, 1974; Kristensen ve diğerleri, 2000; Quarles ve Caveny, 1979).

Günümüzde, yüksek yoğunluklu yetiştirme şekli, hayvancılık ve kümes hayvanı üretimi sürecinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yetiştirme şeklinin aşırı kalabalık alan, zayıf havalandırma, kötü hava kalitesi gibi dezavantajları vardır (Ma ve diğerleri, 2020).

Çiftlik hayvanlarının yetiştirildiği ortamlardan toplanan hava örneklerinde, havada asılı olarak bulunan toz miktarı ile mikroorganizma ve endotoksin seviyeleri arasında güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Curiel ve diğerleri, 2000). Özellikle kontamine olmuş materyalin temizlenmesi, doldurulması ve tartılması işlemleri, partiküllerin atmosfere salınmasına yol açabilir (Holah ve diğerleri, 1995). Kapalı hayvan barakalarında biriken mikrobiyal kontaminantlar, hayvanlar ve çalışanlar için ciddi bir sağlık riski oluşturur (Stuper-Szablewska ve diğerleri, 2018). Ayrıca havalandırma sistemi tarafından dışarı salındığında, mikrobiyal kontaminantlar doğal çevre ve bölgede yaşayan insanların sağlığı için bir tehdit oluşturabilir (Chmielowiec-Korzeniowska ve diğerleri, 2018; Plewa-Tutaj ve diğerleri, 2014).

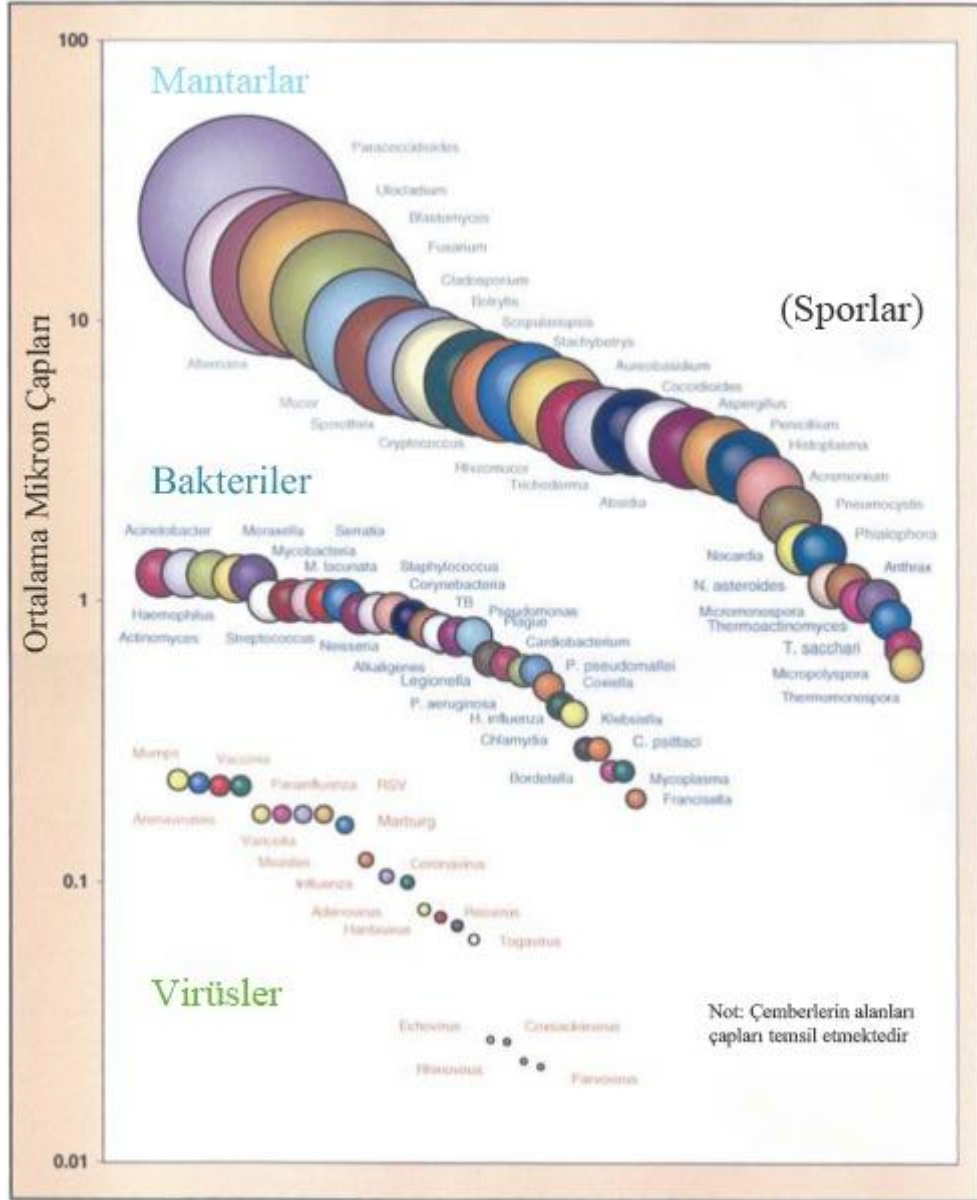
Ticari tavukçulukta, yumurtaların ve yeni çıkan civcivlerin çevresel mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu azaltmak için genellikle sıkı hijyen önlemleri uygulanır. Ancak, bu kolonizasyon sürecinin, ebeveynlerden embriyonik dönemde geçişin olduğuna dair kanıtlar artmaktadır (Ding ve diğerleri, 2017).

2.2. Biyoaerosoller

Biyoaerosoller, biyolojik olarak bitki veya hayvan kökenli ve canlı organizmalar da içerebilen havadaki çok küçük partiküllerdir. Boyutları 0.001-100 µm arasında değişmektedir (Georgakopoulos ve diğerleri, 2009). Patojenik veya patojenik olmayan ölü yada canlı mikroorganizmalar biyoaerosoller içerisinde yer alabilir (Mandal ve Brandl 2011). Biyoaerosoller, küçük boyutları ve hafif olmaları sebebiyle bir ortamdan diğerine kolayca hareket edebilir (Van Leuken ve diğerleri, 2016).

Biyoaerosoller dünyanın her yerinde mevcuttur. Bazı durumlarda askıdaki toplam partikül konsantrasyonlarının çoğunluğunu oluşturabilirler. Biyoaerosoller, tüm organizmalar (bakteri, küf, mantarlar, maya ve algler), üreme varlıkları (polen, spor), biyopolimerler (DNA, kitin, selüloz ve diğer polisakkaritler), bitki kalıntıları, böcek kısımları ve çürüyen biyokütle dahil olmak üzere çeşitli partikül tiplerini içerebilir. Biyoaerosollerin bileşenleri boyut olarak değişiklik göstermektedir. Polenlerin tipik çapları 17-58 µm, mantar sporları tipik olarak 1-30 µm çapında, bakteriler tipik olarak 0.25-8 µm çapındadır ve virüsler genellikle 0.3 µm'den küçüktür. Ayrıca, bitki ve hayvan parçaları da boyut olarak değişkenlik gösterebilir (Lighthart ve Shaffer 1994).

Bakteri ve mantarlar, biyoaerosoller içindeki en büyük çoğunluğu oluşturan topluluktur. Bakterilerin büyüklüğü 0,5-2,0 µm çapındadır ve çoğunluğu 3 µm çapından daha büyük partiküllerin içerisinde bulunurlar. İnsan cildinde ve bağırsak florasında bulunan bakteri sayısı, insan vücudunda bulunan tüm hücrelerin sayısının on katından daha fazladır. Havada bulunan bakteriler tek hücre olarak taşınabilmekle birlikte genel olarak toprak, yaprak ya da deri parçaları gibi diğer partiküllere bağlanıp taşınmaktadırlar (Lighthart, 1997). Havada bulunan farklı türdeki mikroorganizmaların boyutları Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Havada bulunan farklı türdeki mikroorganizmaların boyutları (Gürler, 2005).

Mikrobiyal aerosol, hava kalitesini ölçmek için önemli bir indekstir (Kaliste ve diğerleri, 2002). Mikroorganizmalar, kuru katı partiküller ve sıvı partiküllerle bağlantılıdır ve asılı durumda havada süzülerek mikrobiyal aerosolleri oluşturur (Wu ve diğerleri, 2023). Mikrobiyal aerosol, başlıca 1-100 μm arasında değişen parçacık boyutlarına sahip mikroorganizmaları içerir; bu aralıktaki parçacıklar arasında 2.5 mikron ölçüsündeki partiküler madde (PM 2.5) vücuda en fazla zarar verenlerinin başlıcalarıdır (Brook ve diğerleri, 2004). Küçük parçacık boyutu nedeniyle PM 2.5, solunum yoluyla alveollere girebilir ve bir kısmı akciğerlerde kalabilir, solunum yolu enfeksiyonuna neden olabilir. Bir kısmı ise kan dolaşımı yoluyla vücuda girebilir, kardiyovasküler hastalıklara, sistemik inflamasyona ve hatta akciğer kanserine

yol açabilir (Clifford ve diğerleri, 2018). PM 2.5'in yüksek konsantrasyonuna uzun süre maruz kalmak, insanlarda kronik solunum yolu hastalıkları riskini artırabilir. Özellikle tarım ve hayvancılık gibi mesleki ortamlarda, PM 2.5 konsantrasyonu sadece yüksek değil, aynı zamanda daha kompleks bir hal almıştır ve bunun oluşturabileceği risk ve hasar öngörülenden çok daha fazladır (Yan ve diğerleri, 2022).

Son yıllarda, birçok çalışma biyoaerosollerdeki bakteri ve toplam mikroorganizma konsantrasyonlarına odaklanmıştır. Genel olarak, toplam bakteri ve toplam mikroorganizma konsantrasyonları m³'de 10.000 -1.000.000 hücre arasında değişmektedir (Hara ve Zang, 2012). Biyoaerosollerdeki mikroorganizma konsantrasyonları coğrafi konum, mevsim ve hava koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Huang ve diğerleri, 2019).

Mikroorganizmalar, bakteri, mantar, polen ve virüsler de dahil olmak üzere önemli bir biyoaerosol grubudur (Ariya ve Amyot, 2004; Jaenicke, 2005; Smets ve diğerleri, 2016). Mikroorganizmalar arasında, bakteriler atmosferde her yerde bulunur ve uzun bir atmosferik kalma süresine sahiptir (Burrows ve diğerleri, 2009). En küçük bakteri parçacıkları atmosferde asılı kalabilir, bazen üst troposfere ulaşabilir (DeLeon ve diğerleri, 2013). Bu bakteriler gelen güneş ışığını etkileyebilir veya emebilir, bulut damlacıkları ve buz kristallerinin oluşumunu etkileyebilir (Phillips ve diğerleri, 2009; Bowers ve diğerleri, 2009). Bazı çalışmalar, atmosferik bulut suyu numunelerindeki bakterilerin % 76'sının metabolik olarak aktif olduğunu ve bulut kimyası üzerinde önemli etkilere sahip olabileceğini tespit etmiştir (Delort ve diğerleri, 2010; Kourtev ve diğerleri, 2011). Bu nedenle, biyoaerosol partiküllerindeki bakterilerin dolaylı olarak küresel iklim değişimini etkilediği ve potansiyel olarak atmosferik kimyayı etkilediği düşünülmektedir (Amato ve diğerleri, 2015; Morris ve diğerleri, 2013).

Havada yer alan bakterilerin çoğu mezofilik koşullarda optimum üreme hızına sahiptirler. Bakteriler, hücre ve hücre dışı toksinler üretebilirler. Bu toksinler içeriğinde mikrobiyal uçucu organik bileşikler de yer almaktadır. Bakterilerin iç ortam havasında bulunma miktarları, ortam koşullarına bağlı olarak değişmekle birlikte 10-10⁴ cfu/m³ değişebilmektedir (Ayla ve Semiha, 2015).

Biyoaerosoller canlı (virüs, mantar, bakteri) veya canlı olmayan (proteinler, endotoksinler) olabilir (Adhikari ve diğerleri, 2004). Çevredeki hava biyoaerosolleri, sağlık riski göstergeleridir. Araştırmalar, hem canlı (kültürlenbilir/kültürlenemez) hem de canlı olmayan biyoaerosollerin, bu partiküllere maruz kalan bireylerde sağlık sorunlarının temelini oluşturduğunu göstermektedir ve bu maruziyet iç veya dış ortamlarda gerçekleşebilir (Crameri

ve diğerleri, 2014). Çevredeki biyoaerosollerin varlığını ve etkilerini anlamak, sağlıklı bir ekosistemi sürdürmek ve iklim değişikliğinin canlı organizmalar üzerindeki etkilerini izlemek için önemlidir. Biyoaerosollerin varlığı, solunum alerjilerine ve diğer ilgili hastalıklara neden olma potansiyeline sahiptir (WHO, 2021). Belirli biyoaerosollerin varlığı, enfeksiyon ve kanser gibi hastalıkların gelişimi ile artan bir riskle ilişkilendirilmiştir (Chretien ve diğerleri, 2015; Gandhi ve diğerleri, 2014). Mikroorganizmaların ve suda çözünen iyonların biyoaerosoller aracılığıyla yaygın olarak dağılması, hem kamu sağlığı hem de çevresel endişelere neden olabilir (Han ve diğerleri, 2018; Han ve diğerleri, 2019).

Biyoaerosoller havada bulunan bitki, hayvan maddesi veya mikroorganizmalardan oluşan bileşikler veya mikrofragmanlar olarak da tanımlanır. Ölü ya da canlı olan tüm mikroorganizmalar da bu tanıma dahil edilmiştir. Biyoaerosollere maruz kalmanın etkileri bulaşıcı hastalıklar, alerjik hastalıklar, akut toksik etkiler, astım dahil solunum hastalıkları, nörolojik etkiler ve muhtemelen kanseri içerebilir (Douwes , 2003). Biyoaerosol, çevresinde yaşayan insanlar ve hayvanlar için ciddi sağlık tehlikeleri oluşturmaktadır. Mikrobiyolojik kirlilik virüs, bakteri, aktinomiset ve mantar içeren biyoaerosol şeklinde yayılmaktadır (Fernando ve Fedorak, 2005).

Hastane, hayvan barınağı, temiz oda, ilaç üretim tesisi, tren ve uzay aracı gibi birçok ortamda, biyoerosollerin varlığı bu ortamlardaki faaliyetlere zarar verebilir. Bu sebeple bu gibi ortamlarda etkin biyoaerosol izlenmesi kritik hale gelmektedir (Górny ve diğerleri, 2002; Okafor ve Opuene, 2007; Venkateswaran ve diğerleri, 2003). Enfeksiyöz aerosoller genellikle çok küçük oldukları için (<5 µm) hava akımında uzun süre askıda kalıp canlı kalabilirler. Bu durum, kapalı yerlerde çok yüksek hava kaynaklı enfeksiyon riski oluşturur. Nozokomiyal enfeksiyon, kişiden kişiye temas ve gittikçe artan şekilde hava yoluyla yol geçişi ile bağlantılı enfeksiyonların birçoğunda ciddi ve yaygın bir sorundur. Bu, tüm endemik nozokomiyal enfeksiyonların% 10-20'sini oluşturabilir (Brachman, 1971).

Biyoaerosoller, çeşitli süreçlerle sağlığımız ve çevremiz için önemli bir rol oynamaktadır. Antropojenik aktivitenin biyoaerosoller üzerinde geniş bir etkisi vardır. Biyolojik kökenlere sahip havadaki partiküllerin tüm etkilerinin tam bir resmine henüz sahip değiliz, ancak son yıllarda moleküler mikrobiyoloji ve aerosol teknolojisindeki gelişmeler, bu büyüleyici dünyayı çözmek için yeni olanaklar sağlamıştır (Löndahl, 2014).

Biyoaerosollerin neden olduğu potansiyel sağlık tehlikesi, havadaki belirli mikroorganizmaların patojenitesinin ve mikroorganizmaların havada hayatta kalmasını

belirleyen çevresel koşullar gibi diğer faktörlere bağlıdır (Mohr, 2001). Havada bulunabilecek bazı mikroorganizmalar, yaklaşık boyutları, oluşturdukları hastalıklar ile bulaşma yolları Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mikroorganizmalar ve ortaya çıkan başlıca hastalıklardan bazıları (Kim ve diğerleri, 2018).

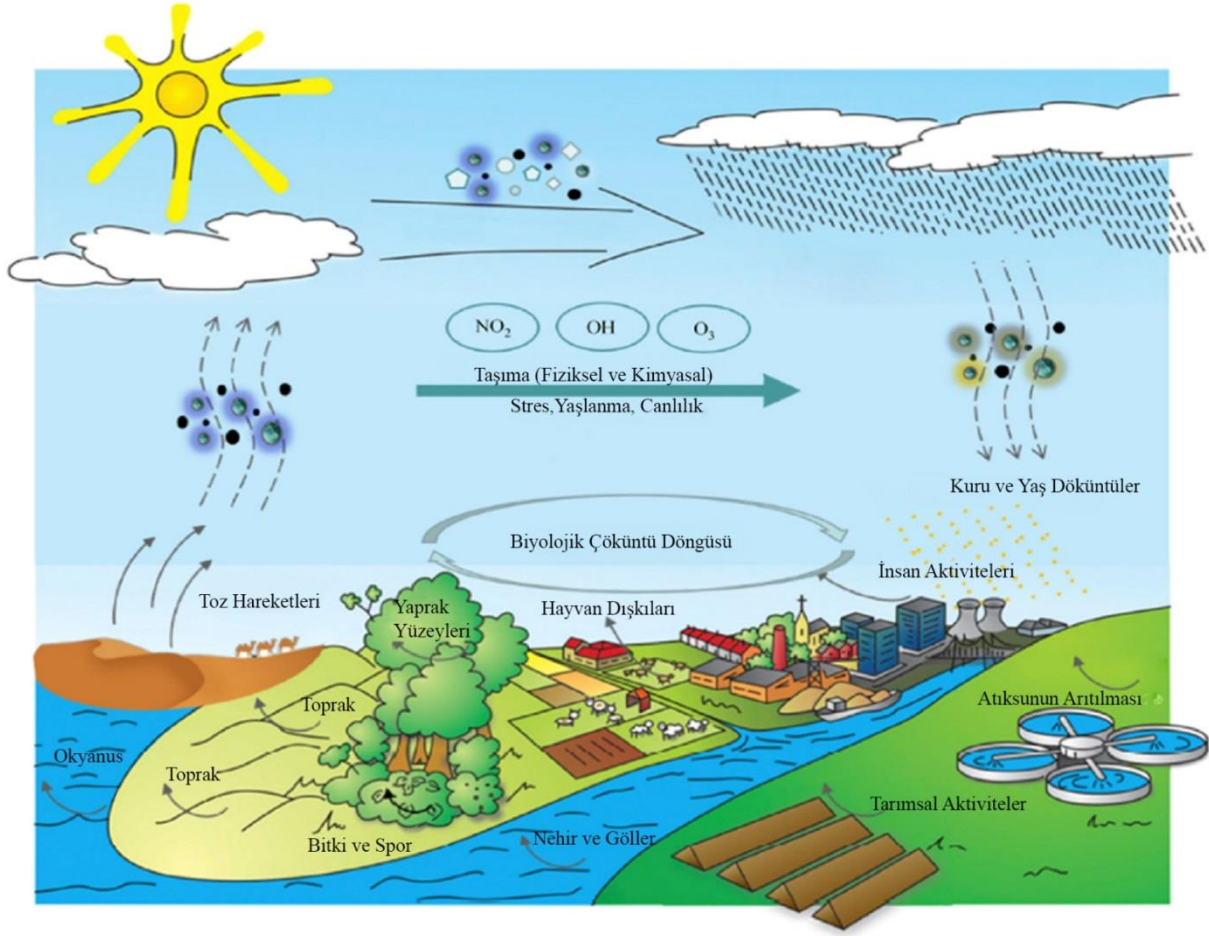
Sıra	Türler	Yaklaşık Boyut	Hastalık	Enfeksiyon/Bulaşma
1	<i>Legionella pneumophila</i>	Uzunluk: 2 µm Genişlik: 0,3–0,9	Lejyoner hastalığı	Bakteri içeren bir su aerosolünün solunması
2	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Uzunluk: 2-4 µm Genişlik: 0,2–0	Tüberküloz	Hava yolu ile kişiden kişiye
3	<i>Bordetella pertussis</i>	Uzunluk: 40–100 nm Çap: 2 nm	Boğmaca	Havadaki damlacıkların doğrudan teması veya solunması.
4	<i>Yersinia pestis</i>	Uzunluk: 1–3 µm Genişlik: 0,5–0,8 µm	Pnömonik veba	Enfekte kemirgen hayvanın ısırması
5	<i>Bacillus anthracis spore</i>	Uzunluk: 3–5 µm Genişlik: 1,0–1,2 µm	Şarbon	Enfekte hayvanlarla ve sineklerle temas ve şarbon sporları içeren havanın solunması
6	<i>Variola vera</i>	Uzunluk: 220–450 nm Genişlik: 140–260 nm	Çiçek Hastalığı	Havadaki variola virüsünün solunması, enfekte olmuş bir kişiyle uzun süreli yüz yüze temas, enfekte olmuş vücut sıvıları veya kontamine nesnelere doğrudan temas
7	<i>Herpesvirida, HHV-3</i>	Çap: 150-200 nm	Suçiçeği ve zona	Zona kaynaklı döküntü kabarcıklarından sıvı ile doğrudan temas
8	<i>Morbillivirus measles</i>	Uzunluk: 125-250 nm Çap: 21 nm	Kızamık,kabakulak ve kızamıkçık	Vücut sıvıları: Tükürük damlaları, burundan mukus, öksürme veya hapsirme, göz yaşları
9	<i>Vibrio Cholerae</i>	Uzunluk: 1,4–2,6 µm Genişlik: 0,5–0,8 µm	Kolera	Kontamine olmuş yiyeceklerin yenilmesi veya kontamine suyun içilmesi
10	<i>Salmonella Typhi</i>	Uzunluk: 0,7–1,5 µm Genişlik: 28 µm	Tifo	Kontamine yiyecek veya su yoluyla ve bazen enfekte olmuş biriyle doğrudan temas yoluyla.
11	<i>Microsporum Trichophyton</i>	Uzunluk: 5–100 mm Genişlik: 3–8 mm	Saçkıran	Enfekte kişilerle ya da eşyalarıyla doğrudan temas.

2.3. Biyoaerosollerin Kaynakları ve Taşınımı

Biyoaerosolların emisyon, taşıma ve dispersiyon mekanizmalarını anlamak için biyoaerosolların şekli, boyutu, kütle hacmi ve yoğunluğunun anlaşılması önemlidir. Biyoaerosollar farklı yapı ve boyutlarda bulunabilir ve buldukları çevresel koşullar ile kaynak kökenleri biyoaerosollerin çeşitliliğini etkilemektedir (Pillai ve Ricke, 2002).

Çiftlik hayvanları ve tavuk yetiştiriminin neden olduğu hava kirliliği, hayvanların sağlığını olumsuz etkiler ve yakındaki bölgelerin hava kalitesini bozar, aynı zamanda işçilere

mesleki sağlık riskleri oluşturur (Dungan , 2010; Donham ve diğerleri, 1989). Biyoaerosollerin kaynakları ve taşınımları aşağıda sunulmuştur (şekil 2).



şekil 2. Biyoaerosollerin kaynakları ve taşınımları (Smets ve diğerleri, 2016).

Biyoaerosollerin, ev içi partikül madde hava kirliliğinin yaklaşık %5'i ile %34'ünü oluşturduğu tahmin edilmektedir (Mandal ve Brandl, 2011). İç mekan biyoaerosol kirliliğinin ana kaynakları arasında; dış mekan kaynakları (pencerelerden, kapılardan ve havalandırmadan geçerek), yapı malzemeleri, mobilyalar, ev içinde yaşayanlar, evcil hayvanlar, ev bitkileri ve organik atıklar yer alır (Nazaroff, 2016). Öksürük, yıkanma, tuvalet sifonunun çekilmesi vb. sıradan insani faaliyetler de ev içinde bulunan biyoaerosol'leri oluşturabilir (Chen ve Hildemann, 2009). Bununla birlikte, sıcaklık ve nem gibi temel çevresel koşulların, mikroorganizmaların oluşumu üzerindeki etkilerinden dolayı biyoaerosol oluşum ve dağılım derecelerini önemli ölçüde etkileyebilir (Dedesko ve diğerleri, 2015). Sonuç olarak, biyoaerosollerin prevalansı pnömoni, grip, kızamık, astım, alerji ve gastrointestinal hastalık gibi bazı hastalıklar ile ilişkili olabilir (Srikanth ve diğerleri, 2008).

Mikrobiyal sporlar havalandırma sistemleri vasıtasıyla iç mekanlara girerek havadan bulaşabilir. Mikroplar insanlar, hayvanlar, bitki örtüsü ile havaya fırlatılır ve yüzeylerde birikebilir. Mikroorganizmaların aerosol haline gelmesi ve havada hayatta kalmaları, nem sıcaklık gibi iklim koşullarından ve radyasyondan da etkilenir (Pepper ve Gerba, 2015). Yapı malzemelerinin aşırı nem ve/veya yüksek su içeriğinin mikrobiyal büyümenin derecesini belirleyebileceği ve tüm bu faktörlerin sağlık üzerinde olumsuz etkilere, hoş olmayan kokulara ve malzemelerin tahrip olmasına yol açabileceği bilinmektedir (Yassin ve Almouqatea, 2010).

Mesleki çevrede biyoarosollere maruz kalma, bulaşıcı hastalıklar, akut toksik etkiler, alerjiler ve kanser dahil olmak üzere büyük halk sağlığı problemleri ile ilişkilidir. Solunum semptomları ve akciğer fonksiyon bozukluğu en çok çalışılan ve muhtemelen en önemli biyoaerosol ilişkili sağlık etkileri arasındadır (Douwes, 2003). Son yıllarda biyoaerosollere maruz kalmanın bol olabileceği atık geri dönüşüm ve kompostlama endüstrisi, yüksek oranda saflaştırılmış enzimler üreten biyoteknoloji endüstrileri ve bu enzimleri kullanan deterjan ve gıda endüstrileri gibi yeni endüstriyel faaliyetler ortaya çıkmıştır. Çoğu biyolojik ajan için doz-yanıt ilişkileri kurulmamıştır ve eşik değerleri hakkında bilgi nadirdir. Bununla birlikte, odun tozu, bakteriyel enzimler ve un tozu gibi bazı kirleticiler için maruz kalma sınırları belirlenmiştir. Bakteriyel endotoksinler için de maruz kalma sınırları önerilmiştir. Risk değerlendirmesi yapılabilmesi, geçerli kantitatif maruziyet değerlendirme yöntemlerinin sınırlı olması nedeniyle ciddi şekilde engellenmektedir (Douwes, 2003).

Biyoaerosol maruziyetinin çok yoğun olarak yaşandığı başlıca mesleki faaliyetler, atık ayırma ve organik gübre üretimi, tarım ve gıda işleme faaliyetleri ve hayvancılık endüstrisidir (Beck ve diğerleri, 2012; Rohr ve diğerleri, 2015). Gerçekten de, bu tür biyoaresol maruziyetine maruz kalan işçilerin çeşitli solunum yolu hastalıkları veya semptomlarının (alerjik astım, rinit, hava yolu enflamasyonu vb.) yaygınlığı bildirilmiştir (Beck ve diğerleri, 2012; Rohr ve diğerleri, 2015). Yüksek biyoaerosol konsantrasyonları ve mikroorganizmaların hareketi, uygun iklim koşullarında patojenlerin yayılmasına ve yakındaki toplulukları etkilemesine neden olabilir (Malakootian ve diğerleri, 2013; Sánchez ve diğerleri, 2008). Yakın zamanda ortaya çıkan SARS-CoV-2 virüsünün de iç mekan aerosolleri yoluyla yayıldığı bilinmektedir (Wang ve diğerleri, 2021).

Hayvan besleme sürecinde, işçiler mikroorganizma içeren toza birçok kez temas edebilir, bu durum da işçilerin astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi solunum hastalıkları riskini büyük ölçüde arttırmaktadır (Heederik ve diğerleri, 2007; Borlée ve

diğerleri, 2017). Yang ve diğerleri (2021) Tavuk çiftliğindeki bakteri topluluğunun aerosoller aracılığıyla yetiştirilen hayvanlardan işçilere iletilmiş olduğunu tespit etmiştir.

Biyolojik kökenli havada asılı ve çökelmiş partikül materyal, iş sağlığı alanında organik toz olarak adlandırılır.. Büyük ölçekli üretim stratejileri, broyler kümeslerinin içinde artan tavuk yoğunluklarına yol açmıştır (Sauter ve diğerleri,1981). Sınırlı bir alanda artan bu hayvan yoğunluğu, organik toz maruziyeti ile ilgili insan sağlığı sorunlarının önemli bir kaynağıdır (Thelin ve diğerleri, 1984; Morris ve diğerleri, 1991; Donham ve diğerleri, 2000; Rylander ve Carvalheiro, 2006). Bu organik toz; dışkı, altlık, yem, tüy oluşumu (yüksek miktarda alerjen kepek üreten) gibi nedenlerle ortaya çıkan canlı olmayan partiküllerden hem de canlı partikül maddeler olan biyoaerosollerden oluşur. Broyler kümeslerinde biyoaerosollere maruz kalma, besi döneminde dışkı ve tüy kepeklerinin biyokütlesi önemli bir şekilde arttığından dolayı canlıların büyüme aşamasına bağlı olarak değişebilir. Ayrıca, özellikle besili piliçlerin kesime gönderilmek üzere toplandığı aşamada, piliçleri yakalayıp kutulara yerleştiren işçilerin yanı sıra piliç kutularını nakliyat için yükleyen forklift operatörlerinin maruz kalabileceği bir dizi ek biyoaerosol oluşmaktadır. Biyoaerosollerin miktarı ve bileşimi hakkında zamansal bilgi toplamak, bu faktörler ile hem işçilerin hem de hayvanların olumsuz sağlık semptomları arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak için gereklidir (Oppliger ve diğerleri 2008).

