ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PEDİYOSİNİN *LISTERIA MONOCYTOGENES* SUŞLARI ÜZERİNDE ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Zehra Tuğçe TOPRAK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2022

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PEDİYOSİNİN *LISTERIA MONOCYTOGENES* SUŞLARI ÜZERİNDE ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Zehra Tuğçe TOPRAK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Pınar ŞANLIBABA

Tez çalışması kapsamında farklı hücre yoğunluğundaki (10^5 KOB/mL, 10^6 KOB /mL ve 10^7 KOB /mL) *L. monocytogenes* ATCC7644 ve *L. monocytogenes* 287-1P suşlarını indirgeyebilmek amacıyla, 4°C ve 35°C inkübasyon sıcaklıklarında 7 µg/mL ve 12 µg/mL konsantrasyonlarındaki pediyosin denenmiştir. İnkübasyon süreleri boyunca belirli aralıklarla kültür ortamlarında canlı kültürel sayımlar ve 625 nm'de OD ölçümü yapılmıştır. *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda en yüksek indirgenme oranı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilmiştir (1,2 log KOB/mL). *L. monocytogenes* 287-1P suşunda ise en yüksek indirgenme oranı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilmiştir (1,91 log KOB/mL). 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde olunan antimikrobiyel etki süresi ise, 7 µg/mL pediyosin uygulamasına kıyasla daha uzun süreli olmuştur.

Mart 2022, 132 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes,* pediyosin, bakteriyosin, biyokontrol, gıda

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PEDIOCIN ON *LISTERIA MONOCYTOGENES* STRAINS

Zehra Tuğçe TOPRAK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Pınar ŞANLIBABA

Pediocin at 7 µg/mL and 12 µg/mL concentrations was tested in order to reduce *L. monocytogenes* ATCC7644 and *L. monocytogenes* 287-1P strains with different cell densities (10^5 CFU/mL, 10^6 CFU /mL and 10^7 CFU /mL) at 4°C and 35°C incubation temperatures within the scope of the thesis study. During the incubation period, live cultural counts in culture media and OD measurement at 625 nm were made at certain intervals. The highest reduction rate in *L. monocytogenes* ATCC7644 strain was obtained after the application of 12 µg/mL pediocin at 35°C (1,2 log CFU/mL). In *L. monocytogenes* 287-1P strain, on the other hand, the highest reduction rate was obtained as a result of the application of 12 µg/mL pediocin at 4°C (1,91 log CFU/mL). The antimicrobial effect duration obtained as a result of the application of 12 µg/mL pediocin was longer compared to the application of 7 µg/mL pediocin.

March 2022, 132 pages

Key Words: *Listeria monocytogenes*, pediocin, bacteriocin, biocontrol, food

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans dönemim boyunca bilgi birikimi ve deneyimlerini benimle paylaşan, yol gösteren, her daim desteğini hissettiğim değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Pınar ŞANLIBABA'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Araştırmaktan vazgeçmeyip, deneyerek, yanılarak öğrenmeyi öğreten değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Şeref TAĞI'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Aynı laboratuarda keyifle çalıştığım, bilgi alışverişi yaptığım, yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Esra ŞENTÜRK, Simge AKTOP, Meryem Nur KOCADAĞ, Hacer ASLAN CANBERİ, Seda SEYİRT ve Gülsüm ATASOY'a,

Sonsuz sabır, güven ve destekle, her koşulda yanımda olan canım ailem; sevgili annem Figen TOPRAK, tez çalışmama büyük desteği olan canım babam Murat TOPRAK ve kıymetlim kardeşim İrem TOPRAK, bu süreçte bana her şekilde destek ve yanımda olan yol arkadaşım Cihan ÖNAL'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Bu yüksek lisans çalışması "Gıdalardan İzole Edilmiş *Listeria monocytogenes* Suşlarının Biyokontrolünde Pediyosin Uygulaması" başlıklı ve 21H0443002 nolu Hızlandırılmış Destek Projesi kapsamında Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Zehra Tuğçe TOPRAK
Ankara, Mart 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ..... **i**
ÖZET ..... **ii**
ABSTRACT ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **x**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xv**
1. GİRİŞ **1**
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ **3**
2.1 *Listeria* spp. Suşlarının Genel Özellikleri **3**
2.2 *Listeria monocytogenes* **6**
2.3 Gıdalarda *Listeria monocytogenes* Riski **7**
2.3.1 Süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* riski **9**
2.3.2 Et ve et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* riski **11**
2.3.3 Tüketime hazır gıdalarda *Listeria monocytogenes* riski **13**
2.3.4 Deniz ürünlerinde *Listeria monocytogenes* riski **13**
2.4 Listeriyozis **14**
2.5 Bakteriyosinler **18**
2.5.1 Bakteriyosinlerin sınıflandırılması **20**
2.5.1.1 Gram (+) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler. **20**
2.5.1.2 Gram (-) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler **25**
2.5.1.3 Arkeler tarafından üretilen bakteriyosinler **26**
2.6 Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bakteriyosinler **26**
2.6.1 Enterosin **29**
2.6.2 Sakasin **30**
2.6.3 Plantarisin **30**
2.6.4 Laktisin 3147 ..... **31**
2.6.5 Nisin **31**
2.6.6 Pediyosin **32**

2.7 *Listeria monocytogenes*'in Pediyosin ile Biyokontrolü 35
3. MATERYAL VE METOT 39
3.1 Materyal 39
3.1.1 Referans bakteri 40
3.1.2 Pediyosin preparatı 40
3.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar 40
3.2 Yöntem 40
3.2.1 *Listeria monocytogenes* suşlarının pediyosine karşı duyarlılık düzeyinin saptanması 40
3.2.2 Bakteri kültürünün hazırlanması 41
3.2.3 Stres faktörü olarak pediyosinin farklı konsantrasyonlarının ayarlanması .. 41
3.2.4 *In vitro* koşullarda *Listeria monocytogenes* suşları ile pediyosinin karşılaştırılması 41
3.2.5 İstatistiksel analiz 42
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 43
4.1 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 Suşuna Karşı Pediyosin Uygulaması 43
4.1.1 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması 43
4.1.2 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması 50
4.1.3 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması 58
4.1.4 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması 65
4.2 *Listeria monocytogenes* 287-1P Suşuna Karşı Pediyosin Uygulaması 72
4.2.1 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması 72
4.2.2 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna karşı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması 80
4.2.3 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması 87

4.2.4 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması 94
4.3 Kültür Ortamlarına Pediyosin Uygulamasının Genel Değerlendirmesi 101
5. SONUÇ 106
KAYNAKLAR 109
EKLER 125
EK 1 Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar ve besiyerleri 125
EK 2 Her bir ölçüm zamanı için suş ortalamalarının karşılaştırılması 126
EK 3 Her bir ölçüm zamanı için sıcaklık gruplarının karşılaştırılması 127
EK 4 Her bir ölçüm zamanı için pediyosin konsantrasyon gruplarının karşılaştırılması 128
EK 5 Her bir ölçüm zamanı için hücre yoğunluk gruplarının karşılaştırılması .. 129
EK 6 Bakteri sayılarına ilişkin tekrarlı ölçüm sonuçları ile diğer faktörlere ilişkin varyans çözümlemesi 130
ÖZGEÇMİŞ 131

SİMGELER DİZİNİ

pH	Asitlik derecesi
µm	Mikrometre
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
KOB	Koloni Oluşturan Birim
BU	Bacteriocin Unit (Bakteriyosin Birimi)
log	Logaritma
g	Gram
mL	Mililitre
L	Litre
h	Saat
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
kDa	Kilodalton
Lan	Lantiyonin
MeLan	Metillantiyonin
NaCl	Sodyum Klorür

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ATCC	American Type Culture Collection (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu)
ATP	Adenozin Trifosfat
AU	Arbitrary Unit
BHI	Brain Heart Infusion
CFS	Cell-Free Culture Supernatant (Hücre İçermeyen Kültür Süpernatantı)
Dha	Didehidroalanin

Dhb	Didehidroaminobütirikasit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNaz	Deoksiribonükleaz
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control (Avrupa Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FDA	U.S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
GRAS	Generally Regarded as Safe (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen)
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları)
LAB	Laktik Asit Bakterileri
MIK	Minimum Inhibition Concentration (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu)
RNaz	Ribonükleaz
OD	Optik dansite
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Pediyosin PA-1 için amino asit diziliminin yapısı 33
Şekil 2.2 Pediyosin benzeri bakteriyosinlerin önerilen yapısı 34
Şekil 4.1 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 44
Şekil 4.2 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 45
Şekil 4.3 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 46
Şekil 4.4 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 47
Şekil 4.5 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 48
Şekil 4.6 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 49
Şekil 4.7 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 51
Şekil 4.8 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 52
Şekil 4.9 *Listeria monocytogenes* 287-1P ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 53

Şekil 4.10 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 54
Şekil 4.11 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 55
Şekil 4.12 *Listeria monocytogenes* ATCC7644suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 56
Şekil 4.13 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 59
Şekil 4.14 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 60
Şekil 4.15 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 61
Şekil 4.16 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 62
Şekil 4.17 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 63
Şekil 4.18 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 64
Şekil 4.19 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 66

Şekil 4.20 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 67
Şekil 4.21 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4 °C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 68
Şekil 4.22 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 69
Şekil 4.23 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4 °C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 70
Şekil 4.24 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 71
Şekil 4.25 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 73
Şekil 4.26 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 74
Şekil 4.27 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 75
Şekil 4.28 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 76
Şekil 4.29 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 77

Şekil 4.30 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 78
Şekil 4.31 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 81
Şekil 4.32 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 82
Şekil 4.33 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 83
Şekil 4.34 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 84
Şekil 4.35 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 85
Şekil 4.36 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 86
Şekil 4.37 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 88
Şekil 4.38 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 89
Şekil 4.39 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 90

Şekil 4.40 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 91
Şekil 4.41 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 92
Şekil 4.42 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 93
Şekil 4.43 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 95
Şekil 4.44 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 96
Şekil 4.45 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 97
Şekil 4.46 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 98
Şekil 4.47 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri 99
Şekil 4.48 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları 100

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 *Listeria* spp.'ye ait tür ve alt türler 4
Çizelge 2.2 *Listeria monocytogenes* serotiplerinin filogenetik dağılımı 6
Çizelge 2.3 2011-2021 yılları arasında yaşanan listeriyozis salgınları 17
Çizelge 2.4 2011-2019 yılları arasında Avrupa Birliği'nde yaşanan listeriyozis salgınları 18
Çizelge 2.5 Gram (+) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması. 22
Çizelge 2.6 Gram (-) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması..26
Çizelge 2.7 Arkeler tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması..... 27
Çizelge 2.8 Bazı laktik asit bakterileri ve sentezledikleri bakteriyosinler 28
Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan *Listeria monocytogenes* suşları 39
Çizelge 4.1 Kültürel sayım sonuçlarına göre *Listeria monocytogenes* ATCC7644 ve *Listeria monocytogenes* 287-1P sayılarındaki indirgenme düzeyleri 102

1. GİRİŞ

Listeria spp. doğada oldukça yaygın bulunan, insanlarda ve hayvanlarda ciddi hastalıklara ve ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler, hamileler ve yaşlılar gibi ayrıcalıklı gruplarda yer alan bireylerde ölümlere sebebiyet verebilen patojen bir bakteridir (Radford vd. 2017). Gıdalar bu patojenin taşınmasında aracılık etmektedir. Kontamine gıdaların tüketilmesiyle birlikte görülen listeriyosiz; menejit, hamilelerde düşük, öldürücü septisemi, endokarditis ve ensefalitis gibi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Gandhi ve Chikindas 2007). Listeriyosiz vakaları nadir görülmekle birlikte, invaziv enfeksiyon kaynaklı ölüm oranı %20-30 olarak rapor edilmektedir (Rhoades vd. 2009, Radoshevich ve Cossart 2018).

Listeria monocytogenes'in yüksek sıcaklıklara dirençli olması ve buzdolabı sıcaklıklarında da çoğalabilmesinin yanında; nemli ortamlarda birkaç ay, tuzlu ve kuru ortamlarda ise iki yıla yakın yaşayabilmesi, bu patojenin gıda işleme proseslerinde kontrol altına alınmasında karşılaşılan en önemli sorunlardandır (Jarvis vd. 2016). Listeriyosiz salgınına aracılık eden gıdalar arasında çiğ süt, pastörize süt, dondurma, çiğ sebze ve meyveler, fermente et ürünleri, çiğ veya pişmiş her çeşit kırmız et, çiğ veya tütsülenmiş balık, kabuklu deniz ürünleri, starter kullanılmadan üretilen taze peynirler, yumuşak peynirler, kanatlı ve hindi etleri, ısıl işlem görmüş jambon, çeşitli sosis ve salam gibi tüketime hazır ve/veya soğukta uzun süre muhafaza edilen gıdalar sayılabilir (Oliveira vd. 2014, Rodríguez-Rubio vd. 2015).

Modern gıda üretim yöntemleri gıdaların hem güvenliğini hem de üretimden tüketime kadar geçen sürede tüketiciler tarafından kabul edilebilir niteliğini korumasına yardımcı olmaktadır. Farklı gıda muhafaza yöntemleri gıdaların bozulmadan uzun süre muhafaza edilmesine olanak sağlamaktadır. Günümüzde gıda endüstrisinde yaşanan en büyük sıkıntılar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir (Vesković-Moračanin vd. 2014).

i) Gıda bozulmasının neden olduğu ekonomik kayıplar,
ii) Gıda üretim sürecinde ortaya çıkan yüksek maliyet,
iii) Patojen mikroorganizmalar ile gıdaların üretim sürecinde kontaminasyon riski.

Gıda kaynaklı patojenlerinin neden olduğu hastalıkları önleyebilmek için, mikrobiyel gelişmeyi önleyici veya tamamen durdurucu çeşitli stratejiler mevcuttur. Mikroorganizmalar ısıtma ya da dondurma gibi termal işlemlerle veya zayıf asitler, ışınlama, antimikrobiyel bileşikler kullanılarak termal olmayan işlemlerle inaktive edilebilmektedir. Günümüzde tüketicilerin taze, besin ve vitamin değeri yüksek, minimum düzeyde işlem görmüş, katkı ve/veya koruyucu içermeyen gıda talebi giderek artmaktadır. Bu talebi karşılamak adına gıda patojenlerine karşı biyokontrol uygulamaları üzerinde etkin çalışmalar yapılmaktadır (Mapelli vd. 2018).

Laktik asit bakterileri (LAB) uzun yıllardır gıda üretim süreçlerinde starter ya da koruyucu kültür olarak güvenilir bir şekilde kullanılmaktadır. LAB tarafından ribozomal olarak sentezlenen protein ya da peptit yapısındaki bileşiklere de bakteriyosin adı verilmektedir. Bakteriyosinlerin gıda patojenlerine karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel aktivite, bilim dünyasının dikkatini çeken bir konu haline gelmiştir (Dinçer vd. 2010). Biyokontrol ajanlarından birisi olarak kabul edilen bakteriyosinlerin, gıdalarda patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmalara karşı etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmaktadır (Balciunas vd. 2013, Santos vd. 2018). Bu kapsamda nisin ve pediyosin, üzerinde en çok çalışma yapılan bakteriyosinlerdendir (Balciunas vd. 2013). Özellikle *L. monocytogenes* suşları üzerinde göstermiş oldukları antimikrobiyel etkileri ile dikkat çeken pediyosinler; *Pediococcus acidilactici, P. pentosaceus* ve *P. parvulus* gibi bazı *Pediococcus* spp. türleri tarafından sentezlenmektedir (Batiha vd. 2021).

Ülkemizde *L. monocytogenes*'e karşı biyokontrol ajanı olarak pediyosinin kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ülkemiz adresli çalışmalara katkı sağlamak amacıyla tasarlanmış olan bu tez çalışmasında; farklı konsantrasyonlar, farklı sıcaklık dereceleri ve farklı depolama süreleri uygulanmak suretiyle *L. monocytogenes* suşlarına karşı pediyosinin antimikrobiyel aktivitesi araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Listeria* spp. Suşlarının Genel Özellikleri

Listeria türleri Gram pozitif, fakültatif anaerobik ve aerobik, koko-basil şeklinde (0,4-0,5 μm eninde ve 0,5-2,0 μm boyunda), halotolerant (%10-12 NaCl konsantrasyonlarında canlılığını sürdürebilen), katalaz pozitif, oksidaz negatif, spor ve kapsül oluşturmayan bakterilerdir (Yavuz ve Korukluoğlu 2010). Genç kültürler kısa zincirler halinde, "V" veya "Y" şeklinde morfolojik yapıya sahipken, yaşlı kültürlerde ise zaman zaman uzun flament şekillerinde mikroskobik görüntü görülebilir (Bodie, 2019). Optimum gelişme sıcaklığı 30-35°C olup, 0-45°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında da gelişme gösterirler. Tüm *Listeria* türleri, 30°C altındaki sıcaklıklarda peritrik flagellaları ile hareketlidir. Daha yüksek sıcaklık değerlerinde (~ 37°C) ise hareket yeteneklerini kaybederler. Bakteri pH 4,1-9,6 aralığında ve optimum pH 6,0-8,0 değerlerinde gelişmektedir. Minimum su aktivitesi değeri 0,92 olarak belirlenmiştir. Karbonhidratlardan asit oluşturur ancak gaz meydana getirmezler. Hemolitiktir ve kanlı agarda β-hemolisin oluştururlar (Yavuz ve Korukluoğlu 2010, Carpentier ve Cerf 2011, Şanlıbaba ve Uymaz 2015, Madigan vd. 2017).

Listeria spp. 2011 yılında yayınlanan "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" kitabının ikinci edisyonu ve üçüncü sayısında *Bacilli* sınıfı, *Bacillales* takımı, *Listeriaceae* familyasında yer almaktadır (Halkman vd. 2019). Günümüzde, *Listeria* cinsi içinde tanımlanmış 27 farklı tür ve 6 alt tür bulunmaktadır (Çizelge 2.1) (NCBI, 2022).

Farklı bir araştırma grubu tarafından ise *Listeria* türleri *Listeria* sensu *lato* ve *Listeria* sensu *strictu* olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. *Listeria* sensu *strictu; L. monocytogenes, L. ivanovii, L. seeligeri, L. innocua, L. marthii* ve *L. welshimeri* olmak üzere altı tür içermektedir. Bu türlerden *L. marthii* ilk kez 2010 yılında tanımlanmıştır. Diğer listeriyal türlerinin keşfi ise 1985 yılından önce gerçekleşmiştir (Graves vd. 2010). *Listeria* sensu *lato* ise *L. feischmanni, L. weihenstephanensis, L. rocourtiae, L. aquatica, L. cornellensis, L. riparia, L. foridensis, L. grandensis, L. grayi, L.*

newyorkensis, L. booriae türlerini kapsamaktadır. Bu türler 2009 yılından itibaren tanımlanmıştır (Orsi ve Wiedmann 2016).

Çizelge 2.1 *Listeria* spp.'ye ait tür ve alt türler

Türler	**Kaynak**
Listeria monocytogenes	Murray vd. 1926 Pirie 1940
Listeria innocua	Seeliger 1981
Listeria seeligeri	Rocourt ve Grimont 1983
Listeria welshimeri	Rocourt ve Grimont 1983
Listeria ivanovii	Seeliger vd. 1984
Listeria grayi	Larsen ve Seeliger 1966 Rocourt vd. 1992
Listeria marthii	Graves vd. 2010
Listeria rocourtiae	Leclercq vd. 2010
Listeria fleischmannii	Bertsch vd. 2013
Listeria weihenstephanensis	Lang Halter vd. 2013
Listeria aquatica	Den Bakker vd. 2014
Listeria cornellensis	Den Bakker vd. 2014
Listeria floridensis	Den Bakker vd. 2014
Listeria grandensis	Den Bakker vd. 2014
Listeria riparia	Den Bakker vd. 2014
Listeria booriae	Weller vd. 2015
Listeria newyorkensis	Weller vd. 2015
Listeria goaensis	Doijad vd. 2018
Listeria farberi	Carlin vd. 2021
Listeria cossartiae	Carlin vd. 2021
Listeria costaricensis	Nunez- Montero vd. 2018
Listeria kielensis	Schard vd 2018

Çizelge 2.1 *Listeria* spp.'ye ait tür ve alt türler (devamı)

Türler	**Kaynak**
Listeria thailandensis	Leclarcq vd. 2019
Listeria valentina	Quereda vd. 2020
Listeria rustica	Carlin vd. 2021
Listeria portnoyi	Carlin vd. 2021
Listeria immobilis	Carlin vd. 2021
Alt Türler	
Listeria ivanovii subsp. *ivanovii*	Boerlin vd. 1992
Listeria ivanovii subsp. *londoniensis*	Boerlin vd. 1992
*Listeria fleischmanni*i subsp. *fleischmannii*	Bertsch vd. 2013
Listeria fleischmannii subsp. *coloradonensis*	Den Bakker vd. 2013
Listeria cossartiae subsp. *cayugensis*	Carlin vd. 2021
Listeria cossartiae subsp. *cossartiae*	Carlin vd. 2021

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, araştırmacılar *Listeria* benzeri suşlara da rastlanmıştır. Hindistan'da Goa eyaletindeki bataklıklardan elde edilen izolat, filogenetik olarak *L. fleischmannii'*ye yakın bulunmuştur ve *L. goaensis* olarak adlandırılmıştır (Doijad vd. 2018). Taylan'da kızarmış tavuk etinden izole edilen *Listeria* benzeri bakterinin, bilinen hiçbir türe benzemediği tespit edilmiştir. Söz konusu suş *L. thailandensis* olarak isimlendirilmiştir (Leclercq vd. 2019).

Listeria spp. toprak, su, kanalizasyon, silaj, çürüyen bitkiler gibi doğada çok çeşitli alanlarda yaygın olarak bulunabilmektedir (Jarvis vd. 2016). Evcil ve vahşi hayvan dışkısından, kuşlardan, larvalardan, işlenmiş veya çiğ tüketime hazır gıdalardan izole edilebilmektedir (Valladares 2019).

