



Sodyum Aljinat Filmle Kaplanmış
Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında
Listeria monocytogenes
İnhibisyonunda Listex P100
Bakteriyofajının Kullanılması

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Hatice Gündüz

ORCID 0000-0002-9899-8635

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatma Öztürk

Aralık 2021

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Öğrencisi **Hatice Gündüz** tarafından hazırlanan **Sodyum Aljinat Filmle Kaplanmış Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında *Listeria monocytogenes* İnhibisyonunda Listex P100 Bakteriyofajının Kullanılması** başlıklı bu çalışma tarafımızca okunmuş olup, yapılan savunma sınavı sonucunda kapsam ve nitelik açısından başarılı bulunarak jürimiz tarafından DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

ONAYLAYANLAR

Tez Danışmanı: **Doç. Dr. Fatma Öztürk**
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Abdulkadir Halkman
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Berna Kılınç
Ege Üniversitesi

Doç. Dr. Sevim Hamzaçebi
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Doç. Dr. Serkan Koral
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Savunma Tarihi: 24.12.2021

Yazarlık Beyanı

Ben, **Hatice Gündüz**, başlığı **Sodyum Aljinat Filmle Kaplanmış Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında *Listeria monocytogenes* İnhibisyonunda Listex P100 Bakteriyofajının Kullanılması** olan bu tezimin ve tezin içinde sunulan bilgilerin şahsıma ait olduğunu beyan ederim. Ayrıca:

- Bu çalışmanın bütünü veya esası bu üniversitede Doktora derecesi elde etmek üzere çalıştığım süre içinde gerçekleştirilmiştir.
- Daha önce bu tezin herhangi bir kısmı başka bir derece veya yeterlik almak üzere bu üniversiteye veya başka bir kuruma sunulduysa bu açık biçimde ifade edilmiştir.
- Başkalarının yayımlanmış çalışmalarına başvurduğum durumlarda bu çalışmalara açık biçimde atıfta bulundum.
- Başkalarının çalışmalarından alıntıladığımda kaynağı her zaman belirttim. Tezin bu alıntılar dışında kalan kısmı tümüyle benim kendi çalışmamdır.
- Kayda değer yardım aldığım bütün kaynaklara teşekkür ettim.
- Tezde başkalarıyla birlikte gerçekleştirilen çalışmalar varsa onların katkısını ve kendi yaptıklarımı tam olarak açıkladım.

Tarih: 24.12.2021

Sodyum Aljinat Filmle Kaplanmış Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında *Listeria monocytogenes* İnhibisyonunda Listex P100 Bakteriyofajının Kullanılması

ÖZ

Listeria monocytogenes önemli bakteriyel gıda patojenlerinden birisidir. Tütsülenmiş su ürünlerinin tuz içeriği, nem içeriği, pH ve su aktivitesi değerleri bu patojenin gelişimi için oldukça elverişlidir. Ayrıca, tütsüleme aşamasından sonra ürünlerin dilimlenmesi veya paketlenmesi sırasında kontaminasyon meydana gelebilmektedir. Bu şekilde kontamine olan ürünlerin, ısıl işlem uygulanmadan tüketilmesi listeriosis açısından risk teşkil etmektedir. Bu patojenin kontrolü için gıda sanayisinin yeni yöntemlere ihtiyacı vardır. *L. monocytogenes* açısından riskli ürünlerde bakteriyofajların kullanımı alternatif bir yaklaşım sunmaktadır. Bu çalışmada, su ürünlerinde *Listeria* spp. varlığını belirlemek, *L. monocytogenes*'e etkili bakteriyofaj izolasyonunu gerçekleştirmek, bakteriyofaj içeren uygulamaların (film içerisine ilave-direkt uygulama) tütsülenmiş alabalıkta *L. monocytogenes* üzerine etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır. İlk aşamada, toplam 100 adet taze ve tüketime hazır su ürünü analize alınarak, *Listeria* türlerinin bulunma oranları araştırılmıştır. İkinci aşamada, su ürünleri örneklerinde ve su ürünleri işleme fabrikası atıklarında *Listeria* bakteriyofajlarının varlığı araştırılmıştır. Son aşamada Listex P100 bakteriyofajının

kullanımının tütülenmiş su ürünlerinde *L. monocytogenes* üzerine olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda, ilk olarak in vitro ortamda denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, 10^{10} , 10^8 , 10^6 pob/mL Listex P100 fajının kullanımının *L. monocytogenes* üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Daha sonra, bakteriyofaj içeren sodyum aljinat film hazırlanmış ve antimikrobiyel etkinliği değerlendirilmiştir. Son aşamada ise *L. monocytogenes* inoküle edilmiş tütülenmiş alabalıklara direkt faj uygulaması ve faj ilave edilen film uygulamasının *L. monocytogenes* üzerine etkisi incelenmiştir.

Yapılan bu çalışma sonucunda analize alınan 100 adet su ürününde %40 oranında *Listeria* spp. izole edilmiştir. Bu izolatların %8'i *L. monocytogenes*, %15'i *L. innocua*, %6'sı *L. seeligeri*, %10'u *L. welshimeri* ve %1'i *L. grayi* olarak belirlenmiştir.

Broth ortamında, 10^{10} ve 10^8 pob/mL Listex P100 faj kullanımı *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda etkili bulunmuştur. $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da 15 günlük depolama süresi boyunca, 10^{10} ve 10^8 pob/mL faj uygulaması *L. monocytogenes* üzerinde 2,99-4,68 log kob/mL düzeyinde azalma sağlamıştır. $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da 7 günlük depolama periyodu boyunca, doğrudan bakteriyofaj uygulanan filetolarda *L. monocytogenes* sayısı, bakteriyofajlı film uygulanmış filetolara kıyasla 1,78 log kob/g daha fazla azalmıştır ($p<0,05$). Ayrıca, bakteriyofaj içeren filmle kaplanan grubun *L. monocytogenes* sayısı, bakteriyofaj ilave edilmeyen kontrol filmiyle kaplanan gruba kıyasla 1,67 log kob/g daha çok azalmıştır. Sonuç olarak, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da depolama periyodu boyunca bakteriyofaj-film ve doğrudan bakteriyofaj uygulamalarının (10^8 pob/g) tütülenmiş alabalık filetolarında 10^6 kob/g *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca depolama periyodunda, iki grubunda faj stabilitesini koruması tütülenmiş ürünlerde *L. monocytogenes*'in kontrolünü sağlamak amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: *Listeria monocytogenes*, bakteriyofaj, Listex P100, sodyum aljinat film, su ürünleri

The Use of Bacteriophage Listex P100 in Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Smoked Trout Fillet Coated with Sodium Alginate Film

Abstract

Listeria monocytogenes is one of the important bacterial food pathogens. Salt content, moisture content, pH, and water activity values in smoked seafood are very proper for the development of this pathogen. In addition, contamination may occur in these products during the slicing or packaging of the products after the smoking step. Contaminations occurring in this step pose a risk in terms of listeriosis as these products are consumed without reprocessing after purchase. The food industry needs new methods for the control of this pathogen. The use of bacteriophages in products at risk for *L. monocytogenes* offers an alternative approach. This study was carried out to determine the presence of *Listeria* spp. in seafood, perform bacteriophage isolation effective against *L. monocytogenes* and determine the effect of bacteriophage applications (adding to the film and applying directly to the surface) on the smoked trout. In this context, a total of 100 fresh and ready-to-eat seafood products were analyzed and the rates of *Listeria* species were investigated. In the second stage, *Listeria* bacteriophage was isolated from seafood samples and seafood processing factory waste. In the last stage, it was aimed to determine the effect of Listex P100

bacteriophage on *L. monocytogenes* in smoked trout. For these purposes, in vitro experiments were carried out firstly. The effect of using 10^{10} , 10^8 , 10^6 pfu/mL phage concentrations in vitro medium on *L. monocytogenes* was investigated. In the next step, a sodium alginate film containing bacteriophage was prepared and its antimicrobial activity was evaluated. At the last stage, the effects of direct phage application to *L. monocytogenes* inoculated smoked trout and the application of phages added to the film on *L. monocytogenes* were investigated.

In this study, 40% of the 100 products analyzed were defined as *Listeria* spp. 100 seafood samples, *L. monocytogenes* was isolated from 8%, *L. innocua* from 15.0%, *L. seeligeri* from 6.0% and *L. welshimeri* from 10.0%, *L. grayi* from 1%.

Listex P100 phage concentrations of 10^{10} and 10^8 PFU (Plaque-Forming Units)/mL were found to be effective in the inactivation of *L. monocytogenes* in the broth system. During 15 day storage period at 10 °C, 10^{10} and 10^8 PFU/mL phage treatments resulted in a reduction of 2.99-4.68 log on *L. monocytogenes*. Although the number of *L. monocytogenes* in bacteriophage application applying directly to the surface of smoked trout fillets resulted in an average reduction of 1.78 log ($p < 0.05$) compared to the number of *L. monocytogenes* in application bacteriophage in alginate films over 7 days of storage, application of bacteriophage in alginate films resulted in a 1.67 log reduction in storage compared to the control film without the addition of bacteriophage. The results showed that bacteriophage application in alginate film was also effective in the inactivation of *L. monocytogenes*. Bacteriophage in sodium alginate based film and direct bacteriophage applications (10^8 PFU/g) were found to be effective in 10^6 CFU/g *L. monocytogenes* inhibition during 7 days of storage in 10 °C. In addition, the preservation of phage stability of the 2 groups during storage in 10 °C indicates that the smoked products can use in the control of *L. monocytogenes*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, bacteriophage, Listex P100, sodium alginate film, seafood

Canım aileme...

Teşekkür

Doktora öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, hayatımın her alanında desteği ile yanımda olan çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Fatma ÖZTÜRK'e gösterdiği destek ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Değerli görüşleri ile tezime vermiş oldukları destek ve yapmış oldukları katkıları için Prof. Dr. Abdulkadir HALKMAN'a ve çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Sevim HAMZAÇEBİ'ye teşekkür ederim.

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen hayat arkadaşım Fettah GÜNDÜZ'e çalışmalarımındaki yardımları için teşekkür ediyorum. Yoğun çalışmalarım sırasında sabır gösterdiği için canım oğlum Ömer Ali GÜNDÜZ'e şükranlarımı sunuyorum.

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora programında yapılan bu tez çalışması İKÇÜ Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü "2017-TDR-FEBE-0036" nolu proje tarafından desteklenmiştir. Bu kapsamda İKÇÜ Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim. Ayrıca doktora eğitimim sırasında 2211/C burs programı ile beni destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Son olarak Listex P100 bakteriyofajının temini konusunda bize yardımcı olan Micros Food Safety firmasına teşekkürlerimi sunuyorum.

Hatice GÜNDÜZ

İçindekiler

Yazarlık Beyanı.....	ii
Öz.....	iii
Abstract.....	v
Teşekkür.....	viii
İçindekiler	ix
Şekiller Listesi.....	xiv
Tablolar Listesi.....	xvi
Kısaltmalar Listesi	xvii
1 Giriş.....	1
1.1 <i>Listeria</i> spp.....	3
1.1.1 <i>Listeria</i> spp.'nin Genel Özellikleri	3
1.1.2 <i>L. monocytogenes</i> 'in Taksonomisi ve Tarihçesi.....	4
1.1.3 Listeriozis	5
1.1.3.1 Gastrointestinal Listeriozis.....	7
1.1.3.2 Sistematik Listeriozis	7
1.1.3.3 Düşüğe Neden Olan ve Yeni Doğanlarda Etkili Olan Listeriozis	8
1.1.4 Patojenin Kaynağı, Gıdalarda Yasal Sınırlar ve Listeriozis Vakaları	8
1.1.5 Gıdalarda ve Su Ürünlerinde <i>L. monocytogenes</i>	11
1.2 Bakteriyofaj.....	12
1.2.1 Bakteriyofajların Keşfi	13
1.2.2 Temel Faj Biyolojisi: Litik ve İlman Faj.....	13

1.2.3	Bakteriyofajların Konakçı Enfeksiyonu	17
1.2.3.1	Adsorpsiyon (Yüzeğe Tutunma)	17
1.2.3.2	Penetrasyon ve Enjeksiyon (Nüfuz Etme).....	18
1.2.3.3	Biyosentez	19
1.2.3.4	Hücre Lizisi ve Fajların Salınması	19
1.2.4	<i>L. monocytogenes</i> 'in Biyokontrolünde Bakteriyofaj Kullanımı.....	20
1.2.5	Gıdalarda Biyokontrol Ajanı Olarak Kullanılan Fajların İstenen Özellikleri	28
1.2.6	Biyokontrolde Faj ve Konakçı Konsantrasyonunun Etkisi	29
1.2.8	Gıdalarda Faj Lizininin Kullanımı	30
1.2.9	Bakteriyofaj ile Biyokontrolün Avantajları	30
1.2.10	Bakteriyofaj ile Biyokontrolün Dezavantajları.....	31
1.3	Tütsüleme Teknolojisi	32
1.3.1	Tütsüleme Metotları	33
1.3.2	Tütsüleme İşlem Basamakları	34
1.3.3	Tütsüleme Sürecinde Balık Kasında Meydana Gelen Değişimler ...	34
1.3.4	Tütsülenmiş Balık Ürünlerinin Kalitesini Etkileyen Faktörler.....	35
1.3.4.1	Ham Madde	35
1.3.4.2	Tütsüleme İçin Kullanılan Ağaç Türleri	36
1.3.4.3	Tuzlama Süreci.....	36
1.3.4.4	Kurutma Metodu	37
1.3.5	Tütsülenmiş Balıklarda Dumanın Etkileri	37
1.3.5.1	Dumanın Bakterisit Özellikleri	37
1.3.5.2	Dumanın Antioksidan Özellikleri	38
1.3.5.3	Dumanın Balığın Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi.....	38
1.3.5.4	Dumanın Kanserojen Etkisi.....	38

1.3.6	Tütsülenmiş Balıklarda Raf Ömrü.....	39
1.3.7	Tütsülenmiş Balıklarda <i>L. monocytogenes</i>	39
1.4	Yenilebilir Filmler-Kaplamalar	43
1.4.1	Üretildikleri Malzeme Türleri	45
1.4.1.1	Proteinler	45
1.4.1.2	Polisakkarit.....	46
1.4.1.3	Lipit	46
1.4.2	Yenilebilir Film ve Kaplamaların Avantajları.....	47
1.4.3	Yenilebilir Film ve Kaplamaların Dezavantajları	47
1.4.4	Sodyum Aljinat Film ve Kaplamalar.....	48
1.4.5	Antimikrobiyel Yenilebilir Filmler ve Uygulamaları.....	48
2	Materyal ve Metot	54
2.1	Materyal	54
2.1.1	İzolasyon Materyali	54
2.1.2	Bakteriler	58
2.1.3	Bakteriyofaj	59
2.1.4	Balık Materyali	61
2.1.5	Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler	61
2.1.5.1	CASO (Tryptic Soy) Broth Besiyeri (Merck 1.05459)	61
2.1.5.2	Tryptic Soy agar (TSA) Besiyeri (Merck 1.05458)	61
2.1.5.3	Mueller-Hinton Agar (MHA) Besiyeri (Merck 1.05437) ..	61
2.1.5.4	Tryptone Soya Yeast Extract Besiyeri	61
2.1.5.5	Fraser Listeria Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398).....	62
2.1.5.6	PALCAM Agar Besiyeri (Merck 1.11755).....	62
2.1.5.7	Phenol Red Broth Base (Merck 1.10987)	62

2.1.5.8	Kanlı Agar	63
2.1.5.9	Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi.....	63
2.1.6	Sıvı Tütsü ve Tuz.....	63
2.1.7	Sodyum Aljinat.....	63
2.2	Metot.....	64
2.2.1	<i>Listeria</i> İzolasyonu ve İzolatların Doğrulanması	64
2.2.1.1	Su Ürünlerinde <i>Listeria</i> İzolasyonu ve İzolatların Biyokimyasal Olarak Doğrulanması	64
2.2.1.2	İzole edilen <i>L. monocytogenes</i> İzolatlarının Moleküler Doğrulanması	67
2.2.2	Çalışmada Kullanılan <i>L. monocytogenes</i> İnokulumlarının Hazırlanması.....	69
2.2.3	<i>Listeria</i> Bakteriyofaj İzolasyonu	70
2.2.3.1	İzolasyonu Yapılan <i>Listeria</i> Bakteriyofajlarının Safılaştırılması (Tek plak izolasyonu).....	71
2.2.3.2	<i>Listeria</i> Bakteriyofaj Titresinin Belirlenmesi ve Zenginleştirilmesi.....	72
2.2.4	Listex P100'ün in vitro Ortamda <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 Gelişimi Üzerine Etkisi	73
2.2.5	Bakteriyofaj İçeren Sodyum Aljinat Film Hazırlanması ve Antimikrobiyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi.....	75
2.2.5.1	Sodyum Aljinat Film Hazırlanması.....	75
2.2.5.2	Sodyum Aljinat Filmin Antimikrobiyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi	76
2.2.6	Alabalık Filetolarına Sıvı Tütsü İşleminin Uygulanması.....	76
2.2.6.1	Tütsülenmiş Alabalık Filetolarına <i>L. monocytogenes</i> İnokulasyonu	77
2.2.6.2	Deneme Gruplarının Oluşturulması	78
2.2.6.3	<i>L. monocytogenes</i> İnoküle Edilen Tütsülenmiş Alabalık Filetolarına Bakteriyofaj Uygulamaları.....	79

2.2.6.4	<i>L. monocytogenes</i> İnoküle Edilen Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Depolama Boyunca <i>L. monocytogenes</i> ve Bakteriyofaj Sayısında Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi.....	80
2.2.7	İstatistik Analizleri	81
3	Bulgular.....	82
3.1	<i>Listeria</i> Türlerinin Taze ve Tüketime Hazır Su Ürünlerinde Bulunma Oranları.	82
3.2	<i>Listeria</i> Bakteriyofajının İzolasyonu ve Titrelerinin Belirlenmesi.....	84
3.2.1	<i>Listeria</i> Bakteriyofajının İzolasyonu.....	84
3.2.1	<i>Listeria</i> Bakteriyofaj İzolatlarının Saflaştırılması, Titresinin Belirlenmesi ve Zenginleştirilmesi.....	85
3.3	Listex P100 Bakteriyofajının Broth Sistemi İçerisinde <i>L. monocytogenes</i> Üzerine Etkisi.....	86
3.3.1	Listex P100 Bakteriyofajının in vitro Ortamda <i>L. monocytogenes</i> Üzerine Etkisi	86
3.3.2	In vitro Ortamda <i>L. monocytogenes</i> Üzerine Etkisi Araştırılan Listex P100 Bakteriyofajının Stabilitesi.....	88
3.4	Bakteriyofaj İçeren Sodyum Aljinat Filmin Antimikrobiyel Etkinliği.....	90
3.5	Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Bakteriyofaj Uygulamalarının <i>L. monocytogenes</i> Üzerine Etkileri ve Filetolarında Depolama Süresince Faj Stabilitésinin Tespit Edilmesi	91
3.5.1	Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Bakteriyofaj Uygulamalarının <i>L. monocytogenes</i> Üzerine Etkileri.....	91
3.5.2	Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Depolama Boyunca Bakteriyofaj Stabilitésinin Tespit Edilmesi.....	93
4	Tartışma	95
5	Sonuç.....	107
	Kaynaklar	109
	Ekler.....	139
	Özgeçmiş	140

Şekiller Listesi

Şekil 1.1	Farklı tipte faj çeşitlerinin elektron mikroskobu altında görüntüleri [79]...	15
Şekil 1.2	Fajların kuyruk tiplerine göre sınıflandırılması [70].....	16
Şekil 1.3	Litik ve lizogenik döngü [31].....	17
Şekil 1.4	Fajın konakçı bakteri hücrelerine adsorbsiyonu [31].....	18
Şekil 1.5	Fajın konakçı bakteri hücrelerine penetrasyonu [31].....	19
Şekil 1.6	Bakteriyofajın bakteri hücresi içinde üreme ve gelişme dönemi [31]	19
Şekil 1.7	Bakteriyofajın bakteri hücrelerini lizise uğratması [31]	20
Şekil 2.1	<i>Listeria</i> spp. izolasyonu için kullanılan örnekler	54
Şekil 2.2	Palcam Agar'da <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644'ün koloni morfolojisi .	59
Şekil 2.3	Micreos Food Safety firmasından temin edilen Listex P100 bakteriyofajı	60
Şekil 2.4	Listex P100 fajlarının <i>L. monocytogenes</i> 'e karşı TSA'da oluşturduğu plakların görüntüsü.....	60
Şekil 2.5	Film üretiminde kullanılan sodyum aljinat	64
Şekil 2.6	<i>Listeria</i> spp.'nin ISO metoduna göre izolasyonu	66
Şekil 2.7	Karbonhidrat ve CAMP testlerinin gerçekleştirilmesi	67
Şekil 2.8	<i>L. monocytogenes</i> inokulumunun 0,5 MacFarland standardına göre hazırlanması	70
Şekil 2.9	Bakteriyofaj izolasyon aşamaları	71
Şekil 2.10	Çift tabaka agar metoduna göre bakteriyofaj sayısının belirlenmesi	73
Şekil 2.11	Listex P100'ün in vitro ortamda <i>L. monocytogenes</i> gelişimi üzerine etkisinin tespiti için oluşturulan deneme grupları	74
Şekil 2.12	Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat bazlı filmlerin hazırlanması	75
Şekil 2.13	Sıvı tütsü işleminin uygulanması	77
Şekil 2.14	Tütsülenmiş alabalık filetolarına <i>L. monocytogenes</i> inokulasyonu	78

Şekil 2.15	Tütsülenmiş alabalık filetoları için sodyum aljinat filmin hazırlanması ve uygulanması	80
Şekil 2.16	Tütsülenmiş alabalık filetolarında <i>L. monocytogenes</i> ve bakteriyofaj sayısının tespiti için filetoların stomacher cihazında homojenizasyonu .	81
Şekil 3.1	İzole edilen <i>L. monocytogenes</i> 'in Palcam Agar'daki koloni morfolojisi	83
Şekil 3.2	Çift tabaka agar yöntemi ile izole edilen fajların <i>L. monocytogenes</i> 'e karşı TSA üzerinde oluşturduğu plak görüntüsü.....	85
Şekil 3.3	<i>L. monocytogenes</i> 'e karşı litik aktivite gösteren <i>Listeria</i> bakteriyofaj izolatlarının çift tabaka agar metoduyla titresinin belirlenmesi	86
Şekil 3.4	<i>L. monocytogenes</i> üzerine Listex P100 bakteriyofajının etkisi (10 °C'da) (log kob/mL)	88
Şekil 3.5	10 °C'da Listex P100 bakteriyofajının stabilitesi (log pob/mL).....	89
Şekil 3.6	Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat filmin <i>L. monocytogenes</i> 'e karşı antimikrobiyel etkinliği	90
Şekil 3.7	10 °C'da depolanan tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj uygulamaların <i>L. monocytogenes</i> üzerine etkisi (log kob/g).....	92
Şekil 3.8	10 °C'da depolanan tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj stabilitesi (log pob/g).....	94

Tablolar Listesi

Tablo 1.1	<i>Listeria</i> 'nın gelişimini kısıtlayan parametreler [16,38,39,43,44].....	3
Tablo 1.2	<i>Listeria</i> spp.'nin ayırımında yaygın olarak kullanılan testler.....	4
Tablo 1.3	<i>L. monocytogenes</i> 'in tarih boyunca farklı araştırmacılar tarafından isimlendirilmesi.....	5
Tablo 1.4	Listeriozis vakalarının ortaya çıkabileceği kişiler [40].....	6
Tablo 2.1	<i>Listeria</i> spp. izolasyonu yapılan taze su ürünleri örnekleri.....	55
Tablo 2.2	<i>Listeria</i> spp. izolasyonu yapılan işlenmiş su ürünleri örnekleri.....	56
Tablo 2.3	Faj izolasyonu yapılan örnekler	58
Tablo 2.4	<i>Listeria</i> spp.'nin ayırımında kullanılan biyokimyasal testler.....	65
Tablo 2.5	PZR karışım içerikleri	68
Tablo 2.6	PZR koşulları.....	68
Tablo 3.1	<i>Listeria</i> türlerinin su ürünlerinde bulunma oranları (%).....	83
Tablo 3.2	İzole edilen fajlar ve izole edildiği kaynaklar	84
Tablo 3.3	<i>L. monocytogenes</i> üzerine Listex P100 bakteriyofajının etkisi (10 °C'da) (log kob/mL)	87
Tablo 3.4	10 °C'da in vitro ortamda <i>L. monocytogenes</i> üzerine etkisi araştırılan Listex P100 bakteriyofajının stabilitesi (log pob/mL)	89
Tablo 3.5	10 °C'da depolanan tütülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj uygulamaların <i>L. monocytogenes</i> üzerine etkisi (log kob/g).....	91
Tablo 3.6	10 °C'da depolanan tütülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj stabilitesi (log pob/g).....	93

Kısaltmalar Listesi

μL	Mikrolitre
μM	Mikrometre
CAMP	Christie-Atkins-Munch Petersoni
FDA	Food and Drug Administration
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
ISO	Uluslararası Standartlar Organizasyonu (International Organization for Standardization)
ORCID	Open Researcher and Contributor ID
kob	Koloni Oluşturan Birim
pob	Plak Oluşturan Birim
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
PZR-PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Polymerase Chain Reaction
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
GRAS	Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (Generally Recognized as Safe)
TSB	Tryptic Soy Broth
TSA	Tryptic Soy Agar
MHA	Mueller-Hinton Agar
TSYE	Tryptone Soya Yeast Extract
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
İKÇÜ	İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
BAP	Bilimsel Araştırma Projesi
w/v	Ağırlık/hacim

w/w	Ağırlık/ağırlık
v/v	Hacim/hacim
ATCC	American Type Culture Collection
MAP	Modifiye atmosfer paketlenme

Bölüm 1

Giriş

Listeria doğada yaygın olarak bulunan Gram-pozitif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde bir bakteridir. *Listeria* spp. düşük pH (4,3-9,5), geniş sıcaklık aralığı (-0,4 ile 50 °C) ve 0,92'nin üzerindeki su aktivitesine sahip farklı koşullar altında gelişebilmektedir. *Listeria* spp.'nin bu şartlar altında gelişim göstermesi gıda kaynaklı hastalıklar için risk oluşturmaktadır [1,2]. *Listeria* türleri arasında *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) listeriozise sebep olmasından dolayı ön plana çıkarken, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri*, *Listeria ivanovii* ve *Listeria seeligeri* sporadik enfeksiyonlar ile ilişkilidir [2,3].

Listeriozis, septisemi ve menenjit gibi ciddi semptomlara neden olmakta, hamileler, yeni doğan bebekler, bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler ve yaşlılarda yüksek ölüm oranlarına yol açmaktadır [4,5]. Listeriozis, Avrupa'da en önemli gıda kaynaklı hastalıklar arasında 5. sırada yer almış ve 2016'da kontamine gıdaların tüketiminden kaynaklanan en yaygın (%16,2) ölüm nedeni olarak bildirilmiştir [6,7].

Listeriozis, öncelikle süt ürünleri, sığır eti, domuz eti, kümes hayvanları ve deniz ürünlerinin tüketimi ile ilişkilidir [8]. Gıda kaynaklı hastalıklar açısından değerlendirildiğinde, tüketime hazır gıdaların *L. monocytogenes* için riskli ürünler olduğu belirtilmiştir [5]. Sebebi ise tüketime hazır gıda ürünlerinin, bakteriyel inaktivasyon işlemi olmadan doğrudan tüketilmesidir [9]. Ayrıca, *L. monocytogenes*, buzdolabı koşullarında [10] ve farklı atmosferlerde [11] gelişme kabiliyetine sahip olup, tüketime hazır gıdalarda patojenin gelişimini desteklemektedir.

Tüketime hazır gıdalardan olan tütülenmiş ürünlerin tuz içeriği (%2-8), nem içeriği (%65-78), pH (5,9-6,3) ve su aktivitesi değeri (0,95-0,98) *L. monocytogenes* gelişimi

için oldukça uygundur. Bu nedenle, tütülenmiş su ürünleri Listeriozis açısından riskli gıdalar sınıfına girmektedir [12,13].

L. monocytogenes, sanayileşmiş ülkelerde gıda enfeksiyonlarından kaynaklanan en önemli ölüm nedenleri arasında yer almaktadır [14]. Özellikle minimal işlem görmüş, tüketime hazır ürünlere uygulanan muhafaza yöntemleri, bu bakterinin kontaminasyonunu ve gelişmesini engellemek için genellikle yetersizdir [9]. Gıdalar, işleme sonrasında veya paketleme sırasında kontaminasyona maruz kalabilirler [15]. Tüketime hazır ürünlerde, *L. monocytogenes*'in kontrolünün sağlanması için yenilikçi yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır [16,17]. Bu yenilikçi yaklaşımlara bakteriyofaj kullanımı iyi bir alternatiftir [18]. Gıdalarda *L. monocytogenes* gelişiminin engellenmesinde bakteriyofaj kullanımının oldukça etkili olduğu bilinmektedir [19–23]. Bakteriyofajlar bakteriyel hücreleri istila eden virüslerdir, litik fajlar bakteriyel metabolizmayı bozarak bakterinin lize olmasına neden olurlar [24]. Bir nevi fajlar bakterilerin doğal düşmanları olarak kabul edilebilir ve *Listeria* gibi gıda patojenlerinin kontrolünde ajan olarak kullanılabilirler [17]. ListShield, EcoShield, Agriphage, SalmoFresh ve Listex P100 gibi ticari olarak hazırlanmış birçok faj ürünü bulunmaktadır [18,25,26]. Food and Drug Administration (FDA), *L. monocytogenes* kontaminasyonu ile mücadelede, Listex P100 bakteriyofajının tüm çiğ ve tüketime hazır gıdalara 10^9 pob/g düzeyini geçmeyecek şekilde ilavesini onaylamıştır [19].

Bakteriyofajların su ürünlerinde, ürüne doğrudan ilave edildiği birçok çalışma bulunmaktadır [19,21,27–29]. Bu çalışmalar sonucunda su ürünlerinde doğrudan faj uygulamasının etkili olduğu bildirilmiştir. Bakteriyofaj içeren filmler, gıda ambalaj uygulamaları için umut vericidir [30]. Kırmızı et, tavuk eti, hindi eti ve sebze ürünleri üzerinde yenilebilir film içerisinde fajların kullanıldığı birçok çalışma [31–36] olmasına rağmen, su ürünleri güvenliğinin sağlanmasında yenilebilir film içerisinde bakteriyofajların kullanıldığı çalışma sayısı yok denecek kadar azdır [37]. Bu çalışmada, su ürünlerinde *Listeria* spp. varlığının belirlenmesi, *Listeria* bakteriyofaj izolasyonlarının gerçekleştirilmesi, izole edilen ve ticari olarak temin edilen Listex P100 bakteriyofajlarının kullanımının (film içerisine ilave-direkt uygulama) tütülenmiş alabalık filetolarında *L. monocytogenes* üzerine olan etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

1.1 *Listeria* spp.

1.1.1 *Listeria* spp.’nin Genel Özellikleri

Listeria türleri doğada yaygın olarak bulunur, biyofilm oluşturur, geniş pH aralıklarında (4,3-9,5 pH), yüksek tuz konsantrasyonunda (%10’dan yüksek) ve antimikrobiyel ajanların varlığında hayatta kalabilirler. Psikrofiliktir ve buzdolabı sıcaklığı dahil geniş sıcaklık (-0,4 ile 50 °C) aralıklarında gelişimlerini sürdürürler [38,39]. 0,92 ve üzerindeki su aktivite değerlerinde gelişim gösterirler [40]. *Listeria*’nın gelişimini kısıtlayan parametreler Tablo 1.1’de verilmiştir. Mevcut durumda *Listeria* cinsinde *Listeria sensu stricto* (*L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *Listeria marthii*) ve *Listeria sensu lato* (*Listeria fleischmannii*, *Listeria grayi*, *Listeria rocourtiae*, *Listeria weihenstephanensis*, *Listeria floridensis*, *Listeria aquatica*, *Listeria cornellensis*, *Listeria riparia*, *Listeria grandensis*, *Listeria booriae*, *Listeria newyorkensis*) olarak gruplandırılmış on yedi tür bulunmaktadır [3,41]. Bu türler arasında bulunan *L. monocytogenes*, gıda kaynaklı hastalıklardan olan listeriozisin sebebidir [3,42]. *L. monocytogenes*, küçük (0,5 µm çapında, 1-2 µm uzunluğunda), Gram pozitif, spor oluşturmeyen ve fakültatif anaerobik çubuk şeklinde bir bakteridir. Katalaz pozitif ve oksidaz negatif bakterilerdir ve kanlı agar üzerinde beta-hemoliz zonu oluştururlar [38,40]. *Listeria* spp. 20-25 °C inkübe edildiğinde az sayıda flagellası sayesinde hareketli iken, 37 °C inkübe edildiğinde çok az hareketli veya hareketsizdir [40]. *Listeria* türlerinin ayırımında yaygın olarak kullanılan testler Tablo 1.2’de verilmiştir.

Tablo 1.1: *Listeria*’nın gelişimini kısıtlayan parametreler [16,38,39,43,44]

	Minimum	Maksimum
Sıcaklık (°C)	-0,4	50
pH	4,3	9,5
Su aktivitesi	0,92	-
Tuzluluk (%)*	<0,5	12

**L. monocytogenes* %0,5-12 tuz derişiminde gelişebilir, %20’in üzerindeki tuz içeriğinde aylarca canlı kalabilir.

Tablo 1.2: *Listeria* spp.'nin ayırımında yaygın olarak kullanılan testler

Tür	β hemoliz	Asit Üretimi			CAMP Testi	
		Ramnoz	Ksiloz	Mannitol	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	-	+	-
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	++	-	+	-	-	++
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-	-	-
<i>L. seeligeri</i>	(+)	-	+	-	(+)	-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	+	-	-

* ++ = Güçlü pozitif reaksiyon, + = Pozitif reaksiyon, (+) = Zayıf pozitif reaksiyon, - = Negatif reaksiyon, V = Değişken [43]

1.1.2 *L. monocytogenes*'in Taksonomisi ve Tarihçesi

Tablo 1.3'de belirtildiği üzere *L. monocytogenes* bugüne kadar farklı araştırmacılar tarafından farklı isimler ile adlandırılmıştır. Günümüzde *L. monocytogenes* olarak bildiğimiz Gram pozitif basil şeklindeki bakteri Murray ve diğ. [45] tarafından ilk defa detaylı olarak tanımlanmıştır [46]. Araştırmacılar bu bakteriyi domuz ve tavşanlardan izole etmiş ve monositozla karakterize ettikleri için izolata *Bacterium monocytogenes* ismini vermişlerdir. İlerleyen yıllarda Pirie [47] enfekte gerbilin karaciğerinden benzer basili izole etmiş ve *Listerella hepatolytica* olarak adlandırmıştır. Pirie [47] bakterinin jenerik ismini seçerken bakteriyoloji alanında iyi bilinen “Lord Lister” onuruna “*Listerella*” ön adını vermiştir. Ancak bu isim bir küf türünde de kullanıldığı için bakteri *L. monocytogenes* diye adlandırılarak günümüzde kullanılan son halini almıştır [46,48,49].

Listeria'nın diğer bakteriler ile ilişkisi 1970'e kadar karışıklığını korumuştur. 1923, 1925 ve 1930'lu yıllarda yayınlanan “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology”nin ilk üç basımında *Listeria* bulunmazken, 1934 yılında yayınlanan basımda *Listeria Corynebacteriaceae* familyasının *Kurthia* grubuna dahil edilmiştir. Son olarak *Listeria Lactobacillus*, *Erysipelothrix*, *Brochothrix*, *Ranibacterium*,

Kurthia, ve *Caryophanon* “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology”de düzenli, spor oluşturmayan, Gram (+) çubuklar bölümüne dahil edilmiştir [40].

Tablo 1.3: *L. monocytogenes*'in tarih boyunca farklı araştırmacılar tarafından isimlendirilmesi

Araştırmacı	Yıl	İsimlendirme
Hulphers	1911	<i>Bacterium hepatis</i>
Murray ve diğ.	1926	<i>Bacterium monocytogenes</i>
Pirie	1927	<i>Listerella hepatolytica</i>
Nyfeldt	1929	<i>Listerella hominis</i>
Schultz ve diğ.	1934	<i>Corynebacterium parvulum</i>
Gill	1937	<i>Listerella ovis</i>
Pirie	1940	<i>Listeria monocytogenes</i>

L. monocytogenes uzun yıllar *Listeria* cinsinin tek türü olarak kalmıştır. *L. denitrificans* 1948, *L. grayi* 1966, *L. murrayi* 1971, *L. innocua* 1981, *L. ivanovii* 1985 ve *L. seeligeri* 1983 yılında bu cinse eklenmiştir. 2009 yılı öncesi *Listeria* cinsinin *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* ve *L. grayi* türlerini içerdiği biliniyordu [2,40,50,51]. Ancak, günümüzde *Listeria* cinsine 11 tür daha eklenerek bu cinste toplam 17 tür olduğu bildirilmiştir [3].

Yapılan serolojik çalışmalar, *L. monocytogenes*'in somatik (O) ve flagellar (H) antijene göre 13 serotipinin olduğunu göstermiştir. Bunlar 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4ab, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 olarak belirtilmiştir. İnsanlarda yaşanan listeriozis vakalarının çoğunda 1/2a, 1/2b ve 4b serotipleri ile karşılaşmıştır [39,52].

1.1.3 Listeriozis

Vibrio cholerae ya da *Yersinia pestis* gibi yüzyıllardır insanlık tarihinde önemli yer tutan, büyük salgınlardan sorumlu bazı patojen bakterilerden farklı olarak *L.*

monocytogenes ve listeriozisin tarihi 1924 yılında resmî olarak başlamıştır [40]. Birinci Dünya savaşının sonunda bir askerin geçirdiği menenjit ilk onaylanmış listeriozis tanısı olarak geçse de, tarihçiler 17. yy'da Kraliçe Ann'in 17 başarısız hamileliğinin sebebinin *L. monocytogenes* olduğunu savunmuşlardır [40]. *L. monocytogenes* 1929 yılında ise insan patojeni olarak tanımlanmıştır. Bu bakteri toprak, su ve bitki örtüsü gibi pek çok ekolojik alanda bulunmaktadır. Epidemiyolojik araştırmalar, listeriozisin gıda kaynaklı bir hastalık olduğunu ortaya çıkarmıştır [40].

L. monocytogenes 'ten kaynaklanan hastalıklar, genellikle hamile kadınlar, yeni doğan bebekler, bağışıklık sistemi baskılanmış yetişkinler gibi yüksek risk grubundaki kişilerde ortaya çıkmaktadır. Diyabet, kardiyovasküler ve böbrek hastalıkları olan kişilerde ve alkol bağımlılığı olan bireylerde daha sık rastlanmaktadır. Bununla birlikte, sağlıklı bireylerin gıda kaynaklı salgınlarda listerioza yakalandığı da bildirilmiştir (Tablo 1.4) [38,40].

Tablo 1.4: Listeriozis vakalarının ortaya çıkabileceği kişiler [40]

Listeriozisin görülebileceği kişiler	Klinik olarak görünümü
Hamile kadınlar	Ateş- İshal Kas Ağrısı Erken doğum Ölü Doğum
Yeni doğan bebekler	<7 gün: Septisemi, Akciğer iltihabı >7gün: Menenjit, Septisemi
Bağışıklık sistemi baskılanmış ve yaşlı kişiler	Septisemi, Menenjit
Sağlıklı bireyler	İshal ve ateş

Listeriozis septisemi ve menenjit gibi ölümlle sonuçlanabilen ciddi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Ayrıca, hamile kadınlarda bu bakterinin plasentadan geçmesi; bebeğin düşmesine, ölü doğmasına neden olabileceği gibi yeni doğan bebekte perinetal septisemi ve menenjite de sebep olabilmektedir [4].

Salmonella gibi düşük ölüm vakalarıyla sonuçlanan, diğer patojenlerin sebep olduğu enfeksiyonlardan farklı olarak Listeriozis yaklaşık %16-20 oranında ölümlere yol açmaktadır. EFSA & ECDC [7]'de *Listeria* enfeksiyonlarının çoğunlukla 64 yaş üstü insanlarda görüldüğü ve bu enfeksiyonların çok gelişmiş ülkelerde ortaya çıktığı rapor edilmiştir [6,40]. Hatta bu ölüm oranlarının %50'ye ulaştığı belirtilmiştir [39].

İnsanlarda *Listeria*, gastrointestinal listeriozis, sistematik listeriozis ve düşüğe neden olan ve yeni doğanlarda etkili olan listeriozis olmak üzere, 3 farklı formda ortaya çıkmaktadır [39].

1.1.3.1 Gastrointestinal Listeriozis

Gastroenteritin mekanizması tam olarak bilinmemektedir; besinlerin emilimini etkileyen ve sıvı salgısını arttıran emici villusa zarar verdiği düşünülmektedir. Gastroenterit semptomları ateş, baş ağrısı, bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishal ile karakterizedir [39].

1.1.3.2 Sistemik Listeriozis

L. monocytogenes, bebekleri, yaşlıları, hamileleri ve immün sistemi baskılanmış bireyleri etkileyen nadir fakat ölümcül bir hastalık olan invazif listeriozise neden olmaktadır. Yüksek riskli bireyler arasında AIDS hastaları, kemoterapi alan kanser hastaları, organ nakli hastaları, diyabetikler, alkolikler ve kardiyovasküler rahatsızlıkları olan hastalar bulunmaktadır. Bakteri, bağırsakta kısa sürede kolonileşebilir ve bağırsak bariyerinden geçerek kan dolaşımına ve lenfatik sisteme ulaşmaktadır. Bakterinin çoğu 24 saat içerisinde karaciğere (%90), dalağa (%10) ve mezenterik lenf düğümlerine dağılabilmektedir. Bulaşmadan kısa bir süre sonra *Listeria* kan-beyin bariyerini geçerek beyine ulaşır menenjitte neden olmaktadır. Gebe kadınlarda ise *Listeria* plasenta bariyerini geçer ve fetüsü enfekte etmektedir. Sistemik listeriyoz ateş, baş ağrısı, halsizlik, septisemi, menenjit, beyin sapı ensefaliti, ataksi, bakteriyemi ve karaciğer apsisi ile karakterizedir [39].

1.1.3.3 Düşüğe Neden Olan ve Yeni Doğarlarda Etkili Olan Listeriozis

Hamile kadınlarda, *L. monocytogenes* enfekte olmuş fetüsün erken doğmasına veya ölü doğmasına sebep olabilir. Gebelikte, vücudun fetüsü reddetmekten koruması için hücre aracılı bağışıklık baskılanır bu da hamile kadınları listeriozise karşı oldukça hassas hale getirir. Hamilelik sırasında, sistemik listeriyoz sıklıkla rahimiçi enfeksiyonla sonuçlanır. Enfeksiyon belirtileri grip benzeri başlar ve sonrasında şiddetli baş ağrısı meydana gelir. Azalan fetal hareket, düşük, erken doğum, ölü doğum veya yenidoğan enfeksiyonları yaygındır. Yenidoğan listeriozisinde ise belirtiler solunum sıkıntısı, zatüre, nefes darlığı, konjonktivit, döküntü, kusma, kramplar ve hipo veya hipertermidir. Yenidoğan listeriyozunda ölüm oranı yaklaşık %36'dır [39].