2.4. Biyoaerosollerin Örnekleme Yöntemleri

Günümüzde birçok farklı biyoaerosol örnekleme yöntemi kullanılmakta ve birçok yeni yöntem geliştirme aşamasında bulunmaktadır (Grinshpun ve Clark, 2005; Muilenberg, 2003) Şu ana kadar, farklı türlerdeki hava yolu mikroorganizmalarını toplamak için uygun tek bir örnekleme yöntemi veya standart bir protokol bulunmamaktadır (Grinshpun ve diğerleri,, 2007).

Örneklenen hava numuneleri, mikroorganizmalara zarar vermeden toplanmalı ve toplanan mikroorganizma sayısı, havadaki konsantrasyonu temsil edecek yeterlilikte olmalıdır. Hava örnekleri, aktif ve pasif olmak üzere iki farklı yöntemle toplanmaktadır ve her iki yöntem de yaygın bir kullanıma sahiptir. Daha yüksek hacimde hava örnekleme amacıyla hızlı örnekleme yöntemleri geliştirilmiştir (Alvarez ve diğerleri, 1995).

Örnekleme tekniklerindeki ilerlemeler, verimliliği artırmak ve olumsuz etkileri minimize etmek amacıyla hala araştırılmaktadır (Sajjad ve diğerleri , 2023).

Birçok ülkede patojen mikroorganizmalar içeren biyoaerosollerin toplanması için henüz standart yöntemler ve prosedürler bulunmamaktadır. Ancak, hava yolu hastalıklarının erken tahmin ve gerçek zamanlı uyarı için biyoaerosollerin doğru bir şekilde tespit edilmesi esastır (Metcalf ve diğerleri , 2018).

2.4.1. Pasif Örnekleme Metodu

İlk olarak, Louis Pasteur besiyerini ortama bırakarak mikroorganizmaları toplamıştır. Ardından, iç havadaki mikrobiyal kontaminasyonu belirlemek amacıyla Robert Koch, petri açma yöntemini kullanmaya başlamıştır (Pasquarella ve diğerleri, 2000).

Yerçekiminin etkisiyle, havada bulunan partiküller, kütlelerine bağlı olarak (yaklaşık 0.46 cm/sn hızla) açık bırakılan petri kaplarına düşmektedir (Whyte ve diğerleri, 1986). Petri açma yöntemi, uygulanması kolay olmasına rağmen, beklenenden daha az mikroorganizma tespitine neden olabilir ve bu nedenle genellikle önerilmemektedir (Charnley ve diğerleri, 1969; Humphreys ve diğerleri, 1992; Humphreys ve diğerleri, 1995; Humphreys ve diğerleri, 1999; Verreault ve diğerleri, 2008).

Bu yöntemin uygulanması basit ve maliyetsiz olması, aynı anda birçok bölgeden örnek alınabilmesi ve kritik alanlarla ilgili anlamlı sonuçlar vermesi gibi avantajlara sahiptir. Ancak, bu yöntemle havadaki mikroorganizma miktarını tahmin etmek mümkün olabilir ve havadaki tam mikroorganizma sayısını verme konusunda eksik kalabilir (Pasquarella ve diğerleri, 2000).

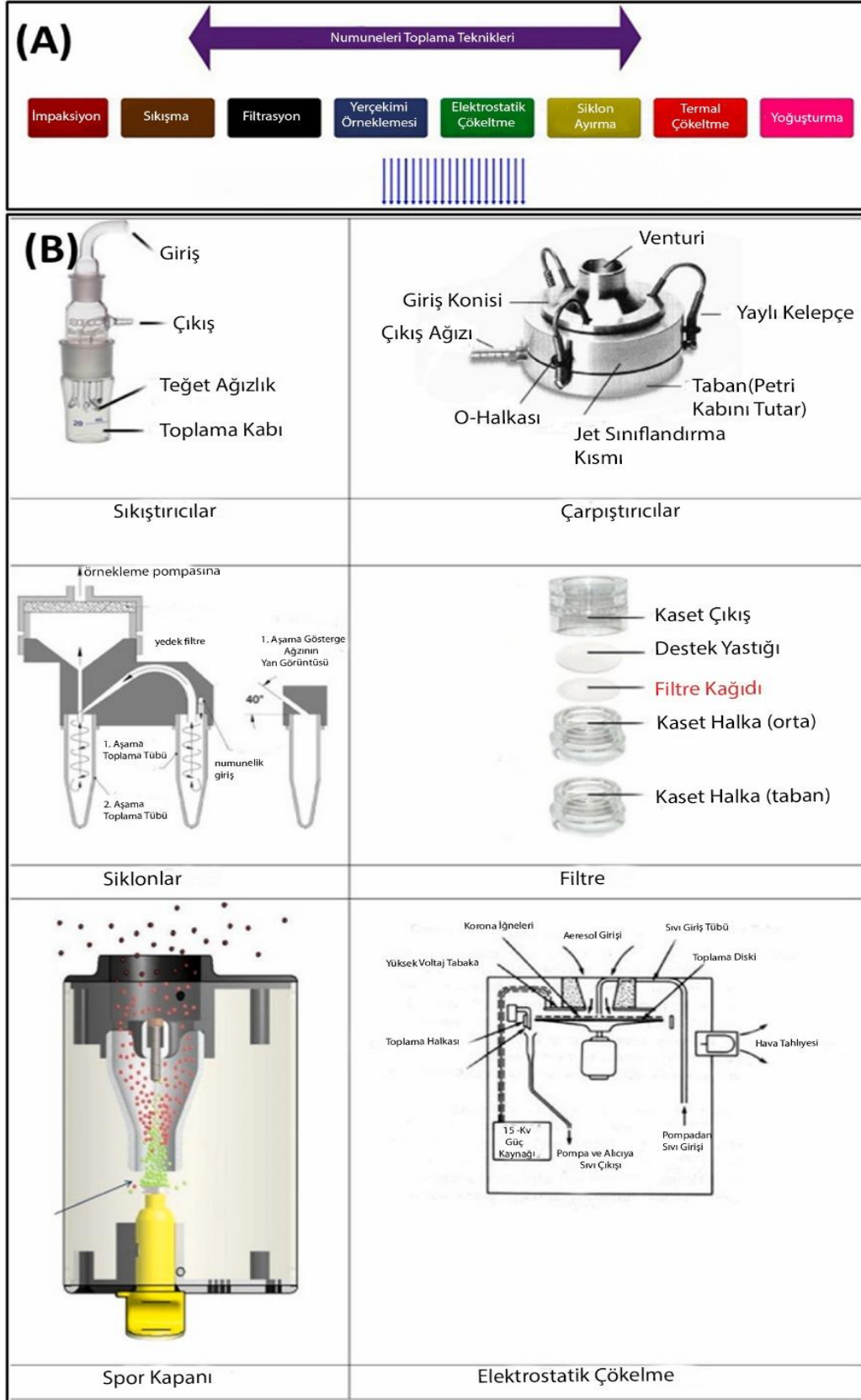
2.4.2. Aktif Örnekleme Metodu

Aktif örnekleme cihazları, biyoaerosol toplama için bir mekanik bir element içerir ve tüm aktif biyoaerosol örnekleme sistemleri, doğru örnekleme için hayati öneme sahip beş temel bileşen üzerine kurulmuştur (Haig ve diğerleri, 2016). Bu bileşenlerin içeriği aşağıdaki şekildedir;

1. Örneklemeye cihazına hava girişi: Bu, hava örneğinin örneklemeye sistemine çekildiği giriş noktası olarak hizmet verir.
2. Cihaz içinde hava örneğinin taşınması: Örneklemeye cihazı, hava örneğinin taşınmasını kolaylaştırarak biyoaerosol parçalarının etkili bir şekilde toplanmasını sağlar.
3. Parçacık boyutu seçimi: Bazı aktif örneklemeye cihazları, toplama sırasında belirli parçacık boyutlarını seçmek için mekanizmalar içerir. Bu şekilde, sadece ihtiyaç duyulan parçacıkların toplandığından emin olunulur.
4. Toplama ortamı: Toplama ortamı, biyoaerosol parçalarının biriktirildiği taban veya malzeme olarak görev yapar. Doğası, spesifik örneklemeye cihazına bağlı olarak sıvı veya katı bir ortam olabilir.
5. Pompa ve akış izleme: Bir pompa, hava örneğini örneklemeye cihazına çekmek için kullanılır. Aynı anda kalibre edilmiş akış izleme, örneklemeye süreci boyunca tutarlı ve kontrol edilebilir bir hava akış hızını garanti eder.

Her bir metodun kendine özgü teknik özellikleri vardır ve hangi yöntemin kullanılacağına karar vermek, örneklemeye özelliklerine bağlı olarak doğru sonuçlar elde etmek için oldukça önemlidir. Yöntem seçiminde dikkate alınması gerekli olan faktörler arasında örneklemeye yapılan ortam, kullanılacak analiz teknikleri ve ne amaçla örneklemeye yapıldığı bulunmaktadır. Örneklemeye için kullanılan uygun cihazlar, mikrobiyal toplama ve tespit etkinliklerine etki eden birkaç parametreye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Havayı çekme yeteneği, toplama sırası ve toplama sonundaki kurutmanın miktarı, mikroorganizmanın çarpma hızı, toplanan mikroorganizmanın yüzey yoğunluğu gibi parametreler, koloni oluşumunu etkileyebilecek unsurlardır (Wirtanen ve Salo, 2004).

Biyoaerosol örneklemesi için impaktör, filtre ve sıvı impinger kullanımı da dahil olmak üzere çeşitli metodolojiler geliştirilmiştir. Ancak, bugüne kadar standartlaştırılmış bir yöntem oluşturulmamıştır. Siklon ayırma, yerçekimi çökeltme örnekleyicileri ve elektrostatik çökeltme gibi diğer örneklemeye yöntemleri de kullanılmaktadır (Grinshpun ve diğerleri., 2007; Haig ve diğerleri, 2016; Yoo ve diğerleri, 2017). Biyoaerosol örneklemesinde kullanılan bazı örnekleyiciler Şekil 3'te gösterilmektedir.

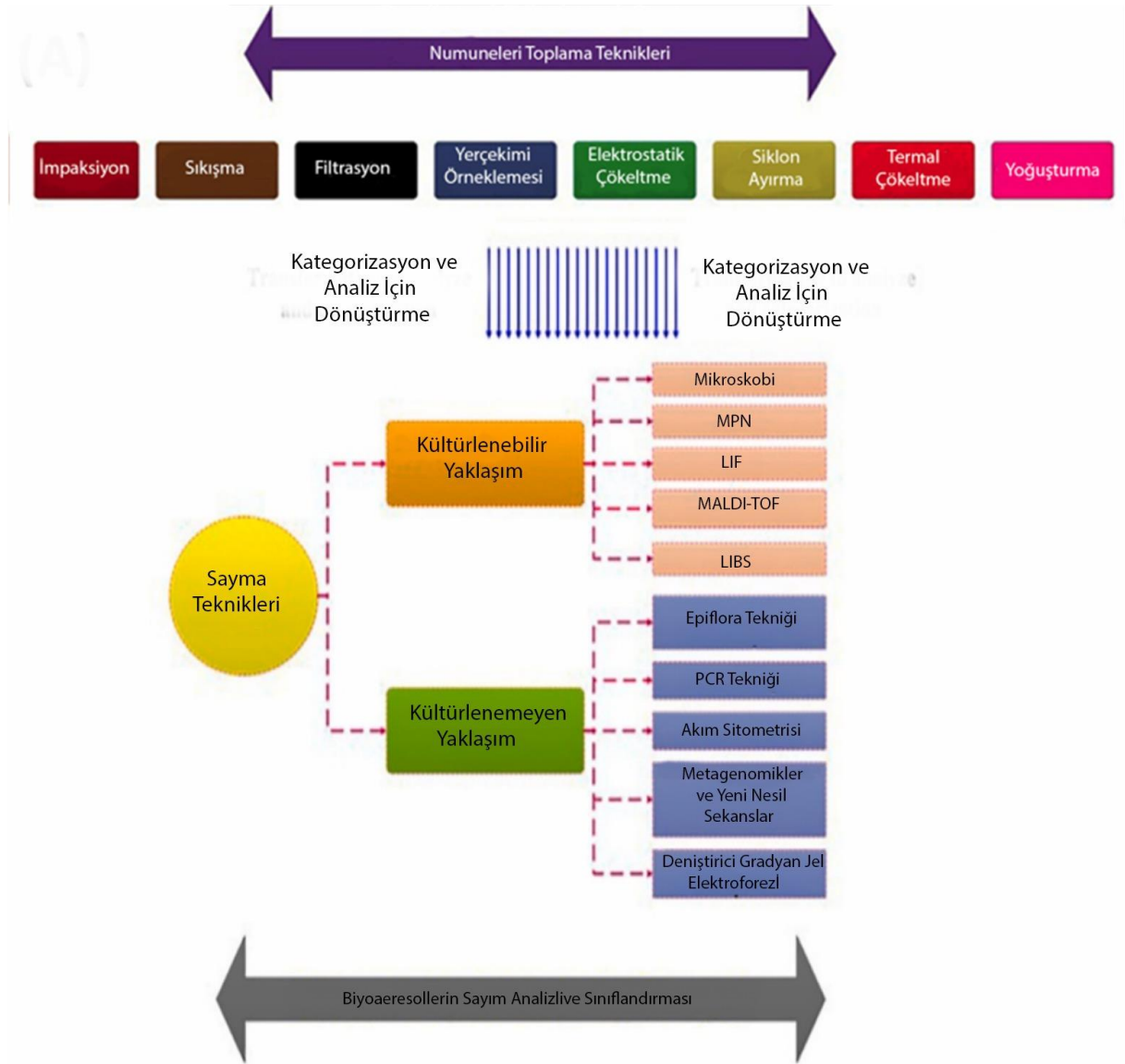


Şekil 3. Biyoaerosollerin toplanması için kullanılan farklı örnekleme teknikleri

(A) Biyoaerosollerin toplanması için kullanılan farklı örnekleme teknikleri. (B) Biyoaerosol örnekleme için kullanılan farklı cihazların tasviri (Sajjad ve diğerleri, 2023).

2.5. Biyoaerosollerin Analiz Yöntemleri

Biyoaerosol analizi, çeşitli klasik ve moleküler yöntemler kullanılarak gerçekleştirilebilir (Wittmaack ve diğerleri, 2005). Biyoaerosollerin toplanması ve analizi için kullanılan farklı yöntemler aşağıda sunulmuştur (Şekil 4).



Şekil 4. Biyoaerosollerin toplanması ve analizi için kullanılan farklı yöntemler (Sajjad ve diğerleri, 2023).

Her tür ortamda mikrobiyomu belirleme konusundaki en son ve gelişmiş yöntem, NGS verilerinin metagenomik analizidir. Bu amaçla kullanılan çeşitli teknolojiler ve yöntemler olmasına rağmen, bu yöntemlerin genel yaklaşımı bakterilerin parmak izi niteliğindeki genlerinden elde edilen DNA dizilerinin Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi bir yöntemle

çoğaltılması, işaretlenmesi ve bazların son derece hassas bir şekilde okunması esasına dayanmaktadır (Highlander, 2012).

2.5.1 Konvansiyonel Analiz Yöntemleri

Klasik yöntemler genellikle mikroorganizmaların petriyelerde kültüre edilmesini içerirken, moleküler yöntemler mikroorganizmaların genetik materyallerine dayalı olarak tespit ve tanımlamaya dayanır (Gmihire ve diğerleri, 2019). Biyoaerosollerin mekânsal ve zamansal dağılımını araştıran çalışmalar genellikle petri kültürü ve optik mikroskopi gibi kültür tabanlı teknikleri kullanır (Franchitti ve diğerleri, 2020). Bu yöntemlerde, biyoaerosol örnekleri hava örnekleme cihazları kullanılarak toplanır ve ardından mikrobiyal kolonilerin oluşması için petriyelerde inkübe edilir. Koloniler daha sonra sayılır ve sonuçlar koloni oluşturan birimler (cfu/m³) olarak verilir. Bu yöntemler kullanımı basit, maliyeti düşük ve çeşitli ortamlarda kullanılabilmesi sebebiyle biyoaerosollerin rutin izlenmesinde yaygın olarak kullanılır. Bununla birlikte, bu geleneksel yöntemlerin bazı sınırlamaları vardır. Konvansiyonel yöntemler ile, kültüre edilemeyen birçok çevresel biyoaerosol tanımlanamayabilir (Franchitti ve diğerleri, 2020; Mainelis, 2020).

Mikroskopik tanımlama, analiz edilebilecek örnek miktarı ve mikroorganizmaların benzer morfolojileri olması açısından ayırım gücü konusunda sınırlamalara sahiptir. Ayrıca bu yöntemlerde uzun zaman ve fazlaca emek harcanması gerekmektedir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin zamansal çözünürlüğü sınırlı olabilir, bu da biyoaerosol süreçlerinin zaman içindeki dinamiklerini takip etmeyi zorlaştırabilir (Mainelis, 2020).

2.5.2. Gelişmiş Analiz Yöntemleri

2.5.2.1. Moleküler Analiz Yöntemleri

Moleküler yöntemlerin biyoaerosol örneklerinde belirli mikrobiyal türleri tespit ve tanımlama konusundaki kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Gollakota ve diğerleri, 2021). PCR'nin yüksek hassasiyeti, örnekte bir tek fungus sporunu dahi tespit edebilme yeteneği ve ilgili DNA parçalarını çoğaltma kapasitesine sahiptir (Géry ve diğerleri, 2021).

Çevresel DNA (eDNA) metabarkodlama ve yüksek verimli dizileme (HTS) alanındaki son gelişmeler, biyoaerosol örneklerindeki karışık türlerin tanımlanmasıyla ilgili zorlukların üstesinden gelmek için yeni yaklaşımlar getirmiştir (Salam, 2023). eDNA metabarkodlama, bir örnekte bulunan birden fazla türü aynı anda tanımlamak için hava örneklerinin DNA'sının analizini içerir. HTS teknolojileri, çok sayıda numunenin yüksek çözünürlük ve doğrulukla analiz edilmesini sağlar (Ghimire ve diğerleri, 2022). Bu moleküler yöntemler, biyoaerosol analizinde devrim yaratarak havadaki mikroorganizmaların çeşitliliği ve dinamikleri hakkında daha kapsamlı ve ayrıntılı içgörüler elde edilmesini sağlamıştır (Sajjad ve diğerleri, 2013).

Sanger sekanslama, piro-sekanslama ve NGS gibi metagenom sekanslama teknikleri, biyoaerosollerin araştırılması için geleneksel kültüre bağlı yaklaşımlara kıyasla önemli faydalar sağlamaktadır (Sharma ve diğerleri, 2019). Yüksek hassasiyetleri nedeniyle, bu teknikler atmosferik aerosol örneklerindeki mikrobiyal genom dizilerini tespit etmek için kullanılabilir. Ortamdaki canlı ve ölü hücrelerin yanı sıra hem patojenik hem de patojenik olmayan bakterileri tanımlayabilmektedirler. NGS tekniklerini kullanan metagenomik tabanlı çalışmalar, *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, *Firmicutes* ve *Lactobacillus* dahil olmak üzere atmosferdeki başlıca bakterileri tanımlamıştır (Calderón-Ezquerro ve diğerleri, 2020; Kang ve Cho, 2023; Lü ve diğerleri, 2022; Maloukh ve diğerleri, 2023). Benzer çalışmalarda tespit edilen baskın mantarlar arasında *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Wallemia* ve *Penicillium* bulunmaktadır (Calderón- Ezquerro ve diğerleri, 2020; Hanson ve diğerleri, 2022; Pathak ve diğerleri, 2022). Çevrede virüs tespiti, virüslerin boyutu ve özellikleri nedeniyle geleneksel yöntemlerle zor olabilir. Metagenomik araştırmaları, virüs tanımlamada devrim yaratarak çeşitli ortamlardan elde edilen metagenomik verilerde *poliomavirüs*, insan *papillomavirüsü* ve diğerleri gibi aktif virüslerden gelen dizilerin etkili bir şekilde tespit edilmesini sağlamıştır (Sajjad ve diğerleri, 2023).

DNA dizileme teknolojisindeki son gelişmeler, klinik mikrobiyoloji üzerinde devrim niteliğinde bir etki yaratmıştır (Chiu ve Miller, 2019). NGS teknolojisi, büyük ölçekte DNA'nın paralel dizilemesine olanak tanıyarak büyük miktarlarda doğru veri üretme kapasitesine sahiptir. NGS platformları artık klinik araştırma alanında giderek daha fazla kullanılmaktadır (Loman ve diğerleri, 2012). Metagenomik dizileme, uzun süredir patojen bakterileri tespit etmek için standart test olan geleneksel kültür tabanlı tekniklere kıyasla birçok avantaj sunmaktadır. Bu yöntem, kültürlenemeyen bakterileri ve yeni patojenleri karakterize etmek için özellikle kullanışlıdır (Didelot ve diğerleri, 2012).

Dizi tabanlı bakteriyel analizler arasında, 16S ribozomal RNA (rRNA) geninin amplicon dizilemesi, taksonomik sınıflandırma için güvenilir ve etkili bir seçenek olarak kanıtlanmıştır (Clarridge, 2004; Langille, 2013). Bakteriyel 16S rRNA geni, farklı taksonlarda yüksek oranda korunmuş dizilere sahip olan dokuz değişken bölgeyi (V1'den V9'a kadar) içerir. Bakteri tanımlaması için 16S rRNA geni önce PCR ile korunmuş bölgelere bağlanan primerlerle çoğaltılır ve ardından dizilenir. Dizileme verileri, değişken bölgelerin bakteri taksonları arasında ayırım yapmak için kullanıldığı biyoenformatik analize tabi tutulur (Johnson ve diğerleri, 2019).

Geleneksel paralel-tip kısa okuma dizileme cihazı, genellikle taksonomik sınıflandırmada belirsizliğe neden olan 16S rRNA geninin tam uzunluğunu kapsayacak okumalar üretemez (Ravi ve diğerleri, 2018). Yeni dizileme platformları, özellikle okuma uzunluğunu etkileyen teknik kısıtlamaları aşmıştır. Oxford Nanopore Technologies tarafından geliştirilen MinION™ dizileyici, teorik bir okuma uzunluk sınırı olmadan uzun diziler üretebilen bir örnek olarak gösterilebilir (Legget ve Clark, 2017; Legget ve diğerleri, 2020; Quick ve diğerleri, 2015).

MinION™ dizilemesi, 16S rRNA geninin tamamına hedeflenerek bakterilerin daha doğru ve hassas bir şekilde tanımlanmasına olanak tanır (Benitez-Paez ve Sanz, 2017; Shin ve diğerleri, 2018). Ayrıca, MinION™, gerçek zamanlı dizileme verisi üretmesinden dolayı veri işleme süresini azaltır (Mitsuhashi ve diğerleri, 2017; Nakagawa ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte MinION™ dizileme teknolojisinin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin, diğer dizileme platformlarına kıyasla göreceli olarak düşük bir çıkışa ve yüksek hata oranlarına sahiptir (Kono ve diğerleri, 2019). Her ne kadar okuma başına doğruluk daha düşük olsa da, MinION™ dizileyicisi tarafından sağlanan neredeyse sınırsız okuma uzunluğu, dizi tabanlı bakteriyel analizlerde umut vadetmektedir (Matsuo ve diğerleri, 2021).

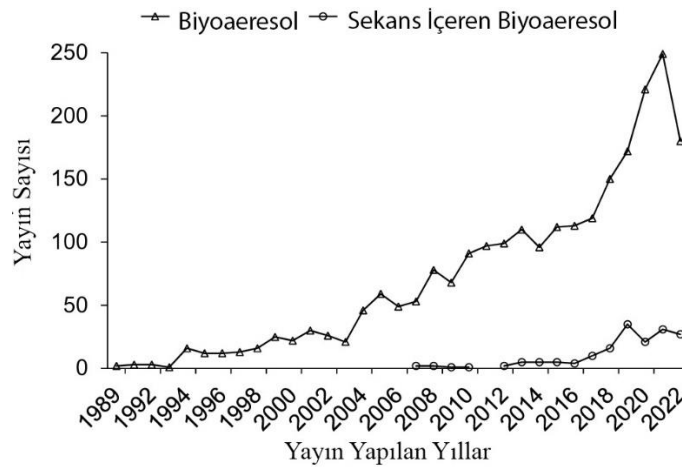
MinION cihazının mükemmel taşınabilirliği ve taşınabilir bir bilgisayardan güç alabilme özelliği, özellikle sahada yapılacak sekanslama çalışmalarına önemli katkılarda bulunabilir (Ameur ve diğerleri, 2019; Quick ve diğerleri, 2017). Bu özellik kömür sahaları, arktik bölge, Antarktika hatta Uluslararası Uzay İstasyonu'nda yapılan çalışmalarla başarıyla gösterilmiştir (Castro ve diğerleri, 2017; Edwards ve diğerleri, 2017; Johnson ve diğerleri, 2017; Li ve diğerleri, 2019)

Hava metagenomik alanındaki ilerleme, diğer metagenomik çalışma alanları ile kıyaslandığında yavaş olsa da, yapılan az sayıdaki çalışmadan dolayı elde edilen ilerleme umut vericidir (Behzad ve diğerleri 2015). Çin'de meydana gelen yoğun duman salınımı olayında,

araştırmacılar metagenomik yöntemleri kullanarak hava örneklerinin mikrobiyal bileşimini analiz etti ve çift iplikli DNA virüsleri dahil olmak üzere çeşitli hava mikroorganizmalarını başarıyla tanımlamıştır. Yapılan bu analizlerde solunum yolu patojenleri ve alerjenlerin gen dizileri belirlenmiş ve bu patojen ve allerjenlerin hava kirliliği ile paralel olarak arttığı tespit edilmiştir (Cao ve diğerleri, 2014).

Hava örnekleyiciler örnek toplama verimleri birbirinden önemli ölçüde farklılıklar gösterdiği için metagenomik çalışmaların sonuçlarını etkileyebilir. Yapılan bir çok çalışmada çeşitli hava örnekleyicilerin örnek toplama verimleri incelenmiş, ancak yapılan bu çeşitli çalışmalar arasında standartlaştırılmış örnekleme yaklaşımlarında bir uzlaşı bulunmamaktadır (Dybwad ve diğerleri, 2014; Fabian ve diğerleri, 2009; Griffin ve diğerleri, 2011; Hoisington ve diğerleri, 2014;Li 2011).

Yüksek akış hızına sahip hava örnekleyicilerle birleştirilen NGS analiz yöntemleri, kültür yöntemlerine alternatif olarak dikkat çekmektedir. Gen analiz teknikleri, kantitatif PCR (qPCR) veya 16S ribozomal RNA (rRNA) geninden elde edilen amplikonların, 18S rRNA geni ve ribozomal iç transkripsiyon bölgesi (ITS) analizini içerebilir. Hou ve diğerleri (2023) 24 Kasım 2022'de ISI web of Science veritabanında biyoaerosollerle ilgili bir inceleme yapmıştır. Yapılan bu incelemede 1989 ile 2022 arasında biyoaerosol konusunda 2.000'den fazla yayın bulunuş ve bunların 167'sinde NGS tekniklerinin kullanıldığı belirlenmiştir. Sekanslama analiz yöntemleri kullanılarak yapılan biyoaerosol araştırmaları ilk kez 2007'de rapor edilmiş ve son beş yılda artmıştır (Hou ve diğerleri, 2023). Biyoaerosol ve sekans yönteminin kullanıldığı biyoaerosol çalışmalarının yıllara göre değişimi aşağıda sunulmuştur (şekil 5).



şekil 5. Biyoaerosol ve sekans içeren biyoaerosol çalışmalarının yıllara göre değişimi (Hou ve diğerleri, 2023).

Düşük biyokütle mikroorganizmaları aerosollerde yeterli bir hacimde filtreleme ile numune alındıktan sonra, örnekler DNA ekstraksiyonuna tabi tutulabilmekte ve ardından NGS ile analiz edilebilmektedir. Bu yaklaşım, biyoaerosollerdeki çevresel mikrobiyota çeşitliliği hakkında yeni bir perspektif sunabilmektedir (Hou ve diğerleri, 2023). Örneğin, amplikon teknolojilerini içeren aerosol çalışmaları, belirli bir binaya iyi bir havalandırma ve hava filtresi takmanın, iç mekan aerosollerinin fungal ve bakteriyel bileşimini değiştirerek hava kalitesini iyileştirdiğini göstermiştir (Meadow ve diğerleri, 2014; Adams ve diğerleri, 2015; Zhang ve diğerleri, 2022). Diğer çalışmalar, amplikon-NGS analizleri ile mikroorganizmaların bir yerden başka bir yere taşındığını, mikrobiyal topluluk yapılarını ve kompozisyonlarını belirleyerek kanıtlamıştır (Cáliz ve diğerleri, 2018; Dong ve diğerleri, 2022; Maki ve diğerleri, 2019; Smith ve diğerleri, 2018).