2.2 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde hücre içi bakteriyel bir patojendir (Magalhães vd. 2015). İlk kez 1891 yılında Alman hastalardan alınan numunelerde rastlanılan bu bakterinin, 1911 yılında İsveç'te tavşan ciğerinden izolasyonu gerçekleştirilmiştir. J. Dumont tarafından 1918'de insan menenjit vakasından izole edilmiştir. 1925 yılında ise Almanya'daki koyunlarda *L. monocytogenes* kaynaklı hastalık tespit edilmiştir (Halkman vd. 2019, Disson vd. 2021). Murray 1924'te Cambridge'deki tavşan ve kobaylarda mononükleoz epidemik vakalarından sorumlu tuttuğu bu bakteriyi *Bacterium monocytogenes* olarak adlandırmıştır (Cossart 2007, Cossart ve Lebreton 2014, Disson vd. 2021). İlerleyen yıllarda, Dr. Lister'in anısına bu bakteriye *Listerella hepatolytica* ismi verilmiştir. Bakterinin günümüzdeki ismi ise 1940 yılında Pirie tarafından *Listeria monocytogenes* olarak güncellenmiştir (Halkman vd. 2019). 1970'lerde insanlarda görülen bir hastalığın etiyolojik ajanı olarak kabul edilmiş, 1980'li yıllarda ise gıda kaynaklı bir patojen olarak tanımlanmıştır (Radoshevich ve Cossart 2018).

*L. monocytogenes'*in genetik olarak heterojen doğası nedeniyle, epidemiyolojik sürveyansta birincil karakterizasyon olarak serotiplendirilmesi geniş ölçüde kabul görmektedir. Somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerine dayalı olarak, *L. monocytogenes'*in 13 serotipi tanımlanmıştır. Bu serotipler Soy I, Soy II, Soy III ve Soy IV olmak üzere dört filogenetik alt gruba ayrılmaktadır (Chen vd. 2017, Yin vd. 2019, Feng vd. 2020). Bu gruplandırma Çizelge 2.2'de gösterilmiştir. Yin vd. (2019) tarafından 4h serotipi, 14. serotip olarak kabul edilmiştir ve Soy II'ye dâhil edilmiştir.

Çizelge 2.2 *Listeria monocytogenes* serotiplerinin filogenetik dağılımı

Soy I	1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e, 7
Soy II	1/2a, 1/2c, 3a, 3c, 4h
Soy III	4a, 4c
Soy IV	4a, atipik 4b, 4c

Genel olarak insan listeriyozis vakalarının %95'ine 1/2a, 1/2b ve 4b serotipleri neden olmaktadır (Kramarenko vd. 2013). *L. monocytogenes* konakçı hücreleri istila etme, konakçı hücrede çoğalma ve hücreden hücreye yayılma gibi özelliklere sahiptir. Bu yetenekleri genel olarak *inl*A ve *inl*B lokusları ile *Listeria* patojenite adası-1 (LIPI-1) lokuslarına atfedilmektedir. *inlA* ve *inlB* gen ürünleri yüzey proteinleri olup, bunlar konak hücre yüzeyindeki E-kadherin veya Met reseptörlerine bağlanmaktadır. Merkezi virülens gen kümesi olan LIPI-1, gözenek oluşturucu toksin olan listeriolizin O (LLO) ile konakçı hücrelerin membranını parçalama özelliği gösteren iki fosfalipaz C'yi (*plcA* ve *plcB*) kodlamaktadır. *L. monocytogenes*'in virülens özelliği genel olarak *prfA*'ya bağlı virülens gen kümesinde bulunan altı gen kümesi (*prfA*, PI-PLC, LLO, Mpl, *actA* ve PC-PLC) ile bu gen kümelerinin dışındaki diğer virülens faktörlerle ilişkili olan gen kümeleri (internalin genleri) tarafından düzenlenmektedir. Ayrıca *L. monocytogenes* gıda ortamlarındaki düşük pH ve yüksek tuzluluk gibi farklı stres koşullarında hayatta kalmasına katkıda bulunan streste hayatta kalma adacığı 1 (Stress Survival Islet 1: SSl-1) olarak adlandırılan ve beş genden oluşan bir gen kümesini de genomunda taşımaktadır (Chen vd. 2017).

2.3 Gıdalarda *Listeria monocytogenes* Riski

L. monocytogenes'in doğada yaygın olarak bulunması, gıda üretim tesislerinin proses alanlarında kontaminasyon riskini arttırmaktadır (Jarvis vd. 2016). *L. monocytogenes* gıda işleme ortamını ham maddeler aracılığıyla, proses alanında çalışan işçi veya üretimde kullanılan alet ve ekipmanlar yoluyla kontamine edebilir. Yetersiz ve etkin olmayan temizlik ve sanitasyon işlemleri, gıda ekipmanlarının ve gıda üretim alanlarının uygun olmayan dizaynı, insanların dikkatsiz davranışları, ekipmanların uygun olmayan şekillerde kullanımı bakterinin işletmedeki varlığını sürdürmesine neden olmaktadır. Drenajlar, konveyörler, zeminler, tanklar ve bıçaklar gibi ortamlar aracılığıyla bakteri gıdaya bulaşabilmektedir. Ticari taşımacılık ve perakende satış sırasında da sıcaklık değerlerindeki dalgalanmalar, bakteri sayısının önemli miktarda artmasına sebep olabilmektedir (Boldyreva vd. 2016, Buchanan vd. 2017).

L. monocytogenes birçok proseste ısıl işlemlerle imha edilebilmektedir. Ancak *L. monocytogenes* suşlarının ısıya karşı göstermiş olduğu dirençlilik durumu ise gıdanın yapısına göre değişiklik gösterebilmektedir (Huang 2009). Bakteri, gıda endüstrisinde kullanılan dezenfektanlara karşı da dirençlilik geliştirebilmektedir (Gálvez vd. 2010). Ayrıca paslanmaz çelik, cam, kauçuk ve plastik gibi yüzeylere tutunmasında önemli rol oynayan biyofilm yapısını da oluşturabilmektedir. Bu durum gıda üretim alanlarında kullanılan alet ve ekipman kaynaklı çapraz kontaminasyon riskini doğurmaktadır (Mapelli vd. 2018).

Tüketime hazır gıdalar, çiğ ya da pastörize süt, taze peynirler, yumuşak peynirler, dondurma, çiğ sebze ve meyveler, çeşitli sosis ve salamlar, ısıl işlem görmüş jambon, kanatlı ve hindi etleri, füme balık, çiğ ya da pişmiş her çeşit et, fermente et ürünleri ile kabuklu deniz ürünleri *L. monocytogenes* kaynaklı enfeksiyonlarda aracılık etmektedir (Oliveira vd. 2014, Rodríguez-Rubio vd. 2015). Yumuşak ve yarı yumuşak peynir ile et ürünleri, *L. monocytogenes'*in gelişimini desteklediği için kontaminasyon riski taşıyan ana gıda grubu olarak rapor edilmiştir. Bu doğrultuda Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control: ECDC) ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority: EFSA) tarafından yürütülen zoonoz izleme faaliyetlerinde bu gıdalar, hedef gıda olarak kullanılmaktadır (Mapelli vd. 2018).

Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration: FDA) kaynaklarına göre listeriyozis ile ilişkililendirilme bakımından düşük riskli bulunan gıdalar tanımlanmış ve bu kapsamda içsel faktörler, dışsal faktörler ve/veya işleme faktörleri sebebiyle *L. monocytogenes'*in gelişimini desteklemeyen gıdalar, düşük riskli gıdalar kategorisine dâhil edilmiştir. İçsel faktörler pH ve su aktivitesi gibi gıdanın yapısında bulunan fiziksel ve kimyasal faktörleri içermektedir. Dış faktörler gıdanın bulunduğu ortam koşulları ve depolama sıcaklığı gibi parametreleri kapsamaktadır. İşleme faktörleri ise gıdanın pH değerini ayarlamak için eklenen maddeler, tek başına veya diğer maddelerle birlikte antimikrobiyel özellik gösteren maddeler (sorbat, benzoat gibi) olarak sınıflandırılmaktadır. *L. monocytogenes'*in gelişimini desteklemeyen gıdaların bazı özelliklere sahip olması beklenmektedir. Dondurulmuş gıdalar, pH değeri

4,4'e eşit veya daha düşük olanlar, 0,92'den daha düşük su aktivitesi değerine sahip veya antimikrobiyel madde ilave edilmiş olan gıdalar, etkili bir listeriyastatik kontrol önlemi kullanılarak işlenen gıdalardır (Anonymous 2008).

Avrupa Birliği'nde tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* sayısının 100 KOB/g'ı geçmemesi gerekmektedir. Bebek gıdaları ve özel tıbbi amaçlı gıdalarda ise 25 g veya 25 mL'de *L. monocytogenes* bulunmasına izin verilmemektedir. Kanada, Yeni Zelanda ve Avustralya'daki yasal düzenlemeler de Avrupa Birliği'ne benzer şekildedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ise bu konuda sıfır tolerans yaklaşımı benimsenmiştir (Leong vd. 2017). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde 2011 yılında yapılan değişiklik ile çiğ et ürünlerinde *L. monocytogenes* kontrolü kaldırılmıştır. Bunun dışındaki tüm gıda numunelerinin 25 gramında *L. monocytogenes* bulunmasına izin verilmemektedir (Anonim 2011).

2.3.1 Süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* riski

L. monocytogenes ilk kez 1985 yılında Güney Kaliforniya'da, Meksika usulü peynir tüketiminden kaynaklanan salgın yaşandığı zaman, süt endüstrisi için bir ciddi bir tehdit olarak görülmeye başlanmıştır. O tarihten sonra da dünya çapında süt kaynaklı salgınlar rapor edilmiştir (Melo vd. 2015).

Süt çiftlikleri, zengin bir *L. monocytogenes* rezervuarını temsil etmektedir. İnek memesinden yıkama ve kurutma işlemi uygulanmadan sağılan süt örneklerinin %6,8'inde *L. monocytogenes* saptanmıştır. Bu nedenle sağımdan önce gerekli temizliğin mutlaka yapılması önem taşımaktadır. Çiftliklerdeki hayvanlar ve ahır ortamı da (toprak, su, inek dışkısı, süt, saman, silaj vb.) olası kontaminasyon kaynakları arasındadır (El-Hajjaji vd. 2020).

Süt ürünleri hem invaziv hem invaziv olmayan listeriyoziss ile ilişkilendirilmiştir (Parisi vd. 2013). Serovar 4b, salgın izolatlarının çoğunluğunu temsil etmektedir. Avrupa'da *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş süt ürünleri, tüm gıda ürünlerinin neden olduğu listeriyozis salgınlarının yaklaşık yarısından sorumlu tutulmuştur (Bizani vd. 2008, Melo vd. 2015).

Pastörizasyon, süt ve süt ürünlerinde gıda kaynaklı patojenlere karşı etkili bir koruma yöntemi olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte peynirler üretim hattından çıktıktan sonra tüketim öncesi herhangi bir ısıl işlem görmeyen ürünlerdir. Peynir *L. monocytogenes* gibi psikrotrofik bakterilerin hayatta kalabilmesine ve gelişebilmesine izin veren, soğutma sıcaklıklarında muhafaza edilen yemeye hazır ürünlerdir. Pastörizasyon işlemi *L. monocytogenes* ile süt ürünlerinin kontaminasyon riskini ortadan kaldırmamaktadır. Pastörize sütten yapılan tereyağı ve peynirin sırasıyla Finlandiya (1998–1999) ve Almanya'da (2006) sebep olduğu salgınlar; bu patojen tarafından kontaminasyonun, süt ürünlerinde proses sonrası aşamalarda meydana gelebileceğini açıkça göstermektedir (Melo vd. 2015, Boldyreva vd. 2016).

Toplam peynir üretiminin büyük kısmını çiğ sütten yapılan peynirler teşkil etmektedir. Ancak çiğ sütten yapılan peynirler toplam peynir üretiminin büyük kısmını teşkil etse de tüketicinin organik ve katkı maddesi içermeyen gıda talebini karşılamak üzere bu tür ürünlere yönelik mevcut pazar büyük ölçüde genişlemektedir. Bu da *L. monocytogenes* riski düşünüldüğünde endişe verici bir durumdur (Melo vd. 2015).

Süt ve süt ürünlerinden taze ve yumuşak peynirler *L. monocytogenes* kolonizasyonuna oldukça duyarlıdır (Komora vd. 2020). Bu bakteri Brezilya'da tüketilen yumuşak beyaz bir peynir olan Minas tipi peynirlerin %26,7'sinden izole edilmiştir (Bizani vd. 2008). 2010-2011 yıllarında perakende düzeyinde *L. monocytogenes* yaygınlığı hakkında, Avrupa Birliği çapında bir araştırma yapılmıştır. İçerisinde 3452 grup peynirin de yer aldığı çalışmada; numuneler raf ömrü sonunda *L. monocytogenes* tespiti için analiz edilmiştir. Peynirlerde *L. monocytogenes* prevalansı %0,47 olarak belirlenmiştir. Raf ömrü sonunda ilgili *L. monocytogenes* sayısı 100 KOB/mL seviyesini aşan peynir numunelerinde ise bu oran %0,06 oranında tespit edilmiştir (Jordan ve McAuliffe 2018).

Parisi vd. (2013), 34 peynir işletmesinde proses hattı boyunca gıdalardan (çiğ, tüketime hazır ve işlenmiş), ürün temas yüzeylerinden (ekipmanlar, çalışanlar, filtreler, raflar, depolama alanları) ve zemin drenajlarından toplam 547 adet numune alarak incelemişlerdir. 19 peynir fabrikasının *Listeria* spp. ile kontamine olduğu ve bunların da

%20,6'sının *L. monocytogenes* bakımından pozitif olduğu saptanmıştır. Gıda örneklerinin %2,4'ünde, ürün temas yüzeylerinin %4,9'unda ve zemin drenajlarının %18,8'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Stessl vd. (2014) ise Avrupa'da bulunan 19 peynir işleme tesisinde HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points: Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları) prosedürleri ve temizlik programları uygulandığında bile *L. monocytogenes'*in kalıcı olabileceğini tespit etmişlerdir.

Dondurma yüksek besin seviyesi, nötr değerlere yakın pH değeri (6-7) ve uzun saklama süresi sebebiyle mikrobiyel gelişime uygun bir gıdadır. 2008 yılında Brezilya'da üretilen dondurma ile yumuşak ve yarı yumuşak peynirlerde *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Peynir örneklerinin %6,7'sinde bu bakteri tespit edilirken, dondurma örneklerinde ise *Listeria* varlığı saptanmamıştır (Abrahão vd. 2008).

L. monocytogenes'in tereyağında görülme sıklığı %0-18,7 oranında değişmektedir. Bu grubun içinde en riskli ürün çiğ sütten yapılan tereyağlardır (El-Hajjaji vd. 2020). Süt ürünleri ile yapılan benzer başka bir çalışmada ise çiğ süt numunelerinin %10'unda, beyaz peynir numunelerinin %5'inde ve tereyağ numunelerinin ise %2'sinde *L. monocytogenes* varlığı saptanmıştır (Aksoy vd. 2018).

2.3.2 Et ve et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* riski

Et ve et ürünleri *L. monocytogenes*'in neden olduğu insan listeriyozisin ana kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir. Özellikle tüketime hazır et ürünleri, tüketimden önce bir dekontaminasyon işlemi içermediği için risk oluşturmaktadır. Bazı ülkeler et ürünlerinde *L. monocytogenes*'in tanımlanması ve izlenmesine yardımcı olacak etkili gözetim sistemlerine sahiptir. ABD'de Tarım Bakanlığı Gıda Güvenliği Denetleme Servisi bünyesinde, tüketime hazır et ürünleri ve kümes hayvanları ürünlerinde *L. monocytogenes* prevalansını raporlayan bir izleme ve doğrulama programı bulunmaktadır. EFSA tarafından 2010-2011 yılları arasında Avrupa Birliği çapında perakende satışı yapılan tüketime hazır et ürünlerinde *L. monocytogenes*'in prevalansını ve kontaminasyon düzeylerini araştıran bir çalışma da yürütülmüştür (Liu vd. 2020).

1992-1994 yılları arasında ABD'de yürütülen bir çalışmada, 2089 sığır ve düve soğutulmuş karkaslarının %4,1'inden ve 2112 inek ve boğa soğutulmuş karkaslarının %11,3'ünden *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Aynı çalışma grubunun iki işletmede yaptığı başka bir çalışmada ise (2009) ise işletmelerin sadece birinde iç organ çıkarma öncesi 522 karkasın, %1,1'inden *L. monocytogenes* izole edilmiştir. (Rhoades vd. 2009). Diğer işletmede ise patojen varlığı saptanamamıştır (Rhoades vd. 2009). 2007 yılında yapılan başka bir çalışmada iç organ çıkarma öncesi ve sonrası sırasıyla %4,8 ve %2,8'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Guerini vd. 2007).

2000 yılının ilk yarısında İsviçre'de yapılan bir perakende çalışmasında 211 kıyma örneğinin 23'ünden (%10,9) *L. monocytogenes* izole edilmiştir (Fantelli ve Stephan 2001). 2001 yılı ilkbahar ve yaz aylarında Kanada'da satışa sunulan 100 kıyılmış sığır eti örneğinde yapılan incelemede *L. monocytogenes'*in prevalansı %52 olarak belirlenmiştir (Bohaychuck vd. 2006). ABD ve Kanada'da bulunan sekiz paketleme tesisinden alınan kıyılmış ve kıyılmamış sığır eti örneklerinde sırasıyla %19,6 ve %3,3 oranında bakteri kontaminasyonu tespir edilmiştir (Rhoades vd. 2009).

EFSA verilerine göre pişmiş ve tüketime hazır sığır eti ürünlerinde *L. monocytogenes* prevalansının İspanya'da %5,3; İtalya'da %3,1; Hollanda'da %1,6 ve İrlanda'da %0,7 olduğu bildirilmiştir (EFSA 2007). Avrupa Birliği çapında, 2010-2011 yıllarında perakende düzeyinde yapılan araştırmada ise 3530 adet şarküteri et numunesi analiz edilmiştir. Ürünlerdeki *L. monocytogenes* prevalansının %2,07 olduğu ve raf ömrü sonunda numunelerin %0,43'ünde *L. monocytogenes* sayısının 100 KOB/gr'ı aştığı saptanmıştır (Jordan ve McAuliffe 2018).

Elmalı vd. (2015) Hatay ilindeki farklı marketlerden alınan 120 piliç kanat numunesini analiz etmişlerdir. 120 numunenin 57'sinde *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların 54'ünün *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir. Çin'in 24 farklı bölgesinde, 2000-2016 yılları arasında üretilen et ürünlerinin *L. monocytogenes* prevalansı üzerine bir meta analiz gerçekleştirilmiştir. Araştırmada çiğ etlerde %8,5 ve tüketime hazır etlerde ise %3,2 oranında *L. monocytogenes* varlığı saptanmıştır. Çiğ etler arasında *L. monocytogenes* prevalans değerleri taze domuz etinde %11,4; taze sığır etinde %9,1;

taze kümes hayvanlarında %7,2; dondurulmuş çiğ etlerde %7,2 ve taze koyun etinde %5,4 olarak tespit edilmiştir (Liu vd. 2020).

2.3.3 Tüketime hazır gıdalarda *Listeria monocytogenes* riski

Tüketime hazır gıdalar, tüketicinin pişirme işlemi uygulamadan tüketebileceği gıdalar anlamına gelmektedir (Anonymous 2008). Bu gıdalar, herhangi bir ısıl işleme veya mikrobiyel inaktivasyon işlemine maruz kalmadığı için *L. monocytogenes* açısından ciddi bir risk teşkil etmektedir. *L. monocytogenes* doğada yaygın olarak bulunabildiğinden işleme tesisinden gıdaya çapraz kontaminasyonun önlenmesi esastır (Leong vd. 2017). *L. monocytogenes* suşları biyofilm oluşturabilme yeteneğine sahip olduğundan sanitasyon prosedürleri her zaman etkili olmamaktadır. Bu da tüketime hazır gıdaların işlem sonrası kontaminasyon riskini daha da arttırmaktadır (Maks vd. 2010).

L. monocytogenes'in su, toprak ve hayvan dışkıları gibi tarım ortamında her yerde bulunabilmesi, taze meyve ve sebzelerde bu patojenin görülme oranının %25 gibi yüksek bir oran olabileceği sonucunu doğurmaktadır. Aslında çiğ sebzeler, gıda kaynaklı salgınların bulaşmasında bir araç olarak tanımlanmış ve listeriyozis epidemiyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Meyve ve sebzelerin çiğ olarak da tüketilmesi ciddi endişe kaynağı yaratmaktadır. Bu tür gıdaların güvenliği ancak soğuk hava deposunda muhafaza ile sağlanabilmektedir ancak *L. monocytogenes* bu sıcaklık değerlerinde de hayatta kalma ve çoğalabilme yeteneğine sahiptir. Gıda endüstrisinde, taze ürünlerdeki mikrobiyel yükü azaltmak için antimikrobiyellerle yıkama işlemi uygulanmaktadır. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan dezenfektan klordur. Ancak klorun gıdalarda izin verilen seviyelerde kullanılması durumunda da sınırlı antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu ifade edilmektedir (Ramos vd. 2020).

2.3.4 Deniz ürünlerinde *Listeria monocytogenes* riski

Deniz ürünleri kaynaklı patojenler üzerine yapılan çalışmalarda, insan sağlığı açısından önemli dört ana patojen ön plana çıkmaktadır. Bunlar *L. monocytogenes*, *Vibrio*

parahaemolyticus, Staphylococcus aureus ve *Salmonella* spp.'dir. *L. monocytogenes* tüm dünyada balık ve deniz ürünlerinden izole edilmektedir. Deniz ürünlerinin ilgili bakteriyle kontaminasyon oranı %0-50 aralığında değişebilmektedir (Zarei vd. 2012).