1.1.4 Patojenin Kaynağı, Gıdalarda Yasal Sınırlar ve Listeriozis Vakaları

L. monocytogenes, bitki, toprak ve yüzey suyu örneklerinde yaygın olarak bulunur. Ayrıca, silaj, lağım, mezbaaha atığı, sağlıklı ve mastitik ineklerin sütü ile insan ve hayvan dışkıında da bulunur. *L. monocytogenes* sığır, koyun, keçi ve kümes hayvanlarından ve nadiren de vahşi hayvanlardan izole edilmektedir [38].

Toprak, bitki, çürüyen bitki örtüsü, silaj, lağım suyu, insan ve hayvan bağırsakları, *Listeria*'nın doğal yaşam alanlarıdır. Bu nedenle, hayvan veya bitki kökenli tüketime hazır gıdalar *Listeria*'nın birincil kaynağıdır. Gıda zehirlenmelerine genelde, soslu sandviç, salata, tütülenmiş balık, süt, pastörize edilmemiş süttten yapılan yumuşak peynir, dondurma ve dondurulmuş sebzeler sebep olmaktadır [39,53].

L. monocytogenes hücre içi patojendir ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerin yanı sıra immün sistemi sağlam bireylerin de enfekte olmasına neden olur. İmmün sistemi sağlam bireyler de bu bakteri nadir olarak ateş ve gastroenterite yol açar. Ancak bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde bu hastalık oldukça invaziftir. Enfektif doz tam olarak bilinmemekle birlikte, hastanın bağışıklık durumuna göre 100 kob ve 10⁶ kob arasında olduğu tahmin edilmektedir. İnkübasyon süresi hastanın bağışıklık

durumuna ve vücuda alınmış bakteri sayısına bağlı olarak 3 günden 3 aya kadar değişiklik gösterebilmektedir [39].

L. monocytogenes, Avrupa'da gıdaların sebep olduğu en önemli hastalık etkenleri arasında beşinci sırada yer almaktadır ve 2016 yılında kontamine olmuş gıda tüketiminden kaynaklanan en sık ölüm (%16,2) nedeni olarak bildirilmiştir [6].

Gıdalarda *L. monocytogenes*'in kabul edilebilir seviyeleri üzerine uluslararası tek bir standart yoktur [54]. ABD'de tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* için “sıfır tolerans” politikası vardır [39]

Avrupa birliğinde tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* için EU tüzüğü 207312005 sayılı mikrobiyolojik kriterler geçerlidir. Bu kriterlere göre [7,55]:

- Bebekler için ve tıbbi amaçlı üretilen tüketime hazır gıdaların 25 gramında *L. monocytogenes*'in bulunmasına izin verilmemektedir (n=5, c=0).
- *L. monocytogenes*'in gelişimini destekleyebilecek gıdaların 25 gramında *L. monocytogenes*'in bulunmasına izin verilmemektedir (n=5, c=0).
- *L. monocytogenes*'in gelişimini desteklemeyen gıdalarda *L. monocytogenes* için limit 100 kob/g'dır (n=5, c=0, m=M=100 kob/g). pH ≤ 4,4 ya da su aktivitesi ≤ 0,92 olan ürünler ve pH ≤ 5.0 ve su aktivitesi ≤ 0,94 olan ürünler raf ömürleri 5 günden az olmak kaydıyla bu kategoriye dahil edilebilmektedir.

Türkiye'de gıdalarda *L. monocytogenes*'in bulunması durumuna bakıldığında; Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde daha önce çiğ et dâhil hiçbir gıdada 25 g numunede *L. monocytogenes* bulunmasına izin verilmezken, 2010 yılındaki hamburger krizinden sonra 2011 yılındaki değişiklik ile bu tebliğde çiğ et ürünlerinde *L. monocytogenes* kontrolü kaldırılmıştır [44]. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde (2011) tüketime hazır ürünlerde 25 g numunede *L. monocytogenes* bulunmasına izin verilmemektedir. İşlenmiş çift kabuklu yumuşakçalar, karından bacaklılar, kafadan bacaklılar ve balıklar içinde 25 g numunede *L. monocytogenes* bulunmasına izin verilmemektedir [56].

Özellikle buzdolabında muhafaza edilen ürünlerde *L. monocytogenes* sayısı, başlangıçta gramında 100'den az iken, 3-4 haftalık bir sürede bu sayı 100.000 hücreye kadar artabilmektedir [57]. Bu sebeple FDA, tüketilmeden önce tekrardan ısı işlem

görmeyen tüketime hazır yiyecekleri "risk altında gıdalar" kategorisine ayırmıştır. Riskli gıdalar arasında yüksek yağ içeren tam olgunlaşmamış yumuşak peynir ve pastörize edilmemiş süt ve tütsülenmiş su ürünleri yer almaktadır. Orta risk içeren gıdalar arasında pastörize edilmiş süt, taze yumuşak peynir, yarı sert peynir, yumuşak olgunlaşmış peynir, tüketime hazır su ürünleri, kurutulmuş/yarı kurutulmuş fermente sosisler, meyveler ve sebzeler bulunmaktadır. Sert peynir, dondurma, dondurulmuş süt ürünleri ve koruyucu kültür içeren süt ürünleri ise oldukça düşük riskli ürünler grubuna dahil edilmiştir [39].

Her yıl yaklaşık 1500 Amerikalı, özellikle de immün sistemi baskılanmış olanlar, listeriozise yakalanmaktadır. Vakaların yaklaşık 225 tanesi ölümlle sonuçlanmaktadır [39]. Ayrıca, Amerika'da 2008-2016 yılları arasında listeriozisin 100.000 kişi için yıllık insidans oranı 0,28 iken (hamile kadınlar hariç), hamile kadınlar arasında bu oranın 3,73; 70 yaş üzeri bireylerde ise 1,33 olduğu bildirilmiştir [58].

Gıdalardaki katı *Listeria* düzenlemeleri, gıda endüstrisinde milyonlarca dolara mal olan gıda geri çağırılmalarına ve salgınlardan kaynaklanan genel ekonomik kayıplara (yaklaşık 2,8 milyar dolar) yol açmaktadır [39].

ABD'de 2000 yılında hindi etinden kaynaklanan *L. monocytogenes* salgını 30 kişinin hastalanmasına, 4 kişinin ölümüne, 3 kadının ise düşük yapmasına neden olmuştur. 2000-2001 yıllarında Meksika'da pastörize edilmemiş süttten yapılan yumuşak peynir ise 12 kişinin hastalanmasına ve 5 kadının düşük yapmasına sebep olmuştur. 2002 yılında Kanada'da et ürünü 57 kişiyi enfekte etmiş ve 22 kişinin ölümüne sebep olmuştur [39].

İngiltere'de 2006-2015 yılları arasında 1683 kişinin *Listeria* kaynaklı hastalığa yakalandığı rapor edilmiştir [59].

Avrupa'da da listeriozis, yüksek ölüm oranı nedeniyle halk sağlığı için büyük endişe yaratmıştır. 2009 yılında listeriozis kaynaklı 270 kişi ölürken, *Salmonella* kaynaklı 90 kişi ve *Campylobacteriosis* kaynaklı 40 kişi hayatını kaybetmiştir. 2012'de *Salmonella* kaynaklı 61 ölümlle karşılaştırıldığında yaklaşık 198 ölüm ile listeriozis dikkat çekmiştir [60–63].

Avrupa'da 2010 yılında peynir 27 kişinin enfekte olmasına ve 8 kişinin ise ölümüne neden olmuştur. ABD'de 2011 yılında kavun kaynaklı salgında ise 147 kişi hastalanmış ve 33 kişi yaşamını kaybetmiştir. Yine ABD'de 2015 yılında dondurma kaynaklı 10 kişi enfekte olmuş, 3 kişi ise hayatını kaybetmiştir [39,53].

Çin'de 2011-2017 yılları arasında listeriozis kaynaklı 562 kişi hastalanmıştır. 227 hamile olmayan kadınlarda hastalık %23,78 oranında ölümle sonuçlanmıştır. 231 hamilede ise bu enfeksiyon %23,78 oranında ölü doğuma veya düşüğe neden olmuştur [64].

2014 yılında Danimarka'da soğuk kesim şarküteri ürünlerinde listeriozis kaynaklı 41 vaka görülmüş ve 17 tanesi ölüm ile sonuçlanmıştır [65].

Türkiye'de işlenmemiş veya tüketime hazır ürünlerde *L. monocytogenes*'in varlığının tespiti üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmasına rağmen, Türkiye'de gıda kaynaklı listeriozis vakalarının gerçek sıklığı bilinmemektedir. Bunun nedeni ülkemizde *L. monocytogenes*'in neden olduğu gıda zehirlenmesi hakkında resmî verinin tutulmamasıdır.

1.1.5 Gıdalarda ve Su Ürünlerinde *L. monocytogenes*

L. monocytogenes, dezenfektanlara direnç gösterebilir, biyofilm oluşturabilir. Kuru ortamlar, farklı sıcaklıklar, çok çeşitli pH ve yüksek tuz konsantrasyonları gibi aşırı fizikokimyasal özellikler altında hayatta kalabilir veya çoğalabilir. Bütün bu koşullar, pastörize edilmemiş süt ürünleri, et ürünleri, deniz ürünleri ve sebzeler dahil olmak üzere, çok çeşitli gıda ürününde *L. monocytogenes*'in hayatta kalmasını ve çoğalmasını teşvik eder [3]. Özellikle buzdolabı koşullarında gelişebilme özelliğinden dolayı, birçok listeriozis vakası, peynir ve soğuk tütsülenmiş somon gibi tüketime hazır yiyeceklerin alımı ile alakalıdır [66]. 2016 yılında, tüketime hazır ürün kategorisinde yer alan balıklarda (%4,7) ve diğer su ürünlerinde (%5,6) *L. monocytogenes*'in yüksek oranlarda tespit edildiği bildirilmiştir [7].

Kirli ortamlardan avlanan su ürünleri *L. monocytogenes* patojenini taşıyabilir [67]. Sucul ortamlar ve dolayısıyla balık ve diğer deniz ürünleri, kanalizasyon suları,

endüstriyel ve tarımsal atık sular nedeniyle *L. monocytogenes* tarafından kontaminasyona maruz kalırlar [68]. Ancak, bu bakteriyle kirletilmemiş deniz suyunda, yeraltı ve kaynak sularında karşılaşmak pek mümkün değildir [54]. Bu şekilde temiz bölgelerden elde edilen su ürünleri ise nakliye veya satış sırasında bu patojen ile kontamine olabilir [67].

Oravcová ve diğ. [69] somon (*Salmo salar*) dilimlerinde doğal olarak bulunan *L. monocytogenes* sayısının 10 g örnek için 8×10^3 kob olduğunu rapor etmiştir. Gambarin ve diğ. [70] tarafından tüketime hazır su ürünlerinde bu oranın >100 kob/g olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Gıda Güvenliği ve Uygulamalı Beslenme Merkezi (Center for Food Safety and Applied Nutrition) *L. monocytogenes* kaynaklı kontamine gıdalarda 3 log değerinin ortalama bir değer olduğunu rapor etmiştir [71,72].

Su ürünleri işleme tesislerinde, ham maddeden son ürüne çapraz kontaminasyon nedeniyle *L. monocytogenes* bulaşabilmekte veya tesisin kendisi kontaminasyonun kaynağı olabilmektedir [67]. Bu patojen, işleme tesisine kirli su, mutfak eşyaları, personel ve hammaddeler yoluyla girebilmekte, işleme hattını ve son ürünleri kontamine edebilmektedir [67]. Taze materyalin işlenmesi sırasında temiz kutuların kullanımı, temiz su ve buz kullanımı gibi önlemler kontaminasyon riskini azaltsa bile tamamen engellemek mümkün olmamaktadır [54].

Uygulanan bazı işleme teknikleri *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu için yeterli olmamaktadır [67]. Ayrıca, soğuk tütsülenmiş balık gibi hafif korunan ürünler, az tuzlanmış ve marine edilmiş su ürünleri de *L. monocytogenes*'in gelişimi için uygun ortam oluşturmaktadır [54]. Gıda ürünlerinin bu patojen ile kontaminasyonu, üretim, paketlenme, taşıma ve depolama sırasında meydana gelebilmektedir [3].

1.2 Bakteriyofaj

Bakteriyofaj antik Yunancadan gelen bir kelimedir, bakteri ve yemek fiillerinden türemiştir ve “bakteri yiyen” anlamına gelmektedir [73]. Bakteriyofajlar, bakteri hücrelerini istila eden, bakteri metabolizmasını bozan ve bakterinin lize olmasına neden olan virüslerdir [74]. Dünya üzerinde en çok bulunan canlılardır. Konakçı özgünlüğüne sahiptir. Bu özgünlük genel olarak suş düzeyindedir nadir olarak da sınıf

ve cins düzeyinde olabilir. Bu özgünlük sayesinde doğrudan hedeflenmiş patojen bakterilerin öldürülmesi sağlanmaktadır [75,76].

1.2.1 Bakteriyofajların Keşfi

Fajların varlığına ilişkin kanıtlar, 19. yüzyılın sonlarına kadar uzanan raporlara kadar takip edilebilir. Fajlar, 1940 yılında elektron mikroskobu ile doğrudan görüntülenene kadar tartışmalı bir konu olarak kalmıştır [75].

Bakteriyofajların, antibakteriyel aktiviteleri 1896 yılında Ernest Hanbury Hankin ve 1915 yılında Frederick Twort tarafından keşfedilmiştir [24]. Ernest Hanbury Hankin *Vibrio cholerae* bakterisinin Ganj nehrinde öldüğünü ancak nehir suyunun kaynadığı zaman bu özelliğini kaybettiğini tespit etmiştir. Bu olaya bir canlının sebep olduğunu belirtmiş böylelikle bakteriyofajlar ilk olarak keşfedilmiştir [76]. Frederick Twort ise fajları “bakterileri öldüren bir etmen” olarak tanımlamıştır [77]. Bununla birlikte, bakteriyofaj tanımı 1919’da Felix d’Herelle tarafından yapılmış ve kendisi bakteriyofajları dizanteri için bir tedavi olarak kullanan ilk bilim adamı olarak kayıtlara geçmiştir [24].

O tarihlerde birkaç şirket, insan patojen bakterilerine karşı fajların ticari üretimini başlatmıştır. Paris’te, çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı beş faj içeren ticari preparat üretilmiş ve bu preparatlar günümüzdeki adıyla “L’Oreal” tarafından pazarlanmıştır. Ayrıca, 1940 yılında ABD’de, insanlarda kullanılmak üzere yedi faj preparatı üretilmiştir [78]. Ancak faj üretimi, batı dünyasının çoğunda antibiyotiklerin keşfi ile sekteye uğramıştır. Ancak günümüzde antibiyotiğe dirençli bakterilerin oluşturduğu tehdit, Batı ülkelerinde biyokontrol ajanları olarak bakteriyofajlara olan ilgiyi yeniden gündeme getirmiştir [74,79].

1.2.2 Temel Faj Biyolojisi: Litik ve İlıman Faj

Bakteriyofajlar, diğer tüm virüsler gibi, zorunlu parazitlerdir ve bakterileri konakçı olarak kullanırlar. Doğada yaygın olarak bulunurlar ve yaklaşık 10^{30} ila 10^{32} faj partikülü ile dünyadaki sayısal olarak en geniş nüfusa sahip biyolojik varlıkları

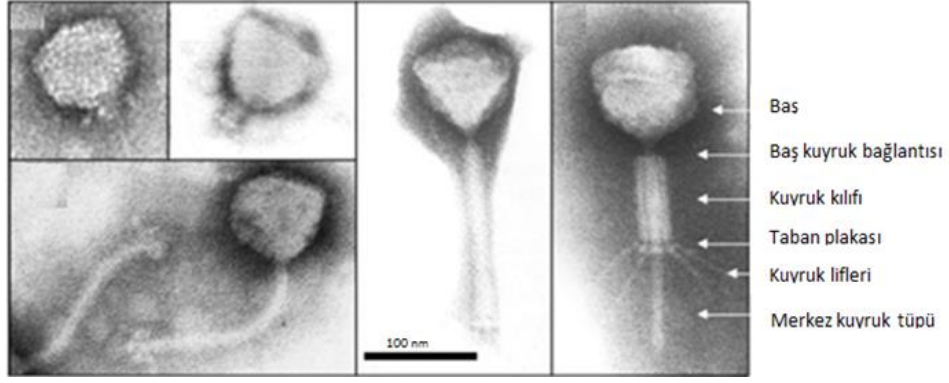
oluştururlar, bu da onları her ekosistemdeki mikrobiyel dengenin düzenlenmesinde etkili yapar [74,80,81].

Fajlar doğada ve akla gelebilecek her türlü bakteriyel habitatta bol miktarda görülürler, örneğin:

- **Su:** Deniz suyu, tatlı su, kanalizasyon, volkanik kaplıcalar, tuz havuzları, lagünlerde bulunurlar.
- **Toprak:** Genelde rizosferde bulunurlar.
- **Hava:** Havada damlacıklar veya toz halinde bulunabilirler.
- **Bitkiler:** Genel olarak bitkilerin yüzeylerinde, aynı zamanda baklagillerin nodüllerinde de bulunabilirler.
- **Hayvanlar:** Hayvanların vücut sıvıları ve dışkıları, vücut boşluklarında bulunurlar.
- **Gıda:** Çok çeşitli gıda ürünlerinde bulunurlar. Örneğin; süt ürünleri, et ve et ürünleri, su ürünleri, fermente gıdalar [82].

Yüksek düzeyde özgünlük, uzun süre hayatta kalma ve uygun konakçılarda hızla üreme yetenekleri ile fajlar, ekosistemdeki bakteri türleri arasında dinamik bir dengenin korunmasına katkıda bulunurlar. Uygun konakçılar mevcut olmadığında, birçok faj, onlarca yıl boyunca enfekte etme yeteneklerini koruyabilir [74].

Bakteriyofajlar, içinde genetik materyalin bulunduğu baş (kapsit), kuyruk ve kuyruk liflerinden meydana gelmiştir (Şekil 1.1) [73].



Şekil 1.1: Farklı tipte faj çeşitlerinin elektron mikroskobu altında görüntüleri [83]

Her faj partikülü (virion) bir protein veya lipoprotein kaplama veya kapsid içine alınmış nükleik asit genomunu (DNA veya RNA) içerir [74]. Bakteriyofajlar ancak konakçı hücreleri enfekte edip çoğalabilirler. Çünkü enerji üretimi için bir mekanizmaya sahip değildirler, ayrıca protein sentezleyebilecekleri ribozomları yoktur. Bakterilerle kıyaslandığında oldukça küçük varlıklardır ve ancak elektron mikroskobunda görüntülenebilirler [73].

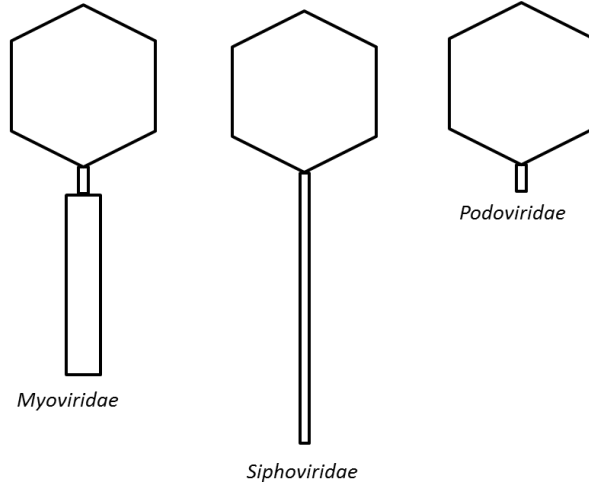
Fajlar birçok özelliğe göre sınıflandırılır ancak genellikle kuyruk tiplerine göre sınıflandırılmaktadır. Buna göre Myoviridae, Siphoviridae ve Podoviridae olarak 3 gruba ayrılmaktadır (Şekil 1.2) [76].

Myoviridae: Bir kılıf ve bir merkezi tüpten oluşan kısılabilen bir kuyruğa sahiptir. Kuyruklu fajların yaklaşık %25'ini oluşturur.

Siphoviridae: Uzun, kısılamayan bir kuyruğa sahiptir. Kuyruklu fajların yaklaşık %60'ını oluşturur.

Podoviridae: Kısa, kısılamayan bir kuyruğa sahiptir. Kuyruklu fajların yaklaşık %15'ini oluşturur [74].

Kuyruklu fajlarda kuyruk lifleri, bakteri hücre duvarlarının yüzeyindeki molekülleri tanıyan ve sadece konakçı hücrelere bağlanma yeteneği sağlayan proteinler içerir [84,85].



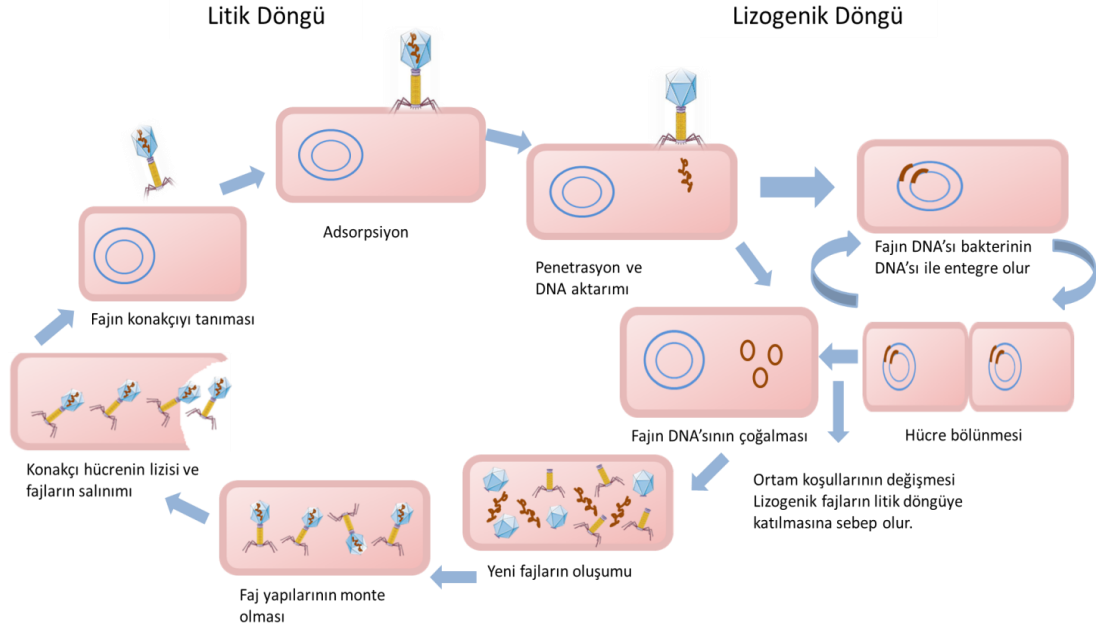
Şekil 1.2: Fajların kuyruk tiplerine göre sınıflandırılması [74]

Fajlar yaşam döngülerine göre ise litik (virüent) fajlar veya lizojenik (ılıman) fajlar olarak sınıflandırılır (Şekil 1.3) [75,80,85,86]. Litik döngüde bakteriyofaj, konakçısı olduğu bakterinin ölümüne sebep olur. Lizojenik döngüde faj, konakçısını enfekte eder ve bir arada bulunmaya devam eder ancak şartlar uygun olmadığı durumlarda endojen fajlar aktifleşir ve konakçı bakteri hücrelerini parçalar [76].

Üretken, vejetatif veya virüent olarak da adlandırılan fajlar, litik döngüde yeni fajların üretimine, konakçı hücrenin lizisine ve faj partiküllerinin salınmasına yol açar [75,82]. Bu aşamada litik bakteriyofaj kendi genetik materyalini konakçı hücreye enjekte eder, içinde çoğalır, sonrasında bakteriyi parçalayarak diğer bakterileri de enfekte edecek yeni bakteriyofajların salınımına neden olur. Ortama salınan fajlar tekrar konakçı hücrelerine adsorbe olur ve bu süreç ortamda sağlam konakçı bakteri kalmayınca kadar devam eder [31,77].

ılıman fajların enfeksiyonunda durum biraz farklıdır ve iki alternatif vardır: İlki enfeksiyonun konakçı hücrenin çoğalmasına ve lizisine yol açtığı litik yoldur, diğeri ise faj litik fonksiyonlarının bastırıldığı ve genomunun konakçı içinde stabil bir formda bir arada bulunduğu lizojenizasyondur [75]. Lizojenik döngüde faj, bakteri hücresi içine girdikten sonra genetik materyalini bakteri DNA'sı ile entegre hale getirmektedir. Fajın konakçı genomuna katılmış formuna profaj adı verilir. Bakterinin içinde bulunduğu çevresel koşullar uygun olduğu sürece bakteriyofaj etkisiz bir

şekilde varlığını sürdürmektedir. Şartlar uygunluğunu yitirdiğinde, fajlar aktif hale gelmekte ve çoğalarak bakteriyi parçalamaktadır [31,77].

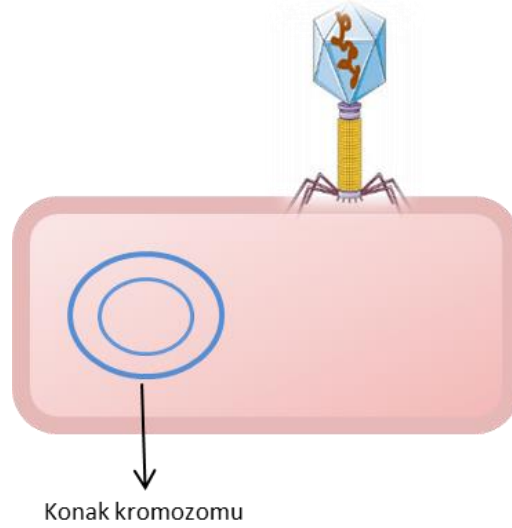


Şekil 1.3: Litik ve lizogenik döngü [31]

1.2.3 Bakteriyofajların Konakçı Enfeksiyonu

1.2.3.1 Adsorpsiyon (Yüzeyle Tutunma)

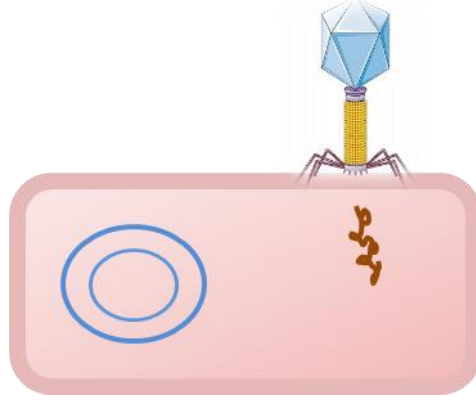
Bir bakteriyofajın konakçı hücrede çoğalabilmesi için ilk adım faj ile hücre yüzeyi üzerindeki spesifik bağlanma bölgesi (reseptör) arasındaki etkileşimdir [75]. Adsorpsiyon sırasında fajlar konakçı hücrenin molekül ve kapsül yüzeyine bağlanır yada özgül reseptörlere kapsomerler yardımıyla tutunur [73]. Bakteriyofajın konakçı bakteriyeye olan özgünlüğünü bu kademe belirler. Bakteri yüzeyindeki reseptörler ile fajların kuyruk elemanları, kapsid veya zarflarındaki özel moleküller ile bağlanabilir özelliğe sahip iseler adsorbsiyon gerçekleşir (Şekil 1.4) [31].



Şekil 1.4: Fajın konakçı bakteri hücresine adsorbsiyonu [31]

1.2.3.2 Penetrasyon ve Enjeksiyon (Nüfuz Etme)

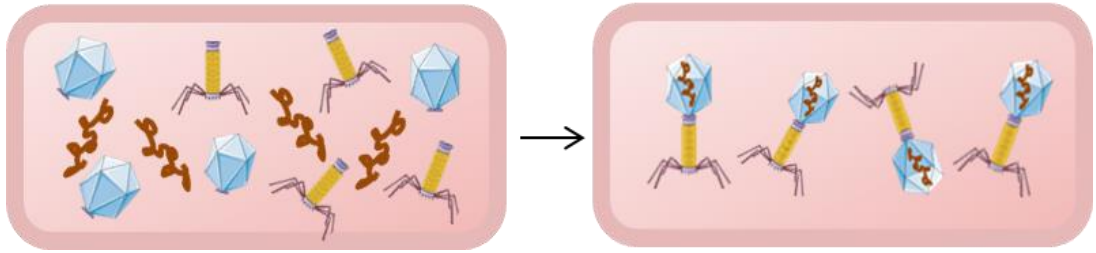
Adsorbsiyon sonrasında bakteriyofajın nüklükapsidi içinde bulunan nükleik asidini konakçı hücreye aktardığı aşama başlar (Şekil 1.5). Bu süreç penetrasyon sonrası meydana gelir [31,73]. Her faj kendi genomunu konakçı hücreye transfer etmek için kendine özgü bir sisteme sahiptir, yani penetrasyon olayı her faj için spesifiktir; bununla birlikte, genel bir mekanizma, DNA'nın hücreye salınması için peptidoglikan tabakasına nüfuz etmek için bir enzime sahip olan kuyruk ucunu içerir [87]. Kabaca fajlar tutunmanın ardından konakçı hücrenin duvarında küçük bir delik oluştururlar. Kuyruk lifleri gerilir ve fajın genetik materyali delikten aktarılır. Bu şekilde penetrasyon gerçekleştirilmiş olur. Bu aşamada hücre içine aktarılan fajın nükleik asidine “vejetatif faj” adı verilir [73].



Şekil 1.5: Fajın konakçı bakteri hücresine penetrasyonu [31]

1.2.3.3 Biyosentez

Faj nükleik asidinin enjeksiyon ile bakteri sitoplazmasına girişinden, olgun faj partiküllerinin oluşumuna kadar geçen süreye latent dönem denir [31]. Latent dönemde bakteriyofajın konakçısı içerisinde ürediği ve geliştiği aşamaya biyosentez aşaması adı verilmiştir. Bu aşamada fajın genetik materyali çoğalır. Faj yapıları sentezlenip, monte edilir (Şekil 1.6) [73].

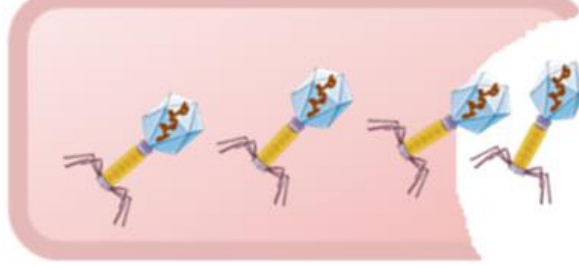


Şekil 1.6: Bakteriyofajın bakteri hücresi içinde üreme ve gelişme dönemi [31]

1.2.3.4 Hücre Lizisi ve Fajların Salınması

Olgun fajların meydana geldiği ve yeni oluşan fajların bakteri hücresini lizise uğratarak dışarı çıktığı dönemdir. Fajların hücre dışına salınımı, bakteri hücre

duvarlarındaki peptidoglikan tabakasını parçalayan endolizin enzimi sayesinde gerçekleşir (Şekil 1.7) [73].



Şekil 1.7: Bakteriyofajın bakteri hücrelerini lizise uğratması [31]

1.2.4 *L. monocytogenes*'in Biyokontrolünde Bakteriyofaj Kullanımı

Fajlar, gıdalarda ve gıda işleme ortamlarında, bakteriyel patojenlerin kontrol edilmesinde doğal antimikrobiyel maddeler olarak kullanılabilir. Bakteriler kesim, sağım, fermentasyon, işleme, depolama veya paketlenme sırasında gıdalara bulaşabilmektedir. Gıdaların muhafazası için uygulanan bazı fiziksel yöntemlerden (buhar, kuru ısı, UV ışığı vb.) sonra gıdaların kabul edilebilirlik ve organoleptik özelliklerinde bozulmalar meydana gelmektedir [24]. Öte yandan, gıda endüstrisinde, gıda kaynaklı patojenlerin kontaminasyonunu azaltmak için sıklıkla kullanılan bazı yaklaşımlar, taze ürünlere ve hazır gıdalara doğrudan uygulanamaz. Ayrıca, antibiyotiklerin kullanımı dirençli bakterilerin gelişmesine yol açabilmektedir. Bu nedenlerle, patojen bakterilerin gıda zinciri boyunca bulaşmasını önlemek ve gelişimini inhibe etmek için yeni stratejilere ihtiyaç vardır. Bakteriyofajlar bu konuda iyi alternatif sunmaktadır [24,75].

Bakteriyofajlar ile biyokontrol, uzun güvenli kullanım öyküleri, nispeten kolay kullanımları, yüksek ve spesifik antimikrobiyel aktiviteleri ile mikrobiyolojik güvenliği arttırmak için büyük bir potansiyele sahiptir [24].

Gıda patojenleriyle faj yoluyla mücadele kavramı, klasik "çiftlikten çatala" yaklaşımı dikkate alınarak, üretimin tüm aşamalarında ele alınabilir. Gıda sanayiinde çiftlik hayvanlarında patojen kolonizasyonunu önlemek (faj tedavisi), çiğ et, süt ve benzeri ürünlerde kontaminasyonu önlemek (biyokontrol), gıda ile temas eden yüzey ve ekipmanların sanitasyonu (biyosanitasyon) ve hazır gıdalarda raf ömrünü uzatabilmek (biyoprezervasyon) gibi amaçlarla fajlardan yararlanmak mümkün olabilmektedir [24]. Ayrıca, bakteriyofajlar diğer koruma yöntemleri ile birlikte kullanılabilir [8,88].

Bakteriyofaj gibi biyolojik kontrol yöntemleri, gıda kontaminasyonunu engellemek amacıyla kullanılan kimyasal koruyuculara iyi bir alternatiftir [24]. Ancak, European Food Safety Authority (EFSA) [89], bir üründe 100–10,000 kob/g gibi düşük miktarda bulunan *L. monocytogenes*'in 10^8 – 10^9 pob/cm² Listex P100 kullanıldığında bile elimine edilmediğini vurgulamıştır. Listex P100'ün dozu 10^9 pob/cm² ise, *L. monocytogenes* sayısındaki azalmanın en az 2,15 (balık), 1,31 (et) ve 2,68 (süt) log kob/cm² olacağı bildirilmiştir. Faj konsantrasyonu azaldıkça, bakteri sayısındaki azalmanın da daha düşük olacağı belirtilmiştir. Bu nedenle Listex P100'ün, İyi Hijyen Uygulamaları ve İyi Üretim Uygulamalarıyla birlikte patojen mikroorganizmaların yükünü azaltmak için kullanılabileceği vurgulanmıştır [89]. Bakteriyofajların antimikrobiyel becerilerinin, güvenlik ve teknolojik özelliklerinin geliştirilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir [24].

Reinhard ve diğ. [90] yaptıkları çalışmada, iki farklı uygulama stratejisi kullanarak, buzdolabı sıcaklığı (4 °C) ve ortam sıcaklığındaki (20 °C) tüketime hazır ürünlerde *Listeria* spp. insidansını azaltmak için bakteriyofaj P100'ün kapasitesini değerlendirmişlerdir. Bu kapsamda üç gün boyunca her 24 saatte bir (2×10^7 pob/ml) tek bir tedavi olarak uygulanan ılımlı bir uygulama ve 24 saatlik bir süre boyunca her 6 saatte bir uygulanan yoğun bir uygulama (1×10^8 pob/ml) prosedürü uygulamışlardır. İlimli tedavi protokolü uygulandığında pozitiflerin insidansı 4 °C'da %51,3'ten %17,5'e ve 20 °C'da %67,5'ten %23,1'e düşmüştür. Yoğunlaştırılmış faj uygulama yöntemi için, 4 °C'daki *Listeria* spp.'de azalma genel olarak %43 olarak tespit edilmiştir. 20 °C'da, faj P100 ile tedaviden sonra genel olarak %32'lik *Listeria* spp. düşüşü görülmüştür.

Zhou ve diğ. [91] yaptıkları çalışmada, bir gıda işleme tesisinden *L. monocytogenes* fajı (SH3-3) izole etmişlerdir. İzole ettikleri fajın (SH3-3), *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *L. welshimeri* dahil *Listeria* spp.'ye geniş ölçüde litik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, SH3-3 fajının somon eti ve portakal suyunda *L. monocytogenes*'e karşı yüksek etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Axelsson ve diğ. [92] fermantasyon ürünü olan "rakfish" in olgunlaşma sürecinde *L. monocytogenes* üzerine sıcaklık (4 °C ve 7 °C) ve tuz faktörleri (%4,8 ve %6,3) ile Listex P100 ilavesinin etkisini 91 günlük depolama süresince araştırmışlardır. Çalışmada, fajın balığa fermantasyondan önce ilave edildiği ve fermantasyon süresi boyunca ortalama *L. monocytogenes* sayısını 0,9 logaritma birimi azalttığı bildirilmiştir.

Lewis ve diğ. [93] Nisaplin (antibiyotik, bakteriyosin ve nisin'in ticari bir formülasyonu) ve Listex P100 adlı iki ticari antimikrobiyelin lahana salatası üzerindeki *L. monocytogenes*'e etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar bu alternatif antimikrobiyellerden P100'ün, 4 °C'da 10 günlük bir süre boyunca lahana salatasındaki *L. monocytogenes* sayıları üzerinde tek başına önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca P100 ve Nisaplinin kombinasyon halinde kullanımının, tek başına Nisaplin kullanımından daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Çufaoğlu [94] yaptığı çalışmada, 60 mezbaha atık suyu örneğinden *L. monocytogenes*'e duyarlı 5 adet faj izole etmiştir. Çalışmada DNA analizleri sonucunda tanımlanan 3 faj kullanılarak bir faj kokteyli oluşturulmuş ve piliç butlarında *L. monocytogenes*'in kontrolü için kullanılmıştır. Faj uygulaması, 4 °C'da muhafaza edilen piliç butlarında başlangıçta 6,60 log kob/g olan *L. monocytogenes* sayısında 3,30 log kob/mL'ye varan bir azalma sağlanmıştır.

Komora ve diğ. [95] yaptıkları çalışmada, yüksek basınç teknolojisi ile birlikte Listex P100'ün birleştirilmiş olarak kullanımının gıdalarda *L. monocytogenes* üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Bu etki farklı basınç (200, 300 veya 400 MPa; 5 dakika, 10 °C) ve gıda matrisleri (fosfat tamponlu salin, elma suyu, portakal/havuç nektarı, UHT tam yağlı süt ve iki geleneksel Portekiz fermente ürünü) üzerinde değerlendirilmiştir. Yaptıkları çalışma sonucunda, 400 MPa'daki tedavinin, faj titrelerini tüm matrislerde

saptama seviyesinin altına indirdiğini, buna karşın daha hafif basınçlarda fajın hayatta kalmasının matrise bağlı olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, hafif basınç uygulamasıyla P100 fajının birlikte kullanımının, spesifik matrislerde *L. monocytogenes*'in kontrolünde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Yang ve diğ. [96] ticari bir bakteriyofaj olan ListShield'in tek başına ve laurik arginat etil ester (LAEE) (100, 200, ve 400 mg/kg) ile birlikte taze tavuk göğsündeki *L. monocytogenes* (4,5 log kob/g) üzerine etkisini 4 °C'da 3 günlük depolama süresince incelemişlerdir. Çalışma sonucunda yalnız faj uygulanan örneklerde 0,81 log kob/g, faj ve LAEE'nin bir arada uygulandığı örneklerde 1,96 log kob/g *L. monocytogenes* sayısında azalma gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, fajın tek başına ve LAEE ile birlikte kullanımının tavuk filetolarındaki *L. monocytogenes* yükünün azaltılmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Lee ve diğ. [97] yaptıkları çalışmada, iki Listeria bakteriyofajını (LMP1 ve LMP7) tavuk dışkılarından izole etmişlerdir. İlk olarak araştırmacılar fajların in vitro ortamda *L. monocytogenes*'in farklı şuşları üzerine etkinliğini araştırmışlardır. Soğutulmuş ürünlerde bu fajların potansiyel kullanımını araştırmak için bakteriyofajların litik aktivitesini 4 °C'da sütte değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonunda bu iki fajla oluşturulacak olan faj kokteylinin, süt ürünleri de dahil olmak üzere birçok gıda ürününde biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Figueiredo ve Almeida [98] tarafından, bakteriyofaj P100 (5×10^5 pob/g), nisin (0,0012 g/g), ve sodyum laktatın (0,5 µg/g) tek tek ve kombinasyon halinde, yemeye hazır domuz jambon dilimlerinde *L. monocytogenes* (10^4 kob/mL) üzerindeki inhibisyon etkisi 6-8 °C'da 72 saat değerlendirilmiştir. Sodyum laktat uygulamasının *L. monocytogenes* üzerinde en az etkiye sahip olduğu belirtilirken, bakteriyofaj P100'ün en yüksek etkiyi gösterdiği, uygulamadan 72 saat sonra *L. monocytogenes*'in tespit edilemediği belirtilmiştir. Araştırmacılar genel olarak, soğutulmuş koşullar altında dilimlenmiş domuz jambonunda, bakteriyofaj P100 ve nisin kombine uygulamasının, tek başına nisin uygulamasına kıyasla *L. monocytogenes*'e karşı daha etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Banos ve diğ. [71] Enterosin AS-48'inin (0,37 mg/cm²) tek başına ve faj P100 (2,3 x 10⁷ pob/cm²) ile kombinasyon halinde kullanımının, +4 °C'da taze somon, mezgit ve tütülenmiş somon (*Salmo salar*) balığındaki *L. monocytogenes* (10³ kob/cm²) üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda, AS-48 enterosininin, tek başına veya faj P100 ile birlikte çiğ ve tütülenmiş balıkların hijyenik kalitesini arttırmak için kullanımının umut verici bir yöntem olduğu ortaya konmuştur.

Oliveira ve diğ. [18] 10 °C'da saklanan kavun, armut ve elma ürünlerinde (meyve suları ve dilimleri) *L. monocytogenes* gelişimini kontrol etmek için bakteriyofaj Listex P100'ün etkinliğini araştırmıştır. Faj tedavisinin kavun ve armutta daha etkili olduğu, ancak elma ürünleri üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar, Listex P100'ün taze kesilmiş meyvelerde ve yüksek pH'lı meyve sularının 10 °C'da depolama aşamasında, patojen gelişimini önleyebileceğini vurgulamışlardır.

Soni ve diğ. [29] soğuk füme somonda (*Salmo salar*) *L. monocytogenes*'in başlangıç yükünün azaltılmasında, Laurik arginat (LAE-200 ppm), bakteriyofaj Listex P100 (10⁸ pob/mL) ve nisin (500 ppm) tek başına veya kombinasyonlar halinde etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, bu 3 antimikrobiyelin, soğuk tütülenmiş somon balığı filetolarındaki 3,5 log kob/cm² *L. monocytogenes* sayısını 2-3 log kob/mL azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, kombine tedaviler arasında faj P100 + LAE ve nisin + LAE kombinasyonları, soğuk tütülenmiş somonlarda *L. monocytogenes* sayısını 24 saat içinde, saptanamayan seviyeye düşürmüştür.

Sağlam [99] gerçekleştirdiği çalışmada tavuk işletmelerinden izole ettiği *Listeria* spp.'ler üzerine Listex P100 fajının etkisini hem in vitro ortamda hem de göğüs eti üzerine araştırmıştır. Listex P100 bakteriyofajının en yüksek etki gösterdiği suşun *L. monocytogenes* olduğu, diğer *Listeria* spp.'ler üzerine ise Listex P100 fajının belli oranda etki gösterdiği belirtilmiştir. Araştırmacı tarafından, 10⁹ pob/mL ve 10¹⁰ pob/mL konsantrasyonda kullanılan Listex P100'ün, *L. monocytogenes* sayısında sırasıyla 2,24-2,89 log kob/g oranında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. 10⁹ pob/mL ve 10¹⁰ pob/mL Listex P100 konsantrasyonlarının *L. innocua* ve *L. welshimeri* için sırasıyla 1,34-1,38 log kob/g ile 0,35-1,56 log kob/g azalma sağladığı ifade edilmiştir.