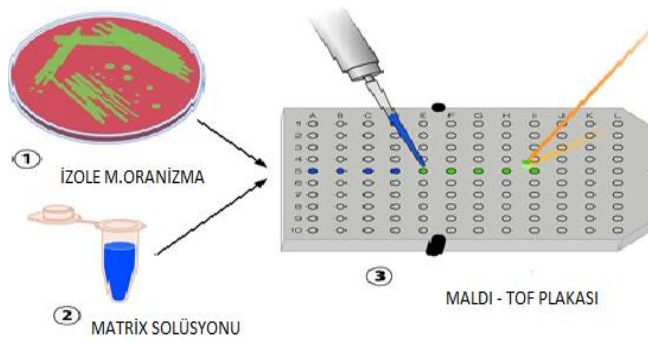
2.5.2.2. Kütle Spektrometresi

Güçlü bir analitik teknik olan kütle spektrometresinin, biyoaerosollerin izlenmesi de dahil olmak üzere çeşitli uygulama alanları bulunmaktadır. Kütle-yük oranlarını ölçerek moleküller tanımlanabilir ve miktarlarını belirlenebilir. Bu da bu tekniği biyolojik partikülleri ve bileşenlerini analiz etmek için değerli bir araç haline getirir. Biyoaerosollerin izlenmesinde, havadaki partiküllerin mikrobiyal bileşenlerini tanımak ve miktarını belirlemek için kütle spektrometresi kullanılabilir (Li ve diğerleri, 2023). Kütle spektrometresi, spesifik protein veya lipid profillerine dayanarak bakteri, mantar ve virüs gibi farklı mikroorganizmaları tespit edebilir ve ayırt edebilir (Su ve diğerleri, 2020). Araştırmacılar bu profilleri analiz ederek, zararlı veya patojenik organizmaların varlığı da dahil olmak üzere havanın mikrobiyal bileşimini anlayabilirler. Biyoaerosollerin izlenmesi için kütle spektrometresi kullanmanın bir avantajı, biyokimyasal testlerle yapılan identifikasyona göre olan yüksek hassasiyetidir. Düşük mikroorganizma konsantrasyonlarını tespit edebilir ve yakından ilişkili türler arasında ayırım yapabilir. Ayrıca, biyoaerosollerin gerçek zamanlı izlenmesine olanak tanıyan hızlı sonuçlar sağlayabilir (Su ve diğerleri, 2020).

MALDI-TOF MS yöntemi ile her organizma için özgül olan proteinlerden kütle spektrometresine dayalı mikroorganizma için özgün bir çeşit parmak izini çıkarmakta, bu sayede bakteri, mantar ve virüs tanımlaması yapılabilmektedir (Holland ve diğerleri, 1996).

Kültürde üremiş bakterilerin konvansiyonel yöntemlerle tanımlanma işlemi 1-2 gün sürebilmektedir. MALDI-TOF MS yöntemi ile doğru şekilde tanımlayabilme oranında bir değişiklik olmadan bu süre 1 saate kadar inebilmektedir. Ayrıca MALDI-TOF MS yöntemi daha önceden 16S rRNA gen sekansı ile ayrılabilen yakın türlerin bile ayrımını başarıyla yapabilmektedir. Günümüzde kullanılan MALDI-TOF MS teknikleri kültür için kullanılan besiyerlerinden ve üreme koşullarından etkilenmeden çalışmaktadır fakat analiz için alınacak koloninin 48 saatten daha yaşlı olmaması tercih edilmektedir. Eskiyen kültürlerde ayırt edici pik sayısı ve bu piklerin yoğunluğu düşmektedir. Buna neden olarak ise eskiyen kültürlerde meydana gelen ribozomal proteinlerin parçalanması gösterilmektedir (Wieser ve diğerleri, 2012).

MALDI-TOF MS analizinde örnek hazırlamak için mikroorganizmanın matriks solüsyonu ile karıştırılarak kristalize hale getirilmesi gerekmektedir. MALDI'nin hafif iyonizasyon mekanizması olarak değerlendirildiği bir MS analizinde, matriks denilen küçük kütleli organik bileşimin doygun solüsyonu numuneye eklenir ve karışım analiz için metal hedef plakasında görülür (Şekil 6). Matriks temel olarak kristalize moleküllerden oluşur ve en yaygın olarak 3, 5-dimetoksi-4-hidroksisinnamik asit (sinapinik asit), 2,5-dihidroksibenzoik asit (DHB) ve α -siyano-4-hidroksisinnamik asit (alfa matris) kullanılır (Strupat ve diğerleri, 1991, Beavis ve diğerleri, 1992). MALDI-TOF MS analizinde örnek hazırlamak için mikroorganizmanın matriks solüsyonu ile karıştırılarak kristalize hale getirilmesi gerekmektedir. Çok az miktardaki (10^4 ila 10^6 CFU) mikrobiyal biyokütle analiz için yeterlidir (Wieser ve diğerleri 2012).



Şekil 6. İzole kültürlerden MALDI-TOF MS ile bakteri ve maya identifikasyonunun genel şeması (Andrew ve diğerleri, 2013).

2.5.2.3. Floresan Yöntemi ile Tanımlama

Spektrometreler dışında çok sayıda gerçek zamanlı biyoaerosol tespit cihazı geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Bunlara örnek olarak floresan algılama, mikroakışkan platform, BioTrak™ sayaç, elektrostatik örnekleme, BioLaz® Gerçek Zamanlı Mikrobiyal Monitör, moleküler izleyici ve ATP biyoluminesans verilebilir (Zhang ve diğerleri, 2022). Bu yöntemler, biyoaerosollerin anlaşılması ve sağlık ile çevre üzerindeki etkilerinin kontrol edilebilmesi konusunda potansiyel olarak ilerlemelere yol açabilecek, verimlilik ve hassasiyet artışı sağlamak amacıyla başarıyla kullanılmıştır (Sajjad ve diğerleri, 2023).

Biyoaerosoller boyut bakımından önemli farklılıklar gösterir ve bu da çeşitli florofor konsantrasyonlarına yol açmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2019). Bu durum, farklı biyoaerosol sınıflarının benzer floresan spektrumlarına sahip olabileceğinden, yalnızca floresana dayalı bir sistem ile tür düzeyinde tanımlamayı zorlaştırmaktadır. Büyüme koşulları, diğer malzemelerle kümelenme ve UV ışığı ve ozona maruz kalma da floresanı etkileyerek potansiyel interferanslara ve yanlış pozitiflere yol açabilmektedir (Yue ve diğerleri, 2022). Son teknolojik gelişmeler, flaş lambaları, diyot pompalı lazerler ve LED'ler gibi daha küçük ve daha verimli ışık kaynaklarının kullanılmasını ve sonuç olarak kullanılan sistemlerin boyutunu ve güç kullanımını azaltmıştır (Santander ve diğerleri, 2021).

2.5.2.4. Mikroakışkan Damlacık Teknikleri

Damlacık tabanlı mikroakışkan dedektörü, biyoaerosollerin tespiti için yeni bir teknolojidir. Bu teknoloji, mikroakışkan prensiplerini kullanarak reaktiflerle tek dağılımlı mikro damlacıklar oluşturur. Aerodinamik olarak parçacıkların bu damlacıklara yoğunlaşması, dedektörün etkinliğini artırır. Sistem, optik mikroskop, kılcal damar, mikroakışkan damlacık çipi ve aerosol iletim hattından oluşur. Araştırmalar, sistem tasarımının aerosol yörüngesinin sayısal simülasyonlarının sonuçlarına dayandığını göstermektedir. Damlacık tabanlı mikroakışkan dedektörü, diğer geleneksel biyoaerosol dedektörlerine göre birkaç avantaja sahiptir. Bunlardan en önemlisi yüksek hassasiyet ve özgüllük sayesinde biyoaerosol tespiti yapabilmesidir. Ayrıca laboratuvar sistemlerine kolayca entegre edilebilir. Bu teknolojinin potansiyel uygulama alanları geniş ve çeşitlidir (Damit, 2017).

Mikroakışkan teknolojisi kullanılarak biyoaerosollerin tespiti, aerosollerin impaksiyon, mikrokanallar veya substrat biriktirme yoluyla toplanmasını ve ardından genomik dizileme, ATP ölçümü ve PCR gibi analizleri içerir (Foat ve diğerleri, 2016). Mikroakışkan platformlar yüksek hassasiyet, düşük reaktif tüketimi ve hızlı tahlil kinetiği gibi avantajlar sunar. Damlacık mikroakışkanları, reaksiyon kinetiğini geliştirebilen ve tek partiküllü testleri destekleyebilen biyoaerosollerin tespiti için tanıtılmıştır (Damit, 2017).

2.5.2.5. ATP Biyoluminesans Yöntemi

ATP sadece biyoaerosollerde bulunur ve diğer cansız aerosollerde mevcut değildir. Bu nedenle, ATP, biyoaerosollerin mikrobiyal biyokütle ölçümü için etkili bir araç olarak kullanılabilir. Son yıllarda, biyoluminesans alanında önemli gelişmeler olmuştur. Osamu Shimomura, Martin Chalfie ve Roger Y. Tsien adlı bilim insanları, ışık yayan proteinlerin kristal yapılarını inceleyerek yeşil floresan proteinin geliştirilmesi ve uygulanması konusundaki çalışmalarıyla 2008 yılında Nobel Kimya Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür (Sajjad ve diğerleri, 2023).

Biyoluminesans, biyoaerosollerdeki ATP'nin enzimlerle etkileşimi sonucu oluşur. Lin ve diğerleri (2013) biyoaerosollerin tespiti için bir ATP biyoluminesans yöntemi geliştirmiş ve bu yöntemin toplam CFU sayısı ile güçlü bir ilişki gösterdiğini ortaya koymuştur. ATP biyoluminesansının çeşitli bağlamlarda hızlı tanı için uygunluğu daha önceki araştırmalarda gösterilmiştir (Han ve diğerleri, 2015; Liao ve diğerleri, 2021; Park ve diğerleri, 2014; Tseng ve diğerleri, 2020). ATP biyoluminesansının mikrobiyal tespitte kullanılması, ATP'nin mikrobiyal hücrelerde enerji taşıyıcısı olarak rolüne dayanmaktadır. Basitliği, hızı ve kolaylığı nedeniyle, ATP biyoluminesansı, şiddetinin biyoaerosoller içindeki mikrobiyal biyokütle ile orantılı olması nedeniyle sık kullanılan bir tespit yöntemidir. ATP, çoğu canlı varlık için temel bir enerji kaynağı olduğu için, mikropları nicelendirmek ve olası biyolojik savaş saldırılarını tanımlamak için de kullanılabilir. (Lin ve diğerleri, 2013; Tseng ve diğerleri, 2020; Zhang ve diğerleri, 2022b).

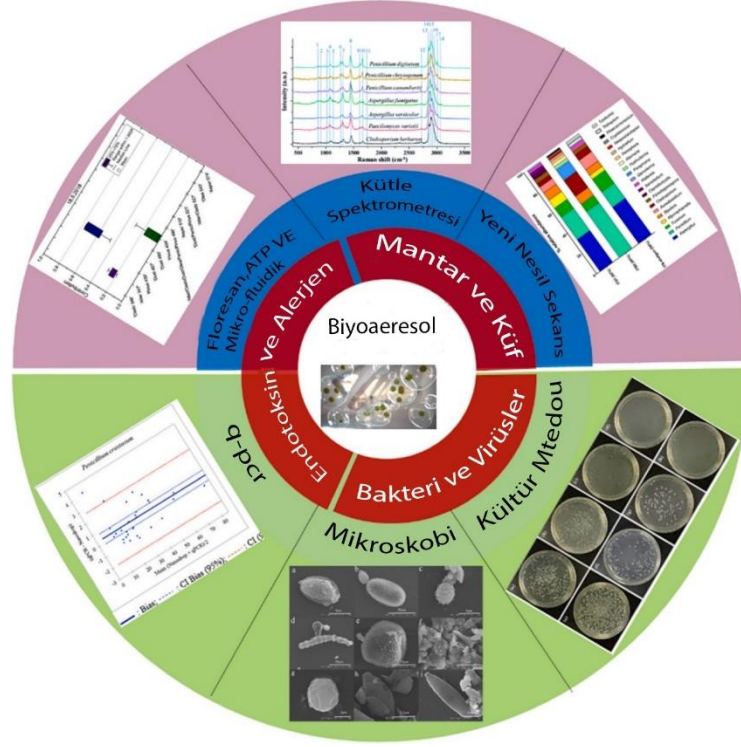
Hava kaynaklı hücrelerdeki ATP içeriği ölçümü sırasında aerosolizasyonun etkisi nedeniyle mikroorganizmalar stres altında olabilir, bu da yöntemin saptama etkinlik seviyesini etkileyebilir. Bununla birlikte, ATP biyoluminesans yöntemi, birçok spor içeren örnekte ya çok

az ya da hiç ATP olmaması sebebiyle spor tespiti için uygulanabilir bir yöntem değildir. (Wirtanen ve diğeri, 1997).

Biyoaerosol izleme yönteminin seçimi, uygulamanın özel ihtiyaçlarına göre belirlenir. Geleneksel yöntemler doğruluk ve güvenilirlik açısından hala önemlidir, ancak gelişmiş yöntemler hızlı tarama ve yerinde ölçümler için daha uygun olabilir. PCR ve moleküler biyoloji teknikleri gibi aktif örnekleme yaklaşımları düşük mikroorganizma konsantrasyonları için daha uygundur (Sajjad ve diğeri, 2023). Örnekleyici cihazların seçiminde nem, besin ihtiyacı ve mikroorganizmaların kırılabilirliği gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır (Cox ve diğeri, 2020). Küçük alanlarda, ideal bir örnekleyici kompakt, hafif ve geniş bir biyoaerosol grubunu toplayabilmelidir. Bu faktörlerin göz önünde bulundurulması, özel ihtiyaçlara en uygun biyoaerosol analiz ve izleme yöntemlerinin seçilmesine yardımcı olabilir (Sajjad ve diğeri, 2023). Geleneksel ve gelişmiş biyoaerosol tespit ve izleme teknolojilerinin avantajları ve dezavantajları Tablo 2’de; farklı biyoaerosol türlerinin ve bunların analiz, izleme tekniklerinin tasviri Şekil 7’de sunulmuştur.

Tablo 2. Biyoaerosol tespit ve izleme yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Sajjad ve diğerleri, 2023).

Metot Türü	Metot	Tanım	Artıları	Eksiler	Kaynaklar
Konvansiyonel	Kültüre Dayalı Yöntemler	Mikroorganizmalar, tanımlama ve miktar belirleme için kültür ortamında yetiştirilir.	Düşük maliyetli, yaygın olarak kullanılan, spesifik mikroorganizmaları tanımlayabilir.	Yavaş, tüm mikroorganizmalar kültüre edilemez.	(Gao ve diğerleri, 2015; Huffman ve diğerleri, 2020; Zhang ve diğerleri, 2019)
Konvansiyonel	Direkt Mikroskopi	Mikroorganizmalar mikroskop altında gözlenir.	Anında sonuç verebilir, basit bir tekniktir.	Hassasiyeti düşüktür, spesifik mikroorganizmaları tanımlayamaz.	(Franchitti ve diğerleri, 2020; Huffman ve diğerleri, 2020)
Konvansiyonel	Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	Mikroorganizmalardan alınan DNA çoğaltılır ve tespit edilir.	Yüksek hassasiyet ve özgüllük, düşük konsantrasyonlardaki mikroorganizmaları tespit edebilir, hızlı sonuç verir.	Özel ekipman gerektirir, pahalı olabilir.	(Géry ve diğerleri, 2021; Salam, 2023)
Gelişmiş	Moleküler biyolojik/NGS	Mikrobiyal toplulukları tanımlamak ve miktarlarını belirlemek için mikroorganizmalardan alınan DNA veya RNA dizilenir.	Yüksek hassasiyet ve özgüllük, mikrobiyal çeşitlilik hakkında ayrıntılı bilgi sağlayabilir.	Ekipman ve uzmanlık, pahalı olabilir.	(Huffman ve diğerleri, 2020; Mainelis, 2020; Yoo ve diğerleri, 2017)
Gelişmiş	Floresan Tespiti	Mikroorganizmalar, boyutlarına ve floresan özelliklerine göre tespit edilir ve miktarları belirlenir.	Hızlı sonuçlar, yüksek hassasiyet, çok çeşitli mikroorganizmaları tespit edebilir.	Özel ekipman gerektirir, spesifik mikroorganizmaları tanımlayamayabilir.	(Richardson ve ark., 2019; Santander ve ark., 2021; Shoshanim and Baratz, 2023; Zhang ve ark., 2019)
Gelişmiş	Kütle spektroskopisi	Moleküller kütle-yük oranlarına göre tanımlanır ve miktarları belirlenir.	Yüksek hassasiyet ve özgüllük, mikrobiyal kompozisyon hakkında ayrıntılı bilgi sağlayabilir.	Numune hazırlama zaman alıcı ve pahalı bir ekipman olabilir.	(Damit and Antoine, 2021; Li ve ark., 2022a; Pan ve ark., 2010)
Gelişmiş	Mikroakışkan damlacık teknikleri	Mikroorganizmalar gibi biyolojik örnekler içeren küçük damlacıklar oluşturulur ve ayrı ayrı analiz edilir	Yüksek verim, aynı anda birden fazla numune analizi, yüksek hassasiyet, düşük konsantrasyon tespiti, küçük numune hacmi, gerçek zamanlı izleme	Geliştirmesi ve işletmesi pahalı, karmaşık ve dikkatli tasarım gerektiriyor, sınırlı damlacık boyutu aralığı, canlı organizmalarla sınırlı	(Choi ve ark., 2017; Damit, 2017; Salam, 2023)
Gelişmiş	ATP biyoluminesans	ATP mikroorganizmalardan salınır ve mikrobiyal biyokütleyi ölçmek için ölçülür.	Hızlı sonuçlar, çok çeşitli mikroorganizmaları tespit edebilir.	Canlı mikroorganizmaları tespit etmekle sınırlıdır, tüm mikroorganizmalar ATP üretmez.	(Liao ve ark., 2021; Oh ve ark., 2023; Santangelo ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2022c)



Şekil 7. Farklı biyoaerosol türlerinin ve bunların analiz ve izleme tekniklerinin tasviri (Sajjad ve diğerleri, 2023).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Araştırmamızda İzmir ili ve çevresinde bulunan 3 farklı üreticiye ait 5'er ayrı broyler kümes belirlenmiş ve belirlenen toplam 15 adet kümeden 27.05.2023 tarihinde hem MALDI-TOF hem de NGS yöntemleri için ayrı ayrı biyoaerosol numuneleri alınmıştır. Örnek alınan kümeslerin detayları Tablo 3'de belirtilmiştir.

Tablo 3. Örnekleme yapılan broyler kümesler.

Üretici Kodu	Üretici Kümes Numarası	Kümedeki Hayvan Sayısı	Hayvanların Yaşı (Gün)	Örnek Havuz Grubu Adı
AT	1	32.000	31	AT1
	2	30.000	31	
	3	29.000	32	
	4	30.000	31	AT2
	5	24.000	32	
BS	1	30.000	31	BS1
	2	28.000	31	
	3	26.000	32	BS2
	4	26.000	33	
	5	27.000	32	
AS	1	33.000	31	AS1
	2	30.000	32	
	3	29.000	31	
	4	32.000	32	AS2
	5	28.000	31	

Her iki yöntem için de biyoaerosol numuneleri, aktif hava örneklemesinde kullanılan bioMérieux marka airIDEAL[®] cihazı ile toplanmıştır. Hava örnekleme cihazı kullanılmadan önce, otoklavlanabilir başlık 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak steril hale getirilmiş ve her örnek alınımından önce başlık, %70'lik etil alkol ile silinerek dezenfekte edilmiştir. Bu sterilizasyon ve dezenfeksiyon prosedürleri, mikrobiyolojik kontaminasyonu önlemek ve alınan örneklerin güvenilirliğini sağlamak amacıyla uygulanmıştır. NGS için alınan hava numunesi filtre kağıtlarına emdirildikten sonra daha önceden hazırlanmış steril serum fizyolojik suda çözünmesi sağlanmıştır. MALDI-TOF yöntemi için ise aktif hava ölçümü için

kullanılacak cihaza daha önce laboratuvar ortamında hazırlanmış olan TSA Besiyerleri yerleştirilerek örnekleme yapılmış ve alınan örnekler soğuk zincir koşullarına uyularak aynı gün içinde Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na getirilmiştir.

3.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Cihazlar

Trypcase Soy Agar (TSA-04243) , Merck

Sabouraud Dextrose Agar (SDA- CM0041), Oxoid

Genomik DNA Ekstraksiyon Kiti (MagAttract® HMW DNA Kiti), Qiagen

DNA Yoğunluk Ölçüm Kiti (Qubit™ dsDNA HS Assay), Thermo Fisher Scientific

DNA Barkodlama 16S Barcoding Kit 1-24 (SQK- 16S024), Oxford Nanopore

DNA Pürifikasyon Kiti (AMPure XP), Beckman Coulter

NGS Flow Cell (R9.4.1 version), Oxford Nanopore

NGS Cihazı MinION®, Oxford Nanopore

MALDI TOF Cihazı (VITEK® MS Prime), bioMérieux

MALDI-TOF matriks (VITEK® MSCHCA), bioMérieux

VITEK MS slayt (VITEK® MS -DS Slides), bioMérieux

Millipore filtre kağıdı (MPGL02GF2), Merck

3.3. Yöntem

3.3.1. Bakteri İzolasyonu

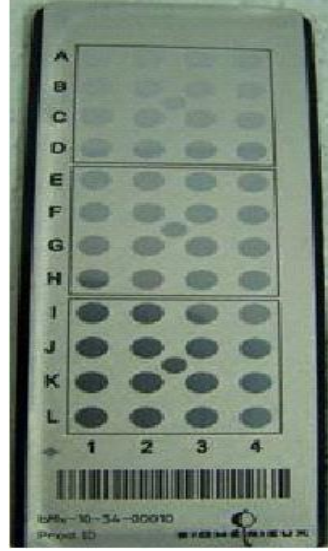
MALDI-TOF yöntemi için aktif hava ölçümü için kullanılan cihaza daha önce laboratuvar ortamında hazırlanmış olan TSA Besiyerleri yerleştirilip örnekler alınmıştır. Alınan örnekler soğuk zincir koşullarına uyularak Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na getirilmiştir. Laboratuvara getirilen TSA örnekleri

doğrudan 35 °C’de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyondan sonra sonra üreyen koloniler TSA besiyerinde alt kültüre alınmıştır.

Alt kültüre alınan bakteri örneklerine Gram boyama uygulanmıştır. Gram boyama için, örnekten temiz bir lam üzerine steril öze ile 2-3 öze dolusu su konulmuş ve 24 saatlik bakteri kültüründen de öze ile alınarak su ile karıştırılarak lam üzerine yayılmıştır. Lam havada kurutulduktan sonra alevden geçirilerek fikse edilmiş ve kristal viyole ile 1 dk boyanmıştır. Bu süre sonunda boya dökülmüş ve lam üzerine lugol çözeltisi damlatılarak 1 dakika beklenmiş ve bu süre sonunda lügol çözeltisi dökülerek kurutma kağıdı ile kurulanmıştır. Lam %96’lık etil alkole daldırılıp çıkarılarak 10-15 saniye süreyle alkol ile yıkanmış daha sonra ise saf su ile yıkanarak kurutma kağıdı ile kurulanmıştır. Son olarak lam üzerine safranin damlatılarak 30 saniye süreyle boyanmış ve örnek saf su ile yıkanarak kurulandıktan sonra mikroskopta incelenmiştir (Winn ve ark 2006).

3.3.2. MALDI-TOF Çalışması

Çalışmamızda VITEK MS/IVD/V.3.2 (bioMérieux, France) veritabanı kullanıldı ve üreticinin talimatı doğrultusunda gerçekleştirilen bütün işlemler aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. MALDI-TOF yöntemi için laboratuvara getirilen ve saflaştırılan TSA petrisindeki etkenlerimizin her biri 1 µl’lik öze ile alınarak VITEK MS slaytlarına ince bir tabaka halinde yayılarak slaytlar hazırlanmıştır (Şekil 8). Bir slaytta aynı anda 35 adet izolat hazırlandı. Hazırlanan slaytta her 16 kuyucuk ortasında yer alan kalibrasyon kuyucuğuna kalite kontrol ve kalibrasyon amacıyla kütle spektrum profili çok iyi bilinen *E. coli* ATCC 8739 ince bir tabaka halinde yayıldı. Hazırlanan slayttaki kuyucukların her birinin üzerine 1’er µl matriks solüsyonu CHCA (acyano-4-hydroxycinnamic acid) eklenip oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. İki dakika beklenildikten sonra slaytlar, cihaz içine yerleştirilerek çalışma başlatıldı ve her bir izolatin spektrumları alınıp, veritabanındaki veriler ile karşılaştırılması sonrasında identifikasyon sonuçları elde edilmiştir.



Şekil 8. MALDI-TOF MS slaytı.

3.4. NGS Çalışması

3.4.1. Örneklerden DNA Ekstraksiyonu

Laboratuvara getirilen örneklerden mikrobiyom çalışmalarında kullanılacak olan örneklerden DNA ekstraksiyonları Qiagen™ MagAttract^R HMW DNA Kiti kullanılarak yapılmıştır. İlgili kitin prosedürüne göre Mikrobiyal lizis tüpleri içerisine 200 µl numune konulmuş ve üzerine 650 µl Buffer PM1 ve 25 µl DTT ilave edilmiştir. ≥ 18000 g'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra üstte biriken süpernatant temiz toplama tüplerine aktarılmıştır. Süpernatant üzerine 150 µl IRS solüsyonu ilave edilerek vorteks yardımıyla karıştırılmış ve 4°C'de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra ≥ 13000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatanttan 300 µl alınarak 2 ml'lik toplama tüplerine aktarılmış ve üzerine 400 µl Buffer C4 ilave edilerek pipet yardımıyla karıştırılmıştır. Karışımdan 700 µl alınarak 2 ml toplama tüplerinin içine yerleştirilmiş olan MinElute spin kolonlara aktarılmıştır. Kolonlar ≥ 8000 g'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Aşağıda biriken sıvı DNA purifikasyonu için ayrılmıştır MinElute spin kolonlar yeni 2 ml'lik toplama tüplerine alınmıştır.

MinElute spin kolonlar üzerine 500 µl AW1 Buffer ilave edilmiştir. ≥ 8000 g'de 30 saniye santrifüj işleminden sonra alt sıvı atılmıştır. MinElute spin kolonlar üzerine 500 µl AW2 Buffer ilave edilmiştir. 18000xg'de 2 dakika santrifüj yapıldıktan sonra spin kolonlar temiz toplama

tüplerine aktarılmıştır. MinElute spin kolonlar yeni toplama tüpüne aktarılmış ve 18000 g'de 2 dakika boş santrifüj yapılmıştır. MinElute spin kolonlar 1,5 ml'lik DNase-free ependorf tüplere alınmış ve 30 µl elution buffer kolonların membranlarına eklenmiştir. Oda ısısında 1 dakika inkübasyona bırakılan kolonlar 8000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen DNA elüsyonları cryo tüplere aktarılarak diğer analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

3.4.2. DNA Qubit Ölçüm Protokolü

Elde edilen DNA'ların yoğunluklarını ölçmek amacıyla QubitTM dsDNA HS Assay kitleri kullanılmıştır. Her iki kitin içerisinde iki standart bulunmaktadır. DNA örneklerinden qubit bufferler ile 1:200 oranında, standartlardan ise 10:200 oranında çalışma solüsyonları hazırlanmıştır. Bu çalışma solüsyonları oda ısısında karanlık ortamda 2 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında QubitTM 4 Florometre cihazı ile ölçümleri yapılarak kayıt altına alınmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Örnek DNA'larının yoğunlukları.

Örnekleme Yapılan Yer	Örnek Numarası	DNA Yoğunlukları (ng/µl)	Oluşturulan Örnek Havuzu
AT	AT 1	15,1	AT1
	AT 2	15,42	
	AT 3	14,7	
	AT 4	14,54	AT2
	AT 5	14,54	
BS	BS 1	14,26	BS1
	BS 2	18,1	
	BS 3	15,98	BS2
	BS 4	14,56	
	BS 5	16,36	
AS	AS 1	12,9	AS1
	AS 2	33,8	
	AS 3	12,7	
	AS 4	14,84	AS2
	AS 5	20,4	

3.4.3. Mikrobiyom Analizi

Örneklerden elde edilen DNA'ların mikrobiyom çalışmalarında aşağıda belirtilen protokol kullanılmıştır. Qubit™ 4 fluorometre (ThermoFisher Scientific®) ile ölçülen DNA yoğunlukları, 16S Barcoding Kit (SQK- 16S024) (Oxford Nanopore®) protokolünde belirtildiği şekilde ayarlanmış ve daha sonra barkodlama PCR işlemi aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirilmiş olup; PCR karışım oranları Tablo 5; PCR işlemi ısıl döngü tablosu Tablo 6'de gösterilmiştir.

Tablo 5. PCR karışım oranları.

PCR Malzemeleri	Miktar
LongAmp Taq 2X Master Mix	25 µl
Barcod Primer	10 µl
ddH ₂ O	5 µl
Kalıp DNA	10 µl
Toplam hacim	50 µl

Tablo 6. PCR işlemi ısıl döngü tablosu.

Sıcaklık	Süre	Döngü
95 °C	1 dk	1
95 °C	20 sn	
55 °C	30 sn	25
65 °C	2 dk	
65 °C	5 dk	1
4 °C	∞	1

PCR işleminden sonra AMPure XP (Beckman Coulter®) ile ürünler pürifiye edilmiştir. Pürifiye ürün yoğunlukları Qubit™ 4 fluorometre (ThermoFisher Scientific®) ile ölçüldükten sonra tüm ürünler bir ependorfta toplanarak son barkodlanmış DNA havuzu oluşturulmuştur. Oluşturulan havuza adaptörlerin bağlanması için 1 µl RAP ilave edilerek 5 dakika inkubasyona bırakılmıştır. Adaptör bağlama PCR'ı işleminden sonra ürün AMPure ile pürifiye edilmiş ve ürünün cihaza yüklenmesi için protokolde belirtilen yükleme karışımı oluşturulmuştur. Yükleme yapılacak olan Flowcell'in (Flow Cell R9 Version Nanopore®) MinKnow programında kontrolü yapıldıktan ve por sayıları belirlendikten sonra (1516 por ölçülen, ≥800 por ve yukarısı istenilen) yükleme işlemine geçilmiştir. Yükleme işlemi için Flow Cell Priming Kit (Nanopore®) kullanılarak ve protokolde belirtilen şekilde MinION (Nanopore®) cihazına yükleme işlemi tamamlanmıştır. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra yüklemenin yapıldığı Flow Cell MinION (Nanopore®) cihazına yerleştirilmiş ve MinKnow programında 24-36 saatlik bir dizileme protokolü gerçekleştirilmiştir. Dizileme bittikten sonra fast5 formatında elde edilen sonuçlar, biyoinformatik analizlerin yapılması aşamasına yönlendirilmiştir.

