

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ŞANLIURFA PİYASASINDA AÇIKTA SATILAN ANTEP FISTIĞLARINDA (*Pistacia Vera*) *SALMONELLA*
TARAMA ÇALIŞMASI**

Asliye GÜMÜŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2012

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ŞANLIURFA PİYASASINDA AÇIKTA SATILAN ANTEP FISTIĞLARINDA (*Pistacia Vera*) *SALMONELLA*
TARAMA ÇALIŞMASI**

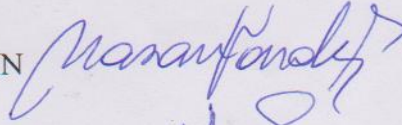
Asliye GÜMÜŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

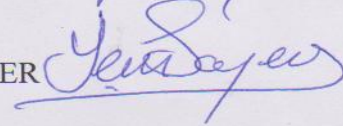
ŞANLIURFA
2012

Yrd. Doç. Dr. Hasan VARDİN danışmanlığında ve Yrd. Doç. Dr. Yeşim SOYER'in yardımcı danışmanlığında Asliye GÜMÜŞ'ün hazırladığı “**Şanlıurfa Piyasasında Açıkta Satılan Antep Fıstıklarında (*Pistacia vera*) *Salmonella* Tarama Çalışması**” konulu bu çalışma 24/07/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan VARDİN



Yardımcı Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yeşim SOYER



Üye : Doç. Dr. Mutlu Buket AKIN



Üye : Doç. Dr. Ahmet Ferit ATASOY



Üye : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni KIRMACI



Bu Tezin Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım

Prof. Dr. Mehmet CİCİ

Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK/DPT/TÜBİTAK Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: 1198

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

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
1.GİRİŞ.....	1
2.KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Antep fıstığı ve üretim aşamaları.....	5
2.2. <i>Salmonella</i> patojeninin tespit metodları.....	7
2.3. Ülkemizde yapılan <i>Salmonella</i> sörveyans çalışmalarından bazıları.....	9
2.4. Yağlı tohumlarda <i>Salmonella</i> sörveyans ve salgın çalışmaları.....	10
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Antep fıstığından <i>Salmonella</i> izolasyonu.....	17
3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile <i>Salmonella</i> doğrulanması.....	18
3.2.3. İzolatların dondurulması.....	19
3.2.4. İzolatların serotiplendirilmesi.....	20
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	21
4.1. Örneklerin XLD ve BGA agar durumu.....	21
4.2. XLD ve BGA agar sonucuna göre BHI agara ekim ve PZR.....	23
5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	30
6.KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	36
ÖZET.....	37
SUMMARY.....	38

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

ŞANLIURFA PİYASASINDA AÇIKTA SATILAN ANTEP FISTIĞLARINDA (*Pistacia vera*) *SALMONELLA* TARAMA ÇALIŞMASI

Asliye GÜMÜŞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan VARDİN

Yıl:2012, Sayfa: 38

Salmonella, Gram negatif, spor oluşturmeyen, insanlarda ve hayvanlarda hastalık yapabilen bir bakteridir. Günümüzde 2541 in üzerinde tanımlanmış serotipi olan *Salmonella* insanlara çoğunlukla hayvan dışkı ile kontamine olmuş gıdalar yolu ile geçer. Genellikle hayvan ve hayvan ürünlerinden insana geçmesine rağmen, yağlı tohumlardan da insana geçiş salgınlara yol açtığı bildirilmektedir. Dünya Antep fıstığı üretiminde Türkiye; Türkiye üretiminde ise Şanlıurfa önemli paya sahiptir. Ancak stratejik öneme sahip olan Antep fıstığında yapılmış her hangi bir patojen sürveyans çalışması ülkemizde bulunmamaktadır. Bu eksikliği gidermek için Şanlıurfa ilinin farklı noktalarından alınan açıkta satılan Antep fıstığı örneklerinde *Salmonella* analizi yapılmıştır. Ülkemizde ilk defa yapılan bu çalışma sonucunda piyasadan alınan toplam 50 örnekten 3'ünde (%6) *Salmonella* tespit edilmiştir. İzolatların fenotipik analiz (serotiplendirme) sonuçlarına göre 3 ve 10 nolu örneklerde *Salmonella enterica* spp. *enterica* serotip Corvallis; 6 nolu örnekte ise *Salmonella enterica* spp. *enterica* serotip Salford tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk olarak açıkta satılan Antep fıstığından *Salmonella* izolasyonu yapılmıştır. Açıkta satılan fıstıklardaki *Salmonella* çapraz kontaminasyonun önlenmesi gerekmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: *Salmonella*, Antep fıstığı, gıda kaynaklı hastalıklar

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

SALMONELLA SURVEILLANCE STUDY IN PISTACHIOS (*Pistacia vera*) WHICH SOLD IN SANLIURFA BAZAAR

Asliye GÜMÜŞ

**Harran University
Graduate School of Naturel and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Assist Prof. Dr Hasan VARDİN

Year: 2012, Page: 38

Salmonella is a none-spore forming Gram-negative bacterium that can cause disease in human and animals. *Salmonella*, having over 2541 recognized serotypes by now, is transmitted to humans by fecal contaminated food. Although it generally passes to humans via animals and animals product, it also transmitted by seeds and nuts, and causes outbreaks. Among worldwide pistachio production, Turkey has a significant share, where Sanliurfa has the largest proportion of the production. Yet, there is no surveillance study conducted on the prevalence of pathogens in pistachio, a strategic product. To fill this gap, pistachio retail samples collected from different region of Sanliurfa and they were analyzed if they were contaminated by *Salmonella* or not. By this study, which is the first in our country, we identified that among 50 pistachio samples, 3 were contaminated with *Salmonella*. In consequence of phenotypic analyses (serotyping), isolates from samples 3 and 10 were serotyped as *Salmonella enterica* spp. *enterica* Corvallis, an isolate from sample number 6 was serotyped as *Salmonella enterica* spp. *enterica* Salford. This study is the first study in Turkey, representing that pretail pistashios were contaminated with *Salmonella*. This study also underlines the fact that the cross-contamination in retail pistachios should be prevented.

KEY WORDS: *Salmonella*, Pistachio, foodborne diseases

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve yüksek lisansım süresince yaptığım tüm çalıőmalarda benden maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen ve katkılarıyla beni yönlendiren, bana ışık tutan, Ortadoęu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Yeşim SOYER'e, tez çalıőmalarım boyunca yaptığı yardımlar ile bana destek olan Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan VARDİN'e Ortadoęu Teknik Üniversitesi'ndeki yaptığım tüm analizler süresince yardımlarını esirgemeyen ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü'nden Arő. Gör. Sinem YAVAŐ'a ve Yüksek Lisans öğrencisi Bora DURUL'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve yaptığım tüm işlerde beni destekleyen çok değerli Ailem'e minnetle teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Örnek numaraları, alım tarihi ve örnek durumu (kavrulmuş,iç,kavrulmamış)tablosu	15
Çizelge 3.2. PZR Mastır Karışımı ve <i>invA</i> primer sekansı	18
Çizelge 4.1. Örneklerin XLD ve BGA agar sonuçları tablosu.....	23
Çizelge 4.2. Örneklerin PZR sonucu	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Antep fıstığı üretimi akış şeması	6
Şekil 4.1. Aynı örneğe ait RVS brothların inkübasyondan önce ve sonraki görüntüleri	21
Şekil 4.2. Aynı örneğe ait XLD ve BGA agarlarda <i>Salmonella</i> görünümü.....	22
Şekil 5.1. 3 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı	24
Şekil 5.2. 6 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı.....	25
Şekil 5.3. 10 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı	25
Şekil 5.4. 28 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı.....	26
Şekil 5.5. 50 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı.....	26

1.GİRİŞ

Geçtiğimiz yüzyılda, her alanda olduğu gibi gıda sektöründe de gerçekleşen hızlı, bilimsel ve teknolojik ilerlemelere rağmen, 21. yüzyılın en önemli gündemlerinden birini halen kontamine gıda ve sulardan kaynaklanan ciddi halk sağlığı problemleri oluşturmaktadır. Geçmiş yüzyılda, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayınladığı epidemiyolojik verilerde gıda kaynaklı hastalıkların sayısında sabit bir artışın olduğu ve her yıl endüstrileşmiş ülkelerin nüfusunun % 5-10'unun gıda kaynaklı hastalıklardan etkilendiği bildirilmiştir. EFSA'nın yıllık gıda kaynaklı hastalık raporlarında Avrupa Birliği'nde yıllık rapor edilen gıda kaynaklı vaka sayısının 325.000 olmasıyla beraber gerçek rakamın çok daha fazla olduğuna yer verilmiş olup ayrıca yıllık 5262 gıda kaynaklı salgının görüldüğü de belirtilmiştir (EFSA, 2012). ABD'de ise her yıl yaklaşık 76 milyon gıda kaynaklı hastalık vakasının görüldüğü, bunların 325, 000'inin hastane vakası olarak ve 5000'inin ölümlerle sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Söz konusu gıda kaynaklı hastalıklara neden olan organizmalar patojen organizmalar olarak adlandırılmaktadır.

Gıda sektöründe çiğ veya işlenmiş üründe bulunması muhtemel patojenlerin hızlı tespiti proses kontrolü ve hijyen uygulamalarını izlemek için oldukça önemlidir (Boera ve Beumer, 1999). Patojen organizmalar çoğunlukla fekal kaynaklı olup buradan eller, böcekler ve sulara bulaşarak gıda hazırlama alet ekipmanına veya diğer gıdalara geçerler. Patojen organizmanın bulaşmış olduğu gıdanın tüketimi sonucu ise vücuda alınan organizma bağırsak sistemine ulaşarak çoğalmakta ve kişide çeşitli hastalıkların görülmesine neden olmaktadır. Bu hastalıklar bazen hafif şekilde seyrederken bazen kişiyi ölüme kadar götürebilmektedir. Ayrıca aynı kaynaktan kontamine olmuş gıdaların birden fazla kişi tarafından tüketilmesi sonucunda gıda kaynaklı salgınlar meydana gelmektedir. Neden oldukları bu ciddi problemlerden dolayı patojen organizmaların gıdadaki varlığının tespit edilmesi hem insan sağlığı hem de gıda endüstrisi açısından büyük önem taşımaktadır. Bunun için çeşitli teknikler geliştirilmiş olup günümüzde kullanılmaktadır. Bu teknikler biyokimyasal ve moleküler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Biyokimyasal

testler moleküler tekniklere göre daha basit, ucuz ve kolaydır. Ancak kullanıcıya en fazla organizmanın genom ve türünü belirlemede yardımcı olurken moleküler alt tipleme teknikleri sayesinde patojen organizmanın alttür ve serotiplerini de belirlemek mümkündür. Gıda kaynaklı patojenlerin ve salgın hastalıkların tespit edilmesi ve karakterizasyonunda moleküler biyolojik metodlar günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Patojen bakterilerin suşlarını ayırt etmek için kullanılan alt tipleme metotları gıda zinciri boyunca patojen kaynağını izleme, salgın tespiti ve gıda kaynaklı hastalıkların sürveyans çalışmaları için daha hızlı, kesin ve etkili uygulama alanlarına sahiptir. Moleküler alt tipleme metotlarının kullanılması ile bakterileri suş ve alttür bazında incelemenin yanısıra bu patojenlerin insanlarda gıda kaynaklı hastalık oluşturma yeteneklerinin farklılığını da anlamak mümkündür (Wiedmann, 2002).