Silva ve diğ. [100] gerçekleştirdikleri çalışmada yapay olarak aşılanmış yumuşak peynirlerde bakteriyofaj P100'ün *L. monocytogenes* 1/2a ve Scott A suşları üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla, araştırmacılar peynirlere 10^5 kob/g bakteri inoküle etmiş ve ardından $8,3 \times 10^7$ pob/g bakteriyofaj (P100) ile muamele ederek 10°C 'da 7 gün depolamıştır. Depolamanın başlangıcında bakteriyofaj uygulanan grup kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2 logaritma birimi azalma sağlarken, depolamanın sonunda bu azalmanın yaklaşık 1 logaritma birimi olduğu bildirilmiştir. Araştırma sonucunda, faj tedavisinin etkinliğinin *L. monocytogenes*'in başlangıç konsantrasyonuna bağlı olduğunu ve gıda yüzeylerinde hedef patojenlerin sürekli inaktivasyonunu sağlamak için birim alan başına yüksek bir faj konsantrasyonunun gerekli olduğunu söylemişlerdir.

Chibeu ve diğ. [5] yaptıkları çalışmada, Listeria faj preparasyonu Listex P100'ün ($2,0 \times 10^7$ pob/cm²), kimyasal antimikrobiyellerin (potasyum laktat: %2,8 ve sodyum diasetat: %0,2) varlığında veya yokluğunda, tüketime hazır rosto ve pişmiş hindi etindeki *L. monocytogenes* (10^3 kob/cm²) üzerindeki etkisini 4°C ve 10°C 'da 28 gün boyunca araştırmışlardır. Kimyasal içermeyen yalnız faj bulunan tüm örneklerde 28 günlük depolama boyunca kontrol grubuna kıyasla *Listeria* spp. sayısında 2 logaritma birimi azalma gözlemlenmiştir. Araştırma sonucunda, Listex P100'ün *L. monocytogenes* sayısında başlangıçta bir azalmaya neden olduğu ve kimyasal antimikrobiyellerle birlikte kullanıldığında tüketime hazır etlerin güvenliğini arttırmak için ek bir engel olarak hizmet edebileceğini vurgulamışlardır.

Guenther ve Loessner [101] iki tip peynirde *L. monocytogenes* kontrolü için Listeria A511 fajını (3×10^8 - 1×10^9 pob/cm²) tek uygulama ve tekrarlayan uygulama olarak kullanmıştır. Peynirde tek doz A511 (3×10^8 pob/cm²) uygulamasıyla, 21 günlük olgunlaşma süresinin sonunda *L. monocytogenes* sayısında 2,5 logaritma birimi düşüş meydana geldiği bildirilmiştir. Tekrarlanan faj uygulamasının bakterileri daha fazla inhibe etmediği, tek bir yüksek dozun (1×10^9 pob/cm²) daha etkili olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, yumuşak peynirlerde *L. monocytogenes* kontrolünde faj kullanımının avantaj sağlayacağı bildirilmiştir.

Bigot ve diğ. [23] yaptıkları çalışmada, koyun dışkılarından izole ettikleri bakteriyofajın in vitro ortamda *L. monocytogenes* üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Daha sonra, bakteriyofajı ($2,5 \times 10^7$ pob/mL) tüketime hazır vakum paketlenmiş tavuk göğsü filetolarına inoküle etmiş ve 30 °C'da patojen üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, faj dozuna bağlı olarak, başlangıçta patojen sayısında hızlı bir azalma sağlandığı ($2,5 \log \text{ kob/cm}^2$) ancak bu azalmanın devamlılığının olmadığı bildirilmiştir. 5 °C sıcaklıkta gerçekleştirdikleri çalışmada ise, 21 günlük inkübasyon boyunca yeniden gelişmenin önlenmediği belirtilmiştir. İstenen etkinin sağlanması için birim alan başına yüksek dozda faj gerektiği rapor edilmiştir.

Rossi ve diğ. [20] gerçekleştirdiği çalışmada, Brezilya tipi taze sosiste *L. monocytogenes* ($2,1 \times 10^4$ kob/g) kontrolü üzerine Listex P100 bakteriyofajının ($3,0 \times 10^7$ pob/g) 4 °C'da 10 gün etkisini araştırmışlardır. 0. günde kontrol grubunda $4,00 \log \text{ kob/g}$ olarak tespit edilen *L. monocytogenes* sayısında 2,5 logaritma birimi azalma meydana gelerek $1,5 \log \text{ kob/g}$ olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde 10. günde kontrol grubunda $5,2 \log \text{ kob/g}$ olarak tespit edilen *L. monocytogenes* sayısında 2,5 logaritma birimi azalma meydana gelerek $2,7 \log \text{ kob/g}$ düzeyine ulaşmıştır. Sonuç olarak bakteriyofaj kullanıldığında, 0. ve 10. günde sosislerdeki *L. monocytogenes* sayısında 2,5 logaritma birimi azalma olduğu bildirilmiştir.

Soni ve Nannapaneni [19] broth sistemde 10^4 , 10^6 ve 10^8 pob/mL Listex P100 konsantrasyonlarının *L. monocytogenes* gelişimini 4 °C'da 12 günde, 10 °C'da 8 günde ve 30 °C'da 4 günde inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca *L. monocytogenes* 1/2a ve 4b serotiplerine karşı çığ somon (*Salmo salar*) fileto dokusunun yüzeyinde bakteriyofaj Listex P100'ün antilisterial aktivitesini araştırmıştır. Araştırmacılar, çığ somon filetolarında, 2,0; 3,0 ve 4,5 log kob/g olan *L. monocytogenes* sayısının 1,8; 2,5 ve 3,5 log kob/g düzeyinde azalması için 10^8 pob/g'lık faj kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir. Çalışma sonunda 4 °C'da 10 günlük depolama sonunda bakteriyofaj uygulanan somon filetolarındaki *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2,3 logaritma birimi daha düşük bulunmuştur. Sonuç olarak, Listex P100'ün çığ somon filetoları üzerinde antilisterial etkisiye sahip olduğu ve *L. monocytogenes*'in niceliksel olarak azalmasında etkili olduğu rapor edilmiştir.

Soni ve diğ. [27] yayın balığı (*Ictalurus punctatus*) filetolarında Listex P100 fajının *L. monocytogenes* (4,3 log kob/g) üzerine faj dozunun (2×10^7 , 2×10^5 ve 5×10^3 pob/g), faj temas süresinin (15, 30, 60 ve 120 dk) ve depolama sıcaklığının (4 °C, 10 °C ve 22 °C) etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, taze yayın balığı filetosunda 2×10^7 pob/g Listex P100 kullanılan grupta *L. monocytogenes* sayısındaki azalmayı 4 °C'da 1,4-2,0 log kob/g, 10 °C'da 1,7-2,1 log kob/g ve 22 °C'da 1,6-2,3 log kob/g olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, *L. monocytogenes* sayısında 1 log kob/g'den daha yüksek azalma sağlamak için 30 dakikalık faj temas süresinin gerekli olduğu, 15 dakika faj temas süresinin ise *L. monocytogenes* sayısında 1 log kob/g'den daha az azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada *L. monocytogenes* sayısının azalmasında, test edilen yüksek ve düşük depolama sürelerinden bağımsız olarak, faj temas süresinin ve faj dozunun etkili olduğu ortaya koyulmuştur.

Holck ve Berg [102] yaptıkları araştırmada *L. monocytogenes* gelişimini azaltmak için fajların ve koruyucu kültürün (*Lactobacillus sakei*) birlikte kullanımını incelemişlerdir. Çalışmada, faj ilavesinin *L. monocytogenes* sayısını 10 kat azalttığı bildirilmiştir. 14 ila 28 günlük depolamadan sonra ise, faj ve koruyucu kültür içeren numunelerde *L. monocytogenes* sayısı, yalnızca faj içeren numunelere kıyasla 100 kat daha fazla azalmıştır.

Guenther ve diğ. [9] *L. monocytogenes* bulunma ihtimali olan tüketime hazır gıdaları model olarak kullanarak, A511 ve P100 fajlarının (3×10^6 , 3×10^7 ve 3×10^8 pob/g), patojenin farklı suşları (Scott A - serovar 4b ve WSLC 1001 - serovar 1/2a) (1×10^3 kob/g) üzerine etkisini 6 °C'da 6 günlük depolama periyodunda araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, çikolatalı süt ve mozzarella peyniri salamurası gibi sıvı gıdalarda patojen sayısının hızla tespit seviyesinin altına düştüğü belirtilmiştir. Katı gıdalarda (sosisli sandviç, dilimlenmiş hindi eti, somon füme, deniz ürünleri, dilimlenmiş lahana ve marul yaprakları) faj uygulamasının bakteri sayısını 5 logaritma birimi azalttığı rapor edilmiştir. Genel olarak, daha yüksek faj konsantrasyonunun (3×10^8 pob/g), düşük dozlardan daha etkili olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca kullanılan fajların, depolama sırasında hayvansal kaynaklı gıdalarda enfektivitelerinin çoğunu koruduğu, bitki materyallerinde ise 1 logaritma biriminden fazla inaktivasyona neden olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar A511 ve P100 gibi geniş konakçı

aralıklı fajların, kontaminasyona duyarlı tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes*'in biyokontrolü için etkili bir şekilde kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Leverentz ve diğ. [8] faj ve nisin uygulamalarının taze kesilmiş elma ve kavunda *L. monocytogenes* üzerine etkisini araştırmışlardır. Faj karışımının, kavun üzerindeki *L. monocytogenes* sayısını 2,0 ile 4,6 logaritma birimi azalttığını, elmalardaki azalmanın ise 0,4 logaritma biriminin altında olduğunu bildirmişlerdir. Nisin ile kombinasyon halinde faj karışımının, *L. monocytogenes* sayısını kavun dilimlerinde 5,7 logaritma birimine kadar, elma dilimlerinde ise 2,3 logaritma birimi kadar azalttığı belirtilmiştir.

1.2.5 Gıdalarda Biyokontrol Ajanı Olarak Kullanılan Fajların İstenen Özellikleri

Gıdalarda kullanılması amaçlanan fajlar litik olmalıdır. Konakçı aralıkları, hedef mikroorganizmanın epidemiyolojik olarak önemli tüm suşlarını kapsamalıdır. Seçilen fajlar, amaçlanan kullanım ortamında stabil olmalıdır. Ek olarak geniş bir konakçı aralığına da sahip olmalıdır, bu aralığı faj kokteylleri kullanılarak sağlamak mümkün olabilir [80].

Gıda sektöründe bakteriyofaj uygulamaları, hayvancılıkta hastalıkların önlenmesi ve azaltılması, taze ham ürünlerin dekontaminasyonu, ekipman ve temas yüzeylerinin dezenfeksiyonu ve gıdaların raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanımı söz konusudur. Gıda güvenliğini arttırmak için bakteriyel patojenlerle kontamine olabilecek gıdalara virüent fajlar uygulanır. Bu sayede, patojen sayısında azalmaya neden olan faj, gıdayı tüketim için güvenli hale getirebilir [75].

Hagens ve Loessner [103], gıdalarda biyokontrol ajanları olarak kullanılması amaçlanan fajların özellikle litik olmaları ve geniş bir konak aralığına sahip olması gerektiğini bildirmişlerdir.

1.2.6 Biyokontrolde Faj ve Konakçı Konsantrasyonunun Etkisi

Biyokontrol amacıyla faj kullanılan çoğu araştırma sıvılarda [103] yapılmakla birlikte katı gıdalarda yapılan çalışmalar [90,92,96] da bulunmaktadır. Genelde çalışmalar yüksek konsantrasyonda bakterilerle yapılmıştır [103]. Sıvı ortamlarda, sıvı akışı veya aktif yüzme (bakteriyel hareketlilik) fajların duyarlı konakçı bakterilerle karşılaşma ve enfekte olma olasılığını artırır [104]. Beklenen yüksek hijyen standartları nedeniyle bakteriyel kontaminasyon muhtemelen çok düşük sayılarda ortaya çıkacaktır [103]. Gıda Güvenliği ve Uygulamalı Beslenme Merkezi, *L. monocytogenes* kaynaklı kontamine gıdalarda 3 logaritma biriminin ortalama bir değer olduğunu rapor etmiştir [72]. Yapılan çalışmaların çoğu, bu değeri baz alarak gerçekleştirilmiştir. Bakteri konsantrasyonunu Silva ve diğ. [100] 10^5 kob/g, Figueiredo ve Almeida [98] 10^4 kob/mL, Rossi ve diğ. [20], Soni ve Nannapaneni [19] ve Soni ve diğ. [27] 10^4 kob/g, Baños ve diğ. [71] ve Chibeu ve diğ. [5] 10^3 kob/cm² ve Guenther ve diğ. [9] 10^3 kob/g olarak kullanmışlardır.

Doğal olarak kontamine olan gıdalardaki düşük bakteri sayıları, faj etkinliğini kısıtlayan en önemli faktörler arasında yer almaktadır. Gıda ortamında, faj-hedef bakteri etkileşimini arttırmak amacıyla, gıda matrisine çok sayıda faj (yaklaşık 1×10^8 pob/mL eşiği) ilave edilmesi gerekmektedir [103]. Soni ve Nannapaneni [19] 10^4 pob/mL düzeyinde, Soni ve diğ. [27] 10^3 pob/mL düzeyinde faj kullanımının etkili olmadığını bildirmiştir. Başka bir deyişle, az sayıda fajın, az sayıda bakteriyi enfekte etmesi mümkün değildir [103].

1.2.7 Fajların Biyosanitasyon ve Biyokoruma İçin Kullanımı

Gıda endüstrisinde biyofilmler, özellikle gıda işleme ve depolama aşamasında kullanılan ekipmanların yüzeylerinde, özellikle temizlenmesi veya sterilize edilmesi zor olan yüzeylerinde bulunurlar. Farklı ortamlarda bulunan bakterilerin çeşitliliği bu konuda kısıtlayıcı olmasına rağmen, biyosanitasyon için faj kullanımı umut vericidir [80,105].

Fajlar ile biyokoruma, hızlı bozulan gıdalarda raf ömrünü uzatmak için bakteriyofajın koruyucu olarak kullanılmasıdır. Fajlar, soğutulmuş gıdalarda bile (özellikle

psikrotrofik bakteriler) patojenik ve bozulma bakterilerinin gelişimini sınırlandırarak konakçılarını 1 °C'a kadar düşük sıcaklıklarda lize edebilme yeteneklerinden dolayı mükemmel gıda biyokoruma ajanlarıdır [80].

1.2.8 Gıdalarda Faj Lizininin Kullanımı

Lizinler, yeni oluşturulan fajların konakçı hücreden salınmasına izin vermek için çeşitli peptidoglikan bağlarını hedefleyerek bakteriyel hücre duvarının bozunmasında rol oynayan litik fajlar tarafından üretilen enzimlerdir. Lizin enzimleri, hücre duvarının peptidoglikan tabakasına saldırdığından, harici olarak eklendiğinde Gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkilidirler ve gıda güvenliğini arttırmak için biyokontrol ajanları olarak kullanılabilirler [106]. Lizinler genellikle konakçı türleriyle sınırlı dar bir spektrum aktivitesine sahiptirler. Lizin, doğrudan gıdaya veya yemlere saflaştırılmış bir protein olarak ilave edilebilir [80].

1.2.9 Bakteriyofaj ile Biyokontrolün Avantajları

Fajların antibiyotikler ve dezenfektanlar gibi geleneksel antimikrobiyellere göre birçok avantajı vardır. Güvenli kullanım öyküsüne sahiptir [80]. Fajların en büyük avantajı türe özgü olmasıdır ve antibiyotiklerin aksine doğal mikrobiyotaya zarar vermemesidir [107,108].

Bakteriyofajlar çoğunlukla nükleik asit ve proteinlerden oluşur ve mevcut tüm kanıtlar, günlük beslenmenin normal bir bileşenini temsil ettikleri için oral tüketimlerinin insanlar için tamamen zararsız olduğunu göstermektedir [77]. *L. monocytogenes*'e karşı 2×10^{12} pob/kg vücut ağırlığı dozunda faj verilen sıçanlarda oral toksisite testleri, histolojik değişiklikler, morbidite veya mortalite açısından herhangi bir anormallik belirtisi göstermemiştir [17].

Bakteriyofajlar oto-replikatif (oto dozaj), bu nedenle bakteriyel kontaminasyon yüksek olduğunda, düşük faj konsantrasyonları istenen patojen azalmasını sağlayabilir [80]. Yani fajlar ortamdaki konakçıları ölene kadar çoğalır ve konakçıları öldüğünde inaktif hale gelir [77]. Doğada yaygın bulunmalarından ötürü faj üretimi nispeten basit ve ucuzdur [76,80].

1.2.10 Bakteriyofaj ile Biyokontrolün Dezavantajları

Gıdaların korunması için faj kullanmanın dezavantajları arasında sınırlı konakçı aralığı, dirençli mutantların gelişme riski ve virülans karakterlerin bir bakteri suşundan diğerine transdüksiyon yoluyla aktarılma potansiyelinin olmasıdır. Ancak, bu sorunların üzerinden gelinebileceği düşünülmektedir. Faj kokteylleri, konakçının birden fazla suşu mevcut olduğunda kullanılabilir [103]. Son olarak, düşük transdüksiyon frekansları gösteren fajlar seçilerek virülansın transdüksiyonu önlenabilir.

Diğer bir dezavantaj, etkinlikleriyle ilgili mevcut araştırmaların çoğunun, fajların uygulanacağı gerçek ticari ortamları yansıtmayan, yapay olarak aşılınmış gıdalarla çalışmaların gerçekleştirilmesidir [80].

Bakteriyofajlar çevremizdeki bakterilerle savaşır. Bu bakteri virüsleri, gıda, tıp ve veteriner hekimlikte önemli olan bakteriyel patojenleri kontrol etmek ve tespit etmek için kullanılmaktadır. Konakçının faj direnç mekanizması ve faj direncinin üstesinden gelme yöntemlerini tam olarak anlamak için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır. Her ne kadar çalışmaların sonuçları umut vadecici görünse de, dikkatle yorumlanmalıdır. Bazı faj çalışmalarında, örneğin elma dilimleri üzerinde biyokontrol amacıyla kullanılan fajların, konakçıları azaltmada yetersiz olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca, birkaç araştırmacı tarafından faj dirençli fenotiplerin ortaya çıktığı da bildirilmiştir. Faj tabanlı teknolojilerin uygulanması ve ticarileştirilmesi günümüzde başlamış ve ancak gelişmeleri için hala çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır [80].

Fajlar gıdalarda geçmişten beri bulunmaktadır ve sonsuza kadar da bulunacaktır. Ancak, fajların gıdalardaki bakteriyel patojenlerin biyokontrolü için gıdalara eklenmesinin tüketiciler tarafından kabulü yani gıdalara virüs ekleme algısı, bu fajların yaygın olarak kullanılması için üstesinden gelinmesi gereken en kritik engel olacaktır [80,109].

Birçok araştırmacı bakteriyofajlarla yaptıkları çalışma sonucunda olumlu sonuçlar elde etmiş ve patojenlerin kontrolünde veya ürünlerin güvenliklerini sağlamada etkili olduklarından bahsetmiştir [5,8,90–99,100–102,18–20,23,27,29,71].

1.3 Tütsüleme Teknolojisi

Dumanlama diğerk deyişle tütsüleme, Taş Devri'nden beri balık eti ve kırmızı etin işlenmesi ve korunması için kullanılan yöntemlerden birisidir [110,111]. Tütsüleme yöntemi ürünlerin duyuşal kalitesini geliştirmek, raf ömrünü uzatmak ve böylelikle tüketiciler tarafından daha fazla kabul edilebilirlik kazandırmak amacıyla kullanılır. Tütsüleme, çeşitli antimikrobiyel ve antioksidantlarla balık etini zenginleştirir, ayrıca ürünlere özel tat, lezzet ve aroma kazandırır [112].

Geleneksel balık tütsüleme işleminde ateş kullanımıyla gerçekleşir. Odun, yanma sürecinde parçalanan selüloz, hemiselüloz ve lignin ana bileşenlerini içerir. Yanma sürecine piroliz denir ve bu olay basitçe odunun ısı ile kimyasal ayrışması olarak tanımlanır [110].

Tütsüleme ağacın termal olarak tahrip edilmesinden kaynaklanan uçucu maddelerin et veya balık ürünlerinin yüzeyine nüfuz etme süreci olarak da tanımlanmaktadır. Dumandaki uçucu bileşikler balık kasına nüfuz eder [111]. Elde edilen duman, gıdaya tat, renk ve aroma vermekle kalmaz, aynı zamanda dumanın gıda üzerinde kurutucu, bakterisit ve antioksidan etkileri gıdanın korunmasını sağlar [110].

Tütsüleme, mikrobiyel gelişimin azalmasına sebep olan, su aktivitesini düşüren tuzlama (i), mikroorganizmaların geçişine fiziksel bir yüzey bariyeri sağlayan yüksek sıcaklıkta kurutma (ii) ile mikrobiyel gelişimi ve acılaşmayı geciktiren aldehitler, karboksilik asit ve fenoller gibi antimikrobiyel ve antioksidan bileşiklerin birikiminin (iii) kombine etkisi nedeniyle balıkların raf ömrünü uzatır [111].

Ayrıca, yüksek sıcaklıkla birlikte dumana maruz kalan balık kası, zararlı enzimatik reaksiyonları etkili bir şekilde sınırlandırabilir [111,113]. Ancak günümüzde, tütsülemenin temel amacı, koruyucu etkilerinden ziyade ürünün duyuşal kalitesi üzerine etkileridir [111].

Dumanın balık kasına nasıl verildiğine ve tütsüleme sıcaklığına bağılı olarak tütsüleme çeşitleri, sıcak tütsüleme, soğuk tütsüleme, sıvı tütsüleme ve elektrostatik tütsüleme

olarak sınıflandırılır. Ayrıca soğuk ve sıcak tütsülemenin bir arada kullanıldığı kombine yöntemlerde tütsüleme çeşitlerine dahil edilmektedir [111].

1.3.1 Tütsüleme Metotları

Sıcak tütsüleme: Sıcak tütsüleme hem ısının hem dumanın bir arada kullanıldığı geleneksel tütsüleme yöntemidir. Sıcak tütsüleme üç ana işlemi birleştirir:

1. Pişirme: 80 °C'ın üzerindeki sıcaklıklarda ısı işlemi uygulanır, balığın eti pişirilir, ısı balığın üzerinde ve içinde sporsuz kalan bakterileri yok eder. Bağırsaklardaki ve etlerdeki enzimleri inaktif hale getirir.
2. Kurutma: Dumanı üreten ateş aynı zamanda ısı üretir ve balığı kurutur.
3. Duman: İçerdiği bir dizi bileşik ile duman bakterileri öldürerek koruyucu etki gösterir. Sıcak tütsülemeye balık tamamen pişirilir ve tüketici satın aldıktan sonra tekrar pişirmeden tüketilebilir [110,111].

Soğuk tütsüleme: Bu yöntemde, 30 °C ve altındaki sıcaklıklarda tütsüleme işlemi yapılır. Soğuk tütsüleme işlemi eti pişirmez, proteinleri pıhtılaştırmaz, gıda bozucu enzimleri etkisiz hale getirmez veya gıda patojenlerini ortadan kaldırmaz. Burada asıl amaç, yoğun ısı işlem uygulaması olmadan besin öğelerini koruyarak balığa aroma ve tat kazandırmaktır. Bu yüzden tüketilmeden önce pişirilmesi gerekir [110].

Sıcak tütsüleme ile karşılaştırıldığında, soğuk tütsüleme daha uzun sürede uygulanır, daha yüksek bir verime sahiptir ve soğuk tütsülenmiş ürünlerde dokusal özellikler sıcak tütsülenmiş ürünlere kıyasla çok daha iyi korunur [111].

Sıcak ve soğuk tütsüleme kombine yöntemi: Bu yöntemde balıklar önce 30 °C'ın altında birkaç saat tütsülenir ve daha sonra 30 °C'ın üzerine çıkarılarak tütsüleme işlemi devam ettirilir [110,111].

Sıvı tütsüleme: Sıvı tütsü ekstraktı, odunun kuru damıtılmasıyla hazırlanır ve daha sonra kondense edilir. Kondense duman, bir çözücü içinde çözüldürülür ve doğrudan ürünler üzerinde kullanılabilir. Sıvı tütsü, ürüne daldırma, püskürtme ya da buharında

bekletme şeklinde verilir. Dumanın aroması ve tadı balık kasına aktarılır. Sıvı tütsüleme birçok avantaja sahiptir. Geleneksel soğuk ve sıcak tütsüleme işlemlerine göre duman tadı elde etmek hızlı ve çok daha kolaydır [111,114].

Doğal dumandaki istenmeyen bileşikler (örneğin PAH'lar) sıvı tütsü ekstraktında uzaklaştırılabilir. Bunlara ek olarak, sıvı tütsüleme işlemi daha düşük işletme maliyetleri ve daha az çevre kirliliği sağlamaktadır ve diğer tütsüleme yöntemlerine kıyasla daha kısa işlem süresine sahiptir [115]. Araştırmacılar geleneksel tütsülemeye kıyasla sıvı tütsü ürünlerin daha yüksek işleme verimine ve benzer dokusal özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir [111,116].

Elektrostatik tütsüleme: Balıklar elektriksel bir alanda dumanla muamele edilir. Elektrik alanı iyonize duman partiküllerine etki ederek tütsüleme sürecini hızlandırarak işlem süresini kısaltır. Bu yöntemde yüksek kaliteli ürünler elde edilerek işçilik ve üretim maliyetleri düşürülebilir [111].

1.3.2 Tütsüleme İşlem Basamakları

Tütsülenmiş balıkların hazırlanmasındaki işlem basamakları, hammadde seçimi, iç organların temizlenmesi, yıkama, tuzlama (sıvı tuzlu su veya kuru tuz karışımının banyosu veya enjeksiyonu ile), kurutma, uygun tütsüleme yönteminin uygulanması, soğutma, paketlenme ve depolama şeklindedir [110,117,118].

1.3.3 Tütsüleme Sürecinde Balık Kasında Meydana Gelen Değişimler

Tütsüleme süreci, hem balık kasının dehidrasyonu hem de balık kasından lipitlerin sızması nedeniyle ağırlık kaybına sebep olur. Hammaddeye, nihai ürün özelliklerine, tütsüleme yöntemine, tütsüleme sürecindeki dehidrasyona bağlı olarak ağırlık kaybı yaklaşık olarak %10-25 arası değişiklik gösterir. Ayrıca, balığın boyutu ve şekli işleme verimini etkileyen faktörler arasındadır [111].

Balık kasının pH'sı, tütsüleme sürecinde, esas olarak dumandan asidin emilmesi, nem kaybı ve fenollerin, polifenollerin ve karbonil bileşiklerinin protein ve protein

bileşenleri ile reaksiyona girmesi nedeniyle düşer [111]. Tütsüleme işleminde kullanılan sıcaklık ne kadar yüksekse, balık kasındaki pH o kadar düşük olur, bu nedenle elektrostatik yöntemle tütsülen balıklar, diğer yöntemlere kıyasla pH'da en az düşüşü gösterir [119].

Tuzlama adımı sırasında balık kasının tuz içeriğindeki artış, protein yapısında değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler, gıdanın kendi bileşimine ve tütsülemenin yapıldığı koşullara bağlı olarak değişir. [111,120,121].

Tütsüleme işlemi sırasında balık tadında meydana gelen değişiklikler, esas olarak uçucu bileşiklerin, özellikle fenollerin dumandan emilmesi sayesinde [111]. Ürünlerdeki duman kokusu ve aromasının yoğunluğu, tütsüleme sıcaklığı ve tütsüleme yöntemine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir [111,122]. Daha yüksek sıcaklıklarda tütsüleme işleminin uygulanması balık kasında duman bileşenlerinin birikmesini artırır. Oluşan lezzet aynı zamanda tütsüleme işlemi sırasında meydana gelen lipit oksidasyonundan da kaynaklanabilmektedir [111].

1.3.4 Tütsülenmiş Balık Ürünlerinin Kalitesini Etkileyen Faktörler

1.3.4.1 Ham Madde

Hammaddelerin kimyasal ve fiziksel özellikleri, tütsülenmiş ürünlerin kalitesini büyük ölçüde etkiler. Balığın avlandığı alan, balık tutma yöntemi veya hammaddenin doğadan avlanan balık veya çiftlik balığı oluşu gibi etmenler hammadde kalitesini etkileyen faktörler arasındadır. Lipit içeriği ve lipitlerin dağılımı doku, tat ve lezzet açısından nihai ürünlerin kalitesinde ve besin değeri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [111].

Genellikle, tütsülenmiş balıklarda yüksek fenol içeriği, kaslarında düşük lipit içeriğine sahip olan balıklardan elde edilir [111]. Yüksek yağ içeriğinin, tütsülenmiş balığın kalitatif özelliklerini bozabileceği belirtilmiştir [119,123].

1.3.4.2 Tütsüleme İçin Kullanılan Ağaç Türleri

Duman, "için için yanan lif", yani alevsiz yanma ile hazırlanır. Duman üretmenin kaynağı ağaçtır. Tüm odun türleri tütsüleme için uygun değildir ve odunun kokusu ve tadı farklılık gösterdiğinden bu ağaç türlerine bağlıdır [111]. Tütsüleme işleminde kayın, gürgen, meşe, ıhlamur, elma ve portakal gibi ağaç türleri tercih edilir. Çam ve diğer iğne yapraklı reçineli ağaçlar ürüne acımsı bir tat kattıkları için tercih edilmemektedir [124].

1.3.4.3 Tuzlama Süreci

Tuzlama, tütsüleme sürecindeki en önemli aşamalardan biridir. Tuz, balık kasında koruyucu görevi görerek, su aktivitesini düşürerek ve bakteri üremesini engelleyerek ürünün raf ömrünü uzatır. Tuzlama ayrıca nihai tütsülenmiş ürünlerde istenen sert dokuyu ve tuzlu tadı sağlar [111].

Füme balık endüstrisinde kuru tuzlama, salamura ile tuzlama, enjeksiyonlu tuzlama veya bunların kombinasyonları şeklinde farklı tuzlama yöntemleri uygulanmaktadır [111,119,125]. Kuru tuzlamada, tuz balık üzerine direkt olarak uygulanırken, salamura tuzlamada balık tuz solüsyonunun içinde muhafaza edilir. Yaş tuzlamada kuru tuzlamaya kıyasla balık etindeki su kaybı daha az olduğundan et verimi de daha fazla olmaktadır ve sanayide yaygın olarak yaş tuzlama tercih edilmektedir. Kuru tuzlamada % 4-35 arası tuz oranları kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tuzlama süresi ve tuz konsantrasyonu balığın türüne, yağlılık derecesine ve muhafaza süresi gibi faktörlere göre değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca kuru tuzlamada kullanılan balık/tuz oranları yöresel yöntemlere ve istenen lezzete göre farklılık gösterebilmektedir. Tütsülenmiş ürünlerde salamura tuzlamada %5 [126], %10 [126,127], %18 [128], %28 [129], %36 [130] ve %70 [130] oranları kullanılabilir. Ancak kullanılan tuz oranları, sıcaklık ve süreleri aynı kuru tuzlama tekniğinde olduğu gibi belli bir standarda sahip değildir [126,130,131].

1.3.4.4 Kurutma Metodu

Kurutmanın füme balık ürünlerinde su aktivitesini azaltarak nihai ürüne koruyucu bir etki sağladığı bilinmektedir. Balıklarda kullanılan kurutma koşulları, üreticiye ve balık türüne göre değişiklik göstermektedir. Kurutma koşullarının uygun olmayan şekilde yapılması; ürün kalitesi, dokusu ve rengi gibi işlem verimi üzerinde olumsuz etkilere sebep olabilir. Tütsülenmiş balık ürünlerinde kurutma sıcaklığına ve kuruma süresine bağlı olarak mikrobiyel flora dağılımı değişiklik göstermektedir [111,122].

1.3.5 Tütsülenmiş Balıklarda Dumanın Etkileri

Duman, odunun yakılması veya için için yanması (yani alevsiz yakılması) ile üretilir. Duman, karbon monoksit, metan, uçucu organik bileşenler (C2–C7), formaldehit, akrolein, propiyonaldehit, butiraldehit, asetik asit, azot oksitler (NO, NO₂), fenol (ve derivatları), syringol (ve derivatları), katekol (ve derivatları), organik karbon, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH): floren, penatren, antrasin, metilantrasinler, florantin, piren, benzo(a)antrasin, krizen, benzoflorantenler, benzo(a)piren gibi 200'den fazla maddeden oluşmaktadır. Dumanın bileşimi, tütsülenmiş ürünlerin kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Bu bileşim, kullanılan ağacın türüne ve duman oluşumu koşullarına bağlı olarak değişir [111,112,132].

1.3.5.1 Dumanın Bakterisit Özellikleri

Dumanın bakterisit özellikleri, ısıtma, kurutma, tuzlamanın birleşik etkisinden ve ayrıca polifenolik bileşenlerin balıklar üzerinde birikmesinden kaynaklanmaktadır. Formaldehit ve asetik asit gibi polifenolik bileşenlerin bakteriyosit etki gösterdiği bilinmektedir. Dumanın birikmesi yüzeyde daha fazladır. Bu nedenle, duman yüzeydeki bakterilere karşı balığın iç kısmına göre daha etkilidir [110].

1.3.5.2 Dumanın Antioksidan Özellikleri

Dumanın antioksidan özellikleri vardır ve bu antioksidan etki üç önemli kimyasalın, yani 2, 6-dimethoxyphenol; 2, 6-dimethoxy-4-methylphenol ve 2, 6-dimethoxy-4-ethylphenol varlığından kaynaklanmaktadır [110].

1.3.5.3 Dumanın Balığın Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi

Tütsülenmiş balığın aroması ve tadı esas olarak dumandaki uçucu bileşiklere dayandırılır. Fenolik bileşikler, balık kası tarafından güçlü bir şekilde tutulur, füme balıkların aroması bu şekilde sağlanır [111,133].

Tütsülenmiş balık aroması; tütsülenmiş aroma üreten Maillard reaksiyonları (yani duman karbonil grupları ve gıda amino grupları arasındaki etkileşimler) ve balıksı aromalar sağlayan lipit oksidasyon ürünleri sayesinde iki yolla oluşturulur [111].

Tütsülenmiş tadın guaiacol ve türevlerinden üretildiği düşünülürken, tütsülenmiş kokudan siringol ve türevlerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir [111,134]. Ayrıca dumanda bulunan fenol, p-cresol, o-kresol, guaiacol, 4-methylguaiacol, 4-ethylguaiacol, eugenol, 4-propylguaiacol ve isoeugenol gibi diğer bileşiklerin de tütsülenmiş balık ürünlerindeki aroma ve lezzetin oluşumuna katkı sağladığı bilinmektedir [111,135,136].

Tütsülenmiş balıkta renk ise karbonil içeriğine, yüksek moleküler ağırlıklı fenollere ve uçucu aldehitlere bağlıdır [111].

1.3.5.4 Dumanın Kanserojen Etkisi

Duman, PAH'ların varlığı nedeniyle kanserojen özelliğe sahiptir. Tütsüleme sürecinde PAH'lar balık kasında birikir ve lipofilik özelliklerinden dolayı çıkarılmaları zordur. Benzo (α) piren, tütsülenmiş balık ürünlerinde kanserojen PAH varlığının bir belirteçidir. Tütsülenmiş ürünlerde benzo-a-piren'in 1 ppb'den yüksek olmaması istenmektedir. Tütsülenmiş balıklardaki PAH'ların içeriği bu bileşiklerin dumandaki konsantrasyonlarına, balığın tütsüleme yöntemine, tütsüleme süresine ve balık türüne

bağlıdır. Özellikle sıvı tütsü metodu PAH bileşiklerinin kontrol altında tutulması için etkili bir tütsüleme yöntemidir [110–112].

1.3.6 Tütsülenmiş Balıklarda Raf Ömrü

Tütsülenmiş balığın raf ömrü, tütsülemek için kullanılan balığın mikrobiyel kontaminasyon miktarına, su aktivitesine, uygulanan ısıya ve duman bileşiklerinin miktarına, ısıya maruz kaldığı sürece mikroorganizmaların inaktivasyon etkinliğine, havanın nemine ve depolama sırasındaki oksijen miktarına bağlıdır [137].

Hem yağlı balıklar için hem de yağsız balıklar için tütsüleme teknolojisi uygulamaları gerçekleştirilmektedir. Ancak, yağsız balıkların tütsülenmesi ile elde edilen son ürünlerin daha uzun raf ömrüne sahip olduğu görülmüştür [138].

1.3.7 Tütsülenmiş Balıklarda *L. monocytogenes*

Heinitz ve Johnson [139] 5 yıl boyunca analize aldıkları 1080 adet tütsülenmiş balık ve kabuklu su ürününün %14'ünde *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, 240 adet soğuk tütsülenmiş ürünün 51'inde (%17,5) ve 215 adet sıcak tütsülenmiş ürünün 19'unda (%8,1) *L. monocytogenes*'e rastladıklarını bildirmişlerdir.

Dominguez ve diğ. [140], soğuk tütsülenmiş balıklarda *L. monocytogenes*'in bulunma oranını araştırmışlar ve çalışma sonucunda analize aldıkları 170 örneğin %22,3'ünde *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Nakamura ve diğ. [141] tüketime hazır 95 adet balık ürününde *L. monocytogenes* varlığını tespit etmişlerdir. Bu ürünlerin 12 (%13) tanesi *L. monocytogenes* açısından pozitif sonuç vermiş ve pozitif sonuç veren örneklerin soğuk tütsülenmiş somon (*Salmo salar*) ve alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) olduğu bildirilmiştir. Beaufort ve diğ. [142] ise analize aldıkları 1010 adet soğuk tütsülenmiş somonun (*Salmo salar*) 104 tanesinin *L. monocytogenes* açısından pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Meloni ve diğ. [143], tüketime hazır 200 adet gıdayı *L. monocytogenes* varlığı yönünden incelemişlerdir. Analize aldıkları ürünler arasında 50 adet tütülenmiş su ürününün 6'sında (%12) *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Uyttendaele ve diğ. [144] Belçika'da 2005-2007 yılları arasında 3 farklı tüketime hazır gıda ürününde *L. monocytogenes* riskini ortaya koymak amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, salata yapımında hammadde olarak kullanılan tütülenmiş balıkların toplam 33/58 örneğinde (%56,9) *L. monocytogenes* varlığı tespit edilmiştir.

Acargil [145], sıcak tütülenmiş ve vakum paketlenmiş Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Listeria* ve *Salmonella* türlerinin varlığını araştırmıştır. Elde ettiği sonuçlara göre 4 örneğin *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* açısından, 3 örneğin *L. innocua*, 7 örneğin *L. grayi* ve 1 örneğin ise *L. ivanovii* açısından pozitif sonuç verdiğini bildirmiştir. Araştırmacı analize aldığı örneklerin hiç birinde *Salmonella* spp.'ye rastlamadığını belirtmiştir.

Doménech ve diğ. [146] tüketime hazır gıdalardan *Listeria* ve *Salmonella* türlerini izole etmeye çalışmışlar ve *L. monocytogenes* %3,8 ile en yüksek oranda tütülenmiş somonlardan (*Salmo salar*) tespit edilirken *Salmonella* spp. ise tespit edilmemiştir.

Kramarenko ve diğ. [147] Estonya'da vakumda ve modifiye atmosferde paketlenmiş tüketime hazır et ve balık ürünlerinde *L. monocytogenes*'in varlığını araştırmışlardır. Bu kapsamda analize aldıkları 66 soğuk tütülenmiş balığın 4 tanesinde ve 3 sıcak tütülenmiş balığın 1 tanesinde *L. monocytogenes* açısından pozitif sonuç elde etmişlerdir.

Wieczorek ve Osek [148] Polonya'da 2014-2016 yılları arasında yerel marketlerden temin edilen 301 adet taze ve tütülenmiş balık ürününü *L. monocytogenes* varlığı açısından değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar analize alınan 152 tütülenmiş balığın %18,4'ünün *L. monocytogenes* açısından pozitif sonuç verdiğini rapor etmişlerdir.

Rørvik ve diğ. [149] farklı hijyenik kalitedeki somon (*Salmo salar*) füme örneklerini, üç farklı *L. monocytogenes* suşundan oluşan bir karışımın düşük (6 kob/g) ve yüksek (600 kob/g) seviyeleri ile aşlamışlar, ardından vakumla paketlenerek 4 °C'da 5 hafta

depolamışlardır. Çalışma sonucunda *L. monocytogenes*'in tüm gruplarda iyi geliştiği ve örneklerin 4 hafta sonra bile hala duyuşsal olarak kabul edilebilir düzeyde olduğu bildirilmiştir.

Nilsson ve diğ. [150] nisin ile karbondioksit kombinasyonunun bakteriyostatik ve bakterisidal etkisi soğuk fñme somonla (*Salmo salar*) yapılan denemelerde araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, soğuk tñtsñlenmiş ürünlerin muhafazasında nisin ve CO₂ paketlemenin *L. monocytogenes*'in gelişimini kontrol etmek amacıyla kullanılabilereği bildirilmiştir.

Katla ve diğ. [151] bakteriyosin olan sakasin P veya nisin ve/veya laktik asit bakterisi *Lactobacillus sakei*'nin iki izogenik suşundan biri ile birlikte vakumla paketlenmiş soğuk tñtsñlenmiş somona (*Salmo salar*) eklemişler ve *L. monocytogenes* üzerine etkisini araştırmışlardır. Vakumla paketlenmiş somon numuneleri 10 °C'da 4 hafta depolanmıştır. Sakasin P ve nisinin *L. monocytogenes*'in gelişimini engellediği bildirilmiştir. Sakasin P üreten veya üretmeyen *L. sakei*'nin, depolama süresi boyunca *L. monocytogenes* üzerinde bakteriyostatik bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, vakum paketlenmiş soğuk tñtsñlenmiş somon balığına sakasin P üreten *L. sakei* kültürü sakasin P ile birlikte eklendiğinde *L. monocytogenes* üzerinde bakterisidal etki olduğu rapor edilmiştir.

Neetoo ve diğ. [152] tarafından soğuk tñtsñlenmiş somon (*Salmo salar*) örnekleri, nisine dirençli üç *L. monocytogenes* suşundan oluşan kokteyl ile inoküle edilmiştir. Daha sonra nisin içermeyen kontrol filmi ve nisin kaplı plastik filmler ile vakum ambalajlanarak 4 °C ve 10 °C'da depolanmıştır. Çalışma sonucunda, her iki sıcaklık uygulamasında da nisinin bakteriyel mikrofloranın çoğalmasını engellediği hem de *L. monocytogenes*'in kontrolünde etkili olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, tñtsñlenmiş somonun mikrobiyel güvenliğini artırmanın yanı sıra mikrobiyel bozulmayı kontrol etmek için plastik filmlere nisinin dahil edilme potansiyelini vurgulamışlardır.