3.4.4. Biyoinformatik Analiz

Mikrobiyom analizi için gönderilen fast5 formatındaki veriler guppy v3.1.5 yazılımı kullanılarak fastq formatına çevrilmiştir (basecalling ve de multiplexing). Barkod ve adaptör sekansları Porechop v0.2.3 yazılımı kullanılarak temizlenmiş, ayrıca dizilerin her iki ucundan 45 baz silinerek evrensel primer ve etiketler de silinmiştir. Dizilerin temizlenmesinin ardından 1350-1550 bp uzunluğundaki okumalar filtrelenerek ve geriye kalan okumalar analizden çıkartılmıştır. Temizlenmiş okumalar mothur v.1.39.5 platformu kullanılarak özelleştirilmiş iş akışı ile analize tabi tutulmuştur. Sekanslar kimerik yapılardan arındırılarak hizalanmış, benzerlik matrisi ile aralarındaki mesafeler ölçülerek %99'dan daha fazla benzerlik gösteren okumalar kümelenerek OTU'lar oluşturulmuştur. Oluşturulan OTU'lar RDP 16S rRNA veri tabanına göre karşılaştırılarak taksonomik anotasyonları gerçekleştirilmiş ve aynı cins olarak tespit edilen OTU'lar ilişkilendirilerek istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir. OTU'ların eşleştiği organizmalara, bunların kantitatif değerlerine ve örneklerle ait metadata verilerine göre grafikler Minitab ve R programları kullanılarak çeşitli istatistiksel analizlerle oluşturulmuştur. Her örnek için FastQ dosya bilgileri ile BLAST sonucunda elde edilen eşleştirme bulguları csv formatında okuma büyüklüğü sırasıyla listelenmiştir. Elde edilen her bir örnekteki mikrobiyom bulguları

karşılaştırılarak gruplar arası farklılıklar belirlenmiştir. Yeterli miktarda okuma sayısına ve contiglere sahip olan mikrobiyom örneklerinin mikrobiyom sekansları haritalandırılmış ve anotasyonları yapılarak grafikler halinde sunulmuştur. Mikrobiyom analizler için alfa diversity PCA (principal component analysis), LEFSE (linear discriminant analysis effect size) ve LDA (linear discriminant analysis) yöntemleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1.Fenotipik Bulgular

Aktif hava örnekleme ile alınan ve saflaştırılan 35 adet bakteriyel etkenden, 32 adet etken (%91)'in MALDI-TOF MS sistemi ile identifikasyonu yapılmıştır.

İdentifikasyonu yapılan örneklerin 23'ü (%71.9) *Staphylococcus* sp., 3'ü (%9.4) *Bacillus* sp., 2'si (%6.3) *Enterococcus* sp., 1'i (%3,1) *Acinetobacter* sp., 1'i (%3,1) *Corynebacterium* sp., 1'i (%3,1) *Micrococcus* sp. ve 1'i (%3,1) *Escherichia* sp. olarak belirlenmiştir.

Örneklerin tür bazında MALDI-TOF ile alınmış sonuçları Tablo 7' de verilmiştir.

Tablo 7. MALDI-TOF identifikasyon sonuçları.

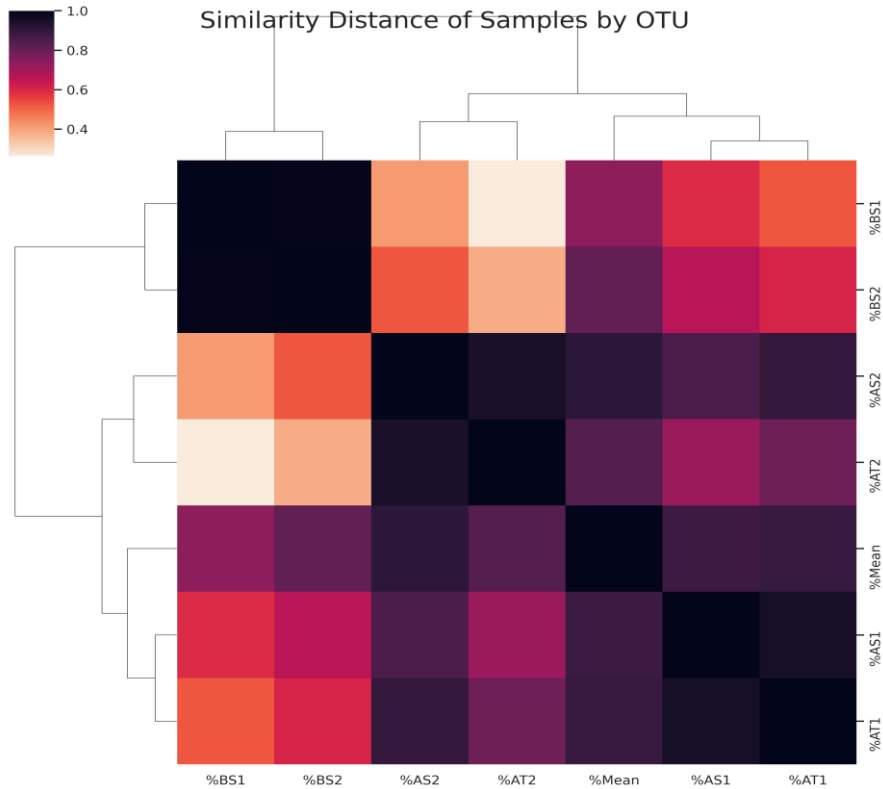
İdentifiye edilen bakteri türleri	AT1	AT2	AS1	AS2	BS1	BS2	Toplam
<i>Staphylococcus lentus</i> (n:10)	1	3	2	1	-	3	10
<i>Staphylococcus arlettae</i> (n:7)	3	4	-	-	-	-	7
<i>Staphylococcus cohnii</i> (n:3)	1	-	-	1	-	1	3
<i>Mammaliococcus sciuri</i> (n:1)	-	1	-	-	-	-	1
<i>Staphylococcus xylosus</i> (n:1)	-	1	-	-	-	-	1
<i>Staphylococcus gallinarum</i> (n:1)	-	1	-	-	-	-	1
<i>Bacillus subtilis</i> (n:2)	-	1	-	1	-	-	2
<i>Enterococcus faecalis</i> (n:2)	1	1	-	-	-	-	2
<i>Corynebacterium aurimucosum</i> (n:1)	-	-	1	-	-	-	1
<i>Acinetobacter lwoffii</i> (n:1)	-	-	-	1	-	-	1
<i>Bacillus cereus</i> (n:1)	-	-	-	-	1	-	1
<i>Escherichia coli</i> (n:1)	1	-	-	-	-	-	1
<i>Micrococcus caseolyticus</i> (n:1)	-	-	-	-	-	1	1

Tabloda görüldüğü üzere *Staphylococcus* sp. identifiye edilen etkenlerin %71.9'unu oluşturur baskın olan cins konumundadır. İdentifikasyonu yapılan *Staphylococcus* sp. türlerinin tamamı koagülaz negatif *Staphylococcus* sp. (KNS)'dir.

4.2.Genotipik Bulgular

4.2.1. Benzerlik Analizi Sonuçları

Örneklerin birbirlerine olan yakınlıkları, sahip oldukları çeşitlilik ve miktara göre analiz edilerek, Şekil 9'da verilen dendrogram oluşturulmuştur. Yakınlık değerlendirmesinde "Pearson" benzerlik metodu ve Tek Bağlantı (Single-linkage) hiyerarşik kümeleme yöntemi kullanılmıştır. Örneklerden biri "mean" olarak belirtilmiştir. "Mean" değeri, tüm OTU'ların ortalamasının alınmasıyla oluşturulmuş, yüzdesel olarak ifade edilmiş ve ortalama çeşitliliği temsil etmek için eklenmiştir. Grafikteki örnekler, yatay ve dikey ekseninde, diğer örneklerle olan benzerlik oranına göre renklendirilmiştir. Benzerlik oranı arttıkça renk koyulaşır, bu da 1'e yaklaştıkça gösterilmektedir. Tam tersi durumda, örnekler birbirinden uzaklaşır. Analiz sonuçları, Pearson benzerliğine dayalı olarak cinsler arasındaki benzerlik ilişkisi ve tek bağlantılı hiyerarşik kümeleme yöntemi sonuçlarını göstermektedir.

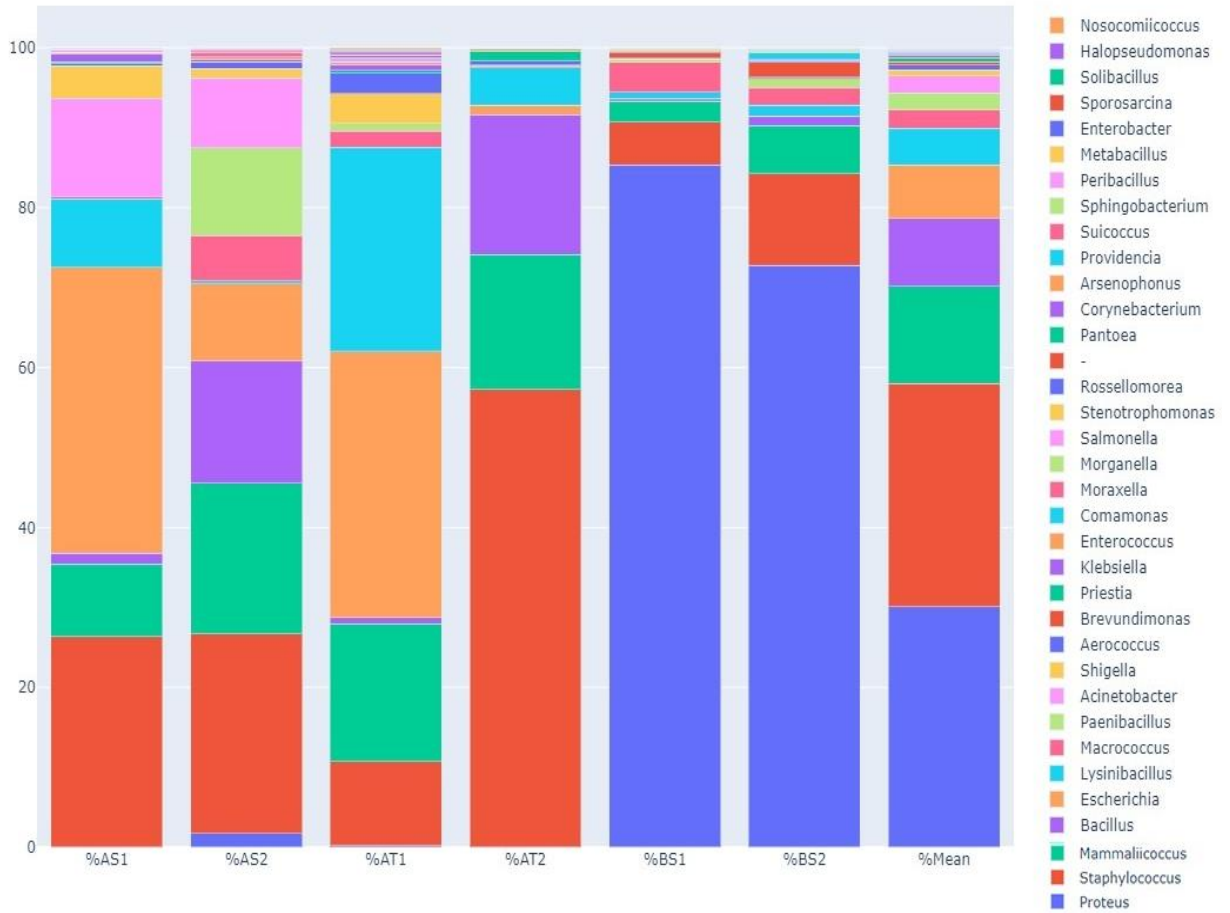


Şekil 9. Benzerlik analizi sonuçları.

Araştırmamızda örneklerimiz arasında benzerlik oranının yakın değerlere sahip olduğu dendogramdan anlaşılmaktadır.

4.2.2. Mikrobiyom Analizlerinin Cins Bazında Değerlendirilmesi

Örneklerin cins seviyesindeki farklılaşmayı göstermek amacıyla yapılan grafikler, Cins (Genus) bazında gerçekleştirilen analizleri içermektedir. Analiz sonuçları, örneklerin sahip olduğu çeşitliliği yüzdesel olarak göstererek belirgin organizmaların değişimini vurgulamaktadır. Aşağıda yer alan "bar chart," her bir örnek içinde yüzdesel olarak en çok görülen cinsleri göstermektedir (Şekil 10).



Şekil 10. Örneklerdeki mikroorganizmaların cins bazında dağılımları.

AS1 örnek havuzunda, baskın cins %35.8'lik bir oranla *Escherichia* sp. olarak belirlenirken, AS2 örnek havuzunda ise %25.0'lik bir oranla *Staphylococcus* sp. ön plandadır. Benzer şekilde, AT1 örnek havuzunda *Escherichia* sp. %33.3'lik bir oranla baskınken, AT2 örnek havuzunda *Staphylococcus* sp. %57.2'lik bir oranla dominant cins olarak gözlemlenmiştir. BS1 ve BS2 örnek havuzlarında ise baskın cins, her iki örnek havuzunda da

yüksek oranlarla *Proteus* sp. olarak belirlenmiştir. *Proteus* sp.; BS1 örnek havuzunda %85.3 ve BS2 örnek havuzunda %72.3 oranında baskın olan genustur. Bu bulgular, farklı gruptaki mikrobiyomlarda baskın cinsler arasında çeşitlilik gösterdiğini göstermektedir.

4.2.3. Krona Analizi Sonuçları

Krona analizinde metagenom, bir daire oluşturan iç içe geçmiş ve eşmerkezli halkalar olarak temsil edilir. Halkaların her biri tek bir taksonomik seviyeye karşılık gelir, halka merkezden ne kadar uzaktaysa taksonomik seviye o kadar düşük olur. Herbir seviyedeki taksonlar, örnekte bulunan o taksonomik seviyeye ait bolluk ile orantılı olarak halkanın bir parçası olarak gösterilir. Böylece, bu görselleştirme topluluk yapısının çok seviyeli bir görünümünü verir. Krona, hiyerarşik etkileşime sahiptir: bir daire dilimine veya segmente tıklandığında, bu parçanın gömülü taksonomik hiyerarşisini gösteren başka bir pasta grafiği görüntülenir. Böylece bir metagenomdaki her taksonu ayrıntılı olarak incelemek ve üye taksonlarının seviyelerini görmek mümkün hale gelmektedir.

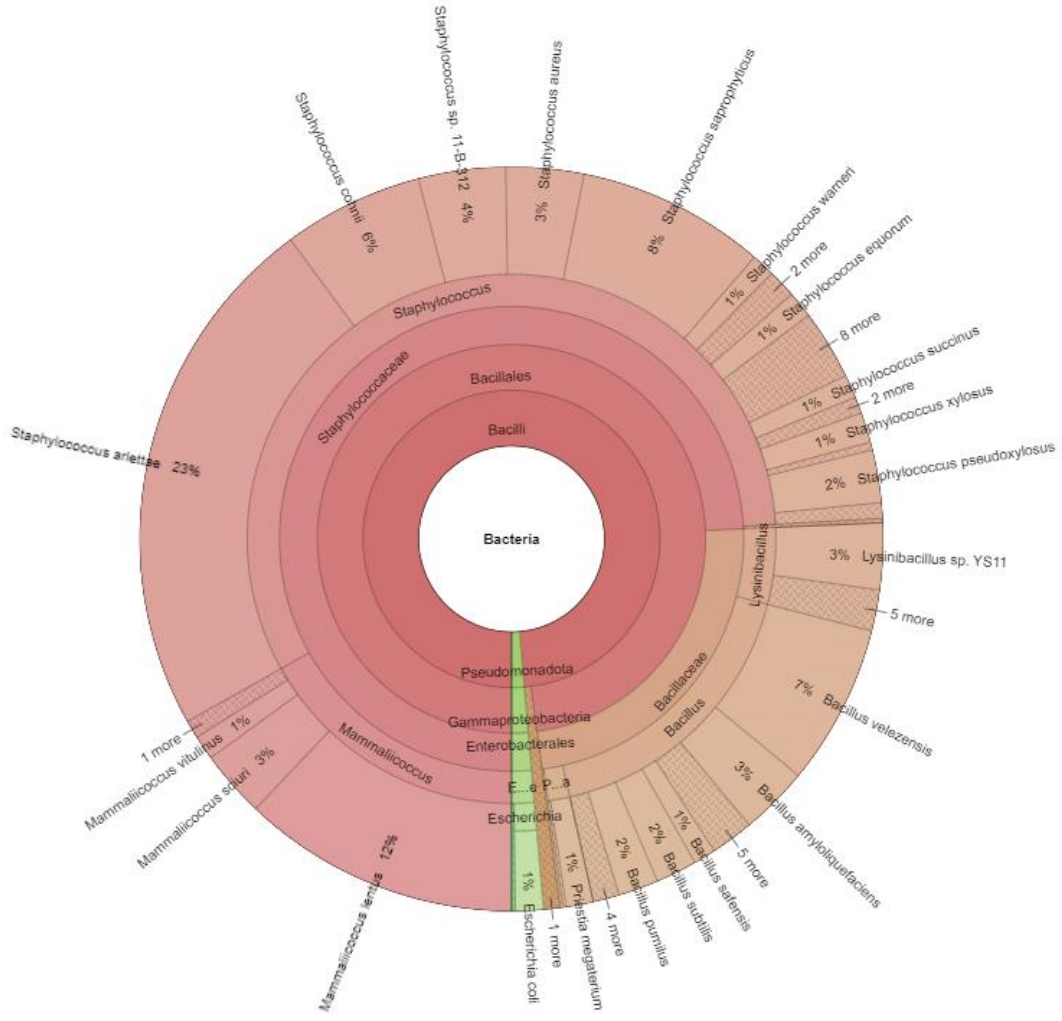
Araştırmamızda incelenen bazı örneklere ait krona taksonlarının dağılımı aşağıda detayları ile gösterilmektedir. *Bacilli* sınıfı, AT1 grubunda % 61, AT2 grubunda ise %99 ile baskın sınıf durumundadır. AS1 sınıfında *Pseudomonadota* sınıfı %54 ile AS2 sınıfında ise *Bacilli* sınıfı %78 ile baskın sınıftır. *Pseudomonadota* sınıfı BS1 grubunda %87 ile BS2 grubunda ise %76 ile dominant sınıf konumundadır.

AT1 grubumuzda *Bacilli* sınıfı toplam bakteri florasının %61'ini oluştururken, *Pseudomonadota* sınıfı ise %39'unu temsil etmektedir. Bu dağılım, özellikle *Bacilli* sınıfına ait bakterilerin bu mikrobiyomda baskın olduğunu göstermektedir. *Bacilli* 'nin yüksek oranda bulunması, muhtemelen çevresel koşullar veya diğer faktörlerle uyumlu olan bu bakteri grubunun grup içindeki önemini vurgular. Krona analizine tür düzeyinde bakıldığında *Escherichia coli*, *Pseudomonadota* sınıfının % 82'sini, tüm bakterilerin ise % 32'sini temsil etmektedir (Şekil 11).



Şekil 11. AT1 grubunun krona analizi.

AT2 grubunda izele edilen bakterilerin %99'unu *Bacilli filumu* oluşturmaktadır. *Staphylococcaceae* familyası tüm bakterilerin %74'ünü oluşturan baskın familyadır. Tür düzeyinde yapılan incelemede *Staphylococcus arlettae* tüm bakterilerin %74'ünü oluşturmaktadır (Şekil 12). Bu bulgularımız MALDI-TOF analiz sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. MALDI-TOF ile tanımlanan tüm etkenlerin %21.9'unu *Staphylococcus arlettae* (n:7) oluştururken, AT2 örnek grubundan izole edilen etkenlerin %33.3'ünü temsil eden *Staphylococcus arlettae* (n:4) bulunmaktadır.



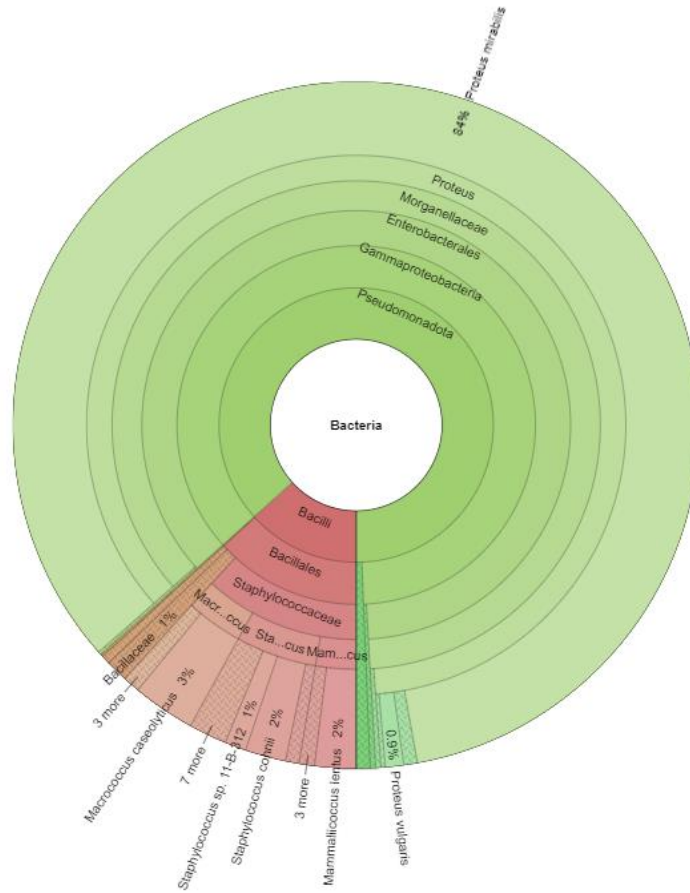
Şekil 12. AT2 grubunun krona analizi.

AT1 ve AT2 mikrobiyom grupları arasında önemli benzerlikler ve farklılıklar gözlemlenmektedir. Her iki grup da *Bacilli* sınıfının belirgin bir şekilde baskın olduğu ortak bir özelliğe sahiptir. AT2 örnek havuzunda *Bacilli* sınıfının tüm bakterilerin %99'unu oluşturması, bu mikrobiyomun bu sınıfa yoğun bir şekilde sahip olduğunu gösterir. Aynı şekilde, AT1 grubunda *Bacilli* sınıfının toplam bakteri florasının %61'ini oluşturması, bu sınıfın bu mikrobiyomda önemli bir bileşen olduğunu ortaya koymaktadır.

Öte yandan, AT1 ve AT2 mikrobiyomları arasında belirgin farklılıklar da bulunmaktadır. AT1'de *Pseudomonadota* sınıfının toplam bakterilerin %39'unu oluşturmakta, AT2'de ise *Pseudomonadota* sınıfının toplam bakteriler içinde %1 gibi belirgin bir şekilde daha düşük oranda bulunması dikkat çekicidir. Tür düzeyinde yapılan Krona analizine göre, AT1 mikrobiyomunda *Escherichia coli*'nin *Pseudomonadota* sınıfının %82'sini ve toplam

bakterilerin %32'sini temsil etmesi gözlemlenirken bu türün bu grup içinde önemli bir konumda olduğunu gösterir. AT2 mikrobiyomunda *Escherichia coli*'nin *Pseudomonadota* sınıfının %88'ini temsil etmesine rağmen, AT2 mikrobiyomunda *Pseudomonadota* sınıfının toplam oranının çok daha az olması sebebi ile *Escherichia coli* toplam bakterilerin yalnızca %1'ini temsil etmektedir. Bu benzerlikler ve farklılıklar, mikrobiyomların çeşitli faktörlere bağlı olarak nasıl şekillendiğini anlamak açısından önemli bir perspektif sunmaktadır.

Çalışmamızda, *Pseudomonadota* BS1 örnek havuzundaki bakterilerin %87'sini oluşturan baskın olan sınıftır. *Morganellaceae* familyası *Pseudomonadota* sınıfının %99'unu ve toplam mikrobiyomun da %86'sını temsil etmektedir. *Morganellaceae* familyası içinde yer alan *Proteus mirabilis*, *Pseudomonadota* sınıfının %97'sini ve toplam bakteri grubunun da %84'ünü oluşturan baskın bakteridir. Bu durum *Proteus mirabilis*'in fırsatçı bir patojen olması ve ortamdaki diğer bakterilere göre çoğalma avantajına sahip olması ile açıklanabilir. *Bacilli* sınıfı BS1 örnek havuzunun %12'sini temsil etmektedir. *Staphylococcaceae* familyası *Bacilli* sınıfının %88'ini toplam bakterilerin ise %12'sini temsil etmektedir (Şekil 13).



Şekil 13. BS1 grubunun krona analizi.

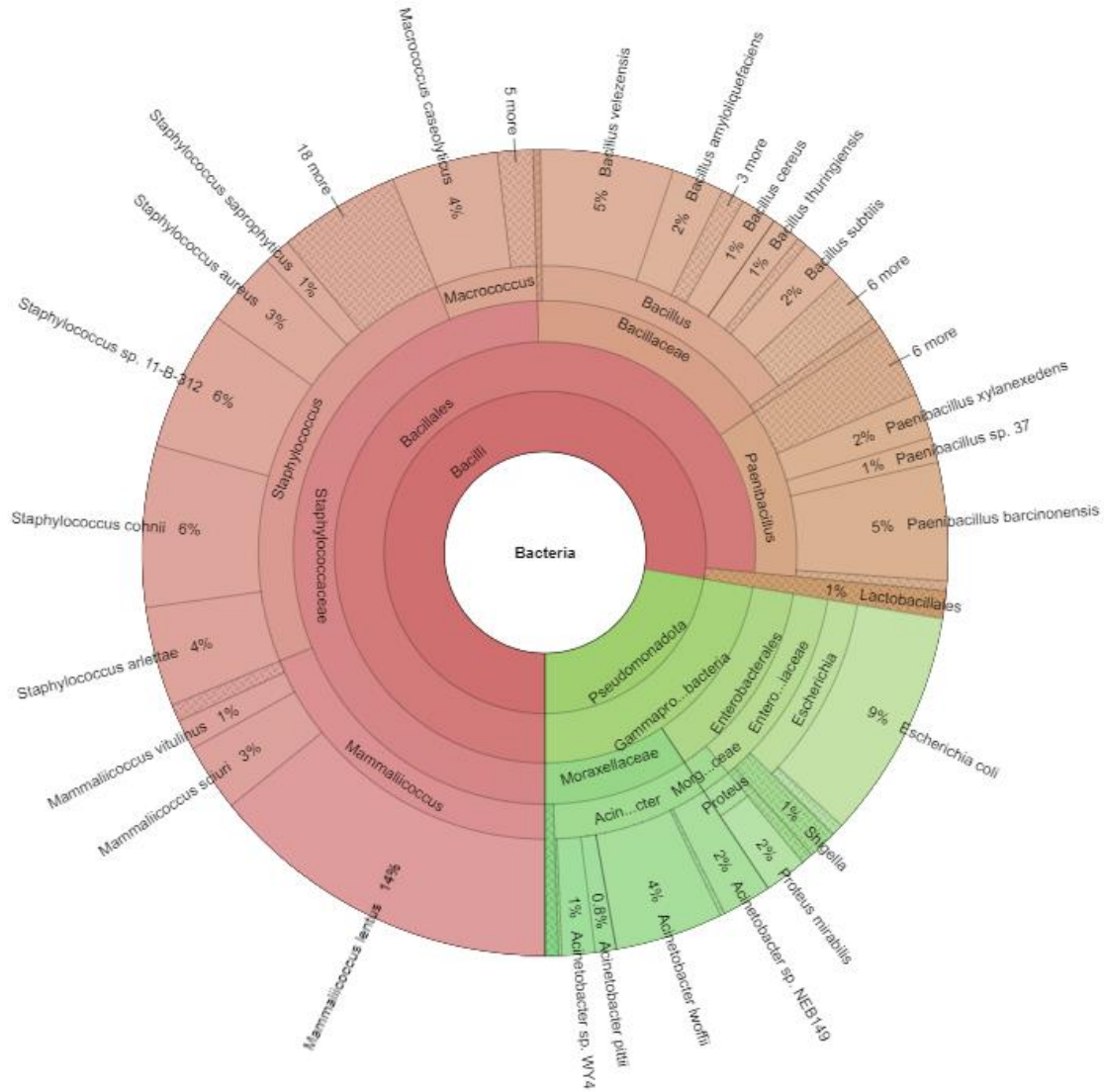
%71'dir. Bu farklılık, her iki mikrobiyomun da benzer bakteri türlerini içermesine rağmen, bu türlerin miktarlarındaki değişkenlikleri vurgular.

AS1 örnek havuzunda, *Pseudomonadota* sınıfı toplam bakterilerin %54'ünü, *Bacilli* sınıfı ise %46'lık kısmını oluşturmaktadır. *Pseudomonadota* sınıfı içerisinde yer alan *Enterobacteriaceae* familyası *Pseudomonadota* sınıfının %77'sini, tüm bakterilerin ise %41'lik kısmını oluşturmakta ve toplam bakteriler içerisindeki en çok bulunan familya'dır. Bir diğer büyük familya olan *Staphylococcaceae* ise *Bacilli* sınıfının %78'ini, toplam bakterilerin de %36'lık kısmını oluşturmaktadır (Şekil 15).