ABD’de *Salmonella*, *Listeria* ve *Toxoplasma* kaynağı bilinen hastalık ve ölümlere en fazla neden olan mikroorganizmalardır (Mead ve ark., 1999). Türkiye’de ise 2010 yılında yapılan bir çalışmaya göre *Salmonella* kanatlı etleriyle insanlara bulaşan ve hastalıklara yol açan en önemli beş bakteri arasında ilk sırada yer almıştır (Erol, 2010). *Salmonella*, patojen bakteriler arasında en tehlikelilerinden biridir.

Salmonella ilk olarak, Alman araştırmacı Gaertner tarafından, 1888 yılında tükettiği sığır etine bağlı olarak şiddetli acı çeken ve gıda enfeksiyonu geçiren kişilerden izole edilmiştir. Bu salgında 57 kişi etkilenmiştir. Önceleri *Bacterium enteritidis* olarak adlandırılan bu bakteri genomuna Dr. Daniel E. Salmon’un çalışmalarından ötürü 1900 yılında *Salmonella* adı verilmiştir (Roberts ve ark., 1998). *Salmonella* türleri 100 yılın aşkın bir süredir orta ve şiddetli derecede gıda enfeksiyonları (gastroenteritis) ile daha şiddetli tifo (enterik ateş), paratifo, bakteriyemi, septisemi ve uzun süre devam eden ateşle ilişkili hastalık durumlarında tanımlanmıştır (Bell ve Sainsbury’s, 2002).

Salmonella, Gram negatif, spor oluşturmeyen bir bakteri türü olup hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalık yapabilme özelliğine sahiptir. Bazı serotipleri sadece insanlara özgü iken, bazı serotipleri yalnızca hayvanlarda

hastalıklara neden olabilmektedir. Ayrıca *Salmonella*'nın tanımlanan serotipleri arasında konakçıya spesifik olmayanları da mevcuttur. Sadece insanlarda infeksiyona neden olan serotipler; *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* ve *B.*, bunlar tifo ve paratifo ajanlarıdır. Sadece hayvanlarda infeksiyona neden olan serotipler; *S. Galinarum* (kanatlı hayvanlar), *S. Dublin* (sığır), *S. Choleraesuis* (domuz) (Jay ve ark., 2005). Bugün dünyada *Salmonella*'nın tanımlanan 2541 serotipi bulunmaktadır ve bu serotiplerin 1400'den fazlası hastalık yapıcı özelliktedir (D'aoust, 2007). Hasta hayvan ve insanların dışkıları yolu ile toprağa geçen ve/veya buradan da kontaminasyon sonucu diğer gıdalara bulaşan *Salmonella*'nın tifo olmayan serotipleri ağız yoluyla vücuda alınıp, bağırsak sistemine ulaşarak burada gelişmeye başlar ve organizma vücuda alındıktan yaklaşık 12-36 saat sonra kişide bazı semptomlar görülmeye başlar. Bunlar, diyare, yüksek ateş, kusma, karın ağrısı ve ishal şeklinde kendini gösterir. Bu semptomlar ile ortaya çıkan hastalığa ise salmonellosis adı verilir.

Gelişmiş ülkelerde hijyen koşullarının iyileştirilmesine rağmen gıda kaynaklı salgınların önüne geçilememiştir. Örneğin *Salmonella*'nın ABD'de her yıl yaklaşık 1.4 milyon kişide hastalıklara neden olduğu; bu sayının 7000'inin hastane vakası olarak, 585'inin ise ölüm ile sonuçlandığı tahmin edilmektedir (Mead ve ark., 1999). Avrupa Birliği'nde yapılan bir çalışmada ise 27 AB ülkesinden alınan verilere göre *Salmonella*'nın 2010 yılında 99,020 kişide hastalığa neden olduğu rapor edilmiştir (EFSA, 2012). 2003 yılında yapılan çalışmaya göre Türkiye'de gıdalarda *Salmonella* bulunma oranının genel olarak %1.1-6.2 arasında olduğu belirtilmiştir (Kanan ve Akşit, 2003). 1999 ve 2000 yılında Türkiye'de yapılan sörveyans çalışmalarına göre 1999 yılında görülen 84340 gıda kaynaklı hastalıktan 28884 tanesi (%43.9); 2000 yılında ise görülen 77515 gıda kaynaklı hastalıktan 26498 tanesi (%39.2) *Salmonella* kaynaklı olarak tespit edilmiştir (WHO, 2001).

Dünyada yıllık üretim miktarı 700-710 bin ton olan Antep fıstığının yaklaşık %17 si Türkiye tarafından karşılanmaktadır. Bu üretim payı ile Türkiye, İran ve ABD'den sonra 3.sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2008). Ülkemizde ise yıllık ortalama 100 bin ton olan üretimin önemli bir miktarı Güneydoğu Anadolu

Bölgesi'nde yapılmaktadır. Bölge içerisinde şehirlere göre üretim miktarları sıralandığında ise Şanlıurfa toplam üretimin % 45ini karşılayarak ilk sırada yer almaktadır (Gaziantep Tarım İl, 2009).

Dünya Antep fıstığı üretiminde Türkiye; Türkiye üretiminde ise Şanlıurfa önemli paya sahiptir. Ancak bölgemiz açısından stratejik öneme sahip olan Antep fıstığında şu ana kadar ülkemizde yapılmış herhangi bir patojen sürveyans çalışması mevcut değildir. Bu eksikliği gidermek, Şanlıurfa yöresinde en fazla üretilen ve tüketilen kabuklu bir gıda olan Antep fıstığının insan sağlığı açısından taşıdığı mikrobiyal tehlikelerin belirlenmesi ve mevcut tehlikelere karşı önlem alınması amacıyla Şanlıurfa bölgesinin çoğunlukla turistik bölgelerinden olmak üzere toplanan Antep fıstığı örneklerinde *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. Daha önce benzeri yapılmamış bu çalışmanın bundan sonraki çalışmalara referans olması hedeflenmektedir.

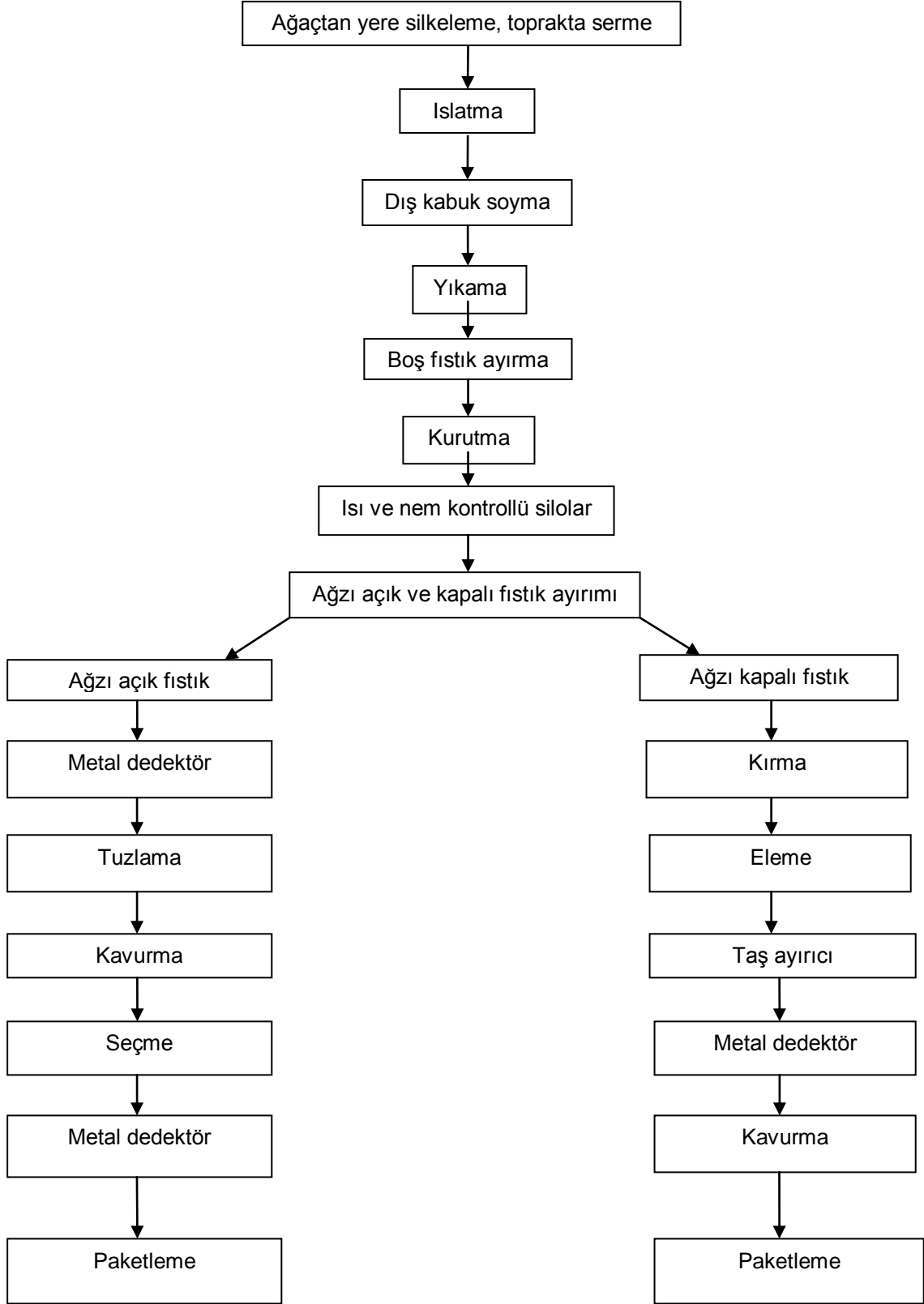
2.KURAMSAL TEMELLER

2.1. Antep fıstığı ve üretim aşamaları

Antep fıstığı (*Pistacia vera*), sakız ağacigiller (Anacardiaceae) familyasından yenebilen kabuklu bir meyvedir. % 45-55 oranında yağ içerir.

Antep fıstığı, üretim aşamaları açısından kontaminasyon riski taşıyan bir yemiştir. Fıstıkların toplanma şekli olan ağaçtan toprağa silkeleme işlemi ise bu riski en fazla taşıyan aşamasıdır. Toplanmak üzere yere serilen fıstıklar en genel haliyle yıkama-ayıklama, kabuk soyma, kavurma ve paketlenme aşamalarından geçirilir. Antep fıstığı meyvesinin (*Pistacia vera*) yemiş haline getirilmeden önce tabii tutulduğu işlemleri gösteren akım şeması Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.

Yerden toplama aşamasında herhangi bir kontaminasyon olması durumunda, kavurma amacıyla uygulanan ısı işlemi ile bu kontaminasyonun giderilmesi ve fıstığın *Salmonella* açısından risk teşkil etmemesi beklenir. Ancak bazı durumlarda meyvede ısı işlemler sonucunda bu risk devam edebilmektedir. Bu durumun nedenleri ise, *Salmonella*'nın % 45-55 gibi yüksek oranda yağ içeren Antep fıstığı içerisinde yağ zerreciklerine hapsolarak ısıdan etkilenmemesi veya meyveye etkin ısı işlem uygulanmamasıdır. Çünkü *Salmonella* patojeni hasta insan ve hayvanların dışkıları ile toprağa ve buradan da yere serilen fıstıklara geçebilmektedir.