2010-2011 yıllarında Avrupa Birliği çapında analiz edilen 3053 balık ürününün %10,3'ünden *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Ürünlerin raf ömrünün sonunda tekrarlan analizlerde ise %1,7'sinde *L. monocytogenes* sayısının 100 KOB/g seviyesini aştığı saptanmıştır (Jordan ve McAuliffe 2018). Zarei vd. (2012) çiğ balık, çiğ karides, dondurulmuş balık filetosu, dondurulmuş karides, balık nugget, pane karides, karides burger ve Kentucky karidesinden oluşan toplam 245 numuneyi *L. monocytogenes* varlığı bakımından analiz etmişlerdir. Çiğ balık ve çiğ karides örneklerinin %1,4'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Dondurulmuş ürünlerde ve tüketime hazır örneklerdeise bu bakteriye ait kontaminasyon gözlenmemiştir.

İran'da süpermarketlerden temin edilen çiğ balık (63 numune), karides (59 numune) ve tüketime hazır deniz ürünleri (79 numune) numunelerinde *L. monocytogenes* prevalansı araştırılmıştır. Ayrıca deniz ürünleri işleme tesisinden de 36 numune (zeminden 10; ekipmanlardan 10; tüketime hazır ürünlerden 5; katkı maddelerinden 5; çiğ ürünlerden 6 numune) toplanarak çalışmaya dâhil edilmiştir. Çiğ balıkların %7,93'ünde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Karides ve tüketime hazır ürünlerde ise ilgili patojen tespit edilememiştir. Deniz ürünleri işleme tesisindeki numunelerde ise sadece çiğ materyallerin %5,55'inde *L. monocytogenes* izole edilmiştir (Abdollahzadeh vd. 2016).

2.4 Listeriyozis

Listeriyozis, *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle, insanlarda ve hayvanlarda görülen bir hastalıktır (Anonymous, 2019). Nadiren görülmekle birlikte, gıda kaynaklı hastalıklar arasında sosyal ve ekonomik etkisi en yüksek olanlardan biridir. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü: Food and Agriculture Organization of the United Nations) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü: World Health Organization) kaynaklarında göre, ABD'de listeriyozis vakalarından hastaneye yatış

oranı %90 iken, tanımlanan diğer gıda kaynaklı patojen enfeksiyonlarından hastaneye yatış oranı %3 olarak rapor edilmektedir (Mapelli vd. 2018).

Bakterinin geniş ölçüde çevreye yayılmış olmasına ve gıdalardan yüksek izolasyon sıklığına rağmen, listeriyozis prevalansının genel popülasyon içindeki oranının oldukça düşük olduğu vurgulanmaktadır (Buchanan vd. 2017). Enfeksiyon non-invaziv veya invaziv olabilmektedir. İnvaziv enfeksiyon; grip benzeri semptomlara, merkezi sinir sistemi hasarına, menenjite, hamile kadınlarda fetal enfeksiyona ve/veya düşüklere yol açabilmektedir (Gandhi ve Chikindas 2007). Vakalar nadir görülmekle birlikte, invaziv enfeksiyon kaynaklı ölüm oranları %20-30 gibi yüksek oranlarda olabilmektedir (Rhoades vd. 2009, Radoshevich ve Cossart 2018). İnvaziv listeriyozis vakalarının büyük kısmı yaşlılar, hamileler, fetüsler, yeni doğan bebekler, bağışıklığı zayıflamış veya baskılanmış kişilerde görülmektedir (Guenther vd. 2009, Ferreira vd. 2014). Hastalığın şiddetine bağlı olarak semptomların başlama süresi birkaç gün olabileceği gibi, iki ila üç ay arası da olabilmektedir. Ateş, bulantı, kusma, kas ağrıları ve diyare gibi semptomlar hafif belirtiler olarak nitelendirilebilinirken, daha ciddi durumlarda ise denge kaybı, baş ağrısı ve kasılmalar görülebilmektir (Anonymous 2019).

*L. monocytogenes'*in insanlardaki enfeksiyon dozu tam olarak bilinmemekle beraber bu doz; alınan gıdanın türü, konakçının direnci, suşun içerdiği virülens faktörler gibi etmenlere de bağlıdır. Gıda kaynaklı listeriyozis vakaları hakkındaki veriler, kontamine gıdanın genellikle 10^2 KOB/g'dan daha fazla bakteri içerdiğini göstermektedir (Mapelli vd. 2018). 10^1-10^5 KOB/g bakteri içeren gıdaların uzun süre edildikten sonra tüketilmesi de enfeksiyona sebebiyet verebilmektedir (Kramarenko vd. 2013).

İnsanlarda listeriyozis vakası ilk kez 1929'da bildirilmiş, ancak ABD ve Avrupa'da görülen salgınlara kadar bu hastalığın gıda kaynaklı olabileceği kanıtlanamamıştır. *L. monocytogenes'*in gıda kaynaklı bulaşmasına ilişkin ilk kanıtlar 1981 yılında Kanada'da kontamine lahana salatası ile ilişkili bir salgında ortaya çıkmıştır (Mapelli vd. 2018). Yine o yıllarda özellikle Kuzey Amerika ve Avrupa ülkeleri başta olmak üzere pek çok ülkede bu hastalığın neden olduğu salgınlar görülmüştür. *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş süt, yumuşak peynir (Meksika tipi), lahana salatası, az pişmiş tavuk,

sosis, çiğ et ürünleri, balık ve kabuklu deniz ürünleri gibi gıdaların toplu tüketimleri sonucu büyük epidemiler ortaya çıkmış ve %30'lara varan ölümler görülmüştür (Guenther vd. 2009). Türkiye'de ise epidemiler şeklinde listeriyozis vakaları rapor edilmemiştir (Şanlıbaba ve Uymaz 2015).

Listeriyozis 2001 yılından beri ABD'de bildirimi zorunlu bir hastalıktır. 1998 ile 2008 yılları arasında ABD'de uygulanan düzenleyici girişimler ve endüstri çalışmaları, tüketime hazır kırmızı et ve kümes hayvanları ürünlerinden kaynaklanan salgınları azaltmıştır. Süt ürünlerinden kaynaklanan listeriyozis vakalarında ise bir azalma görülmemiştir. 2010 yılından beri ABD'de kavun, kereviz, marul, çekirdekli meyveler ve dondurma gibi mevcut risk değerlendirmeleri tarafından "orta riskli" veya "düşük riskli" kabul edilen gıda kaynaklı bir dizi listeriyozi salgını yaşanmıştır (Buchanan vd. 2017). EFSA raporlarına göre Avrupa Birliği'ne üye 27 ülkede 2013 yılında 1763 listeriyozis vakası rapor edilmiştir. Vakaların yaklaşık olarak %99,1'i hastaneye yatırılmıştır. Bu sayı tüm zoonotik vakalar arasında görülen en yüksek orandır (Buchanan vd. 2017). 2008 ile 2015 yılları arasında listeriyozis vakalarının, 75 yaş üstü insanlarda ve 25-44 yaş arası çoğunluğu hamile olan kadınlarda arttığı rapor edilmiştir (Anonymous 2021). Avrupa Birliği izleme programında 2011 yılında 1,516 doğrulanmış insan listeriyozis vakası rapor edilirken, bu sayı 2015 yılında 2,206'ya yükselmiştir. Bunların 270'i ölümle sonuçlanmıştır (Mapelli vd. 2018). EFSA kaynaklarına göre, 2017 yılında Avrupa Birliği'ne yaklaşık 2400 listeriyozis vakası rapor edilmiştir (Anonymous 2021). Dünya çapında yaşanan bazı listeriyozis vakaları CDC (Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi: Centers for Disease Control and Prevention) verilerine göre Çizelge 2.3'de ve EFSA verilerine göre ise de Çizelge 2.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.3 2011-2021 yılları arasında yaşanan listeriyozis salgınları

Yıl	Gıda	Hastaneye Yatış	Ölüm
2021	Pişmiş tavuk	3	1
	Meksika peyniri	12	1
2020	Şarküteri etleri	12	1
	Enoki mantarları	31	4
2019	Haşlanmış yumurta	5	1
	Dilimlenmiş et ve peynir ürünleri	10	1
2018	Domuz eti ürünü	4	0
	Şarküteri jambonu	4	1
2017	Yumuşak, çiğ süt peyniri	8	2
2016	Dondurulmuş sebze	9	3
	Paketlenmiş salata	19	1
	Çiğ süt	2	1
2015	Yumuşak peynir	28	3
	Dondurma	10	3
2014	Ambalajlı karamelli elma	34	7
	Fasülye filizi	5	2
	Yumuşak peynir	4	1
	Taze peynir	7	1
2013	Peynir	6	1
2012	Ricotta salata peyniri	20	4
2011	Kavun (Cantaloupe)	143	33

Çizelge 2.4 2011-2019 yılları arasında Avrupa Birliği'nde yaşanan listeriyozis salgınları

Yıl	Onaylanmış vaka sayısı	Hastaneye Yatış	Ölüm
2019	2,621	1,233	300
2018	2,549	1,048	229
2017	2,480	1,002	225
2016	2,536	961	247
2015	2,206	964	270
2014	2,161	812	210
2013	1,763	735	191
2012	1,642	1,504	198
2011	1,476	645	134

2.5 Bakteriyosinler

Bakteriyosinler; belirli bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen, düşük moleküler ağırlıklı, bakteriyostatik ya da bakteriyosidal etki gösteren peptitlerdir (Juturu ve Wu 2018, Kassaa vd. 2019). Bakteriyosinler çoğunlukla Gram (+) ve Gram (-) bakteriler tarafından üretilse de bazı *Archea* üyeleri tarafından da üretilen bakteriyosinlerin olduğu bildirilmiştir (Zhang vd. 2018). Bakteriyosinler, antibiyotiklere ve gıda koruyucularına alternatif olma potansiyelleri nedeniyle ilgi çekmektedir Bakteriyosinler günümüzde gıda sanayi, tarım, veterinerlik ve medikal uygulamalar gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Bali vd. 2016, Ahmad vd. 2017).

Her suş ürettiği bakteriyosine karşı spesifik bağışıklık mekanizmasına sahip olduğu için, söz konusu bakteriyosin sadece diğer bakterilere karşı aktiftir. Bu nedenle bakteriyosinler inaktive edebileceği diğer mikroorganizmaları elimine ederek, köken aldıkları bakteri hücrelerinin hayatta kalmasını desteklemektedir (Santos vd. 2018). Bakteriyosinler dar ve geniş etki spektrumlu olabilirler (Juturu ve Wu 2018).

Bakteriyosinlerin hedef hücreleri inhibe etme mekanizmaları, sitoplazmik membranda iyon iyon geçirgen kanalların oluşumu, DNA'nın spesifik olmayan şekilde parçalanması

ve peptidoglikan tabakanın veya protein sentezinin inhibisyonu şeklinde gerçekleşmektedir (Zhang vd. 2018).

Bakteriyosinlerin keşfi, antibiyotiğin keşfinden daha önceki tarihlere dayanmaktadır. 1925 yılında *Escherichia coli* tarafından sentezlenen kolisin Andre Gratia tarafından tanımlanmıştır (Balciunas vd. 2013, Kastin 2013). 1933 yılında Whitehead tarafından *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* tarafından üretilen antibakteriyel madde keşfedilmiş ve bu madde daha sonraları nisin olarak adlandırmıştır. Nisinin ilk kez 1953 yılında İngiltere'de ticari olarak satışı başlamıştır. Nisin 1969'da WHO Uzman Komitesi ve FAO yetkilileri tarafından güvenli bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilmiştir. Nisin 1983 yılında Avrupa'da E234 kodu ile gıda katkı maddeleri listesine eklenmiştir. FDA tarafından gıdalarda kullanımı onaylanmış ve ilk kez işlenmiş peynirde kullanılmıştır. 1988 yılında GRAS (Generally Regarded as Safe: Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen) statüsünü almıştır. 2001 yılında kanatlı ürünleri ve pişmiş etlerde antimikrobiyel ajan olarak kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. Bugün 50'den fazla ülkede gıda koruyucusu olarak kullanılmaktadır (O'Connor ve Shand 2002, Bemena vd. 2014, Juturu ve Wu 2018, Hashim vd. 2019). Günümüzde nisin ve *Pediococcus acidilactici* tarafından üretilen pediyosin PA-1'in ticari olarak üretimi yapılmaktadır (Deegan vd. 2006).

Gıdalarda bakteriyosinlerin kullanım potansiyelleri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda gıda patojenlerinin biyokontrolünde başarılı sonuçlar alınmakta ve gelecek vadeden bir yöntem olarak görülmektedir. Bakteriyosinlerin renksiz, kokusuz ve tatsız olması da gıdalarda kullanımında avantaj sağlamaktadır. Protein veya peptit yapıda oldukları için sindirim enzimleri tarafından kolaylıkla parçalanabilmektedir. Isıya dayanıklı olan bakteriyosinlerin et ve süt ürünleri başta olmak üzere ısıl işlem gören gıdalarda patojenlerin biyokontrolünde kullanılma potansiyelleri bulunmaktadır (Üstündağ ve Yalçın 2017).

Bakteriyosinlerin gıda patojenlerine karşı biyokoruyucu olarak gıda üretiminde kullanılması çeşitli avantajları da bereberinde getirmektedir (Dinçer vd. 2010). Bunlar;

- Gıdalarda kimyasal koruyucu kullanımı sınırlandırılabilmekte veya tamamen sonlandırılabilmektedir.
- Gıdaların raf ömrü uzatılabilmektedir.
- Üretim zinciri boyunca gıdayla taşınan patojenlerin kontaminasyon riski azalmaktadır.
- Gıda bozulmalarından kaynaklı ekonomik kayıplar azaltılabilmektedir.
- Daha az prosesin uygulanmasına olanak vererek, gıdaların organoleptik özelliklerinin ve besin değerlerinin korunmasına yardımcı olmaktadır.

Gıdalarda bakteriyosin kullanımında; doğrudan gıdaya ekleme, ambalaj materyali ile birlikte kullanma ya da bakteriyosin sentezleyen kültürün gıdaya inokülasyonu gibi uygulamalar mevcuttur. Kimyasal koruyucuların aksine; bakteriyosinlerin gıdalarda çok düşük konsantrasyonlarda kullanımı bile letal antimikrobiyel etki sağlamaktadır (Kurt ve Zorba 2005, Kumar vd. 2017).

2.5.1 Bakteriyosinlerin sınıflandırılması

Bakteriyosinler biyokimyasal ve genetik özelliklerine, disülfit veya monosülfit bağlarının varlığına, proteolitik enzim stabilitesine, amino asitlerin translasyon sonrası modifikasyonunun varlığına ya da yokluğuna, moleküler ağırlığına, ısı stabilitesine ve antimikrobiyel etkilerine göre birçok sınıflandırma şemaları mevcuttur (Ahmad vd. 2017).

2.5.1.1 Gram (+) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler

Gram (+) bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinlerin sınıflandırılmasında, 1993 yılında Klaenhammer tarafından laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılmasında kullanılan şema temel alınmıştır (Alvarez-Sieiro vd. 2016). Önceki çalışmalarda bu bakteriyosinlerin sınıflandırılmasında farklı kriterlere göre farklı sınıflandırmalar yapılmıştır (Cui vd. 2012). Bu çalışmalarda bakteriyosinlerin ısı direnci, tripsin duyarlılığı, konak aralığı, çeşitli bakteriyosin ve konak kombinasyonları arasındaki çapraz reaktivite derecesi temel alınmış ve

bakteriyosinlerin sekiz grupta sınıflandırılması önerilmiştir. Bu sistemin yerini, bakteriyosinleri dört ana sınıfa ayıran Klaenhammer tarafından geliştirilen sistem almıştır (Rea vd. 2011). Çizelge 2.5'te bu grupta yer alan bakteriyosinler kısaca özetlenmeye çalışılmıştır (Kaškonienė vd. 2017, Acedo vd. 2018, Ibrahim 2019, Kumariya vd. 2019, Vasilchenko ve Valyshev 2019, Newstead vd. 2020).

Sınıf I Bakteriyosinler (Lantibiyotikler): Yapılarında Lantiyonin ve β-metillanlantiyonin gibi translasyon sonrası modifiye olan grupları içerirler. Ayrıca yapılarında dehidre ve ender rastlanan amino asitleri barındırmaktadır (Ibrahim 2019). Yaklaşık 60 lantibiyotik bilinmekte ve %30'u LAB tarafından sentezlenmektedir. Bu bakteriyosinler ısıya dayanıklı peptitlerdir ve genellikle Gram (+) bakterilerin hücre duvarını hedef alırlar (Ahmad vd. 2017). Tipik olarak 19-50 amino asitten oluşurlar (Kumariya vd. 2019). Düşük moleküler ağırlığa (<10 kDa), hidrofobik ve katyonik peptitlere sahiptirler (da Costa vd. 2019). Sınıf I bakteriyosinlerin etki mekanizması genellikle, bakteri hücre zarındaki bazı bileşenleri, özellikle Gram (+) bakterilerde lipit II bileşenini hedef alacak şekilde çalışmaktadır. Hedef hücre zarında gözenek oluşumu ve hedef hücre duvarında peptidoglikan biyosentezinin inhibisyonu yoluyla bakterileri öldürme yeteneğine sahiptirler (İpçak vd. 2017). Sınıf I bakteriyosinleri sınıf Ia, sınıf Ib ve sınıf Ic olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır (Rea vd. 2011). Sınıf Ia Gram (+) LAB tarafından ribozomal olarak sentezlenen hidrofobik, polisiklik antimikrobiyel peptitlerdir. *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin, bu sınıfın ana temsilcisidir (Neves vd. 2016). Sınıf Ib ise tetrasiklik lantibiyotikler olarak adlandırılmakta ve Gram (+) patojenik bakterilere karşı antimikrobiyel aktivite göstermektedir. Bu grup bakteriyosinler beta-metillantiyonini içermekte olup, yapılarında 19 amino asit kalıntısını da içerirler. *Bacillus* türleri tarafından sentezlenen Mersacidin grubun en çok bilinen üyesidir (Ibrahim 2019). Sınıf Ic grubunun tipik üyeleri ise subtilosin A ve thuricin CD'dir. Subtilosin A, 35 amino asit uzunluğunda olup, siklik peptit yapısındadır. *Bacillus subtilis* tarafından sentezlenmekte ve geniş spektrumlu bir etki göstermektedir. Mikromolar konsantrasyonlarda bile hem Gram (+) ve hem de Gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyel aktiviteye sahiptir (Alvarez-Sieiro vd. 2016, Acedo vd. 2018, Vasilchenko ve Valyshev 2019).

Çizelge 2.5 Gram (+) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması

Sınıf		Alt sınıf	Örnek	Üretici Suş	Etki mekanizması	Bakteriyel spektrum	Reseptör
Modifikasyona uğrayan Lantibiyotik	I	Ia	Nisin	*Lactococcus lactis*	Gözenek oluşumu ile membran geçirgenliği	Gram (+) bakteriler	Lipit II
		Ib	Mersacidin	*Bacillus* spp.	Bilinmiyor	HIV, HSV	
		Ic	Thuricin CD	*B. thuringiensis*		Gram (+) bakteriler	Bilinmiyor
Modifikasyona uğramamış Lantibiyotik olmayan	II	IIa	Pediocin PA-1	*Pediococcus acidilactici*	Gözenek oluşumu ile membran geçirgenliği	Gram (+) ve Gram (-) bakteriler	Mannoz geçirgenliği
		IIb	Lactococcins G	*L. lactis*		Gram (+) bakteriler	UppP (undekaprenil pirofosfat fosfataz)
		IIc	Enterocin AS-48	*Enterococcus faecalis*			ABC taşıyıcı
		IId	Lactococcin A	*L. lactis*			Metallopeptidaz
Protein ısıya duyarlı	III	IIIa	Lysostaphin	*Staphylococcus simulans*	Gözenek oluşumu ile membran geçirgenliği	Gram (+) bakteriler	Peptidoglikan tabakası
		IIIb	Helveticin J	*L. helveticus*		Gram (+) ve Gram (-) bakteriler	Bilinmiyor
Kompleks protein	IV		Sublancin	*B. subtilis* 168	Bilinmiyor	Gram (+) bakteriler	Bilinmiyor
			Glycocin F	*L. plantarum*			

Sınıf II Bakteriyosinler: Bu grupta doğrusal, ısıya dayanıklı, hidrofobik, katyonik, lantiyonin gibi modifiye amino asitleri içermeyen ve 10 kDa'nın altında moleküler ağırlığa sahip olan bakteriyosinler yer almaktadır (Bédard ve Biron 2018, Vasilchenko ve Valyshev 2019, Newstead vd. 2020). Sınıf II bakteriyosinler genellikle hedef hücrenin sitoplazmik zarını depolarize ederek hücre ölümünü destekleyen amfifilik sarmal bir yapıya sahiptir (Wang vd. 2019). Sınıf II bakteriyosinler sınıf IIa, sınıf IIb, sınıf IIc ve sınıf IId olmak üzere dört alt gruba ayrılır (Haugen vd. 2008).

Sınıf IIa tek peptitli pediyosin benzeri bakteriyosinler olarak da bilinmektedir (Hassan vd. 2012). Genellikle kısa katyonik, ısıya dayanıklı ve 37-48 amino asit kalıntısı uzunluğundaki modifiye edilmemiş peptitler şeklindedir. Pediyosin PA-1, sakasin A, sakasin P, leukosin A, karnobakteriyosin B2, curvacin A, enterosin A ve enterosin P gibi tanımlanmış 50'den fazla üyesi olan en büyük alt sınıftır (da Costa vd. 2019). Pediyosin PA-1 bu grup içinde üzerinde en çok çalışılan antimikrobiyel maddedir. Pediyosin PA-1 YGNGYV (sırasıyla tirozin, glisin, asparajin, glisin, tirozin ve valin) amino asit motifi içeren hidrofilik N-terminal ucu ve hidrofilik veya amfifilik C-terminal ucu içeren, düşük moleküler ağırlıklı katyonik peptittir (Ibrahim 2019). Sınıf IIa bakteriyosinleri *L. monocytogenes*'e karşı yüksek özgüllük gösterir (Bédard ve Biron 2018). *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp. ve *Brochotrix* spp. gibi patojen mikroorganizmalara karşı da antimikrobiyel aktivite gösterebilmektedirler (Ennahar vd. 2000).