Şekil 15. AS1 grubunun krona analizi.

AS2 örnek havuzunda, *Bacilli* sınıfı toplam bakterilerin %76'sını oluşturmaktadır ve baskın olan sınıf konumundadır. *Staphylococcaceae* familyası *Bacilli* sınıfının %64'ünü ve toplam bakterilerin %50'sini oluşturmaktadır. *Bacilli* sınıfındaki diğer familyalar *Bacillaceae* ve *Paenibacillaceae* familyaları sırasıyla *Bacilli* sınıfının sırasıyla %16 ve %11'lik kısmını oluşturmaktadır. Bir diğer büyük sınıf olan *Pseudomonadota* sınıfı toplam bakterilerin %22'sini oluşturmaktadır. *Enterobacteriaceae* familyası *Pseudomonadota* sınıfının %51'ini ve tüm bakterilerin %11'ini oluşturmaktadır (Şekil 16).

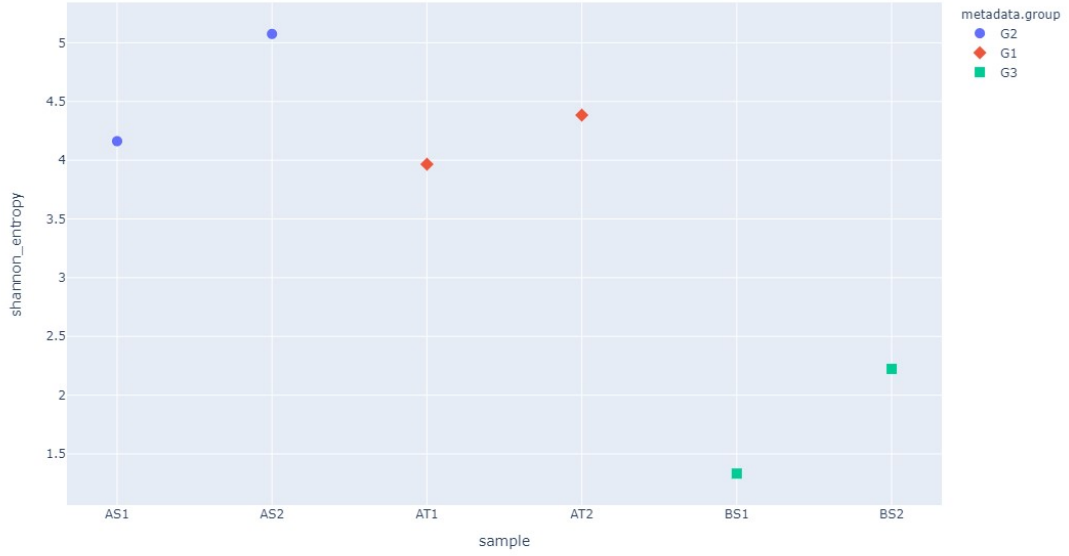


Şekil 16. AS2 grubunun krona analizi.

AS1 ve AS2 mikrobiyom grupları arasındaki belirgin farklardan biri, baskın bakteri sınıflarının dağılımında ortaya çıkmaktadır. AS1 mikrobiyomunda *Pseudomonadota* sınıfı toplam bakterilerin %54'ünü oluştururken, *Bacilli* sınıfı %46'lık bir kısmı temsil etmektedir. Bu durum AS1 mikrobiyomunun *Pseudomonadota* ağırlıklı olduğunu göstermektedir. AS2 örneğinde ise *Bacilli* sınıfı, toplam bakterilerin %76'sını oluşturarak mikrobiyomun baskın sınıfını temsil etmektedir. Bu sınıfta yer alan *Staphylococcaceae* familyası, *Bacilli* sınıfının %64'ünü ve toplam bakterilerin %50'sini oluşturarak belirgin bir oranda baskın familyadır. *Bacilli* sınıfındaki diğer familyalar olan *Bacillaceae* ve *Paenibacillaceae*, sırasıyla *Bacilli* sınıfının %16'sını ve %11'ini oluşturarak mikrobiyom kompozisyonuna katkıda bulunmaktadır. Genus bazında incelendiğinde, AS2 örnek havuzunda *Staphylococcus sp.* toplam bakterilerin %25'ini temsil eden baskın bir tür olarak gözlemlenirken, AS1 örnek havuzunda ise *Escherichia sp.* %36 ile baskın genus durumundadır. Bu karşılaştırma, aynı üreticinin aynı bölgelerde yer alan farklı kümeslerindeki mikrobiyom grupları arasında önemli kompozisyon farklılıklarını ortaya koymaktadır.

4.2.4. Alpha Çeşitlilik Analizleri

Alfa çeşitliliği, belirli bir örnek veya ekosistem içerisinde bulunan türlerin çeşitliliğini ifade eder. Alfa çeşitliliğin hesaplanmasında farklı indeksler kullanılmaktadır. Shannon's indeks ile alfa çeşitliliği tür zenginliği ve çeşitliliği açısından ölçülür. Bir numunedeki çeşitli türlerin sayısına tür zenginliği, mikroorganizmaların bir numunedeki dağılımına tür çeşitliliği denir. Grupların kendi aralarında ve birbirleri arasındaki benzerliklerini ve alfa çeşitliliğini gösteren Shannon indeks grafiği Şekil 17' de görülmektedir. Shannon indeks çeşitliliğine göre AS2'nin en yüksek mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 17. Araştırma örneklerinin Shannon index grafiği.

4.2.5. PCA Analizleri

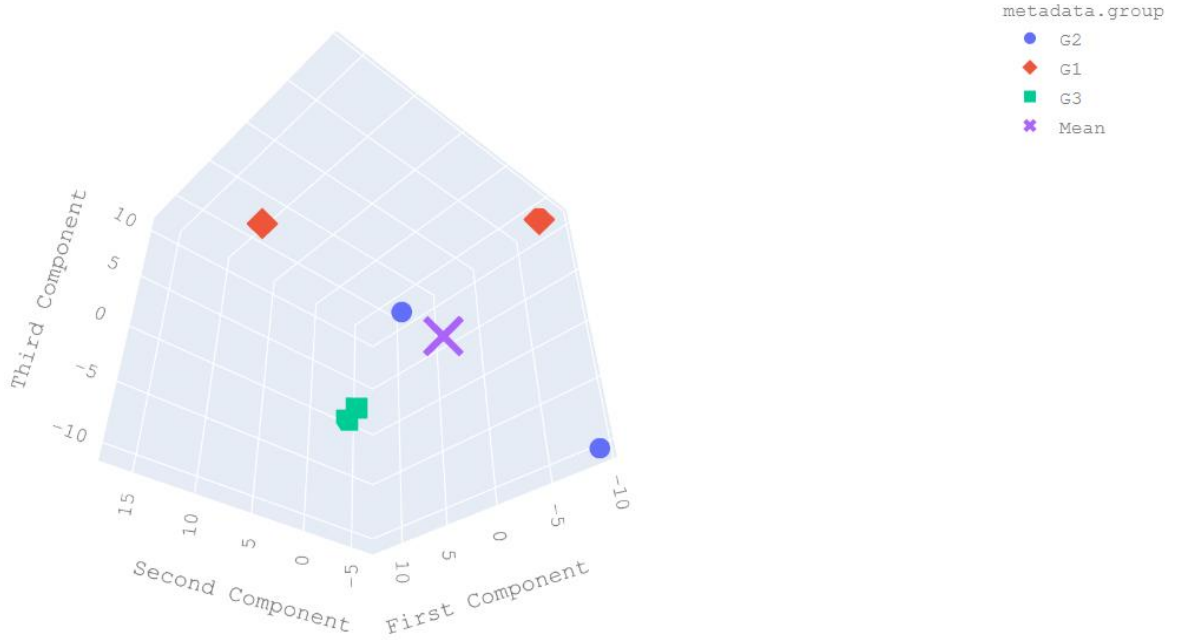
PCA analizi, çok boyutlu verilerde değişkenler arasındaki ilişkiyi tespit etmek için maksimum varyansı bularak boyut indirgeme yöntemine dayanır. Bu analizde amaç verileri 2 veya 3 boyutlu düzlemlere indirgemek ve bu sayede veriler arasında bulunan patternleri gözlemlemektir. PCA analizinin temel özelliği minimum değişken ile mümkün olduğunca fazla varyansın ortaya çıkarılmasıdır. Bu analizde oluşacak patterni gözlemlemek amacıyla veriler ve verilerin ait oldukları gruplar 3 boyutlu olarak analiz edilmiştir.

Araştırmamızda incelenen örneklerin bütün seviyelerde ve sadece cins seviyesinde temel komponent analizleri gerçekleştirilmiş, iki boyutlu (Şekil 18) ve üç boyutlu (Şekil 19) değerlendirmeleri gösterilmiştir. PCA analizleri sonucunda, Grup1'in kendi içinde Grup 2 ve Grup 3'de yer alan gruplara göre daha farklı bir şekilde kümelenmiş olduğu görülmektedir.



Şekil 18. Örneklerin iki boyutlu PCA analizi grubunun krona analizi.

G1 : (AT1 ve AT2); G2 : (AS1 ve AS2); G3 : (BS1 ve BS2)



Şekil 19. Örneklerin üç boyutlu PCA analizi grubunun krona analizi.

G1 : (AT1 ve AT2); G2 : (AS1 ve AS2); G3 : (BS1 ve BS2)

PCA analizinizde elde ettiğiniz sonuçlar, mikrobiyom gruplarının kendi içlerindeki benzerlik ve farklılıkları ortaya koymaktadır. GR1 ve GR2'nin kendi içlerinde uzak bir konumda olması, bu iki mikrobiyom grubunun birbirleri içinde belirgin şekilde ayrıldığını gösterir. Bu durum, GR1 ve GR2 arasındaki mikrobiyom kompozisyonunun önemli ölçüde farklılaştığını ve bu gruplar arasında belirgin bir bakteriyel çeşitlilik olduğunu düşündürülebilir. Diğer yandan, GR3'ün kendi içinde birbirine yakın konumda olması, bu mikrobiyom grubunun daha homojen bir bakteriyel kompozisyona sahip olduğunu gösterir. GR3 içindeki mikrobiyom örneklerinin birbirine benzer olduğu ve genel yapılarının tutarlılık gösterdiği söylenebilir.

Bu gözlemler, mikrobiyom grupları arasındaki çeşitliliği ve içsel tutarlılığı anlamak açısından değerlidir. GR1 ve GR2'nin kendi içlerindeki uzaklık, belirli faktörlere yanıt olarak farklı bakteriyel topluluklara sahip olabileceklerini düşündürülebilir. GR3'ün ise kendi içindeki benzerlik, bu grup içinde daha tutarlı bir mikrobiyom kompozisyonu olduğunu gösterir.

4.2.6. Mikrobiyom Analizleri Sonucunda Bakterilerin Taksonomik Dağılımları

Araştırmamızda 3 farklı firmaya ait çiftliklerden toplanan 15 biyoaerosol örneklerinden oluşturulmuş gruplara yapılan mikrobiyom analizleri sonucunda taksonomik olarak 196 satır bakteri cinsi tanımlanmıştır. Tanımlanmış bakteriler ve yüzde dağılımları Tablo 8'de ve Şekil 20'de gösterilmektedir.

Tablo 8. Mikrobiyom analizleri sonucunda belirlenen bakteriler ve yüzde dağılımları

Takson	AS1 %	AS2 %	AT1 %	AT2 %	BS1 %	BS2 %
<i>Pseudomonadota</i>	8,95	3,73	6,46	0,23	14,44	12,73
<i>Gammaproteobacteria</i>	8,95	3,73	6,46	0,23	14,33	12,29
<i>Bacillota</i>	7,72	12,94	10,16	16,44	2,22	3,92
<i>Bacilli</i>	7,72	12,94	10,16	16,44	2,22	3,92
<i>Bacillales</i>	7,64	12,75	9,63	16,32	2,21	3,87
<i>Enterobacterales</i>	6,89	2,17	6,44	0,23	14,29	12,29
<i>Morganellaceae</i>	0,00	0,28	0,03	0,00	14,26	12,21
<i>Proteus</i>	0,00	0,28	0,03	0,00	14,22	12,13
<i>Proteus mirabilis</i>	0,00	0,28	0,03	0,00	13,94	11,86
<i>Enterobacteriaceae</i>	6,89	1,89	6,39	0,23	0,03	0,06
<i>Escherichia</i>	5,96	1,62	5,55	0,20	0,00	0,02
<i>Staphylococcaceae</i>	5,94	8,25	4,99	12,38	1,96	3,28
<i>Staphylococcus</i>	4,39	4,17	1,76	9,55	0,89	1,90
<i>Escherichia coli</i>	5,84	1,54	5,29	0,20	0,00	0,02
<i>Moraxellaceae</i>	2,06	1,56	0,00	0,00	0,00	0,00

<i>Bacillaceae</i>	1,70	2,68	4,44	3,93	0,17	0,41
<i>Mammaliococcus</i>	1,52	3,14	2,87	2,81	0,44	1,01
<i>Mammaliococcus lentus</i>	1,05	2,37	2,27	2,01	0,32	0,73
<i>Moraxellales</i>	2,06	1,56	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Acinetobacter</i>	2,06	1,47	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Lysinibacillus</i>	1,43	0,05	4,26	0,78	0,13	0,22
<i>Staphylococcus cohnii</i>	0,80	1,08	0,24	1,02	0,32	0,60
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0,76	0,72	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Shigella</i>	0,67	0,20	0,63	0,03	0,00	0,00
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0,61	0,18	0,06	1,37	0,08	0,15
<i>Staphylococcus arlettae</i>	0,56	0,66	0,90	3,84	0,11	0,19
<i>Staphylococcus sp. 11-B-312</i>	0,48	0,93	0,20	0,63	0,17	0,41
<i>Shigella sonnei</i>	0,48	0,06	0,26	0,00	0,00	0,00
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	0,48	0,00	0,35	0,03	0,00	0,16
<i>Acinetobacter sp. WY4</i>	0,44	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus simulans</i>	0,43	0,03	0,00	0,02	0,00	0,02
<i>Acinetobacter sp. NEB149</i>	0,43	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Mammaliococcus sciuri</i>	0,36	0,45	0,33	0,48	0,08	0,19
<i>Lysinibacillus sp. CD3-6</i>	0,36	0,00	1,40	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus xylosus</i>	0,32	0,06	0,00	0,22	0,03	0,06
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	0,31	0,00	0,59	0,06	0,02	0,05
<i>Staphylococcus pseudoxylosum</i>	0,30	0,04	0,00	0,38	0,04	0,07
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,30	0,50	0,18	0,56	0,09	0,20
<i>Bacillus</i>	0,23	2,55	0,12	2,91	0,05	0,19
<i>Acinetobacter pittii</i>	0,20	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0,16	0,05	0,02	0,11	0,02	0,04
<i>Lysinibacillus varians</i>	0,16	0,00	0,32	0,00	0,00	0,00
<i>Klebsiella</i>	0,15	0,06	0,13	0,00	0,03	0,04
<i>Bacillus velezensis</i>	0,12	0,89	0,10	1,16	0,00	0,03
<i>Klebsiella variicola</i>	0,12	0,06	0,10	0,00	0,00	0,04
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,11	0,08	0,20	0,03	0,00	0,00
<i>Acinetobacter schindleri</i>	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Escherichia fergusonii</i>	0,08	0,05	0,20	0,00	0,00	0,00
<i>Acinetobacter pseudolwoffii</i>	0,08	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Lactobacillales</i>	0,08	0,18	0,52	0,12	0,02	0,05
<i>Staphylococcus warneri</i>	0,07	0,11	0,05	0,17	0,00	0,04
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	0,07	0,03	0,00	0,11	0,00	0,00
<i>Lysinibacillus sp. GJ-1</i>	0,07	0,00	0,16	0,02	0,00	0,00
<i>Mammaliococcus vitulinus</i>	0,07	0,20	0,16	0,18	0,03	0,05
<i>Salmonella</i>	0,06	0,02	0,07	0,00	0,00	0,00
<i>Salmonella enterica</i>	0,06	0,02	0,04	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,06	0,07	0,05	0,09	0,00	0,03
<i>Shigella flexneri</i>	0,05	0,02	0,08	0,00	0,00	0,00
<i>Priestia</i>	0,05	0,00	0,06	0,22	0,00	0,00
<i>Priestia filamentosa</i>	0,05	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus equorum</i>	0,05	0,07	0,03	0,19	0,02	0,03

<i>Mammaliococcus stepanovicii</i>	0,04	0,12	0,11	0,13	0,02	0,04
<i>Aerococcaceae</i>	0,04	0,13	0,47	0,08	0,02	0,03
<i>Aerococcus</i>	0,04	0,13	0,42	0,08	0,02	0,03
<i>Staphylococcus succinus</i>	0,04	0,04	0,00	0,17	0,00	0,00
<i>Aerococcus viridans</i>	0,04	0,07	0,24	0,05	0,02	0,03
<i>Staphylococcus nepalensis</i>	0,04	0,08	0,02	0,11	0,02	0,04
<i>Enterococcaceae</i>	0,04	0,05	0,06	0,04	0,00	0,02
<i>Enterococcus</i>	0,04	0,05	0,06	0,04	0,00	0,02
<i>Enterococcus faecium</i>	0,04	0,05	0,06	0,04	0,00	0,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,04	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0,04	0,06	0,03	0,11	0,00	0,02
<i>Lysinibacillus agricola</i>	0,04	0,00	0,28	0,07	0,00	0,00
<i>Enterobacter hormaechei</i>	0,03	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Enterobacter</i>	0,03	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus cereus</i>	0,03	0,24	0,00	0,08	0,00	0,00
<i>Macrococcus</i>	0,03	0,95	0,33	0,03	0,63	0,37
<i>Macrococcus caseolyticus</i>	0,03	0,71	0,30	0,03	0,49	0,26
<i>Shigella boydii</i>	0,03	0,04	0,09	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,03	0,35	0,03	0,50	0,00	0,00
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Escherichia albertii</i>	0,02	0,03	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus caprae</i>	0,02	0,02	0,00	0,04	0,00	0,00
<i>Bacillus anthracis</i>	0,02	0,09	0,00	0,04	0,00	0,00
<i>Lysinibacillus sp. YS11</i>	0,02	0,05	0,95	0,48	0,10	0,00
<i>Escherichia sp. E4742</i>	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0,02	0,20	0,00	0,07	0,00	0,00
<i>Staphylococcus hominis</i>	0,02	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	0,02	0,03	0,00	0,06	0,00	0,00
<i>Paenibacillus</i>	0,00	1,82	0,16	0,00	0,07	0,19
<i>Paenibacillaceae</i>	0,00	1,82	0,16	0,00	0,07	0,19
<i>Paenibacillus barcinonensis</i>	0,00	0,79	0,00	0,00	0,07	0,12
<i>Bacillus subtilis</i>	0,00	0,31	0,00	0,30	0,00	0,02
<i>Bacillus pumilus</i>	0,00	0,08	0,00	0,29	0,00	0,02
<i>Bacillus safensis</i>	0,00	0,07	0,00	0,16	0,05	0,12
<i>Alphaproteobacteria</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,31
<i>Caulobacteraceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,31
<i>Brevundimonas</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,31
<i>Caulobacterales</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,31
<i>Priestia megaterium</i>	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00
<i>Proteus vulgaris</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,15
<i>Lysinibacillus capsici</i>	0,00	0,00	0,19	0,11	0,00	0,00
<i>Brevundimonas vancouverensis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,15
<i>Paenibacillus xylanexedens</i>	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus altitudinis</i>	0,00	0,04	0,00	0,12	0,00	0,00

<i>Staphylococcus kloosii</i>	0,00	0,03	0,00	0,11	0,00	0,00
<i>Macrococcus canis</i>	0,00	0,09	0,04	0,00	0,07	0,05
<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,00	0,04	0,00	0,10	0,00	0,00
<i>Proteus terrae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,09
<i>Aerococcus urinaeequi</i>	0,00	0,06	0,18	0,03	0,00	0,00
<i>Paenibacillus sp. 37</i>	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Staphylococcus lloydii</i>	0,00	0,02	0,00	0,08	0,00	0,00
<i>Comamonadaceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
<i>Comamonas koreensis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
<i>Comamonas</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
<i>Burkholderiales</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
<i>Betaproteobacteria</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14
<i>Bacillus paralicheniformis</i>	0,00	0,13	0,00	0,02	0,00	0,00
<i>Paenibacillus xylanilyticus</i>	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,05
<i>Brevundimonas pondensis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
<i>Paenibacillus sp. JZ16</i>	0,00	0,12	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Paenibacillus lautus</i>	0,00	0,05	0,14	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus sp. AntiMn-1</i>	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,00	0,06	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Paenibacillus sp. DR312</i>	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Staphylococcus carnosus</i>	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Paenibacillus sp. DCT19</i>	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Macrococcus bohemicus</i>	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03	0,02
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Moraxella osloensis</i>	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Moraxella</i>	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Morganella morganii</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04
<i>Morganella</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04
<i>Macrococcus sp. IME1552</i>	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03	0,02
<i>Proteus penneri</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03
<i>Paenibacillus sp. JNUCC-31</i>	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Macrococcus armenti</i>	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Bacillus sp. 3a</i>	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Priestia flexa</i>	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
<i>Xanthomonadales</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
<i>Xanthomonadaceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
<i>Stenotrophomonas</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
<i>Brevundimonas sp. MF30-B</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03
<i>Macrococcus sp. 19Msa1099</i>	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus halotolerans</i>	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
<i>Rossellomorea</i>	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
<i>Rossellomorea marisflavi</i>	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
-	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillaceae bacterium C05</i>	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Pantoea stewartii</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02

<i>Pantoea</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
<i>Erwiniaceae</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
<i>Mycobacteriales</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Actinomycetota</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Actinomycetes</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Corynebacteriaceae</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Corynebacterium</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Corynebacterium stationis</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Paenibacillus sp. E222</i>	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Providencia</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Providencia rettgeri</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Arsenophonus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Arsenophonus nasoniae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Suicoccus</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Suicoccus acidiformans</i>	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus haynesii</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus mycoides</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Bacteroidota</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Sphingobacteriia</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Sphingobacteriales</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Sphingobacteriaceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Sphingobacterium</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Sphingobacterium lactis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Planococcaceae</i>	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
<i>Peribacillus</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Peribacillus simplex</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Brevundimonas naejangsanensis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
<i>Metabacillus</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Metabacillus sp. KUDC1714</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bacillus paranthracis</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Salmonella bongori</i>	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00
<i>Lysinibacillus parviboronicapiens</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Sporosarcina sp. Te-1</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Sporosarcina</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Solibacillus sp. R5-41</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Solibacillus</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Pseudomonadales</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Pseudomonadaceae</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Halopseudomonas</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Halopseudomonas litoralis</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Nosocomiicoccus</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
<i>Nosocomiicoccus ampullae</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00



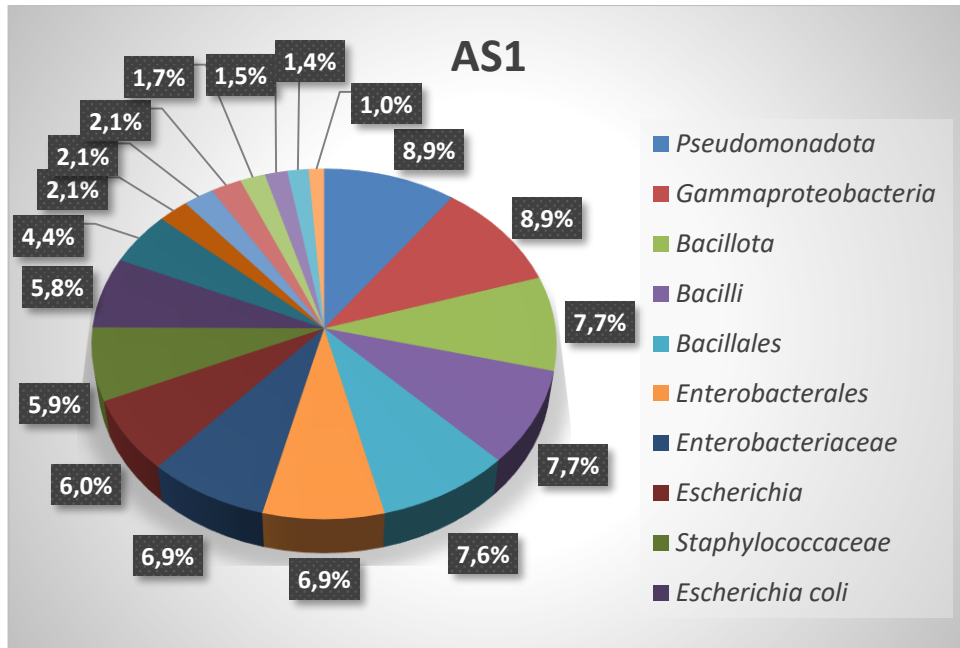
Şekil 20. İdentifiye edilen bakteriyel etkenlerin gruplara göre yüzde dağılımları.

4.2.7. İdentifiye Edilen Bakteriyel Etkenlerin Kümes Gruplarındaki Dağılımları

- AS1 örnek grubu

AS1 örnek grubumuzda *Pseudomonadota* filumu %8.9 ile baskın olan gruptur. *Bacillota* filumu ise etkenlerin %7.7'sini temsil etmektedir. *Pseudomonadota* filumu içinde yer alan *Enterobacterales* takımı identifiye edilen etkenlerin %6.9'unu temsil etmektedir. *Enterobacterales* takımı; *Enterobacteriaceae* familyası ile %6.9 ve *Escherichia* genusu ile %6.0 gibi başlıca gruplarla temsil edilmektedir.

Bacillota filumu içerisindeki *Staphylococcaceae* familyası %5.9 oranında, ve *Staphylococcus* cinsi %4.4 oranda olmak üzere örnek havuzunda belirgin oranlarda bulunmaktadır (Şekil 21).

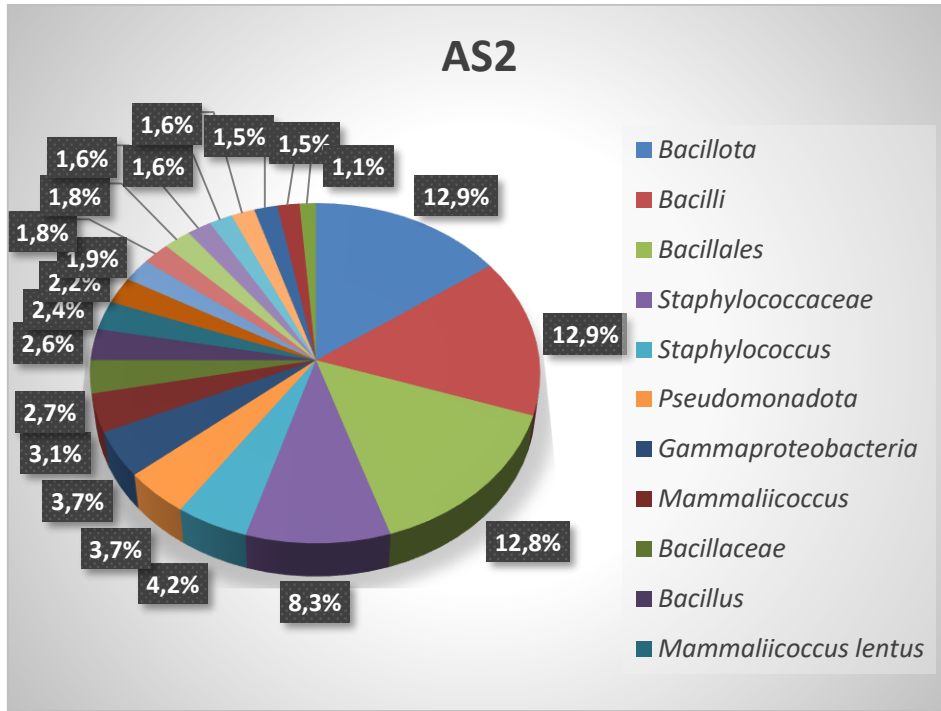


Şekil 21. AS1 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.

- **AS2 örnek grubu**

AS2 Örnek grubunda *Bacillota* filumu izole edilen etkenlerin %12.9'unu temsil etmektedir. *Bacillota* filumu içinde yer alan, *Staphylococcaceae* familyası %8.3 ile, *Bacillaceae* familyası % 2.6 ile temsil edilmektedir.

Pseudomonadota filumu, bu örnek grubundan izole edilen etkenlerin %3.7'sini temsil etmektedir (Şekil 22).

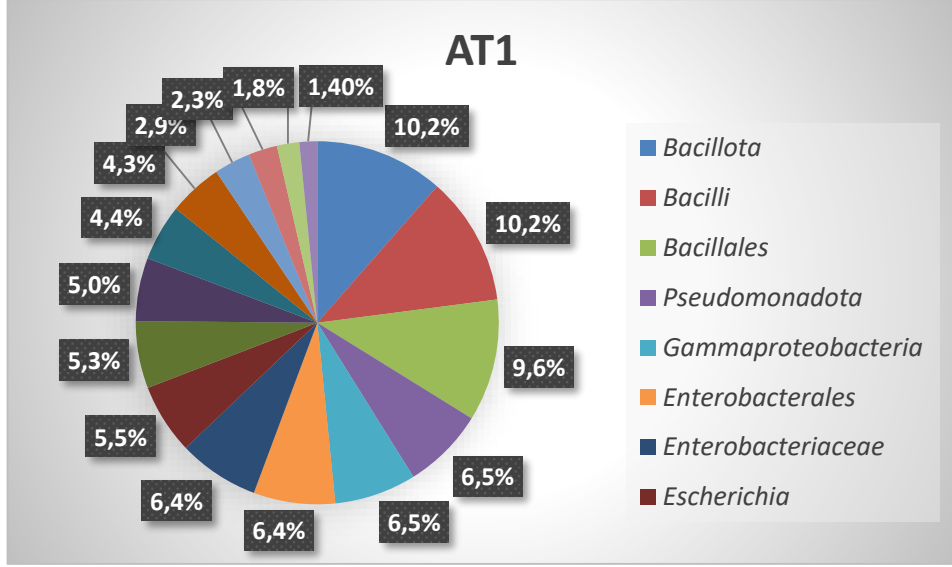


Şekil 22. AS2 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.