Vogel ve diğ. [153] yaptıkları çalışmada, soğuk tñtsñlenmiş somon balığında (*Salmo salar*) sodyum asetat (SA) veya sodyum diasetat (SDA) ile kombinasyon halinde potasyum laktat (PL) kullanımının antilisteriyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Soğuk fñme somonda, %2,1 PL ve %0,12 SDA, *L. monocytogenes*'in gelişimini 10

°C'da 42 güne kadar geciktirmiştir. Araştırmacılar, PL ve SDA kombinasyonunun, soğuk fümeye somonda *L. monocytogenes* gelişmesini önlemek için uygun bir teknoloji olduğunu belirtmişlerdir.

Ye ve diğ. [154] beş antimikrobiyel (nisin, sodyum laktat, sodyum diasetat, potasyum sorbat ve sodyum benzoat) içeren kitosan kaplı plastik filmlerin soğuk tütülenmiş somonlarda (*Salmo salar*) *L. monocytogenes*'e karşı etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bu amaçla somon örnekleri *L. monocytogenes* (5×10^5 kob/cm²) ile inoküle edilmiş ve bu antimikrobiyelleri içeren kitosan kaplı filmler ile kaplanarak oda sıcaklığında 10 gün depolanmıştır. Sodyum laktat (9 mg/cm²) içeren kitosan kaplı film *L. monocytogenes* gelişimini engellemede en etkili antimikrobiyel olarak tespit edilmiştir. Potasyum sorbatın (0,6 mg/cm²) ve nisin (500 IU/cm²) de *L. monocytogenes*'e karşı etkili olduğu bulunmuştur. En etkili bulunan bu 3 antimikrobiyel sonraki aşamada buzdolabı sıcaklığında denenmiş ve 6 hafta boyunca *L. monocytogenes* gelişimini engellemede etkili oldukları bildirilmiştir. Çalışma sonunda somon tütüleme endüstrisinde *L. monocytogenes*'i kontrol etme çabalarında 4,5 mg/cm² sodyum laktat içeren kitosan kaplı filmlerin potansiyel olarak yardımcı olabileceği vurgulanmıştır.

Shin ve diğ. [155] farklı paketlenme yöntemlerinin (normal paketlenme, vakum paketlenme, nitrojen gazı ile paketlenme, nitrojen gazı ile vakum paketlenme) 3 ve 7 °C'da 30 gün boyunca depolanan sıcak tütülenmiş gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarındaki *L. monocytogenes* gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, 3 °C'da depolanan alabalıklarda *L. monocytogenes* gelişmemiş, ancak 7 °C'da depolamanın 10. gününde 3 log kob/g seviyelerine, 30. gününde 7 log kob/g seviyelerine ulaşmıştır.

Concha-Meyer ve diğ. [156] yaptıkları çalışmada bir aljinat matrisine eklenen iki laktik asit bakterisinin (*Carnobacterium maltaromaticum*) ve nisin, vakumla paketlenmiş soğuk tütülenmiş somonda (*Salmo salar*) *L. monocytogenes* üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda bu filmlerin, soğutulmuş depolama sırasında *L. monocytogenes* gelişimini engellediği belirtilmiştir.

Aymerich ve diğ. [157] tarafından farklı menşeye sahip ve farklı firmalar tarafından üretilen üç tütülenmiş somon (*Salmo salar*) ürününde *L. monocytogenes*'e karşı biyokoruyucu olarak laktik asit bakterilerin (*Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Carnobacterium maltaromaticum*) etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, 8 °C'da 21 günlük depolama boyunca *L. sakei*'nin test edilen tüm ürünlerde *L. monocytogenes*'in gelişimini engellediği, *L. curvatus*'un ise patojenin gelişimini sınırlandırdığı bildirilmiştir. *C. maltaromaticum*'un etkinliğinin ise ürün tipine bağlı olduğu ifade edilmiş, sadece bir üründe patojenin gelişimini engellediği rapor edilmiştir.

Ekonomou ve diğ. [158] tarafından taze alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), tütülenmiş alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) ve broth ortamında *L. monocytogenes*'i elimine etmek için yüksek hidrostatik basınç (HHP; 15 dakika boyunca 200 MPa), sıvı duman (%0,50, v/v) ve -80 °C'da dondurma yöntemlerinin etkisi araştırılmıştır. Yüksek basınç, sıvı duman ve dondurma teknolojisinin sinerjistik etki gösterdiği belirtilmiş olup, sırasıyla tütülenmiş alabalık ve çiğ alabalıkta *L. monocytogenes* sayısının 5,48 ve 1,93 log kob/g azaldığı tespit edilmiştir.

1.4 Yenilebilir Filmler-Kaplamalar

Ambalaj malzemeleri sentetik ve yenilebilir olmak üzere iki gruba ayrılır. Sentetik ambalajlar genellikle petrol bazlı olup, ürünün korunmasında etkili olmalarına ve endüstride çok tercih edilmelerine rağmen çevre kirliliği ve migrasyon problemleri nedeniyle kullanımının azaltılması önerilmektedir [159]. Tüketicilerin güvenli, kullanışlı ve stabil gıdalara yönelik talebinin artması ve biyolojik olarak parçalanamayan ambalajların olumsuz çevresel etkilerine olan farkındalığın çoğalması yenilebilir film-kaplamalara olan ilginin artmasına sebep olmuştur [160,161].

Herhangi bir gıda ile birlikte tüketilebilen ve gıdanın raf ömrünü uzatmak için gıdayı kaplamak veya sarmak için kullanılan, her tür ince malzeme tabakası yenilebilir kaplama veya film olarak adlandırılır [160]. Yenilebilir filmler ve kaplamalar, yenilebilir biyo-polimerlerden ve gıdaya uygun katkı maddelerinden üretilir [162]. Bu ambalaj malzemeleri sentetik malzemelerden daha kolay bozulur bu sayede çevre

kirliliğinin azaltılmasına büyük katkı sağlar. Yenilebilir kaplamalar ve filmler, oksijen, karbondioksit ve etilen gibi önemli gazların kontrollü değişimine seçici olarak izin verirken, nem kayıplarını, gaz aromalarını ve gıdalardaki çözünen madde hareketlerini önlemek için ürün yüzeylerindeki doğal katmanların yerini almasını sağlar. Materyal, tam bir gıda kaplaması olabilir veya gıda bileşenleri arasında sürekli bir katman olarak yerleştirilebilir [160,161].

Filmlerin gıdalarda kullanımı, 12. yüzyılda Çin'de su kaybını geciktirmek amacıyla limonların kaplanması için mumların kullanımına dayanmaktadır. Yiyeceklerin korunması için kullanılan ilk yenilebilir film ise, 15. yüzyılda Japonya'da soya sütünden yapılmıştır [163]. 1967'de yenilebilir filmlerin ticari kullanımının yaygın olduğu ve çoğunlukla meyve ve sebzelerin mum kaplamaları olarak kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde birçok gıda türü için yenilebilir film ve kaplamalar, gıdaların kalitelerini ve güvenliklerini korumanın en uygun maliyetli yollarından biridir ve kullanımları artarak devam etmektedir [161].

Yenilebilir kaplamalar ve filmler benzer bir tanıma sahiptir. Ancak yenilebilir filmler ayrı ayrı hazırlanır ve daha sonra gıdanın yüzeyine uygulanır, oysa kaplamalar doğrudan gıda yüzeylerinde oluşturulur. Yenilebilir filmler, film oluşturabilen malzemelerden üretilebilir. Üretim sırasında, film malzemeleri su, alkol veya su ve alkol karışımı veya diğer çözücülerin karışımı gibi bir çözücü içinde dağıtılır ve çözündürülür. Yenilebilir filmler ve kaplamalar, gıda ürünlerini mekanik hasarlardan, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik faaliyetlerden korumak için kullanılabilir. Yenilebilir filmler, biyolojik olarak uyumlu olup toksik değildir ve hem bariyer hem de gıda katkı maddelerinin taşıyıcısı olarak işlev görebilirler [161].

Yenilebilir film ve kaplama malzemesi üretilirken aşağıdaki noktalara dikkat edilmelidir [159]:

- Hammaddeler güvenilir olmalıdır.
- Ürün solunumunun kontrol altında olmasına izin vermelidir.
- Yapısal bütünlük sağlamalı ve mekanik işlemi kolaylaştırmalıdır.

- Katkı maddeleri ile birleştirilebilmelidir ve mikrobiyel bozunmayı önlemeli veya azaltmalıdır.

Araştırmalar, her iki yöntemin de uygun şekilde formüle edildiğinde paketlenmiş deniz ürünlerinde nem-oksijen girişine karşı etkili şekilde bariyer görevi oluşturduğunu ve bu ürünlerin organoleptik özelliklerini arttırabileceğini göstermiştir. Ayrıca, yenilebilir filmler ve kaplamaların içerisine antibakteriyel ve antioksidan ajanların dahil edilmesiyle oksidasyonu ve mikrobiyel bozulmayı geciktirme işlevi görebilirler. Bununla birlikte, geçirgenlikleri ve mekanik özellikleri genellikle sentetik filmlerden daha zayıftır ve bu durum kullanımlarını belirli uygulamalarla sınırlamaktadır [161,164,165].

Yenilebilir filmler ve kaplamaların aslında sentetik ambalajın yerini alması amaçlansa da, gıda korumasının yeterliliği, birinci yenilebilir ambalajlar ve yenmeyen ikincil ambalajların birleştirilerek kullanılmasıyla iyileştirilebilir. İkincil ambalaj genellikle kullanım ve hijyenik nedenlerle gereklidir [161].

Gıda uygulamalarında film solüsyonları, daldırma, püskürtme, fırçalama ve ardından kurutma gibi çeşitli yöntemlerle gıdaya uygulanabilir. Biyolojik olarak parçalanabilen yenilebilir filmler ve kaplamalar, türetildikleri malzeme türüne göre kategorize edilerek üçe ayrılır; proteinler, polisakkaritler ve lipitler [160–162].

1.4.1 Üretildikleri Malzeme Türleri

1.4.1.1 Proteinler

Filmi oluşturucu proteinler, hayvanlardan (kazein, peynir altı suyu proteini konsantresi ve izolatu, kolajen, jelatin ve yumurta albümini) veya bitkilerden (mısır, soya fasulyesi, buğday, pamuk tohumu, yer fıstığı ve pirinç) türetilir. Protein filmlerinin oluşumunun ana mekanizması, ısı, çözücüler veya pH'da bir değişiklikle başlatılan protein denatürasyonu ve ardından yeni moleküller arası etkileşimler yoluyla peptit zincirlerinin birleşmesidir [161]. Protein bazlı filmler etin hidrofilik yüzeylerine iyi yapışır, oksijen ve karbondioksit difüzyonu için engeller oluştururken su difüzyonunu durdurmazlar [163,166].

Protein bazlı filmlerin mekanik özellikleri polisakkarit ve lipit bazlı filmlere göre daha iyidir. Ürün için film olarak kullanılmasının yanı sıra, kapladıkları gıdanın besin değerini de arttırmaları. Hidrofilik yapısı nedeniyle protein filmlerin su bariyeri ve mekanik özellikleri sentetik polimer filmlere göre daha zayıftır [159].

1.4.1.2 Polisakkarit

Polisakkaritler yaygın olarak bulunur ve uygun maliyetlidir. Bazıları negatif yüklü olsa da çoğu nötrdür. Yapılarında çok sayıda hidroksil ve diğer polar gruplarını bulundurduğu için hidrojen bağları film oluşumu açısından çok önemli bir işleve sahiptir. pH'ya bağlı olarak aljinat, pektin ve karboksimetil selüloz gibi negatif yüklü olanlar farklı özelliklere sahip olma eğilimindedir [161,167]. Polisakkaritler genellikle çok hidrofiliktir ve zayıf su buharı ve gaz bariyeri özelliklerine neden olur. Polisakkarit polimerlerle kaplamalar iyi bir su buharı bariyeri sağlamasa da, bu kaplamalar gıda ürünlerinden nem kaybını geciktiren ajanlar olarak işlev görebilir [160]. Selüloz, nişasta, pektin, deniz yosunu özleri (aljinat, karragenan ve agar), sakızlar (akasya, guar) ve kitosan bu gruba dahildir [159].

1.4.1.3 Lipit

Koruyucu kaplama olarak kullanılan lipit bileşikleri, asetillenmiş monogliseritler, doğal mum ve yüzey aktif maddelerden oluşur. En etkili lipit maddeleri parafin mumu ve balmumudur. Bir lipit kaplamanın temel işlevi, düşük polariteleri nedeniyle nemin taşınmasını engellemektir. Polisakkaritlerin ve proteinlerin aksine, lipitler biyopolimer değildir ve yapışan filmler oluşturamazlar. Bu nedenle, ya kaplama olarak kullanılırlar ya da düşük polariteleri nedeniyle daha iyi bir su buharı bariyeri sağlayarak kompozit filmler oluşturmak için biyopolimerlere dahil edilirler [160,161]. Hayvansal ve bitkisel yağlar (hindistan cevizi, yer fıstığı, hurma, kakao, tereyağı, yağ asitleri ve mono-, di-trigliseritler), mumlar (kandelilla, karnauba, balmumu, jojoba ve parafin), doğal reçineler (sakız, guarana ve olibanum), bazik yağ asitleri ve bunların özleri (nane, kafur, turuncgillerin uçucu yağları), emülgatörler ve yüzey aktif maddeler (lesitin, yağ asitleri) bu grupta yer almaktadır [159].

Üç temel grup dışında polisakkaritlerin, proteinlerin ve lipitlerin farklı formülasyonlarıyla oluşturulmuş kompozit veya karışık filmler oluşturulabilir. Böylece farklı film bileşenlerinin tek bir kaplamada birleştirilmesi ile kalite artırılır [159].

1.4.2 Yenilebilir Film ve Kaplamaların Avantajları

- Ürüne parlaklık kazandırarak görünümü iyileştirmek,
- Ağırlık kaybını azaltmak,
- Ürünü fiziksel, kimyasal ve biyolojik bozulmalardan korumak,
- Ürünlerin soğuktan kaynaklanan yaralanmalardan korumak, hasat sonrası kimyasal uygulamalar için temel sağlamak ve sentetik malzemelerin kullanımını azaltmak,
- Mikrobiyolojik bozulmayı azaltmak,
- Aroma bileşenlerini, vitaminleri, antioksidanları ve pigmentleri korumak ve bunların esmerleşme reaksiyonlarını azaltmak,
- Tat, pigment ve tatlandırıcılar gibi çeşitli katkı maddeleri ekleyerek kaplanmış gıdanın organoleptik özelliklerini iyileştirmek yenilebilir film ve kaplamaların avantajları arasındadır [159,162].

1.4.3 Yenilebilir Film ve Kaplamaların Dezavantajları

Yenilebilir film ve kaplama uygulamalarında;

- Alerjik reaksiyonlarla karşılaşılabilmesi,
- Gıda güvenliği için kısmi riskler oluşturabilmesi,
- Maliyet artışı ve bilgi eksikliği,
- Makine kullanımı gerekliliği,
- Malzemenin eksikliği gibi faktörler,
- Petrole göre daha az fiziksel ve kimyasal direnç gösterdikleri için çoğu durumda tüketici sağlığı için ikinci bir ambalaj malzemesine ihtiyaç duyulması bu film ve kaplamaların kullanımında karşılaşılan dezavantajlar arasındadır [159].

1.4.4 Sodyum Aljinat Film ve Kaplamalar

Aljinat, biyoendüstride kullanılan doğal olarak oluşan bir polisakkarittir. Esas olarak kahverengi alg türlerinden elde edilir. Aljinatlar (sodyum aljinat, potasyum aljinat, amonyum aljinat ve kalsiyum aljinat) aljinik asidin tek değerlikli tuzlarıdır. Aljinatların moleküler yapısı, 1-4 glikozidik bağ ile bağlanmış β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-guluronik asit (G) kalıntılarının dallanmamış, doğrusal ikili kopolimerlerinden oluşur. Sodyum aljinat, aljinatın en yaygın tuzudur. FDA, sodyum aljinatı güvenli kabul edilen (GRAS) gıda sınıfına dahil eder. Aljinat bazlı yenilebilir kaplamalar ve filmler, meyve, sebze, et, kümes hayvanları, deniz ürünleri ve peynirin kalitesini iyileştirmesi veya sürdürmesi, dehidrasyonu kontrol eden solunumu azaltması, ürün görünümünü geliştirmesi ve mekanik özellikleri iyileştirmesi nedeniyle ilgi çekmektedir [168].

1.4.5 Antimikrobiyel Yenilebilir Filmler ve Uygulamaları

Dawson ve diğ. [169] yaptıkları çalışmada, laurik asit (%8 w/w) ve %2,5 saf nisini (%4 w/w) tek tek ve birlikte termal olarak sıkıştırılmış soya filmlerine dahil etmişlerdir. Laurik asit ve nisin içeren filmler, sıvı ortama (22 °C) maruz bırakıldıktan 8 saat sonra 10^6 düzeyinde bulunan *L. monocytogenes* sayısını tespit edilebilir düzeyin altına indirmiştir. Nisin içeren filmler ile, nisin ve laurik asit içeren film uygulamaları, hindi sucuğundaki bakteri sayısını 21 günlük depolama sonunda 10^6 'dan 10^5 'e düşürmüştür. Tek başına laurik asit içeren film uygulanmış gruptaki *L. monocytogenes* sayısı 48 saat sonra 10^6 'dan $<10^2$ 'ye düşmüş, 21 günlük depolama sonrasında ise hindi sucuklarında 1 logaritma birimi azalmıştır.

Eswaranandam ve diğ. [170] gliserolün sitrik, laktik, malik ve tartarik asitlerle kısmi ikamesi ile nisin (205 IU/g protein) içeren soya protein filminin *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivitesini incelemişlerdir. Malik asit (%2,6 w/v) içeren soya filmlerin *L. monocytogenes* sayısını 5,5 log kob/g düşürdüğü bildirilmiştir. Soya proteini filmine gliserolün ikamesi olarak malik asidin dahil edilebileceği belirtilmiştir.

Oussalah ve diğ. [171] sucuk ve jambon dilimlerini 10^3 kob/cm² *L. monocytogenes* ile inoküle etmiştir. Daha sonra, patojen inoküle edilen örnekler CaCl₂ çözeltisine daldırılarak 3 ayrı esansiyel yağ (kekik, tarçın, geyik otu) içeren aljinat filmler ile kaplanmıştır. Çalışma sonucunda, *L. monocytogenes*'in inhibisyonu üzerinde %20 CaCl₂ ile ön işleme tabi tutulan tarçın esansiyel yağı (%1 w/v) içeren film uygulamasının en yüksek etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir.

Marcos ve diğ. [172] Enterosin içeren filmlerin (aljinat, zein ve polivinil alkol) *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel etkisini araştırmışlardır. 29 günlük depolamadan sonra, en düşük *L. monocytogenes* sayısının Enterosin içeren zein ve aljinat filmlerin yanı sıra zein kontrol filmleri ile paketlenmiş numunelerde tespit edildiği bildirilmiştir. 6 °C'da depolama sırasında, dilimlenmiş pişmiş jambondaki *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için en etkili uygulamanın, 2000 AU/cm² Enterosin içeren aljinat filmlerle vakum paketlenme işlemi olduğu rapor edilmiştir.

Beverly ve diğ. [173] tüketime hazır rosto biftek yüzeyinde yenilebilir bir film olarak kitosanın *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, asetik asitli (%0,5 w/v) kitosan kaplamanın, *L. monocytogenes* sayısını azaltmada laktik asit içeren (%1 w/v) kitosan kaplamaya göre daha etkili olduğu bildirilmiştir. Depolamanın 14. gününde kitosan kaplama uygulanan örneklerde *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubuna kıyasla 2-3 log kob/g daha düşük bulunmuştur. Araştırmacılar kitosan kaplamaların, tüketime hazır rosto biftek yüzeyindeki *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Min ve diğ. [174] hindi sucuk yüzeyine inoküle edilmiş *L. monocytogenes*'i inhibe etmek için Nisaplin ve Guardian'i jelatin bazlı filmlere eklemişlerdir. 4 °C'da 56 günlük depolama boyunca hem % 0,5 Nisaplin filmi (kontrol grubuna kıyasla 4 logaritma birimi daha az) hem de %1 Guardian filminin (kontrol grubuna kıyasla 3 logaritma birimi daha az) hindi sucuklarda *L. monocytogenes*'i etkili bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir.

Fernandez-Saiz ve diğ. [175] balık çorbasında ve broth ortamında kitosan filmlerin *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *Salmonella* spp. üzerine etkisini araştırmışlardır.

Araştırmacılar balık çorbasında kitosan filmlerin etkinliğinin azaldığını, ancak çorbanın duyuşal özelliklerini ve pH'sını etkilemediğini bildirmişlerdir.

Jiang ve diğ. [176] sodyum laktat, sodyum diasetat ve potasyum sorbat içeren kitosan bazlı yenilebilir kaplamaların ve filmlerin soğuk füme somonlarda (*Salmo salar*) *L. monocytogenes* zerine etkisini araştırmışlardır. Antimikrobiyeller içeren veya içermeyen kitosan kaplamaların, *L. monocytogenes*'e karşı aynı kompozisyona sahip kitosan filmlerinden daha yüksek etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. Tüm işlemler arasında %1,2 sodyum laktat/%0,25 sodyum diasetat veya %2,4 sodyum laktat içeren kitosan filmlerin ve %1,2 sodyum laktat/%0,25 sodyum diasetat veya %0,15 potasyum sorbat/%0,125 sodyum diasetat içeren kitosan kaplamaların en yüksek antilisteriyal aktiviteyi sergilediği belirtilmiştir.

Concha-Meyer ve diğ. [156] bir aljinat matrisinde tutulan iki laktik asit bakterisi (*Carnobacterium maltaromaticum*) ve nisinin vakumla paketlenmiş soğuk tütsülenmiş somon (*Salmo salar*) zerinde *L. monocytogenes* gelişimi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Laktik asit bakterisi ve hem laktik asit bakterisi hem de nisin kombinasyonuna sahip filmlerin, 28 gün boyunca bakteriyostatik etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Vonasek ve diğ. [177] peynir altı suyu protein filmlerinde T4 bakteriyofajının enkapsüle edilmesini amaçlamışlardır. Enkapsüle edilmiş fajları içeren yenilebilir filmlerin antimikrobiyel etkinliğini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, 22 C'a sahip aydınlık ve 4 C'a sahip karanlık ortamlarda 1 ay boyunca faj enfektivitesinde önemli bir kayıp olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışma ile fajların aktif paketleme malzemelerine dahil edilme potansiyelini göstermişlerdir.

Neetoo ve Mahomoodally [178] yaptıkları çalışmada nisin, sodyum laktat, sodyum diasetat, potasyum sorbat ve sodyum benzoat içeren filmlerin ve kaplamaların antimikrobiyel etkisini karşılaştırmayı ve optimize etmeyi amaçlamışlardır. Nisinin (25000 IU/mL), potasyum sorbat (%0,3) ve sodyum benzoat (%0,1) ile kombinasyonunu içeren uygulamanın, soğuk tütsülenmiş somonlarda (*Salmo salar*) *L. monocytogenes* zerine en yüksek inhibitör etkiyi gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, genel olarak güvenli (GRAS) kabul edilen doğal ve kimyasal

antimikrobiyelleri içeren selüloz bazlı yenilebilir kaplamaların, *L. monocytogenes* ve bozulma mikroflorasının gelişimini engellemede ve böylece soğuk tütülenmiş somonların güvenliğini ve kalitesini arttırmada etkili olduğunu belirtmiştir.

Jovanovic ve diğ. [179] asetik asit (%1, v/v) ve laktik asit(%1, v/v) ile hazırlanan kitosan kaplamaların ve uçucu yağlarla (%0,2, w/v) hazırlanan kompozit kitosan jelatin filmlerin siyah turp üzerinde *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, asetik asit ile hazırlanan kitosan kaplamasının en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, kitosan film formülasyonlarının, siyah turp üzerinde *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerinde güçlü antimikrobiyel aktivite sergilediği ve uçucu yağların eklenmesiyle kitosan filmlerin antimikrobiyel etkisinin daha da belirginleştiği bildirilmiştir. Kekik esansiyel yağını içeren kitosan jelatin filmlerin en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi gösterdiği belirtilmiştir.

Ye ve diğ. [154] nisin (500 IU/cm²), sodyum laktat (9 mg/cm²), sodyum diasetat (0,5 mg/cm²), potasyum sorbat (0,6 mg/cm²) ve sodyum benzoat (0,2 mg/cm²) içeren kitosan kaplı plastik filmlerin soğuk tütülenmiş somonda (*Salmo salar*) *L. monocytogenes* üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Kitosan kaplı plastik filmlere ilave edilen potasyum sorbat, sodyum laktat ve nisinin soğuk tütülenmiş somonlarda *L. monocytogenes* üzerinde en yüksek etkiyi gösterdiği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, 4,5 mg/cm² sodyum laktat içeren kitosan kaplı plastik filmlerin sade filme kıyasla depolamanın 10. gününde *L. monocytogenes* sayısını 2,1 log kob/cm² azalttığını bildirmişlerdir. Bu sebeple 4,5 mg/cm² sodyum laktat içeren kitosan kaplı plastik filmlerin somon füme işleme endüstrisinde, *L. monocytogenes*'i kontrol etmek amacıyla kullanılma potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir.

Gouvea ve diğ. [30] yaptıkları çalışmada ambalaj malzemesi olarak bakteriyofaj ile birleştirilmiş biyolojik olarak parçalanabilen filmlerin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bakteriyofaj solüsyonu ile birleştirilen selüloz asetat filmlerin, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği, Muller-Hinton Agar'da inhibisyon bölgelerinin oluştuğu ve sıvı ortamda difüzyon yöntemini kullanarak bir büyüme eğrisi sergilediği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, filmlerin fiziksel ve mekanik özellikleri büyük ölçüde değişmediğinden ve filmin

antimikrobiyel etkisi olduğundan, asetat filmlerle bakteriyofajların birleştirilebilir olduğu belirtilmiştir.

Radford ve diğ. [35] poli (laktik asit) filmler üzerinde ksantan kaplamalara ilave edilen Salmonella fajı ve Listeria fajı A511'in antimikrobiyel özelliklerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, *Listeria* fajını içeren kaplama ile yapılan aerobik paketlenmenin 14 gün boyunca *L. monocytogenes*'in gelişimini önemli ölçüde inhibe (4 °C'da 3,79 log, 10 °C'da 2,17 log) ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca bu kaplamalar, her iki faj için de 30 dakika içinde %99,99 faj salımı gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir.

Kalkan [37] yaptığı çalışmada enkapsülle edilmiş bakteriyofajlar içeren yenilebilir metilselüloz filmler kullanılarak *Vibrio parahaemolyticus*'u inaktive etmeyi amaçlamıştır. Yaptığı çalışma sonucunda metilselüloz filmlerin bakteriyofajları çevreye ve çiğ balık filetolarına saldığını ve bu filmlerin *V. parahaemolyticus*'a karşı 2,65 logaritma birimi azalma sağlayarak antimikrobiyel etkiye sahip olduğunu bildirmiştir.

Amarillas ve diğ. [32] domates yüzeyinde *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı litik bir bakteriyofaj içeren kitosan bazlı yenilebilir kaplamanın antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları çalışma sonucunda kitosan bazlı yenilebilir kaplamanın, bir hafta boyunca fajın litik aktivitesinde önemli bir kayıp olmaksızın fajı stabilize edebildiklerini bildirmişlerdir.

Alves ve diğ. [180] bakteriyofaj ve sinnamaldehiti *S. Enteritidis* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyel aktivite kazandırmak için sodyum aljinat bazlı filmlere ilave etmiştir. Çalışma sonucunda, gıda ambalajlarında kontaminasyonu önlemek için, aljinat bazlı filmlerde sinnamaldehit ile birlikte EC4 ve φ135 fajlarının kullanılabilceğini rapor etmişlerdir.

Alves ve diğ. [181], mikrobiyel bozulmayı önlemek için 10^8 pob/mL bakteriyofaj içeren %1'lik (w/v) sodyum aljinat bazlı filmlerin kullanıldığı çalışmada, fajların film içerisinde homojen dağılım sağladığı ve etleri *Pseudomonas fluorescens*'ten kaynaklanan mikrobiyel bozulmaya karşı koruduğu bildirilmiştir.

De Dicastillo ve diğ. [182] yaptıkları çalışmada Listex P100 fajı ilave edilmiş biyobozunur filmlerin geliştirilmesi amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Listex P100 içeren filmler geliştirmek için üç farklı matris (sodyum kazeinat, jelatin ile karıştırılmış sodyum aljinat ve polivinil alkol) kullanmışlardır. Çalışmada bakteriyofajın *L. monocytogenes*'e karşı yüksek bir antimikrobiyel kapasiteye (4,40-6,19 logaritma birimi azalma) sahip olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca, denemelerde kullanılan filmlerin bir gıdada kaplama olarak veya bir ambalajın parçası olarak kullanılmasının, *L. monocytogenes* gibi patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek gıda güvenliğini arttırabileceği vurgulanmıştır.

Weng ve diğ. [183] bakteriyofaj içeren yenilebilir jelatin filmler üretmişler ve faj konsantrasyonunun film özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar bakteriyofaj konsantrasyonunun filmlerin fiziksel özelliklerini değiştirmedeği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, bakteriyofajların antimikrobiyel özelliklerini en üst düzeye çıkarmada gıda maddesine uygulanma şeklinin önemli olduğu belirtilmiştir.

Bölüm 2

Materyal ve Metot

2.1 Materyal

2.1.1 İzolasyon Materyali

Bu çalışmada, *Listeria* spp. izolasyonu için İzmir’de bulunan market, pazar ve restoranlardan temin edilen toplam 100 adet taze ve işlenmiş su ürünü (Tablo 2.1 ve Tablo 2.2) kullanılmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: *Listeria* spp. izolasyonu için kullanılan örnekler

Tablo 2.1: *Listeria* spp. izolasyonu yapılan taze su ürünleri örnekleri

Taze Su Ürünleri		
Ahtapot (<i>Octopus vulgaris</i>)	İstavrit (x4) (<i>Trachurus trachurus</i>)	Midye (x13) (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)
Alabalık (x2) (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Karides (<i>Penaeus semisulcatus</i>)	Palamut (<i>Sarda sarda</i>)
Ayna balığı (<i>Alectis alexandrina</i>)	Kefal (x6) (<i>Mugil cephalus</i>)	Sardalya (x2) (<i>Sardina pilchardus</i>)
Barbun (x2) (<i>Mullus surmuletus</i>)	Kırlangıç (<i>Chelidonichthys lucerna</i>)	Lüfer (<i>Pomatomus saltatrix</i>)
Tekir (<i>Mullus barbatus</i>)	Kolyoz (<i>Scomber colias</i>)	Sarpa (x2) (<i>Sarpa salpa</i>)
Deniz hıyarı (x2) (<i>Holothuria</i> spp.)	Kupes (x3) (<i>Boops boops</i>)	Tavuk balığı (<i>Merluccius merluccius</i>)
Dil balığı (x2) (<i>Solea solea</i>)	Levrek (x2) (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Çipura (x2) (<i>Sparus aurata</i>)
Gümüş (<i>Atherina boyeri</i>)	Mercan (<i>Pagellus erythrinus</i>)	Uskumru (<i>Scomber scombrus</i>)
Gelincik (<i>Phycis blennoides</i>)	Mezgit (<i>Merlangius merlangus</i>)	Yılan balığı (<i>Anguilla anguilla</i>)
Hamsi (x2) (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	Yazılı orkinos (<i>Euthynnus alletteratus</i>)	Zargana(x2) (<i>Belone belone</i>)
Hani (<i>Serranus cabrilla</i>)	Mırmır (<i>Lithognathus mormyrus</i>)	

Tablo 2. 2: *Listeria* spp. izolasyonu yapılan işlenmiş su ürünleri örnekleri

Ürün ismi	Tür bilgisi	Ürün içeriği veya satılma koşulları	Depolama Paketleme koşulları
Ançuez (Balık ezmesi)	Sardalya, hamsi, kolyoz	Balık eti, tereyağ, domates salçası, tuz, koruyucu ve renklendirici	4 °C Plastik tüp
Balık nuget	Balık eti (ithal)	Balık eti, un, maya, yağ, su, patates, pirinç unu, nişasta, şeker, baharat, katkı maddesi	4 °C MAP
Çiroz pişmiş ayıklanmış	Uskumru, kolyoz, istavrit	Balık eti ve tuz	4 °C Karton ambalaj
Istakoz surimi	Balık eti (surimi)	Balık eti (surimi), su, nişasta, yağ, tuz, şeker, aroma verici, stabilizör renklendirici	4 °C Karton ambalaj
Deniz ürünleri salatası	Sübye, ahtapot, kalamar, karides	Sübye, ahtapot, kalamar, karides, kırmızı biber, yağ, katkı maddesi	4 °C Plastik ambalaj
Marine ahtapot salata	Ahtapot	Ahtapot, kırmızı ve karabiber, yeşil zeytin, soğan, ayçiçek yağı, tuz, şeker, baharat, katkı maddesi	4 °C Plastik ambalaj
Alabalık füme	Alabalık	Balık eti, tuz, ayçiçek yağı, odun dumanı,	4 °C Plastik ambalaj
Tütsülenmiş balık	Alabalık	Balık eti, tuz, ayçiçek yağı, odun dumanı,	4 °C Plastik ambalaj
Marine alabalık füme	Alabalık	Balık eti, tuz, ayçiçek yağı	4 °C Plastik ambalaj
Midye dolma (x7)	Midye	Midye eti, pirinç, yağ (Sokak satıcıları tarafından satılan)	4 °C Ambalajsız
Midye tava	Midye	Midye eti, un, yağ, tuz, nişasta, baharat ve katkı maddesi	4 °C MAP
Pakette ton balığı	Ton balığı	Balık eti, zeytin yağı, tuz	4 °C Plastik ambalaj
Palamut lakerda	Palamut balığı	Balık eti, su, tuz, asitlik düzenleyici, koruyucu	4 °C Plastik ambalaj
Hamsi marinat (x2)	Hamsi	Balık eti, yağ, tuz, sirke, asit düzenleyici	4 °C Plastik ambalaj
Somon köfte	Somon	Somon, sarımsak, yumurta, tuz, şeker, karabiber, yağ	4 °C Restoranda açıkta satılan

Tablo 2.2 (Devamı): *Listeria* spp. izolasyonu yapılan işlenmiş su ürünleri örnekleri

Karides köfte	Karides	Karides, sarımsak, yumurta, tuz, şeker, karabiber, yağ	4 °C Restoranda açıkta satılan
Sushi (x3)	Balık eti	Balık eti, pirinç	4 °C Restoranda açıkta satılan
Karides cips	Karides	Karides, un, yağ, tuz, su, baharat, peynir	4 °C Restoranda açıkta satılan
Tüketime hazır ançuez fileto	Hamsi	Balık eti, tuz, yağ	4 °C Cam kavanoz
Balık şinitzel	Mezgit	Balık eti, yağ, şeker, tuz, maya, patates, baharat ve kıvam arttırıcı	-18 °C Karton ambalaj
Somon füme	Somon balığı	Balık eti, tuz, odun dumanı	-18 °C Plastik ambalaj
Dondurulmuş alabalık fileto	Alabalık	Alabalık	-18 °C Plastik ambalaj
Kalamar	Kalamar	Kalamar, buğday unu, ayçiçek yağı, tuz, doğal aroma	-18 °C Karton ambalaj
Karides soslu balık köfte	Mezgit ve morina balığı	Balık eti, su, süt, patates unu, baharat ve sos	20 °C Konserve
Konserve ton balığı (x2)	Ton balığı	Ton, ayçiçek yağı, tuz	20 °C Konserve
Konserve sardalya balığı	Sardalya balığı	Sardalya balığı, ayçiçek yağı, tuz	20 °C Konserve

Listeria fajlarının izolasyonu için taze balık örnekleri İzmir balık halinden temin edilmiştir, ayrıca İzmir ve Muğla'da bulunan su ürünleri işleme fabrikalarından işleme atıkları toplanmıştır. Bu kapsamda 40 (Tablo 2.3) adet örnek, bakteriyofaj izolasyonu amacıyla kullanılmıştır.

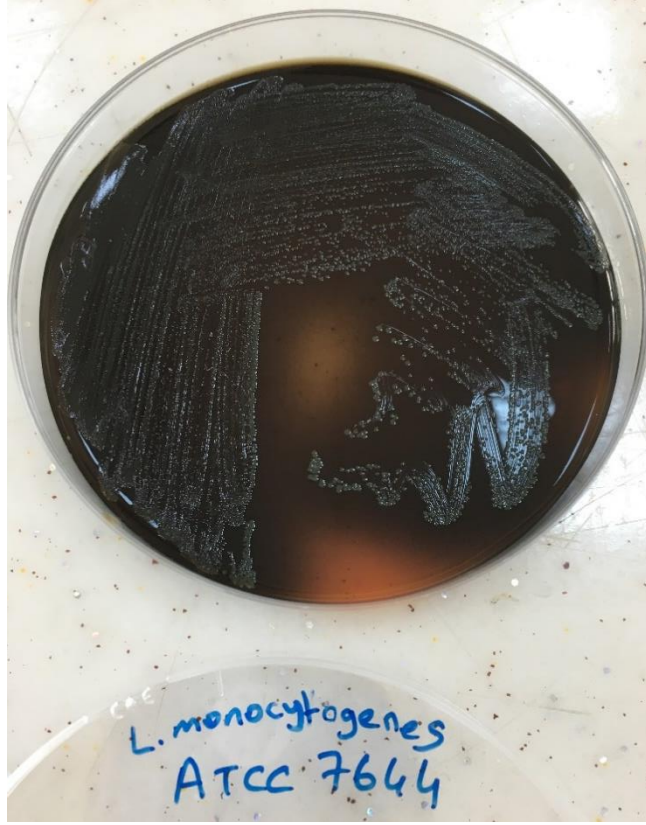
Tablo 2.3: Faj izolasyonu yapılan örnekler

Taze Su Ürünleri Örnekleri		
Çipura (x2) (<i>Sparus aurata</i>)	Çinekop (x4) (<i>Pomatomus saltatrix</i>)	Kefal (<i>Mugil cephalus</i>)
İstavrit (x4) (<i>Trachurus trachurus</i>)	Kolyoz (<i>Scomber colias</i>)	Sardalya (x2) <i>Sardina pilchardus</i>
Karides (<i>Penaeus semisulcatus</i>)	Barbun (x2) (<i>Mullus barbatus</i>)	Mırmır (<i>Lithognathus mormyrus</i>)
Kupes (<i>Boops boops</i>)	Tekir (<i>Mullus surmuletus</i>)	Hamsi (x3) (<i>Engraulis encrasicolus</i>)
Patlakgöz mercan (<i>Dentex macrophthalmus</i>)	Mezgitx(2) (<i>Merlangius merlangus</i>)	Akivades (x4) (<i>Ruditapes decussatus</i>)
İşleme Fabrikası Atıkları ve Atık Su Örnekleri		
A fabrikası işleme atığı su örneği	D fabrikası işleme atığı su örneği	F fabrikası işleme atığı su örneği
B fabrikası işleme atığı su örneği	E fabrikası işleme atığı su örneği	F fabrikası balık işleme atığı
C fabrikası işleme atığı su örneği	E fabrikası balık işleme atığı	G fabrikası balık işleme atığı
		Atık su örneği

*A, B, C ve D Fabrikaları Çipura-Levrek İşleme Fabrikası,
E, F ve G Fabrikaları Çipura-Levrek-Alabalık İşleme Fabrikası

2.1.2 Bakteriler

Çalışmada kullanılan *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşu (Şekil 2.2), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi kültür koleksiyonundan; CAMP (Christie-Atkins-Munch Peterson) testinde kullanılan *Staphylococcus aureus* ve *Rhodococcus equi* suşları Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.



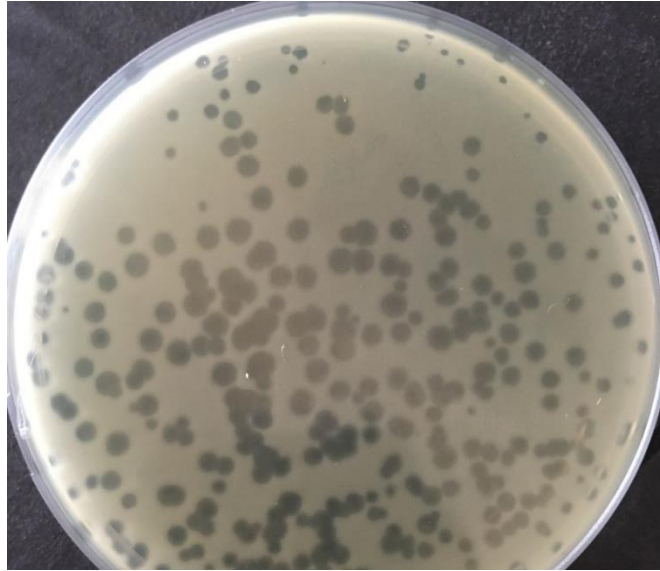
Şekil 2.2: Palcam Agar'da *L. monocytogenes* ATCC 7644'ün koloni morfolojisi

2.1.3 Bakteriyofaj

Çalışmada kullanılan Listex P100 bakteriyofajı (Şekil 2.3-Şekil 2.4) Micros Food Safety (Hollanda) firmasından temin edilmiştir. Listex P100 fajı, 100 mL hacimde, sıvı faj kültürü olarak soğuk zincir koşulları altında firma tarafından tarafımıza iletilmiştir. Sıvı faj kültürü, 10^{11} pob/mL faj titresine sahiptir. Sıvı faj kültürünün kimyasal içeriği %80-83 su, %17-20 Potasyum laktat ve %0,1'den küçük kısmı mayadan oluşmaktadır. Ürün 2-8 °C'da 6 aylık raf ömrüne sahiptir.



Şekil 2.3: Microcos Food Safety firmasından temin edilen Listex P100 bakteriyofajı



Şekil 2.4: Listex P100 fajlarının *L. monocytogenes* 'e karşı TSA'da oluşturduğu plakların görüntüsü

2.1.4 Balık Materyali

Sıvı tütsüleme işlemi uygulanan Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetoları Ticari bir firmadan taze olarak temin edilmiştir.

2.1.5 Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler

2.1.5.1 CASO (Tryptic Soy) Broth Besiyeri (Merck 1.05459)

Bileşimi, Peptone from casein 17,0 g/L; Peptone from soymeal 3,0 g/L; D (+) glucose 2,5 g/L; NaCl 5,0 g/L; K₂HPO₄ 2,5 g/L şeklinde olan genel bir besiyeridir. Dehidre besiyeri, 30,0 g/L olacak şekilde damıtık su ile eritilip, kullanılacak tüp veya erlenlere dağıtılmış ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir.

2.1.5.2 Tryptic Soy agar (TSA) Besiyeri (Merck 1.05458)

Bileşimi, Peptone from casein 15,0 g/L; Peptone from soymeal 5,0 g/L; NaCl 5,0 g/L; Agar-agar 15,0 g/L şeklinde olan genel bir besiyeridir. Dehidre besiyeri, 40,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilip, otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir ve steril Petri kutularına 12,5'er mL dökülmüştür.

2.1.5.3 Mueller-Hinton Agar (MHA) Besiyeri (Merck 1.05437)

Bileşimi, Meat infusion 2,0 g/L; Casein hydrolysate 17,5 g/L; Starch 1,5 g/L; Agar-agar 13,0 g/L şeklinde olan genel bir besiyeridir. Dehidre besiyeri, 34,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilip, otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir ve steril petri kutularına 12,5'er mL dökülmüştür.