Lantibiyotik olmayan iki peptitli bakteriyosinler, Sınıf IIb içinde yer almaktadır (Garneau vd. 2002). İlk kez 1992 yılında Nissen-Meyer ve arkadaşları tarafından laktokoksin G'nin saflaştırılması ve aktivitesinin karakterizasyonu üzerine çalışılmıştır (Nissen-Meyer vd. 1992). *Lactococcus lactis* suşları tarafından sentezlenmektedir ve iki modifiye edilmemiş katyonik peptit içermektedir (Ibrahim, 2019). Sınıf IIb bakteriyosinlerinin etki mekanizması, hedef hücre zarını çeşitli iyonlara karşı geçirgen hale getirerek hücre ölümüne sebebiyet vermektedir (Oppegård vd. 2010).

Sınıf IIc grubu, bakteriyosinlerin N terminal ve C terminal uçlarının arasında oluşan bağ ile karakterize edilmektedir (Bédard ve Biron 2018). Oluşan siklik yapı, lineer

bakteriyosinlere kıyasla daha yüksek stabilite ve antimikrobiyel aktivite göstermektedir (Kıran ve Osmanağaoğlu 2012). Enterosin AS-48, sirkülerin A ve reuterisin 6 gibi çeşitli halkasal antimikrobiyel peptitler bu sınıf içinde yer almaktadrı (Balciunas vd. 2013). *Enterococcus faecalis*'ten üretilen enterosin AS-48, bir baş ve kuyruk peptit bağı ile daireselleştirilmiş 70 amino asit kalıntı zinciri içerir. Gram (+) bakterilere karşı geniş bir inhibitör spektruma sahiptir. Kimyasal koruyucu ilavesi ve fiziksel uygulamalarla birlikte kullanıldığında ise Gram (-) bakterilere karşı da bir inhibisyon aktivitesi gösterebilmektedir (Gabrielsen vd. 2014, Ibrahim 2019).

Sınıf IId farklı yapılara, sentez mekanizmasına ve etki şekline sahip heterojen bir peptit grubudur. Laktokoksin A, aureosin A53 ve enterosin B gibi temsilcilere sahiptir (Alvarez-Sieiro vd. 2016). Sınıf IId bakteriyosinlerinin çoğu lineer, tek zincirli ve tipik olarak modifiye edilmemiş peptitlerdir. Molekül ağırlıkları 10 kDa'nın altındadır (Newstead vd. 2020). Yüksek katyonik peptitler olup, 34-53 amino asit içermektedirler (Perez vd. 2018). Sınıf IId bakteriyosinlerin en iyi örneği olan aureocin A53, *Staphylococcus aureus* A53 tarafından sentezlenmektedir (Lynch vd. 2019). Beş triptofan ve 10 lizin içeren, 51 amino asitten oluşan katyonik peptittir. Triptofan kalıntılarının, antimikrobiyel peptitler ve biyolojik membranlar arasındaki etkileşimde çok önemli rollere sahip olduğu bilinmektedir. Aureosin A53, *Staphylococcus* spp.'nin çoklu antibiyotik dirençli suşlarına ve *L. monocytogenes*'e karşı geniş bir spektrum sergilemektedir (Netz vd. 2002).

Sınıf III Bakteriyosinler: Bu bakteriyosinler ısıya duyarlı ve büyük moleküler ağırlıklı (> 10 kDa) antimikrobiyel proteinlerdir. Sınıf IIIa bakteriyolitik enzimler ve sınıf IIIb litik olmayan enzimler olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar (Alvarez-Sieiro vd. 2016, Newstead vd. 2020). Sınıf IIIa'da yer alan ve proteolitik bir enzim olan lizostafinin patojenlere karşı etkinliği 1960'lardan beri araştırılmaktadır (Newstead vd. 2020). Hücre duvarı yapısındaki peptidoglikanı parçalayarak hedef Gram (+) bakterileri öldürebilmektedir. Lizostafin, *Staphylococcus simulans* tarafından sentezlenen, 27 kDa ağırlığında bir enzimidir (da Costa vd. 2019, İbrahim 2019). Sınıf IIIb'deki bakteriyosinler litik etki gösterememektedir. Helvetisin J, *Lactobacillus helveticus* 481 tarafından üretilen yüksek moleküler ağırlıklı (>37 kDa) bir proteindir (Ahmad vd.

2017). Nötr pH değerlerinde, *Lactobacillus* türlerine karşı aktiviteye sahip, antimikrobiyel proteindir (Bonade vd. 2001). Helvetisin J, yüksek sıcaklığa (1000 °C gibi) 30 dakika maruziyette etkisiz hale gelebilmektedir ve proteolitik enzimlere karşı duyarlıdır. Hedef Gram (+) bakteri hücre duvarını bozabilir ve hedef Gram (-) bakteri hücrelerinin dış zarını bozarak hücre ölümüne yol açabilmektedir (Ibrahim 2019).

Sınıf IV Bakteriyosinler: Bu sınıf, lipit veya karbonhidrat kısımları içeren kompleks bakteriyosinler olarak tanımlanmaktadır. Sublansin ve glikosin F sınıf IV'te ayrı alt sınıflarda yer almaktadır (Ibrahim 2019). Sublancin, *Bacillus subtilis* 168 tarafından üretilen glikopeptittir. *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi çeşitli patojenik bakterileri inhibe edebilmektedir (Ji vd. 2015). Glycocin F, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen, 43 amino asit içeren bir bakteriyosindir. Gram (+) bakterilere karşı geniş bir antimikrobiyel spektruma sahiptir (Amso vd. 2018). Sınıf IV bakteriyosinlerin etki mekanizması veya aktivite spektrumu hakkında çok az şey bilinmektedir (Newstead vd. 2020).

2.5.1.2 Gram (-) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler

Bu grupta yer alan bakteriyosinler, yapısal özellikleri ve biyolojik aktivite mekanizmaları ile ilgili olarak Gram (+) bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinlerden bazı farklılıklara sahiptir. Kolisin proteinleri ve mikrosin peptitleri olmak üzere 2 gruba ayrılırlar (Vasilchenko ve Valyshev, 2019). Çizelge 2.6'da bazı Gram (-) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler özelenmeye çalışılmıştır (Juturu ve Wu 2018).

Çizelge 2.6 Gram (-) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması

Bakteriyosin	Alt sınıf	Örnek
Kolisin	Gözenek oluşturan kolisinler	Kolisin A, B, E1, Ia, Ib, K, N
	Nükleaz tipi kolisinler	Kolisin E2 to E9
	Peptidoglikanaz kolisinler	Kolisin M
Mikrosin	Sınıf I	Mikrosin B17, C7-C51, D93, J25
	Sınıf II	
	• Sınıf IIa	Mikrosin L, V, N
	• Sınıf IIb	Mikrosin E492, M, H74

2.5.1.3 Arkeler tarafından üretilen bakteriyosinler

Arkeler tarafından ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyel peptitler veya proteinler arkeosinler olarak tanımlanır. Halosin ve sülfolobsin olarak literatürde iki tip arkeosin tanımlanmıştır (Charlesworth ve Burns 2015). Çizelge 2.7'de Arkeler tarafından üretilen bakteriyosinler özetlenmeye çalışılmıştır (O'Connor ve Shand 2002, Besse vd. 2015).

2.6 Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bakteriyosinler

Fermantasyon bilinen en eski gıda muhafaza tekniklerinden birisidir. Mikroorganizmaların ve/veya onların doğal metabolik ürünlerinin ampirik uygulaması, insan türünün erken tarihine yani MÖ 10,000 yıl olan Neolitik döneme kadar uzanmaktadır. Biyolojik olarak gıda muhafazasının temel prensibi; belirli mikroorganizmaların ve bunlar tarafından sentezlenen metabolik ürünlerin, gıdanın kalitesini değiştirmeden, gıdalarda bozulma yapan bakterilere ve gıda kaynaklı patojenlere karşı aktivite göstermesidir. Bugün küresel gıda pazarında mikroorganizmaların üretim ve sürdürülebilirlikte rol oynadığı 5,000'den fazla ticari fermente ürün bulunmaktadır. Bunların arasında üretiminde LAB'ın yer aldığı çok sayıda fermente gıda da bulunmaktadır (Vesković-Moračanin vd. 2014).

Çizelge 2.7 Arkeler tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması

Arkeosin		Üretici Suş	Orijin	Spektrum etkinliği
Halosin	**HalH1**	*Haloferax mediterranei* M2a	Solar tuzlalar Alicante, İspanya	*Halobacteriales* üyeleri
	HalH4	*Haloferax mediterranei* R4	Solar tuzlalar Alicante, İspanya	
	HalH6	*Haloferax gibbonsii* Ma2.39	Solar tuzlalar Alicante, İspanya	
	HalS8	Tanımlanmamış halofilik S8a suşu	Büyük Tuz Gölü, ABD	*Halobacteriales* ve *Sulfolobus* üyeleri
Halosin	**HalC8**	*Natrinema* sp. AS7092	Chaidan Tuz Gölü, Çin	*Halobacteriales* üyeleri
	HalR1	*Halobacterium* sp. GN101	Guerrero Negro, Mexico	*Halobacteriales* üyeleri, *Sulfolobus* sp., *Methanosarcina thermophile*
	HalA4	Tanımlanmamış halofilik suş	Solar tuzlalar Tunus	*Halobacteriales* üyeleri, *Sulfolobus* sp.
	HalSech7A	*Haloferax mediterranei* Sech7a	Solar tuzlalar Slovenya	*Halobacterium salinarum* NRC817
Sülfolobsin	-	*Sulfolobus islandicus* HEN2/2	Solfatarik alanlar, İzlanda	*Sulfolobus* sp.

LAB; bakteriyosin, diasetil, organik asit, antifungal peptitler, reuterin, asetoin ve hidrojen peroksit gibi farklı antimikrobiyel maddeler sentezleyebilmektedir. *Firmicutes* filumunda yer alan, Gram (+), spor oluşturmayan, katalaz (-) çubuk ve koklardır (Dinçer vd. 2010). LAB tarafından senezlenen bakteriyosinler Gram (+) bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler sınıfında yer almakta olup, bu sınıftaki en büyük grubu oluşturmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2012). LAB tarafından sentezlenen 230'dan fazla bakteriyosin rapor edilmiştir, ancak bunların yarısının protein ve DNA düzeyinde tanımlaması yapılabilmiştir (Kaškonienė vd. 2017).

LAB içinde yer alan *Lactococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Enterococcus, Pediococcus, Carnobacterium* ve *Streptococcus* cinslerinin bazı üyeleri tarafından üretilen bakteriyosinler araştırmaların özel ilgi odağı olmuştur. Bu bakterilerin çoğunun gıdaların yapısında doğal olarak bulunması nedeniyle, bunlar tarafından sentezlenen bakteriyosinlerin de gıda güvenliğini sağlama konusundaki potansiyellerini ortaya

koymaktadır (Rea vd. 2011). Bu bakteriyosinler ökaryotik hücrelere karşı toksik özellik göstermemektedir. Birçok LAB insan ve hayvan tüketiminde GRAS statüye sahiptir. Antimikrobiyel etkileri, Gram (-) bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinlere kıyasla daha geniş bir spektruma sahiptir (Wayah ve Philip 2018). Gıda kaynaklı hastalıklara ve gıda bozulmalarına neden olan birçok Gram (+) bakteriye karşı da etkili olduğu için, "biyokoruyucu" olarak da isimlendirilmektedirler (Kıran ve Osmanağaoğlu 2012). Bu bakteriyosinler *Listeria* spp., *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens* gibi gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerinde antimikrobiyel etki göstermektedir. Ayrıca bazı Gram (-) bakterileri de inhibe ettiği belirtilmektedir (Dinçer vd. 2010). Çizelge 2.8'de LAB tarafından üretilen bazı önemli Bakteriyosinler yer almaktadır (De Martinis vd. 2002; Kaškonienė vd. 2017).

Çizelge 2.8 Bazı laktik asit bakterileri ve sentezledikleri bakteriyosinler

Üretici LAB	**Bakteriyosin**
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	Nisin A
Lactococcus lactis subsp. *lactis* 1AA17 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 2BB9	Nisin Z
Lactococcus lactis subsp. *lactis* BZ	Laktokoksin BZ
Lactococcus lactis subsp. *cremoris* 2A27	Laktokoksin G
Lactobacillus reuteri	Reuterin
Lactobacillus sakei 148	Sakasin M
Lactobacillus sakei Lb 706	Sakasin A
Lactobacillus sakei LTH 673	Sakasin P
Lactobacillus sakei CTC 494	Sakasin K
Lactobacillus sakei 251	Sakasin B
Lactobacillus sakei Lb 674 *Lactobacillus sakei* Lb 16	Sakasin 674
Lactobacillus sakei D98	Sakasin D98
Lactobacillus sakei L45 *Lactobacillus sakei* 148 *Lactobacillus sakei* V18	Laktosin S
Lactobacillus sakei MN	Sakasin MN
Lactobacillus bavaricus	Bavarisin A
Lactobacillus plantarum KLDS1.0391	Plantarisin MG
L. curvatus LTH 1174	Curvasin A
Enterococcus faecium T136	Enterosin A ve B
Enterococcus faecium CTC 492	Enterosin A
Enterococcus faecium L50	Enterosin L50A ve L50B
Enterococcus faecium DCP 1146	Enterosin 1146
Leuconostoc gelidum A-UAL 187	Leukosin A-UAL
L. mesenteroides TA33a	Leukosin TA33a

Çizelge 2.8 Bazı laktik asit bakterileri ve sentezledikleri bakteriyosinler (devam)

Üretici LAB	**Bakteriyosin**
Leuconostoc curvatus FS47	Kurvatisin FS47
Leuconostoc carnosum B-TA11a	Leukosin B-TA11a
Carnobacterium divergens 750	Divergisin 750
Pediococcus acidilactici PAC1.0 *Pediococcus acidilactici* JD *Pediococcus pentosaceus* Z102	Pediyosin PA1
Pediococcus acidilactici L50	Pediyosin L50
Carnobacterium piscicola mutant LV61	Pisicicolin 61
Carnobacterium piscicola JG126	Pisicicolin 126
Carnobacterium piscicola mutant LV17A	Karnobakteriyosin A
Carnobacterium pisicicola KLV17B	Karnobakteriyosin B1 Karnobakteriyosin B2

Çizelge 2.8'de de görüldüğü üzere, LAB tarafından sentezlenen ve farklı özelliklere sahip pek çok bakteriyosin tanımlanmıştır. Ancak sadece *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin, gıdalarda güvenli bir şekilde kullanım potansiyeline sahip bulunmuştur (Bédard ve Biron 2018). Nisinden sonra üzerinde en fazla çalışma yapılmış olan diğer bir bakteriyosin ise pediyosindir (Balciunas vd. 2013).

2.6.1 Enterosin

Enterococcus türleri tarafından üretilmektedir ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktiviteye sahiptir. Yarı saflaştırılmış veya saflaştırılmış enterosinler, fermente edilmemiş gıda ürünlerinde *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Shigella sonnei, Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas* spp.'yi inhibe etmek için kullanılabilmektedir. Enterosin CRL35, enterosin AS-48 ve enterosin CCM4231'in süt ürünlerinde *L. monocytogenes* yoğunluğunu azalttığı bildirilmiştir. *Enterococcus* türleri peynirde *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için starter kültür olarak kullanılabilmektedir. Enterosin AS-48, peynirdeki *Bacillus cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes*'e karşı etkilidir. Marul suyunda *L. monocytogenes* ve *B. cereus*'u inhibe ettiği de bilinmektedir (Dillon 2014). *Enterococcus faecium* suşları tarafından üretilen enterosin A'nın kuru fermente sosis, jambon, domuz kıyması, tavukgöğsü ve fermente sucukta yarı saf olarak kullanılması durumunda antilisteriyal özellik gösterdiği saptanmıştır (Liu vd. 2008).

2.6.2 Sakasin

Sakasin A, sakasin P, sakasin Q ve sakasin G, *Lactobacillus* türleri tarafından üretilmektedir. Sakasin A, P ve G sınıf IIa üyesi iken, sakasin Q sınıf IIc grubuna aittir (Dortu vd. 2008). Sakasin A üreticisi *Lb. sakei* Lb706 suşunun *L. monocytogenes* üzerindeki bakterisidal etkisi anlaşıldıktan sonra, Jones vd. (2009) vakumla paketlenmiş kemikli kuzu eti üzerinde bu bakteriyosinin koruyucu etkisini araştırmışlardır. 1,5°C'de 12 haftalık depolamanın sonunda kemikli kuzu eti örneklerindeki *L. monocytogenes* sayısında önemli bir düşüş saptanmışlardır. Tüketime hazır balık ürünleri, taze peynir ve et ürünleri gibi *L. monocytogenes*'in gelişimini destekleyen gıdalarda, bu patojenin gelişimini engellemek amacıyla aktif bir ambalaj materyali geliştirebilmek için sakasin A'nın iyi bir aday olduğu görülmektedir (Mapelli vd. 2018).

Sakasin P *L. monocytogenes, E. faecalis* ve *Carnobacterium* türleri üzerinde antimikrobiyel etkiye sahiptir. Çiğ sığır etinde sakasin P üretici suşu *Lb. curvatus* CWBI-B28 ve sakasin G üretici suşu *Lb. sakei* CWBI-B1365'in tek tek veya birlikte kombin halinde uygulanması durumunda *L. monocytogenes*'i başarıyla inhibe ettiği saptanmıştır (Dortu vd. 2008).

2.6.3 Plantarisin

Lb. plantarum suşları tarafından üretilmektedirler. Sınıf IIb üyesi olan plantarisin EF, plantarisin JK, plantarisin NC8 ve plantarisin J51 katyonik yapıdadır. Translasyon sonrası modifikasyona uğramayan ve sınıf IIc üyesi olan plantarisin A'nın antimikrobiyel etkisi nispeten dardır. Plantarisin EF ve JK ile kıyaslandığında 10-100 kat daha düşük antimikrobiyel aktivite göstermektedir (da Silva Sabo vd. 2014). *Lb. plantarum* O1 suşu tarafından üretilen plantarisin NC8 levreklere uygulandığında raf ömrü on güne; istiridye ve midyelerin ise on üç güne kadar uzadığı tespit edilmiştir. Biyokoruyucu olarak plantarisin NC8'in kullanımının hem ürün güvenliği hem de uzun raf ömrü sağladığı bildirilmektedir (Canak vd. 2017).

2.6.4 Laktisin 3147

Isıya dayanıklı, küçük molekül ağırlıklı (<5 kDa) bir lantibiyotik olan laktisin 3147, gıda koruyucusu olarak umut vadetmektedir (Fallico vd. 2011, Santos vd. 2018). *Lactococcus lactis* DPC3147 suşu tarafından üretilen peptitin *L. monocytogenes* sayısını; yoğurtta %99,9 oranında, süzme peynirde ise %85 oranında azalttığı saptanmıştır (Santos vd. 2018). Çorbada *Bacillus cereus*'a karşı etkili olduğu da gözlenmiş ve %80 düzeyinde bir indirgenme kaydedilmiştir (Morgan vd. 2001). Laktisin 3147, bebek sütünde de test edilmiştir. Bebekler listeriyozis açısından riskli grupta yer aldığı için araştırma sonuçları ayrıca önem taşımaktadır. Bebek sütü formülasyonunda kullanımı, *L. monocytogenes* sayısında %99'dan fazla indirgenme sağlamıştır (Santos vd. 2018). Yapılan çalışmalar söz konusu bakteriyosinin daha geniş gıda yelpazesinde araştırılmasını teşvik etmektedir (Morgan vd. 2001).

2.6.5 Nisin

LAB tarafından üretilen bakteriyosinler içinde karakterizasyonu en iyi yapılanı nisindir (Dinçer vd. 2010). Lantiyonin, metillantiyonin, didehidroaminobütirik asit ve didehidroalanin amino asitlerini içeren 34 amino asit kalıntısına sahip, 3354 Da moleküler ağırlığında ve sınıf I lantibiyotik üyesi olan bir bakteriyosindir. Bu amino asitler, öncü peptitlerin translasyon sonrası modifikasyonu yoluyla nisin peptit zincirine dahil edilir (Neves vd. 2016, Sidhu ve Nehra 2019). Nisin 121ºC'de ısıya dayanıklıdır ancak uzun süreli ısıtmada özellikle pH 5 ila 7 arasında daha az kararlı hale gelmektedir (Zacharof ve Lovitt 2012). Gıda bileşenlerinden genellikle etkilenmemektedir. Pastörizasyon, sterilizasyon ve diğer gıda işleme yöntemlerinden sonra antimikrobiyel aktivitesini korumaktadır (Santos vd. 2018).

Lactococcus lactis subsp. *lactis* tarafından üretilen nisin geniş bir antimikrobiyel spektruma sahiptir. Gıda bozulmalarıyla ilişkili Gram (+) bakterilere ve *Clostridium botulinum*, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyel aktiviteye sahiptir (Balciunas vd. 2013). *Bacillus* ve *Clostridium* gibi bazı bakterilerin spor oluşumunu engellediği de

bildirilmiştir. Nisinin spor oluşturma süreci üzerindeki inhibitör etkisinin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır (Vesković-Moračanin vd. 2014). Hedef suşa bağlı olarak nanomolar konsantrasyonlarda etkili olduğu ifade edilmektedir (Zacharof ve Lovitt 2012).