- **AT1 örnek grubu**

AT1 örnek grubunda *Bacillota* filumu izole edilen etkenlerin %10.2'sini temsil etmektedir ve baskın filum durumundadır. *Pseudomonadota* filumu etkenlerin %6.5'ini temsil etmektedir. *Pseudomonadota* filumunda yer alan *Enterobacteriaceae* familyası etkenlerin %6.9'unu, *Bacillota* filumunda yer alan *Staphylococcaceae* familyası ise % 5.0 ini temsil etmektedir.

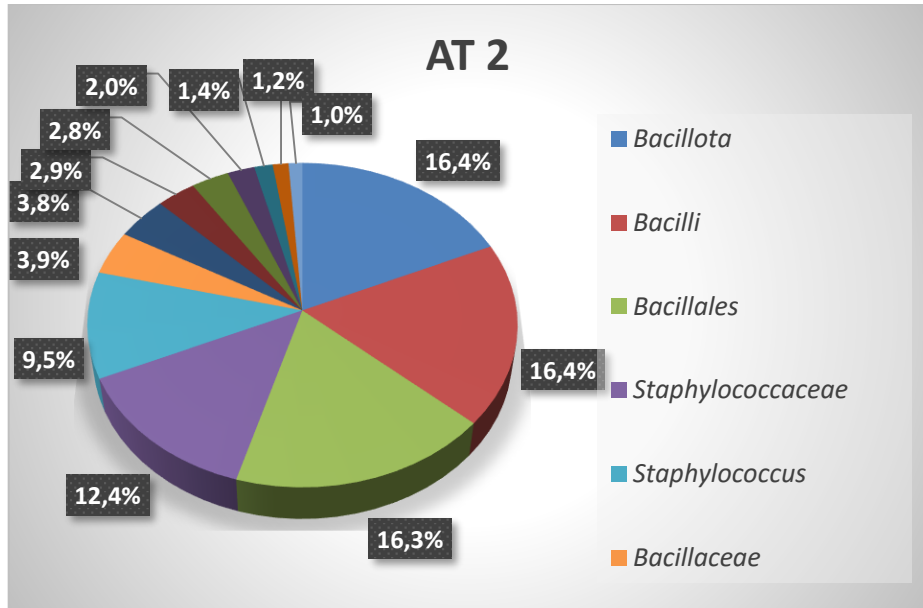
Escherichia genusu etkenlerin %5.5'ini, *Lysinibacillus* genusu %4.3'ünü , *Mammaliicoccus* genusu %2.9'unu ve *Staphylococcus* genusu %1.8'ini temsil etmektedir ve örnek havuzunda yer alan başlıca genuslardır (Şekil 23).



Şekil 23. AT1 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.

- **AT2 örnek grubu**

AT2 örnek grubunda *Bacillota* filumu izole edilen etkenlerin %16,4'ünü temsil etmektedir ve baskın filum konumundadır. *Pseudomonadota* ise yalnızca % 0,2'lik kısmı temsil etmektedir. *Bacillota* filumu içinde yer alan, *Staphylococcaceae* familyası %12,4 ile, *Bacillaceae* familyası ise %3,9 ile temsil edilmektedir. *Pseudomonadota* filum'u altında sınıflandırılan *Enterobacteriaceae* familyası ise yalnızca %0,2 ile temsil edilmektedir (Şekil 24).

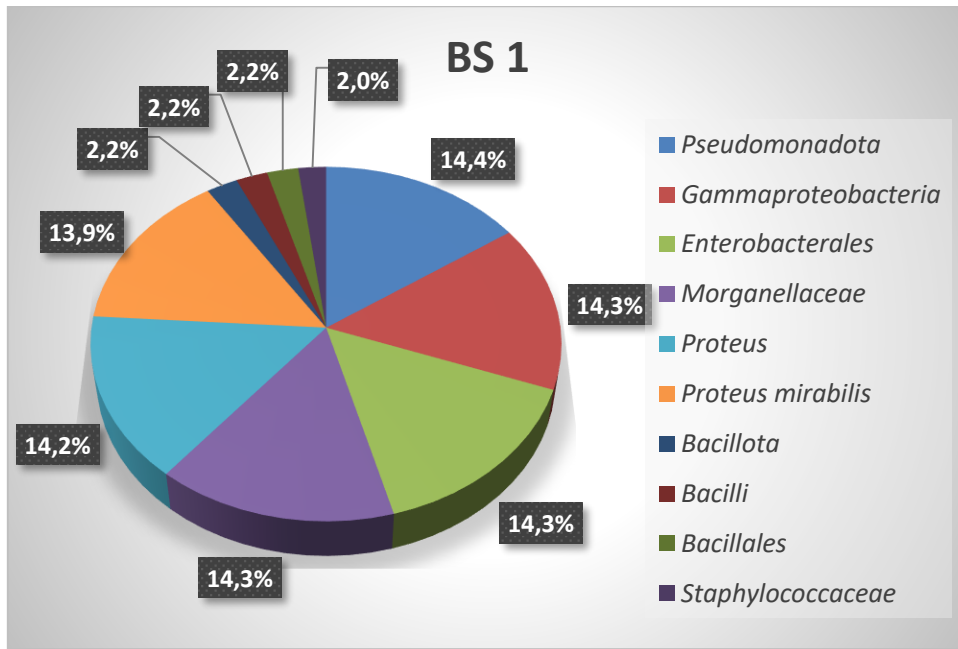


Şekil 24. AT2 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.

- **BS1 örnek grubu**

BS1 örnek grubunda *Pseudomonadota* filumu %14,4 ile baskın olan gruptur. *Bacilli* filumu ise etkenlerin % 2,2'sini temsil etmektedir. *Pseudomonadota* filumu içinde yer alan *Enterobacterales* takımı identifiye edilen etkenlerin %14,3'ünü temsil etmektedir. *Enterobacterales* takımı; *Morganellaceae* familyası (%14,3) ve *Proteus mirabilis* türü (%13,9) gibi başlıca taksonlarla temsil edilmektedir.

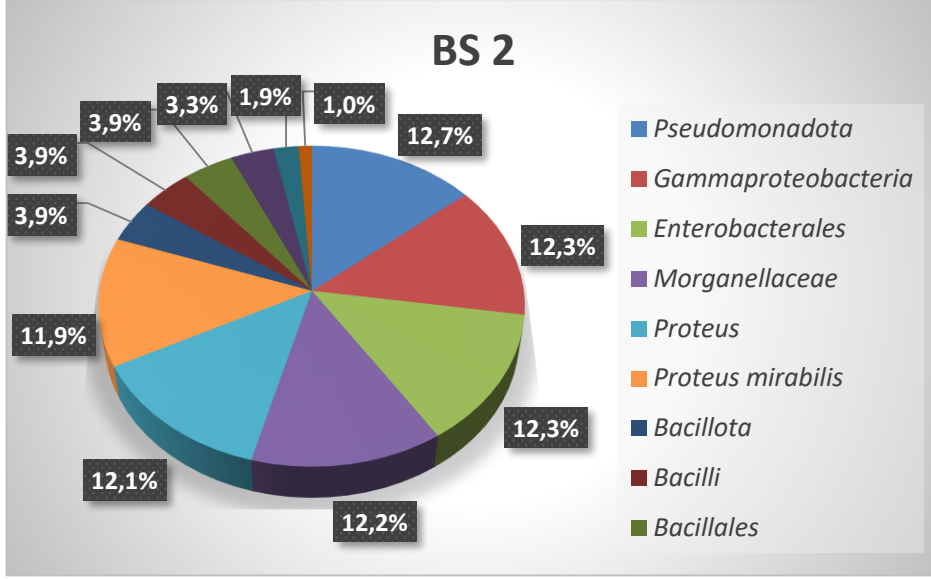
Staphylococcaceae familyası %2,0 ile, *Bacillota* filumu içindeki baskın olan familya konumundadır (Şekil 25).



Şekil 25. BS1 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.

- **BS2 Örnek Grubu**

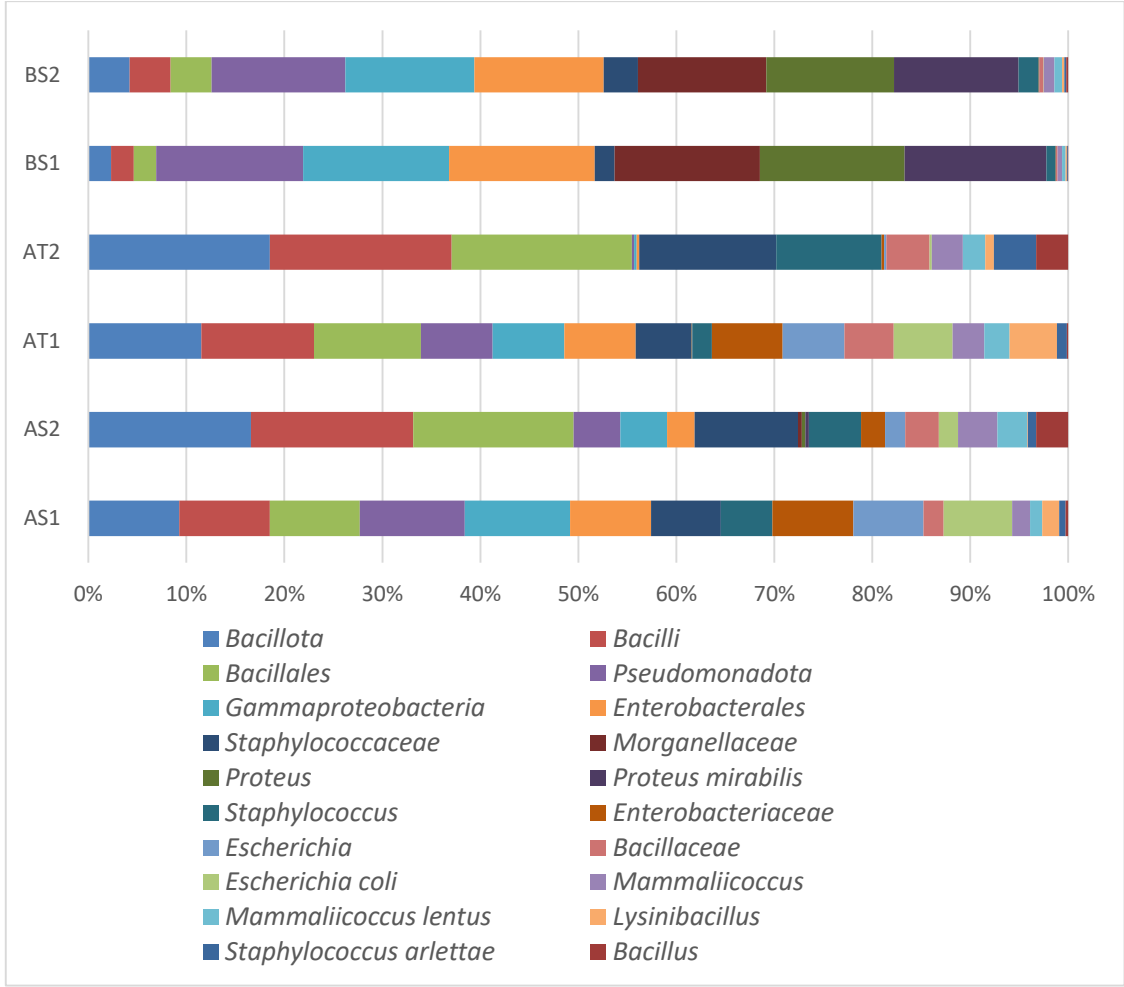
BS2 örnek grubunda *Pseudomonadota* filumu BS1 grubunda olduğu gibi %12,7 ile baskın olan gruptur. *Bacilli* filumu ise etkenlerin %3,9'sini temsil etmektedir. *Pseudomonadota* filumu içinde yer alan *Enterobacterales* takımı identifiye edilen etkenlerin % 12,3'ünü temsil etmektedir. *Enterobacterales* takımı içinde *Morganellaceae* familyası %12,2 ile ve *Proteus mirabilis* türü %11,9 ile baskın olan taksonlardır (Şekil 26).



Şekil 26. BS2 örnek havuzundaki bakteriyel dağılımlar.

Örnek gruplarımız arasında dominant olan filumlar değişkenlik göstermektedir. AS1 örnek grubunda *Pseudomonadota* filumunun (%8.9) baskın olduğunu, AS2 örnek grubunda ise *Bacillota* filumunun (%12.9) en belirgin filum olduğunu tespit edilmiştir. AT1 örnek grubunda *Bacillota* filumu (%10.2) en baskın filum olarak öne çıkarken, AT2 örnek grubunda da *Bacillota* filumu (%16.4) oldukça belirgin bir şekilde baskın konumda bulunmaktadır. BS1 örnek grubunda *Pseudomonadota* filumu (%14.4) en baskın filum iken, BS2 örneğinde de *Pseudomonadota* filumu (%12.7) dominant olarak tespit edilmiştir.

Örnek gruplarımızda %1 ve üzerinde görülen taksonomik dağılımlar Şekil 27’de gösterilmiştir.



Şekil 27. Örnek gruplarımızda %1 ve üzerindeki bakterilerin taksonomik dağılımları.

5. TARTIŞMA

Hava, sadece mikroorganizma depolama alanı değil, aynı zamanda partiküler madde ve mikrobiyal aerosollerin iletilmesi için önemli bir taşıyıcıdır (Sanz ve diğerleri, 2015). Havanın kalitesi, çevresel mikroorganizma birikimi için önemli bir faktördür ve aynı zamanda hayvanların büyüme ve gelişimi ile de yakından ilişkilidir. Tavuk kümeslerindeki hayvanların uzun süre kötü hava kalitesine sahip bir ortamda yaşamaları sadece sağlıkları ve refahları üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmaz, aynı zamanda büyüme hızlarını ve yem verimliliklerini azaltır (Heidari ve Toghyani, 2018; Goo ve diğerleri, 2019). Yoğun bir üretim yapılan broyler yetiştiriciliğinde hayvanların refahı ve sağlığı, çiftlik ortamı ile yakından ilişkilidir. Kapalı bir kafes ortamında, civcivler büyüdükçe kümes içindeki hava kalitesi giderek düşmekte ve kümeslerdeki bakteri miktarının giderek arttığı gözlemlenmektedir (Brooks ve diğerleri, 2010; Jiang ve diğerleri, 2018; Just ve diğerleri, 2012; Oppliger ve diğerleri, 2008). Yüksek mikrop seviyeleri, potansiyel olarak broylerlerde solunum veya bağırsak hastalıklarına neden olabilir. Bu problemleri önleyebilmek için, broylerler büyüdükçe dışkıların zamanında temizlenmesi, uygun nem ve havalandırmanın sağlanması, broylerlerin dezenfekte edilmesi de dahil olmak üzere uygun önlemler alınmalıdır (Jiang ve diğerleri, 2018).

Tavuk yetiştiricileri için kümeslerdeki mikrobiyal topluluk, özellikle patojenlerin sürüler arasında ve sürü içinde dağılımına yol açabileceği için oldukça önemlidir. Nekrotik enteritisin nedeni olan *Clostridium perfringens*, artrit ve osteomyelit ile ilişkilendirilmiş *Staphylococcus* sp. ile *Enterococcus* sp. ve gangrenöz dermatit ile ilişkilendirilen *Clostridium* sp. ve *Staphylococcus aureus* yayılımlarını inceleyen çeşitli çalışmalar mevcuttur (Cervantes ve diğerleri, 1988; Cooper ve Songer, 2009; Long, 1973; Nairn, 1973; Stalker ve diğerleri, 2010). Bununla birlikte patojen olmayan *Staphylococcus* sp. ve *Enterococcus* sp.'nin antibiyotik direnç genleri için bir rezerv olarak hizmet edebileceği saptanmıştır (Joseph ve diğerleri, 2001).

Yapılan bir çok çalışma, yoğun kümes hayvancılığı yapılan kümeslere yakın bölgelerde zatürre riskinde artış olduğunu göstermektedir. Smith ve diğerleri (2012); Smith ve diğerleri (2017); Hooiveld ve diğerleri (2016) tarafından yapılan çalışmalarda, kümes hayvancılığının yoğun olduğu bölgelerde özellikle zatürre olmak üzere alt solunum yolu enfeksiyonlarında artış bulunmuştur. Smith ve diğerleri (2012). kümes hayvanı çiftliğine 1 km içinde yaşayan yetişkinler arasında zatürre insidansında artış bildirmiştir. Bu çalışmanın devamında, Smith ve diğerleri (2017). zatürre nedeniyle hastaneye yatırılan kişilerdeki zatürre ile ikamet ettikleri yer

arasındaki ilişkiyi incelemek için çekirdek analizi kullanmıştır. En yakın kümes hayvanı çiftliğine <1.15 km mesafede yaşamanın, zatürre riskini ve orofaringeal mikrobiyotada *Streptococcus pneumoniae* varlığını artırdığını bulmuşlardır. Bu bulgular, kümes hayvanı çiftliğine yakın yaşayan bireylerin yüksek toz maruziyeti nedeniyle zoonotik olmayan kommensal patojenlerden kaynaklanan zatürreye daha duyarlı hale gelebileceklerini öne sürmektedir (Smith ve diğerleri., 2017).

Birçok araştırmacı, kümes hayvanı çiftliklerindeki hava kirliliğini ve tavuk sağlığı ile üretimine olan etkilerini değerlendirmiştir. Vučemilo ve diğerleri (2006) kümes hayvanının yaşı ile birlikte kümesdeki havadaki mikroorganizma konsantrasyonunun arttığını bulmuş, yoğun yetiştirme sürecinin beşinci haftasında havadaki mikroorganizma miktarının 3.22×10^3 CFU/m³'ten 6.4×10^7 cfu/m³'e kadar değiştiğini belirtmiştir. Amonyak seviyesi, besi sürecinin beşinci haftasında 14.8 ppm olarak ölçülmüştür. Benzer hava mikrobiyolojik kontaminasyon değerleri, yoğun tavuk yetiştirme tesislerindeki önceki bir çalışmada da rapor edilmiştir (Vučemilo ve diğerleri, 2005).

Plewa ve Lonc (2011). broyler kümesindeki biyoaerosollerini konvansiyonel metotlarla kültüre edip identifikasyonunu yapmış ve mikrobiyal çeşitliliğinin mevsimlere göre değişkenliğini incelemiştir. Çalışma yaptıkları örnek kümeşte *Staphylococcus* sp. tüm mevsimlerde en çok sayıda bulunan cins olarak tespit edilmiş ve bu kümeşte izole edilen mikrobiyal topluluğun yaklaşık %81'ini oluşturduğunu saptanmıştır. Aynı çalışmada hem kümesler hem de çevre habitatlarında izole edilip identifiye edilen etkenler benzerlik göstermektedir ve *Staphylococcus* (*lentus*, *epidermidis*, *aureus*, *sciuri*, *cohnii*, *urealitycum*, *warneri*), *Micrococcus* (*luteus*, *roseum*), *Pseudomonas* (*fluorescens*, *aeruginosa*, *chlororaphis*, *maltophilia*), *Proteus* (*mirabilis*, *vulgaris*), *Enterobacter agglomerans*, *Shigella boydii*, *Bacillus mycoides*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* (*plymuthica*, *marcescens*), *Pasteurella multocida* ve *Acinetobacter* sp. gibi bakteri türleri identifiye edilmiştir.

Schulz ve diğerleri (2011), broyler kümeslerinde kültüre edilebilen biyoaerosollerini inceledikleri çalışmalarında, kümes içerisinden aldıkları hava örneklerinde 7 farklı KNS etkeni izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirmişlerdir. İdentifikasyonu yapılan KNS türleri; *S. lentus*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. arlettae*, *S. cylosus*, *S. warneri* ve *S. caprae* olarak belirlenmiştir ve çalışma yapılan kümeslerdeki hava örneklerinde koagülaz pozitif *stafilokok* (KPS) tespit edilmemiştir. Bu çalışmanın sonuçları, çalışmamızda kültüre edilebilen biyoaerosollerin MALDI-TOF yöntemi ile identifikasyonu bulgularımıza paraleldir. Çalışmamızda MALDI-TOF yöntemi ile 6 farklı KNS etkeni identifikasyonu

gerçekleştirilmiştir. İdentifikasyonu yapılan KNS türleri; *S. lentus*, *S. arlettae*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. xylosus* ve *S. gallinarum* olup herhangi bir KPS etkeni identifiye edilmemiştir.

Genellikle, tavuklarda rapor edilen baskın bakteri filumları arasında *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* ve *Bacteroidetes* bulunmaktadır (Clavijo ve diğerleri, 2018). *Firmicutes* filumu içinde yaklaşık 31 cins rapor edilmiştir ve bunların ≥ 5 'i *Eubacterium*, *Ruminococcus* ve *Clostridium*' ile temsil edilmektedir.. Dizileme ile tanımlanan diğer cinsler arasında *Riemerella*, *Paraprevotella*, *Tannerella* ve *Prevotella* yer almaktadır (Wei S ve diğerleri, 2013). *Bacteroidetes*, genel mikrobiyomun %40'ını oluşturmaktadır. Baskın *Proteobacteria* cinsleri arasında *Neisseria* sp., *Desulfohalobium* sp., *Shigella* sp. ve *Escherichia* sp. bulunmaktadır (Wei ve diğerleri, 2013). Tavuk sekum keselerinde, gram başına 10^{10} – 10^{11} hücre bulunan yüksek konsantrasyonlarda bakteri bulunmaktadır ve bu bakteriler genetik bilginin %95'inden fazlasını kodlamaktadır (Danzeisen ve diğerleri, 2011). Tavuk sekumunda bulunan birçok bakteri laboratuvarında kültüre edilememiş ve yalnızca yüksek verimli dizileme teknikleri ile tanımlanabilmiştir (Ballou ve diğerleri, 2015).

Kümes çiftliklerindeki en önemli mikrobiyal grup, gram-pozitif koklardan oluşmaktadır ve bu bakteriler, kümeslerden izole edilen hava mikrobiotasının %99'unu oluşturabilir. Bu bakterilerin, tavukların solunum sistemi ve cildi ile yayılmasının kolaylığı, havadaki diğer mikrobiyal bileşenlere karşı belirgin bir nicel avantaj sağlar. Bu bakteriler, maruz kalan bireyler arasında irinli enfeksiyonlara, solunum yollarının iltihaplanmasına, zehirlenmeye ve aşırı durumlarda sepsise neden olabilir. *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. ve *Streptococcus* cinsine ait türler genellikle broyler kümes'lerinden izole edilmektedir (Dutkiewicz ve Jabłoński, 1989; Graham ve diğerleri, 2009). Çalışmamızda kültüre edilebilen mikroorganizmaların MALDI-TOF yöntemi ile identifikasyonu bulgularımızda, *Staphylococcus* sp. identifiye edilen etkenlerin %71.9'unu temsil eden dominant cins olduğu tespit edilmiştir. NGS yöntemi ile olan identifikasyon bulgularımızda identifikasyonu yapılan 125 tür içinden 24 tanesinin (%19) *Staphylococcus* sp. olduğu ve baskın olan tür konumunda olduğu tespit edilmiştir. İdentifikasyonu yapılan 24 adet *Staphylococcus* sp.'den yalnızca 2 (%8) tanesinin (*S.aureus*, *S. pseudintermedius*) koagülaz pozitif oldukları belirlenmiştir.

Çevresel mikrobiyotada yer alan mantarların %17'si, bakterilerin ise yalnızca %10'u kültüre edilebilir olmasına rağmen, havadaki biyoaerosollerin bileşimlerini incelemek için genellikle kültüre bağlı konvansiyonel metotlar kullanılmaktadır (Hawksworth, 2001; Krzemiński ve diğerleri, 2020)

Górny ve diğeri (2023) broyler kümeslerindeki biyoaerosol örneklerinin, üretimin değişik günlerinde NGS metodu ile farklı taksonomik düzeylerde karakterizasyonunun çalışmalarında; test edilen örnek gruplarındaki bakteri topluluğunun *Bacteroidota*, *Actinomycetota*, *Bacillota* ve *Pseudomonadota* filumlarını içermekte olduğu ve bu filumların toplam mikrobiyom'daki yüzdelerinin kümeslerde bulunan hayvanların yaşına göre değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Kümeslerin boş olduğu dönemde, dominant olan filumlar sırasıyla *Bacteroidota* (%48.5), *Bacillota* (%28.5), *Actinomycetota* (%17.5) ve *Pseudomonadota* (%5.5) olarak gözlemlendi. Bu dominant olan filumların oranlarının, kümese tavuklar alındıktan sonra tamamıyla değiştiği ve tavukların 7 günü doldurması itibarıyla *Bacillota* ve *Pseudomonadota* filumlarının dominant olan filumlar haline geldiği gözlemlendi. Tavuklar 42 günlük iken yapılan örneklemede de bu dominasyonların benzer şekilde devam ettiği tespit edildi. Ayrıca yaz ve kış aylarında yaptıkları örneklemelemlerde de bu dominasyon değişim sürecinin benzer şekilde gerçekleştiği tespit edildi. Broyler kümeslerindeki biyoaerosollerin mikrobiyom yapısındaki değişen dominasyon oranları, kümesteki tavukların yaşına bağlı olarak birçok çalışmada benzer şekilde rapor edilmiştir (Bindari ve diğeri, 2021; Cui ve diğeri, 2023; Gao ve diğeri, 2017; Yang ve diğeri, 2018). Yine aynı çalışmada 7 günlük kümeslerdeki genus bazındaki taksonomik değerlendirmede, dağılımın sırasıyla *Staphylococcus* sp. (%32.4), *Proteus* sp. (%17.5), *Enterococcus* sp. (%16.7), *Escherichia* sp. (%10) ve *Bacillus* sp. (%9.3) olduğu tespit edilmiştir. 42 günlük hayvanların olduğu kümeden yapılan örneklemede ise baskın olan genusların değiştiği ve genusların yüzdesel dağılımının *Escherichia* sp. (%24), *Staphylococcus* sp. (%14.3), *Enterococcus* sp. (%11) ve *Pseudomonas* sp. (%9.8) olduğu gözlemlenmiştir.

Jiang ve diğeri (2018), 3 farklı broyler kümesinden alınan biyoaerosol örneklerini, 3, 22 ve 40 günlük tavukların bulunduğu zamanlarda toplamış ve bu örnekleri NGS ile metagenomik analizlere tabi tutmuştur. Analiz sonucunda toplam 47 bakteri filumu tespit edilmiş olmasına rağmen bu filumlardan yalnızca 10'unun tüm dizilerin %93'ünden fazlasını oluşturduğu tespit edildi ve baskın olan filumlar sırasıyla *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Planctomycetes* ve *Acidobacteria* olarak tespit edildi. Filum düzeyinde yapılan analizde, 22 günlük tavukların bulunduğu örnekteki mikrobiyal çeşitliliğinin diğer iki gruptan daha fazla olduğu gözlemlendi. Aynı çalışmada 471 genus tespit edilmiş olup, bunun 129'u 3. gün örneklerinde, 237'si 22. gün örneklerinde ve 105'i 40. gün örneklerinde tespit edildi ve 22. gün alınan örneklerin en yüksek mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğu gözlemlendi. Aynı örneklerde *Escherichia* sp. ve *Shigella* sp. genuslarının tavukların yaşına

bağlı olarak alınan örneklerde toplam floradaki yüzdelerin arttığı gözlemlendi. 3.gün alınan örneklerde *Escherichia* sp. ve *Shigella* sp. genuslarının toplam floradaki yüzdesi %4.3 iken bu oran 22. günde alınan örnekte %4.6 ‘ ya 40.günde alınan örnekte ise %12.4 ‘ e yükselmiştir.

Zhang ve diğerleri (2019) broyler kümeslerindeki biyoaersolleri NGS yöntemi ile karakterize etmişlerdir. Bu çalışmada, toplanan biyoaerosol örnekleri için tüm bakteriyel 16S rDNA (V4-V5) bölgelerini dizilemişler ve toplamda 36 filum, 79 sınıf, 132 takım, 240 familya ve 514 cins belirlemişlerdir. Çalışmada elde ettikleri veriler filum düzeyinde incelendiğinde *Firmicutes* (*Bacillota*) ve *Proteobacteria* (*Pseudomonadota*)’nın dominant filumlar olduklarını gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri bu veriler; Hong ve diğerleri (2012)’nın çalışmalarında elde ettiği veriler ile uyumludur. Bizim metagenomik analizimizde ise 4 filum, 6 sınıf, 10 takım, 16 familya, 35 cins ve 125 tür identifiye edilmiş ve örnek gruplarımızda dominant olan filumlar *Bacillota* (AT1 %61; AT2 %99; AS2 %78) ve *Pseudomonadota* (AS1 %54; BS1 %87; BS2 %76) olarak belirlenmiştir.

Madsen ve diğerleri (2015). iki farklı kümes grubundaki biyoaerosollerin mikrobiyal çeşitliliğini NGS ve MALDI-TOF metodları ile araştırmıştır. Çalışmadaki NGS verilerine göre, havadaki bakteri topluluğu sırasıyla *Actinobacteria* (%58 ve %44), *Firmicutes* (%20 ve %27) ve *Proteobacteria* (%18 ve %19) şeklinde sıralanmıştır. MALDI-TOF analizi ile kültürel olarak üretilen bakterilerin de sırasıyla *Actinobacteria* (%47 ve %37) ve *Firmicutes* (%57 ve %64) tarafından domine edildiğini gösterdi. Bizim çalışmamızdaki NGS bulgularımızda 6 farklı örnek grubunda dominant olan filumlar *Bacillota* (AT1 %61; AT2 %99; AS2 %78) ve *Pseudomonadota* (AS1 %54; BS1 %87; BS2 %76) olarak belirlenmiştir. *Actinebacteria* filumu örnek gruplarımızdan yalnızca AT1 örnek grubumuzda (%0.3), *Bacteroidota* filumu da BS2 örnek grubunda (%0.1) düşük oranlarda tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde, kanatlı kümes hayvancılığı, Türkiye ve dünya genelinde gıda üretiminin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Kanatlı kümeslerinde biyoaerosol varlığı ve bu biyoaerosollerin mikrobiyal çeşitliliği, hem hayvan sağlığı hem de çiftlik çalışanları ile çevresel sağlık açısından kritik bir öneme sahiptir.