2.1.5.4 Tryptone Soya Yeast Extract Besiyeri

30 g/L CASO Broth (Merck 1.05459), 6 g/L maya ekstraktı (Yeast Extract Merck 1.03753) ve 15 g/L Agar-agar (Merck 1.01613) olacak şekilde 3 besiyeri ve katkının karışımı ile hazırlanmıştır. Bileşenler distile su içinde ısıtılarak eritilmiştir ve

otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilip steril petri kutularına 12,5'er mL olacak şekilde dağıtılmıştır.

2.1.5.5 Fraser Listeria Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398)

Bileşimi Proteose peptone 5,0 g/L; Peptone from casein 5,0 g/L; Yeast extract 5,0 g/L; Meat extract 5,0 g/L; NaCl 20,0 g/L; Na₂HPO₄ 12,0 g/L; KH₂PO₄ 1,35 g/L; Esculin 1,0 g/L; Lithium chloride 3,0 g/L şeklindedir. Dehidre besiyeri distile su içinde 57,4 g/L olacak şekilde çözündürülmüş ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir. Duruma bağlı olarak inhibitörsüz, yarım kuvvette (1/2) inhibitör ilave edilerek ve tam kuvvette inhibitör (Fraser Listeria Supplement (Merck 1.10399) ilave edilerek kullanılmıştır.

2.1.5.6 PALCAM Agar Besiyeri (Merck 1.11755)

Bileşimi Peptone 23,0 g/L; Yeast extract 3,0 g/L; Starch 1,0 g/L; NaCl 5,0 g/L; Agar-agar 13,0 g/L (= Columbia Agar); D(-) Mannitol 10,0 g/L; Ammonium iron(III) citrate 0,5 g/L; Esculin 0,8 g/L; Glucose 0,5 g/L; Lithium chloride 15,0 g/L; Phenol red 0,08 g/L şeklinde olan genel bir besiyeridir. Dehidre besiyeri, 35,9 g/500 mL olacak şekilde ısıtılarak damıtık su içinde eritilmiş ve içinde manyetik balık ile birlikte otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir. Otoklav çıkışı 45 °C'a kadar soğutulup üzerine 1 mL steril damıtık su içinde çözülmüş 1 şişe selektif katkı (PALCAM Listeria Selective Supplement ; Merck 1.12122) ilave edilip karıştırılmış ve ardından petri kutularına 12,5 'er mL olacak şekilde dağıtılmıştır.

2.1.5.7 Phenol Red Broth Base (Merck 1.10987)

Bileşimi Peptone from casein 5,0 g/L; Peptone from meat 5,0 g/L; NaCl 5,0 g/L; Phenol red 0,018 g/L şeklinde olan genel bir besiyeridir. Dehidre besiyeri 1,5 g/80 mL olacak şekilde damıtık su içinde eritilir, tüplere 4'er mL dağıtılıp otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilir. Denenecek karbohidrat 0,5 g/10 mL olarak hazırlanıp, filtre ile sterilize edilir ve tüplerdeki besiyeri üzerine 1 mL eklenir. Ramnoz (Merck

1.04736) ve Ksiloz (Merck 1.08689) testleri için bu şekerler Phenol Red Broth Base besiyerine eklenerek gerçekleştirilmiştir.

2.1.5.8 Kanlı Agar

CAMP testinde kullanılan %5'lik Koyun Kanlı Agar 90 mm'lik steril petri kutularına dökülmüş ve kullanıma hazır halde Arkim firmasından soğuk zincir koşulları altında temin edilmiştir. Kullanılncaya kadar +4 °C'da muhafaza edilmiştir.

2.1.5.9 Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi

Sodyum chloride (Merck 1.106404) distile su içinde 8,5 g/L olacak şekilde çözündürülmüş uygun erlen veya tüplere dağıtılarak otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilmiştir.

2.1.6 Sıvı Tütsü ve Tuz

Çalışmada kullanılan ticari sıvı tütsü (Smokeze C-10) gıda katkı maddeleri pazarlayan bir firmadan (GMT Gıda Ltd. Şti.) temin edilmiştir. Tuz olarak çalışmada iri taneli kaya tuzu kullanılmıştır.

2.1.7 Sodyum Aljinat

Çalışmada kullanılan kahverengi alglerden üretilen sodyum aljinat (Alfasol marka) malzemesi (Şekil 2.5) Katkı Deposu firmasından temin edilmiştir.



Şekil 2.5: Film üretiminde kullanılan sodyum aljinat

2.2 Metot

2.2.1 *Listeria* İzolasyonu ve İzolatların Doğrulanması

İzmir’de bulunan market, pazar ve restoranlardan aseptik şartlarda steril numune poşetlerine alınan su ürünleri örnekleri soğutucu kutuda buz aküsü kullanılarak taşınmış ve 1 saat içinde İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi Laboratuvarına getirilerek analize alınmıştır.

2.2.1.1 Su Ürünlerinde *Listeria* İzolasyonu ve İzolatların Biyokimyasal Olarak Doğrulanması

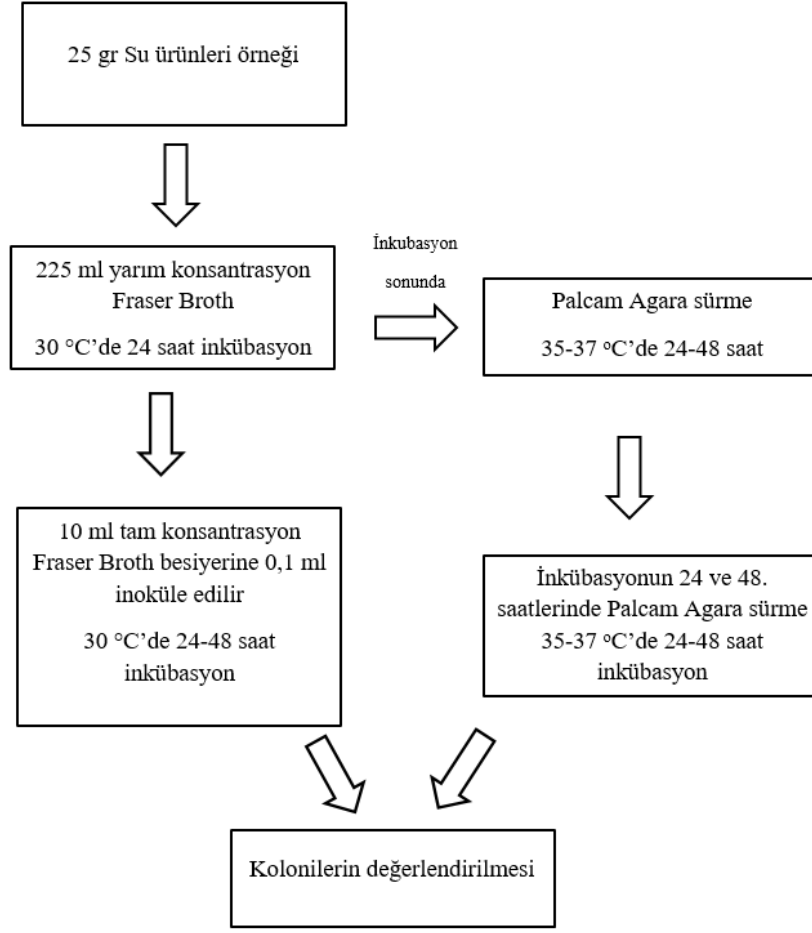
Listeria izolasyonu ISO (International Standards Organization 11290-1) standardına göre üç aşamada gerçekleştirilmiştir [184,185] (Şekil 2.6). Su ürünleri örnekleri temizlendikten sonra yenilebilir kas kısımları homojen hale getirilmiştir. Elde edilen homojenizattan aseptik koşullarda 25 g tartılarak ön zenginleştirme amacıyla 225 mL Fraser Broth’a aktarılmış ve stomacherde (CLS Scientific–CLPM 400D) homojenize edilerek 30 °C’da 24 saat inkübasyona (JSR - JSBI 100C) bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, PALCAM (Polymyxin - Acriflavine - Lithium chloride - Ceftazidime -

Esculin – Mannitol) Agar’a sürme yöntemiyle ekim yapılarak 35-37 °C’da 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra gelişen tipik kolonilerin tanımlanması yapılmıştır [186]. Aynı zamanda, ön zenginleştirme kültüründen, tam konsantrasyonda selektif inhibitörler içeren 10 mL Fraser Broth besiyerine 0,1 mL inoküle edilmiş ve 35-37 °C’da 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 24 ve 48. saatlerinde Palcam Agar’a sürme yapılmıştır. Palcam Agar besiyerinde, 1,5-2 mm çapında gri-yeşil renkli siyah merkezli ve siyah zonlu koloniler *Listeria* bakımından şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir [44]. Şüpheli kolonilerden 5’er adet alınarak TSYE (Tryptone Soya Yeast Extract) Agar’a sürme yapıp 30 °C’da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gelişen koloniler biyokimyasal testler ile tanımlanmıştır. Öncelikle, kolonilerin Gram reaksiyonu ve mikroskopik morfolojisi değerlendirilmiştir. Daha sonra, katalaz, oksidaz, hareket, O/F, nitrat indirgeme, spor testi, metil red, VP, %6,5-%7,5 ve %10 NaCl’de gelişimi incelenmiştir. Sonuçlar Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'e Holt ve diğ. [187] göre değerlendirilmiştir. *Listeria* spp., olduğu düşünülen suşların tür düzeyinde tanımlanması için Tablo 2.4’de belirtilen testler uygulanmıştır.

Tablo 2.4: *Listeria* spp.’nin ayırımında kullanılan biyokimyasal testler

Tür	CAMP Testi		Fermantasyon Testi	
	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>	Ksiloz	Ramnoz
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-	-	V
<i>L. ivanovii</i>	-	+	+	-
<i>L. seeligeri</i>	(+)	-	+	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	+	V
<i>L. grayi</i>	-	-	-	V

* + = pozitif reaksiyon, - = negatif reaksiyon, (+) = zayıf reaksiyon, v = değişken sonuç [44]



Şekil 2.6: *Listeria* spp.'nin ISO metoduna göre izolasyonu

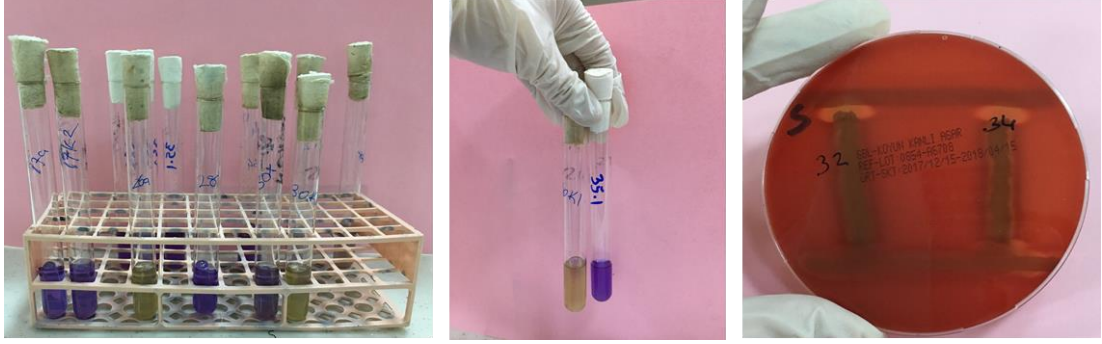
- CAMP testi

β -hemolitik *S. aureus* ve *R. equi* suşları birbirine paralel olarak kanlı agar besiyerine ekim yapılmıştır (Şekil 2.7). Ekim çizgilerinin arasına 1-2 mm yakından başlayacak şekilde dikey yönde test edilecek *Listeria* kültürlerinin ekimleri yapılmış ve 37 °C'da 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda *S. aureus* ve *R. equi* kültürleri ile şüpheli kültürlerin kesiştiği alanlarda β hemoliz zonunun artması pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir [44].

- Karbonhidrat fermantasyon testleri

Karbonhidrat testlerinin yapılması amacıyla %1 oranında ramnoz ve ksiloz içeren Phenol Red Broth Base besiyeri kullanılmıştır. Test edilecek *Listeria* spp.

kültürlerinden 0,1 mL karbonhidrat içeren tüplere ilave edilmiş ve 37 °C’da 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu sarı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 2.7) [44].



Şekil 2.7: Karbonhidrat ve CAMP testlerinin gerçekleştirilmesi

2.2.1.2 İzole edilen *L. monocytogenes* İzolatlarının Moleküler Doğrulanması

İzole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının tür tanımlama deneyleri BM Laboratuvarında (Ankara, Türkiye) yapılmıştır. İzole edilen *L. monocytogenes* izolatları üzerinden tür tayini için örneklerin DNA izolasyonu EurX GeneMATRIX Bacterial & Yeast DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonundan sonra elde edilen DNA’ların miktar ve saflığını kontrol etmek için Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. PZR çalışmasında universal primer olarak 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') ve 1492R (5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT) primerleriyle, tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Kullanılan PZR karışım içerikleri ve PZR koşulları Tablo 2.5 ve 2.6 ’da verilmiştir.

Tablo 2.5: PZR karışım içerikleri

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaktif Konsantrasyonu
PCR Buffer	10X	1X
MgCl ₂	25mM	1,5 mM
dNTP mix	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polymerase	5U/ µl	2 U
DNA template		3 µl

* PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanmıştır

Tablo 2.6: PZR koşulları

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü	Aşama
95 °C	5 dakika	1	İlk denatürasyon
95 °C	45 saniye	40	Denatürasyon
57 °C	45 saniye	40	Bağlanma
72 °C	60 saniye	40	Uzatma
72 °C	5 dakika	1	Son uzatma

* Sıcaklık 4 °C'a düşürülüp PZR tamamlanmıştır

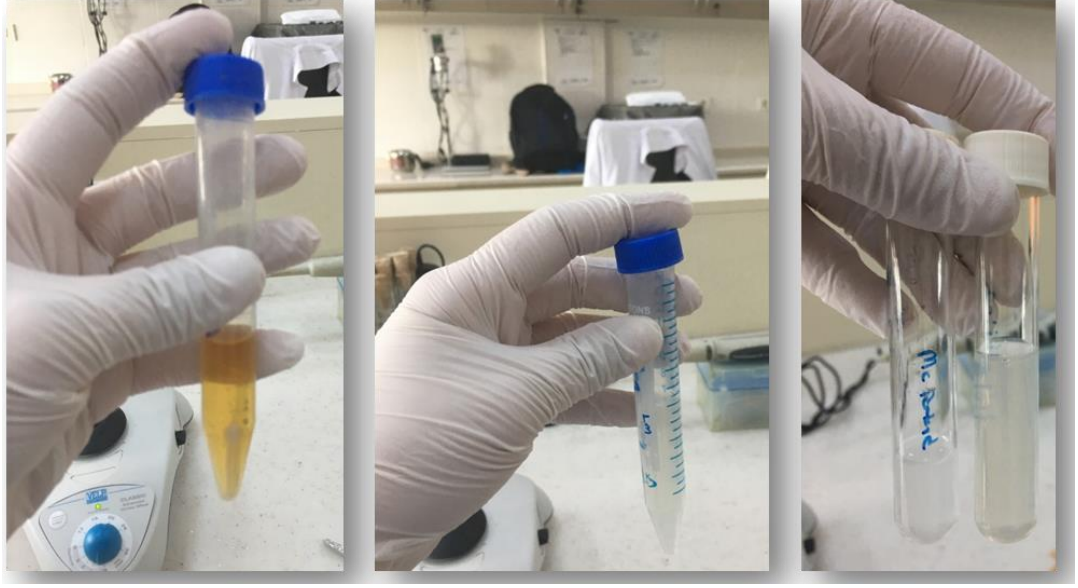
PZR (kyratec thermocycler) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1xTAE tampon ile hazırlanan %1,5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütülmüş ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır. Yaklaşık 1470 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonu Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. Örnekler için PZR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek, PZR işleminin başarılı olduğu gözlemlenmiştir.

PZR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO "HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılıp, kitin prosedürlerine uyarak saflaştırılmıştır. Sanger Dizileme örneklerimiz için, Macrogen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA).

27F ve 1492R primerleriyle elde edilen okumalar, bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır. Elde edilen diziler NCBI üzerindeki en yakın türlere göre hazırlanmıştır.

2.2.2 Çalışmada Kullanılan *L. monocytogenes* İnokulumlarının Hazırlanması

L. monocytogenes'in sıvı formdaki stok kültürleri, gliserol içeren (%20; v/v) TSB besiyerinde -20 ± 2 °C'da muhafaza edilmiştir. 10 mL TSB besiyerine *L. monocytogenes* ATCC 7644 stok kültürlerinden 100 µL aktarılıp, 30 °C'da 24 saat inkübe edilerek bakteriler aktifleştirilmiştir. Aktif bakteri kültürleri 10'ar mL olacak şekilde santrifüj tüplerine aktarılmış ve 15 dk boyunca 6.000 rpm hızda (Hermle Z206A-Almanya) santrifüjlenmiştir. Fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılarak süspanse edilen hücre peletleri iki kez daha santrifüjleme işlemiyle yıkanmıştır. Santrifüj sonrasında elde edilen pelet kısmı üzerine FTS eklenerek hücre yoğunlukları 0,5 MacFarland (10^8 kob/mL) bulanıklığa görsel olarak ayarlanmış ve denemelerde kullanılacak bakteri inokulumları hazırlanmıştır (Şekil 2.8).

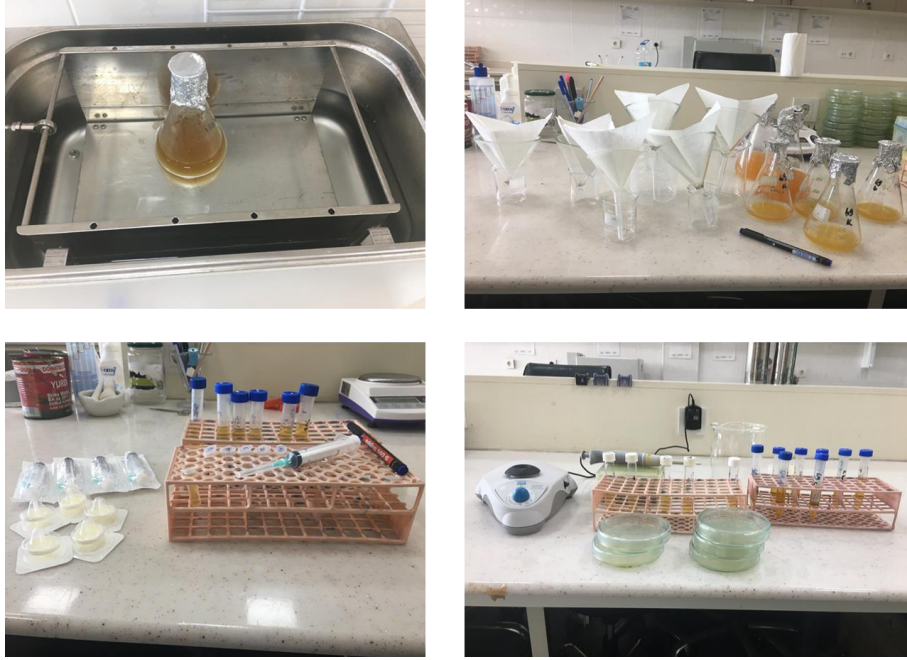


Şekil 2.8: *L. monocytogenes* inokulumunun 0,5 MacFarland standardına göre hazırlanması

2.2.3 *Listeria* Bakteriyofaj İzolasyonu

Faj izolasyonu amacıyla, su ürünlerinden izole ettiğimiz *L. monocytogenes* bakterisi ile *L. monocytogenes* ATCC 7644 referans suşu kullanılmıştır. Çalışmada, *L. monocytogenes* suşlarının 24 saatlik aktif kültürleri kullanılmıştır. Örnek türüne göre aseptik koşullarda 10 mL veya 10 g alınarak 90 mL TSB besiyerine (1:10 w/v) aktarılmıştır. Daha sonra, aktiveleştirilmiş *L. monocytogenes* suşlarından 100 µL ilave edilmiştir. Faj varlığının saptanabilmesi için son konsantrasyonu 1,25 mM olacak şekilde steril CaCl₂ ilave edilmiş ve çalkalayıcı su banyosunda 30 °C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında kaba filtre kâğıdından geçirilerek elde edilen süzüntü 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra filtre edilmiş (0,22 µm por çaplı filtre) ve kloroform eklenerek bakterilerden arındırılmıştır. Bu şekilde faj filtratı elde edilmiş ve çift tabaka agar yöntemi kullanılarak filtrattaki faj varlığı araştırılmıştır. 40-45 °C sıcaklıktaki 4 mL TSB yumuşak agar (%0,4 agar) içerisine 100 µL faj filtratı ve 100 µL konak bakteri aktarılarak vortekslenmiştir. Karışım TSA içeren petri kutuları üzerine homojen şekilde dökülmüş ve 30 °C'da 24

saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 2.9). İnkübasyon sonrasında petrilerdeki faj varlığı değerlendirilmiştir [188–190].



Şekil 2.9: Bakteriyofaj izolasyon aşamaları

2.2.3.1 İzolasyonu Yapılan *Listeria* Bakteriyofajlarının Saflaştırılması (Tek plak izolasyonu)

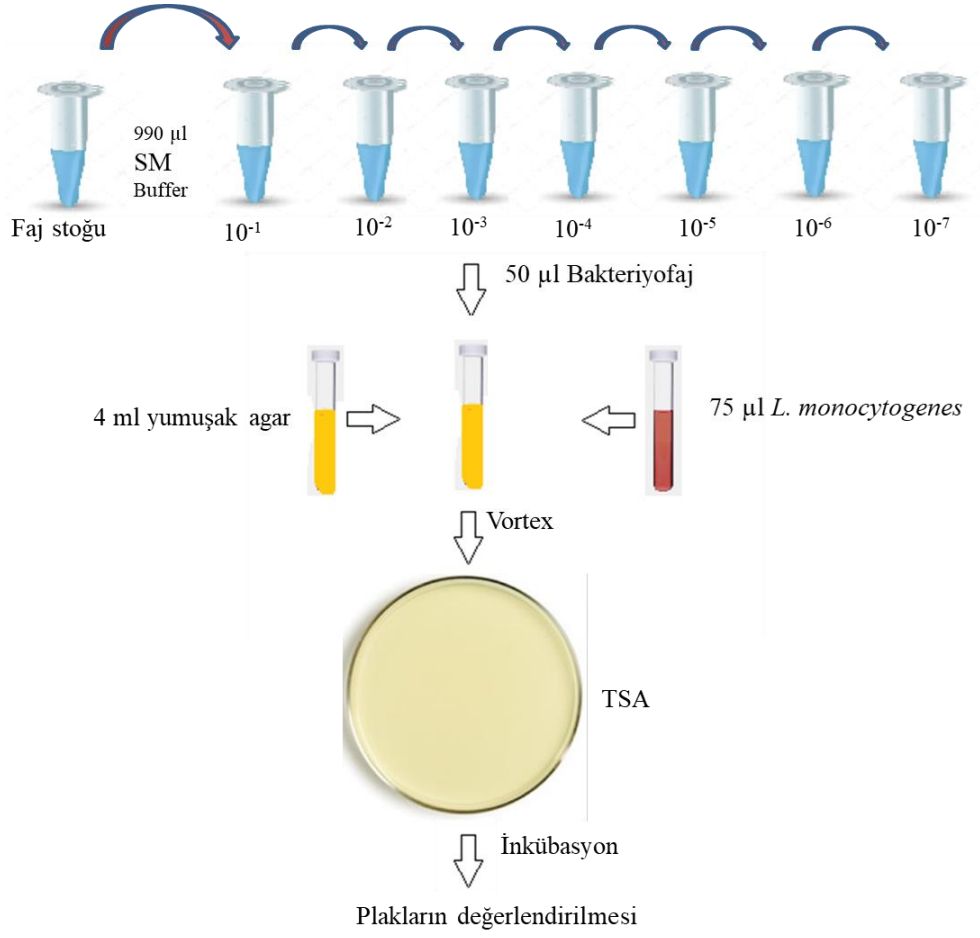
Faj plakları tek düştükleri bölgelerden steril enjektör ucu ile alınarak 5 mL'lik TSB besiyerine aktarılıp vortekslenmiştir. 100 μ L aktif *L. monocytogenes* ve 5 mL daha TSB besiyeri eklenerek 30 °C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve 0,22 μ m gözenek çapına sahip filtreden geçirilmiştir. Bu işlem 3 kere tekrarlandıktan sonra saf faj filtratı elde edilmiştir [189,190].

2.2.3.2 *Listeria* Bakteriyofaj Titresinin Belirlenmesi ve Zenginleştirilmesi

Saflaştırma işlemi gerçekleştirilen bakteriyofajların titreleri, çift tabaka agar yöntemi ile belirlenmiştir. Saflaştırılan *Listeria* fajlarının 10^{-7} 'ye kadar FTS veya SM bufer çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan 50 µl faj filtratı steril boş endorf tüpüne aktarılıp üzerine 75 µl *L. monocytogenes* inoküle edilmiştir (Şekil 2.10). Faj-bakteri karışımı 4 mL yumuşak agar içeren tüplere aktararak karıştırılmıştır. Bu karışım önceden hazırlanmış ve içerisinde TSA bulunan petri kutularına homojen bir şekilde yayılarak 30 °C'da 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda fajın tek düştüğü noktalarda bakterinin lize olması sonucu meydana gelen yuvarlak plaklar (şeffaf/ berrak zonlar) sayılarak sayım sonucu plak oluşturan birim /mL (pob/mL) olacak şekilde titre belirlenmiştir. [19]. Titre belirlemek için;

Faj Titresi = Plak sayısı x Seyreltme faktörü x Seyreltme oranı pob/mL formülü kullanılmıştır [73].

Fajların geri kazanımı için neredeyse tamamen lize olan Petri kutuları seçilmiş ve üzerine 5 mL steril FTS çözeltisi aktarılmış, düzenli olarak karıştırılarak 1 saat bekletilmiştir. Fajlar ve yumuşak agar kazınarak santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 20 mL FTS çözeltisi ilave edilerek vortekslenmiştir. 30 dakika boyunca çalkalayıcıda bırakılmış sonrasında yine vortekslenerek 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmış ve stok titresi belirlenerek +4 °C'da depolanmıştır. Ayrıca fajlar üzerine %20 gliserol ilave edilerek -20 °C'da stok kültürleri oluşturulmuştur [189].



Şekil 2.10: Çift tabaka agar metoduna göre bakteriyofaj sayısının belirlenmesi

2.2.4 Listex P100'ün in vitro Ortamda *L. monocytogenes* ATCC 7644 Gelişimi Üzerine Etkisi

İzole edilen fajların zenginleştirme işlemiyle istenilen titreye ulaştırılamaması nedeniyle, araştırmanın bu basamağından sonraki aşaması Listex P100 fajı ile devam ettirilmiştir. Listex P100'ün *L. monocytogenes* ATCC 7644 üzerine etkisini belirlemek amacıyla Soni ve Nannapaneni [19] tarafından belirtilen metot kullanılmıştır. İlk olarak, Listex P100'ün *L. monocytogenes* ATCC 7644 üzerine etkisi belirlenmiştir. Bu amaçla, 108 mL *L. monocytogenes* (10^4 kob/mL) steril cam şişelere aktarılmıştır (Şekil 2.11). Daha sonra üzerine 12 mL (10^{10} , 10^8 , 10^6 pob/mL) faj ilave edilerek 15 gün boyunca 10°C 'da inkübe edilmiştir. Yapılan çalışmalarda *L. monocytogenes*'in daha

iyi gelişim gösterebilmesi ve bu sayede bakteriyofajların patojen üzerine etkisinin depolama boyunca görülebilmesi için farklı sıcaklıklar denenmiş ve bu çalışmalar sonunda soğuk muhafaza koşullarının üstündeki depolama sıcaklıklarının daha uygun olduğu belirtilmiştir [5,27]. Bu nedenle çalışmamızda *L. monocytogenes*'in daha iyi gelişebileceği ılımlı bir sıcaklık olan 10 °C depolama sıcaklığı olarak tercih edilmiştir. İnkübasyon süresince (0, 1, 2, 4, 8, 12 ve 15. günlerde) *L. monocytogenes* sayısı (kob/mL) ve bakteriyofaj sayısı (pob/mL) tespit edilmiştir. 0. gün yapılan analizler deneme grupları oluşturulduktan 1 saat sonra gerçekleştirilmiştir. *L. monocytogenes* sayısının belirlenmesi için deneme gruplarından 10 mL alınarak, 6.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra faj içeren üst faz uzaklaştırılmış ve pelet üzerine 9 mL FTS çözeltilisi ilave edilmiştir. Daha sonra, uygun dilüsyonlardan PALCAM Agar besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Bakteriyofaj sayısının tespiti için santrifüj işleminden sonra uzaklaştırılan üst faz 0,22 µm'lik filtrelerden geçirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan faj süspansiyonunun seri dilüsyonları yapıp çift tabaka agar yöntemi ile ekimleri gerçekleştirilmiştir [27].

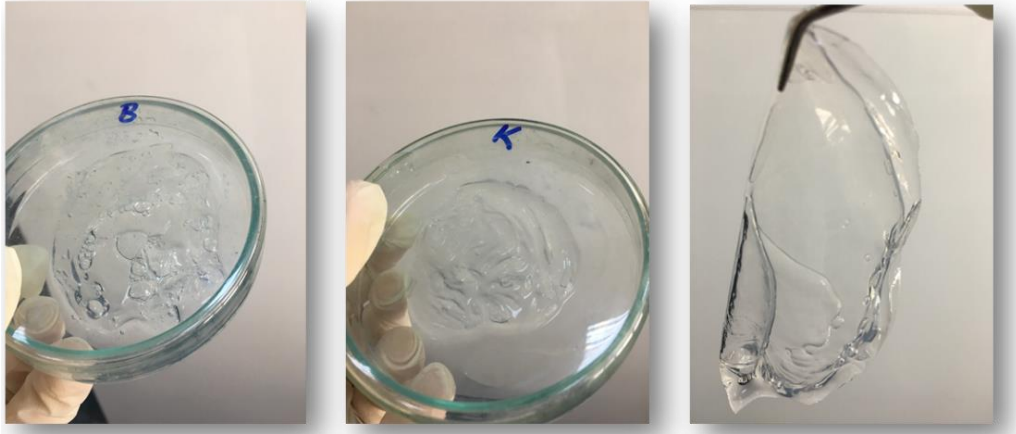


Şekil 2.11: Listex P100'ün in vitro ortamda *L. monocytogenes* gelişimi üzerine etkisinin tespiti için oluşturulan deneme grupları

2.2.5 Bakteriyofaj İçeren Sodyum Aljinat Film Hazırlanması ve Antimikrobiyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi

2.2.5.1 Sodyum Aljinat Film Hazırlanması

Çalışmada %1 sodyum aljinat bazlı film solüsyonu hazırlanmıştır [181]. 1 gr sodyum aljinat 50 mL saf su içerisinde çözündürüldükten sonra, 80 °C'a ayarlanmış manyetik karıştırıcıda eriyinceye kadar karıştırılmıştır. 50 °C'a kadar soğutulduktan sonra bakteriyofaj içeren film (BF) grubu için hazırlanan sodyum aljinat bazlı film solüsyonunun %1 konsantrasyona ulaşması için 50 mL 10^8 pob/mL Listex P100 (Listex P100 bakteriyofajının titresi 10^{11} pob/mL'dir. FTS ile seyreltilerek 10^8 pob/mL düzeyine getirilmiştir) bakteriyofajı film solüsyonuna ilave edilmiş ve karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Bakteriyofaj içermeyen film (CF) grubu için hazırlanan sodyum aljinat bazlı film solüsyonunun %1 konsantrasyona ulaşması için 50 mL FTS ilave edilmiş ve karıştırılıp homojen hale getirilmiştir. Film solüsyonları antimikrobiyel etkinliğinin ölçülmesi için yaklaşık 10 mL olacak şekilde steril cam petrilere dökülmüştür. Film solüsyonun katılaşmasını sağlamak amacıyla üzerilerine 3'er mL CaCl_2 (0,05M - 12,8M) özeltisi ilave edilmiştir (şekil 2.12) [191].



şekil 2.12: Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat bazlı filmlerin hazırlanması

2.2.5.2 Sodyum Aljinat Filmin Antimikrobiyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Sodyum aljinat bazlı filmin antimikrobiyel etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla Gouvea ve diğ. [192] ve Mostafa ve diğ. [193]'in belirttiği yöntemler kullanılmıştır. Bu amaçla başlangıçta oluşturulan filmlerden steril vidalı kapak ile 3,5 cm çapında filmler (yaklaşık 200 µm kalınlığında) kesilmiştir. *L. monocytogenes*'in 24 saatlik kültürleri FTS ile seyreltilerek 0,5 McFarland standart yoğunluğuna getirilmiş ve MHA içeren petri kutularına yayma plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. 3,5 cm çapına sahip filmler ekim yapılan petrilerin üzerine yerleştirilmiş ve 30 °C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında oluşan zon çapları ölçülerek antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiştir [192,193].

2.2.6 Alabalık Filetolarına Sıvı Tütsü İşleminin Uygulanması

Ticari bir firmadan temin edilen Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetoları soğutucu kutuda buz aküsü kullanılarak soğuk zincir şartlarına uygun olarak İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi laboratuvarına getirilmiştir. Çalışmada, yaklaşık 2 kg fileto (100 g ağırlığa sahip 20 adet fileto) kullanılmıştır. Transfer işleminin ardından filetolar yıkanmıştır. Sıvı tütsüleme yönteminde uygulanan tuzlama ve tütsüleme işlemi aynı solüsyon içerisinde gerçekleştirilmiştir. %36'lık tuz çözeltisi içerisine 100 mL/L sıvı tütsü ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu solüsyondan 8 L hazırlanmış ve 4 ayrı kaba koyularak içlerine 5'er adet fileto yerleştirilmiştir. Toplam 20 adet filetoya sıvı tütsü işlemi uygulanmıştır. Alabalık filetoları hazırlanan salamura solüsyonu içerisinde 4 °C'da 4 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda sıvı tütsülenmiş filetolar salamuradan çıkarılarak 25 dakika boyunca oda sıcaklığında (20 °C) kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Ardından filetolar 120-130 °C'da iç sıcaklıkları 80 °C'a ulaşınca kadar pişirilmiştir [130]. Pişirme işleminden sonra tütsülenmiş balıklar Laminar Flow Kabin içerisinde oda sıcaklığında (20 °C) 30 dakika soğumaya bırakılmıştır. Ardından tütsülenmiş balıklar 10'ar g'lık küçük filetolar haline getirilmiştir (Şekil 2.13). 2 tekerrürlü gerçekleştirilen çalışmada 5 ayrı analiz günü ve 4 ayrı grup için 40 adet (20x2) 10 g'lık fileto hazırlanmıştır.



Şekil 2.13: Sıvı tütsü işleminin uygulanması

2.2.6.1 Tütsülenmiş Alabalık Filetolarına *L. monocytogenes* İnokulasyonu

Çalışmada tütsülenmiş ve sonrasında derileri alınmış alabalık filetolarının her iki yüzeyine 10^6 kob/mL bakteri içeren inokulumdan 500'er μ L *L. monocytogenes* inoküle edilmiştir (Şekil 2.14). Depolama süresi boyunca bakteri-faj etkileşimini görebilmek için filetolara 10^6 kob/mL gibi yüksek bakteri inokulumu yapılmıştır. İnokulasyon sonrası filetolar Laminar Flow Kabin (JSR- JSCB-1200SB- Kore) içerisinde 15 dakika bekletilmiştir.



Şekil 2.14: Tütsülenmiş alabalık filetolarına *L. monocytogenes* inokulasyonu

2.2.6.2 Deneme Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada 4 ayrı deneme grubu oluşturulmuştur. Her deneme grubunda 1. saat, 24. saat, 48. saat, 96. saat ve 7. gün analizleri yapılmıştır. Analizlerde her deneme grubu için 5'er adet 10 g'lık filetolar kullanılmıştır. Çalışma 2 tekkerrür olarak gerçekleştirilmiştir.

- 1. Grup:** 1 mL (10^6 kob/mL) *L. monocytogenes* inokule edilen tütsülenmiş alabalık filetolarının bakteriyofaj içeren aljinat film ile kaplandığı grup (**BF**)
- 2. Grup:** 1 mL (10^6 kob/mL) *L. monocytogenes* inokule edilen tütsülenmiş alabalık filetolarının bakteriyofaj içermeyen aljinat film ile kaplandığı grup (**CF**)

3. **Grup:** 1 mL (10^6 kob/mL) *L. monocytogenes* inokule edilen tütsülenmiş alabalık filetolarına doğrudan bakteriyofaj (1 mL 10^8 pob/mL) ilavesinin yapıldığı grup (B)
4. **Grup:** 1 mL (10^6 kob/mL) *L. monocytogenes* inokule edilen tütsülenmiş alabalık filetoları (C)

2.2.6.3 *L. monocytogenes* İnoküle Edilen Tütsülenmiş Alabalık Filetolarına Bakteriyofaj Uygulamaları

İnokulasyon sonrası filetolar Laminar Flow Kabin içerisinde bekletilirken %1 sodyum aljinat bazlı film solüsyonları hazırlanmıştır. Film solüsyonu hazırlanırken 1 g sodyum aljinat 50 mL saf su içerisinde çözündürüldükten sonra, 80 °C'a ayarlanmış manyetik karıştırıcıda eriyinceye kadar karıştırılmıştır.

Homojen hale gelen film solüsyonu 50 °C'a kadar soğutulmuştur. Ardından filetoların bakteriyofaj içeren aljinat film ile kaplandığı "BF" grubu için hazırlanan sodyum aljinat film solüsyonunun %1 konsantrasyona ulaşması için 50 mL 10^8 pob/mL Listex P100 bakteriyofajı ilave edilmiş ve karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan %50 bakteriyofaj içeren %1'lik sodyum aljinat film çözeltisinden yaklaşık 10 mL kullanılarak *L. monocytogenes* inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetoları kaplanmıştır. Filetoların kaplandığı çözeltinin katılaşmasını sağlamak amacıyla üzerlerine 3'er mL CaCl_2 (0,05M-12,8M) çözeltisi ilave edilmiştir (Şekil 2.15). Filetoların bakteriyofaj içermeyen aljinat film ile kaplandığı "CF" grubu için hazırlanan sodyum aljinat bazlı film solüsyonunun %1 konsantrasyona ulaşması için 50 mL FTS ilave edilerek kontrol film grubu oluşturulmuştur. Hazırlanan %1'lik sodyum aljinat film çözeltisi ile *L. monocytogenes* inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetoları kaplanmıştır. Ardından 3'er mL CaCl_2 (0,05M-12,8M) çözeltisi ilave edilmiştir.

Filetolara doğrudan bakteriyofaj ilavesinin yapıldığı "B" grubu için *L. monocytogenes* inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetolarının her iki yüzeyine de 10^8 pob /mL 500'er μL olacak şekilde toplam 1 mL Listex P100 bakteriyofajı inoküle edilmiştir. Son olarak C grubunda ise tütsülenmiş alabalık filetolarına yalnızca *L. monocytogenes* inokülasyonu yapılmıştır.



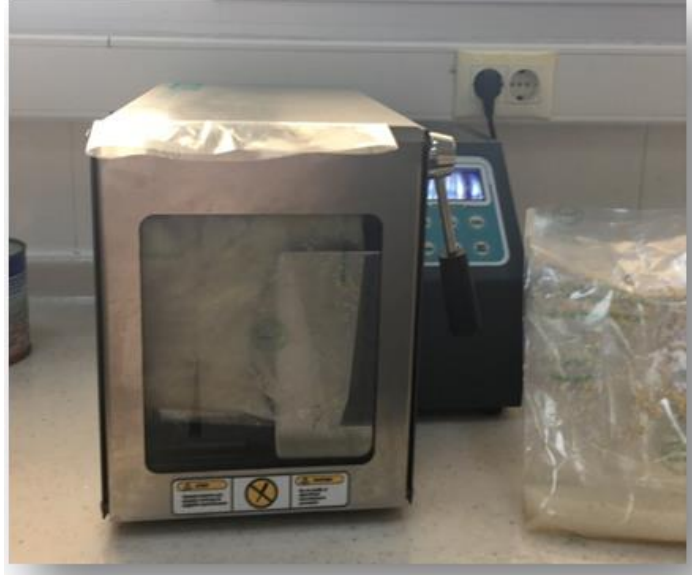
Şekil 2.15: Tütsülenmiş alabalık filetoları için sodyum aljinat filmin hazırlanması ve uygulanması

Bakteriyofaj-film uygulamaları sonrasında filetolar tek tek steril petri kutularının içerisine yerleştirilmiş ve 10 °C'da 7 gün boyunca soğutmalı inkübatörde (JSBI-100C-Kore) depolanmıştır. 1., 24., 48., 96. saatlerin sonunda ve depolamanın son gününde (7. gün) filetolardaki *L. monocytogenes* ve bakteriyofaj sayılarının tespiti yapılmıştır.

2.2.6.4 *L. monocytogenes* İnoküle Edilen Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Depolama Boyunca *L. monocytogenes* ve Bakteriyofaj Sayısında Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi

Tütsülenmiş alabalık filetolarında *L. monocytogenes* ve bakteriyofaj sayısının tespiti için; 10 g balık örneği 90 mL FTS çözeltisi kullanılarak stomacher cihazında (CLS-CLPM-400D-Türkiye) homojenize edilmiştir (Şekil 2.16). Homojenizattan 10 mL alınarak, 6.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

L. monocytogenes sayısının tespiti için santrifüj işleminden sonra homojenizattan 1/10 seyreltme oranına dikkat edilerek 10⁻⁶. dilüsyonlara kadar seyreltme yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0,1 mL alınarak PALCAM Agar besiyerine yayma yöntemine göre ekim yapılmış ve 30 °C'da 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılarak bakteri sayısı log kob/g olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.16: Tütsülenmiş alabalık filetolarında *L. monocytogenes* ve bakteriyofaj sayısının tespiti için filetoların stomacher cihazında homojenizasyonu

Bakteriyofaj sayısının tespiti için santrifüj işleminden sonra faj içeren üst faz 0,22 µm por çapına sahip filtrelerden geçirilmiştir. Ardından filtrata 3 damla kloroform damlatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan faj süspansiyonunun seri dilüsyonları yapıp çift tabaka agar yöntemi ile ekimleri yapılmış ve 30 °C’da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen plaklar sayılarak bakteriyofaj sayısı log pob/g olarak belirlenmiştir [19].

2.2.7 İstatistik Analizleri

Araştırmada elde edilen veriler SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, IL, ABD) paket programı kullanılarak One way ANOVA, Duncan çoklu karşılaştırma testi (%95 güven eşiğinde) ve T testi uygulayarak uygulamalar arasındaki fark ve günlere göre değişim belirlenmiştir ($p < 0,05$).