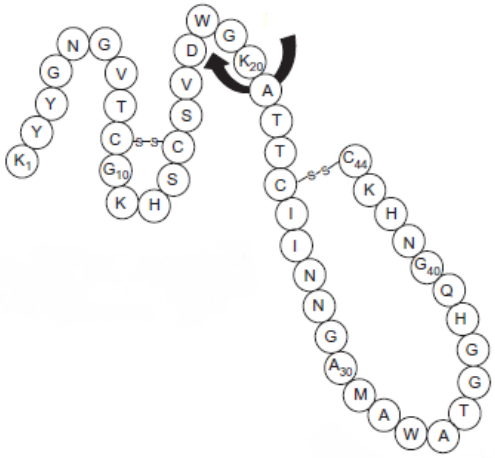
GRAS statüsüne sahip olması, E234 kodu ile gıda katkı maddesi olarak kullanılıyor olması nisini; ticari ve ekonomik alanda önemli kılmaktadır (Dinçer vd. 2010). Nisaplin (Nisin A), nisinin ilk ticari ekstraktı olup 1962-1965 yıllarında geliştirilmiştir (Dinçer vd. 2010). 1988 yılında FDA tarafından onaylandıktan sonra ABD'de peynir, ısıl işlem görmüş ve soğukta depolanmış çorbalar ile soğukta depolanan pastörize peynir ezmelerinde biyokoruyucu olarak kullanım potansiyeli bulmuştur (Zacharof ve Lovitt 2012). Nisin sıvı gıdalarda, katı gıdalara kıyasla daha homojen şekilde dağıldığı için sıvı gıda ürünlerinde daha etkili olduğu belirtilmektedir. Konserve gıdalar, şarap, bira, süt ürünleri, sıvı yumurta, et ve balık ürünleri ile şekerleme gibi farklı ürün gruplarında da nisinin etkili olduğu bildirilmiştir (Batiha vd. 2021).

Gıda endüstrisinde uygulanan ticari nisin 10^6 AU (Arbitrary Unit) / g ile aktif formunun ağırlık/ağırlık olarak %2,5 oranında olmalıdır. FAO/WHO tarafından her gıda türü için (süt ürünleri, et ürünleri, unlu mamuller) kullanılacak nisin miktarı ayrı ayrı belirlenmiştir (Porto vd. 2017).

2.6.6 Pediyosin

Pediyosin sınıf IIa grubu üyesi olup, 36-48 amino asit kalıntısına sahiptir. Ayrıca molekül ağırlığı 10 kDa altındadır (4646,95 Da). Nisinin aksine herhangi bir translasyon sonrası modifikasyona uğramaz (Sidhu ve Nehra 2019). Isıya dayanıklı, lineer ve hidrofobik özellik gösterirler (Balciunas vd. 2013). Genellikle yüksek izoelektrik noktalarına sahip kısa katyonik peptitlerdir (García vd. 2010, Ibrahim, 2019). Sterilizasyon sıcaklıklarında veya -80°C gibi soğuk uygulamalarda dahi bakterisidal etkilerini devam ettirebilmektedirler (Papagianni ve Anastasiadou 2009).

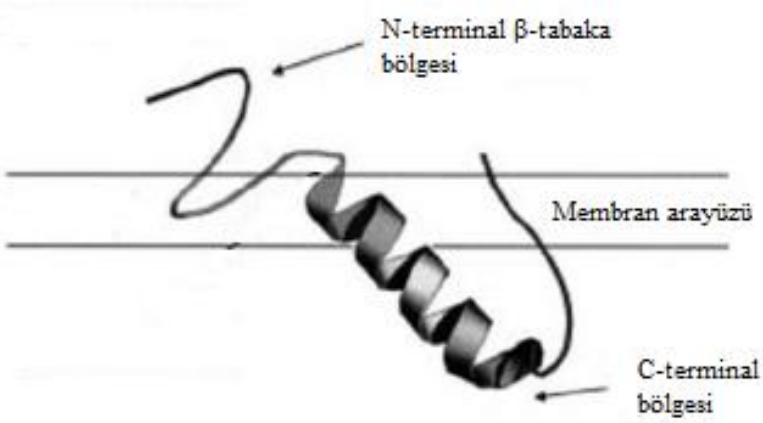
Pediyosin yapısı esas olarak hidrofilik, katyonik N-terminal bölgesi ve hidrofilik veya amfifilik C-terminal bölgesi şeklinde iki bölgeden oluşmaktadır. N-terminal bölgesi özellikle iyi korunmuştur ve korunmuş bir "pediyosin kutusu" motifi (YGNGVXCXK) içermektedir (Rodriguez vd. 2002). Katyonik N-terminal bölgesi ise bir disülfit bağı tarafından desteklenen üç iplikli, antiparalel bir β-tabaka sunmaktadır. Bu disülfit bağı, N terminal bölgesinde bulunan iki sistein kalıntısından (C9 ve C14) oluşur. Yapının sonunda, iki sistein kalıntısı (C24 ve C44) içeren bir C-terminali kuyruğu vardır ve bu kuyruk, bir disülfit bağı ile merkezi α-sarmalına geri katlanır. Ek olarak, N terminal bölgesi ile C-terminal bölgesi arasında, iki bölgenin birbirine doğru hareket etmesine izin veren esnek bir yapı bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Espitia vd. 2016, Porto vd. 2017).



Şekil 2.1 Pediyosin PA-1 için amino asit diziliminin yapısı

Pediyosinin antimikrobiyel aktivitesi, yapısı ile yakından ilişkilidir. Hedef Gram (+) bakterilerin hücre zarında gözenekler oluşturur. Bu gözenekler hücre içi maddelerin dışarı çıkmasına, ATP'nin tükenmesine, proton itici kuvvetin dağılmasına ve nihayet hücre ölümüne sebep olmaktadır. Aktiviteleri için mannoz fosfotransferazın reseptör molekülleri gerekmektedir (Balciunas vd. 2013, Vasilchenko ve Valyshev 2019). Pediyosin PA-1 ile hedef bakteri arasındaki ilk çekim, bakteri zarında gözenek oluşumundan önce meydana gelmektedir. Bu ilk çekim esas olarak, *L. monocytogenes* gibi Gram (+) bakterilerin yüzeyindeki ana bileşen olan lipotaykoik asit ile N-terminal bölgesindeki katyonik, antiparalel β tabaka alanının aracılık ettiği elektrostatik etkileşimlerdir. Bu elektrostatik etkileşimler, doğal iki değerlikli katyonları hücre

yüzeyinden uzaklaştırır ve böylece dış zarın dengesini bozar. Sonrasında ise peptidin girişini ve ardından sitoplazmik zar ile peptit temasını kolaylaştırır (Şekil 2.2) (Espitia vd. 2016).



Şekil 2.2 Pediyosin benzeri bakteriyosinlerin önerilen yapısı

Proteolitik enzimler (tripsin, papain, fisin ve α-kimotripsin gibi) pediyosinin antimikrobiyel etkisini azaltmakta veya yok etmektedir. Bununla birlikte lipaz, fosfolipaz C, lizozim, DNaz veya RNaz ile yapılan çalışmalarda, bu enzimlerin pediyosinin antimikrobiyel aktivitesini etkilemediği saptanmıştır (Rodriguez vd. 2002).

44 amino asitten oluşan Pediyosin PA-1, IIa alt sınıfına ait bakteriyosindir. İlk olarak *Pediococcus acidilactici*'den izole edilmiştir. Daha sonraları ise *Pediococcus* cinsine dahil farklı türler tarafından da üretildiği saptanmıştır (Balciunas vd. 2013). 1996 yılında Ennahar ve arkadaşları tarafınadn Munster peynirinde pediyosin AcH üretebilen bir *Lb. plantarum* suşu izole edilmiştir. Araştırıcılar pediyosinin farklı cins bakteriler tarafından da sentezlenebildiğini özellikle vurgulamak istemişlerdir (Ennahar vd. 1996).

Pediyosin genel olarak *P. ethanolidurans, P. pentosaceus, P. claussenii, P. cellicola, P. acidilactici, P. parvulus, P. inopinatus, P. stilesii* ve *P. damnosus* dahil olmak üzere homofermentatif ve Gram (+) bir bakteri olan LAB üyesi *Pediococcus* spp. tarafından üretilmektedir (Batiha vd. 2021). Pediyosin üretici suşlar farklı fermente gıdalardan kolaylıkla izole edilebilmektedir (Vasilchenko ve Valyshev 2019).

Pediyosin *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp. ve *Brochotrix* spp. gibi patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmalara karşı etkili olmakla birlikte, *L. monocytogenes*'e karşı da oldukça yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahiptir (Sidhu ve Nehra 2019). Ancak pediyosinin gıda patojenlerinin spor formlarına karşı etkili olmadığı saptanmıştır (Vasilchenko ve Valyshev 2019). Ancak pediyosinin nanomolar miktarda bile gıda patojenlerinin vejetatif formlarına karşı antimikrobiyel etkinliğe sahip olması dikkate değerdir (Porto vd. 2017).

Pediyosinin antimikrobiyel aktivitesi üzerine pH, tuz konsantrasyonu, ısı, proteolitik enzimler ve depolama süresi gibi çeşitli parametreler etki etmektedir. Fermente sosisler, sebzeler ve süt ürünlerinin muhafazasında pediyosinin kullanım olanakları üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Batiha vd. 2021). Özellikle pediyosinin et ürünlerinde kullanımı sonucunda *L. monocytogenes* üzerinde baskılayıcı etki yarattığına dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Balciunas vd. 2013, Santos vd. 2018).

Nisin ile kıyaslandığında pediyosin, *Listeria* spp.'ya karşı daha yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahiptir. Toksik özellik göstermeyen bu peptitler, birçok gıda uygulamalarında genel olarak güvenli kabul edilmektedir (Kumar vd. 2017).

2.7 *Listeria monocytogenes*'in Pediyosin ile Biyokontrolü

Gıdalarda bakteriyosinlerin biyokontrol ajanı olarak farklı yöntemlerle kullanılabilmektedir. Bunlar;

1. Doğrudan saflaştırılmış bir bileşik halinde gıdalarda üretim sürecinde kullanımı (Direkt kullanım),
2. Üretici suşun gıda üretim sürecinde kullanılması (Dolaylı kullanım).

Gıdanın yapısı ve kullanılacak olan bakteriyosinin türü, bu yöntemlerden hangisinin kullanılacağına etki etmektedir. Bakteriyosinlerin gıda matriksine doğrudan ileve edilmesinin birtakım dezavantajları bulunabilmektedir. Bunlar bakteriyosinin enzimatik bozunma uğraması veya protein ve lipit gibi gıda bileşenleri ile etkileşimleri sonucunda zamanla aktivitesinde kayıplar yaşanması şeklinde özetlenebilir. Üretici suşun gıda

sistemine dahil edilerek bakteriyosinin gıda içinde üretimi ise özellikle fermente sosis, ekşi hamur ve süt ürünleri gibi fermantasyon işlemi içeren gıdaların üretiminde zorunludur. Bu tip uygulamalarda kullanılacak bakteriyosin üreticisi kültürün gıda ortamında hayatta kalabilmesi, ürünün tadı ve kalitesi üzerinde olumsuz etkisi olmaması ve söz konusu antimikrobiyel maddenin hedef mikroorganizmayı inhibe edecek miktarda üretebilmesi gerektirmektedir (Hartmann vd. 2011).

Pediyosin gıda yüzeylerine spreyleme veya gıdanın pediyosin çözeltisine daldırılması şeklinde uygulamaları bulunmaktadır (Maks vd. 2010, Nieto-Lozano vd. 2010). Pediyosinin nisin gibi diğer bakteriyosinlerle veya diğer antimikrobiyel bileşiklerle birlikte uygulanması ya da pediyosinle birlikte sıcaklık, basınç, farklı koruyucu maddelerin kombine sistemler halinde gıdalarda kullanımı durumunda, *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivitesi artmaktadır (Hartmann vd. 2011, Komora vd. 2020).

2010 yılında İspanya'da yapılan bir çalışmada, baharatlı Alman sosisi ve İspanyol kuru fermente sosis numunelerine sırasıyla pediyosin PA-1 ve pediyosin üreticisi *P. acidilactici* MCH14 suşu uygulanmıştır. *P. acidilactici* MCH14 suşu, İspanyol kuru fermente sosis örneklerinde *L. monocytogenes* sayısında 2 log'luk azalma sağlamıştır. Baharatlı Alman sosisinde ise *P. acidilactici* MCH14 suşunun ürettiği pediyosin PA-1 5000 AU/mL düzeyinde uygulanmıştır. Örnekler 4°C'de 60 gün ve 15°C'de 30 gün depolandığında patojen sayısında sırasıyla 2 ve 0,6 log'luk azalma kaydedilmiştir. Araştırıcılar tarafından hem pediyosin hem de pediyosin üreticisi suşun et ürünlerinde *L. monocytogenes*'e karşı etkili olduğu vurgulanmıştır (Nieto-Lozano vd. 2010).

Sucukta sıcaklık (56,3-60°C), sodyum laktat (%0-4,8), sodyum diasetat (%0-0,25) ve pediyosin (0-10.000 AU) parametrelerinin farklı kombinasyonlarının *L. monocytogenes* üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tek başına pediyosin çözeltisinin kullanımı halinde 0'dan 5000 AU'e kadar olan uygulamalarda, patojenin D değerinde azalmalar saptanmıştır. Ancak pediyosin konsantrasyonları 7500 ve 10.000 AU'e yükseldiğinde, pediyosinin koruyucu etkisinin devam ettiği saptanırken, D değerinde arttışlar olduğu gözlenmiştir (Maks vd. 2010).

Yapılan benzer bir çalışmada da lökosin A, lökosin B, mundisin L, pediyosin PA-1, sakasin A ve sakasin X üreticisi sekiz farklı bakteri suşunun farklı gıda matrikslerinde *L. monocytogenes*'e karşı etkileri test edilmiştir. 4°C'de süt, kıyma ve sıvı besiyeri (BHI) ortamlarında *L. monocytogenes* sayısında 2,3 log birimlik azalma sağlamak için, bakteriyosinlerin minimal etkili konsantrasyonları belirlenmiştir. Sıvı besiyeri ortamında 52-205 AU/mL konsantrasyon değerleri elde edilirken, gıda ortamları için çok daha yüksek değerler saptanmıştır. Pediyosin PA-1 kullanımı durumunda süt örneği için 307 AU/mL ve kıyma örneği için ise 1024 AU/g değerleri elde edilmiştir. Test edilen tüm uygulamalarda, *L. monocytogenes* inhibisyonu geçici olarak sağlanabilmiştir. Uzun süreli depolama durumunda ise dirençli bakterilerin gelişmeye devam ettiği gözlemlenmiştir (Hartmann vd. 2011).

Kaur vd. (2013) ticari nisin preparatı ile üretici suşlardan saflaştırarak elde ettikleri pediyosin 34 ve enterosin FH99'un farklı kombinasyonlarının *L. monocytogenes* üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bakteriyosinlerin birlikte kullanımının, ayrı ayrı kullanımlarına göre daha etkili bir antibakteriyel etki oluşturduğu vurgulanmıştır.

Taze sebzelerde *L. monocytogenes* kontaminasyonunu önlemek amacıyla, pediyosin ve farklı yıkama solusyonlarının (propiyonik asit, nisin, fumarik asit, klorin dioksit, klorin, trisodyum fosfat, laktik asit vb.) etkisi araştırılmıştır. Brokoli için pediyosin kullanımı patojen sayısında 1,75 log birimlik düşüş sağlarken (sadece su ile muamele edildiği zaman 0,58 log birimlik düşüş); kabak numunelerinde ise 2,28 log birimlik düşüş (sadece su ile muamele edildiği zaman 0,95 log birimlik düşüş) sağladığı kaydedilmiştir (Hoelzer vd. 2014).

Sütte *L. monocytogenes* Scott A ve *L. monocytogenes* 1751 suşlarının kontrolü için yüksek hidrostatik basınç (200- 300 MPa, 5 dakika, 10°C), faj (Listex^{tm} P100) ve pediyosin PA-1 (1280 AU/mL) uygulamaları ayrı ayrı ve kombin halinde denenmiştir. Her üç uygulamanın birlikte kombin halinde uygulanması durumunda patojenin 10^7 KOB/mL'lik kontaminasyon düzeyi 4°C'deki süt örneğinde tamamen inhibe edilmiştir (Komora vd. 2020).

Ramos vd. (2020) tarafından *L. monocytogenes*'in 4 ve 6 log KOB/mL düzeyinde kontamine olmuş marul, roka, maydanoz ve ıspanakta pediyosin DT016 üreticisi suş olan *P. pentosaceus* DT016 suşunun koruyucu kültür olarak kullanım olanakları araştırılmıştır. Depolama süresi (15 gün / 4°C) boyunca, sebzelerdeki patojen sayısı kontrol grubuna göre çok daha düşük olarak tespit edilmiştir. Depolamanın son gününde minimum 1,4 log birimlik fark olduğu görülmüştür. Aynı araştırıcılar tarafından yapılan benzer bir diğer çalışmada ise sebze örnekleri su, klor ve pediyosin DT016 solüsyonu ile yıkandıktan sonra depolama süresince patojen yükü kontrol edilmiştir. Depolama boyunca pediyosin ile yıkanan sebzelerin, su ve klorla yıkananlara kıyasla minimum 2,7 ve 3,2 log KOB/g'dan daha düşük patojen içerdiği tespit edilmiştir. Araştırma elde edilen veriler ışığında taze sebzelerin buzdolabı sıcaklığında uzun süreli depolanmasında pediyosin uygulamasının umut verici bir alternatif yöntem olduğu vurgulanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonunda yer alan ve tüketime hazır gıdalardan izole edilerek moleküler tanımlaması yapılmış olan 28 adet *L. monocytogenes* suşu tez çalışmasında bakteriyel kültür olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan *Listeria monocytogenes* suşları

No	**Suş**
1	*L. monocytogenes* ATCC7644
2	*L. monocytogenes* 3Ç
3	*L. monocytogenes* 77-1
4	*L. monocytogenes* 88-3
5	*L. monocytogenes* 100-18
6	*L. monocytogenes* 104-1P
7	*L. monocytogenes* 107-2
8	*L. monocytogenes* 114-1P
9	*L. monocytogenes* 115-1P
10	*L. monocytogenes* 116-1P
11	*L. monocytogenes* 120
12	*L. monocytogenes* 122-2P
13	*L. monocytogenes* 123-3
14	*L. monocytogenes* 124-2P
15	*L. monocytogenes* 127-4P
16	*L. monocytogenes* 133-1P
17	*L. monocytogenes* 134-1P
18	*L. monocytogenes* 135-1
19	*L. monocytogenes* 136-10
20	*L. monocytogenes* 137
21	*L. monocytogenes* 142-1
22	*L. monocytogenes* 150-3P
23	*L. monocytogenes* 151
24	*L. monocytogenes* 152-3P
25	*L. monocytogenes* 197-1F
26	*L. monocytogenes* 217-2P
27	*L. monocytogenes* 219-3P
28	*L. monocytogenes* 287-1P
29	*L. monocytogenes* 241

3.1.1 Referans bakteri

Tez çalışmasında *L. monocytogenes* ATCC7644 suşu referans bakteri olarak kullanılmıştır.

3.1.2 Pediyosin preparatı

Pediococcus acidilactici tarafından üretilen pediyosin, ticari olarak Sigma Aldrich (Katalog Numarası: 133108-87-9) firmasından temin edilmiştir.

3.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan besiyerleri ve kimyasallar EK 1'de verilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 *Listeria monocytogenes* suşlarının pediyosine karşı duyarlılık düzeyinin saptanması

Suşların pediyosine karşı gösterdikleri duyarlılık düzeylerinin saptanması için öncelikli olarak minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIK) belirlenmiştir. *L. monocytogenes* suşları Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde 35°C'de 18 h inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürlerin 625 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Bakteri kültürlerinin yoğunluğu 0,08-0,13 aralığına (10^8 KOB/mL) denk gelecek şekilde hazırlanmıştır. MIK değerinin tespit edilebilmesi için, 96 kuyucuklu mikroplaklarda mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Saf su kullanılarak 1 µg/mL konsantrasyonunda pediyosin çözeltisi hazırlanmıştır. 100 µL steril TSB besiyerini içeren kuyucukların ilk sırasına stok pediyosin çözeltisinden 100 µL eklenmiştir. Sırayla ilk kuyudan başlayıp bir sonraki kuyuya doğru 100 µL aktarılmış ve her kuyuda 2'nin katları şeklinde artan konsantrasyonlarda pediyosin içerecek şekilde seri dilüsyonlar yapılmıştır. Dilüsyon sonrasında negatif kontrol kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 10 µL kültür süspansiyonu eklenmiştir. Mikroplak ortamları 35°C'de 24 h inkübasyona

bırakılmıştır. Pozitif kontrol olarak pediyosin içermeyen bakteri süspansiyonu, negatif kontrol yani kontaminasyon kontrolü olarak ise sadece TSB besiyeri içeren ortamlar kullanılmıştır.

3.2.2 Bakteri kültürünün hazırlanması

Tez çalışmasının bundan sonraki aşamasına *L. monocytogenes* ATCC7644 referans suşu ve MIK değerleri temel alınarak seçilen *L. monocytogenes* suşu ile devam edilmiştir. Bakteri kültürlerinden tek koloni elde edebilmek amacıyla Tryptic Soy Agar (TSA) ortamlarına sürme işlemi uygulanmıştır. 35°C'de 20-24 h'lik inkübasyonun sonunda alınan tek koloniler, 10 mL TSB ortamına inoküle edilmiştir. 35°C'de 20-24 h'lik inkübasyonun ardından hücre yoğunlukları 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeyine ayarlanmıştır.

3.2.3 Stres faktörü olarak pediyosinin farklı konsantrasyonlarının ayarlanması

Tez çalışmasında *L. monocytogenes* suşlarının gelişiminin engellenmesinde pediyosin stres faktörü olarak kullanılmıştır. Çalışmada pediyosinin 7 µg/mL ve 12 µg/mL düzeyindeki konsantrasyonları *L. monocytogenes* suşlarına karşı denenmiştir.

3.2.4 *In vitro* koşullarda *Listeria monocytogenes* suşları ile pediyosinin karşılaştırılması

Pediyosinin *L. monocytogenes* suşu ile referans suş üzerindeki antimikrobiyel aktivitesi farklı inkübasyon sıcaklık derecelerinde (4°C ve 35°C) araştırılmıştır. Öncelikli olarak steril TSB ortamlarında 18 h'lik bakteri kültürlerinin farklı hücre yoğunlukları (10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL) hazırlanmıştır. Daha sonra herbir hücre yoğunluğu için farklı konsantrasyondaki (7 µg/mL ve 12 µg/mL) pediyosin çözeltileri ayrı ayrı bu ortamlara 100 µL olacak şekilde inoküle edilmiştir. Daha sonra her bir pediyosin + *L. monocytogenes* içeren deney tüpü farklı inkübasyon sıcaklık derecelerinde muhafaza edilmiştir. Depolama süresince belirli aralıklarla alınan

örneklerden hem canlı kültür sayımı yapılmış ve hem de bu ortamların spektrofotometrede 625 nm'de OD değerleri ölçülmüştür.