Araştırmamızda İzmir ili ve çevresinde bulunan 3 farklı üreticiye ait 15 adet broyler kümesinden biyoaerosol örnekleri alınmış ve alınan örneklerin mikrobiyal çeşitliliği hem MALDI-TOF hem de NGS yöntemleri ile incelenmiştir. Konvansiyonel metotlarla kültüre ettiğimiz 35 adet mikrobiyal etkenden 32 adet etken (%91) MALDI-TOF yöntemi ile tanımlanmış ve tanımlanmış etkenlerden 23'ü (%71.9) *Staphylococcus* sp. olarak belirlenmiştir. NGS metagenomik çalışmamızda ise 4 filum, 6 sınıf, 10 takım, 16 familya, 35 cins ve 125 tür tanımlanmış olup tanımlanması yapılan türler arasında *Staphylococcus* sp. (n:24) %19 ile baskın tür konumundadır. Örnek gruplarımızda dominant olan filumlar ise *Bacillota* (AT1 %61; AT2 %99; AS2 %78) ve *Pseudomonadota* (AS1 %54; BS1 %87; BS2 %76) olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma, hem MALDI-TOF hem de NGS yöntemleri ile analiz edilen etkenler arasında baskın olan türün *Staphylococcus* sp. olmasının, antibiyotik direnç genleri için bir rezervuar olma potansiyelini ve bu direnç genlerinin kolaylıkla aktarılabilecek olma riskini vurgulamaktadır. MALDI-TOF ile elde edilen sonuçlar ile NGS ile elde edilen sonuçların benzerlik göstermesine rağmen, biyoaerosollerin içeriğinde kültüre edilemeyen birçok mikroorganizma bulunmasından ötürü, biyoaerosollerin biyoçeşitliliğini anlayabilmek adına NGS sonuçlarını son derece değerli kılmaktadır. Bu veriler, mikrobiyal çeşitliliği daha kapsamlı bir şekilde anlamamıza ve potansiyel riskleri daha iyi değerlendirmemize olanak tanımaktadır.

Elde edilen bulgular, kümes ortamındaki biyoaerosollerin etkileşimleri ve bu ortamlardaki direnç profillerinin daha derinlemesine anlaşılması için önemli bir adım oluşturmaktadır. Biyoaerosollerin yapısına dair bu kapsamlı bakış, hem hayvan sağlığı hem de çevresel sağlık açısından gelecekteki araştırmalara rehberlik edebilir.

Yapılan bu benzeri çalışmalar sayesinde biyoaerosollerin kontrolünün, tavukçuluk endüstrisinin daha verimli ve sürdürülebilir olması için kritik bir öneme sahip olduğu

anlaşılmıştır. Kritik kontrol önlemlerinin alınması, broyler kümeslerindeki bakteri aerosol konsantrasyonunu yönetmek ve fırsatçı hastalıkların insidansını azaltmak suretiyle kümes hayvanları için daha sağlıklı bir çiftlik ortamı sağlanabilir. Bu sayede, insanlar için son derece önemli bir protein kaynağı olan tavukçuluk endüstrisinin hem verimliliğini arttırılabilir hem de çevresel sürdürülebilirliği desteklenebilir.

KAYNAKLAR

- Adams, R. I., Bhangar, S., Pasut, W., Arens, E. A., Taylor, J. W., Lindow, ...W.W.,Bruns, T. D. (2015). Chamber bioaerosol study: outdoor air and human occupants as sources of indoor airborne microbes. *PloS one*, 10(5), e0128022. doi:10.1371/journal.pone.0133221
- Adhikari, A., Sen, M. M., Gupta-Bhattacharya, S., & Chanda, S. (2004). Airborne viable, non-viable, and allergenic fungi in a rural agricultural area of India: a 2-year study at five outdoor sampling stations. *Science of the Total Environment*, 326(1-3), 123-141. doi:10.1016/j.scitotenv.2003.12.007
- ALÇAY, A. Ü., & YALÇIN, S. (2015). İç ortam havası biyoaerosolleri ve mikrobiyal hava kalitesi ölçüm metodları. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, (37), 17-30.
- Alvarez, A. J., Buttner, M. P., & Stetzenbach, L. D. (1995). PCR for bioaerosol monitoring: sensitivity and environmental interference. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(10), 3639-3644. doi:10.1128/aem.61.10.3639-3644.1995
- Amato, P., Joly, M., Schaupp, C., Attard, E., Möhler, O., Morris, C. E., ...Delort, A. M. (2015). Survival and ice nucleation activity of bacteria as aerosols in a cloud simulation chamber. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 15(11), 6455-6465. doi:10.5194/acp-15-6455-2015
- Ameur, A., Kloosterman, W. P., & Hestand, M. S. (2019). Single-molecule sequencing: towards clinical applications. *Trends in biotechnology*, 37(1), 72-85. doi:10.1016/j.tibtech.2018.07.013
- Ariya, P. A., & Amyot, M. (2004). Bioaerosols: impact on physics and chemistry of the atmosphere. *Atmospheric Environment*, 38, 1231-1233.
- Augère-Granier, M. L. (2019). The EU poultry meat and egg sector: Main features, challenges and prospects. European Parliamentary Research Service. doi:10.2861/33350
- Ballou, A. L., Ali, R. A., Mendoza, M. A., Ellis, J. C., Hassan, H. M., Croom, (2016). Development of the chick microbiome: how early exposure influences future microbial diversity. *Frontiers in veterinary science*, 3, 2. doi:10.3389/fvets.2016.00002
- Banhazi, T. M., Seedorf, J., Laffrique, M., & Rutley, D. L. (2008). Identification of the risk

- factors for high airborne particle concentrations in broiler buildings using statistical modelling. *Biosystems engineering*, 101(1), 100-110. doi:10.1016/j.biosystemseng.2008.06.007
- Beck, J. M., Young, V. B., & Huffnagle, G. B. (2012). The microbiome of the lung. *Translational research*, 160(4), 258-266. doi:10.1016/j.trsl.2012.02.005
- Behzad, H., Gojobori, T., & Mineta, K. (2015). Challenges and opportunities of airborne metagenomics. *Genome biology and evolution*, 7(5), 1216-1226.
- Benitez-Paez, A., & Sanz, Y. (2017). Multi-locus and long amplicon sequencing approach to study microbial diversity at species level using the MinION™ portable nanopore sequencer. *Gigascience*, 6, 1-12. doi:10.1093/gigascience/gix043
- Berrang, M. E., Cox, N. A., Frank, J. F., & Buhr, R. J. (1999). Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review. *Journal of Applied Poultry Research*, 8(4), 499-504. doi:10.1093/japr/8.4.499
- Bindari, Y. R., Moore, R. J., Van, T. T. H., Hilliar, M., Wu, S. B., Walkden-Brown, S. W., & Gerber, P. F. (2021). Microbial communities of poultry house dust, excreta and litter are partially representative of microbiota of chicken caecum and ileum. *PLoS One*, 16(8), e0255633.
- Borlée, F., Yzermans, C. J., Aalders, B., Rooijackers, J., Krop, E., Maassen, C. B., ... & Smit, L. A. (2017). Air pollution from livestock farms is associated with airway obstruction in neighboring residents. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 196(9), 1152-1161. doi:10.1164/rccm.201701-0021OC
- Bowers, R. M., Lauber, C. L., Wiedinmyer, C., Hamady, M., Hallar, A. G., Fall, R., ... & Fierer, N. (2009). Characterization of airborne microbial communities at a high-elevation site and their potential to act as atmospheric ice nuclei. *Applied and environmental microbiology*, 75(15), 5121-5130. doi:10.1128/AEM.00447-09
- Brachman, P. S. (1971). Hospital-acquired infection—airborne or not?. In Proceedings of the International Conference on Hospital-Acquired Infections (pp. 189-192). American Hospital Association.
- Brook, R. D., Franklin, B., Cascio, W., Hong, Y., Howard, G., Lipsett, M., ... & Tager, I. (2004). Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart

Association. Circulation, 109(21), 2655-2671.
doi:10.1161/01.CIR.0000128587.30041.C8

- Brooks, J. P., McLaughlin, M. R., Scheffler, B., & Miles, D. M. (2010). Microbial and antibiotic resistant constituents associated with biological aerosols and poultry litter within a commercial poultry house. *Science of the total environment*, 408(20), 4770-4777. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.06.038
- Burrows, S. M., Butler, T., Jöckel, P., Tost, H., Kerkweg, A., Pöschl, (2009). Bacteria in the global atmosphere—Part 2: Modeling of emissions and transport between different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(23), 9281-9297. doi:10.5194/acp-9-9281-2009
- C. Haig, W. Mackay, J. Walker, Williams, C.J.J.o.H.I Bioaerosol sampling: sampling mechanisms, *bioefficiency and field studies J. Hosp. Infect.*, 93 (3) (2016), pp. 242-255. doi:10.1016/j.jhin.2016.03.017
- Calderón-Ezquerro, M. C., Serrano-Silva, N., & Brunner-Mendoza, C. (2020). Metagenomic characterisation of bioaerosols during the dry season in Mexico City. *Aerobiologia*, 36, 493-505.
- Cáliz, J., Triadó-Margarit, X., Camarero, L., & Casamayor, E. O. (2018). A long-term survey unveils strong seasonal patterns in the airborne microbiome coupled to general and regional atmospheric circulations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(48), 12229-12234. doi:10.1073/pnas.1812826115
- Cao, C., Jiang, W., Wang, B., Fang, J., Lang, J., Tian, G., ... & Zhu, T. F. (2014). Inhalable microorganisms in Beijing's PM_{2.5} and PM₁₀ pollutants during a severe smog event. *Environmental science & technology*, 48(3), 1499-1507. doi:10.1021/es4048472
- Castro-Wallace, S. L., Chiu, C. Y., John, K. K., Stahl, S. E., Rubins, K. H., McIntyre, A. B., ... & Burton, A. S. (2017). Nanopore DNA sequencing and genome assembly on the International Space Station. *Scientific reports*, 7(1), 18022.
- Cervantes, H. M., Munger, L. L., Ley, D. H., & Ficken, M. D. (1988). Staphylococcus-induced gangrenous dermatitis in broilers. *Avian diseases*, 140-142. doi:10.2307/1590963
- Chang, C. W., Chou, F. C., & Hung, P. Y. (2010). Evaluation of bioaerosol sampling techniques for *Legionella pneumophila* coupled with culture assay and quantitative PCR. *Journal of Aerosol Science*, 41(12), 1055-1065. doi:10.1016/j.jaerosci.2010.09.002

- Charnley, J., & Eftekhari, N. (1969). Postoperative infection in total prosthetic replacement arthroplasty of the hip-joint with special reference to the bacterial content of the air of the operating room. *Journal of British Surgery*, 56(9), 641-649. doi:10.1002/bjs.1800560902
- Chen, Q., & Hildemann, L. M. (2009). The effects of human activities on exposure to particulate matter and bioaerosols in residential homes. *Environmental science & technology*, 43(13), 4641-4646. doi:10.1021/es802296j
- Chi, M. C., & Li, C. S. (2006). Analysis of bioaerosols from chicken houses by culture and non-culture method. *Aerosol science and technology*, 40(12), 1071-1079. doi:10.1080/02786820600957408
- Chien, Y. C., Chen, C. J., Lin, T. H., Chen, S. H., & Chien, Y. C. (2011). Characteristics of microbial aerosols released from chicken and swine feces. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 61(8), 882-889. doi:10.3155/1047-3289.61.8.882
- Chiu, C. Y., & Miller, S. A. (2019). Clinical metagenomics. *Nature Reviews Genetics*, 20(6), 341-355. doi:10.1038/s41576-019-0113-7
- Chmielowiec-Korzeniowska, A., Trawińska, B., Tymczyna, L., Bis-Wencel, H., & Matuszewski, Ł. (2021). Microbial contamination of the air in livestock buildings as a threat to human and animal health—a review. *Annals of Animal Science*, 21(2), 417-431. doi:10.2478/aoas-2020-0080
- Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyna, L., Pyrz, M., Trawinska, B., Abramczyk, K., & Dobrowolska, M. (2018). Occupational exposure level of pig facility workers to chemical and biological pollutants. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25(2). doi:10.26444/aaem/78479
- Choi, J., Hong, S. C., Kim, W., & Jung, J. H. (2017). Highly enriched, controllable, continuous aerosol sampling using inertial microfluidics and its application to real-time detection of airborne bacteria. *ACS sensors*, 2(4), 513-521. doi:10.1021/acssensors.6b00753
- Chretien, J. P., Anyamba, A., Small, J., Britch, S., Sanchez, J. L., Halbach, ... Linthicum, K. J. (2015). *Global climate anomalies and potential infectious disease risks: 2014-2015*. PLoS currents, 7.
- Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A., & Wolk, D. M. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical microbiology reviews*, 26(3), 547-603.

doi:10.1128/CMR.00072-12

- Clark, S., Rylander, R., & Larsson, L. (1983). Airborne bacteria, endotoxin and fungi in dust in poultry and swine confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 44(7), 537-541. doi:10.1080/15298668391405265
- Clarridge III, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical microbiology reviews*, 17(4), 840-862. Clavijo V, Flórez MJV. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of patojense in broiler chicken production: a review. *Poult Sci*. 2018;97:1006–21. doi:10.1128/CMR.17.4.840-862.2004
- Clavijo, V., & Flórez, M. J. V. (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poultry science*, 97(3), 1006-1021. doi:10.3382/ps/pex359
- Claydon MA, Davey SN, Edwards-Jones, Gordon DB. The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nat Biotechnol*. 1996;14: 1584–86. doi:10.1038/nbt1196-1584
- Clifford, S., M. Mazaheri, F. Salimi, W. N. Ezz, B. Yeganeh, S. Low-Choy, ...L. Morawska. 2018. Effects of exposure to ambient ultrafine particles on respiratory health and systemic inflammation in children. *Environment International*, 114:167–180. doi:10.1016/j.envint.2018.02.019
- Cooper, K. K., & Songer, J. G. (2009). Necrotic enteritis in chickens: a paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe*, 15(1-2), 55-60. doi:10.1016/j.anaerobe.2009.01.006
- Cox, J., Mbareche, H., Lindsley, W. G., & Duchaine, C. (2020). Field sampling of indoor bioaerosols. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 572-584. doi:10.1080/02786826.2019.1688759
- Cramer, R., Garbani, M., Rhyner, C., & Huitema, C. (2014). Fungi: the neglected allergenic sources. *Allergy*, 69(2), 176-185. doi:10.1111/all.12325
- Cui, H., Zhang, C., Zhao, K., Liu, J., Pu, J., Kong, Y., Dong, S., & Guo, Z. (2023). Effects of different laying periods on airborne bacterial diversity and antibiotic resistance genes in layer hen houses. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 251, 114173.

- Curiel, G. J., Van Eijk, H. M. J., & Lelieveld, H. L. M. (2000). Risk and control of airborne contamination. *Encyclopedia of Food Microbiology*; Robinson, RK, Batt, CA, Patel, PD, Eds, 1816-1822. doi:10.1006/rwfm.1999.3025
- Çiftçi, M., & Azman, M. A. (2008). Yumurtacı tavukların beslenmesi ve etlik piliçlerin(Broyler) beslenmesi. *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları*. Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Ankara.
- Dai, H., & Zhao, B. (2020, December). Association of the infection probability of COVID-19 with ventilation rates in confined spaces. *In Building simulation* (Vol. 13, pp. 1321-1327). Tsinghua University Press.
- Dal Bosco, A., Mattioli, S., Cartoni Mancinelli, A., Cotozzolo, E., Castellini, C. (2021). Extensive rearing systems in poultry production: The right chicken for the right farming system. A review of twenty years of scientific research in Perugia University, Italy. *Animals*, 11(5), 1281.
- Damit, B. (2017). Droplet-based microfluidics detector for bioaerosol detection. *Aerosol Science and Technology*, 51(4), 488-500. doi:10.1080/02786826.2016.1275515
- Damit, B., & Antoine, M. (2021). Portable biological spectroscopy: Field applications. *Portable spectroscopy and spectrometry*, 545-563. doi:10.1002/9781119636489.ch22
- Danzeisen, J. L., Kim, H. B., Isaacson, R. E., Tu, Z. J., & Johnson, T. J. (2011). Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PloS one*, 6(11), e27949.
- De Vries, M., & de Boer, I. J. (2010). Comparing environmental impacts for livestock products: A review of life cycle assessments. *Livestock science*, 128(1-3), 1-11.
- Dedesko, S., Stephens, B., Gilbert, J. A., & Siegel, J. A. (2015). Methods to assess human occupancy and occupant activity in hospital patient rooms. *Building and Environment*, 90, 136-145.
- DeLeon-Rodriguez, N., Lathem, T. L., Rodriguez-R, L. M., Barazesh, J. M., Anderson, B. E., Beyersdorf, ...Konstantinidis, K. T. (2013). Reply to Smith and Griffin: Methods, air flows, and conclusions are robust in the DeLeon-Rodriguez et al. study. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(23), E2085-E2085.
- Delort, A. M., Vaştilingom, M., Amato, P., Sancelme, M., Parazols, M., Mailhot, G., ... Deguillaume, L. (2010). A short overview of the microbial population in clouds: Potential

roles in atmospheric chemistry and nucleation processes. *Atmospheric Research*, 98(2-4), 249-260.

Diaz Carrasco JM, Casanova NA, Fernández Miyakawa ME. Microbiota, Gut Health and Chicken Productivity: What Is the Connection? *Microorganisms* 2019, 7(10).

Didelot, X., Bowden, R., Wilson, D. J., Peto, T. E., & Crook, D. W. (2012). Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 13(9), 601-612.

Ding, J., Dai, R., Yang, L., He, C., Xu, K., Liu, S., Zhang, Y. & Meng, H. (2017). Inheritance and establishment of gut microbiota in chickens. *Frontiers in microbiology*, 8, 1967.

Dong, X., Chen, B., Maki, T., Shi, G., Duan, M., & Khalid, B. (2022). Characteristic changes of bioaerosols in Beijing and Tsing-tsoo during dust events. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 129.

Donham, K. J., Cumro, D., & Reynolds, S. (2002). Synergistic effects of dust and ammonia on the occupational health effects of poultry production workers. *Journal of agromedicine*, 8(2), 57-76.

Donham, K. J., Cumro, D., Reynolds, S. J., & Merchant, J. A. (2000). Dose-response relationships between occupational aerosol exposures and cross-shift declines of lung function in poultry workers: recommendations for exposure limits. *Journal of occupational and environmental medicine*, 260-269.

Donham, K., & Cumro, D. (1999). Setting maximum dust exposure levels for people and animals in livestock facilities. In *Dust Control in Animal Production Facilities*, Aarhus (Denmark), 30 May-2 Jun 1999. DJF.

Donham, K., Haglund, P., Peterson, Y., Rylander, R., & Belin, L. (1989). Environmental and health studies of farm workers in Swedish swine confinement buildings. *Occupational and Environmental Medicine*, 46(1), 31-37.

Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Annals of Occupational Hygiene*, 47(3), 187-200.

Dungan, R.S. BOARD-INVITED REVIEW: Fate and Transport of Bioaerosols Associated with Livestock Operations and Manures; *Journal of Animal Science*, 2010, 88, 3693-3706.

- Dutkiewicz, J., & Jabłoński, L. (1989). Biologiczne Szkodliwo ci Zawodowe (Occupational Biohazards).
- Dybwad, M., Skogan, G., & Blatny, J. M. (2014). Comparative testing and evaluation of nine different air samplers: end-to-end sampling efficiencies as specific performance measurements for bioaerosol applications. *Aerosol Science and Technology*, 48(3), 282-295.
- Edwards, A., Debonnaire, A. R., Sattler, B., Mur, L. A. J., & Hodson, A. J. (2016). Extreme metagenomics using nanopore DNA sequencing: A field report from Svalbard, 78 °N. bioRxiv.
- Edwards, A., Soares, A., Rassner, S., Green, P., Felix, J., & Mitchell, A. (2017). Deep sequencing: Intra-terrestrial metagenomics illustrates the potential of off-grid nanopore DNA sequencing. bioRxiv.
- Fabian, P., McDevitt, J. J., Houseman, E. A., & Milton, D. K. (2009). Airborne influenza virus detection with four aerosol samplers using molecular and infectivity assays: considerations for a new infectious virus aerosol sampler. *Indoor air*, 19(5), 433.
- FAO. Livestock's long shadow. Environmental issues and options. Rome: *Food and Agriculture Organization*; 2006.
- Feddes, J. J. R., Taschuk, K., Robinson, F. E., & Riddell, C. (1995). Effect of litter oiling and ventilation rate on air-quality, health, and performance of turkeys. *Canadian Agricultural Engineering*, 37(1), 57-62.
- Fernando, N. L., & Fedorak, P. M. (2005). Changes at an activated sludge sewage treatment plant alter the numbers of airborne aerobic microorganisms. *Water Research*, 39(19), 4597-4608.
- Foat, T. G., Sellors, W. J., Walker, M. D., Rachwal, P. A., Jones, J. W., Despeyroux, D. D., ...Tracey, M. C. (2016). A prototype personal aerosol sampler based on electrostatic precipitation and electrowetting-on-dielectric actuation of droplets. *Journal of Aerosol Science*, 95, 43-53. doi:10.1016/j.jaerosci.2016.01.007
- Franchitti, E., Pascale, E., Fea, E., Anedda, E., & Traversi, D. (2020). Methods for bioaerosol characterization: limits and perspectives for human health risk assessment in organic waste treatment. *Atmosphere*, 11(5), 452.
- Gandhi, S., Felini, M. J., Ndetan, H., Cardarelli, K., Jadhav, S., Faramawi, ...Johnson, E. S.

- (2014). A pilot case-cohort study of brain cancer in poultry and control workers. *Nutrition and cancer*, 66(3), 343-350.
- Gao, M., Jia, R., Qiu, T., Han, M., & Wang, X. (2017). Size-related bacterial diversity and tetracycline resistance gene abundance in the air of concentrated poultry feeding operations. *Environmental Pollution*, 220, 1342-1348.
- Gao, M., Jia, R., Qiu, T., Han, M., Song, Y., & Wang, X. (2015). Seasonal size distribution of airborne culturable bacteria and fungi and preliminary estimation of their deposition in human lungs during non-haze and haze days. *Atmospheric Environment*, 118, 203-210.
- Georgakopoulos, D.G., Despres, V., Frohlich-Nowoisky, J., Psenner, R., Ariya, P.A., ..., Ahern, H.E., ve diğerleri,, 2009. Microbiology and atmospheric processes: biological, physical and chemical characterization of aerosol particles. *Biogeosciences* 6, 721–737.
- Géry, A., Delanoe, A., Heutte, N., Chosson, E., Bonhomme, J., & Garon, D. (2021). A novel qPCR based-method for detection and quantification of three recurrent species of *Penicillium* isolated from bioaerosols in mold-damaged homes. *Journal of Microbiological Methods*, 186, 106236.
- Ghimire, P. S., Tripathee, L., & Kang, S. (2022). Modification and coupled use of technologies are an essential envisioned need for bioaerosol study—An emerging public health concern. *Fundamental Research*, 2(2), 218-221.
- Gollakota, A. R., Gautam, S., Santosh, M., Sudan, H. A., Gandhi, ...Shu, C. M. (2021). Bioaerosols: characterization, pathways, sampling strategies, and challenges to geo-environment and health. *Gondwana Research*, 99, 178-203.
- Goo, D., Kim, J. H., Choi, H. S., Park, G. H., Han, G. P., & Kil, D. Y. (2019). Effect of stocking density and sex on growth performance, meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Poultry science*, 98(3), 1153-1160.
- Górny, R. L., Gołofit-Szymczak, M., Cyprowski, M., Ławniczek-Wałczyk, A., Stobnicka, A., ...Wolska, L. A. (2023). Poultry house as point source of intense bioaerosol emission. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 30(3), 432-454.
- Górny, R. L., Reponen, T., Willeke, K., Schmechel, D., Robine, E., Boissier, M., ...Grinshpun, S. A. (2002). Fungal fragments as indoor air biocontaminants. *Applied and environmental microbiology*, 68(7), 3522-3531.
- Graham, J. P., Evans, S. L., Price, L. B., & Silbergeld, E. K. (2009). Fate of antimicrobial-

resistant enterococci and staphylococci and resistance determinants in stored poultry litter. *Environmental research*, 109(6), 682-689.

Griffin, D. W., Gonzalez, C., Teigell, N., Petrosky, T., Northup, D. E., & Lyles, M. (2011). Observations on the use of membrane filtration and liquid impingement to collect airborne microorganisms in various atmospheric environments. *Aerobiologia*, 27, 25-35.

Grinshpun, S. A., & Clark, J. M. (2005). Measurement and characterization of bioaerosols. *Journal of Aerosol Science*, 36(5-6), 553-812.

Grinshpun, S. A., Adhikari, A., Cho, S. H., Kim, K. Y., Lee, T., & Reponen, T. (2007). A small change in the design of a slit bioaerosol impactor significantly improves its collection characteristics. *Journal of Environmental Monitoring*, 9(8), 855-861.

Gržinić, G., Piotrowicz-Cieślak, A., Klimkiewicz-Pawlas, A., Górny, R. L., Ławniczek-Wałczyk, ...Wolska, L. (2023). Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. *Science of The Total Environment*, 858, 160014.

Gürler, N., Hastane enfeksiyonlarına yol açan sorumlu mikroorganizmalar nelerdir?, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 690-701, 2005.

Haig, C. W., Mackay, W. G., Walker, J. T., & Williams, C. (2016). Bioaerosol sampling: sampling mechanisms, bioefficiency and field studies. *Journal of Hospital Infection*, 93(3), 242-255.

Han T., M. Wren, K. DuBois, J. Therkorn, G. Mainelis Application of ATP-based bioluminescence for bioaerosol quantification: effect of sampling method. *Journal of Aerosol Science*, 90 (2015), pp. 114-123

Han, T., Wren, M., DuBois, K., Therkorn, J., & Mainelis, G. (2015). Application of ATP-based bioluminescence for bioaerosol quantification: Effect of sampling method. *Journal of aerosol science*, 90, 114-123.

Han, Y., Wang, Y., Li, L., Xu, G., Liu, J., ...Yang, K. (2018). Bacterial population and chemicals in bioaerosols from indoor environment: sludge dewatering houses in nine municipal wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 618, 469-478.