Şekil 2.1. Antep fıstığı üretimi akış şeması (Gaziantep Tarım İl Müdürlüğü, 2009)

2.2. *Salmonella* patojeninin tespit metodları

Salmonella, yapısal özelliği bakımından normal şartlarda mide asitliğinde inhibe olması gereken bir özelliktedir. Ancak bu özelliği bazen *Salmonella*'nın vücuda alındığı gıda ile ilişkili olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Antep fıstığı gibi yüksek oranda yağ içeren bazı gıdalarda *Salmonella*, içinde bulunduğu ortamdaki yağ zerreciklerine hapsolarak mide asitliğinden etkilenmeden kurtulmayı başarabilmekte ve yine bu özelliği sayesinde içinde bulunduğu gıdaya uygulanan ısı işlemlerden de korunarak canlılığını koruyabilmektedir (Jay ve ark., 2005). *Salmonella*, bu ürünler içerisinde çoğalamaz ancak canlılığını bir yıldan daha uzun süre sürdürebilme yeteneğine sahiptir (Uesugi ve ark., 2006). Ancak gıda sektöründe çiğ veya işlenmiş üründe bulunması muhtemel patojenlerin hızlı tespiti proses kontrolü ve hijyen uygulamalarını izlemek için oldukça önemlidir (Boer ve Beumer, 1999). Bunun için çeşitli teknikler geliştirilmiş olup günümüzde kullanılmaktadır. Bu teknikler biyokimyasal ve moleküler olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Biyokimyasal testler kullanıcıya en fazla organizmanın genom ve türünü belirlemede yardımcı olur. Fakat bazen bir hastalığa aynı türün farklı alttürleri veya serotipleri neden olabilir. Bu ajanların tespitinde geleneksel testler yetersiz kalmakta ve kullanıcıya organizmanın DNA ve RNA sı ile proteinlerinin incelenmesine olanak veren moleküler tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) günümüzde en fazla kullanım alanına sahip moleküler tekniklerdendir. PZR, Kary Mullis tarafından 1985'te bulunmuş, patenti alınmış ve ilk defa aynı yıl R. Saiki, K. Mullis ve arkadaşları tarafından uygulanmaya başlanmıştır. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak bu iki primer ile sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. PZR metodu ile gene spesifik özel bölgeler çoğaltılarak o genin organizmadaki varlığı yani organizmanın düşünülen genoma ait olup olmadığı tespit edilir. PZR tekniği çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlar. PZR metodu ile bakteriye özgü genler çoğaltılarak var/yok testleri yani identifikasyonları yapılabilmektedir. Buna ilaveten daha komplike

genotipik analizlerde de PZR kullanılmaktadır, örneğin DNA sekans bazlı (MLST) metotlar gibi. Hedef genetik materyaller çok az sayıda olsalar dahi PZR ile çoğaltılabilir, homojen bir DNA materyali sentezlenebilir ve karakterize edilebilir.

PZR ardı ardına tekrar eden reaksiyonlar bütünüdür. Her bir reaksiyon 3 temel adımda gerçekleşir:

1. DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılması (denatürasyon)
2. Sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon)
3. Zincirin uzaması (polimerizasyon - çift iplikçikli DNA'ların sentezi)

Her adım farklı ısılarda gerçekleştirilir. (Sırasıyla 94°C-98°C; 37°C-65°C; 72°C) PZR reaksiyonu bu siklusların belirli sayılarda tekrarlanmasına dayanır (Giarcia ve ark., 1995; Erlich ve ark., 1991; Persing, 1991).

PZR deneyi için gerekli bileşenler şu şekildedir:

- **Şablon DNA;** çoğaltmak istediğimiz gen bölgesini taşıyan hedef DNA molekülü
- **Deoksinükleotidtrifosfatlar;** deoksiadenin, deoksiguanin, deoksisitozin, deoksitimin bazları
- **Primerler;** çoğaltılmak istenen gen bölgesine göre dizayn edilen ve zincir üzerinde o bölgeyi tanıyarak bağlanan bileşenlerdir.
- **DNA polimeraz;** deoksinükleotidtrifosfatlardan uygun olanını kullanarak zincirin uzatılmasını sağlayan enzim. Genellikle yüksek ısıya dayanıklı *Thermus aquaticus* bakterisinden izole edilen enzimdir ve taq polimeraz olarak adlandırılır.
- **Enzim kofaktörleri ve tampon çözelti;** enzimin çalışması için gerekli iyonik ortamı sağlayacak bileşenlerdir.

2.3. Ülkemizde yapılan *Salmonella* sürveyans çalışmalarından bazıları

Salmonella patojeninin başlıca bulaşma kaynağı yağlı kabuklu yiyecekler veya yağlı tohumlar olmadığından, ülkemizde ekonomik açıdan önemli bir gelir kaynağı olan Antep fıstığının insanlar açısından oldukça tehlikeli bir patojen olan *Salmonella* taşıyıp taşımadığının tespitine yönelik herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu duruma karşın son yıllarda fıstık, badem ve fındık gibi yağlı yemişlerin neden olduğu *Salmonella* salgınlarının artan bir şekilde görülmesi bu gıdaların da gıda kaynaklı hastalık etmeni olabileceğine dikkatleri çekmiştir (CDC, 2009; Muller ve ark., 2007; Isaacs ve ark., 2005; Kirk ve ark., 2004:). Ülkemizde *Salmonella* sürveyans çalışmaları genellikle kanatlı etler üzerinde yapılmıştır.

Türkiye’de patojen organizmaların neden oldukları salgınlar ile alakalı herhangi bir kayıt sistemi mevcut olmayıp, patojenlerin gıdalardaki varlıklarının incelenmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. 1992 yılında incelenen 80 adet piliç karkasından %31,2’sinde *Salmonella* tespit edilmiştir. Karkaslardaki *Salmonella* serotipleri ise *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium olarak belirlenmiştir (Mutluer ve ark., 1992).

1997 yılında piliç kesimhanesinden alınan toplam 270 örneğin % 30’unda *Salmonella* Java ve *Salmonella* Enteritidis tespit edilmiştir (Sarımehmetoğlu ve ark., 1997).

2004 yılında incelenen 69 piliç karkasından % 86.9’unda *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Java tespit edilmiştir. (Erol ve ark., 2004).

2006 yılında incelenen 50 adet Van otlu peynir örneğinden üçünde *Salmonella* bulunduğu tespit edilmiştir (Tekinşen ve Özdemir, 2006).

2010 yılında incelenen 70 adet donmuş piliç eti ve 70 adet donmuş hindi etinde sırasıyla %27.1 ve %23 oranlarında *Salmonella* tespit edilmiştir (Erol ve ark., 2010).

2010 yılında incelenen 240 adet hindi kıyma örneğinden %45.8'inde *Salmonella* tespit edilmiştir (İseri ve Erol, 2010).

Bursa'da *Salmonella* varlığının araştırılması üzerine 100 adet çiğköfte örneği incelenmiştir. İncelenen çiğköfte örneklerinden iki tanesinin *Salmonella* Typhimurium ile kontamine olduğu tespit edilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2012).

2.4. Yağlı tohumlarda *Salmonella* sürveyans ve salgın çalışmaları

ABD'de badem, Antep fıstığı ve fındık yolu ile bulaşan *Salmonella* salgınlarının araştırma çalışmaları 1990'lı yıllarda yapılmaya başlanmıştır. İlk olarak 1 Aralık 1994 ve 31 Ocak 1995 yılları arasında ABD, Kanada, İngiltere, İsrail'de kontamine yer fıstığından kaynaklanan *Salmonella* salgınında çoğunluğunu 10 yaşın altındaki çocukların oluşturduğu ve bunlardan ikisinin hastane vakası ile sonuçlandığı toplam 51 kişi hastalanmıştır. 51 kişide ishal şikâyeti ile ortaya çıkan salgında salgın kaynağı moleküler bir teknik olan faj tipleme metodu ile belirlenmiştir. Salgına neden olan ajan *Salmonella* Agona faj tipi 15 olarak tespit edilmiştir (Dispatches, 1996).

1996 yılının 1 Nisan- 14 Haziran tarihleri arasında Avustralya'da kontamine yer fıstığı ezmesi ile bulaşan *Salmonella* salgınında üç tanesi hastane vakası olarak sonuçlanmak üzere toplam 15 kişi etkilenmiştir. Salgında Avustralya Standart metodu (AS 1766.2.5-1991) kullanılarak örnekler üzerinde *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. *Salmonella* olarak tahmin edilen bakteri kolonilerinin biyokimyasal olarak doğrulanması işlemleri Microbact 24E (Medvet Science) metodu ile yapılmıştır. Salgına neden olan *Salmonella* serotipi Mbandaka olarak tespit edilmiştir. Doğrulanmış *Salmonella* izolatlarının serotiplendirilmesi ise the Australian *Salmonella* Referans Laboratuvarlarında (IMVS) yapılmıştır (Scheil ve ark., 2008).

2000-2001 yıllarında ABD ve Kanada'da kontamine bademden kaynaklanan *Salmonella* Enteritidis salgınında 168 kişinin etkilendiği tespit edilmiştir (Isaacs ve ark., 2005).

2001 yılında Avustralya, Kanada ve İngiltere'de kontamine yer fıstığının tüketilmesi sonucu ortaya çıkan *Salmonella* salgınında 109 kişi hastalanmıştır. Bu salgında araştırmacılar *Salmonella* olduğunu belirledikleri hastalık ajanlarının serotiplendirme metodunu kullanarak *Salmonella* Stanley ve *Salmonella* Newport olduğunu tespit etmişlerdir. Vuruşlu Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE) jel fotoğraflarındaki patternlarda görülen gruplaşmalar sonucunda 97 kişiden alınan izolatların *Salmonella* Stanley serotipi; 12 kişiden alınan izolatların ise *Salmonella* Newport olduğundan şüphelenilmiştir (Kirk ve ark., 2004).

Danyluk ve ark.'nın 2001-2005 yılları arasında ABD'de inceledikleri toplam 9274 badem örneğinden 81 tanesinin (%0.9) 35 farklı *Salmonella* serotipi ile kontamine olduğu tespit edilmiştir (Danyluk, 2007).

2002-2004 yıllarında ABD'nin 11 eyaletinde kontamine badem tüketimi sonucunda yayılan *Salmonella* salgınında 1'i ölüm, 11'i hastane vakası olmak üzere toplam 47 kişi hastalanmıştır. Salgında araştırmacılar salgına neden olan ajanı *Salmonella* Enteritidis faj tipi 9c olarak belirlemiştir. Araştırmacılar XbaI ve BlnI enzimlerini kullanarak Vuruşlu Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE) metodu ile salgın kaynağını tespit etmişlerdir (Anonim, 2004).

2003-2004 yıllarında ABD ve Kanada'da kontamine bademden kaynaklanan ve 7000 ton bademin piyasadan toplatılmasına neden olan *Salmonella* salgınında toplam 29 vaka görülmüş ve 9'u hastane vakası olarak sonuçlanmıştır. Salgında hastalık etmeninin *Salmonella* olduğu XbaI ve BlnI enzimlerinin kullanıldığı Vuruşlu Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE) metodu ile belirlenmiştir (CDC, 2004).

Avustralya'da 2003-2006 yılları arasında incelenen kavrulmamış 60 badem örneğinin 1 tanesinde (%1.7) *Salmonella* bulunduğu tespit edilmiştir (Eglezos ve ark., 2008).

2006 yılında ABD'nin 47 eyaletinde kontamine yer fıstığı ezmesinden kaynaklanan *Salmonella* Tennessee salgınında 129'u hastane vakası olmak üzere toplam 715 kişi hastalanmıştır (Anonim, 2007).

2007 yılında İngiltere'de Sağlık Koruma Merkez'i tarafından yapılan bir çalışmada incelenen 3735 fındığın %0.6'sında (23) *Salmonella*'nın Schwarzengrund serotipi tespit edilmiştir (Little ve ark., 2010).

2008 yılında İngiltere'de yağlı kabuklu gıdalarda yapılan bir çalışmada ise toplam 727 örnek incelenmiş ve kavrulmuş ürünlerin %0.2'sinde; Antep fıstığı örneklerinin ise %4'ünde *Salmonella* tespiti yapılmıştır. *Salmonella*'nın Antep fıstığında tespit edilen serotipi insan sağlığı açısından oldukça riskli olan *Salmonella* Havana serotipi olarak belirlenmiştir (Little ve ark., 2009).