3.2.5 İstatistiksel analiz

Tez çalışmasında yapılan bütün denemeler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ölçüm değerleri tekrarlı ölçümlerde faktöriyel varyans analizi (ANOVA) ile çözümlenmiştir. Tümel analiz sonrasında anlamlı bulunan faktörler için Post-Hoc çözümlemeler yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre faktörlere ilişkin ölçüm ortalamaları diğer faktörlerin etkisi düzeltilerek kestirilmiş olup "ortalama±std hata" istatistikleri ile birlikte yorumlanmıştır. Post-hoc testlerine ilişkin sonuçlar Bonferroni düzeltmeli olarak, p değerleri ile birlikte değerlendirilmiştir. Çeşitli faktörler altında zamana bağlı bakteri sayılarına ilişkin çözümlemeler ise tekrarlı ölçümlerde faktöriyel ANOVA (split dizayn ANOVA) ile çözümlenmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

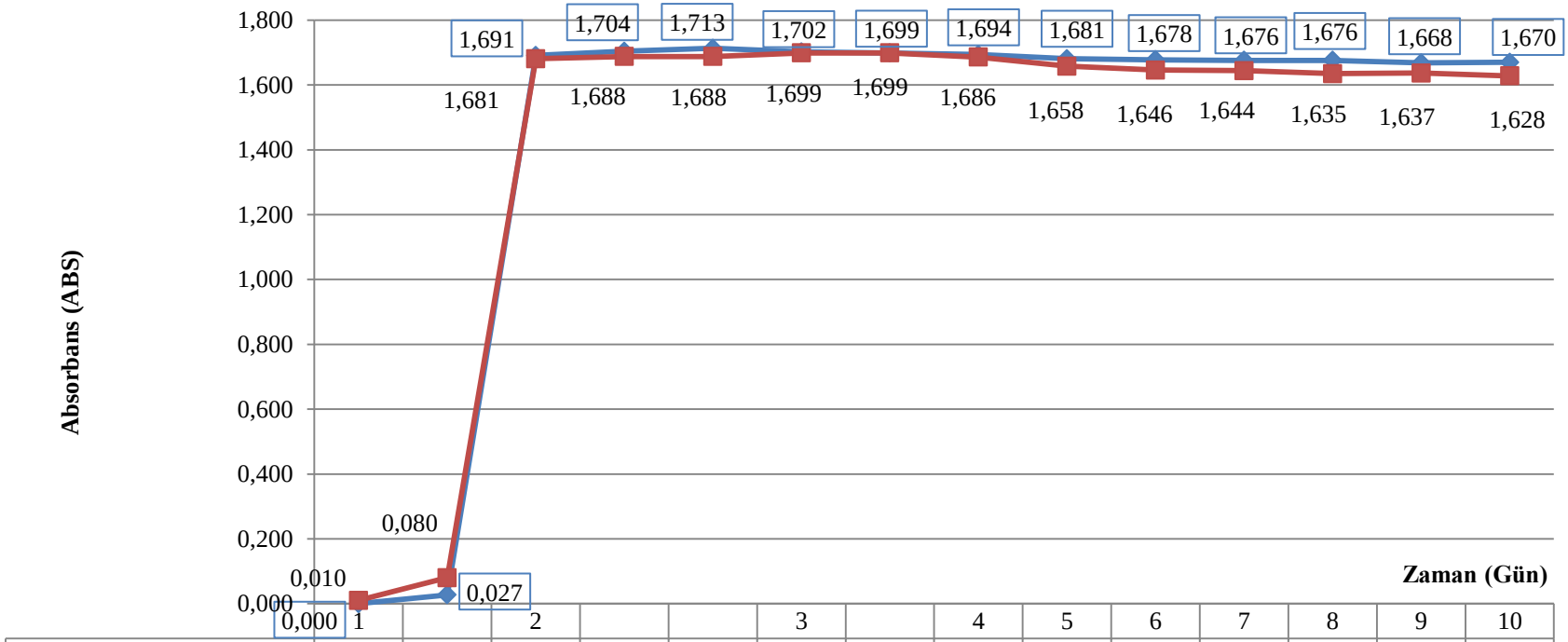
L. monocytogenes suşlarının pediyosine karşı gösterdikleri duyarlılık düzeylerinin saptanmasında MIK değerleri belirlenmiştir. MIK değerleri temel alınarak pediyosine karşı en duyarlı suş olarak tanımlanan *L. monocytogenes* 287-1P seçilmiş (MIK değeri: 0,5 µg/mL) ve tez çalışmasına bu suş ile devam edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan *L. monocytogenes* kültürlerinin (*L. monocytogenes* 287-1P ve *L. monocytogenes* ATCC7644) öncelikli olarak 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeyindeki hücre yoğunlukları hazırlanmış ve bu ortamlar 7 µg/mL ve 12 µg/mL konsantrasyonlarındaki pediyosin ile ayrı ayrı muamele ettirilmiştir. Pediyosin içeren kültür ortamları 35°C ve 4°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Depolama süresince belirli aralıklarla alınan örneklerde hem canlı kültür sayımı yapılmış ve hem de OD değerleri ölçülmüştür.

4.1 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 Suşuna Karşı Pediyosin Uygulaması

4.1.1 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

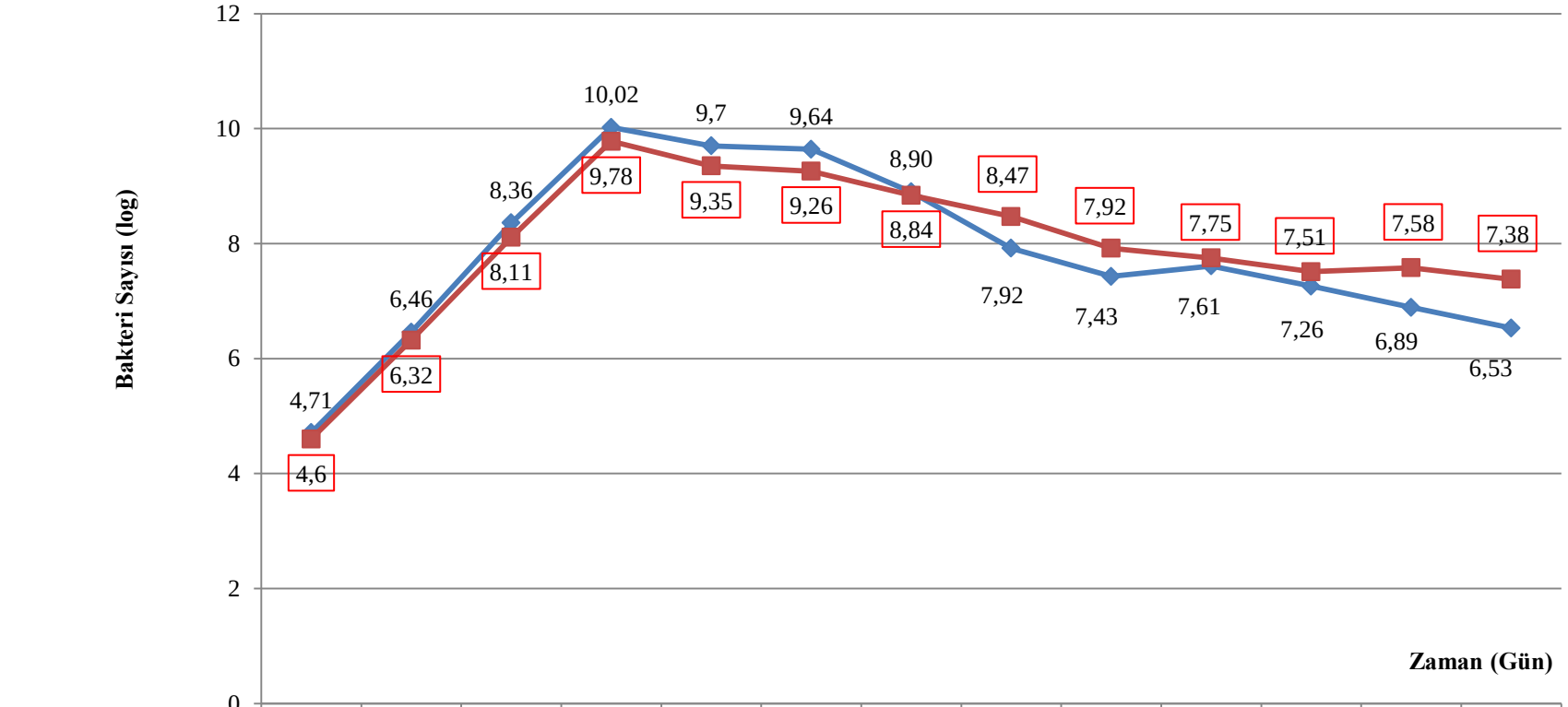
L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^5 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 7 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 35°C'de 13 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.2'de yer almaktadır. İnkübasyonun ilk 7 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,06-0,38 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. *L. monocytogenes* ATCC7644 sayısındaki en yüksek indirgenme oranı 6. günde 0,38 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. Ancak inkübasyonun 8. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır.



	0,000	1		2			3		4	5	6	7	8	9	10
ATCC7644/DENEME	0,000	0,027	1,691	1,704	1,713	1,702	1,699	1,694	1,681	1,678	1,676	1,676	1,668	1,670	
ATCC7644/KONTROL	0,010	0,080	1,681	1,688	1,688	1,699	1,699	1,686	1,658	1,646	1,644	1,635	1,637	1,628	

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

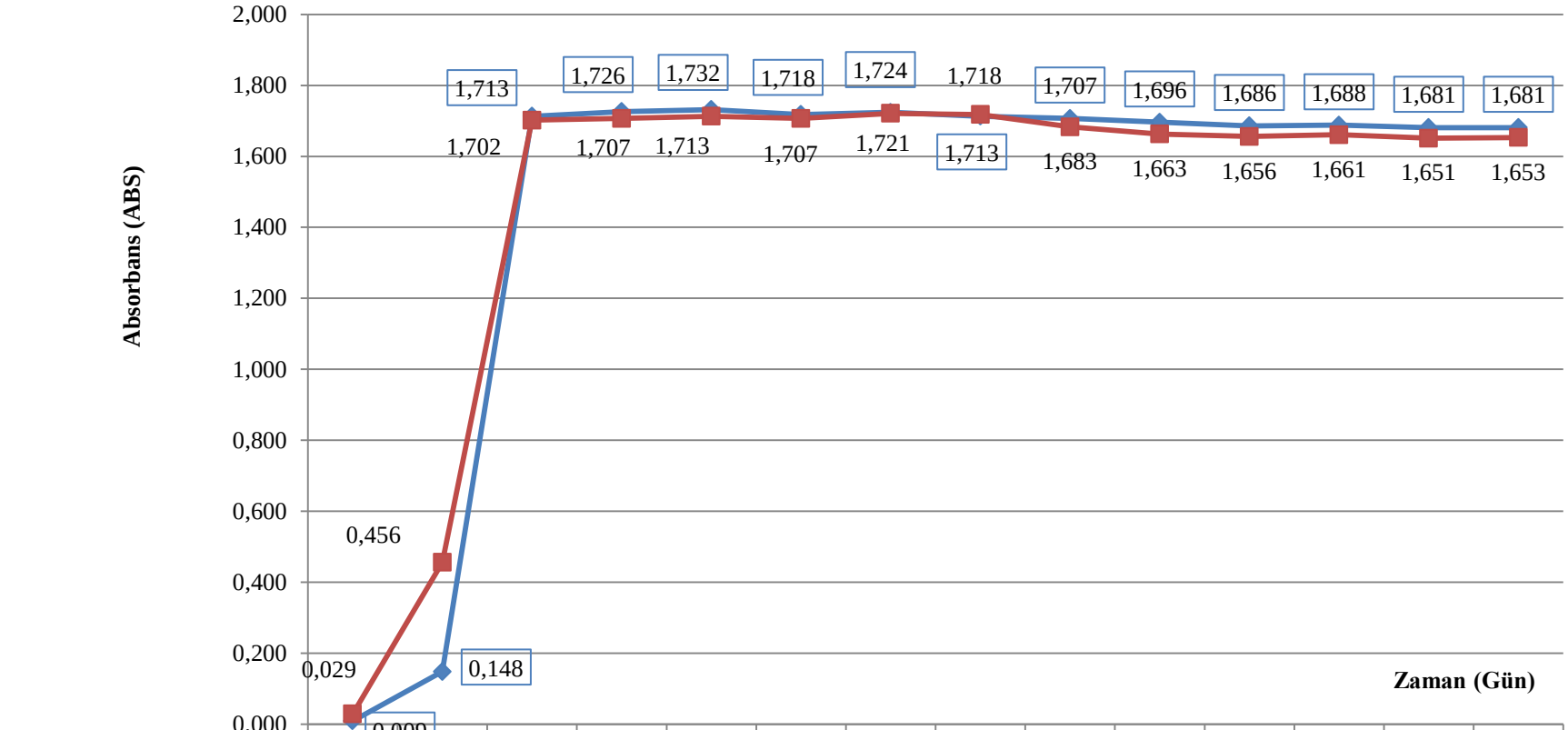
Şekil 4.1 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ATCC/KONTROL	4,71	6,46	8,36	10,02	9,7	9,64	8,90	7,92	7,43	7,61	7,26	6,89	6,53
ATCC/DENEME	4,6	6,32	8,11	9,78	9,35	9,26	8,84	8,47	7,92	7,75	7,51	7,58	7,38

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

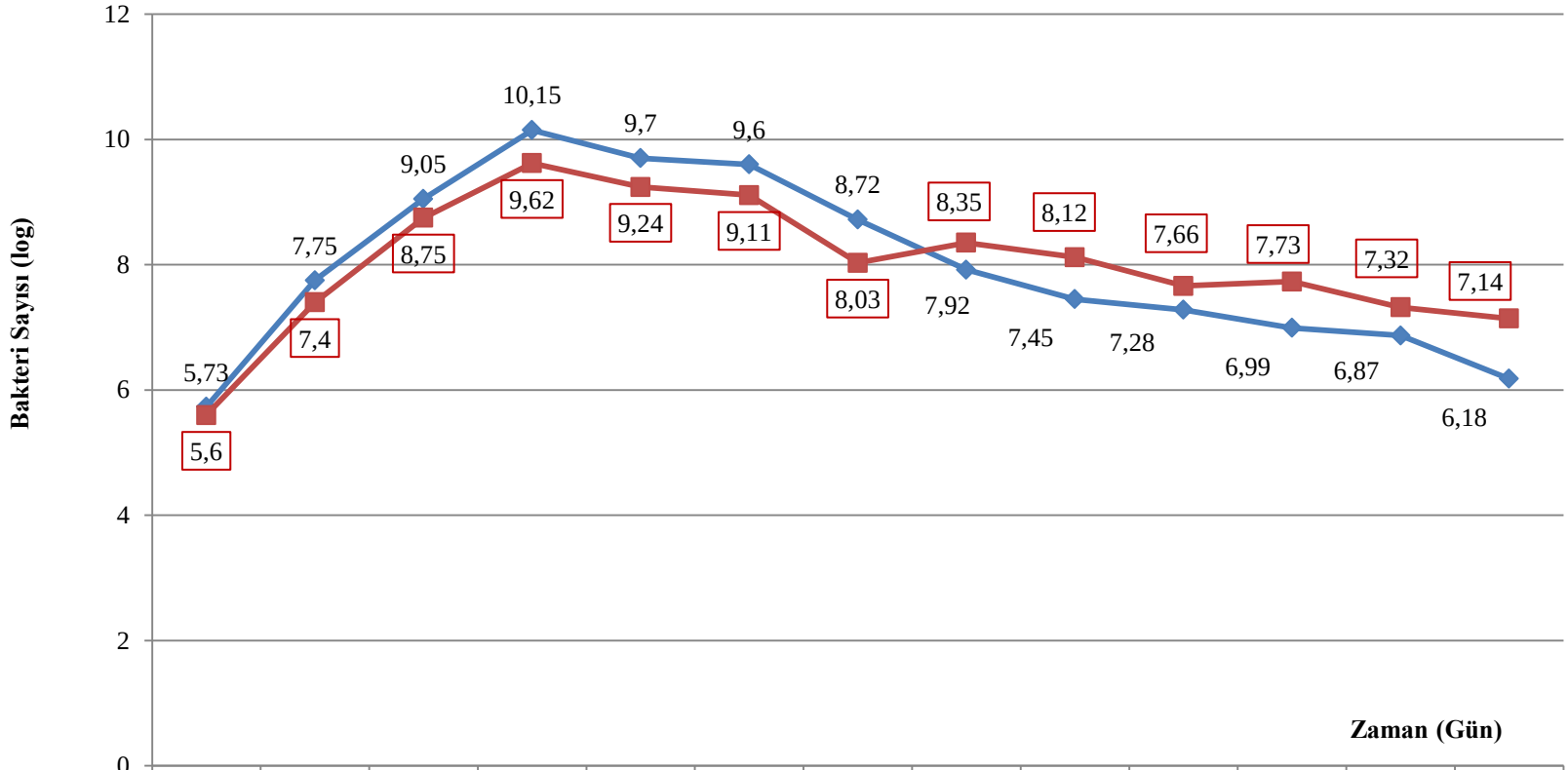
Şekil 4.2 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1		2			3		4	5	6	7	8	9	10
ATCC7644/DENEME	0,009	0,148	1,713	1,726	1,732	1,718	1,724	1,713	1,707	1,696	1,686	1,688	1,681	1,681
ATCC7644/KONTROL	0,029	0,456	1,702	1,707	1,713	1,707	1,721	1,718	1,683	1,663	1,656	1,661	1,651	1,653

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

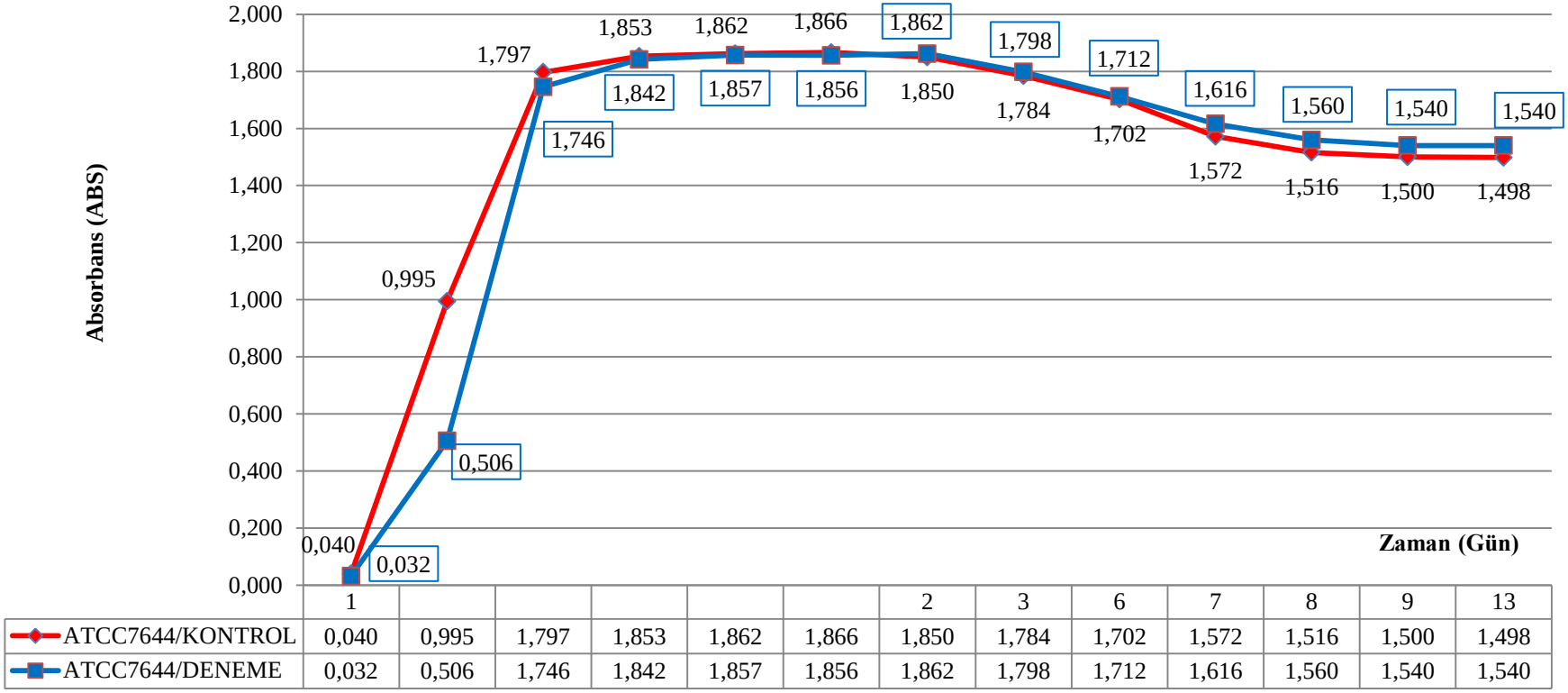
Şekil 4.3 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ATCC/KONTROL	5,73	7,75	9,05	10,15	9,7	9,6	8,72	7,92	7,45	7,28	6,99	6,87	6,18
ATCC/DENEME	5,6	7,4	8,75	9,62	9,24	9,11	8,03	8,35	8,12	7,66	7,73	7,32	7,14