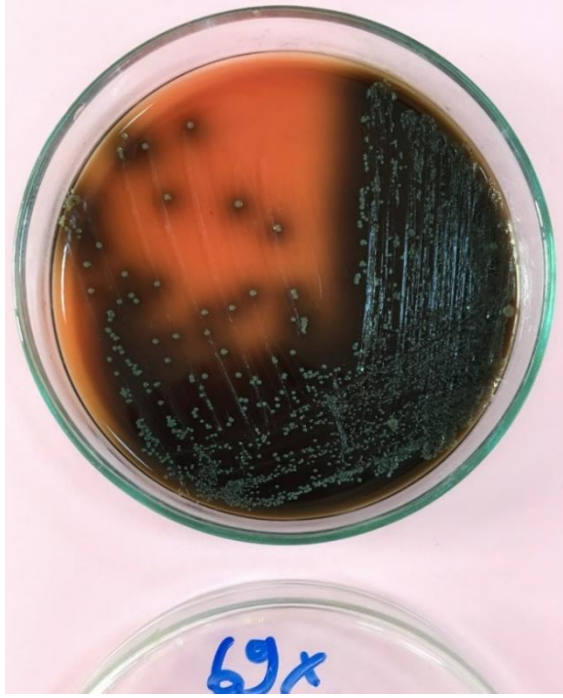
Bölüm 3

Bulgular

3.1 *Listeria* Türlerinin Taze ve Tüketime Hazır Su Ürünlerinde Bulunma Oranları

Bu çalışmada, analize alınan 100 adet su ürününün 40 tanesinde *Listeria* spp. (Şekil 3.1) izole edilmiştir. Bu izolatların %8'i *L. monocytogenes*, %15'i *L. innocua*, %6'sı *L. seeligeri*, %10'u *L. welshimeri* ve %1'i *L. grayi* olarak belirlenmiştir. Analize alınan ürünlerin hiç birinde *L. ivanovii* tespit edilememiştir (Tablo 3.1). Analize alınan örneklerden taze levrek balığı, taze gümüş balığı, karides köfte, somon köfte, somon füme, balık şinitzel ve midye dolma (x2) örneklerinden *L. monocytogenes* izole edilmiştir.

Ayrıca biyokimyasal testlerle doğrulanan *L. monocytogenes* izolatlarının 27F-1492R primeri kullanılarak izolatların tür düzeyinde PZR'da molekül doğrulaması yapılmıştır. Dizi analizleri sonucunda su ürünleri örneklerinden elde edilen 8 *L. monocytogenes* izolatının tamamının *L. monocytogenes* olduğu doğrulanmıştır.



Şekil 3.1: İzole edilen *L. monocytogenes*'in Palcam Agar'daki koloni morfolojisi

Tablo 3.1: *Listeria* türlerinin su ürünlerinde bulunma oranları (%)

Tür	Taze su ürünleri <i>n=64</i>	İşlenmiş su ürünleri <i>n=36</i>	Toplam <i>n=100</i>
<i>L. monocytogenes</i>	2	6	8
<i>L. innocua</i>	10	5	15
<i>L. ivanovii</i>	0	0	0
<i>L. seeligeri</i>	2	4	6
<i>L. welshimeri</i>	6	4	10
<i>L. grayi</i>	0	1	1

3.2 *Listeria* Bakteriyofajının İzolasyonu ve Titrelerinin Belirlenmesi

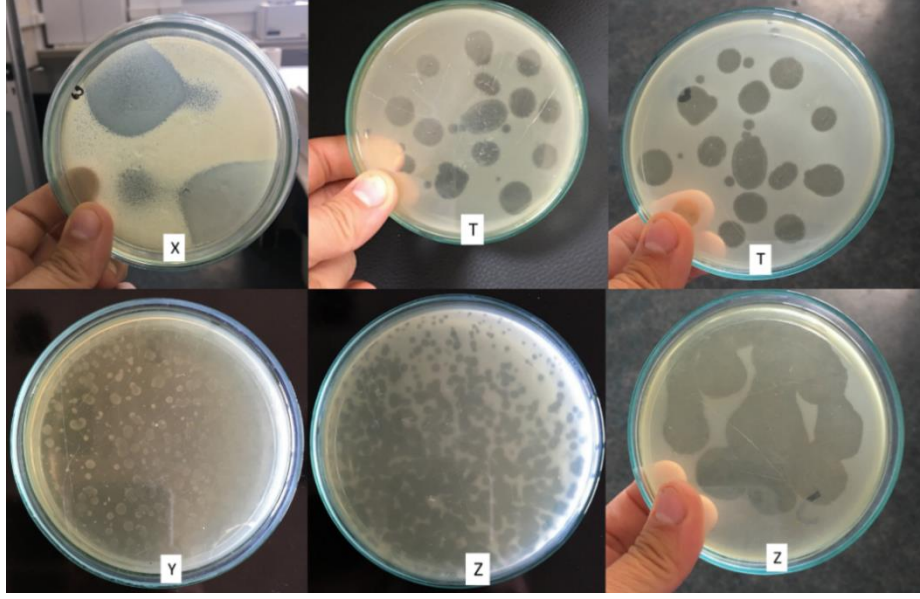
3.2.1 *Listeria* Bakteriyofajının İzolasyonu

Bakteriyofaj izolasyonu amacıyla çift tabaka agar yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, toplam 40 örnek analize alınmıştır. 40 örneğin 10 tanesini işleme fabrikası atıkları ve atık su örnekleri oluşturmuştur. Bu 10 örneğin 4 tanesinden (%40) faj izole edilmiştir. Taze su ürünleri örneklerinin hiç birinden bakteriyofaj izole edilememiştir. Su ürünleri örneklerinden izole ettiğimiz *L. monocytogenes* suşuna karşı litik aktivite gösteren 1 faj, *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşuna karşı litik aktivite gösteren 3 faj izole edilmiştir. Bakteriyofajların izole edildiği örnekler ve fajların kodlandırılması Tablo 3.2 ve Şekil 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: İzole edilen fajlar ve izole edildiği kaynaklar

Kodlandırma	İzole edildiği örnek	Konakçı
X	B fabrikası işleme atığı su örneği*	<i>L. monocytogenes</i> izolatu
Y	E İşleme fabrikası balık işleme atığı**	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644
Z	F İşleme fabrikası su örneği***	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644
T	F İşleme fabrikası balık işleme atığı****	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644

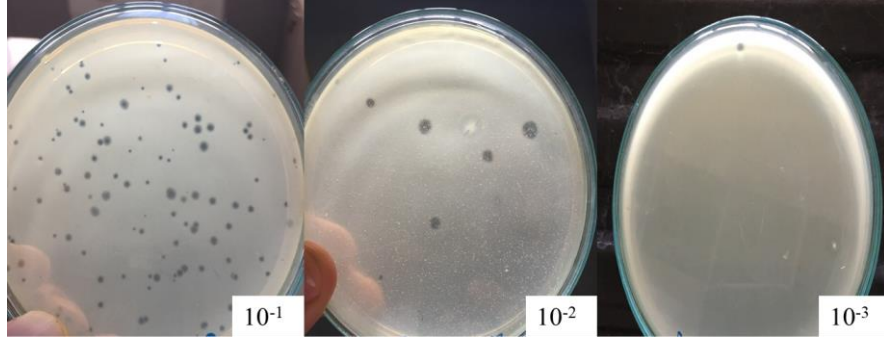
*Çipura-Levrek işleme fabrikası ** Çipura-Levrek-Alabalık işleme fabrikası / Balık atıkları
*** Çipura-Levrek-Alabalık işleme fabrikası **** Çipura-Levrek-Alabalık işleme fabrikası / Balık atıkları



Şekil 3.2: Çift tabaka agar yöntemi ile izole edilen fajların *L. monocytogenes*'e karşı TSA üzerinde oluşturduğu plak görüntüsü

3.2.1 *Listeria* Bakteriyofaj İzolatlarının Saflaştırılması, Titresinin Belirlenmesi ve Zenginleştirilmesi

Çalışmada izole edilen fajların titreleri 10^4 pob/mL düzeyine kadar arttırılabildiği (Şekil 3.3). Faj titrelerinin yükseltilmesi için yapılan denemelerde, bakterinin inkübasyon sırasında direnç kazanmış olabileceği ve bu sebeple titrelerinin arttırılmasında problem yaşandığı düşünülmektedir. Birçok araştırmacı fajların direnç mekanizmasından bahsetmiştir [194,195]. Bu aşamada izole edilen fajların titresinin arttırılamaması nedeniyle araştırmanın ilerleyen basamaklarında Listex P100 fajı kullanılmıştır.



Şekil 3.3: *L. monocytogenes*'e karşı litik aktivite gösteren *Listeria* bakteriyofaj izolatlarının çift tabaka agar metoduyla titresinin belirlenmesi

3.3 Listex P100 Bakteriyofajının Broth Sistemi İçerisinde *L. monocytogenes* Üzerine Etkisi

3.3.1 Listex P100 Bakteriyofajının in vitro Ortamda *L. monocytogenes* Üzerine Etkisi

Çalışmada farklı konsantrasyonlarda kullanılan (10 log pob/mL, 8 log pob/mL ve 6 log pob/mL) Listex P100 bakteriyofajının broth sistemi içerisinde *L. monocytogenes* üzerine etkisi Tablo 3.3 ve Şekil 3.4'de verilmiştir.

15 günlük depolama sonucunda 108 mL *L. monocytogenes* (10^4 kob/mL) içeren broth sistemine 12 mL 10^{10} ve 10^8 pob/mL bakteriyofaj ilavesi, 10^6 pob/mL bakteriyofaj ilavesine kıyasla *L. monocytogenes* üzerinde daha yüksek inhibitör etki oluşturmuştur ($p < 0,05$). Depolamanın 0. gününde (analiz grupları oluşturulduktan 1 saat sonra) yapılan analizlerde kontrol grubunda 5,18 log kob/mL olarak tespit edilen *L. monocytogenes* sayısı, 10^{10} ve 10^8 pob/mL bakteriyofaj ilave edilen gruplarda sırasıyla 4,68 ve 4,53 log kob/mL azalmıştır. Depolamanın sonunda kontrol grubunda 5,37 log kob/mL olarak tespit edilen *L. monocytogenes* sayısı 10^{10} ve 10^8 pob/mL bakteriyofaj ilave edilen gruplarda $< 1,00$ log kob/mL olarak saptanmıştır. 15 günlük depolama boyunca 10^{10} ve 10^8 pob/mL faj uygulaması *L. monocytogenes* üzerinde 2,99-4,68 log kob/mL düzeyinde azalma sağlamıştır. 10^{10} ve 10^8 pob/mL bakteriyofaj uygulamaları

arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ayrıca, 10^6 pob/mL bakteriyofaj ilave edilen grup ile bakteriyofaj ilave edilmeyen kontrol grubu arasında da önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Sonuç olarak, 10^{10} ve 10^8 pob/mL bakteriyofaj ilavesinin *L. monocytogenes*'in inaktivasyonunda etkili olduğu görülmüştür.

Tablo 3.3: *L. monocytogenes* üzerine Listex P100 bakteriyofajının etkisi (10 °C'da) (log kob/mL)

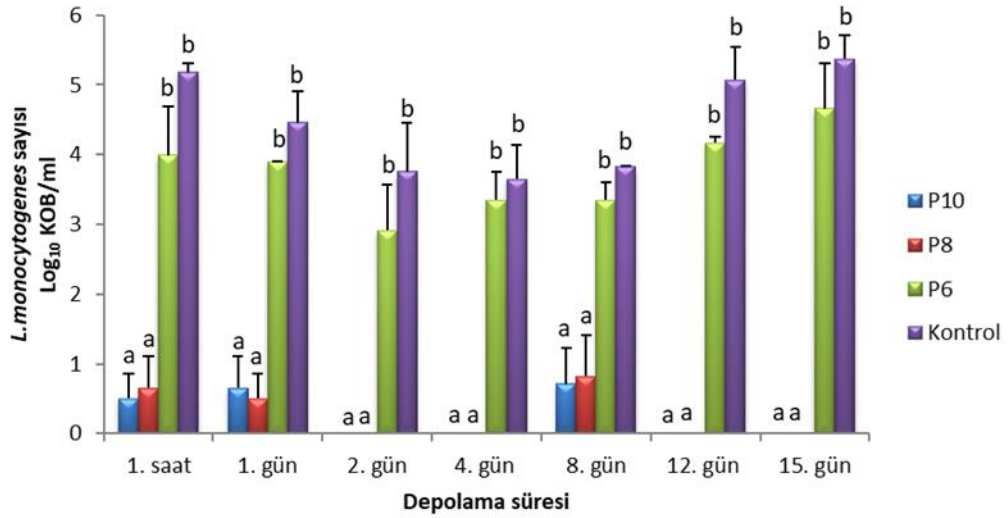
Depolama	P10	P8	P6	Kontrol
1. saat	0,50 ± 0,50 ^{aA}	0,65 ± 0,65 ^{aA}	3,99 ± 0,99 ^{bA}	5,18 ± 0,18 ^{bA}
1. gün	0,65 ± 0,65 ^{aA}	0,50 ± 0,50 ^{aA}	3,90 ± 0,00 ^{bA}	4,46 ± 0,62 ^{bA}
2. gün	<1,00 ^{aA}	<1,00 ^{aA}	2,92 ± 0,92 ^{bA}	3,76 ± 0,98 ^{bA}
4. gün	<1,00 ^{aA}	<1,00 ^{aA}	3,35 ± 0,57 ^{bA}	3,65 ± 0,69 ^{bA}
8. gün	0,72 ± 0,72 ^{aA}	0,83 ± 0,83 ^{aA}	3,35 ± 0,35 ^{bA}	3,82 ± 0,02 ^{bA}
12. gün	<1,00 ^{aA}	<1,00 ^{aA}	4,17 ± 0,14 ^{bA}	5,07 ± 0,66 ^{bA}
15. gün	<1,00 ^{aA}	<1,00 ^{aA}	4,66 ± 0,93 ^{bA}	5,37 ± 0,49 ^{bA}

* P10: 10 log pob/mL, P8: 8 log pob/mL, P6: 6 log pob/mL, Kontrol: faj ilave edilmemiş

**Her gruba başlangıç konsantrasyonu olarak 10^4 kob/mL *L. monocytogenes* ilave edilmiştir.

→ (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir ($p<0,05$), ↓ (A,B) aynı grup içerisinde günler arasındaki farkı gösterir ($p<0,05$)

Bakteriyofaj ilave edilen gruplarda ve bakteriyofaj ilave edilmeyen kontrol grubunda depolama boyunca *L. monocytogenes* sayısı değişiklik göstermiş ancak istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 3.4: *L. monocytogenes* üzerine Listex P100 bakteriyofajının etkisi (10 °C’da) (log kob/mL)

P10: 10 log pob/mL, P8: 8 log pob/mL, P6: 6 log pob/mL, Kontrol: faj ilave edilmemiş

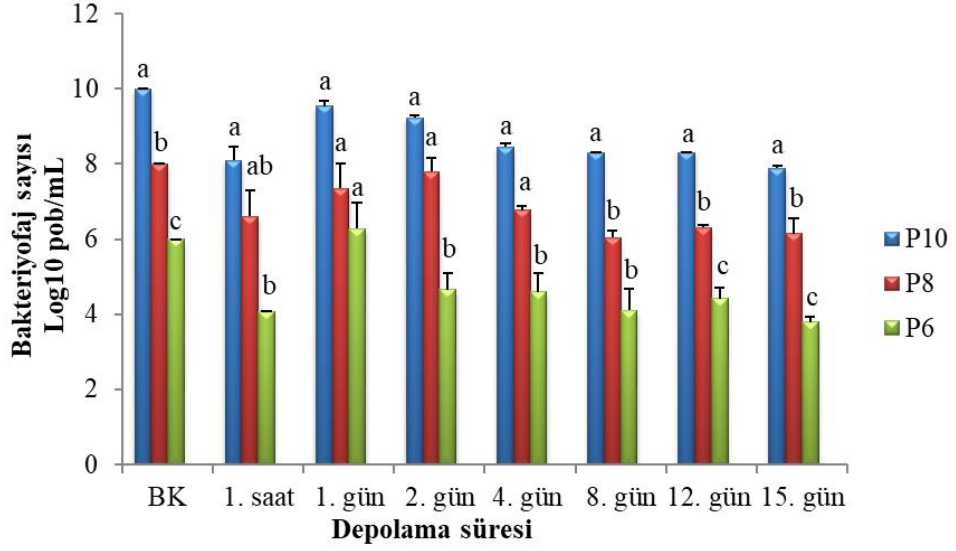
*Her gruba başlangıç konsantrasyonu olarak 10⁴ kob/mL *L. monocytogenes* ilave edilmiştir.

(a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir (p<0,05).

3.3.2 In vitro Ortamda *L. monocytogenes* Üzerine Etkisi Araştırılan Listex P100 Bakteriyofajının Stabilitesi

10 °C’da in vitro ortamda *L. monocytogenes* üzerine etkisi araştırılan Listex P100 bakteriyofajının 15 günlük depolama süresince stabilitesine dair elde edilen bulgular Tablo 3.4 ve Şekil 3.5’de verilmiştir.

P10 grubunda depolamanın başlangıcında 10 log pob/mL olan faj sayısı, depolamanın 15. gününde 7,89 log pob/mL olarak belirlenmiştir. P8 grubunda ise başlangıçta 8 log pob/mL olan faj sayısı depolamanın sonunda 6,15 log pob/mL düzeyine inmiştir. P6 grubunda 6,00 log pob/mL faj ilavesi ile başlayan depolama süreci 3,80 log pob/mL faj sayısı ile tamamlanmıştır. Broth sistemi içerisine bakteriyofaj ilave edilen gruplarda; P10 grubundaki faj sayısında meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli olsada (p< 0,05), P8 ve P6 gruplarında bu azalma istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır (p>0,05).



Şekil 3.5: 10 °C'da Listex P100 bakteriyofajının stabilitesi (log pob/mL)

* (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir (p<0,05)

Tablo 3.4: 10 °C'da in vitro ortamda *L. monocytogenes* üzerine etkisi araştırılan Listex P100 bakteriyofajının stabilitesi (log pob/mL)

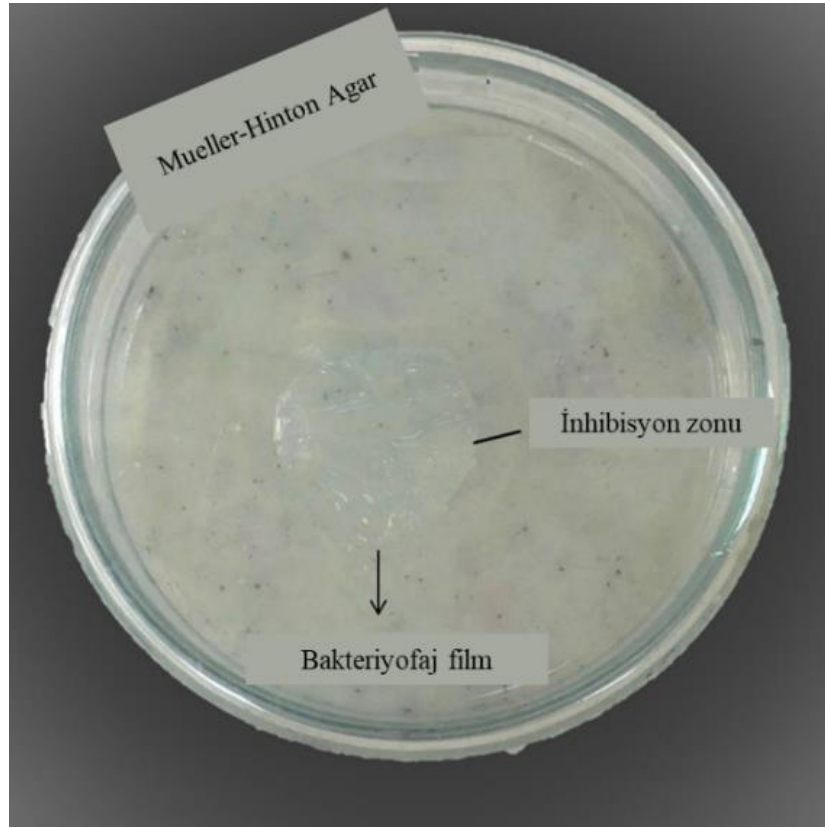
Depolama	P10	P8	P6
Başlangıç	10,00 ± 0,00 ^{aA}	8,00 ± 0,00 ^{bA}	6,00 ± 0,00 ^{cA}
1. saat	8,10 ± 0,50 ^{aB}	6,6 ± 1,00 ^{abA}	4,07 ± 0,00 ^{bA}
1. gün	9,55 ± 0,53 ^{aAC}	7,36 ± 0,95 ^{aA}	6,28 ± 0,97 ^{aA}
2. gün	9,23 ± 0,08 ^{aC}	7,80 ± 0,50 ^{aA}	4,65 ± 0,65 ^{bA}
4. gün	8,45 ± 0,15 ^{aB}	6,77 ± 0,15 ^{aA}	4,60 ± 0,70 ^{bA}
8. gün	8,30 ± 0,00 ^{aB}	6,04 ± 0,26 ^{bA}	4,10 ± 0,80 ^{bA}
12. gün	8,30 ± 0,00 ^{aB}	6,32 ± 0,06 ^{bA}	4,42 ± 0,42 ^{cA}
15. gün	7,89 ± 0,11 ^{aB}	6,15 ± 0,59 ^{bA}	3,80 ± 0,20 ^{cA}

* P10: 10 log pob/mL, P8: 8 log pob/mL, P6: 6 log pob/mL, Kontrol: faj ilave edilmemiş

→ (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir (p<0,05). ↓ (A,B) aynı grup içerisinde günler arasındaki farkı gösterir (p<0,05)

3.4 Bakteriyofaj İçeren Sodyum Aljinat Filmin Antimikrobiyel Etkinliği

Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat filmin *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon zonunun 4,3 mm olduğu tespit edilmiştir (şekil 3.6). Bakteriyofaj içermeyen sodyum aljinat filmin *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon zonu oluşturmaması sodyum aljinat malzemesinin *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon etkisinin olmadığını göstermiştir.



şekil 3.6: Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat filmin *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel etkinliği

3.5 Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Bakteriyofaj Uygulamalarının *L. monocytogenes* Üzerine Etkileri ve Filetolarda Depolama Süresince Faj Stabilitésinin Tespit Edilmesi

3.5.1 Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Bakteriyofaj Uygulamalarının *L. monocytogenes* Üzerine Etkileri

L. monocytogenes inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetolarına doğrudan ve filme ilave edilerek uygulanan bakteriyofajların, 7 günlük depolama boyunca *L. monocytogenes* sayısı üzerine etkisi Tablo 3.5 ve Şekil 3.7’de verilmiştir.

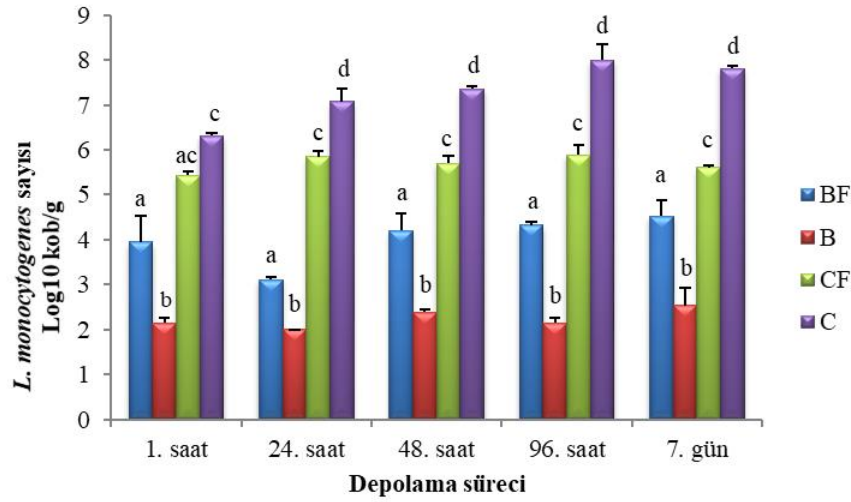
Tablo 3.5: 10 °C’da depolanan tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj uygulamaların *L. monocytogenes* üzerine etkisi (log kob/g)

	BF	B	CF	C
1. saat	3,95 ± 0,82 ^{aA}	2,15 ± 0,15 ^{bA}	5,43 ± 0,11 ^{acA}	6,32 ± 0,07 ^{cA}
24. saat	3,11 ± 0,07 ^{aA}	2,00 ± 0,00 ^{bA}	5,85 ± 0,18 ^{cAB}	7,08 ± 0,39 ^{dA}
48. saat	4,2 ± 0,54 ^{aA}	2,39 ± 0,09 ^{bA}	5,70 ± 0,24 ^{cAB}	7,36 ± 0,07 ^{dA}
96. saat	4,32 ± 0,13 ^{aA}	2,15 ± 0,15 ^{bA}	5,89 ± 0,31 ^{cB}	8,00 ± 0,49 ^{dA}
7. gün	4,53 ± 0,49 ^{aA}	2,54 ± 0,54 ^{bA}	5,61 ± 0,06 ^{cAB}	7,81 ± 0,10 ^{dA}

* BF: Bakteriyofaj içeren film, B: Doğrudan bakteriyofaj ilave edilen, CF: faj ilave edilmemiş film, C: faj ilave edilmemiş *L.monocytogenes* inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetoları

**Her gruba başlangıç konsantrasyonu olarak 10⁶ kob/mL *L. monocytogenes* ilave edilmiştir.

→ (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir (p<0,05), ↓ (A,B) aynı grup içerisinde günler arasındaki farkı gösterir (p<0,05)



Şekil 3.7: 10 °C’da depolanan tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj uygulamaların *L. monocytogenes* üzerine etkisi (log kob/g)

* BF: Bakteriyofaj içeren film, B: Doğrudan bakteriyofaj ilave edilen, CF: faj ilave edilmemiş film, C: faj ilave edilmemiş *L.monocytogenes* inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetoları

**Her gruba başlangıç konsantrasyonu olarak 10⁶ kob/mL *L. monocytogenes* ilave edilmiştir.

→ (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir (p<0,05)

Depolamanın 1. saatinde sodyum aljinat film içerisine bakteriyofaj ilave edilen grupta (BF), bakteriyofaj ilave edilmeyen kontrol film grubuna (CF) kıyasla *L. monocytogenes* sayısında 1,48 log kob/g azalma tespit edilmiştir (p>0,05). Aynı şekilde sodyum aljinat film içerisine bakteriyofaj ilave edilen grupta (BF), film uygulanmayan *L. monocytogenes* inoküle edilen kontrol grubuna (C) kıyasla *L. monocytogenes* sayısında 2,37 log kob/g azalma saptanmıştır (p<0,05). Bunun yanısıra 7 günlük depolama boyunca *L. monocytogenes*’in inaktivasyonunda en etkili uygulama, doğrudan bakteriyofaj uygulaması olsa da (p<0,05), film içerisine bakteriyofaj ilavesi de *L. monocytogenes*’in inaktivasyonda kontrol gruplarına kıyasla etkili olmuştur (p<0,05).

Depolamanın 1. saatinde *L. monocytogenes* sayısı CF grubunda 5,43 log kob/g; C grubunda ise 6,32 log kob/g olarak tespit edilmiştir. İki kontrol grubu arasında tespit edilen 0,89 logaritma birimi farkın sebebi olarak CF grubuna film solüsyonu dökümü esnasında fileto üzerinden bir miktar *L. monocytogenes*’in uzaklaştırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.5.2 Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında Depolama Boyunca Bakteriyofaj Stabilitesinin Tespit Edilmesi

L. monocytogenes inoküle edilen tütsülenmiş alabalık filetolarında filme ilave edilen ve doğrudan uygulanan bakteriyofajların 7 günlük depolama periyodu boyunca stabilitesi Tablo 3.6 ve Şekil 3.10'da verilmiştir.

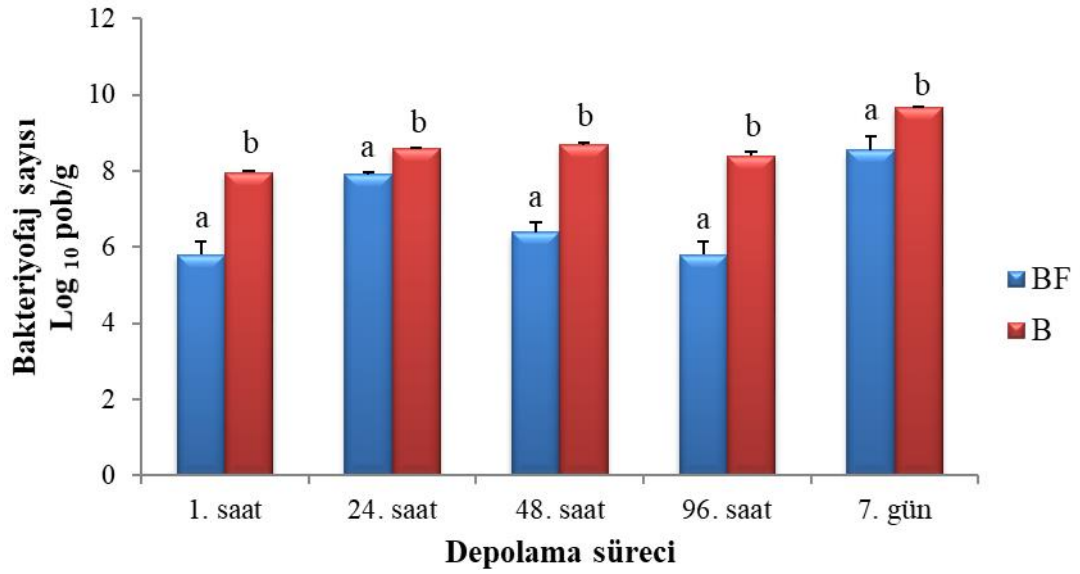
Bakteriyofaj içeren filmde (BF) depolamanın 1. saatinde bakteriyofaj sayısı 5,80 log pob/g iken depolamanın sonu olan 7. günde 8,54 log pob/g olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$). Doğrudan bakteriyofaj içeren grupta (B) başlangıçta 7,95 log pob/g olan bakteriyofaj sayısı, depolamanın sonunda 9,67 log pob/g olarak belirlenmiştir ($p<0,05$). Bakteriyofaj uygulanan 2 grupta da depolamanın sonunda bakteriyofaj sayısı depolamanın başlangıcından yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Doğal faj döngüsünün sonucu olarak bu durum meydana gelmiştir [196].

Tablo 3.6: 10 °C'da depolanan tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj stabilitesi (log pob/g)

	BF	B
1. saat	5,80 ± 0,50 ^{aA}	7,95 ± 0,05 ^{bA}
24. saat	7,91 ± 0,08 ^{aBC}	8,60 ± 0,00 ^{bB}
48. saat	6,39 ± 0,39 ^{aAB}	8,69 ± 0,09 ^{bB}
96. saat	5,80 ± 0,50 ^{aA}	8,39 ± 0,19 ^{bB}
7. gün	8,54 ± 0,54 ^{aC}	9,67 ± 0,01 ^{bC}

* BF: Bakteriyofaj içeren film, B: faj ilave edilmemiş film

→ (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir ($p<0,05$), ↓ (A,B) aynı grup içerisinde günler arasındaki farkı gösterir ($p<0,05$)



Şekil 3.8: 10 °C’da depolanan tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj stabilitesi (log pob/g)

* BF: Bakteriyofaj içeren film, CF: faj ilave edilmemiş film, (a,b) aynı periyot içerisinde gruplar arasındaki farkı gösterir (p<0,05).

Depolamanın başlangıcında BF ve B gruplarının bakteriyofaj sayıları arasında istatistiksel olarak fark yok iken (p>0,05), depolamanın 24., 48. ve 96. saatlerinde bakteriyofaj sayısı direkt bakteriyofaj uygulanan B grubunda daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Ancak depolamanın sonunda bakteriyofaj sayısının daha yüksek olduğu B grubuyla, BF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0,05).

Bölüm 4

Tartışma

Listeria spp. gıda sektöründe yaygın olarak bulunmaktadır. Süt ürünleri, sebzeler, et ve balık ürünleri de dahil olmak üzere farklı gıdaların kontaminasyonundan sorumludur [197]. *L. monocytogenes*'in gıdalardaki yüksek prevalansı ve Listeriozis ile ilişkili yüksek ölüm oranları, *L. monocytogenes*'in halk sağlığı için tehlike olarak kabul edilmesine ve birçok gıda işletmesinde ekonomik kayıpların oluşmasına neden olmuştur [198]. Özellikle, tüketime hazır ürünlerde *L. monocytogenes*'in varlığı halk sağlığı otoriteleri için endişe verici bir konudur [98].

Bu çalışmanın ilk aşamasında, İzmir'de satışa sunulan su ürünlerinde *Listeria* spp.'nin varlığı belirlenmiştir. İkinci aşamada, su ürünleri örneklerinden ve su ürünleri işleme tesisi atıklarından *Listeria* bakteriyofajı izole edilmiştir. Daha sonraki aşamada Listex P100 bakteriyofajının *L. monocytogenes* üzerine etkinliği araştırılmıştır. Ayrıca, alabalık filetolarına doğrudan ve film içerisine Listex P100 bakteriyofaj ilavesinin *L. monocytogenes* üzerine etkisi incelenmiştir. Fajlar ile biyokontrol, gıdanın güvenliğini arttıran, kimyasal olmayan, çevreci, spesifik hedefe karşı antimikrobiyel etkiye sahip bir yaklaşım sergiler [196].

Yaptığımız çalışma sonucunda %40 oranında *Listeria* spp. izole edilmiştir. Abdollahzadeh ve diğ. [60] İran'da gerçekleştirdiği çalışmada *Listeria* spp. oranını, taze balık örnekleri için %14,28; tüketime hazır su ürünleri için ise %10,12 olarak tespit etmişlerdir. Tarafımızca gerçekleştirilen bu çalışmada ise bu oran taze su ürünleri örnekleri için %20; tüketime hazır su ürünleri için ise %20 olarak bulunmuştur. Laciari ve Centorbi [68] ise taze su ürünlerinde bu oranı %12; Parihar ve diğ. [199] ise bu oranı %24 olarak belirlemiştir. Yamazaki ve diğ. [200] Japonya'da

gerçekleştirdiği çalışmada *Listeria* spp. oranının taze balık örnekleri için %10,2; işlenmiş su ürünleri için ise %14,8 olduğunu ifade etmiştir.

Bu çalışmada, analize alınan su ürünleri örneklerinin %8'inde *L.monocytogenes* izole edilmiştir. Kafa ve Kılınç [201] İzmir ilinde dört farklı marketten satın aldıkları dondurulmuş kara midyelerde *L. monocytogenes*'e rastlamadıklarını bildirmiştir. Gürler ve diğ. [202] Türkiye'de tüketime hazır salatalarda mikrobiyal kaliteyi belirlemek için yaptıkları çalışmada, 45 adet ton balıklı salata örneğinin %6,6'sının *L. monocytogenes* açısından pozitif sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Gözütok ve Aydın [203] Karadeniz'de avlanan mezgit (*Merlangius merlangus euxinus*) (n:243) ve barbun (*Mullus surmuletus*) (n:257) balıklarından *L. monocytogenes* suşları izole etmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda yalnızca 1 balıktan (barbun) *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Kışla ve diğ. [204] Türkiye'de sıcak alabalık tütsüleme fabrikasında hem geleneksel yöntem ile hem de *Listeria* Hızlı Test kiti kullanarak *L. monocytogenes* varlığını araştırmışlardır. *Listeria* Hızlı Test kiti ile altmış örneğin otuzunda (%50), geleneksel yöntemde ise altmış örneğin otuzdördünde (%57) *L. monocytogenes* saptamışlardır. Çalışma sonunda çiğ balık, tütsülenmiş balık (işlemeden önce) ve işleme suyunda *L. monocytogenes* tespit etmediklerini, ancak ekipman veya diğer yüzeylerden alınan sürüntülerde ve fileto işleminden sonra tütsülenmiş balık numuneleri dahil tüm çevresel numunelerde *L. monocytogenes* tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Akpolat ve diğ. [205] yaptıkları çalışmada 70 adet taze balık örneğinin yalnızca 1 tanesinde *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Terzi ve diğ. [206] analize aldıkları 25 adet midye dolma örneğinde *L. monocytogenes*'e rastlamadıklarını belirtmişlerdir. Şanlıbaba ve diğ. [207] analize aldıkları 25 adet su ürününün 7 tanesinin *Listeria* spp. açısından, 3 tanesinin *L. monocytogenes* açısından pozitif olduğunu bildirmiştir. Fallah ve diğ. [67] İran'da gerçekleştirdiği çalışmada izole ettikleri *L. monocytogenes* oranının taze su ürünleri için %4,83; tüketime hazır su ürünleri için ise %14,5 olarak saptamıştır. Mevcut çalışmada ise bu oran taze su ürünleri örnekleri için %2; tüketime hazır su ürünleri için ise %6 olarak tespit edilmiştir. Yamazaki ve diğ. [200] su ürünlerindeki *L. monocytogenes* oranını taze balık örnekleri için %2, işlenmiş su ürünleri için ise %9,8 olarak belirlemişlerdir. Yapılan araştırma sonuçları, genel olarak tüketime hazır su ürünleri ve işlenmiş su ürünlerinde *L. mononocytogenes* sayısının taze su ürünlerine kıyasla yüksek olduğunu

göstermektedir. Elde ettiğimiz sonuçlardan farklı olarak Abdollahzadeh ve diğ. [60] *L. monocytogenes* oranının taze balık örnekleri için %7,93 olduğunu bildirmiş ancak tüketime hazır su ürünlerinde *L. monocytogenes* tespit etmediklerini rapor etmiştir.

Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadan üretilen tüketime hazır su ürünlerinin işleme basamağından sonraki aşamalarda *L. monocytogenes*'in kontaminasyonunun ve gelişiminin engellenmesi mümkün olmamaktadır [9].

Yürütülen bu çalışmada, taze su ürünü örneklerinin %10'u ve işlenmiş su ürünlerin %5'i olmak üzere analize alınan örneklerin %15'inde *L. innocua* olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Parihar ve diğ. [199] balık örneklerinin %15'inin *L. innocua* açısından pozitif olduğunu bildirmiştir. Yamazaki ve diğ. [200] su ürünlerinde, *L. monocytogenes* dışındaki *Listeria* spp. oranının taze balık örnekleri için %10,2; işlenmiş su ürünleri için ise %9,8 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Analize aldığımız su ürünlerinin %6'sında *L. seeligeri*, %10'unda *L. welshimeri*, %1'inde *L. grayi* tespit edilmiştir. Ancak, örneklerin hiçbirinde *L. ivanovii* izole edilememiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlar işlenmiş su ürünlerinde *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* ve *L. grayi* oranının taze su ürünlerine kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durumun, yetersiz ısıl işlem ve çapraz kontaminasyon başta olmak üzere birçok faktörden kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir [53].

Yaptığımız bu çalışma sonucunda taze su ürünlerinden levrek ve gümüş balıklarında *L. monocytogenes*'e rastlanmıştır. Tüketime hazır ürünlerden karides köfte, somon köfte, somon füme, balık şinitzel ve midye dolma (x2) örneklerinden *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Fallah ve diğ. [67] tarafından, bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde tüketime hazır ürünlerden soğuk tütsülenmiş balıkta, balık köftede ve nugetta *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Ayrıca sazan, hamsi, kalkan ve karides gibi taze su ürünleri örneklerinden de *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Meloni ve diğ. [143] tarafından tütsülenmiş kılıç balığı (*Xiphias gladius*), tütsülenmiş Atlantik somonu (*Salmo salar*), ve marine edilmiş su ürünleri salatasından *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Jamali ve diğ. [53] kızartılmış balıktan, barbekü edilmiş kalamardan ve suşiden; Yamazaki ve diğ. [200] taze somon (*Salmo salar*),

tütsülenmiş balık, suşi ve kızartılmış balık örneklerinden *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Abdollahzadeh ve diğ. [208] alabalık, tirsi ve tilapya balığından; Handa ve diğ. [209] kıyma haline getirilmiş tuna balığı ve havyardan; Miya ve diğ. [210] tuna balığı ve kıymasından, balık havyardan ve tütsülenmiş balıktan *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.

Ürün bazında değerlendirildiğinde, işlenmiş su ürünlerinde *L. monocytogenes* izolasyon oranının taze su ürünlerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun nedeni olarak, işleme tesisinde veya perakende satış sırasında meydana gelen sekonder kontaminasyon gösterilebilir [209]. Tüketime hazır gıdalarının bu patojen ile kontaminasyonu birçok faktöre bağlı olabilir. Olası faktörlerden biri, gıdaların pişirildikten sonra çapraz bulaşmaya maruz kalmasıdır. Ayrıca, pişirme işleminin yetersiz yapılması da bakteriyi elimine edememektedir. Çapraz kontaminasyonun önlenmesi, uygun süre ve sıcaklıkta ısıl işlemin yapılması *L. monocytogenes*'in kontrolünde önemlidir [53]. Ayrıca ürünlerin raf ömrü boyunca soğuk zincir yönetimi, *L. monocytogenes* gelişimini en aza indirmek için önem arz etmektedir [143].

Listeria fajlarının birçok kaynaktan izole edildiği bilinmektedir [211]. Yapılan çalışmalarda *Listeria* fajların kanalizasyon ve atık su arıtma tesislerinden [188,212], hayvan dışkılarından [97,190], süt çiftliği ve sılağ örneklerinden [213–216], mezbaha atıklarından [94], gıda işleme tesislerinden [190,217–220], taze gıda örneklerinden [190], çevresel örneklerden [221] ve lizojenik suşlardan [217–220,222] izole edildiği belirtilmiştir. Yaptığımız bu çalışma da, işleme tesisi atıklarından *Listeria* fajı izole edilmiştir. Şanlıbaba ve Uymaz Tezel [190] Ankara ve Çanakkale'de toprak, taze gıda, balık işleme atık suyu, tavuk dışkısı, gıda işleme atık suyu, deniz ve nehir suyu örneklerinde *Listeria* fajının varlığını araştırmışlardır. Toplam 68 örneğin 4 tanesinde *Listeria* fajına rastlamışlardır. *Listeria* fajı izole ettikleri örneklerin taze gıda, balık atık suyu, tavuk dışkısı ve gıda işleme atık suyunun olduğunu bildirmişlerdir. Vongkamjan ve diğ. [218] yaptıkları çalışmada, Tayland'da bir deniz ürünü işleme tesisine bir 1,5 boyunca 17 ayrı ziyarette bulduklarını, topladıkları gıda ve çevre örneklerinden *L. monocytogenes*, *Listeria* spp. ve *Listeria* fajlarını izole ettiklerini bildirmişlerdir. Topladıkları 595 örneğin 111'i ham kalamar ve karides, 112'si bitmiş ürün (kalamar ve karides suşi), 195'i gıda ile temas eden yüzey ve 177'si gıda ile temas etmeyen

yüzeyle. Araştırmacılar yaptıkları 17 ziyaretten yalnızca 3'ünde faj tespit etmişlerdir. 595 örnek arasından 9'unda (% 1,5) *Listeria* fajı izole edilmiştir. Faj izole edilen 9 örnekten 6'sının işçi eldivenleri, ürünlerin bulunduğu kap ve çalışma masası gibi gıdayla temas eden yüzeyler, 3'ünün ise tartılar ve yıkanmış çelik tepsi gibi gıda ile temas etmeyen yüzeylerden oluştuğu tespit edilmiştir. Toplamda 29 faj izolatu elde etmişlerdir. Vongkamjan ve diğ. [217] *L. monocytogenes* ve *Listeria* faj izolasyonu amacıyla tütüleme tesisinden iki kere örnekleme yapmışlardır. İlk örneklemede *L. monocytogenes* izolasyonu için çiğ, bitmiş ürün ve çevresel örnek olmak üzere 226 örnek toplanmıştır. İkinci örnekleme de ise 11 drenaj noktasından 12 kez numune alınarak 132 çevresel örnek toplamışlardır. Analiz ettikleri örneklerde *L. monocytogenes* bulunma oranı %22,3 (358 örnekte 80 pozitif) oranında iken faj bulunma oranının %2,3 (132 örnekte 3 örnek pozitif) olduğunu bildirmişlerdir. Arachchi ve diğ. [220] Nelson'daki bir balık işleme tesisinin, balık atığı arıtma ünitesinin farklı yerlerinden örnekler toplamış ve 3 faj izole etmişlerdir.