2008 yılında ABD'nin 43 eyaleti ile Kanada'da kontamine yer fıstığı ezmesi yolu ile bulaşan *Salmonella* Typhimurium salgınında 9'u ölüm, 171'i hastane vakası olarak sonuçlanmak üzere toplam 716 kişi etkilenmiştir. Salgının hastalık etmeni Vuruşlu Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE) metodu ile tespit edilmiştir. Metot uygulanırken XbaI ve BlnI enzimleri kullanılmıştır (Anonim, 2009).

2008-2009 yıllarında ABD'de yer fıstığı ezmesinden kaynaklanan salgında 8'i ölüm ile sonuçlanmak üzere toplam 116 vaka görülmüştür. Araştırmacılar salgın kaynağını Vuruşlu Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE) metodunu kullanarak *Salmonella* Typhimurium olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar PFGE metodunu kullanırken XbaI enzimini kullanmışlardır (CDC, 2009).

2008-2009 yıllarında ABD'nin 22 eyaleti ile Kanada'nın 1 eyaletinde toplam 529 kişinin etkilendiği *Salmonella* salgını görülmüştür. Salgının kaynağı kontamine yer fıstığı ezmesi; hastalık ajanı ise *Salmonella* Tennessee olarak tespit edilmiştir (CDC, 2009). Ayrıca *Salmonella* Tennessee'nin neden olduğu ve yer fıstığı ezmesi yolu ile ABD'nin 47 eyaletinde toplam 628 kişinin hastalığına neden olan bir başka salgın da kayıtlar altına alınmıştır (CDC, 2009).

2009 yılında ABD'de meydana gelen salgında yarısından fazlası çocuk olmak üzere toplam 600 vaka görülmüş ve bunlardan 9'u ölümlerle sonuçlanmıştır. Salgının kaynağı ise ABD'nin en büyük kabuklu gıda işletmelerinden biri olan işletmesinin ürettiği yer fıstığı ve Antep fıstığı ile bulaşan *Salmonella* olarak tespit edilmiştir. Söz konusu salgın işletmenin 1800 den fazla ürününün piyasadan toplatılmasına ve şirketin iflasına neden olmuştur (Gao ve ark., 2011; UPI, 2009; Wahba ve Chasan, 2009,).

Little ve ark'nın (2010) İngiltere'de fındık, fıstık, badem, kaju ve yer fıstığından oluşan toplam 2886 ürün üzerine yaptıkları bir çalışmada kabuklu gıdalarda *Salmonella*'nın en fazla görülen serotipleri olan *Salmonella* Senftenberg ve *Salmonella* Tennessee'yi tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada Antep fıstığı örneklerinin %1.1'inde, ceviz ve yer fıstıklarının % 0.7'sinde, bademlerin % 0.3'ünde, fındıkların % 0.5'inde ve kaju fıstıklarının ise %0.4'ünde *Salmonella* tespit edilmiştir. *Salmonella*'nın tespit edildiği örneklerdeki oranlarının % 0.01 ile 0.23 olduğu belirlenmiştir. Çalışmada; HPA (Health Protection Agency) Standart Metodu ve En Muhtemel Sayı yöntemi (EMS) kullanılmıştır (Little ve ark., 2010).

CDC verilerine göre 2011 yılının Temmuz-Eylül ayları arasında ABD'nin 5 eyaletinde Türkiye'den ithal edilen kontamine olmuş çam fıstıkları yoluyla *Salmonella* salgını görülmüştür. Salgında 2'si hastane vakası olmak üzere toplam 43 kişi hastalanmıştır. Salgının kaynak araştırmaları ABD'nin Halk Sağlığı Laboratuvarında yapılmıştır. Araştırmacılar çam fıstıklarından izole edilen *Salmonella*'ların DNA parmak izini (DNA fingerprints) kullanarak Vuruşlu Alan Jel

Elektroforezi (Pulsed-field gel electrophoresis-PFGE) metodu ile salgına neden olan ajanı *Salmonella* Enteritidis olarak tespit etmişlerdir (CDC, 2011).

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Örnek alımı Şanlıurfa ilinin iki farklı bölgesindeki satış noktalarından ve depolardan yapılmıştır. Bu noktalar Şanlıurfa'nın en fazla fıstık satışı yapılan ve aynı zamanda Şanlıurfa'nın en turistik bölgelerinden olan Haşimiye bölgesindeki perakendeciler ile Şire Pazarı semtindeki ve Haşimiye bölgesindeki perakendecilere toptan satış yapan noktalardır. Toplam 50 farklı noktadan 29, 30 ve 31 Aralık 2011 tarihlerinde açıkta satılan örnek alınmıştır. 50 örneğin 24'ünü kavrulmuş, tuzlu; beşini ağırlıklı olarak pastane vb. üretim yerlerine satılan tuzsuz fıstık içi; 21'ini ise gün ışığında taze kabuklu haliyle kurutulup kavrulma işlemine tabi tutulmayan ve tuzsuz fıstıklar oluşturmaktadır. Örnek numaraları, alım tarihi ve örneklerin durumunu (kavrulmuş, kavrulmamış, iç) gösteren tablo Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Şanlıurfa piyasasından alınan örneklerin tüm ön işlemleri, analizleri ve değerlendirme işlemleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen izolatların serotiplendirilmesi Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarında hizmet alımı ile yapılmıştır. Örnekler iki tekerrürlü olarak analiz edilmiştir.

Çizelge 3.1. Örnek numaraları, alım tarihi ve örneklerin durumu (kavrulmuş, kavrulmamış, iç) tablosu

Örnek No	Örnek durumu	Alınan tarih
1	Kavrulmuş	29.12.2011
2	Kavrulmuş	29.12.2011
3	Kavrulmuş	29.12.2011
4	Kavrulmuş	29.12.2011
5	Kavrulmuş	29.12.2011
6	Kavrulmuş	29.12.2011
7	Kavrulmuş	29.12.2011
8	Kavrulmuş	29.12.2011
9	Kavrulmuş	29.12.2011
10	Kavrulmuş	29.12.2011
11	Kavrulmuş	29.12.2011

Çizelge 3.1 devamı

12	İç	29.12.2011
13	Kavrulmuş	29.12.2011
14	Kavrulmuş	29.12.2011
15	Kavrulmuş	29.12.2011
16	Kavrulmuş	29.12.2011
17	Kavrulmuş	29.12.2011
18	İç	29.12.2011
19	Kavrulmuş	29.12.2011
20	Kavrulmuş	29.12.2011
21	Kavrulmuş	30.12.2011
22	Kavrulmuş	30.12.2011
23	Kavrulmamış	30.12.2011
24	Kavrulmuş	30.12.2011
25	Kavrulmuş	30.12.2011
26	Kavrulmuş	30.12.2011
27	Kavrulmamış	30.12.2011
28	Kavrulmamış	30.12.2011
29	Kavrulmamış	30.12.2011
30	Kavrulmamış	30.12.2011
31	Kavrulmamış	30.12.2011
32	Kavrulmamış	30.12.2011
33	İç	30.12.2011
34	İç	30.12.2011
35	Kavrulmamış	30.12.2011
36	Kavrulmamış	30.12.2011
37	Kavrulmamış	30.12.2011
38	Kavrulmamış	30.12.2011
39	Kavrulmamış	30.12.2011
40	Kavrulmamış	30.12.2011
41	Kavrulmamış	30.12.2011
42	Kavrulmamış	30.12.2011
43	iç	30.12.2011
44	Kavrulmamış	30.12.2011
45	Kavrulmamış	30.12.2011
46	Kavrulmamış	30.12.2011
47	Kavrulmamış	30.12.2011
48	Kavrulmamış	30.12.2011
49	Kavrulmamış	30.12.2011
50	Kavrulmuş	31.12.2011

3.2. Yöntem

3.2.1. Antep fıstığından *Salmonella* izolasyonu

İzolasyon, ISO 6579 standart metoduna göre yapılmıştır. Örnekler alındığı günden *Salmonella* izolasyonunun yapıldığı güne kadar +4 °C de muhafaza edilmiştir. Örneklerin kabuk ve içleri birbirinden steril ortamda ayrıştırılmıştır. *Salmonella* izolasyonu kabuk ve iç için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Birbirinden steril ortamda uzaklaştırılan iç ve kabuklardan 25'er gr tartılarak örnek içleri steril stomacher poşetlerine alınmış; örnek kabukları ise steril kavanozlara alınarak üzerlerine 225'er ml peptonlu (Buffered Peptone Water-Merck) su eklenmiştir. Peptonlu su ile örnek karıştırma işlemi alev etrafında yapılmıştır. Peptonlu su ve fıstık içi karışımı 30 sn stomacherda homojenize edilmiştir. Peptonlu su ve örnek kabukları ise buldukları steril kavanozlarda 30 sn süreyle karıştırılmıştır. Örnekler inkübatörde 37 °C de 16-20 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda her örnekten iki paralelli olacak şekilde 0.1 ml örnek 10 ml Rappaport Vasiliadis Soya Brotha (RVS broth-Oxoid) alınmıştır. Tüpler 42 °C de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda örneklerden mikropipet yardımıyla 10 µl alınarak XLD (Xylose lysine deoxycholate agar-Oxoid) ve BGA (Brillant Green Agar-Oxoid) agarlara damlatılmış, steril tek kullanımlık plastik öze yardımıyla çizim metodu kullanılarak alev etrafında önceden etiketlenen petrilere ekim yapılmıştır. Petri kapları 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda petrilere koloni oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir. Her iki besiyeri üzerinde de *Salmonella* olduğundan şüphelenilen kolonilerden 3-5 tanesi belirlenmiş ve her bir koloni BHI agara (Brain Heart Infusion-Oxoid) çizim metoduyla ekilerek 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. BHI agara ekim işlemi her iki analizinde de XLD ve BGA agarda pozitif sonuç veren örneklerle uygulanmıştır. Yani iki analiz sonucu da pozitif çıkan örneklerin *Salmonella* benzeri kolonileri BHI agara alınmıştır. BHI agarda inkübasyon sonunda elde edilen kolonilerin doğrulama işlemi PZR metodu ile yapılmıştır.

3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile *Salmonella* doğrulanması

BHI katı besiyerinde geliştirilen saf kültürden bir koloni steril kürdan yardımı ile alınıp 95 µL steril su içeren PZR tübüne aktarılmış ve mikrodalga fırında 30 sn mikrodalgaya maruz bırakılıp hücrenin parçalanması sağlanmıştır. Parçalanmış hücreleri içeren bu solüsyon 3-5 sn vortekslenerek içerisinden 1 µL alınıp 49µL PZR master karışımı içeren PZR tüpüne aktarılmıştır. Tüpler PZR cihazına yerleştirilip reaksiyon gerçekleştirilmiştir. PZR analizi için Eppendorf marka Mastercycler personal cihazı kullanılmıştır. 678 bp'den (baz çifti) oluşan *invA* geninin PZR master karışımı için gerekli bileşenler, miktarları ve kullanılan *invA* primer sekansları Çizelge 3.2.'de verilmiştir (Kim ve ark., 2007).

Çizelge 3.2. PZR Master Karışımı ve *invA* primer sekansı (Kim ve ark., 2007)

PZR Reaksiyon Solusyonu [Konsantrasyon]	Primer sekansı 5' –3'	Hacim (ul)
dH ₂ O	- - -	31
5X Go Taq Flexi buffer	- - -	10.0
MgCl ₂ [25mM]	- - -	3.0
dNTPs [10mM]	- - -	1.0
<i>invA</i> -F [12.5 µM]	GAA TCC TCA GTT TTT CAA CGT TTC	2.0
<i>invA</i> -R [12.5 µM]	TAG CCG TAA CAA CCA ATA CAA ATG	2.0
Taq DNA polimeraz	- - -	0.25
TOPLAM		49

Aşağıdaki amplifikasyon koşulları uygulanarak 678 bp'lik *invA* gen bölgesi amplifiye edilmiştir.