- Han, Y., Yang, K., Yang, T., Zhang, M., & Li, L. (2019). Bioaerosols emission and exposure risk of a wastewater treatment plant with A2O treatment process. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169, 161-168.
- Hanson, M. C., Petch, G. M., Ottosen, T. B., & Skjøth, C. A. (2022). Climate change impact on fungi in the atmospheric microbiome. *Science of the Total Environment*, 830, 154491.
- Hara, K., & Zhang, D. (2012). Bacterial abundance and viability in long-range transported dust. *Atmospheric Environment*, 47, 20-25.
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1· 5 million species estimate revisite
- Hayter, R. B., & Besch, E. L. (1974). Airborne-particle deposition in the respiratory tract of chickens. *Poultry Science*, 53(4), 1507-1511.
- Heederik, D., Sigsgaard, T., Thorne, P. S., Kline, J. N., Avery, R., Bønløkke, ... Merchant, J. A. (2007). Health effects of airborne exposures from concentrated animal feeding operations. *Environmental health perspectives*, 115(2), 298-302. doi: 10.1289/ehp.8835
- Heidari, S., & Toghyani, M. (2018). Effect of stocking density and methionine levels on growth performance and immunity of broiler chicks. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(3), 483-489.
- Higgins, C. H. (1898). Notes upon an epidemic of fowl cholera and upon the comparative production of acid by allied bacteria. *The Journal of Experimental Medicine*, 3(6), 651.
- Highlander, S. K. (2012). High throughput sequencing methods for microbiome profiling: application to food animal systems. *Animal Health Research Reviews*, 13(1), 40-53.
- Hirst, J. M. (2020). Bioaerosols: introduction, retrospect and prospect. In *Bioaerosols handbook* (pp. 5-14). CRC Press.
- Hoisington, A. J., Maestre, J. P., King, M. D., Siegel, J. A., & Kinney, K. A. (2014). Impact of sampler selection on the characterization of the indoor microbiome via high-throughput sequencing. *Building and Environment*, 80, 274-282.
- Holah, J.T., Hall, K.E., Holder, J., Rogers, S.J., Taylor, J. ve Brown, K.L. (1995). Airborne microorganism levels in food processing environments. *Campden and Chorleywood Food Research Association*, R&D Report No.12,1-22.
- Holland, R. D., Wilkes, J. G., Rafii, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, ...Lay Jr,

- J. O. (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 10(10), 1227-1232.
- Hong, P. Y., X. Li, X. Yang, Y. Zhang, X. Wang, and R. I. Mackie. 2012. Monitoring airborne biotic contaminants in the indoor environment of pig and poultry confinement buildings. *Environmental Microbiology* 14:1420–1431
- Hooiveld, M., Smit, L. A., van der Sman-de Beer, F., Wouters, I. M., van Dijk, C. E., Spreuwenberg, ... Yzermans, C. J. (2016). Doctor-diagnosed health problems in a region with a high density of concentrated animal feeding operations: a cross-sectional study. *Environmental health*, 15(1), 1-9.
- Hou, J., Fujiyoshi, S., Perera, I. U., Nishiuchi, Y., Nakajima, M., Ogura, D., ... Maruyama, F. (2023). Perspectives on Sampling and New Generation Sequencing Methods for Low-Biomass Bioaerosols in Atmospheric Environments. *Journal of the Indian Institute of Science*, 1-11. doi:10.1007/s41745-023-00380-x
- Huang, K., Q. Tang, D. Shen, P. Y. Dai, J. Z. Liu, Y. S. Li, and C. M. Li. 2019. Distribution of particulate matter and microbial aerosol concentration in different types of pig houses in winter. *Journal of Agro-Environment Science*, 38:1616–1623.
- Huffman, J. A., Perring, A. E., Savage, N. J., Clot, B., Crouzy, B., Tummon, F., ... Pan, Y. (2020). Real-time sensing of bioaerosols: Review and current perspectives. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 465-495. doi:10.1080/02786826.2019.1664724
- Humphreys, H. (1992). Microbes in the air—when to count!(The role of air sampling in hospitals). *Journal of medical microbiology*, 37(2), 81-82.
- Humphreys, H. (1999). Infection control team in the operating room: separating aspiration from reality!. *The Journal of hospital infection*, 42(4), 265-267.
- Humphreys, H., Stacey, A. R., & Taylor, E. W. (1995). Survey of operating theatres in Great Britain and Ireland. *Journal of Hospital Infection*, 30(4), 245-252.
- Jaenicke, R. (2005). Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science*, 308(5718), 73-73.
- Jiang, L., Zhang, J., Tang, J., Li, M., Zhao, X., Zhu, H., ... Zhang, X. (2018). Analyses of aerosol concentrations and bacterial community structures for closed cage broiler houses at

different broiler growth stages in winter. *Journal of food protection*, 81(9), 1557-1564.
doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-524

- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, ...Weinstock, G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature communications*, 10(1), 5029.
- Johnson, S. S., Zaikova, E., Goerlitz, D. S., Bai, Y., & Tighe, S. W. (2017). Real-time DNA sequencing in the Antarctic dry valleys using the Oxford Nanopore sequencer. *Journal of biomolecular techniques: JBT*, 28(1), 2.
- JONES, W., MORRING, K., Olenchock, S. A., Williams, T., & HICKEY, J. (1984). Environmental study of poultry confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 45(11), 760-766.
- Joseph, S. W., Hayes, J. R., English, L. L., Carr, L. E., & Wagner, D. D. (2001). Implications of multiple antimicrobial-resistant enterococci associated with the poultry environment. *Food Additives & Contaminants*, 18(12), 1118-1123.
- Just, N. A., Létourneau, V., Kirychuk, S. P., Singh, B., & Duchaine, C. (2012). Potentially pathogenic bacteria and antimicrobial resistance in bioaerosols from cage-housed and floor-housed poultry operations. *Annals of occupational hygiene*, 56(4), 440-449.
- Kaliste, E., Linnainmaa, M., Meklin, T., & Nevalainen, A. (2002). Airborne contaminants in conventional laboratory rabbit rooms. *Laboratory animals*, 36(1), 43-50.
- Kang, S., & Cho, K. S. (2023). Optimization of DNA Extraction and PCR Conditions for Fungal Metagenome Analysis of Atmospheric Particulate Matter.
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2018). Airborne bioaerosols and their impact on human health. *Journal of Environmental sciences*, 67, 23-35.
- Kono, N., & Arakawa, K. (2019). Nanopore sequencing: Review of potential applications in functional genomics. *Development, growth & differentiation*, 61(5), 316-326.
- Kourtev, P. S., Hill, K. A., Shepson, P. B., & Konopka, A. (2011). Atmospheric cloud water contains a diverse bacterial community. *Atmospheric Environment*, 45(30), 5399-5405.
- Kristensen, H. H., & Wathes, C. M. (2000). Ammonia and poultry welfare: a review. *World's poultry science journal*, 56(3), 235-245.
- Krzemiński, P., Markiewicz, Z., & Popowska, M. (2020). Entry routes of antibiotics and

antimicrobial resistance in the environment. *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes: Environmental Occurrence and Treatment Technologies*, 1-26.d. *Mycological research*, 105(12), 1422-1432.

Langille, M. G., Zaneveld, J., Caporaso, J. G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J. A. & Huttenhower, C. (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature biotechnology*, 31(9), 814-821.

Leggett, R. M., & Clark, M. D. (2017). A world of opportunities with nanopore sequencing. *Journal of experimental botany*, 68(20), 5419-5429.

Leggett, R. M., Alcon-Giner, C., Heavens, D., Caim, S., Brook, T. C., Kujawska, ...Clark, M. D. (2020). Rapid MinION profiling of preterm microbiota and antimicrobial-resistant pathogens. *Nature Microbiology*, 5(3), 430-442.

Li, G. X., Duan, Y. Y., Wang, Y., Bian, L. J., Xiong, M. R., Song, Li, L. (2022). Potential urinary biomarkers in young adults with short-term exposure to particulate matter and bioaerosols identified using an unbiased metabolomic approach. *Environmental Pollution*, 305, 119308. doi.org:10.1016/j.envpol.2022.119308

Li KJ. 2011. Molecular comparison of the sampling efficiency of four types of airborne bacterial samplers. *Sci Total Environ*. 409:5493–5498.

Li, H. (2018). Minimap2: Pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 34, 3094–3100

Li, L., Wexler, A. S., Li, X., Hu, L., & Jiang, G. (2023). In Situ Characterization of Bioaerosols at the Single-Particle Level Using Single-Particle Mass Spectrometry: A Promising Tool for Defending Human Health against Bioaerosol Transmission. *Analytical Chemistry*, 95(29), 10839-10843.

Li, R., Xie, M., Dong, N., Lin, D., Yang, X., Wong, M. H. Y., ... Chen, S. (2018). Efficient generation of complete sequences of MDR-encoding plasmids by rapid assembly of MinION barcoding sequencing data. *Gigascience*, 7(3), gix132.

Liao, L., Byeon, J. H., & Park, J. H. (2021). Development of a size-selective sampler combined with an adenosine triphosphate bioluminescence assay for the rapid measurement of bioaerosols. *Environmental research*, 194, 110615.

Lighthart, B. (1997). The ecology of bacteria in the alfresco atmosphere. *FEMS microbiology ecology*, 23(4), 263-274.

- Lighthart, B., & Shaffer, B. T. (1994). Bacterial flux from chaparral into the atmosphere in mid-summer at a high desert location. *Atmospheric Environment*, 28(7), 1267-1274.
- Loman, N. J., Misra, R. V., Dallman, T. J., Constantinidou, C., Gharbia, S. E., Wain, J., & Pallen, M. J. (2012). Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nature biotechnology*, 30(5), 434-439.
- Long, J. R. (1973). Necrotic enteritis in broiler chickens I. A review of the literature and the prevalence of the disease in Ontario. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 37(3), 302.
- Löndahl, J. (2014). Physical and biological properties of bioaerosols. In *Bioaerosol detection technologies* (pp. 33-48). New York, NY: *Springer New York*.
- Lü, F., Wang, W., Hu, T., Duan, H., Shao, L., Zhang, H., & He, P. (2022). Release of airborne antibiotic resistance genes from municipal solid waste transfer stations. *Sustainable Environment Research*, 32(1), 1-13.
- Ma, T., S. J. Han, K. Imran, and H. F. Zhang. 2020. Analysis of aerosol microbial diversity in broiler house under different breeding modes. Innovation, integration, health and future. Page 156 in *Proceedings of the 9th National Symposium on young scientific and technological workers in animal husbandry and veterinary medicine*.
- Madsen, A. M., Zervas, A., Tendal, K., & Nielsen, J. L. (2015). Microbial diversity in bioaerosol samples causing ODS compared to reference bioaerosol samples as measured using Illumina sequencing and MALDI-TOF. *Environmental research*, 140, 255-267.
- Mainelis, G. (2020). Bioaerosol sampling: Classical approaches, advances, and perspectives. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 496-519.
- Maki, T., Bin, C., Kai, K., Kawai, K., Fujita, K., Ohara, K., ...Iwasaka, Y. (2019). Vertical distributions of airborne microorganisms over Asian dust source region of Taklimakan and Gobi Desert. *Atmospheric Environment*, 214, 116848.
- Malakootian, M., Radhakrishna, N., Mazandarany, M. P., & Hossaini, H. (2013). Bacterial-aerosol emission from wastewater treatment plant. *Desalination and Water Treatment*, 51(22-24), 4478-4488.
- Maloukh, L., Nazzal, Y., Kumarappan, A., Howari, F., Ambika, L. K., Yahmadi, ...Naseem, M. (2023). Metagenomic analysis of the outdoor dust microbiomes: A case study from Abu Dhabi, UAE. *Atmosphere*, 14(2), 327.

- Mandal, J., & Brandl, H. (2011). Bioaerosols in indoor environment-a review with special reference to residential and occupational locations. *The Open Environmental & Biological Monitoring Journal*, 4(1).
- Matsuo, Y., Komiya, S., Yasumizu, Y., Yasuoka, Y., Mizushima, K., Takagi, T., ...Hirota, K. (2021). Full-length 16S rRNA gene amplicon analysis of human gut microbiota using MinION™ nanopore sequencing confers species-level resolution. *BMC microbiology*, 21, 1-13.
- Meadow, J. F., Altrichter, A. E., Kembel, S. W., Kline, J., Mhuireach, G., Moriyama, M., ...Bohannon, B. J. (2014). Indoor airborne bacterial communities are influenced by ventilation, occupancy, and outdoor air source. *Indoor air*, 24(1), 41-48.
- Metcalf, A. R., Narayan, S., & Dutcher, C. S. (2018). A review of microfluidic concepts and applications for atmospheric aerosol science. *Aerosol Science and Technology*, 52(3), 310-329.
- Mitsuhashi, S., Kryukov, K., Nakagawa, S., Takeuchi, J. S., Shiraishi, Y., Asano, ...Imanishi, T. (2017). A portable system for rapid bacterial composition analysis using a nanopore-based sequencer and laptop computer. *Scientific reports*, 7(1), 5657.
- Mohr A.J. 2001. Fate and transport of mechanism in air. (chapter 74, in *Manual of Environmental Microbiology*)
- Morris, C. E., Leyronas, C., & Nicot, P. C. (2013). Movement of bioaerosols in the atmosphere and the consequences for climate and microbial evolution. *Aerosol science: technology and applications*, 393-415.
- Morris, P. D., Lenhart, S. W., & Service, W. S. (1991). Respiratory symptoms and pulmonary function in chicken catchers in poultry confinement units. *American journal of industrial medicine*, 19(2), 195-204.
- Mottet, A., de Haan, C., Falcucci, A., Tempio, G., Opio, C., ...Gerber, P. (2017). Livestock: On our plates or eating at our table? A new analysis of the feed/food debate. *Global food security*, 14, 1-8.
- Muilenberg, M. L. (2003). Sampling devices. *Immunology and allergy clinics*, 23(3), 337-355.
- Nairn, M. E. (1973). Bacterial osteomyelitis and synovitis of the turkey. *Avian diseases*, 504-517.

- Nakagawa, S., Inoue, S., Kryukov, K., Yamagishi, J., Ohno, A., Hayashida, K., ...Imanishi, T. (2019). Rapid sequencing-based diagnosis of infectious bacterial species from meningitis patients in Zambia. *Clinical & Translational Immunology*, 8(11), e01087.
- Nazaroff, W. W. (2016). Indoor bioaerosol dynamics. *Indoor air*, 26(1), 61-78.
- OECD/FAO, 2018. OECD-FAO agricultural outlook 2018-2027. *Pneumologie* 44, 107. https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2018-en.
- Oh, J., Choi, J., Massoudifarid, M., Park, J. Y., Hwang, J., Lim, J., & Byeon, J. H. (2023). Size-classified monitoring of ATP bioluminescence for rapid assessment of biological distribution in airborne particulates. *Biosensors and Bioelectronics*, 234, 115356.
- Oh J., J. Choi, M. Massoudifarid, J.Y. Park, J. Hwang, J. Lim, J.H. Byeon Size-classified monitoring of ATP bioluminescence for rapid assessment of biological distribution in airborne particulates *Biosens. Bioelectron.* (2023), Article 115356
- Okafor, E. C., & Opuene, K. (2007). Preliminary assessment of trace metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments. *International journal of environmental science & technology*, 4, 233-240.
- Olenchock, S. A., Lenhart, S. W., & Mull, J. C. (1982). Occupational exposure to airborne endotoxins during poultry processing. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 9(2), 339-349.
- Oppliger, A., Charrière, N., Droz, P. O., & Rinsoz, T. (2008). Exposure to bioaerosols in poultry houses at different stages of fattening; use of real-time PCR for airborne bacterial quantification. *Annals of occupational hygiene*, 52(5), 405-412.
- Park, C. W., Park, J. W., Lee, S. H., & Hwang, J. (2014). Real-time monitoring of bioaerosols via cell-lysis by air ion and ATP bioluminescence detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 52, 379-383. doi:10.1016/j.bios.2013.09.015
- Pan, Y. L., Hill, S. C., Pinnick, R. G., Huang, H., Bottiger, J. R., ...Chang, R. K. (2010). Fluorescence spectra of atmospheric aerosol particles measured using one or two excitation wavelengths: Comparison of classification schemes employing different emission and scattering results. *Optics express*, 18(12), 12436-12457.
- Pasquarella, C., Pitzurra, O., & Savino, A. (2000). The index of microbial air contamination. *Journal of hospital infection*, 46(4), 241-256.

- Pathak, B., Khataniar, A., Das, B., Upadhyaya, S., Medhi, A., Bhuyan, P. K., ...Borah, D. (2022). Spatio-temporal diversity of biological aerosols over Northeast India: a metagenomic approach. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(42), 64096-64111.
- Pawar, S. S., Sajjanar, B., Lonkar, V. D., Kurade, N. P., Kadam, A. S., Nirmal, A. V., ...Bal, S. K. (2016). Assessing and mitigating the impact of heat stress in poultry. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 4(6), 332-341.
- Pepper, I. L., & Gerba, C. P. (2015). *Aeromicrobiology*. In *Environmental Microbiology* (pp. 89-110). Academic Press.
- Phillips, V. T., Andronache, C., Christner, B., Morris, C. E., Sands, D. C., Bansemer, A., ... Seman, C. (2009). Potential impacts from biological aerosols on ensembles of continental clouds simulated numerically. *Biogeosciences*, 6(6), 987-1014.
- Pillai, S. D., & Ricke, S. C. (2002). Review/Synthèse Bioaerosols from municipal and animal wastes: background and contemporary issues. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(8), 681-696.
- Plewa, K., & Lonc, E. (2011). Analysis of airborne contamination with bacteria and moulds in poultry farming: a case study. *COPD*, 4, 5.
- Plewa-Tutaj, K., Pietras-Szewczyk, M., & Lonc, E. (2014). Attempt to estimate spatial distribution of microbial air contamination on the territory and in proximity of a selected poultry farm. *Ochrona Środowiska*, 36, 21-28.
- Quarles, C. L., & Caveny, D. D. (1979). Effect of air contaminants on performance and quality of broilers. *Poultry Science*, 58(3), 543-548.
- Quick, J., Ashton, P., Calus, S., Chatt, C., Gossain, S., Hawker, J., ...Loman, N. J. (2015). Rapid draft sequencing and real-time nanopore sequencing in a hospital outbreak of Salmonella. *Genome biology*, 16(1), 1-14.
- Radon, K., Danuser, B., Iversen, M., Monso, E., Weber, C., Hartung, J., ...Nowak, D. (2002). Air contaminants in different European farming environments. *Annals of agricultural and environmental medicine*, 9(1).
- Ravi RK, Walton K, Khosroheidari M. MiSeq: a next generation sequencing platform for genomic analysis. *Methods in Molecular Biology*. 1706;2018:223–32.

- Rohr, A. C., Campleman, S. L., Long, C. M., Peterson, M. K., Weatherstone, S., Quick, W., & Lewis, A. (2015). Potential occupational exposures and health risks associated with biomass-based power generation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 8542-8605.
- Rylander, R., & Carneiro, M. F. (2006). Airways inflammation among workers in poultry houses. *International archives of occupational and environmental health*, 79, 487-490.
- Sajjad, B., Hussain, S., Rasool, K., Hassan, M., ...Almomani, F. (2023). Comprehensive insights into advances in ambient bioaerosols sampling, analysis and factors influencing bioaerosols composition. *Environmental Pollution*, 122473.
- Salam, L. B. (2023). Analysis of bioaerosols. In *Aeromicrobiology* (pp. 117-145). Academic Press.
- Sánchez-Monedero, M. A., Aguilar, M. I., Fenoll, R., ...Roig, A. (2008). Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants. *Water research*, 42(14), 3739-3744.
- Santander, M. V., Mitts, B. A., Pendergraft, M. A., Dinasquet, J., Lee, C., Moore, A. N., ... Prather, K. A. (2021). Tandem fluorescence measurements of organic matter and bacteria released in sea spray aerosols. *Environmental Science & Technology*, 55(8), 5171-5179.
- Santangelo, M. F., Libertino, S., Turner, A. P. F., Filippini, D., ...Mak, W. C. (2018). Integrating printed microfluidics with silicon photomultipliers for miniaturised and highly sensitive ATP bioluminescence detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 99, 464-470.
- Sanz, S., Olarte, C., Martínez-Olarte, R., Navajas-Benito, E. V., Alonso, C. A., Hidalgo-Sanz, S., ...Torres, C. (2015). Airborne dissemination of *Escherichia coli* in a dairy cattle farm and its environment. *International Journal of Food Microbiology*, 197, 40-44.
- Sauter, E. A., Petersen, C. F., Steele, E. E., Parkinson, J. F., Dixon, J. E., ...Stroh, R. C. (1981). The airborne microflora of poultry houses. *Poultry science*, 60(3), 569-574.
- Schulz, J., Formosa, L., Seedorf, J., & Hartung, J. (2011). Measurement of culturable airborne staphylococci downwind from a naturally ventilated broiler house. *Aerobiologia*, 27, 311-318.

- Schwartz, D. A., Landas, S. K., Lassise, D. L., Burmeister, L. F., Hunninghake, G. W., ...Merchant, J. A. (1992). Airway injury in swine confinement workers. *Annals of internal medicine*, 116(8), 630-635.
- Shale, K., & Lues, J. F. R. (2007). The etiology of bioaerosols in food environments. *Food Reviews International*, 23(1), 73-90.
- Sharma Ghimire, P., Tripathee, L., Chen, P., & Kang, S. (2019). Linking the conventional and emerging detection techniques for ambient bioaerosols: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 18, 495-523.
- Shin, H., Lee, E., Shin, J., Ko, S. R., Oh, H. S., Ahn, C. Y., ...Cho, S. (2018). Elucidation of the bacterial communities associated with the harmful microalgae *Alexandrium tamarense* and *Cochlodinium polykrikoides* using nanopore sequencing. *Scientific reports*, 8(1), 5323.
- Smets, W., Moretti, S., Denys, S., & Lebeer, S. (2016). Airborne bacteria in the atmosphere: presence, purpose, and potential. *Atmospheric Environment*, 139, 214-221.
- Smit, L. A., Boender, G. J., de Steenhuijsen Piters, W. A., Hagenaars, T. J., Huijskens, E. G., Rossen, J. W., ...Heederik, D. (2017). Increased risk of pneumonia in residents living near poultry farms: does the upper respiratory tract microbiota play a role?. *Pneumonia*, 9, 1-9.
- Smit, L. A., van der Sman-de Beer, F., Opstal-van Winden, A. W., Hooiveld, M., Beekhuizen, J., Wouters, I. M., ...Heederik, D. (2012). Q fever and pneumonia in an area with a high livestock density: a large population-based study. *PloS one*, 7(6), e38843.
- Smith, D. J., Ravichandar, J. D., Jain, S., Griffin, D. W., Yu, H., Tan, Q., ...McGrath, J. (2018). Airborne bacteria in earth's lower stratosphere resemble taxa detected in the troposphere: results from a new NASA aircraft bioaerosol collector (ABC). *Frontiers in Microbiology*, 9, 1752.
- Srikanth, P., Sudharsanam, S., & Steinberg, R. (2008). Bio-aerosols in indoor environment: composition, health effects and analysis. *Indian journal of medical microbiology*, 26(4), 302-312.
- Stalker, M. J., Brash, M. L., Weisz, A., Ouckama, R. M., & Slavic, D. (2010). Arthritis and osteomyelitis associated with *Enterococcus cecorum* infection in broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. *Journal of veterinary diagnostic investigation*,

22(4), 643-645.

- Strupat, K., Karas, M., & Hillenkamp, F. (1991). 2, 5-Dihydroxybenzoic acid: a new matrix for laser desorption—ionization mass spectrometry. *International journal of mass spectrometry and ion processes*, 111, 89-102.
- Stuper-Szablewska, K., Szablewski, T., Nowaczewski, S., Gornowicz, E. (2018). Chemical and microbiological hazards related to poultry farming. *Medycyna Środowiskowa*, 21(4), 53-63.
- Su, X., Sutarlie, L., & Loh, X. J. (2020). Sensors and analytical technologies for air quality: particulate matters and bioaerosols. *Chemistry—An Asian Journal*, 15(24), 4241-4255.
- Sun, Y., Ni, A., Jiang, Y., Li, Y., Huang, Z., Shi, L., ...Chen, J. (2020). Effects of replacing in-feed antibiotics with synergistic organic acids on growth performance, health, carcass, and immune and oxidative statuses of broiler chickens under clostridium perfringens type a challenge. *Avian Diseases*, 64(3), 393-400.
- Takai, H., Pedersen, S., Johnsen, J. O., Metz, J. H. M., Koerkamp, P. G., Uenk, G. H., ...Wathes, C. M. (1998). Concentrations and emissions of airborne dust in livestock buildings in Northern Europe. *Journal of agricultural engineering research*, 70(1), 59-77.
- Thelin, A., Tegler, Ö., & Rylander, R. (1984). Lung reactions during poultry handling related to dust and bacterial endotoxin levels. *European journal of respiratory diseases*, 65(4), 266-271.
- Tseng, C. C., Lu, Y. C., Chang, K. C., & Hung, C. C. (2020). Optimization of a Portable Adenosine Triphosphate Bioluminescence Assay Coupled with a Receiver Operating Characteristic Model to Assess Bioaerosol Concentrations on Site. *Microorganisms*, 8(7), 975. doi:10.3390/microorganisms8070975
- TUİK, 2014. Kümes hayvancılığı üretimi istatistikleri, Ankara
- Urbain, B., Prouvost, J. F., Beerens, D., Michel, O., Nicks, ...Gustin, P. (1996). Chronic exposure of pigs to airborne dust and endotoxins in an environmental chamber. *Veterinary research*, 27(6), 569-578.
- Van Leuken, J. P. G., Swart, A. N., Havelaar, A. H., Van Pul, A., Van der Hoek, W., ...Heederik, D. (2016). Atmospheric dispersion modelling of bioaerosols that are pathogenic to humans and livestock—A review to inform risk assessment studies. *Microbial Risk Analysis*, 1, 19-39.

- Venkateswaran, K., Hattori, N., La Duc, M. T., & Kern, R. (2003). ATP as a biomarker of viable microorganisms in clean-room facilities. *Journal of Microbiological Methods*, 52(3), 367-377.
- Verreault, D., Moineau, S., & Duchaine, C. (2008). Methods for sampling of airborne viruses. *Microbiology and molecular biology reviews*, 72(3), 413-444.
- Vučemilo, M., Matković, K., Vinković, B., Macan, J., Varnai, V. M., Prester, L. J., Granic, ...Orct, T. (2008). Effect of microclimate on the airborne dust and endotoxin concentration in a broiler house. *Czech J. Anim. Sci*, 53(2), 83-89.
- Vučemilo, M., Vinković, B., & Matković, K. (2006). Influence of broilers age on airborne pollutants content in poultry house. *Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*, 48(1), 3-6.
- Vucemilo, M., Vinkovic, B., Tofant, A., Simpraga, B., Pavicic, Ž., ...Matkovic, K. (2005, September). Microbiological air contamination in intensive poultry breeding. In *Proceedings of the XIIth Congress on Animal Hygiene*.
- Wang, C. C., Prather, K. A., Sznitman, J., Jimenez, J. L., Lakdawala,Marr, L. C. (2021). Airborne transmission of respiratory viruses. *Science*, 373(6558), eabd9149.
- Wathes, C.M. (1994) Air and surface hygiene, in: WATHES, C.M.& CHARLES, D.R. (Eds) *Livestock Housing*, pp. 123-148 (Wallingford, CAB International)Wei, S., Morrison, M., & Yu, Z. (2013). Bacterial census of poultry intestinal microbiome. *Poultry science*, 92(3), 671-683.
- Whitton C, Bogueva D, Marinova D, Phillips CJC. Are we approaching Peak Meat Consumption? Analysis of meat consumption from 2000 to 2019 in 35 countries and its relationship to gross domestic product. *Animals: An open Access Journal from MDPI* 2021, 11(12).
- Whyte, R. T. (2002). Occupational exposure of poultry stockmen in current barn systems for egg production in the United Kingdom. *British poultry science*, 43(3), 364-373.
- Whyte, W. (1986). Sterility assurance and models for assessing airborne bacterial contamination. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 40(5), 188-197.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., & Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied microbiology and biotechnology*, 93, 965-974.

- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams-Wilkins. PA.,USA. 2006.
- Wirtanen, G., & Salo, S. (2004). DairyNET: Hygiene Control in Nordic Dairies. VTT Technical Research Centre of Finland.
- Wirtanen, G., Salo, S., Maukonen, J., Bredholt, S., Mattila-Sandholm, T., Wirtanen, G., Silvela, S. & Sivelä, S. (1997). Sanitation in dairies. VTT PUBLICATIONS.
- Wittmaack, K., Wehnes, H., Heinzmann, U., & Agerer, R. (2005). An overview on bioaerosols viewed by scanning electron microscopy. *Science of the Total Environment*, 346(1-3), 244-255.
- World Health Organization. (2021). WHO global air quality guidelines: particulate matter (PM_{2.5} and PM₁₀), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide. World Health Organization.
- Wu, B., Lou, C., Chen, Z., Chai, T., & Yu, H. (2023). Combined 16S and Internal Transcribed Spacer analysis revealed the effect of time on microbial community in animal house. *Poultry Science*, 102(11), 103039.
- Yan, M., Ge, H., Zhang, L., Chen, X., Yang, X., Liu, F., ...Tang, N. J. (2022). Long-term PM_{2.5} exposure in association with chronic respiratory diseases morbidity: a cohort study in northern China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 244, 114025.
- Yang, F., Gao, Y., Zhao, H., Li, J., Cheng, X., Meng, ...Zhu, J. (2021). Revealing the distribution characteristics of antibiotic resistance genes and bacterial communities in animal-aerosol-human in a chicken farm: From One-Health perspective. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 224, 112687.
- Yang, W., Guo, M., Liu, G., Yu, G., Wang, P., Wang, H., ...Chai, T. (2018). Detection and analysis of fine particulate matter and microbial aerosol in chicken houses in Shandong Province, China. *Poultry science*, 97(3), 995-1005.
- Yassin, M. F., & Almouqatea, S. (2010). Assessment of airborne bacteria and fungi in an indoor and outdoor environment. *International journal of environmental science & technology*, 7, 535-544.
- Yoo, K., Lee, T. K., Choi, E. J., Yang, J., Shukla, S. K., Hwang, S. I., ...Park, J. (2017). Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in

bioaerosols: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 51, 234-247.

Yue, S., Li, L., Xu, W., Zhao, J., Ren, ...Fu, P. (2022). Biological and nonbiological sources of fluorescent aerosol particles in the urban atmosphere. *Environmental Science & Technology*, 56(12), 7588-7597.

Zhang, J., Wei, X., Jiang, L., Li, Y., Li, M., Zhu, ...Zhang, X. (2019). Bacterial community diversity in particulate matter (PM_{2.5} and PM₁₀) within broiler houses in different broiler growth stages under intensive rearing conditions in summer. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(2), 479-489. doi.org:10.3382/japr/pfz006

Zhang, M. (2019). Development of an in situ laser-induced fluorescence spectrometer for real-time analysis of bioaerosols (Doctoral dissertation, Mainz, Johannes Gutenberg-Universität Mainz).

Zhang, M., Klimach, T., Ma, N., Könemann, T., Pöhlker, C., Wang, Z., ...Cheng, Y. (2019). Size-resolved single-particle fluorescence spectrometer for real-time analysis of bioaerosols: laboratory evaluation and atmospheric measurements. *Environmental Science & Technology*, 53(22), 13257-13264.

Zhang, Y., Liu, B., & Tong, Z. (2022). Adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence-based strategies for monitoring atmospheric bioaerosols. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 72(12), 1327-1340.

Zhang, Y., Shen, F., Yang, Y., Niu, M., Chen, D., Chen, L., ...Zhu, T. (2022). Insights into the profile of the human expiratory microbiota and its associations with indoor microbiotas. *Environmental science & technology*, 56(10), 6282-6293.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“KANATLI KÜMESLERİNDEKİ MİKROBİYAL BİYOAEROSOL ÇEŞİTLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı 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.

Tansu TANIR

20 / 12 / 2023

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : TANIR, Tansu
Uyruk : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum yeri ve tarihi : İZMİR, 05.06.1983
Telefon : 5303302556
E-mail : tansutnr@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	
Y. Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2017
Lisans	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2006

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2006-2008	Medsantek Ltd. Şti.	Satış Sorumlusu
2008-2015	bioMérieux Diag. Mlz. A.Ş.	Satış Sorumlusu
2015-2019	bioMérieux Diag. Mlz. A.Ş.	Bölge Sorumlusu
2019-Halen	bioMérieux Diag. Mlz. A.Ş.	Satış Müdürü