Bakteriyofajlar yaklaşık 100 yıldır bilinmesine rağmen, patojen bakterileri kontrol etmek için litik bakteriyofajların kullanımı son yıllarda artış göstermiştir. *L. monocytogenes* ile mücadelede yaygın olarak kullanılan ticari fajlardan biri Listex P100'dür. Bu faj, bir mandıra tesisinin atık suyundan izole edilmiş ve *L. monocytogenes*'in kontrolü için FDA onayı ile ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır [223]. FDA'nın görüşü bu yönde iken, EFSA [89] 2016 yılında Listex P100 hakkında bilimsel bir rapor yayınlamıştır ve Listex P100'ün doğal olarak kontamine olmuş tüketime hazır gıdalardaki etkinliği hakkında daha fazla çalışma yapılmasını tavsiye etmiştir.

Birçok çalışmada, taze ve tüketime hazır su ürünlerinde *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için farklı *Listeria* suşlarına özgü bakteriyofajların etkinliği gösterilmiştir [9,19,21,27,29,71,91,92]. Yaptığımız bu çalışmada, Listex P100 bakteriyofajlarının *L. monocytogenes* üzerine etkisi araştırılmıştır. Faj uygulamalarının (film içerisine ilave-direkt uygulama) tütülenmiş su ürünlerinde *L. monocytogenes* üzerine olan etkisi ortaya konulmuştur.

Bu kapsamda, ilk olarak Listex P100 bakteriyofajının in vitro ortamda *L. monocytogenes* üzerine etkisi belirlenmiştir. 10^{10} ve 10^8 pob/mL bakteriyofaj

ilavesinin *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu için oldukça etkili olduğu görülmüştür. 10 °C'da 15 günlük depolama süresince, her iki faj konsantrasyonunda *L. monocytogenes*'i neredeyse tamamen elimine etmiştir ($p < 0,05$). Ancak, düşük konsantrasyonda faj kullanılan grup (10^6 pob/mL) ile faj ilave edilmeyen kontrol grubunun *L. monocytogenes* sayıları arasında önemli bir fark tespit edilememiştir ($p > 0,05$).

Soni ve Nannapaneni [19] broth sistemi içerisinde Listex P100 bakteriyofajının 10^4 , 10^6 ve 10^8 pob/mL konsantrasyonlarının *L. monocytogenes*'i 4 °C'da 12 gün, 10 °C'da 8 gün, 30 °C'da 4 günde inaktive etmiştir. Soni ve diğ. [29] başka bir çalışmada broth ortamında Listex P100 bakteriyofajının kontrol grubuna kıyasla 4 °C'lık depolamada 24 saatin sonunda *L. monocytogenes* sayısında 2,5 logaritma birimi azalma sağladığını bildirmiştir.

Yürütülen bu çalışmada, FTS içeren broth sistemi içeresine bakteriyofaj ilave edilen gruplardan P8 ve P6 grupları için faj sayısında meydana gelen değişiklikler istatistiksel anlamda önemli bulunmamış ($p > 0,05$) ve depolama süresi boyunca faj stabilitesinin korunduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Soni ve diğ. [29]'de broth ortamında Listex P100 bakteriyofajının stabilitesini koruduğunu belirtmişlerdir.

Bakteriyofaj içeren filmler, gıda ambalaj uygulamaları için umut vericidir [30]. Bu nedenle son yıllarda araştırmacılar faj içeren filmlerin etkinliği ile ilgili birçok çalışma gerçekleştirmişlerdir [30,32,192,224,225,33–35,37,177,180,182,183].

Yapılan bu çalışmada da Listex P100 bakteriyofajı ilave edilen sodyum aljinat filmin *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel etkinliği değerlendirilmiştir. Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat bazlı filmin çevresinde bakteri hücrelerinin gelişmediği gözlemlenmiştir. Bu da bize bakteriyofajın neden olduğu lizizi göstermiştir. Kontrol film grubunda ise film etrafında liziz gözlenmemiştir. Bakteriyofaj içeren sodyum aljinat bazlı filmin *L. monocytogenes*'e karşı gösterdiği inhibisyon zonu 4,3 mm olarak ölçülmüş, faj içermeyen filmin ise inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir. Gouvêa ve diğ. [30] tarafından asetat filme ilave ettikleri farklı konsantrasyonlardaki bakteriyofajların *Salmonella* Typhimurium'a karşı 1,23-1,35 cm düzeyinde inhibisyon zonu gösterdiği bildirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde Gouvêa ve diğ.

[192] bakteriyofaj içeren emici gıda pedlerinin *Salmonella Typhimurium*'a karşı besiyeri ortamında etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Vonasek ve diğ. [177] buzdolabı koşulları ve oda sıcaklığında muhafaza edilen peynir altı suyu protein filmlerinde bulunan T4 fajlarının inaktivite yeteneğini sürdürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca, T4 fajı içeren peynir altı suyu protein filmlerindeki *E. coli* sayısının 2 logaritma birimi azaldığı, faj içermeyen negatif kontrol grubunda ise 3 logaritma birimi artış olduğu belirtilmiştir. Kalkan [37] tarafından metilselüloz film içerisine ilave edilen fajların *V. parahaemolyticus*'a karşı antimikrobiyel etkinliği araştırılmıştır. 24 saatlik depolama sonrasında faj içeren metilselüloz film grubunda 2,12 log kob/mL olan *V. parahaemolyticus* sayısının, faj ilave edilmeyen metilselüloz film grubunda 6,11 log kob/mL olarak tespit edildiği rapor edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada, tütsülenmiş alabalığa direkt Listex P100 fajı uygulamasının *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda en etkili yöntem olduğu, bununla beraber sodyum aljinat film içerisine ilave edilen Listex P100 faj uygulamasının da *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda yüksek düzeyde etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmaya benzer şekilde sodyum aljinat bazlı matrisin Alves ve diğ. [180] *S. Enteritidis* ve *E. coli*'ye, Alves ve diğ. [181] *P. fluorescens*'e, Colom ve diğ. [224] *Salmonella*'ya ve Moghtader ve diğ. [225] *E. coli*'ye karşı farklı fajlar için uygun olduğunu göstermişlerdir.

Bakteriyofajların optimum etkinliğininin sağlanmasında, gıdanın yüzeyine uygulama yöntemi en kritik noktalardan birisini oluşturmaktadır [196]. Aktif ambalajlama teknikleriyle, gıdada bulunan mikroorganizmalar etkisiz hale getirilebilir veya gelişme oranı azaltılabilir. Antimikrobiyel özellikteki aktif ambalajların hazırlanmasında çeşitli antimikrobiyel bileşikler kullanılabilir [30]. Bu çalışmada, antimikrobiyel madde olarak Listex P100 bakteriyofajı, sodyum aljinat filmin içerisine ilave edilmiştir. Bakteriyofaj uygulaması, tütsülenmiş alabalık filetoalarının yüzeyine doğrudan ilave edilerek ve film içerisine ilave edilip bu filmler ile tütsülenmiş alabalık filetoalarını kaplayarak gerçekleştirilmiş ve *L. monocytogenes* üzerindeki etkisi 10 °C 7 günlük depolama periyodunda değerlendirilmiştir. Depolamanın başlangıcında, tütsülenmiş alabalık filetoalarına 6 log kob/g *L. monocytogenes* inoküle edilmiştir. Depolamanın 1. saatinde BF ve B gruplarında *L. monocytogenes* sayısı, kontrol grubuna (faj ilave edilmeyen-film uygulanmayan) kıyasla sırasıyla 2,37 ve 4,17 log

kob/g azalmıştır. Bakteriyofaj içermeyen filmle kaplanan grupta ise bu azalmalar BF ve B grupları için 1,48 ve 3,28 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Soni ve Nannapaneni, [19] farklı faj konsantrasyonlarının (10^4 - 10^8 pob/g) işlenmemiş somon (*Salmo salar*) filetolarındaki *L. monocytogenes* üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar çiğ somon filetolarında, başlangıçta ilave edilen 2-3 ve 4,5 log kob'luk bakteri sayısından 1,8-2,5 ve 3,5 log kob/g *L. monocytogenes* azalmalarını elde etmek için 10^8 pob/g'lık faj konsantrasyonunun gerekli olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar en etkili faj konsantrasyonunun (10^8 pob/g) 2 saat içerisinde *L. monocytogenes* sayısında yaklaşık 3,5 log kob/g azalma sağladığını bildirmiştir. Araştırmacıların somon filetolarına 10^8 pob/g bakteriyofaj ilave ettikleri grup ile bizim çalışmamızda doğrudan bakteriyofaj uygulanan grubun sonuçları benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar çalışmalarının devamında 10 günlük depolama boyunca 10^8 pob/g bakteriyofaj uygulamasının, işlenmemiş somon filetolarındaki *L. monocytogenes* üzerine etkisini araştırmışlardır. Depolama boyunca bakteriyofaj uygulanan filetolardaki *L. monocytogenes* sayısı bizim elde ettiğimiz bulgulara benzer şekilde önemli derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Gutiérrez ve diğ. [226] 10^9 pob/mL Listex P100 bakteriyofajı uygulanan kurutulmuş jambonların 4 °C ve 12 °C'da 24 saatlik depolama periyodunun sonunda, *L. monocytogenes* sayısının (10^3 , 10^4 , 10^5 kob/cm²) tespit edilebilir limitin altına indiğini bildirmişlerdir. Zhou ve diğ. [91] kendi izole ettikleri SH3-3 fajının somon (*Salmo salar*) etindeki *L. monocytogenes* sayısını 24 saatte yaklaşık 2,67 log azalttığını bildirmiştir. Tarafımızca yürütülen bu çalışmada, depolamanın 24. saatinde bakteriyofaj uygulanan gruptaki *L. monocytogenes* sayısı, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 5 log kob/g azalmış ve *L. monocytogenes* sayısı 2,00 kob/g olarak tespit edilmiştir. Axelsson ve diğ. [92] tarafından "rakfish" in olgunlaşma sürecinde ilave edilen Listex P100 fajının (10^8 ve 10^9 pob/örnek) depolamanın 1. gününde *L. monocytogenes* sayısında 0,6 ve 1,2 logaritma birimi azalmaya neden olduğu ifade etmişlerdir. Yapılan çalışmalar arasındaki farklılığın, gıda matrisi, *L. monocytogenes* sayısı, bakteriyofaj sayısı, faj suşları ve çalışmaların yürütüldüğü sıcaklıklar arasındaki farktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Carlton ve diğ. [17] tarafından yürütülen çalışmada da, inoküle edilen faj konsantrasyonundaki farklılıkların *L. monocytogenes* sayısı üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Peynirde *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerine yürütülen

çalışmada, düşük doz faj ($1,5 \times 10^8$) uygulamasının bakteri sayısında 2-3 logaritma birimi azalma sağladığı, yüksek doz faj (3×10^9) uygulamasının ise *L. monocytogenes*'i tamamen inaktive ettiği belirtilmiştir [17]. Benzer şekilde Perera ve diğ. [21] 10^3 kob/g *L. monocytogenes* inoküle edilen soğuk tütülenmiş somon (*Salmo salar*) filetolarına düşük doz (10^5 pob/g) ve yüksek doz (10^6 pob/g) bakteriyofaj (ListShield) uygulamasının ardından 24. saatte filetolardaki bakteri sayısında sırasıyla 0,4 ve 1,0 logaritma birimi azalma tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, Gutiérrez ve diğ. [226] tarafından 12 °C'ın altında 14 günlük depolama periyodunda Listex P100 bakteriyofajının *L. monocytogenes*'in inaktivasyonunda etkili olduğu bildirilmiştir. Araştırmacıların sonuçlarına benzer şekilde yaptığımız bu çalışmada da, 10 °C'da 7 günlük depolamanın sonunda bakteriyofaj uygulamasının *L. monocytogenes* kontrolünde etkili olduğu görülmüştür. Zhou ve diğ. [91] tarafından depolamanın 72. saatinde SH3-3 fajının somon (*Salmo salar*) etindeki *L. monocytogenes* sayısını yaklaşık 4.54 log azalttığı bildirilmiştir. Bu çalışmalardan farklı olarak, Soni ve diğ. [29] tarafından fajların ilk 24 saat boyunca antilisterial etki gösterdiği rapor edilmiştir. Axelsson ve diğ. [92] ise depolamanın 1. gününde Listex P100 fajlarının (10^9 pob/balık parçası) en yüksek antilisterial etkiyi (yaklaşık 1 logaritma birimi) gösterdiğini bildirmişlerdir. Banos ve diğ. [71] Listex P100 ($2,3 \times 10^7$ pob/cm²) ile muamele edilen 4 °C'daki taze somon (*Salmo salar*) filetolarındaki *L. monocytogenes* (10^3 kob/cm²) sayısında meydana gelen azalmaların depolamanın 1., 2., 3. ve 7. gününde 0,85, 1,25, 1,0 ve 1,06 log kob/cm² olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada tütülenmiş somonlardaki (*Salmo salar*) *L. monocytogenes* sayısında meydana gelen azalmaların depolamanın 1., 5., 10., 15. ve 30. günlerinde 0,85, 2,4, 2,75, 2,34, ve 1,58 log kob/cm² olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların, fajın uygulama şekli, ürünlerin depolama koşulları ve sıcaklığı ile kullanılan *L. monocytogenes* suşlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Patojen sayısını azaltmada uygulanan faj dozu önemlidir [27]. Soni ve diğ. [27] yayın balığı (*Ictalurus punctatus*) filetolarına 2×10^5 pob/g Listex P100 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla *L. monocytogenes* sayısı üzerine çok küçük bir etkisinin olduğunu, 2×10^3 pob/g Listex P100 uygulamasının ise kontrol grubuna kıyasla *L. monocytogenes* sayısında bir azalma göstermediğini bildirmişlerdir. Soni ve Nannapaneni, [19] taze somon (*Salmo salar*) filetolarına 10^4 pob/g düzeyinde

uygulanan Listex P100 konsantrasyonunun *L. monocytogenes* üzerine etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Dykes ve Moorhead [227] düşük doz bakteriyofaj uygulamasının (10^3 pob/g) taze et ürünündeki *L. monocytogenes* sayısını azaltmada yeterli olmadığını bildirmiştir.

Soni ve diğ. [27] tarafından $10\text{ }^\circ\text{C}$ 'da depolanan yayın balığı (*Ictalurus punctatus*) filetolarındaki *L. monocytogenes* sayısının, faj uygulamasından 30 dakika sonra kontrol grubuna göre 1,7 logaritma birimi azaldığı belirtilmiştir. 10 günlük depolama sonunda ise *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubunda 6,3 log kob/g ve bakteriyofaj uygulanan grupta 4,3 log kob/g olarak belirlenmiştir. Chibeu ve diğ. [5] tarafından yürütülen çalışmada, Listex P100'ün ($2,0 \times 10^7$ pob/cm²), 28 günlük depolama süresi boyunca tüketime hazır rosto ve pişmiş hindi etindeki *L. monocytogenes* sayısını (10^3 kob/cm²) kontrol grubuna kıyasla 2 logaritma birimi azalttığı rapor edilmiştir.

Faj partikülleri, toksik olmayan ve gıdalarda doğal olarak bulunan bileşenleri oluşturduğundan, gıda uygulamaları için güvenli olarak kabul edilmektedir [17]. Ayrıca, FDA tarafından Listex P100'ün gıdalarda kullanımı onaylanmıştır [19]. Bununla birlikte, bakteriyofaj biyokontrolünde bazı zorluklar vardır. Bakteriyofajlar, gıdalarda hedef bakterilerin sayılarını etkili bir şekilde azaltabilir, ancak bunları her zaman tamamen ortadan kaldıramazlar. Bu da depolama sırasında üründe kalan bakterilerin yeniden gelişmesine neden olabilir. Fajların, gıdadaki bakterilere ulaşamaması, faj biyokontrolünün uygulanma şekli ve tüketicilerin yeni yöntemlere karşı önyargılı yaklaşımı, bakteriyofajların gıda sektöründe kullanımını sınırlayan diğer faktörlerdir [196]. EFSA'nın [89] belirttiği gibi Listex P100'ün doğal olarak kontamine olmuş ürünlerde etkinliği henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu faktör de bakteriyofaj biyokontrolündeki zorluklardan biridir ve doğal olarak kontamine olmuş ürünlerde fajların etkinliğiyle ilgili daha çok çalışma yapılması önerilmektedir [89].

Yürütülen bu çalışmada, 7 günlük depolama boyunca doğrudan bakteriyofaj uygulanan filetolarda *L. monocytogenes* sayısı, bakteriyofajlı film uygulanan filetolara kıyasla ortalama 1,78 logaritma birimi daha fazla azalmıştır ($p < 0,05$). Ayrıca, bakteriyofajlı film uygulanan grupta *L. monocytogenes* sayısı, bakteriyofaj içermeyen kontrol filmine kıyasla 1,67 logaritma birimi azalmıştır. Radford ve diğ. [35] *Listeria* fajı içeren kaplama uygulanan dilimlenmiş hindilerde bu fajın 14 gün boyunca *L.*

monocytogenes'in gelişimini önemli ölçüde inhibe ettiğini (4 °C'da 3,79 log, 10 °C'da 2,17 log) belirtmişlerdir. De Dicastillo ve diğ. [182] sodyum kazeinat, jelatin ile karıştırılmış sodyum aljinat ve polivinil alkol olmak üzere üç farklı matrisi kullanarak Listex P100 içeren film geliştiren çalışmada, faj içeren filmlerde *L. monocytogenes* sayısında 24 saat sonra 0,6-1,6 logaritma birimi azalma tespit etmişlerdir. Figueiredo ve Almeida [98], tüketime hazır domuz jambon dilimlerinde 10^4 kob/mL *L. monocytogenes* üzerine 5×10^5 pob/g Listex P100 faj uygulamasının, 6-8 °C depolamanın başlangıcında ve depolamanın sonu olan 72. saatte patojen sayısını sayılamayacak seviyelere indirdiğini belirtmişlerdir. Silva ve diğ. [100], [100], $8,3 \times 10^7$ pob/g Listex P100'ün, peynire inoküle edilen *L. monocytogenes* (10^5 kob/g) sayısında depolamanın (10 °C'da) başlangıcında kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2 logaritma birimi azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar tarafından depolamanın sonu olan 10. günde ise bu azalmanın 1 logaritma birimi olduğu bildirilmiştir.

Amarillas [32] domates yüzeyinde *E. coli* O157:H7'ye karşı litik bir bakteriyofaj içeren kitosan bazlı yenilebilir kaplamanın antibakteriyel etkisinin araştırıldığı çalışmada, bakteriyofaj çözeltisi ile birleştirilen yenilebilir kaplamanın, altı gün sonra bakteri yükünde yaklaşık 3 logaritma birimi azalma sağladığını belirtmiştir. Cui ve diğ. [34] *E. coli*'nin inhibisyonu için enkapsüle faj ilave ettikleri et örneklerinde depolamanın 6. gününde kontrol grubunda 7,79 olarak tespit edilen patojen sayısı enkapsüle edilen faj içeren grupta 2,99 olarak belirlenmiştir. Kalkan [37] taze balık örneklerini bakteriyofaj içeren metilselüloz film ile kaplayarak bu filmin *V. parahaemolyticus*'a karşı antimikrobiyel etkisini araştırmıştır. Depolamanın 7. gününde faj içeren metilselüloz film ile kaplanan balık örneklerinde 1,77 log kob/g olan *V. parahaemolyticus* sayısının, faj ilave edilmeyen metilselüloz film ile kaplanan balık örneklerinde 7,20 log kob/g olarak tespit edildiğini bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada depolamanın 7. gününde kontrol film grubunda *L. monocytogenes* sayısı 5,61 iken BF grubunda bu sayı 4,53 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak *L. monocytogenes*'in inaktive edilmesinde, filmler aracılığıyla bakteriyofaj uygulamalarının da etkili bir yol olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Lone ve diğ. [36] ve Weng ve diğ. [183] tarafından da biyoaktif antimikrobiyel paketleme

malzemesi olarak faj bazlı materyalin kontamine gıdalarda antimikrobiyel etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, bakteriyofaj uygulamaları ile *L. monocytogenes* tamamen ortadan kaldırılamamıştır. Bununla birlikte, sıvı tütsülenmiş alabalık filetolarında 10^8 pob/mL Listex P100 uygulamalarının (sodyum aljinat bazlı filme dahil edilen ve doğrudan yüzeye uygulanan), 10°C 'da 7 günlük depolama sırasında *L. monocytogenes*'in (10^6 kob/mL) inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, bakteriyofajların (10^8 pob/mL) tütsülenmiş alabalık filetolarına doğrudan veya sodyum aljinat filme ilave edilerek uygulanmasıyla, 10°C 'da *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda kullanılabileceği belirlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda, bakteriyofaj uygulanan 2 grupta da depolamanın sonunda faj sayısı depolamanın başlangıcına kıyasla artmıştır ($p<0,05$). Bu durum, doğal faj döngüsünün bir sonucudur (bir bakteri hücrelerini enfekte eden bir faj ile başlar ve 100-200 faj ile sonuçlanır) [196]. Elde ettiğimiz bulgulardan farklı olarak, Soni ve Nannapaneni [19]'nun gerçekleştirdiği çalışmada, 4°C 'da 10 gün boyunca faj stabilitesi sabit kalmış ve başlangıçta ilave edilen 10^8 log pob/g bakteriyofaj sayısı depolama sonunda da yaklaşık 8 log pob/g olarak belirlenmiştir.

Yürütülen bu çalışma da, Listex P100 bakteriyofajının inhibisyon etkisinin FTS ile hazırlanan broth sisteminde gıda ortamından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Soni ve Nannapaneni [19] ve Guenther ve diğ. [9] benzer sonuçlar elde etmiş ve bu sonuçlar sıvı ortamda fajların daha iyi difüzyon özelliği göstermesine bağlanmıştır.

Sonuç olarak, su ürünlerinde *L. monocytogenes* inhibisyonu üzerine Listeria fajlarının etkisini belirleyen birçok faktör vardır. Bunlardan ilki, tek faj kullanımı, fajların kokteyl şekilde kullanımı ve lizis spektrumu gibi bakteriyofaj ile ilgili koşullardır. İkincisi, kullanılan *L. monocytogenes* suşu, serotipi ve konsantrasyonu gibi bakteriyle ilgili faktörlerdir. Son olarak, kullanılan deniz ürünü (ürünün kompozisyonu ve yüzey morfolojisi) ve ürünün işlenmesi ile ilgili faktörler de fajın etkinliği üzerinde önem taşımaktadır [228].

Bölüm 5

Sonuç

Gıdaların faj ile biyokontrolü, farklı gıdalardaki patojenleri spesifik olarak hedeflemede etkili olmakta, doğal ve yeşil bir teknoloji olduğu için giderek daha fazla kabul görmektedir. Bakteriyofajların özgünlüğü nedeniyle, faj biyokontrolleri gıdaların normal mikroflorasını bozmadan gıdalardaki hedef patojen bakterileri inaktif etme konusunda eşsiz bir fırsat sunmaktadır [196]. Bu çalışmada, sıvı tütsülenmiş alabalık filetolarında bakteriyofaj-film ve doğrudan bakteriyofaj uygulamalarının (10^8 pob/mL) $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da *L. monocytogenes*'in (10^6 kob/mL) inhibisyonunda 7 günlük depolama boyunca etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, depolama boyunca 2 grubun faj stabilitesini koruması, tütsülenmiş ürünlerde *L. monocytogenes*'in kontrolünün sağlanmasında kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmayla, ilk kez sodyum aljinat film içerisine Listex P100 bakteriyofaj ilavesinin sıvı tütsülenmiş alabalık filetolarında *L. monocytogenes*'in kontrolünde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, Listex P100 bakteriyofaj uygulamalarının (10^8 pob/mL) sıvı tütsülenmiş alabalık filetolarında $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da *L. monocytogenes*'in inhibisyonu amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada kullanılan Listex P100 bakteriyofajı uygulamaları, tüketime hazır tütsülenmiş ürünlerde veya benzer ürünlerin güvenliğini arttırmak için kullanılabilir. Bununla birlikte, daha uzun süreli depolama periyotlarında bakteriyofaj kullanımının etkileriyle ilgili daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Çünkü *L. monocytogenes* uzun süreli depolama sırasında üründe yeniden gelişme potansiyeli vardır. Bu nedenle, ürünlerin raf ömrünü kısaltabilir. Ayrıca faj uygulamalarıyla birlikte, farklı ambalajlama yöntemleri, atmosfer koşulları ve sıcaklık gibi diğer engel

parametrelerinin birlikte kullanımıyla ilgili çalışmaların da yapılması önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- [1] Hamidiyan N, Salehi-Abargouei A, Rezaei Z, Dehghani-Tafti R, Akrami-Mohajeri F. The prevalence of *Listeria* spp. food contamination in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Food Research International* 2018; 107: 437–450. doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.038
- [2] Chin PS, Ang GY, Yu CY, Tan EL, Tee KK, Yin WF, ve diğ. Prevalence, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Listeria* spp. isolated from raw chicken meat and chicken-related products in Malaysia. *Journal of Food Protection* 2018; 81(2): 284–289. doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-186
- [3] Amajoud N, Leclercq A, Soriano JM, Bracq-Dieye H, El Maadoudi M, Senhaji NS, ve diğ. Prevalence of *Listeria* spp. and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from food products in Tetouan, Morocco. *Food Control* 2018; 84: 436–441. doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.023
- [4] Farber JM. Present situation in Canada regarding *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat seafood products. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 62(3): 247–251. doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00342-1
- [5] Chibeu A, Agius L, Gao A, Sabour PM, Kropinski AM, Balamurugan S. Efficacy of bacteriophage LISTEX™P100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked turkey and roast beef. *International Journal of Food Microbiology* 2013; 167(2): 208–214. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.018
- [6] Maia RL, Teixeira P, Mateus TL. Risk communication strategies (on listeriosis) for high-risk groups. *Trends in Food Science and Technology* 2019; 84: 68–70. doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.006

- [7] E.F.S.A. (European Food Safety Authority). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal* 2017; 15(12): e05077. doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5077
- [8] Leverentz B, Conway WS, Camp MJ, Janisiewicz WJ, Abuladze T, Yang M, ve diğ. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69(8): 4519–4526. doi.org/10.1128/AEM.69.8.4519-4526.2003
- [9] Guenther S, Huwyler D, Richard S, Loessner MJ. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Applied and Environmental Microbiology* 2009; 75(1): 93–100. doi.org/10.1128/AEM.01711-08
- [10] Amézquita A, Brashears MM. Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection* 2002; 65(2): 316–325. doi.org/10.4315/0362-028X-65.2.316
- [11] McManamon O, Scollard J, Schmalenberger A. Inoculation density is affecting growth conditions of *Listeria monocytogenes* on fresh cut lettuce. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2017; 33(12): 217. doi.org/10.1007/s11274-017-2379-2
- [12] Hwang CA, Sheen S, Juneja VK. Effect of salt, smoke compound, and temperature on the survival of *Listeria monocytogenes* in salmon during simulated smoking processes. *Journal of Food Science* 2009; 74(9): 522– 529. doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01377.x
- [13] Rørvik LM. *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 62(3): 183–190. doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00334-2

- [14] Noll M, Kleta S, Al Dahouk S. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. *Journal of Infection and Public Health* 2018; 11(4): 572–577. doi.org/10.1016/j.jiph.2017.12.007
- [15] Zhu M, Du M, Cordray J, Ahn DU. Control of *Listeria monocytogenes* contamination in ready-to-eat meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2005; 4(2): 34–42. doi.org/10.1111/j.1541-4337.2005.tb00071.x
- [16] W.H.O. (World Health Organization). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report. Food & Agriculture Org 2004; [erişim tarihi 10.11.2021]. <https://www.fao.org/3/y5394e/y5394e.pdf>
- [17] Carlton RM, Noordman WH, Biswas B, De Meester ED, Loessner MJ. Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2005; 43(3): 301–312. doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.08.005
- [18] Oliveira M, Viñas I, Colàs P, Anguera M, Usall J, Abadias M. Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. *Food Microbiology* 2014; 38: 137–142. doi.org/10.1016/j.fm.2013.08.018
- [19] Soni KA, Nannapaneni R. Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillet tissue. *Journal of Food Protection* 2010; 73(1): 32–38. doi.org/10.4315/0362-028X-73.1.32
- [20] Rossi LPR, Almeida RCC, Lopes LS, Figueiredo ACL, Ramos MPP, Almeida PF. Occurrence of *Listeria* spp. in Brazilian fresh sausage and control of *Listeria monocytogenes* using bacteriophage P100. *Food Control* 2011; 22(6): 954–958. doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.12.001

- [21] Perera MN, Abuladze T, Li M, Woolston J, Sulakvelidze A. Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates *Listeria monocytogenes* contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods. *Food Microbiology* 2015; 52: 42–48. doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.006
- [22] Miguéis S, Saraiva C, Esteves A. Efficacy of LISTEX P100 at different concentrations for reduction of *Listeria monocytogenes* inoculated in sashimi. *Journal of Food Protection* 2017; 80(12): 2094–2098. doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-098
- [23] Bigot B, Lee WJ, McIntyre L, Wilson T, Hudson JA, Billington C, ve diğ. Control of *Listeria monocytogenes* growth in a ready-to-eat poultry product using a bacteriophage. *Food Microbiology* 2011; 28(8): 1448–1452. doi.org/10.1016/j.fm.2011.07.001
- [24] García P, Martínez B, Obeso JM, Rodríguez A. Bacteriophages and their application in food safety. *Letters in Applied Microbiology* 2008; 47(6): 479–485. doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02458.x
- [25] Hagens S, Offerhaus ML. Bacteriophages - New weapons for food safety. *Food Technology* 2008; 62(4): 46–54.
- [26] Gálvez A, Burgos MJG, López RL, Pulido RP. *Food Biopreservation*. Springer; 2014.
- [27] Soni KA, Nannapaneni R, Hagens S, Listex B. Reduction of *Listeria monocytogenes* on the surface of fresh channel catfish fillets by bacteriophage listex p100. *Foodborne Pathogens and Disease* 2010; 7(4): 427–434. doi.org/10.1089/fpd.2009.0432
- [28] Galarce NE, Bravo JL, Robeson JP, Borie CF. Bacteriophage cocktail reduces *Salmonella enterica* serovar Enteritidis counts in raw and smoked salmon tissues. *Revista Argentina de Microbiología* 2014; 46(4): 333–337. doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70092-6

- [29] Soni KA, Shen Q, Nannapaneni R. Reduction of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon by bacteriophage P100, nisin and lauric arginate, singly or in combinations. *International Journal of Food Science and Technology* 2014; 49(8): 1918–1924. doi.org/10.1111/ijfs.12581
- [30] Gouvêa DM, Mendonça RCS, Soto ML, Cruz RS. Acetate cellulose film with bacteriophages for potential antimicrobial use in food packaging. *LWT- Food Science and Technology* 2015; 63(1): 85–91. doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.014
- [31] Tunail N. Mikrobiyoloji. 1. baskı. Pelin Ofset Yayınları; 2009.
- [32] Amarillas L, Lightbourn-Rojas L, Angulo-Gaxiola AK, Basilio Heredia J, González-Robles A, León-Félix J. The antibacterial effect of chitosan-based edible coating incorporated with a lytic bacteriophage against *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of tomatoes. *Journal of Food Safety* 2018; 38(6): e12571. doi.org/https://doi.org/10.1111/jfs.12571
- [33] Alves D, Marques A, Milho C, Costa MJ, Pastrana LM, Cerqueira MA, ve diğ. Bacteriophage ϕ IBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. *International Journal of Food Microbiology* 2019; 291: 121–127. doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2018.11.026
- [34] Cui H, Yuan L, Lin L. Novel chitosan film embedded with liposome-encapsulated phage for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7 in beef. *Carbohydrate Polymers* 2017; 177: 156–164. doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.137
- [35] Radford D, Guild B, Strange P, Ahmed R, Lim LT, Balamurugan S. Characterization of antimicrobial properties of *Salmonella* phage Felix O1 and *Listeria* phage A511 embedded in xanthan coatings on Poly(lactic acid) films. *Food Microbiology* 2017; 66: 117–128. doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.015

- [36] Lone A, Anany H, Hakeem M, Aguis L, Avdjian AC, Bouget M, ve diğ. Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods. *International Journal of Food Microbiology* 2016; 217: 49–58. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.011
- [37] Kalkan S. *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 inactivation by using methylcellulose films containing encapsulated bacteriophages. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2018; 42(5): 480–485. doi.org/10.3906/vet-1804-10
- [38] Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological Reviews* 1991; 55(3): 476–511.
- [39] Bhunia AK. *Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis*. Springer, New York; 2018. doi.org/10.1007/978-0-387-74537-4
- [40] Ryser ET, Marth E. *Listeria: Listeriosis, and Food Safety*. CRC Press; 1999.
- [41] Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2016; 100(12): 5273–5287. doi.org/10.1007/s00253-016-7552-2
- [42] de Noordhout CM, Devleeschauwer B, Angulo FJ, Verbeke G, Haagsma J, Kirk M, ve diğ. The global burden of listeriosis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2014; 14(11): 1073–1082. doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70870-9
- [43] Blackburn CDW, McClure PJ. *Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis and control: Second Edition*. *Foodborne Pathogens: Hazards, Risk Analysis and Control: Second Edition*. Woodhead Publishing; 2009. doi.org/10.1533/9781845696337

- [44] Halkman AK. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Genişletilmiş. Baskı: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları; 2005.
- [45] Murray E, Webb RA, Swann M. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leukocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. The Journal of Pathology and Bacteriology 1926; 29: 407–439.
- [46] McLauchlin J. *Listeria monocytogenes*, recent advances in the taxonomy and epidemiology of listeriosis in humans. Journal of Applied Bacteriology 1987; 63(1): 1–11. doi.org/10.1111/j.1365-2672.1987.tb02411.x
- [47] Pirie JHH. A new disease of veld rodents. “Tiger River disease.” South African Institute for Medical Research 1927; 3: 163–186.
- [48] Pirie JHH. *Listeria*: Change of name for a genus of bacteria. Nature 1940; 145(3668): 264. doi.org/10.1038/145264a0
- [49] Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bacteriological reviews 1966; 30(2): 309–382. doi.org/10.1128/membr.30.2.309-382.1966
- [50] Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. Veterinary Journal 1997; 153(1): 9–29. doi.org/10.1016/S1090-0233(97)80005-6
- [51] McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: A review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. International Journal of Food Microbiology 2004; 92(1): 15–33. doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00326-X
- [52] Seeliger HPR, Langer B. Serological analysis of the genus *Listeria*. Its values and limitations. International Journal of Food Microbiology 1989; 8(3): 245–248. doi.org/10.1016/0168-1605(89)90020-2

- [53] Jamali H, Chai LC, Thong KL. Detection and isolation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods with various selective culture media. *Food Control* 2013; 32(1): 19–24. doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.033
- [54] Huss HH, Jørgensen LV, Vogel BF. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 62(3): 267–274. doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00347-0
- [55] E.F.S.A. (European Food Safety Authority) The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 2016; 14(12): e04634. doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4634
- [56] Türk Gıda Koteksi Mikrobiyolojik Kriterler. 2011. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm>
- [57] Gudbjörnsdóttir B, Suihko ML, Gustavsson P, Thorkelsson G, Salo S, Sjöberg AM, ve diğ. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology* 2004; 21(2): 217–225. doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00012-1
- [58] Pohl AM, Pouillot R, Bazaco MC, Wolpert BJ, Healy JM, Bruce BB, ve diğ. Differences among incidence rates of invasive Listeriosis in the U.S. FoodNet Population by age, sex, race/ethnicity, and pregnancy status, 2008-2016. *Foodborne Pathogens and Disease* 2019; 16(4): 290–297. doi.org/10.1089/fpd.2018.2548
- [59] Scobie A, Kanagarajah S, Harris RJ, Byrne L, Amar C, Grant K, ve diğ. Mortality risk factors for listeriosis – A 10 year review of non-pregnancy associated cases in England 2006–2015. *Journal of Infection* 2019; 78(3): 208–214. doi.org/10.1016/j.jinf.2018.11.007

- [60] Abdollahzadeh E, Ojagh SM, Hosseini H, Irajian G, Ghaemi EA. Prevalence and molecular characterization of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. *Lwt* 2016; 73: 205–211. doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.020
- [61] Pontello M, Guaita A, Sala G, Cipolla M, Gattuso A, Sonnessa M, ve diğ. *Listeria monocytogenes* serotypes in human infections (Italy, 2000-2010). *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita* 2012; 48(2): 146–150. doi.org/10.4415/ANN_12_02_07
- [62] E.F.S.A. (European Food Safety Authority). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 2014; 12(2): 3547. doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3547
- [63] E.F.S.A. (European Food Safety Authority) The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA Journal* 2011; 9(3): 2090. doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2090
- [64] Fan Z, Xie J, Li Y, Wang H. Listeriosis in mainland China: A systematic review. *International Journal of Infectious Diseases* 2019; 81: 17–24. doi.org/10.1016/j.ijid.2019.01.007
- [65] Gillesberg Lassen S, Ethelberg S, Björkman JT, Jensen T, Sørensen G, Kvistholm Jensen A, ve diğ. Two listeria outbreaks caused by smoked fish consumption—using whole-genome sequencing for outbreak investigations. *Clinical Microbiology and Infection* 2016; 22(7): 620–624. doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.017
- [66] Takahashi H, Kashimura M, Miya S, Kuramoto S, Koiso H, Kuda T, ve diğ. Effect of paired antimicrobial combinations on *Listeria monocytogenes* growth inhibition in ready-to-eat seafood products. *Food Control* 2012; 26(2): 397–400. doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.005

- [67] Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Mahzounieh M. Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. *Food Control* 2013; 34(2): 630–636. doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.015
- [68] Laciari AL, De Centorbi ONP. *Listeria* species in seafood: Isolation and characterization of *Listeria* spp. from seafood in San Luis, Argentina. *Food Microbiology* 2002; 19(6): 645–651. doi.org/10.1006/fmic.2002.0454
- [69] Oravcová K, Trnčíková T, Kuchta T, Kaclíková E. Limitation in the detection of *Listeria monocytogenes* in food in the presence of competing *Listeria innocua*. *Journal of Applied Microbiology* 2008; 104(2): 429–437. doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03554.x
- [70] Gambarin P, Magnabosco C, Losio MN, Pavoni E, Gattuso A, Arcangeli G, ve diğ. *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Seafood and Potential Hazards for the Consumers. d'ettorre G (ed.) *International Journal of Microbiology* 2012; 497635. doi.org/10.1155/2012/497635
- [71] Baños A, García-López JD, Núñez C, Martínez-Bueno M, Maqueda M, Valdivia E. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in fish by enterocin AS-48 and *Listeria* lytic bacteriophage P100. *Lwt* 2016; 66: 672–677. doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.025
- [72] F.D.A. (Food and Drug Administration) Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. 2003.
- [73] Gümüştaş A. Laktik asit bakterileri ve bakteriyofajlarının çeşitli kaynaklardan izolasyonu ve karakterizasyonu (doktora tezi). Ankara: Ankara Üniversitesi. 2015. https://tez.yok.gov.tr/
- [74] Kutter E, Sulakvelidze A. *Bacteriophages: Biology and Applications*. CRC Press; 2005.