Amplifikasyon koşulları:

94°C'de 8 dakika [1X]

94°C'de 30 saniye

60°C 'de 30 saniye [35X]

72°C'de 30 saniye

72°C'de 5 dakika

4 °C ∞ [1X]

PZR reaksiyonu sonucunda elde edilen üründen 5 µl alınmış ve 1 µl yükleme boyası ile karıştırılarak %1.5'lik agaroz jeline yüklenmiştir. Jel 100 V'da yarım saat yürütülmüştür. Elektroforez sonucunda jelde oluşan DNA bantlarının boyanması amacıyla jel 5 dk etidyum bromür solüsyonunda bekletilmiş, ardından boyanın giderilmesi amacıyla 30 dk steril suda bekletilmiştir. Boyanın giderilmesi işleminden sonra jel görüntülenmiştir. 678 baz çiftinden oluşan bölgedeki bant tespiti *invA* geninin varlığını yani izolatların *Salmonella* bakterisi olduğunun göstergesi olmuştur.

3.2.3. İzolatların dondurulması

Antep fıstıklarından izole edilen ve BHI agarda zenginleştirilen saf *Salmonella* kolonilerinin dondurulması amacıyla BHI broth kullanılmıştır. BHI agardan alınan birer koloni 5 ml BHI brothda 37⁰ C'de bir gece inkübe edilmiştir. Çoğaltılan saf *Salmonella* kültürleri %15 oranında steril gliserol içinde -80⁰ C'de muhafaza edilmiştir. Bu amaçla 150 µl steril gliserol 850 µl *Salmonella* kültürü solüsyonu ile karıştırılmıştır. Dondurma işleminde steril, plastik, kapaklı tüpler kullanılmıştır.

3.2.4. İzolatların serotiplendirilmesi

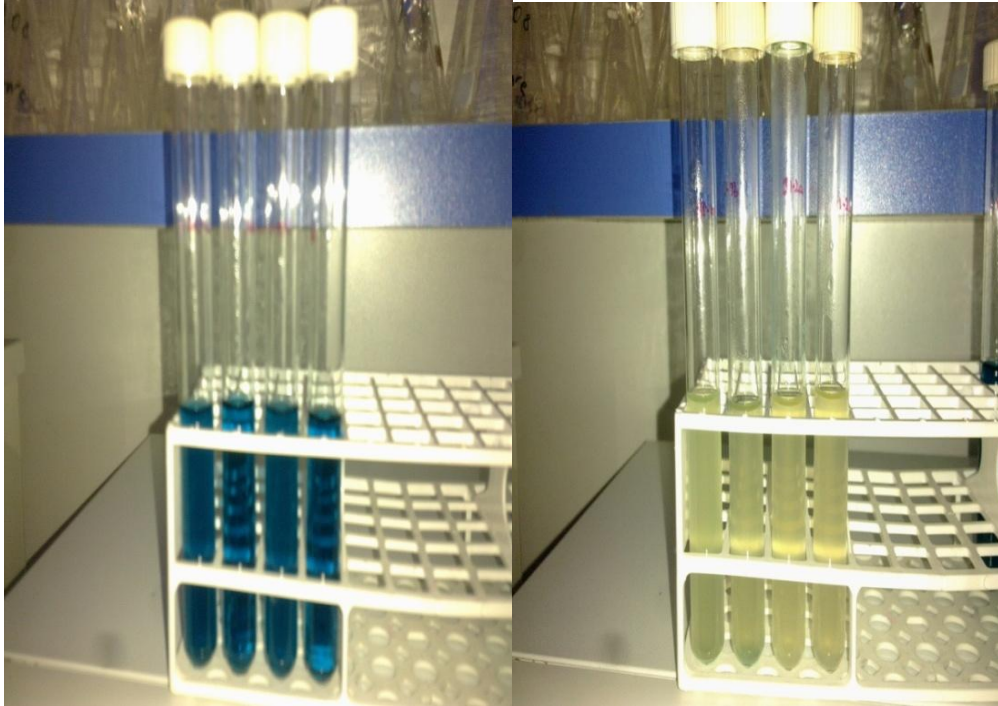
Antep fıstıklarından izole edilen *Salmonella* izolatlarının serotiplendirilmesi için hizmet alımı yapılmıştır. Serotiplendirme Kaufmann-White düzeneğine göre yapılmıştır.

Salmonella olduğu doğrulanan izolatlar serotiplendirilmeye gönderilmek üzere BHI agara ekilmiştir. Bunun için plastik tüplerde yatık BHI agar hazırlanmış ve örneklerin BHI agar petrilerinden birer koloni alınarak ekim yapılmış, 37⁰ C'de bir gece inkübe edilmiştir. Koloni seçimi PZR ile doğrulanan koloniler arasından rastgele yapılmıştır. İnkübasyon sonunda geliştirilen koloniler serotiplendirilmesi yapılmak üzere Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

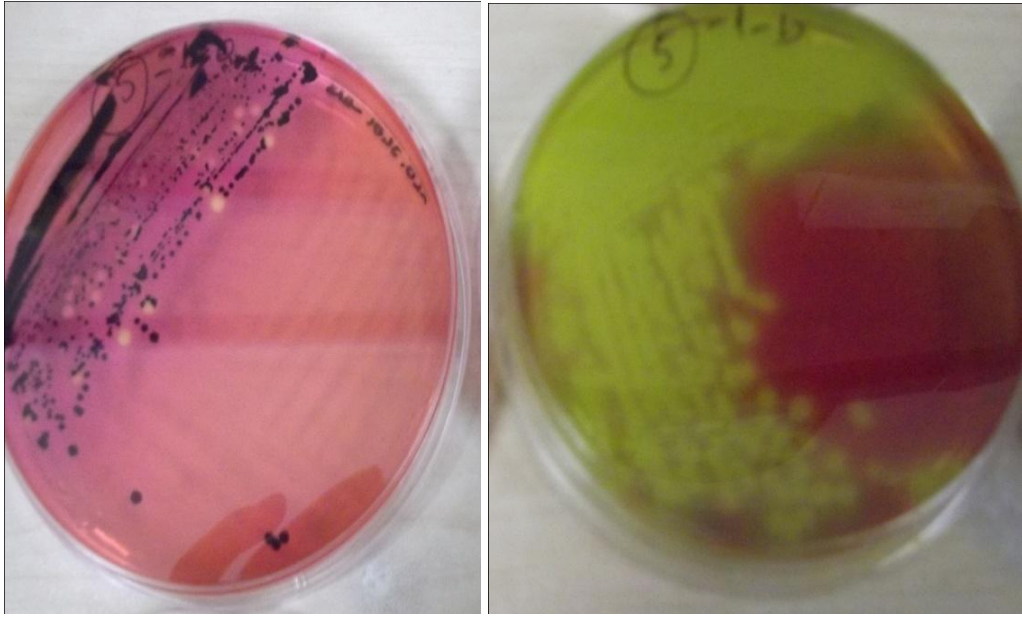
4.1. Örneklerin XLD ve BGA agar durumu

29, 30 ve 31 Aralık 2011 tarihlerinde Şanlıurfa piyasasından alınan Antep fıstığı örnekleri ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarlarında analize tabi tutulmuştur. Analiz için öncelikle kabuklu örneklerin iç ve kabukları birbirinden steril ortamda uzaklaştırılmıştır. Birbirinden iç ve kabuk olarak ayrıştırılan örnekler ön zenginleştirme amacıyla peptonlu su ile bir gece inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirme sonucunda örnek ve peptonlu su karışımından belli miktarda alınarak RVS brotha aktarılmıştır. RVS brotha alınan örnekler ikinci bir inkübasyona tabi tutulmuştur. RVS broth *Salmonella* için selektif çoğalma ortamıdır ve organizmanın çoğalması sonucunda broth renginde açılmalar ve/veya renk değişimleri gözlenebilmektedir. İnkübasyon öncesi ve sonrası RVS broth görünümleri Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Aynı örneğe ait RVS brothların inkübasyondan önce (solda) ve sonraki görünüşleri

İnkübasyon sonunda örneklerin XLD ve BGA agarlara ekimi yapılmış ve inkübasyon sonucunda *Salmonella* benzeri kolonilerin geliştiği gözle görülmüştür. Şüpheli *Salmonella* varlığı XLD agarda siyah noktalardan oluşan koloniler şeklinde; BGA agarda şüpheli *Salmonella* varlığı ise ortam renginin pembeye dönüşmesini sağlayan gri-pembe renkte koloniler olarak görülmüştür. *Salmonella* olduğu düşünülen örneklerle ait XLD ve BGA petri görünümü Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Aynı örneğe ait XLD (solda) ve BGA agarlarda *Salmonella* görünümü

Analize tabi tutulan 24 kavrulmuş, 21 kavrulmamış ve beş iç Antep fıstığı örneğinden dört adet kavrulmuş örnek (3, 6, 10, 50) ile bir adet kavrulmamış örneğin (28) XLD ve BGA petrilerinde *Salmonella* benzeri koloniler gelişmiştir. Koloniler, örneklerin kabuk ve içlerine ait XLD ve BGA petrilerinin her ikisinde gelişmiştir. İç Antep fıstığı örneklerinin XLD ve BGA petrilerinde *Salmonella* benzeri herhangi bir koloni gelişimi gözlenmemiştir. Her bir fıstık örneği Birinci ekim ve İkinci ekim olmak üzere iki tekerrürlü olarak analiz edilmiştir. Örneklerin birinci ve ikinci ekimlere ait kabuk ve içleri için XLD ve BGA agar sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Örneklerin XLD ve BGA agar sonuçları tablosu

Örnek No	Kabuk-İç durumu	1.Ekim XLD sonucu	1.Ekim BGA sonucu	2.Ekim XLD sonucu	2.Ekim BGA sonucu
3	Kabuk	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	İç	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
6	Kabuk	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	İç	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
10	Kabuk	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	İç	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
28	Kabuk	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	İç	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
50	Kabuk	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	İç	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

4.2. XLD ve BGA agar sonucuna göre BHI agara ekim ve PZR

Beş örneğe ait XLD ve BGA petrilinde gözle görülen ve *Salmonella* olduğu tahmin edilen koloniler BHI agara ekilerek geliştirilmiştir. BHI agar üzerinde geliştirilen kolonilerin gerçekte de *Salmonella* olup olmadığı PZR metodu uygulandıktan sonra belirlenmiştir. Bunun için ise BHI agar petrilinde gelişen ve *Salmonella* olduğu düşünülen kolonilerden birer tane alınarak DNA'ları izole edilmiş, PZR metodu uygulanmıştır. PZR metodu ile *Salmonella* bakterisine özgü bir gen bölgesi olan ve 678 baz çiftinden oluşan *invA* geni çoğaltılmıştır. PZR sonucunda elde edilen PZR ürünlerinin %1.5'lik agaroz jel elektroforezde yürütülmesi ve görüntülenmesi ile hangi kolonilerin *Salmonella* olduğu tespit edilmiştir. 678 baz çiftinden oluşan bölgede pozitif bant oluşturan örnekler *Salmonella* olarak tespit edilmiştir. XLD ve BGA agardaki durumlarına göre *Salmonella* olduğu düşünülen 3, 6, 10, 28 ve 50 nolu örneklerden yalnızca 3, 6 ve 10 numaralı örneğin kabuk ve içlerine ait kolonilerin *Salmonella* olduğu doğrulanmıştır. 28 ve 50 nolu örneklerin agaroz jel elektroforez sonucunda elde edilen jel fotoğraflarında 678 baz çiftinden oluşan bölgede bant oluşumu görülmemiş olup bu kolonilerin *Salmonella* olmadığı anlaşılmıştır. Yani XLD ve BGA agar üzerinde gelişen kolonilere göre ilk olarak *Salmonella* pozitif örnek oranı %10 iken Polimeraz