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

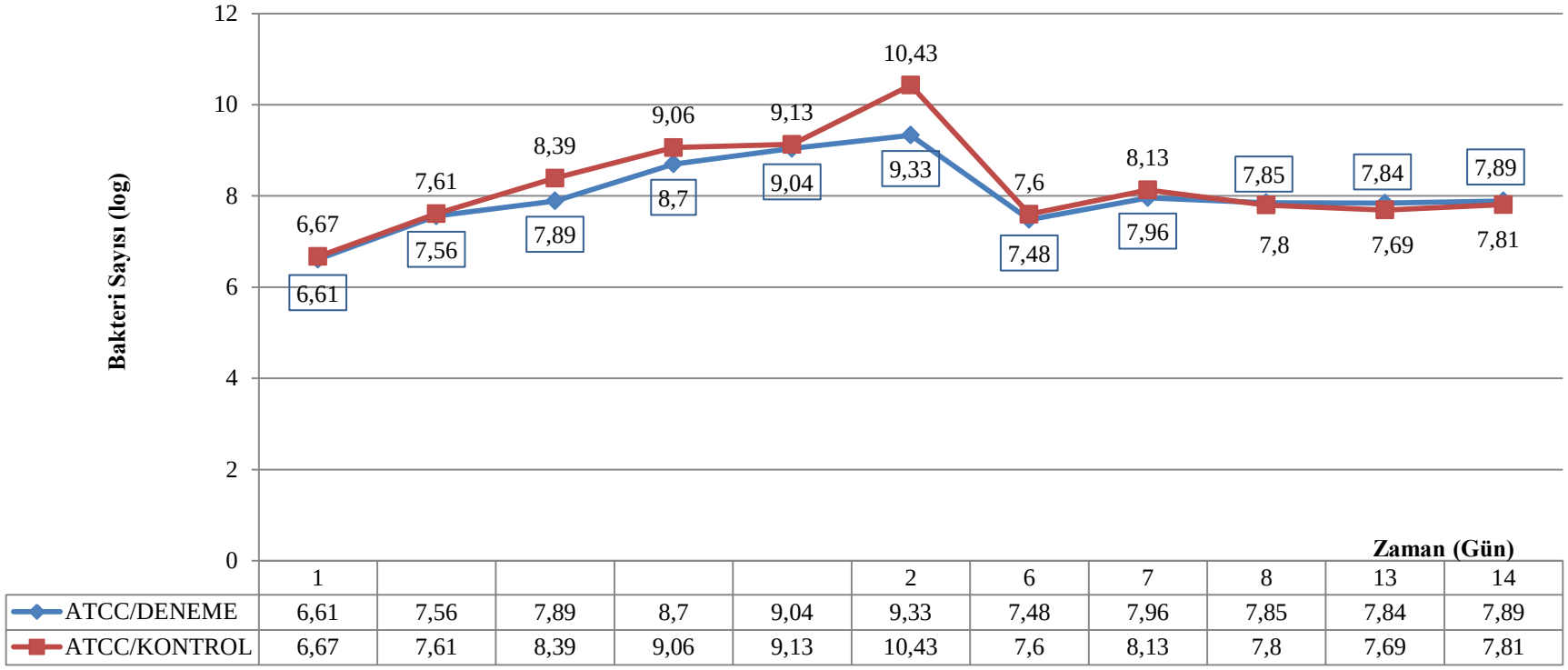
Şekil 4.4 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1						2	3	6	7	8	9	13
ATCC7644/KONTROL	0,040	0,995	1,797	1,853	1,862	1,866	1,850	1,784	1,702	1,572	1,516	1,500	1,498
ATCC7644/DENEME	0,032	0,506	1,746	1,842	1,857	1,856	1,862	1,798	1,712	1,616	1,560	1,540	1,540

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.5 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1					2	6	7	8	13	14
ATCC/DENEME	6,61	7,56	7,89	8,7	9,04	9,33	7,48	7,96	7,85	7,84	7,89
ATCC/KONTROL	6,67	7,61	8,39	9,06	9,13	10,43	7,6	8,13	7,8	7,69	7,81

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

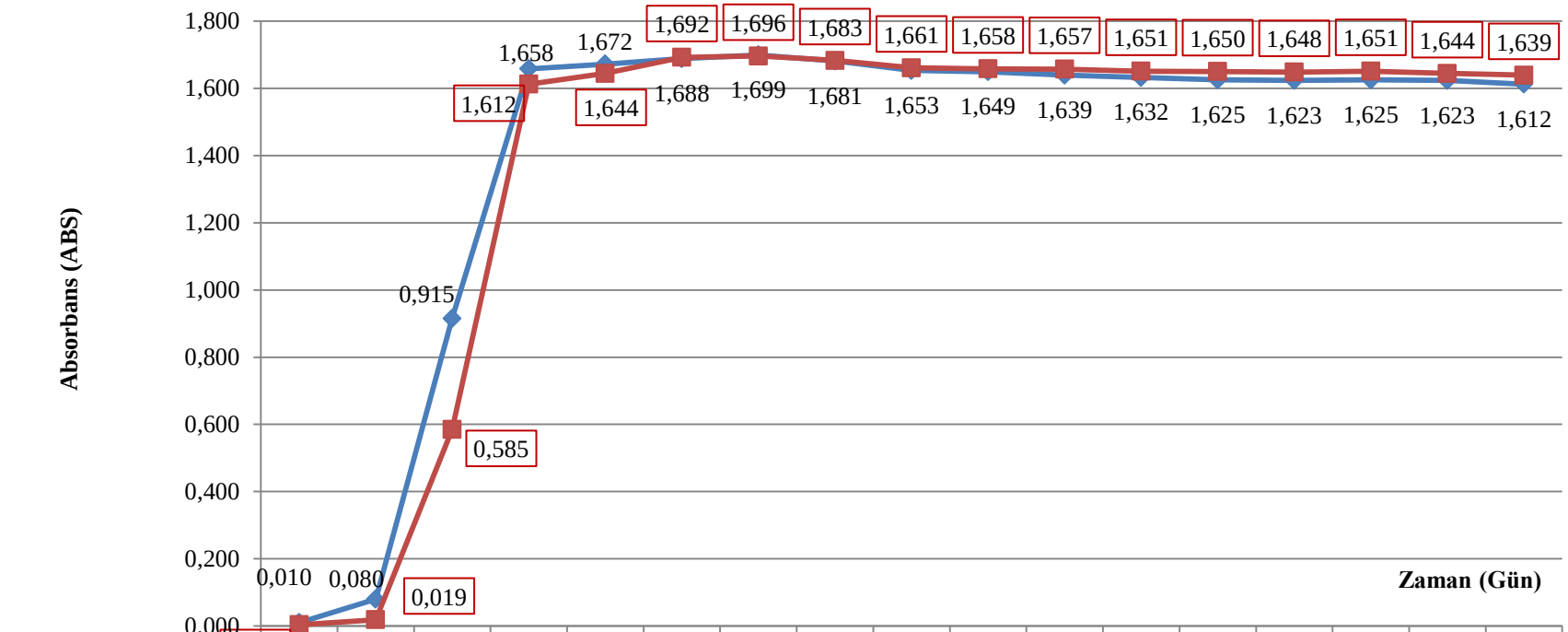
Şekil 4.6 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 7 μg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 35°C'de 13 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.4'de yer almaktadır. *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun canlı hücre sayımı sonuçlarına göre, inkübasyonun ilk 7 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosinin bakteri inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür. Patojen bakteri sayısında ise bu süre boyunca 0,13-0,69 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. En yüksek indirgenme oranı 7. günde 0,69 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasına kıyasla, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasının patojen sayısında daha yüksek düzeyde bir indirgeme sağladığı görülmektedir. İnkübasyonun 8. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır.

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 7 μg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 35°C'de 13 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.6'da yer almaktadır. Kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının inkübasyonun ilk 7 gününde etkili olduğu ve patojen sayısında 0,05-1,1 log KOB/mL düzeyinde bir azalma sağladığı tespit edilmiştir. Patojen sayısında en yüksek indirgenme oranı ise 2. günde 1,1 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. Benzer şekilde inkübasyonun 8. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır.

4.1.2 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 35°C'de 12 μg/mL pediyosin uygulaması

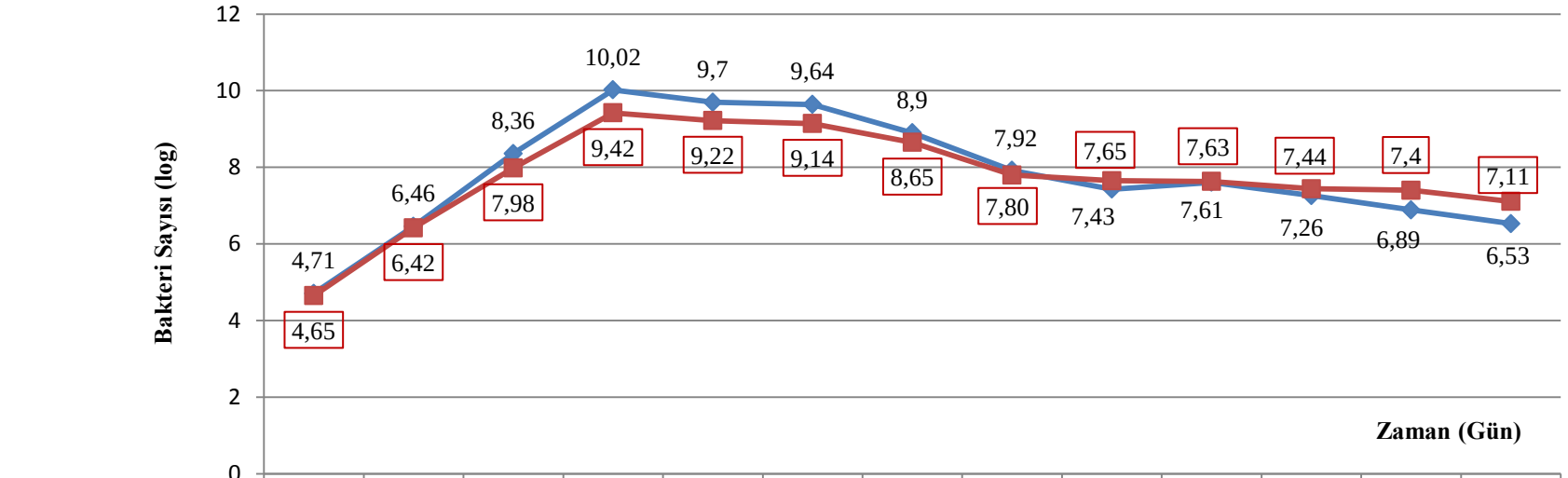
L. monocytogenes ATCC7644 suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 35°C'de 12 μg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



	1					2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14
ATCC/KONTROL	0,010	0,080	0,915	1,658	1,672	1,688	1,699	1,681	1,653	1,649	1,639	1,632	1,625	1,623	1,625	1,623	1,612
ATCC/DENEME	0,004	0,019	0,585	1,612	1,644	1,692	1,696	1,683	1,661	1,658	1,657	1,651	1,650	1,648	1,651	1,644	1,639

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

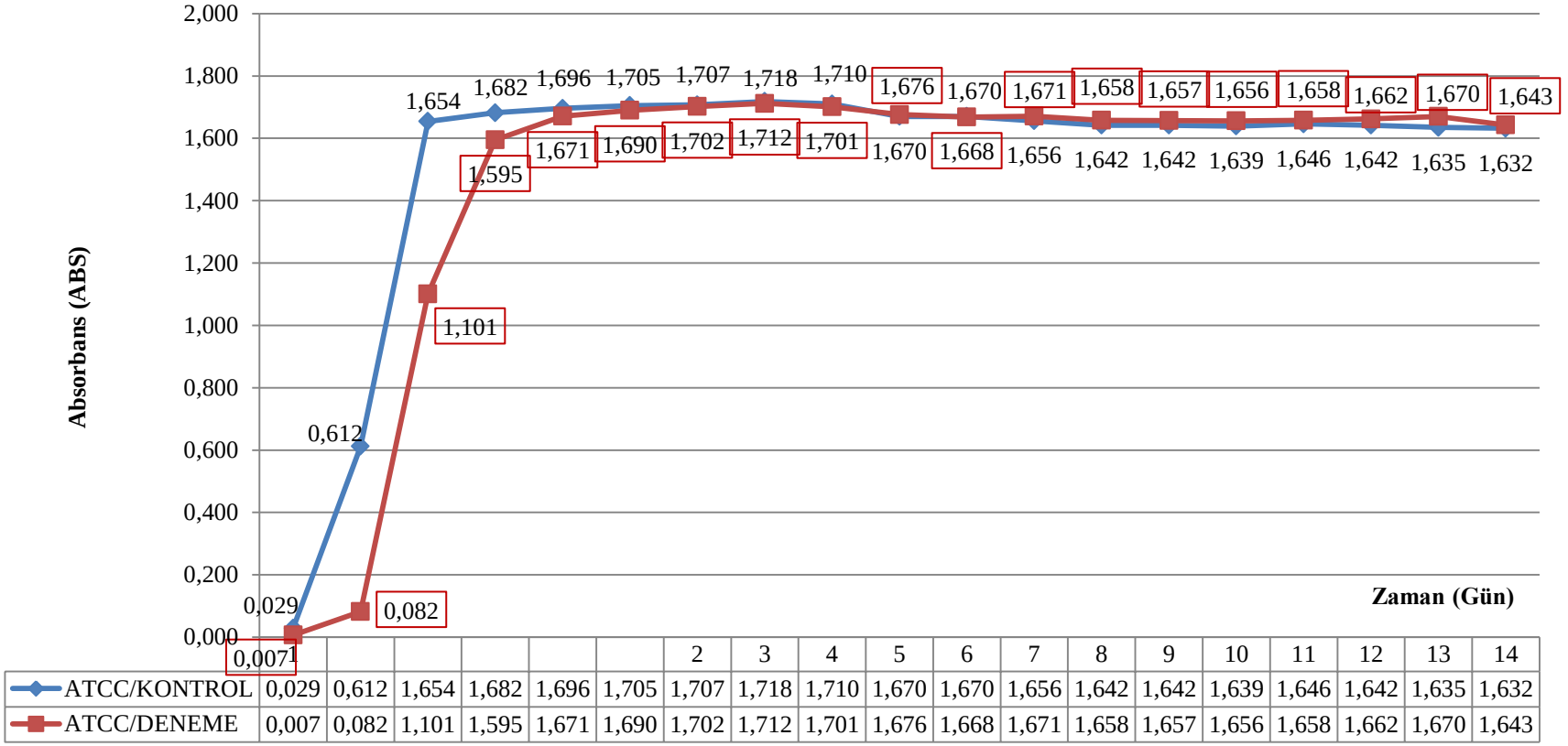
Şekil 4.7 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	7	9	10	11	15	18	21
ATCC/KONTROL	4,71	6,46	8,36	10,02	9,7	9,64	8,9	7,92	7,43	7,61	7,26	6,89	6,53
ATCC/DENEME	4,65	6,42	7,98	9,42	9,22	9,14	8,65	7,80	7,65	7,63	7,44	7,4	7,11

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

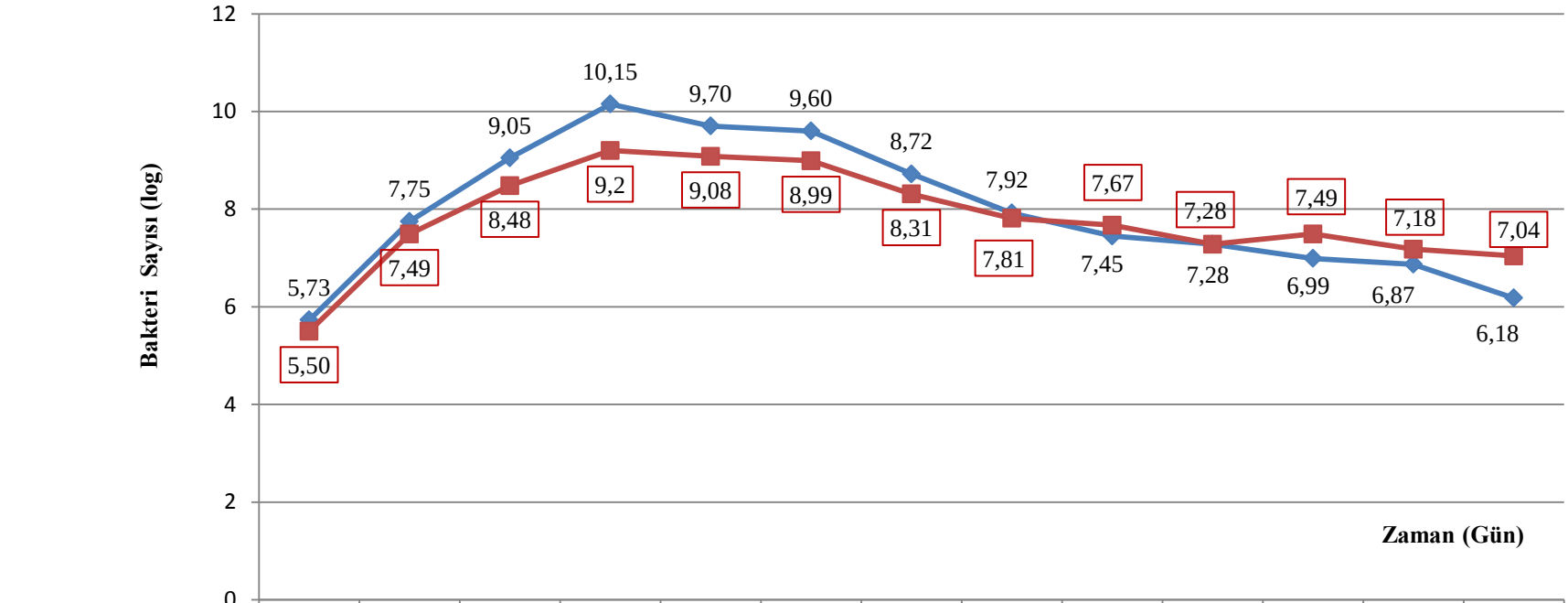
Şekil 4.8 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



							2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ATCC/KONTROL	0,029	0,612	1,654	1,682	1,696	1,705	1,707	1,718	1,710	1,670	1,670	1,656	1,642	1,642	1,639	1,646	1,642	1,635	1,632
ATCC/DENEME	0,007	0,082	1,101	1,595	1,671	1,690	1,702	1,712	1,701	1,676	1,668	1,671	1,658	1,657	1,656	1,658	1,662	1,670	1,643

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

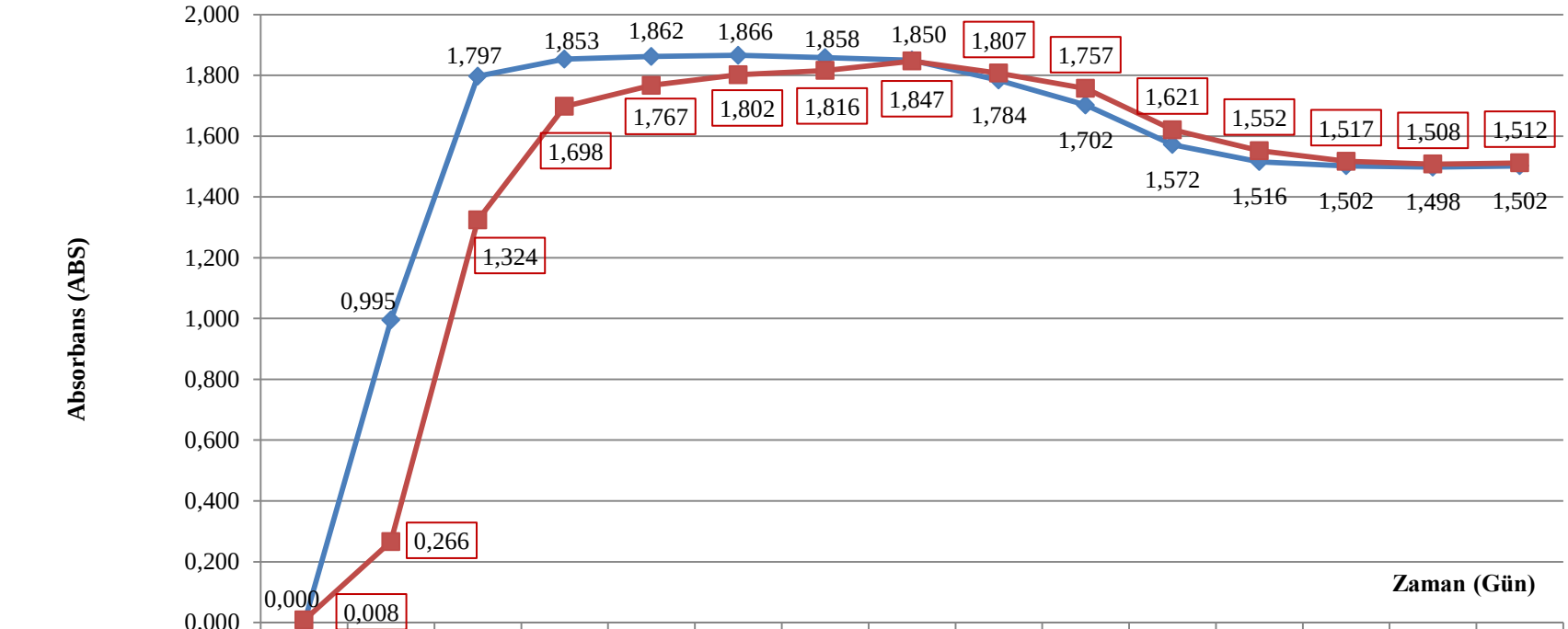
Şekil 4.9 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	7	9	10	11	15	18	21
ATCC/KONTROL	5,73	7,75	9,05	10,15	9,70	9,60	8,72	7,92	7,45	7,28	6,99	6,87	6,18
ATCC/DENEME	5,50	7,49	8,48	9,2	9,08	8,99	8,31	7,81	7,67	7,28	7,49	7,18	7,04