- [75] Chibeu A. Bacteriophages in food safety. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education 2013; 1041–1052. <http://www.formatex.info/microbiology4/vol2/1041-1052.pdf>
- [76] Saygılı D, Karagözlü C. Bakteriyofaj enkapsülasyonu ve potansiyel uygulamaları. Gıda / The Journal of Food 2017; 42(1): 58–66. doi.org/10.15237/gida.gd16055
- [77] Ergin F, Yıldız G, Çomak Göçer EM, Küçükçetin A. Bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak kullanımını. Akademik Gıda 2017; 15(2): 172–181. doi.org/10.24323/akademik-gida.333674
- [78] Aydoğan DY HH. Bakteriyofaj tedavisi. tlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 2016; 27(1): 38–47.
- [79] Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyama J, Sakurai S, Ujihara T, Kuroda M, ve diğ. Bacteriophage therapy: A revitalized therapy against bacterial infectious diseases. Journal of Infection and Chemotherapy 2005; 11(5): 211–219. doi.org/10.1007/s10156-005-0408-9
- [80] Kazi M, Annapure US. Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens. Journal of Food Science and Technology 2016; 53(3): 1355–1362. doi.org/10.1007/s13197-015-1996-8
- [81] Brussow H KE. Phage ecology. In: Bacteriophages, Biology and Applications. CRC Press; 2005. p. 129–164.
- [82] Borysowski J, Miğdzybrodzki R GA. Phage Therapy: Current Research and Applications. Caister Academic Press Norfolk; 2014.
- [83] Sabour PM, Griffiths MV (Ed). Bacteriophages in the control of food and waterborne pathogens. American Society for Microbiology Press; 2010.
- [84] Ackermann HW. Phage classification and characterization. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). Bacteriophages. Humana Press; 2009. doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_13

- [85] Guttman B, Raya R KE. Basic Phage Biology. In: Kutter E, Sulakvelidze A (eds) Bacteriophages: Biology and Applications 2005.
- [86] Ackermann HW, Prangishvili D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. Archives of Virology 2012; 157(10): 1843–1849. doi.org/10.1007/s00705-012-1383-y
- [87] Molineux IJ. No syringes please, ejection of phage T7 DNA from the virion is enzyme driven. Molecular Microbiology 2001; 40(1): 1–8. doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02357.x
- [88] Martínez B, Obeso JM, Rodríguez A, García P. Nisin-bacteriophage crossresistance in *Staphylococcus aureus*. International Journal of Food Microbiology 2008; 122(3): 253–258. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.01.011
- [89] E.F.S.A. (European Food Safety Authority) Evaluation of the safety and efficacy of Listex™ P100 for reduction of pathogens on different ready-to-eat (RTE) food products. EFSA Journal 2016; 14(8). doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4565
- [90] Reinhard RG, Kalinowski RM, Bodnaruk PW, Eifert JD, Boyer RR DS. Practical application of bacteriophage in food manufacturing facilities for the control of *Listeria* spp. Journal of Food Safety 2020; e12871. doi.org/doi.org/10.3390/v11110977
- [91] Zhou C, Zhu M, Wang Y, Yang Z, Ye M, Wu L, ve diğ. Broad host range phage vB-LmoM-SH3-3 reduces the risk of *Listeria* contamination in two types of ready-to-eat food. Food Control 2020; 108: 106830. doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106830
- [92] Axelsson L, Bjerke GA, McLeod A, Berget I, Holck AL. Growth behavior of *Listeria monocytogenes* in a traditional norwegian fermented fish product (Rakfisk), and its inhibition through bacteriophage addition. Foods 2020; 9(2): 119. doi.org/10.3390/foods9020119

- [93] Lewis R, Bolocan AS, Draper LA, Paul Ross R, Hill C. The effect of a commercially available bacteriophage and bacteriocin on *Listeria monocytogenes* in coleslaw. *Viruses* 2019; 11(11): 12871. doi.org/10.3390/v11110977
- [94] Çufaoğlu G. Piliç boyun derisinde *Listeria monocytogenes* prevalansının belirlenerek izolatların karakterizasyonu ve litik bakteriyofajlar ile piliç but gıda modelinde biyokontrolünün araştırılması (doktora tezi). Kayseri: Erciyes Üniversitesi; 2018. <https://tez.yok.gov.tr/>
- [95] Komora N, Bruschi C, Ferreira V, Maciel C, Brandão TRS, Fernandes R, ve diğ. The protective effect of food matrices on *Listeria* lytic bacteriophage P100 application towards high pressure processing. *Food Microbiology* 2018; 76: 416–425. doi.org/10.1016/j.fm.2018.07.002
- [96] Yang S, Sadekuzzaman M, Ha S Do. Treatment with lauric arginate ethyl ester and commercial bacteriophage, alone or in combination, inhibits *Listeria monocytogenes* in chicken breast tissue. *Food Control* 2017; 78: 57–63. doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.021
- [97] Lee S, Kim MG, Lee HS, Heo S, Kwon M, Kim GB. Isolation and characterization of *Listeria* phages for control of growth of *Listeria monocytogenes* in milk. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 2017; 37(2): 320–328. doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.2.320
- [98] Figueiredo ACL, Almeida RCC. Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat sliced pork ham. *Brazilian Journal of Microbiology* 2017; 48(4): 724–729. doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.010
- [99] Sağlam, S. Tavuk işletmelerinden ve tavuk etlerinden izole edilen *Listeria* Spp'ler üzerine LISTEX™ P100 bakteriyofajının etkisi. (yüksek lisans tezi) Adana: Çukurova Üniversitesi; 2014. <https://tez.yok.gov.tr/>

- [100] Silva ENG, Figueiredo ACL, Miranda FA, Almeida RC de C. Control of *Listeria monocytogenes* growth in soft cheeses by bacteriophage P100. *Brazilian Journal of Microbiology* 2014; 45(1): 11–16. doi.org/10.1590/S1517-83822014000100003
- [101] Guenther S, Loessner MJ. Bacteriophage biocontrol of *Listeria monocytogenes* on soft ripened white mold and red-smear cheeses . *Bacteriophage* 2011; 1(2): 94–100. doi.org/10.4161/bact.1.2.15662
- [102] Holck A, Berg J. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cooked ham by virulent bacteriophages and protective cultures. *Applied and Environmental Microbiology* 2009; 75(21): 6944–6946. doi.org/10.1128/AEM.00926-09
- [103] Hagens S, Loessner M. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 2010; 11(1): 58–68. doi.org/10.2174/138920110790725429
- [104] Murray AG, Jackson GA. Viral dynamics: a model of the effects of size, shape, motion and abundance of single-celled planktonic organisms and other particles. *Marine Ecology Progress Series* 1992; 89(2–3): 103–116. doi.org/10.3354/meps089103
- [105] Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J. Bacteriophages and their role in food safety. *International Journal of Microbiology* 2012; 2012: 1–13. doi.org/10.1155/2012/863945
- [106] Fischetti VA. Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control Gram-positive pathogens. *International Journal of Medical Microbiology* 2010; 300(6): 357–362. doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.002
- [107] Ganeshan SD, Hosseinidoust Z. Phage therapy with a focus on the human microbiota. *Antibiotics* 2019; 8(3): 131. doi.org/10.3390/antibiotics8030131
- [108] Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics* 2017; 8(3): 162. doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162

- [109] Strauch E, Hammerl JA, Hertwig S. Bacteriophages: New tools for safer food? *Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 2007; 2(2): 138–143. doi.org/10.1007/s00003-007-0188-5
- [110] Adeyeye SAO. Smoking of fish: a critical review. *Journal of Culinary Science and Technology* 2019; 17(6): 559–575. doi.org/10.1080/15428052.2018.1495590
- [111] Boziaris IS. *Seafood Processing: Technology, Quality and Safety*. John Wiley & Sons; 2013.
- [112] Oğur SD. Dumanlanmış balıkların kalite ve raf ömrü üzerine yenilebilir protein film kaplamanın etkisi (doktora tezi). İstanbul. İstanbul Üniversitesi; 2012. <https://tez.yok.gov.tr/>
- [113] Fellows P, Hampton AEG. *Small-scale Food Processing. A Guide to Appropriate Equipment*, Intermediate Technology Publications; 1992.
- [114] Varlet V, Prost C, Serot T. Volatile aldehydes in smoked fish: Analysis methods, occurrence and mechanisms of formation. *Food Chemistry* 2007; 105(4): 1536–1556. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.041
- [115] Simon R, de la Calle B, Palme S, Meier D, Anklam E. Composition and analysis of liquid smoke flavouring primary products. *Journal of Separation Science* 2005; 28(9–10): 871–882. doi.org/10.1002/jssc.200500009
- [116] Birkeland S, Skåra T. Cold smoking of atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets with smoke condensate - An alternative processing technology for the production of smoked salmon. *Journal of Food Science* 2008; 73(6): 326–332. doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00850.x
- [117] Alcicek Z, Atar HH. The effects of salting on chemical quality of vacuum packed liquid smoked and traditional smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during chilled storage. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2010; 9(22): 2778–2783. doi.org/10.3923/javaa.2010.2778.2783

- [118] Varlık C, Mol S, Baygar T TŞ. Su Ürünleri İşleme Teknolojisinin Temelleri. İstanbul Üniversitesi Yayını; 2007.
- [119] Espe M, Nortvedt R, Lie Ø, Hafsteinsson H. Atlantic salmon (*Salmo salar*, L) as raw material for the smoking industry. II: Effect of different smoking methods on losses of nutrients and on the oxidation of lipids. Food Chemistry 2002; 77(1): 41–46. doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00320-X
- [120] Hultmann L, Rørå AMB, Steinsland I, Skåra T, Rustad T. Proteolytic activity and properties of proteins in smoked salmon (*Salmo salar*) - Effects of smoking temperature. Food Chemistry 2004; 85(3): 377–387. doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.014
- [121] Lund KE, Nielsen HH. Proteolysis in salmon (*Salmo salar*) during cold storage; effects of storage time and smoking process. Journal of Food Biochemistry 2001; 25(5): 379–395. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2001.tb00747.x
- [122] Cardinal M, Knockaert C, Torrissen O, Sigurgisladottir S, Morkore T, Thomassen M, ve diğ. Relation of smoking parameters to the yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). Food Research International 2001; 34(6): 537–550. doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00069-2
- [123] Birkeland S, Haarstad I, Bjerkeng B. Effects of salt-curing procedure and smoking temperature on astaxanthin stability in smoked salmon. Journal of Food Science 2004; 69(4): 198–203. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb06347.x
- [124] Çoban ÖE. Bazı esansiyel yağların tütsülenmiş ve vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrüne etkisi (doktora tezi). Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2010. <https://tez.yok.gov.tr/>
- [125] Chiralt A, Fito P, Barat JM, Andrés A, González-Martínez C, Escriche I, ve diğ. Use of vacuum impregnation in food salting process. Journal of Food Engineering 2001; 49(2–3): 141–151. doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00219-3

- [126] Duman M. Tütsülenmiş Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio L.*) Filetolarında Bazı Duyusal ve Kimyasal Özelliklerin Belirlenmesi (doktora tezi). Elazığ Fırat Üniversitesi; 2004. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- [127] Koral S, Köse S, Tufan B. Investigating the quality changes of raw and hot smoked garfish (*Belone belone euxini*, Günther, 1866) at ambient and refrigerated temperatures. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2009; 9(1): 53–58.
- [128] Koral S, Köse S, Tufan B. The effect of storage temperature on the chemical and sensorial quality of hot smoked Atlantic bonito (*Sarda sarda*, Bloch, 1838) packed in aluminium foil. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2010; 10(4): 439–443. doi.org/10.4194/trjfas.2010.0401
- [129] Kolsarici N, Özkaya Ö. Gökkuşuğu alabalığı (*Salmo gairdneri*) nın raf ömrü üzerine tütsüleme yöntemleri ve depolama sıcaklığının etkisi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 1998; 22(3): 273–284.
- [130] Alçiçek Z. Farklı oranlarda tuzlanarak sıcak tütsüleme ve sıvı tütsüleme teknikleri uygulanmış alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının vakum paketli ve buzdolabı koşullarında depolanmalarının karşılaştırılması olarak incelenmesi. (doktora tezi) Ankara: Ankara Üniversitesi; 2010. <https://tez.yok.gov.tr/>
- [131] Onay Ağırbaş D. Yetiştiriciliği yapılan karaca Mersin balığı (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt and Ratzenburg, 1833)' nın lakerda yapımına uygunluğu ve bazı kalite değişimlerinin belirlenmesi. (yüksek lisans tezi) Rize: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi; 2017; <https://tez.yok.gov.tr/>
- [132] Conde FJ, Afonso AM, González V, Ayala JH. Optimization of an analytical methodology for the determination of alkyl- and methoxy-phenolic compounds by HS-SPME in biomass smoke. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2006; 385(7): 1162–1171. doi.org/10.1007/s00216-006-0337-1

- [133] Varlet V, Serot T, Knockaert C, Cornet J, Cardinal M, Monteau F, ve diğ. Organoleptic characterization and PAH content of salmon (*Salmo salar*) fillets smoked according to four industrial smoking techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2007; 87(5): 847–854. doi.org/10.1002/jsfa.2786
- [134] Martínez O, Salmerón J, Guillén MD, Casas C. Characteristics of dry- and brine-salted salmon later treated with liquid smoke flavouring. *Agricultural and Food Science* 2011; 20(3): 217–227. doi.org/10.2137/145960611797471543
- [135] Sérot T, Lafficher C. Optimisation of solid-phase microextraction coupled to gas chromatography for determination of phenolic compounds in smoked herring. *Food Chemistry* 2003; 82(4): 513–519. doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00512-5
- [136] Varlet V, Knockaert C, Prost C, Serot T. Comparison of odor-active volatile compounds of fresh and smoked salmon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54(9): 3391–3401. doi.org/10.1021/jf053001p
- [137] Çaklı Ş. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi; 2007.
- [138] Erkan N. Dumanlama teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Yayınları No 2004; 4465: 233–273.
- [139] Heinitz ML, Johnson JM. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. *Journal of Food Protection* 1998; 61(3): 318–323. doi.org/10.4315/0362-028X-61.3.318
- [140] Dominguez C, Gomez I, Zumalacarregui J. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in smoked fish and pâté sold in Spain. *Journal of Food Protection* 2001; 64(12): 2075–2077. doi.org/10.4315/0362-028X-64.12.2075
- [141] Nakamura H, Hatanaka M, Ochi K, Nagao M, Ogasawara J, Hase A, ve diğ. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka City, Japan. *International Journal of Food Microbiology* 2004; 94(3): 323–328. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.010

- [142] Beaufort A, Rudelle S, Gnanou-Besse N, Toquin MT, Kerouanton A, Bergis H, ve diğ. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Letters in Applied Microbiology* 2007; 44(4): 406–411. doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02096.x
- [143] Meloni D, Galluzzo P, Mureddu A, Piras F, Griffiths M, Mazzette R. *Listeria monocytogenes* in RTE foods marketed in Italy: Prevalence and automated EcoRI ribotyping of the isolates. *International Journal of Food Microbiology* 2009; 129(2): 166–173. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.014
- [144] Uyttendaele M, Busschaert P, Valero A, Geeraerd AH, Vermeulen A, Jacxsens L, ve diğ. Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007. *International Journal of Food Microbiology* 2009; 133(1–2): 94–104. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.002
- [145] Acargil M. Sıcak dumanlanmış ve vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalık filetolarında *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi (yüksek lisans tezi) Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2015. doi.org/https://tez.yok.gov.tr/
- [146] Doménech E, Jimenez -Belenguer A, Amoros JA, Ferrus MA, Escriche I. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. *Food Control* 2015; 47: 120–125. doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.043
- [147] Kramarenko T, Roasto M, Keto-Timonen R, Mäesaar M, Meremäe K, Kuningas M, ve diğ. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat vacuum and modified atmosphere packaged meat and fish products of Estonian origin at retail level. *Food Control* 2016; 67: 48–52. doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.02.034
- [148] Wiczorek K, Osek J. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology* 2017; 64: 164–171. doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.022

- [149] Rørvik LM, Yndestad M, Skjerve E. Growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed, smoked salmon, during storage at 4° C. *International Journal of Food Microbiology* 1991; 14(2): 111–117. doi.org/10.1016/0168-1605(91)90097-9
- [150] Nilsson L, Henrik Huss H, Gram L. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere. *International Journal of Food Microbiology* 1997; 38(2–3): 217–227. doi.org/10.1016/S0168-1605(97)00111-6
- [151] Katla T, Møretrø T, Aasen IM, Holck A, Axelsson L, Naterstad K. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon by addition of sakacin P and/or live *Lactobacillus sakei* cultures. *Food Microbiology* 2001; 18(4): 431–439. doi.org/10.1006/fmic.2001.0420
- [152] Neetoo H, Ye M, Chen H, Joerger RD, Hicks DT, Hoover DG. Use of nisin-coated plastic films to control *Listeria monocytogenes* on vacuum-packaged cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 122(1–2): 8–15. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.043
- [153] Vogel BF, Ng YY, Hyldig G, Mohr M, Gram L. Potassium lactate combined with sodium diacetate can inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed cold-smoked salmon and has no adverse sensory effects. *Journal of Food Protection* 2006; 69(9): 2134–2142. doi.org/10.4315/0362-028X-69.9.2134
- [154] Ye M, Neetoo H, Chen H. Effectiveness of chitosan-coated plastic films incorporating antimicrobials in inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 127(3): 235–240. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.012
- [155] Shin JH, Kang DH, Rasco B. Effect of different packaging methods and storage temperatures on the growth of *Listeria monocytogenes* in raw and hot smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 2008; 17(2): 137–155. doi.org/10.1080/10498850801937125

- [156] Concha-Meyer A, Schöbitz R, Brito C, Fuentes R. Lactic acid bacteria in an alginate film inhibit *Listeria monocytogenes* growth on smoked salmon. *Food Control* 2011; 22(3–4): 485–489. doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.032
- [157] Aymerich T, Rodríguez M, Garriga M, Bover-Cid S. Assessment of the bioprotective potential of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cold-smoked salmon stored at 8 °C. *Food Microbiology* 2019; 83: 64–70. doi.org/10.1016/j.fm.2019.04.011
- [158] Ekonomou SI, Bulut S, Karatzas KAG, Boziaris IS. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in raw and hot smoked trout fillets by high hydrostatic pressure processing combined with liquid smoke and freezing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2020; 64: 102427. doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102427
- [159] Okcu Z, Yavuz Y, Kerse S. Edible film and coating applications in fruits and vegetables. *Alinteri Zirai Bilimler Dergisi* 2018; 33(2): 221–226. doi.org/10.28955/alinterizbd.368362
- [160] Bourtoom T. Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal* 2008; 15(3): 237–248.
- [161] Dehghani S, Hosseini SV, Regenstein JM. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry* 2018; 240: 505–513. doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034
- [162] Han, J, Gennadios A. Edible films and coatings: a review. In: Han J; Gennadios A. (ed.) *Innovations in Food Packaging* London: Elsevier Science and Technology; 2005. p. 240–262.
- [163] Sánchez-Ortega I, García-Almendárez BE, Santos-López EM, Amaro-Reyes A, Barboza-Corona JE, Regalado C. Antimicrobial edible films and coatings for meat and meat products preservation. *Scientific World Journal* 2014; 2014. doi.org/10.1155/2014/248935

- [164] Li T, Li J, Hu W, Li X. Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. Food Chemistry 2013; 138(2–3): 821–826. doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.092
- [165] Arfat YA, Benjakul S, Vongkamjan K, Sumpavapol P, Yarnpakdee S. Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish protein isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil. Journal of Food Science and Technology 2015; 52(10): 6182–6193. doi.org/10.1007/s13197-014-1706-y
- [166] Min BJ, Oh JH. Antimicrobial activity of catfish gelatin coating containing origanum (*Thymus capitatus*) oil against gram-negative pathogenic bacteria. Journal of Food Science 2009; 74(4): 143–148. doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01115.x
- [167] Qiu X, Chen S, Liu G YQ. Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. Food Chemistry 2014; 162: 156–160. doi.org/doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.037
- [168] Senturk Parreidt T, Müller K, Schmid M. Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications. Foods (Basel, Switzerland) 2018; 7(10). doi.org/10.3390/foods7100170
- [169] Dawson PL, Carl GD, Acton JC, Han IY. Effect of lauric acid and nisin-impregnated soy-based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. Poultry Science 2002; 81(5): 721–726. doi.org/10.1093/ps/81.5.721
- [170] Eswaranandam S, Hettiarachchy NS, Johnson MG. Antimicrobial activity of citric, lactic, malic, or tartaric acids and nisin-incorporated soy protein film against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara*. Journal of Food Science 2004; 69(3): 79–84. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13375.x

- [171] Oussalah M, Caillet S, Salmiéri S, Saucier L, Lacroix M. Antimicrobial effects of alginate-based films containing essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* present in bologna and ham. *Journal of Food Protection* 2007; 70(4): 901–908. doi.org/10.4315/0362-028X-70.4.901
- [172] Marcos B, Aymerich T, Monfort JM, Garriga M. Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham. *International Journal of Food Microbiology* 2007; 120(1–2): 152–158. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.003
- [173] Beverly RL, Janes ME, Prinyawiwatkula W, No HK. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology* 2008; 25(3): 534–537. doi.org/10.1016/j.fm.2007.11.002
- [174] Min BJ, Han IY, Dawson PL. Antimicrobial gelatin films reduce *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. *Poultry Science* 2010; 89(6): 1307–1314. doi.org/10.3382/ps.2009-00451
- [175] Fernandez-Saiz P, Soler C, Lagaron JM, Ocio MJ. Effects of chitosan films on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in laboratory media and in fish soup. *International Journal of Food Microbiology* 2010; 137(2–3): 287–294. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.016
- [176] Jiang Z, Neetoo H, Chen H. Control of *Listeria Monocytogenes* on cold-smoked salmon using chitosan-based antimicrobial coatings and films. *Journal of Food Science* 2011; 76(1): M22–M26. doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01925.x
- [177] Vonasek E, Le P, Nitin N. Encapsulation of bacteriophages in whey protein films for extended storage and release. *Food Hydrocolloids* 2014; 37: 7–13. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.017

- [178] Neetoo H, Mahomoodally F. Use of antimicrobial films and edible coatings incorporating chemical and biological preservatives to control growth of *Listeria monocytogenes* on cold smoked salmon. *BioMed Research International* 2014; (2014). doi.org/10.1155/2014/534915
- [179] Jovanović GD, Klaus AS, Nikšić MP. Actividad antimicrobiana de coberturas y películas de quitosano contra *Listeria monocytogenes* en rábano negro. *Revista Argentina de Microbiología* 2016; 48(2): 128–136. doi.org/10.1016/j.ram.2016.02.003
- [180] Alves D, Cerqueira MA, Pastrana LM, Sillankorva S. Entrapment of a phage cocktail and cinnamaldehyde on sodium alginate emulsion-based films to fight food contamination by *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*. *Food Research International* 2020; 128: 108791. doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108791
- [181] Alves D, Marques A, Milho C, Costa MJ, Pastrana LM, Cerqueira MA, ve diğ. Bacteriophage ϕ IBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. *International Journal of Food Microbiology* 2019; 291: 121–127. doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.026
- [182] de Dicastillo CL, Settler-Ramírez L, Gavara R, Hernández-Muñoz P, Carballo GL. Development of biodegradable films loaded with phages with antilisterial properties. *Polymers* 2021; 13(3): 1–15. doi.org/10.3390/polym13030327
- [183] Weng S, López A, Sáez-Orviz S, Marcet I, García P, Rendueles M, ve diğ. Effectiveness of bacteriophages incorporated in gelatine films against *Staphylococcus aureus*. *Food Control* 2021; 121: 107666. doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107666
- [184] Anonim. EN ISO 11290-1 Microbiology of food and animal feedingstuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Part 1: Detection. International Organisation for Standardisation. 1997.

- [185] ISO 2017. EN ISO 11290-1:2017-05. Microbiology of Food Chain- Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Detection Method, Part I. Geneva: International Organization for Standardization. [Erişim tarihi: 25.10.2021] <https://www.iso.org/standard/60313.html>
- [186] Halkman AK. Gıda mikrobiyolojisi II ders notları. Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 89s. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü; 2013.
- [187] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT W ST. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams&Wilkins; 1994.
- [188] Akhtar M, Viazis S, Christensen K, Kraemer P, Diez-Gonzalez F. Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. Food Control 2017; 75: 108–115. doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.035
- [189] Akpınar M. *Salmonella* ile bakteriyofajlarının çeşitli köy kümes folluklarından izolasyonu ve karakterizasyonu (yüksek lisans tezi) Ankara: Ankara Üniversitesi; 2020. <https://tez.yok.gov.tr/>
- [190] şanlıbaba P, Uymaz Tezel B. Isolation of phages infecting *Listeria monocytogenes*. Gıda / The Journal of Food 2019; 44: 463–471. doi.org/10.15237/gida.gd19036
- [191] Brachkova MI, Duarte A, Pinto JF. Alginate films containing viable *Lactobacillus plantarum*: Preparation and in vitro evaluation. An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists 2012; 13(2): 357–363. doi.org/10.1208/s12249-012-9753-z
- [192] Gouvêa DM, Mendonça RCS, Lopez MES, Batalha LS. Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products. LWT - Food Science and Technology 2016; 67: 159–166. doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.043

- [193] Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, Dawoud TM, Sholkamy EN, Bakri MM. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2018; 25(2): 361–366. doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004
- [194] Egido JE, Costa AR, Aparicio-Maldonado C, Haas P-J, Brouns SJJ. Mechanisms and clinical importance of bacteriophage resistance. *FEMS Microbiology Reviews* 2021; (June): 1–16. doi.org/10.1093/femsre/fuab048
- [195] Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature Reviews Microbiology* 2010; 8(5): 317–327. doi.org/10.1038/nrmicro2315
- [196] Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A. Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses* 2018; 10(4): 205. doi.org/10.3390/v10040205
- [197] Aygun O, Pehlivanlar S. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. *Food Control* 2006; 17(8): 676–679. doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.09.014
- [198] Jalali M, Abedi D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 122(3): 336–340. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.082
- [199] Parihar VS, Barbuddhe SB, Danielsson-Tham ML, Tham W. Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods. *Food Control* 2008; 19(6): 566–569. doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.06.009
- [200] Yamazaki K, Tateyama T, Kawai Y, Inoue N. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in retail fish and processed seafood products in Japan. *Fisheries Science* 2000; 66(6): 1191–1193. doi.org/10.1046/j.1444-2906.2000.00191.x

- [201] Kafa B, Kılınç B. Microbiological quality of frozen black mussels (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) purchased from markets in the İzmir Province of Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2021; 38(2): 167–172. doi.org/10.12714/egejfas.38.2.05
- [202] Gurler Z, Pamuk S, Yildirim Y, Ertas N. The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 2015; 196: 79–83. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.021
- [203] Gözütok E, Aydın A. Presence and virulence characterization of *Listeria monocytogenes* from fish samples in Black Sea, Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2022; doi.org/10.33988/auvfd.
- [204] Kişla D, Üzgün Y, Demirhisar MA. Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in a traditional hot-smoked rainbow trout processing plant in Turkey. *International Journal of Food Science and Technology* 2007; 42(11): 1376–1381. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01620.x
- [205] Akpolat NÖ, Elci S, Atmaca S, Gül K. *Listeria monocytogenes* in products of animal origin in Turkey. *Veterinary Research Communications* 2004; 28(7): 561–567. doi.org/10.1023/B:VERC.0000042872.07616.18
- [206] Terzi G, Gücükoğlu A, Çadirci Ö, Uyanık T, Alişarlı M. Serotyping and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Samsun, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2015; 39(2): 211–217. doi.org/10.3906/vet-1407-15
- [207] Şanlıbaba P, Tezel BU, Çakmak GA. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Turkey. *Journal of Food Quality* 2018; 2018. doi.org/10.1155/2018/7693782

- [208] Abdollahzadeh E, Ojagh SM, Hosseini H, Ghaemi EA, Irajian G, Naghizadeh Heidarlo M. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood and humans in Iran. *Microbial Pathogenesis* 2016; 100: 70–74. doi.org/10.1016/j.micpath.2016.09.012
- [209] Handa S, Kimura B, Takahashi H, Koda T, Hisa K, Fujii T. Incidence of *Listeria monocytogenes* in raw seafood products in Japanese retail stores. *Journal of Food Protection* 2005; 68(2): 411–415. doi.org/10.4315/0362-028X-68.2.411
- [210] Miya S, Takahashi H, Ishikawa T, Fujii T, Kimura B. Risk of *Listeria monocytogenes* contamination of raw ready-to-eat seafood products available at retail outlets in Japan. *Applied and Environmental Microbiology* 2010;76(10): 3383–3386. doi.org/10.1128/AEM.01456-09
- [211] Hagens S, Loessner MJ. Phages of *Listeria* offer novel tools for diagnostics and biocontrol. *Frontiers in Microbiology* 2014;5: 159. doi.org/10.3389/fmicb.2014.00159
- [212] Maqbool A, Rahman S, Naveed A, Zaib W. Isolation and evaluation of bacteriophage lysate specific for *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Biosciences* 2018; 13(4): 267–277. doi.org/10.12692/ijb/13.4.267-277
- [213] Stone E, Lhomet A, Neve H, Grant IR, Campbell K, McAuliffe O. Isolation and Characterization of *Listeria monocytogenes* Phage vB_LmoH_P61, a Phage With Biocontrol Potential on Different Food Matrices. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 2020; 4: 205. doi.org/10.3389/fsufs.2020.521645
- [214] Denes T, Vongkamjan K, Ackermann HW, Moreno Switt AI, Wiedmann M, den Bakker HC. Comparative genomic and morphological analyses of *Listeria* phages isolated from farm environments. *Applied and Environmental Microbiology* 2014; 80(15): 4616–4625. doi.org/10.1128/AEM.00720-14

- [215] Vongkamjan K, Switt AM, den Bakker HC, Fortes ED, Wiedmann M. Silage collected from dairy farms harbors an abundance of listeriaphages with considerable host range and genome size diversity. *Applied and Environmental Microbiology* 2012; 78(24): 8666–8675. doi.org/10.1128/AEM.01859-12
- [216] Schmuki MM, Erne D, Loessner MJ, Klumpp J. Bacteriophage P70: Unique Morphology and Unrelatedness to Other *Listeria* Bacteriophages. *Journal of Virology* 2012; 86(23): 13099–13102. doi.org/10.1128/jvi.02350-12
- [217] Vongkamjan K, Roof S, Stasiewicz MJ, Wiedmann M. Persistent *Listeria monocytogenes* subtypes isolated from a smoked fish processing facility included both phage susceptible and resistant isolates. *Food Microbiology* 2013; 35(1): 38–48. doi.org/10.1016/j.fm.2013.02.012
- [218] Vongkamjan K, Benjakul S, Kim Vu HT, Vuddhakul V. Longitudinal monitoring of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* phages in seafood processing environments in Thailand. *Food Microbiology* 2017; 66: 11–19. doi.org/10.1016/j.fm.2017.03.014
- [219] Kim JW, Siletzky RM, Kathariou S. Host ranges of *Listeria*-specific bacteriophages from the Turkey processing plant environment in the United States. *Applied and Environmental Microbiology* 2008; 74(21): 6623–6630. doi.org/10.1128/AEM.01282-08
- [220] Arachchi GJG, Mutukumira AN, Dias-Wanigasekera BM, Cruz CD, McIntyre L, Young J, ve diğ. Characteristics of three listeriaphages isolated from New Zealand seafood environments. *Journal of Applied Microbiology* 2013; 115(6): 1427–1438. doi.org/10.1111/jam.12332
- [221] Nihal Y, Şenay B. Prevalence of *listeria*, *aeromonas*, and *vibrio* species in fish used for Human Consumption in Turkey. *Journal of Food Protection* 2010; 73(2): 380–384. doi.org/10.4315/0362-028x-73.2.380

- [222] Loessner MJ, Busse M. Bacteriophage typing of *Listeria* species. *Applied and Environmental Microbiology* 1990; 56(6): 1912–1918. doi.org/10.1128/aem.56.6.1912-1918.1990
- [223] Fister S, Robben C, Witte AK, Schoder D, Wagner M, Rossmanith P. Influence of environmental factors on phage-bacteria interaction and on the efficacy and infectivity of phage P100. *Frontiers in Microbiology* 2016; 7(JUL). doi.org/10.3389/fmicb.2016.01152
- [224] Colom J, Cano-Sarabia M, Otero J, Aríñez-Soriano J, Cortés P, MasPOCH D, ve diğ. Microencapsulation with alginate/CaCO₃: A strategy for improved phage therapy. *Scientific Reports* 2017; 7(1): 41441. doi.org/10.1038/srep41441
- [225] Moghtader F, Eğri S, Piskin E. Phages in modified alginate beads. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 2017; 45(2): 357–363. doi.org/10.3109/21691401.2016.1153485
- [226] Gutiérrez D, Rodríguez-Rubio L, Fernández L, Martínez B, Rodríguez A, García P. Applicability of commercial phage-based products against *Listeria monocytogenes* for improvement of food safety in Spanish dry-cured ham and food contact surfaces. *Food Control* 2017; 73: 1474–1482. doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.007
- [227] Dykes GA, Moorhead SM. Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against *Listeria monocytogenes* in broth but not in buffer or on raw beef. *International Journal of Food Microbiology* 2002; 73(1): 71–81. doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00710-3
- [228] Lasagabaster A, Jiménez E, Lehnerr T, Miranda-Cadena K, Lehnerr H. Bacteriophage biocontrol to fight *Listeria* outbreaks in seafood. *Food and Chemical Toxicology* 2020; 145: 111682. doi.org/10.1016/j.fct.2020.111682

Ekler

Ek A

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Konferans Bildirileri

1. Bildiri 1: Gündüz H, Öztürk F. Aljinat filmle kaplanmış tütsülenmiş alabalık filetolarında *Listeria monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine bakteriyofaj uygulamalarının etkisi. Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020, Çanakkale, Türkiye, (Sözlü bildiri).

Makaleler

1. Makale 1: Gündüz H, Öztürk F. Prevalence of *Listeria* spp. in seafood samples and control of *Listeria monocytogenes* with using LİSTEX™ P100 bacteriophage applications in smoked rainbow trout. Journal of Agricultural Sciences 2021; 27 (4): 493 – 499.

Projeler1. Proje 1: İKÇÜ BAP- (Proje No: 2017-TDR-FEBE-0036) Aljinat Filmle Kaplanmış Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında *Listeria monocytogenes* İnaktivasyonunda Bakteriofaj Kullanımı (14,993.33 TL)

Özgeçmiş

Adı Soyadı: Hatice Gündüz

Derece	Bölüm- Program	Üniversite	Yıl	GNO
Lisans	Su Ürünleri Fakültesi	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2008-2012	3,58/4
Y. Lisans	Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojileri ABD	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2012-2015	3,89/4
Doktora	Su Ürünleri ABD	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi	2016-2021	4,00/4

TEZ

Lisans Tezi:

Rigor mortis ve otoliz aşamalarındaki palamut balıklarından yapılan lakerdanın kalite değişimlerinin karşılaştırılması

•Yüksek Lisans Tezi:

Farklı yoğunluktaki ultrasonun vakum ambalajlanmış sardalya (*Sardina pilchardus*) balığının bazı kalite kriterleri üzerine etkisi

ALDIĞI DERECELER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi 2012 yılı fakülte 1.'liği (Su Ürünleri Fakültesi)

PROJELER

İKÇÜ BAP- (Proje No: 2021-GAP-SUÜF-0003) (Araştırmacı) Az Tuzlu Fermente Balık Sucuğu Üretiminde Starter Kültür Kullanımının Biyojen Amin Oluşumu ve Ürün Kalitesi Üzerine Etkisi (29,995.27 TL)

İKÇÜ BAP- (Proje No: 2017-TDR-FEBE-0036) (Araştırmacı) Aljinat Filmle Kaplanmış Tütsülenmiş Alabalık Filetolarında *Listeria monocytogenes* İnaktivasyonunda Bakteriofaj Kullanımı (14,993.33 TL)

İKÇÜ BAP- (Proje No: 2016-GAP-SUÜF-0018) (Araştırmacı) Vakum Paketli Pişirilen (Sous-Vide) Gökkuşuğu Alabalığında (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum, 1792) *L. Monocytogenes*'e Karşı Bazı Esansiyel Yağların ve Pişirme Sıcaklıklarının Birlikte Etkisi (45,490.74 TL)

TUBİTAK- (Proje No: 114R109) (Bursiyer) Farklı Yoğunluktaki Ses Dalgalarının Vakum Ambalajlanmış Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) Marinatının Rengine Ve Raf Ömrüne Etkisinin Belirlenmesi

TUBİTAK-15.11.2014 (Proje No: 114O356) (Bursiyer) Türkiye’de Marmara, Ege ve Akdeniz kıyılarındaki yerli akivades (*Ruditapes decussatus*) populasyonları ile istilacı Japon akivadesi populasyonlarının (*Ruditapes phileppinarium*) morfolojik ve genetik yapılarının incelenmesi

ÇOMU BAP- 08.12.2014-27.10.2015 (Proje No: FBA-2014-433) (Araştırmacı)

Farklı karışımlarla tuzlanarak sıvı tütsülenmiş ve vakum ambalajlanmış alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarında oluşan değişimlerin raf ömrü süresince incelenmesi

ÇOMU BAP- 17.11.2014-28.08.2015 (Proje No: FYL-2014-379) (Araştırmacı)

Farklı yoğunluktaki ultrasonun vakum ambalajlanmış sardalya (*Sardina pilchardus*) balığının bazı kalite kriterleri üzerine etkisi

ESERLER

A.Science Citiation Index Expanded (SCI-Expanded) Kapsamındaki Dergilerde

Yayınlanan Makaleler:

Gündüz H, Öztürk F. Prevalence of *Listeria* spp. in seafood samples and control of *Listeria monocytogenes* with using LİSTEX P100 bacteriophage applications in smoked rainbow trout. Journal of Agricultural Sciences 2021; 27 (4): 493 – 499.

Öztürk F, **Gündüz H**, Sürengil G. (2021). The effects of essential oils on inactivation of *Listeria monocytogenes* in Rainbow Trout cooked with sous-vide. Journal of Food Processing and Preservation 2021; e15878.

Öztürk F, Kalkan S, Tireli T, **Gündüz H**. The effects of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Leaf Extract on the microbial and chemical quality of Sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792) fish patties and shelf life modeling. Journal of Food Safety and Food Quality 2020; 72 (2): 29-58.

Öztürk F, **Gündüz H**. The effect of different drying methods on chemical composition, fatty acid, and amino acid profiles of sea cucumber (*Holothuria tubulosa* Gmelin, 1791). Journal of Food Processing and Preservation 2018; e13723.

Öztürk F, **Gündüz H**, Sürengil G. (2018). Effects of alginate based coatings with pomegranate peel extract on the microbial quality of mackerel fillets. Journal of Agricultural Sciences. 2018; 24 (4): 445-452.

B. Ulakbim Tr Dizin Kapsamında Yayımlanmış Makaleler:

Gündüz H, Aras Hisar Ş, Gündüz F. The effect of different ultrasound powers treatment on some quality parameters of sardines (*Sardina pilchardus*) packed in vacuum packaging. Gıda Dergisi 2019; 44 (6):1071-1080.

Ayvaz Z, Çakır F, **Gündüz H**, Erdağ M. Farklı yoğunluktaki ses dalgalarının vakum ambalajlanmış hamsi (*Engraulis encrasicolus*) marinatının rengine ve raf ömrüne etkisinin belirlenmesi. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 2019; 7(3): 405-416.

Ayvaz Z, **Gündüz H**, Erdağ M, Selçuk B, Ak E. Bilgisayarlı görüntüleme teknolojileri ile hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve Sardalye (*Sardina pilchardus*)'nın depolama sürecinde renk paramentelerinin incelenmesi ve bazı kalite parametreleri ile karşılaştırılması. ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 2019; 7 (2): 387 – 400.

Öztürk F, **Gündüz H**. İzmir'de satışa sunulan su ürünlerinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus*'un insidansı ve antibiyotik direnci. Gıda 2018; 43(2): 313-320.

Öztürk F, **Gündüz H**. Tüketime hazır midye dolmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Gıda 2018; 43(5): 754-750.

Ayvaz Z, Çakır F, **Gündüz H**, Erdağ M. The use of computer-based image analysis on colour determination of liquid smoked trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated with different dry salt-sugar mixtures. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 2017; 5(12): 1528-1535.

Gündüz H, Öztürk F, Hamzaçebi S, Akpınar MD. Su ürünleri işleme atıklarının değerlendirilmesi. Aquatic Sciences and Engineering 2017; 33(1): 1-5.

C. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings)

basılan bildiriler:

Gündüz F, Öztürk F, **Gündüz H**. (2019). Mollusc and arthropod shells waste using as qualified materials, International Biodiversity Ecology Sciences Symposium, 26-28 September 2019, İstanbul, Turkey, **(Sözlü bildiri-Tam metin)**.

Gündüz F, Öztürk F, **Gündüz H**. (2019). Benefits of shellfish aquaculture for the environment, International Biodiversity Ecology Sciences Symposium, 26-28 September 2019, İstanbul, Turkey, **(Poster bildiri)**.

Gündüz H, Öztürk F. (2018). The incidence of *Listeria monocytogenes* in seafood samples in Izmir, 3rd International Congress on Food Technology; October 10-12, 2018 Nevşehir/Turkey, **(Sözlü bildiri)**.

Öztürk F, Hamzaçebi S, **Gündüz H**. The safety of seafood products and *Vibrio parahaemolyticus*. 3rd International Congress on Food Technology. October 10-12, 2018 Nevşehir, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Gündüz H, Öztürk F. (2018). The use of ultrasound technology in seafood sector. 3rd International Congress on Food Technology. October 10-12, Nevşehir, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Öztürk F, **Gündüz H**. (2018). The microbiological evaluation of stuffed mussels marketed in izmir. 3rd International Congress on Food Technology. October 10-12, Nevşehir, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Öztürk F, **Gündüz H**. (2018). Antibiotic resistance in foodborne pathogens. 3rd International Congress on Food Technology. October 10-12, Nevşehir, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Öztürk F, **Gündüz H.** (2018). The use of probiotic-containing edible films and coatings in seafood. 3rd International Congress on Food Technology October 10-12, Nevşehir, Turkey (**Poster Bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H.** (2018). The use of different temperature and time combination in sous vide method effect on *Listeria monocytogenes*, 2. International Conferences on Agriculture, Food, Forest Sciences and Technologies (ICAFOF)., 02-05 April 2018, Çeşme, İzmir, Turkey (**Sözlü bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H.** (2018). The rates of presence of *Listeria monocytogenes* in seafood products in the world. 2. International Conferences on Agriculture, Food, Forest Sciences and Technologies (ICAFOF). 02-05 April, Çeşme, İzmir, Turkey (**Poster Bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H,** Demir N, Hamzaçebi S, Serezli R, Uğural B. (2017). The determination of antibiotic susceptibility of staphylococcus aureus isolated from seafood. VIII. International Symposium on Ecology And Environmental Problems. 4-7 October, Çanakkale, Turkey (**Sözlü Bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H,** Demir N, Hamzaçebi S, Serezli R, Uğural B. (2017). The determination of antibiotic susceptibility of staphylococcus aureus isolated from seafood. VIII. International Symposium on Ecology And Environmental Problems. 4-7 October, Çanakkale, Turkey (**Sözlü Bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H,** Hamzaçebi S, Sürengil G, Ünver A, Akpınar MD. (2017). The antimicrobial effect of pomegranate peel, apple peel and artichoke leaf extract. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants. 10-12 May, Konya, Turkey, (**Poster Bildiri**).

Gündüz H, Öztürk F, Hamzaçebi S, Ünver A, Akpınar MD. (2017). The use of essential oils as antimicrobial substances in seafood. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants. 10-12 May, Konya, Turkey (**Poster Bildiri**).

Ünver A, Hamzaçebi S, Akpınar MD, Öztürk F, **Gündüz H.** (2017). Cure comes from the water “Chlorella and Spirulina. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants. 10-12 May, Konya, Turkey, **(Poster Bildiri)**.

Hamzaçebi S, Öztürk F, **Gündüz H.** (2017) The importance of Carnation (*Szygium aromaticum*) and Castor Oil (*Ricinus communis L.*). 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants. 10-12 May, Konya, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Hamzaçebi S, Akpınar MD, Ünver A, Öztürk F, **Gündüz H.** (2017). Macro algae: healthy from sea. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants. 10-12 May, Konya, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Akpınar MD, Ünver A, Hamzaçebi S, Öztürk F, **Gündüz H.** (2017). Use of microalgan's as pigment source. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants. 10-12 May, Konya, Turkey **(Poster Bildiri)**.

Gündüz H, Öztürk F. (2016),The importance of *Vibrio vulnificus* in Seafood. FABA, International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences. 3-5 December, Antalya, Turkey, **(Sözlü Bildiri)**.

Öztürk F, Hamzaçebi S, **Gündüz H,** Akpınar MD. (2016). The supply of omega-3 fatty acids and the sustainable of sources, Middle East And Central Asia Aquaculture 2016, 02-04 June 2016, İzmir, Turkey, **(Sözlü Bildiri)**.

Öztürk F, Hamzaçebi S, **Gündüz H,** Akpınar MD. (2016).The Sustainability Of Algae, Middle East And Central Asia Aquaculture 2016. 02-04 June 2016, İzmir, Turkey, **(Sözlü Bildiri)**.

Gündüz H, Öztürk F, Hamzaçebi S, Akpınar MD. preservation of natural stocks and sustainability of water products, Middle East And Central Asia Aquaculture 2016, 02-04 Haziran 2016, İzmir, Turkey, **(Sözlü Bildiri)**.

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

Gündüz H, Öztürk F. (2020). Aljinat filmle kaplanmış tütsülenmiş alabalık filetoalarında *Listeria monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine bakteriyofaj

uygulamalarının etkisi. Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020, Çanakkale, Türkiye, (Sözlü bildiri).

Öztürk F, **Gündüz H**, Gündüz F. (2020). Su ürünlerinde biyojen aminler ve biyojen amin oluşumunu etkileyen faktörler. Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020, Çanakkale, Türkiye, (Poster bildiri).

Öztürk F, **Gündüz H**, Tireli T, Hamzaçebi S. (2017). Enginar (*Cynara scolymus*) yaprağı ekstraktı ilave edilen sardalya (*Sardina pilchardus*) balığı kadınbudu köftelerinin raf ömrünün belirlenmesi , 19. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 12-15 Eylül 2017, Sinop, Türkiye, (**Poster Bildiri**).

Gündüz H, Öztürk F, Hamzaçebi S, (2017). Su ürünleri kaynaklı zoonozlar, 19. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 12-15 Eylül 2017, Sinop, Türkiye, (**Poster Bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H**. (2016). Balık tazeliğinin belirlenmesinde biyosensör kullanımı, Türkiye 12. Gıda Kongresi, 05-07 Ekim 2016, Edirne, Türkiye , (**Poster Bildiri**).

Öztürk F, **Gündüz H**. (2016). Yüksek basınç teknolojisi ve su ürünlerinde kullanımı, Türkiye 12. Gıda kongresi, 05-07 Ekim 2016, Edirne, Türkiye, (**Sözlü Bildiri**).