Zincir Reaksiyonları sonucunda bu oran %6 olarak belirlenmiştir. Üç adet kavrulmuş Antep fıstığı örneğinde *Salmonella* tespit edilmiştir. XLD agar üzerinde *Salmonella* benzeri koloni oluşturan kavrulmamış örnekte *Salmonella* bulunmadığı doğrulanmıştır. Kavrulmuş ve kavrulmamış fıstık durumuna göre *Salmonella* içeren örnekler Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

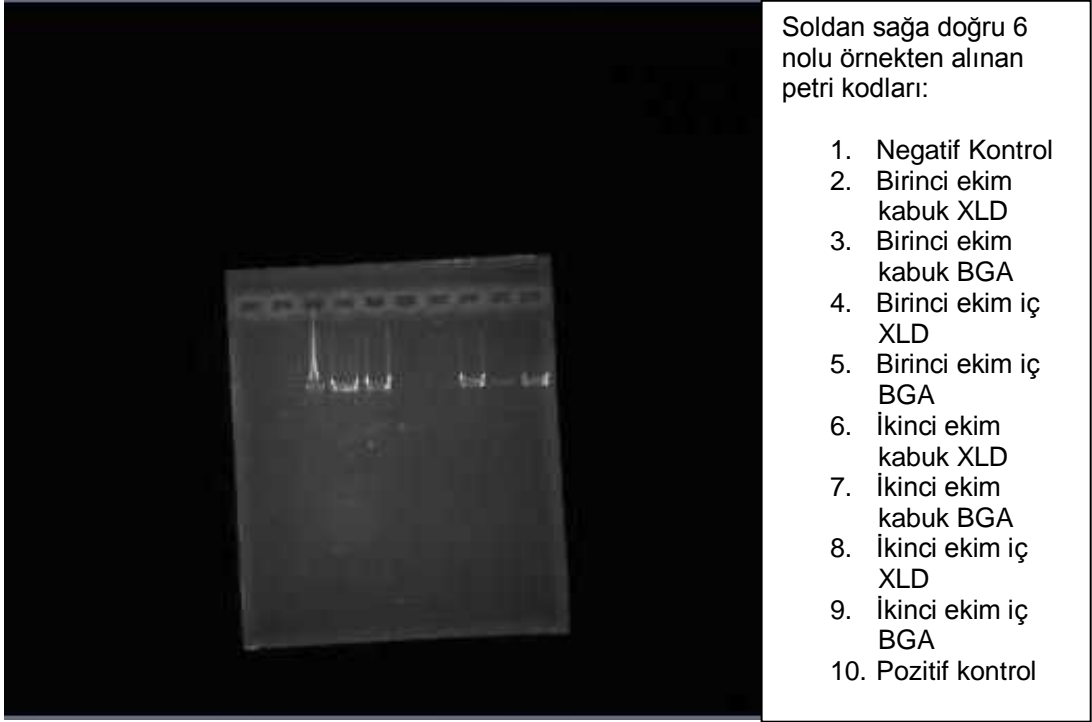
Çizelge 4.2. Örneklerin PZR sonucu

Örnek No	Örnek durumu	InvA PZR sonucu
3	Kavrulmuş	Pozitif
6	Kavrulmuş	Pozitif
10	Kavrulmuş	Pozitif
28	Kavrulmamış	Negatif
50	Kavrulmamış	Negatif

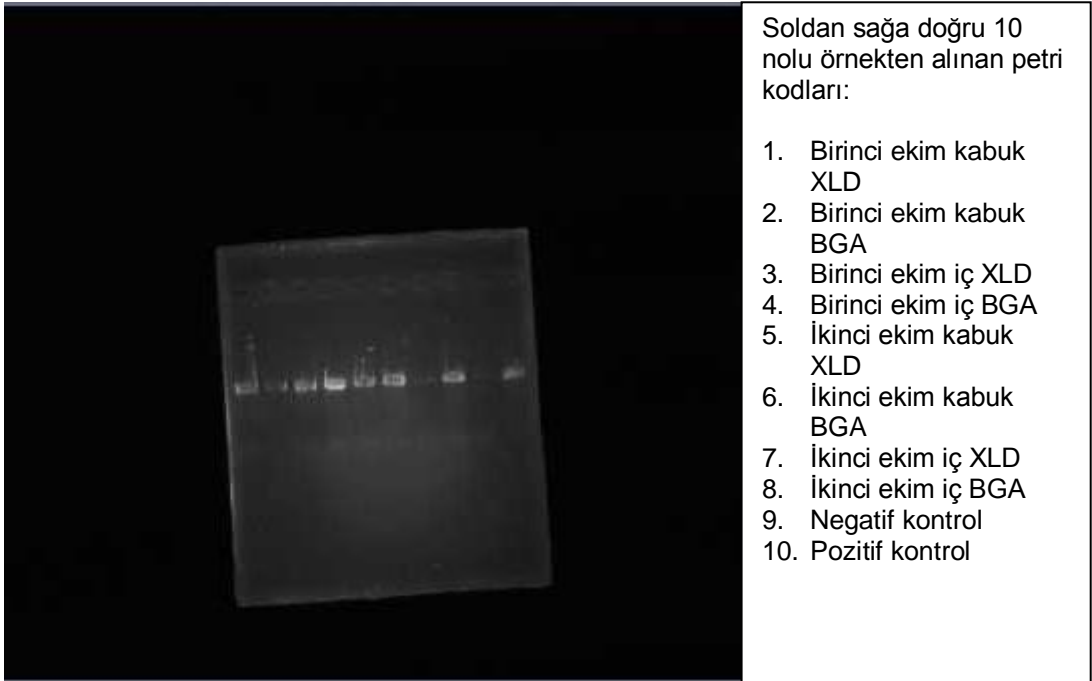
PZR sonucunda *Salmonella* pozitif çıkan 3, 6 ve 10 nolu örnekler ile pozitif bant oluşturmayan 28 ve 50 nolu örneklere ait jel fotoğrafları Şekil 5.1., Şekil 5.2., Şekil 5.3., Şekil 5.4., Şekil 5.5.'de verilmiştir.



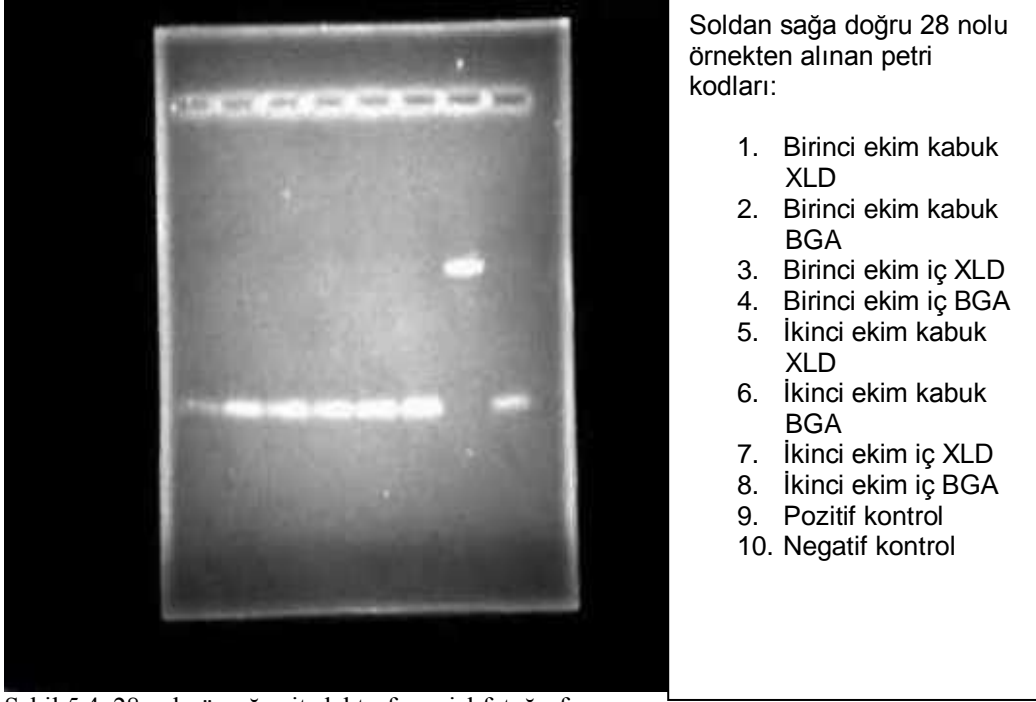
Şekil 5.1. 3 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı



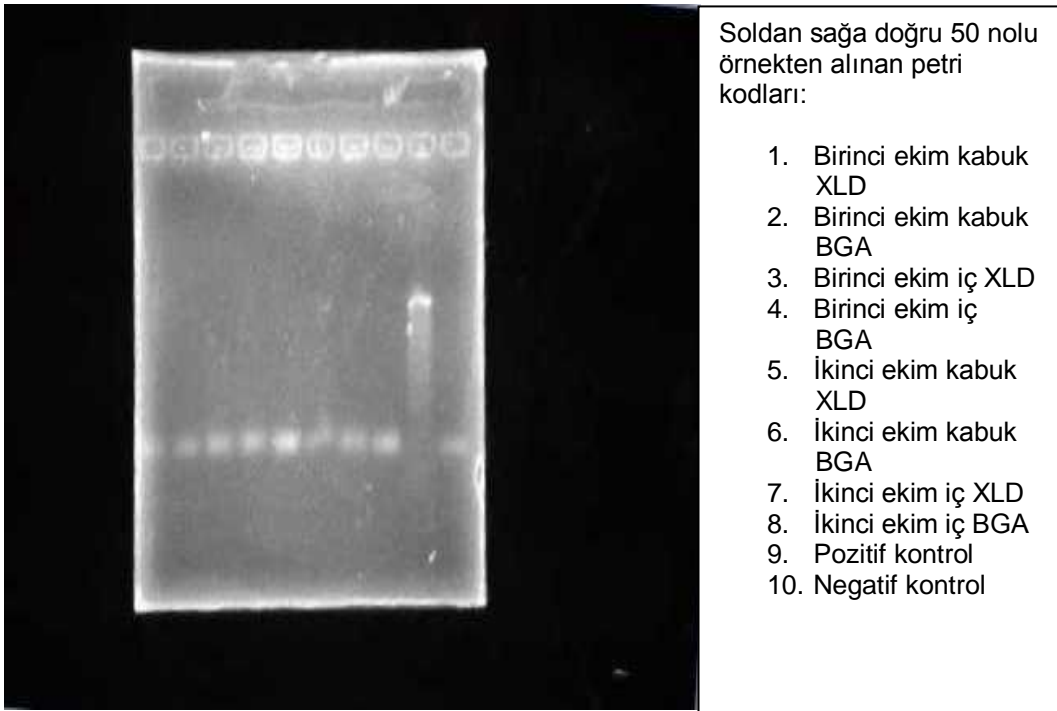
Şekil 5.2. 6 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı



Şekil 5.3. 10 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı



Şekil 5.4. 28 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı



Şekil 5.5. 50 nolu örneğe ait elektroforez jel fotoğrafı

Şekil 5.1., 5.2. ve 5.3.'ten de görüldüğü üzere 3, 6 ve 10 numaralı örneklerin PZR sonucunda *Salmonella* olduğu doğrulanmıştır. *Salmonella* olduğu doğrulanan izolatlar serotiplendirilmiştir. Serotiplendirme sonuçlarına göre 3 ve 10 numaralı izolatın *Salmonella enterica* serotip Corvallis; 6 numaralı izolatın ise *Salmonella enterica* serotip Salford olduğu tespit edilmiştir.

Salmonella Corvallis ilk olarak Dr. E. M. Dickinson tarafından piliçlerden izole edilmiştir (Edwards ve Hermann, 1949). Literatürde insanlardan izole edildiğine dair bilgiye rastlanılmamıştır. Buradan anlaşılıyor ki *Salmonella* Corvallis *Salmonella*'nın hayvanlarda hastalık yapan bir serotipidir ve gıdalara ise kontamine hayvanların dışkıları yolu ile geçmektedir.

Salmonella Corvallis, Senegal Cumhuriyeti'nin başkenti olan Dakay'da sığır kesimhanelerinden alınan 435 örnekten izole edilen 78 *Salmonella* izolatının serotiplendirilmesi sonucu elde edilen 17 başlıca serotipin en önemli altı tanesi arasında yer almıştır (Stevens ve ark., 2008).

Tunus'ta 1994-2004 yılları arasında yapılan bir çalışmada 11 yıl boyunca insan, gıda, hayvan ve çevreden izole edilen 16,214 *Salmonella* izolatı incelenmiştir. Gıda, hayvan ve çevreden alınan izolatların %13.2 si Corvallis olarak tespit edilmiş ve bu oran ile Corvallis en fazla izole edilen ilk üç serotip arasında yer almıştır (Aissa ve ark., 2007).

Corvallis Türkiye'de ilk olarak Bursa bölgesinde yapılan bir çalışmada izole edilmiştir. İncelenen 82 sokak köpeğinin dışkılarından 11'inde *Salmonella*'ya rastlanılmış ve elde edilen izolatların tamamı *Salmonella* Corvallis olarak tespit edilmiştir (Kocabıyık ve ark., 2006).

2007 yılında Avşaroğlu'nun yaptığı tez çalışmasında tavuk etinden *Salmonella* Corvallis izole edilmiştir (Avşaroğlu, 2007).

Salmonella Salford ise ilk kez 1950 yılında *Salmonella* izolatının serotiplendirilmesi ile ortaya çıkmıştır (Anonim, 2012).

American Society of Travel Agents (ASTA) tarafından 2006 yılında baharatlar üzerinde yapılan bir çalışmada kimyondan *Salmonella* Salford izole edilmiştir (ASTA, 2006).

2001 yılında İngiltere’de dilimlenmiş hindi etleri üzerine yapılan bir çalışmada toplam 257 hindi eti örneği incelenmiş ve 11 tanesinde *Salmonella* Salford tespit edilmiştir (Williamson ve ark., 2001).

Bu çalışma ile ülkemizde ilk defa kavrulmuş Antep fıstığından *Salmonella* izolasyonu yapılmış ve iki farklı *Salmonella* serotipi elde edilmiştir. Serotipler; Kaufmann-White düzeneğine göre *Salmonella* Corvallis ve *Salmonella* Salford olarak belirlenmiştir. Literatürde *Salmonella* Corvallis ve *Salmonella* Salford’un yağlı tohumlu yiyeceklerden izolasyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *Salmonella*’nın söz konusu işlenen fıstıklara kontamine olmuş hayvan dışkıları ile toprak yoluyla, depolama aşamasında, toptan ve perakende satış sırasında gerekli hijyen koşullarına uyulmaması sonucu bulaştığı tahmin edilmektedir.

Bu çalışmada kullanılan fıstıklarda *Salmonella* bulunma oranı %6 olarak belirlenmiştir. Little ve ark.’nın 2009 yılında 727 örnek üzerinde yapmış oldukları çalışmada Antep fıstığı bulunma oranı %4 olarak tespit edilmiştir. 727 örnek arasından %4 rakamının; 50 örnek arasından %6 rakamının bulunması bölgede satışı yapılan Antep fıstıklarının *Salmonella* açısından oldukça riskli oldukları anlamına gelmektedir. Ayrıca kavrulmuş fıstık örneklerinde *Salmonella*’nın tespit edilmiş olması fıstıkların işlendikten sonra uygun olmayan depolama koşullarında muhafaza edildiğinin ve uygun olmayan şartlarda toptan ve perakende satışının yapıldığının ayrıca kontaminasyonun işlenme sonrası yani depolama ve satış esnasında da gerçekleşebileceğinin tahmin edilmesini sağlamıştır.

Salmonella Corvallis ve *Salmonella* Salford serotiplerinin yağlı tohumlardan ilk kez izolasyonu çalışmamızda gerçekleştirilmiştir.

5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Şanlıurfa'nın Haşimiye ve Şire Pazarı olmak üzere iki semtinden 29, 30 ve 31 Aralık tarihlerinde alınan ve analiz edilen toplam 50 örnekten XLD ve BGA sonuçlarına göre beş örnekte yani örneklerin % 10'unda *Salmonella* bulunduğu tahmin edilmiştir. Ancak, XLD ve BGA agar üzerinde gelişen koloniler her ne kadar *Salmonella* benzeri olsa da bu kesin bir yargı olarak düşünülmeyp doğrulanmasına gidilmiştir. *Salmonella* olduğu tahmin edilen kolonilerin doğrulanması işlemi günümüzde moleküler tekniklerin temeli durumda olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile gerçekleştirilmiştir. PZR ile *Salmonella*'ya özgü bir gen olan *invA* geni çoğaltılmıştır. XLD ve BGA agar gelişimine göre *Salmonella* olduğu tahmin edilen beş örneğe ait kolonilerden sadece üç örneğe ait olan kolonilerin *Salmonella* olduğu PZR sonuçlarına göre doğrulanmıştır. *Salmonella* pozitif bulunan örneklerle ait izolatlar serotiplendirilerek mevcut bulunan *Salmonella*'nın hangi serotipi olduğu tespit edilmiştir. *Salmonella* pozitif bulunan üç örnekten ikisinde *Salmonella* Corvallis; bir tanesinde ise *Salmonella* Salford bulunduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada Şanlıurfa bölgesindeki rastgele dağılmış dükkanlardan kavrulmuş (24) , kavrulmamış (21) ve iç Antep fıstığı (5) örnekleri toplanmış ve *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. Üç adet kavrulmuş Antep fıstığı örneğinde *Salmonella* bulunduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bakteri izolatları serotiplendirilerek bu bölgede satışı yapılan Antep fıstıklarında bulunabilecek serotipler belirlenmiştir. Ancak unutulmamalıdır ki hijyen koşulları altında Antep fıstığı meyvesi *Salmonella* barındırmayıp; bulunan bakteriler bu yemişlerin *Salmonella* kaynakları ile kontamine olduğunun göstergesidir. Kavrulmuş yani ısıtılmış Antep fıstıklarında da *Salmonella* tespit edilmesi bu ürünlerin işlenmesinden sonra depolama boyunca veya toptan ve perakende satış sırasında kontamine olabileceğinin göstergesi olmuştur. Elde edilen Corvallis ve Salford serotipleri günümüze kadar insanlarda salgına neden olmamış serotiplerdir. Ancak yapılan bu çalışma ile görülmüştür ki bu serotipler yağlı bir tohum olan Antep

fıstığında yoğun olarak bulunabilmektedir ve günümüze kadar insanlarda herhangi bir salgına neden olmamaları bundan sonra da neden olmayacağı anlamına gelmemektedir.

Antep fıstığının ilk üretim aşamasından satışa sunulduğu ana kadarki zincirde kontaminasyonun hangi aşamada ve nasıl gerçekleşmiş olduğunun belirlenmesi ve bölgemizde bulunan *Salmonella* mozaığının belirlenmesi, elde edilen Corvallis ve Salford serotiplerinin patojenite adacıklarındaki virülens yani hastalığa neden olan genlerin belirlenmesi bundan sonra yapılabilecek çalışmalar arasındadır.

6.KAYNAKLAR

- AISSA R. B., AL-GALLAS N., TROUDI H., BELHADJ N., BELHADJ A., 2007. Trends in *Salmonella* Enterica Serotypes Isolated from Human, Food, Animal and Environment in Tunisia, 1994–2004. *Journal of Infection*, 55(4): 324–339.
- ANONİM, 2004. <http://www.outbreakdatabase.com/details/paramount-farms-almonds-2002/?outbreak=almond&country=international>
- ANONİM, 2007. <http://www.outbreakdatabase.com/details/conagra-peter-pan-and-great-value-peanut-butter-2006/?vehicle=nut>
- ANONİM, 2009. <http://www.outbreakdatabase.com/details/peanut-corporation-of-america-peanut-butter-and-peanut-butter-containing-products-2008/?vehicle=nut>
- ANONİM, 2012. <http://www.hpacultures.org.uk/products/bacteria/detail.jsp?refId=NCTC%208702&collection=nctc>
- ASTA, American Society of Travel Agents, 2006. <http://www.asta.org/>
- AVŞAROĞLU D., 2007. Isolation, Molecular Characterization of Food-borne Drug Resistant *Salmonella* spp. and Detection of Class 1 Integrons. Ph. D. Thesis, Middle East Technical University.
- BELL, C., SAİNSBURY'S. A.K., 2002. *Foodborne Pathogenes*. Woodhead Publishing Limt. Cambridge, 307-335.
- BOERA ED., ve BEUMER RR., 1999. Methodology for Detection and Typing of Foodborne Microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50: 119–130.
- CENTERS FOR DİSEASE CONTROL AND PREVENTION, 2004. Outbreak of *Salmonella* Serotype Enteritidis Infections Associated with Raw Almonds in the United States and Canada. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 53: 484–487.
- CENTERS FOR DİSEASE CONTROL AND PREVENTION, 2009. Multistate Outbreak of *Salmonella* Infections Associated with Peanut Butter and Peanut Butter Containing Products. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 58(4): 85-95.
- CDC CENTERS FOR DİSEASE CONTROL AND PREVENTION, 2009. Multistate Outbreak of *Salmonella* Infections Associated with Peanut Butter and Peanut Butter Containing Products. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1(6): 29.
- CENTERS FOR DİSEASE CONTROL AND PREVENTION, 2011. <http://www.cdc.gov/Salmonella/pinenuts-enteritidis/110311/index.html#investigation>
- ÇETİNKAYA F., MUS TE., CİBİK R., LEVENT B., GULESEN R., 2012. Assessment of Microbiological Quality of Cig Kofte (Raw Consumed Spiced Meatball). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella*. *Food Control*, 26(1): 15-18.
- DANYLUK, M.D., JONES, T.M., ABD, S.J., SCHLİTT-DİTRİCH, F., JACOBS, M., HARRİS, L.J., 2007. Prevalence and Amounts of *Salmonella* Found on Raw California Almonds. *Journal of Food Protection*, 70: 820–827.
- D'AOUST, J.Y., MAURER, J., 2007. *Salmonella* Species. *Food Microbiology*, AMS Pres: 187-236.
- DISPATCHES, 1996. Application of Pulsed-Field Gel Electrophoresis to an International Outbreak of *Salmonella* Agona. *Emerging Infectious Diseases*, 2(2): 77-85.

- EDWARDS P.R., HERMANN G. J., 1949. Two New *Salmonella* Types: *Salmonella* Corvallis and *Salmonella* Colorado. Enteric Bacteriology Laboratory, Communicable Disease Center, Public Health Service, Federal Security Agency, 7: 43-51.
- EFSA, European Food Safety Authority, 2012. <http://www.efsa.europa.eu/>
- EGLEZOS, S., HUANG, B., STUTTARD, E., 2008. A Survey of the Bacteriological Quality of Preroasted Peanut, Almond, Cashew, Hazelnut, and Brazil Nut Kernels Received into Three Australia. *Journal of Food Protection*, 7(3): 56-62.
- ERLICH AH., GELFAND D., SNINSKY JJ., 1991. Recent Advances in Polymerase Chain Reaction. *Science*, 252: 1643-1652.
- EROL I., 2010. Kanatlı Sektöründe Gıda Güvenliğini Etkileyen Barsak Patojenleri, ppt. http://www.ancnutrition.com/tr/PROF_DR_%C4%B0RFAN_EROL.pdf.
- EROL, I., HİLDEBRANDT, G., GONCUOGLU, M., KLEER, J. 2010. Serotype Distribution of *Salmonella* in Broiler Carcasses and Edible Offal in Turkey. *Fleischwirtschaft*, 90(9): 106 -109.
- FAOSTAT, Fao Statistics Division, 2008. <http://faostat.fao.org/>.
- GAO M., TANG J., VILLA-ROJAS R., WANG Y., WANG S., 2011. Pasteurization Process Development for Controlling *Salmonella* in In-shell Almonds Using Radio Frequency Energy. *Journal of Food Engineering*, 104(2011): 299-306.
- GAZİANTEP Tarım İl Müdürlüğü, 2009. Gaziantep.
- GIARCIA M., JACKWOOD WM., LEVISOHN S., KLEVEN HS., 1995. Detection of Mycoplasma Gallisepticum, M. Synoviae and M. Iowae by Multispecies Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism. *Avian Dis*, 39: 606-616.
- ISAACS, S., ARAMİNİ, J., CİEBİN, B., FARRAR, J.A., AHMED, R., MIDDLETON, D., CHANDRAN, A.U., HARRİS, L.J., HOWES, M., CHAN, E., PICHETTE, A.S., CAMPBELL, K., GUPTA, A., LİOR, L.Y., PEARCE, M., CLARK, C., RODGERS, F., JAMİESON, F., BROPHY, I., ELLİS, A., 2005. An International Outbreak of *Salmonellosis* Associated with Raw Almonds Contaminated with a Rare Phage Type of *Salmonella* Enteritidis. *Journal of Food Protection*, 68: 191–198.
- ISERİ O ve EROL I. 2010. Incidence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* spp. In Ground Turkey Meat. *British Poultry Science*, 51(1): 60-6.
- ISO 6579-2002. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs Horizontal Method for the Detection of *Salmonella* spp.
- JAY J.M., LOESSNER M.J., GOLDEN D.A. 2005. Foodborne Gastroenteritis Caused by *Salmonella* and *Shigella*. *Modern Food Microbiology*, 7th. Springer Science, Business Media, LLC, America, 26: 619-636.
- KANAN B ve AKŞİT F., 2003. Akut Gastro-enteritli Olgularda Campylobacter Sıklığının Araştırılması. *Enfeksiyon Dergisi*, 17 (1): 11-14.
- KIM, J. S., G. G. LEE, J. S. PARK, Y. H. JUNG, H. S. KWAK, S. B. KİM, Y. S. NAM AND S. T. KWON. 2007. A Novel Multiplex PCR Assay for Rapid and Simultaneous Detection of Five Pathogenic Bacteria: *Escherichia Coli* O157:H7, *Salmonella*, *Staphylococcus Aureus*, *Listeria Monocytogenes*, and *Vibrio Parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection*, 70(7): 1656-62.
- KIRK, D.M., LİTTLE, C.L., LEM, M., FYFE, M., TAN, A., THRELFALL, J., PACCAGNELLA, A., LİGHTFOOT, D., GENOBİLE, D., Lİ, H., MCINTYRE, L., CRAWFORD, C., WARD, L., BROWN, D.J., SURMAN, S., FİSHER, I.S.T., 2004. An Outbreak Due to Peanuts in Their Shell Caused by *Salmonella* Enterica Serotypes

- Stanley and Newportdsharing Molecular Information to Solve International Outbreaks. *Journal of Epidemiologic Infection*, 132: 571–577.
- KOCABIYIK A.L., CETİN C., DEDİCOVA D., 2006. Detection of *Salmonella* spp. In Stray Dogs in Bursa Province, Turkey: First Isolation of *Salmonella* Corvallis from Dogs. *Journal of Veterinary Medicine Infect Public Health, Uludag University*, 53(4): 194-6.
- MEAD P.S., SLUTSKER L., DIETZ V., MCCAIG L. F., BRESEE J. S., SHAPIRO C., GRIFFIN P. M. AND TAUXE R.V., 1999. Food-Related Illness and Death in the United States Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA.
- MULLER L., HJERTQVİST M., PAYNE L., PETTERSSON, H., OLSSON A., PLYM FORSHELL L., ANDERSSON Y., 2007. Assessment of the Microbiological Safety of Edible Roasted Nut Kernels on Retail Sale in England with a Focus on *Salmonella* spp. *Journal of Food Protection*, 18(2): 751–755.
- LITTLE, C.L., HUCKLESBY, L., JEMMOTT, W., SURMAN-LEE, S., DE PINNA E., 2009. Assessment of the Microbiological Safety of Edible Roasted Nut Kernels on Retail Sale in England with a Focus on *Salmonella* spp. *Journal of Food Protection*, 72: 853–855.
- LITTLE CL., RAWAL N. PINNA DE E., MCLAUCHLIN J., 2010. Survey of *Salmonella* Contamination of Edible Nut Kernels on Retail Sale in the UK. *Food Microbiology*, 27: 171–174.
- MUTLUER, B., YARGÜLÜ, B., HARTUNG, M., EROL, I. 1992. Incidence and Serovar Distribution of *Salmonella* in Market Broilers in Turkey. *Proceedings of 3 rd Congress of Foodborne Infections and Intoxications*. Berlin, 1076-1078.
- PERSING HD., 1991. Polymerase Chain Reaction Trenches to Benchs. *Journal of Clinical Microbiology*, 29: 1281-1285.
- ROBERTS, T.A., BAIRD-PARKER, A.C., TOMPKIN, R.B. V., 1998. Microorganizms in Foods. Blackie Academic and Profesional, London, 17(2): 217-264.
- SARIMEHMETOĞLU, B., EROL, İ., KÜPLÜLÜ, Ö., ÖZDEMİR, H. 1997. Tavuk Kesimhanesinde *Salmonella* Kontaminasyonu ve Serotip Dağılımı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 43: 85-90.
- SCHEIL W., CAMERON S., DALTON C., WILSON M. D., 2008. Australian *Salmonella* Mbandaka Outbreak Investigation Using a Database to Select Controls Australian and New Zealand. *Journal of Public Health*, 22(5): 71-76.
- STEVENS A., KEROUANTON A., MARAULT M., MİLLEMANN Y., BRİSABOİS A., CAVİN J-F., DUFOUR B., 2008. Epidemiological Analysis of *Salmonella* Enterica from Beef Sampled in the Slaughterhouse and Retailers in Dakar (Senegal) Using Pulsed-field Gel Electrophoresis and Antibiotic Susceptibility Testing. *International Journal of Food Microbiology*, 123(3):191-197.
- TEKİNŞEN K., ve ÖZDEMİR Z., 2006. Prevalence of Foodborne Pathogens in Turkish Van Otlı (Herb) Cheese. *Food Control*, 17(9): 707-711.
- UESUGI, A.R., DANYLUK, M.D., HARRİS, L.J., 2006. Survival of *Salmonella* Enteritidis Phage Type 30 on Inoculated Almonds Stored at 20, 4, 23 and 35°C. *Journal of Food Protection*, 69: 1851–1857.
- UPI, United Press International, 2009. Setton Farms Pistachios Recall Expanded. <http://www.upi.com/Science_News/2009/04/07/Setton-Farms-pistachios-recall-expanded/UPI-60891239109552/>.
- WAHBA, P., ve CHASAN, E., 2009. *Salmonella*-hit Peanut Company Files for Bankruptcy. Reuters.<http://www.reuters.com/article/businessNews/idUSTRE51C67C2009.0213>>.

- WHO, World Health Organization, 2001. Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe 8th Report 1999-2000. Country Reports-Turkey.
- WIEDMANN M., 2002. Methods in Nutrition Science-subtyping of Bacterial Foodborne Pathogens. *Nutrition Reviews*, 60(7): 201.
- WILLIAMSON K., ALLEN G., BOLTON F. J., 2001. Report of the Greater Manchester Lancashire Phls Liaison Group Survey on the Microbiological Examination of Pre-packed Fresh Raw Turkey Pieces and Outer Packaging. Survey Code No: 104003.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Şanlıurfa'da tamamladı. 2006 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı. Lisans eğitimini 2010 yılında tamamladı. 2010 yılında Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

ÖZET

Kontamine su ve gıdalar yolu ile insanlarda görülen gıda kaynaklı hastalıklar günümüz sorunlarının en önemlileri arasında yer almaktadır. Üretimde veya tüketimde gerekli hijyen koşullarına uyulmaması, tarladan çatala kadar olan zincir boyunca olası kontaminasyonlara karşı önlem alınmaması gıda kaynaklı hastalıkları beraberinde getirmektedir. *Salmonella*; Gram negatif, spor oluşturmeyen, insanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara neden olan en tehlikeli patojen bakterilerden biridir. Tanımlanmış 2541'in üzerinde serotipe sahip olan *Salmonella* insanlara genellikle hayvan ve/veya hayvan dışkıları ile kontamine olmuş gıdalar yolu ile geçer.

Antep fıstığı, Dünya üretiminde üçüncü sırada yer alan ülkemiz ve ülke içerisinde % 40'luk üretim payı ile ilk sırada yer alan Şanlıurfa bölgesi için önemli bir gelir kaynağıdır. Ancak, ülkemizde günümüze kadar Antep fıstığında *Salmonella* gibi önemli ve tehlikeli bir patojenin varlığı araştırılmamıştır. Yapılan bu çalışma ile Şanlıurfa'nın farklı bölgelerinden rastgele seçilen satış noktalarından 50 adet Antep fıstığı örneği alınarak incelenmiştir.

Çeşitli besiyerlerinde zenginleştirme yolu ile 50 örneğin 5'inde (3, 6, 10, 28, 50) *Salmonella* benzeri koloniler tespit edilmiştir. Kolonilerin doğrulanması işlemi ise Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. PZR sonucunda 3, 6 ve 10 numaralı örnekler *Salmonella* olarak doğrulanmıştır. Doğrulanmış izolatlar Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'na gönderilerek serotiplendirilmiştir. Serotiplendirme sonucunda 3 ve 10 numaralı örnek izolatlarının *Salmonella* Corvallis, 6 nolu örnek izolatının ise *Salmonella* Salford serotipi olduğu belirlenmiştir.

SUMMARY

Foodborne illnesses in humans via contaminated water and foods are among the most important problems of present. Failure at any step of farm to fork chain causes problems. *Salmonella* is a Gram negative bacteria, non-spore forming and causes variety problems in humans and animals. It is one of the most dangerous pathogenic bacteria. *Salmonella* has over 2541 defined serotypes and it is usually transmitted to people via contaminated foods and water with animal and/or human feces.

Pistachio is an important source of income for Turkey, which is the third producer in world, and for Sanliurfa, providing 40 % of pistachio produce of the country. But there isn't any surveillance study on the frequency of *Salmonella*, an important and dangerous pathogen, in pistachios. In this study, 50 pistachio retail samples were collected randomly from markets in different regions of Sanliurfa and analyzed for *Salmonella* presence.

Via enrichment with different mediums *Salmonella*-like colonies seen 5 of 50 samples (3, 6, 10, 28, 50). Confirmation of *Salmonella* was performed using Polymerase Chain Reaction (PCR). By PCR, colonies, isolated from sample numbers 3, 6 and were confirmed as *Salmonella*. Confirmed colonies were serotyped by public health agency of Turkey. In consequence of serotyping, isolates from samples number 3 and 10 were serotyped as *Salmonella* Corvallis, while an isolate from sample number 6 represented *Salmonella* Salford.