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

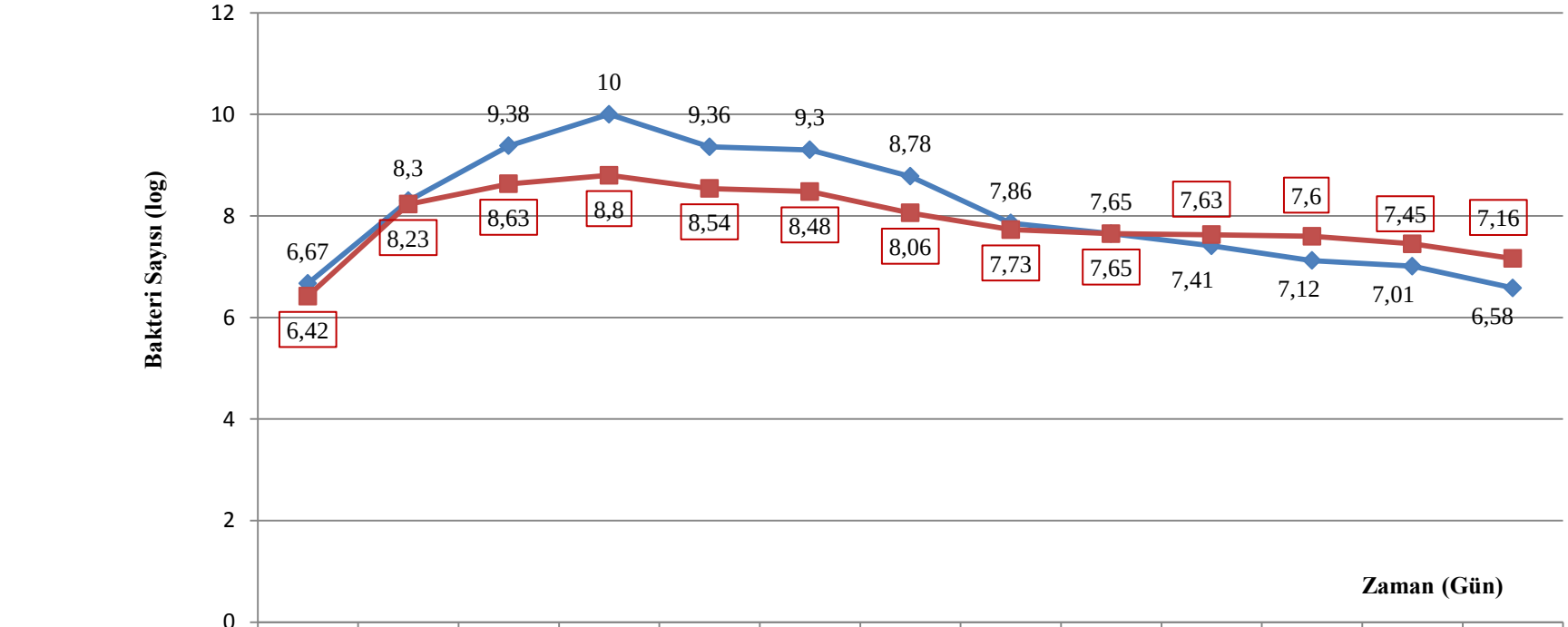
Şekil 4.10 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1						2		3	6	7	8	9	13	14
ATCC/KONTROL	0,000	0,995	1,797	1,853	1,862	1,866	1,858	1,850	1,784	1,702	1,572	1,516	1,502	1,498	1,502
ATCC/DENEME	0,008	0,266	1,324	1,698	1,767	1,802	1,816	1,847	1,807	1,757	1,621	1,552	1,517	1,508	1,512

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.11 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	7	9	10	11	15	18	21
ATCC/KONTROL	6,67	8,3	9,38	10	9,36	9,3	8,78	7,86	7,65	7,41	7,12	7,01	6,58
ATCC/DENEME	6,42	8,23	8,63	8,8	8,54	8,48	8,06	7,73	7,65	7,63	7,6	7,45	7,16

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.12 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

Patojen hücre yoğunluğu 10^5 KOB/mL'ye ayarlandığı zaman, 35°C'de 21 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.8'de yer almaktadır. İnkübasyonun ilk 11 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,04-0,6 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır (Şekil 4.8). *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda görülen en yüksek indirgenme düzeyi 1. günde 0,6 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. İnkübasyonun 10. gününden itibaren ise kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır.

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlandığı zaman ise, canlı hücre sayımında bir önceki uygulama ile benzer şekilde inkübasyonun 10. gününden itibaren patojen sayısında artışlar olduğu saptanmıştır (Şekil 4.10). 35°C'de 21 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları sonuçlarına göre, inkübasyonun ilk 9 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosinin bakteri inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür. Patojen bakteri sayısında ise bu süre boyunca 0,11-0,95 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. En yüksek indirgenme oranı 1. günün sonunda 0,95 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğuna karşı uygulanan pediyosin konsantrasyonu ile kıyaslandığı zaman; patojen hücre yoğunluğu 10^5 KOB/mL olduğunda elde olunan en yüksek indirgenme oranı 0,6 log KOB/mL olurken, bu oran 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunda 0,95 log KOB/mL düzeyinde saptanmıştır.

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 12 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 35°C'de 21 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.12'de yer almaktadır. Kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının inkübasyonun ilk 9 gününde etkili olduğu ve patojen sayısında 0,13-1,2 log KOB/mL düzeyinde bir azalma sağladığı tespit edilmiştir. Patojen sayısında en yüksek indirgenme oranı ise 1. günün sonunda 1,2 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. İnkübasyonun 11. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır. 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulanmış kültür ortamlarındaki en yüksek indirgenme oranı (1,2 log KOB/mL), 10^7 KOB/mL düzeyindeki hücre yoğunluğunda elde edilmiştir.

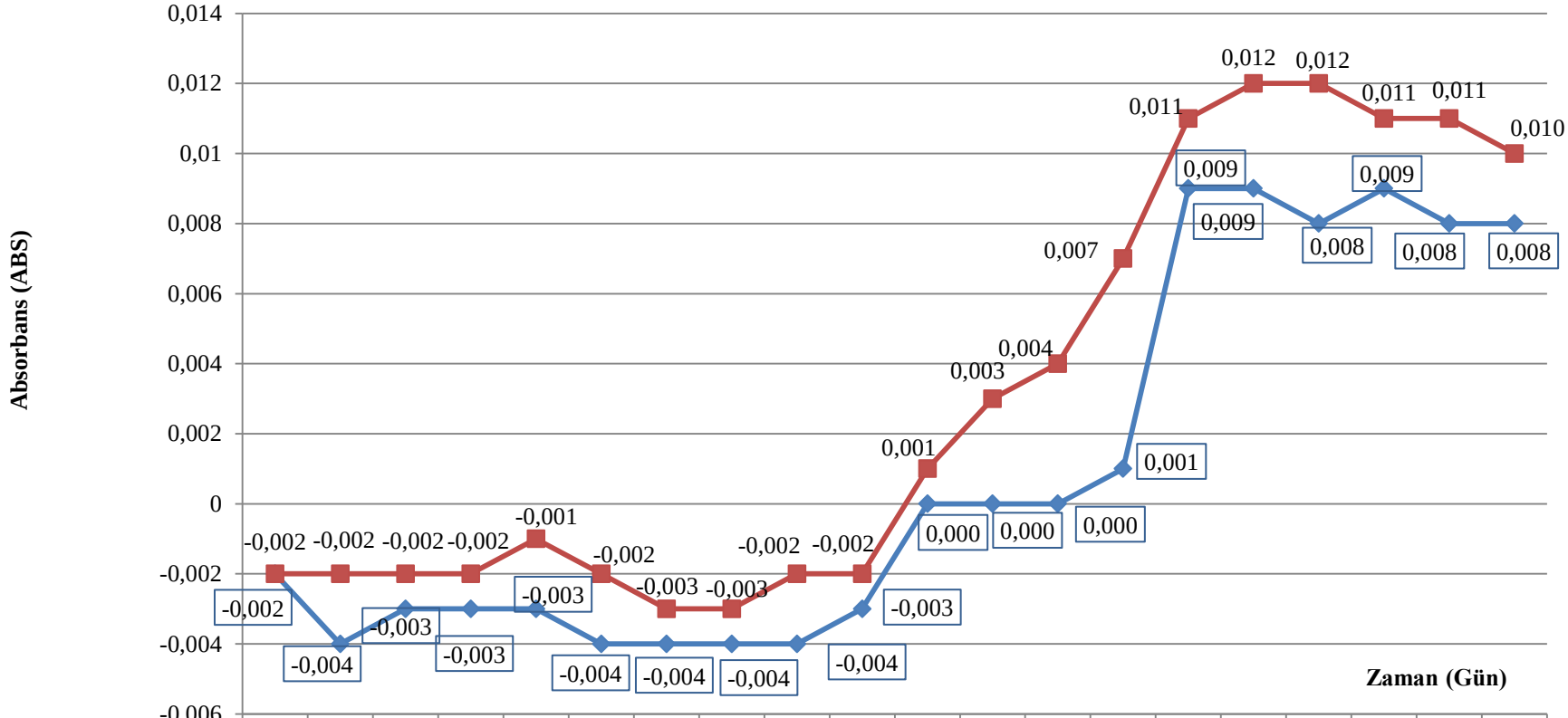
4.1.3 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de gösterilmiştir.

İnkübasyon sıcaklık derecesi 4°C'ye ayarlanmış olup, kontrol ve pediyosin uygulanmış kültür ortamları 28 gün boyunca inkübe edilmiştir. Patojen hücre yoğunluğu 10^5 KOB/mL'ye ayarlandığı zaman, elde olunan canlı hücre sayımları Şekil 4.14'de yer almaktadır. İnkübasyonun ilk 7 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,05-0,22 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda görülen en yüksek indirgenme düzeyi 0,22 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. İnkübasyonun 8. gününden itibaren ise kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklık derecesi 35°C olduğu zaman pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında görülen örneklere kıyasla daha düşük düzeyde indirgenmeler ölçülürken, pediyosinin etkinlik süresinin 4°C'de depolanan kültür ortamlarında daha uzun olduğu tespit edilmiştir.

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlandığı zaman ise, 4°C'de canlı hücre sayımında bir önceki uygulama ile benzer şekilde inkübasyonun 8. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar olduğu saptanmıştır (Şekil 4.16). *L. monocytogenes* ATCC7644 sayısında ilk 7 gün boyunca 0,04-0,09 log KOB/mL düzeyinde bir azalma olduğu belirlenmiştir. En yüksek indirgenme oranı inkübasyonun 4. gününde 0,09 log KOB/mL olarak saptanmıştır.

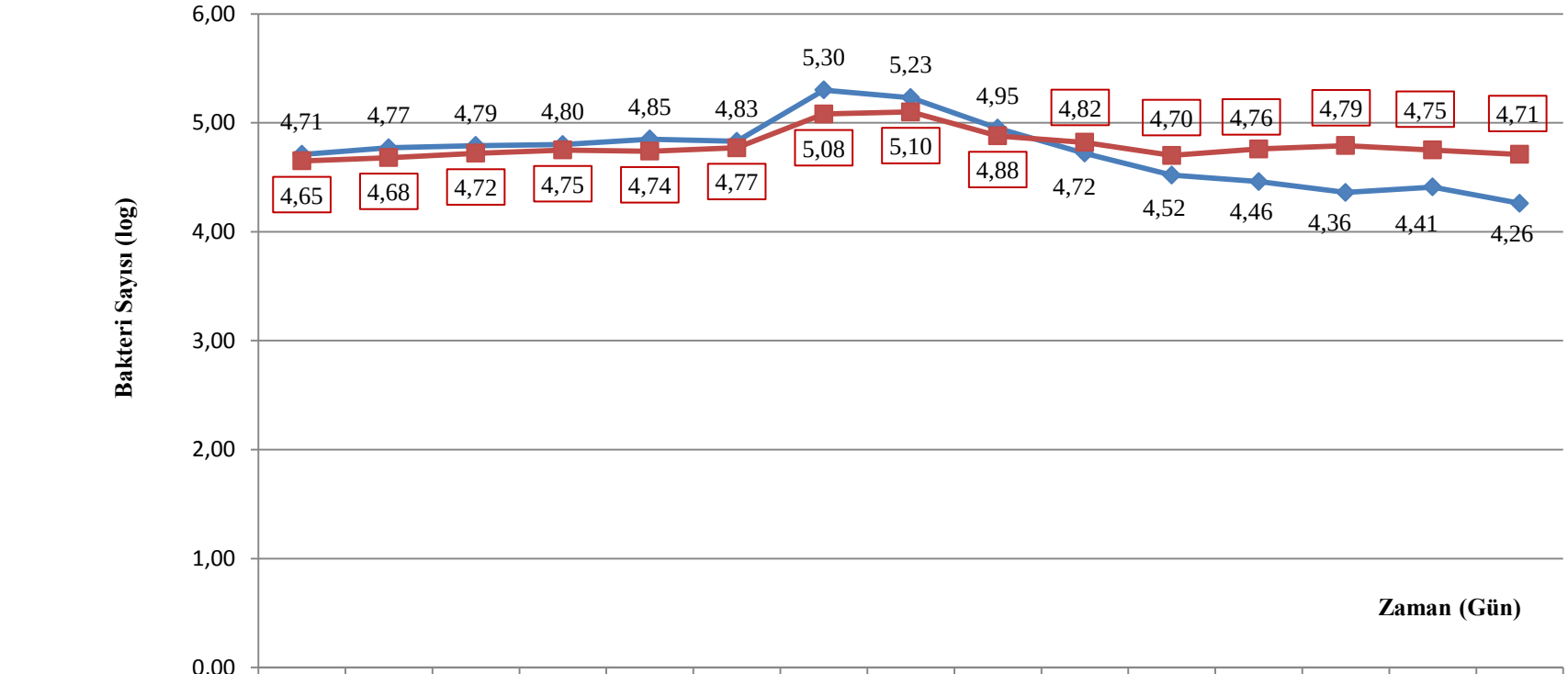
L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL'ye ayarlandığı zaman ise, kontrol gurubuna kıyasla pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında 0,05-0,19 log KOB/mL arasında saptanmıştır (Şekil 4.18). İnkübasyonun 8. gününden itibaren pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında patojen sayısında artışlar olduğu görülmüştür.



	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	18	20	23	26	29	32	36	36
ATCC7644/DENEME	-0,002	-0,004	-0,003	-0,003	-0,003	-0,004	-0,004	-0,004	-0,004	-0,003	0,000	0,000	0,000	0,001	0,009	0,009	0,008	0,009	0,008	0,008
ATCC7644/KONTROL	-0,002	-0,002	-0,002	-0,002	-0,001	-0,002	-0,003	-0,003	-0,002	-0,002	0,001	0,003	0,004	0,007	0,011	0,012	0,012	0,011	0,011	0,010

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

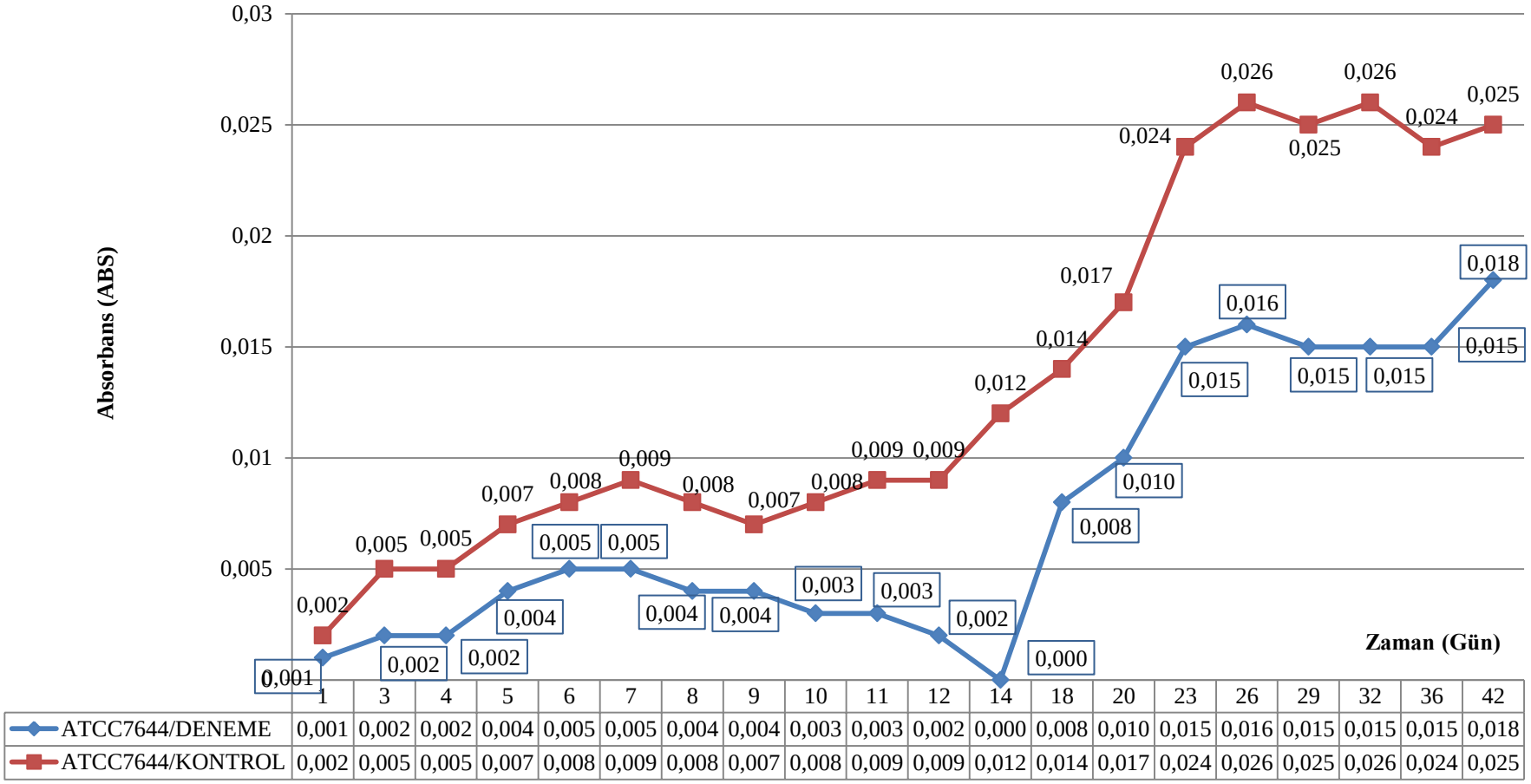
Şekil 4.13 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	8	13	17	19	22	28
ATCC/KONTROL	4,71	4,77	4,79	4,80	4,85	4,83	5,30	5,23	4,95	4,72	4,52	4,46	4,36	4,41	4,26
ATCC/DENEME	4,65	4,68	4,72	4,75	4,74	4,77	5,08	5,10	4,88	4,82	4,70	4,76	4,79	4,75	4,71

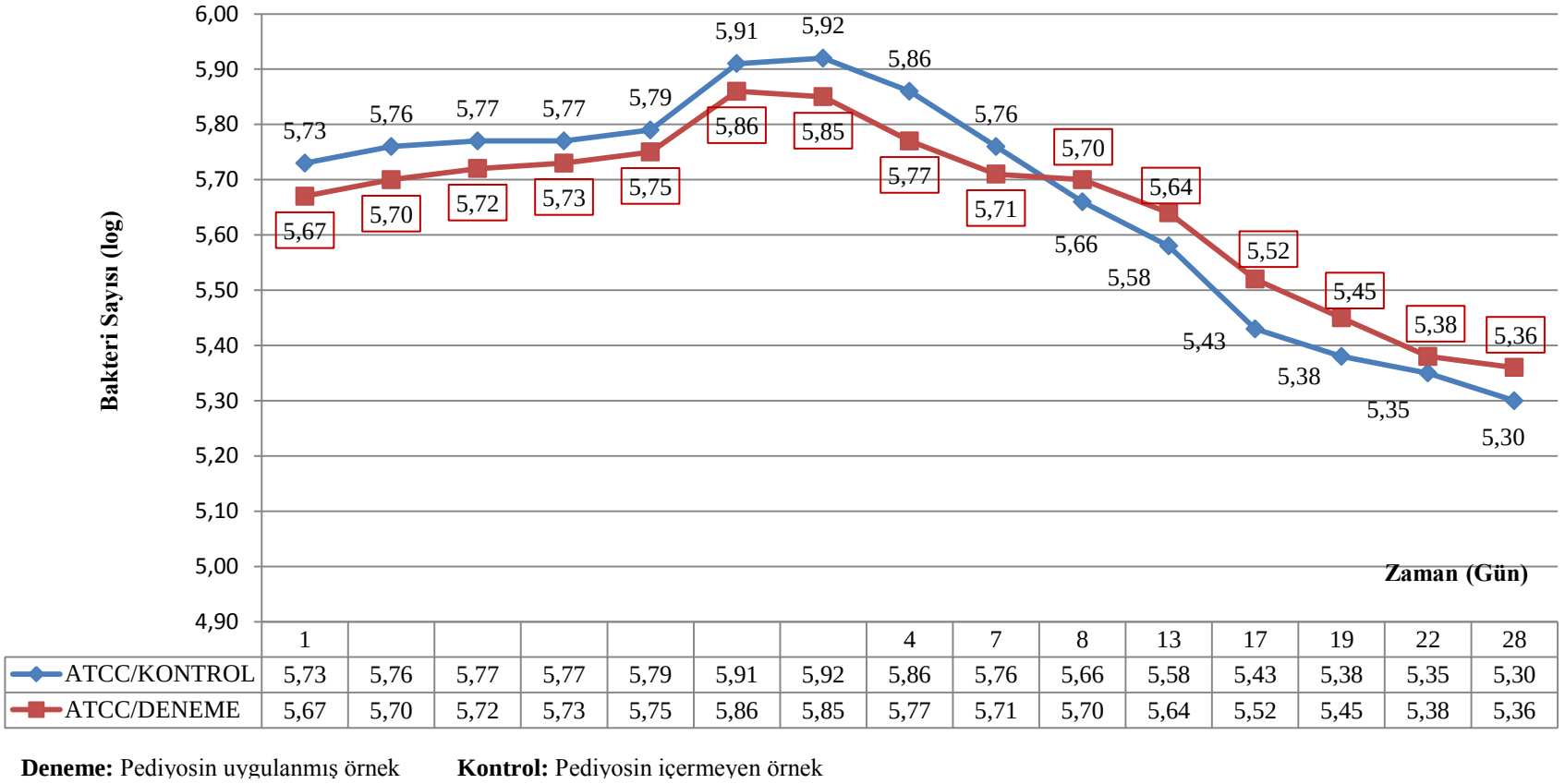
Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.14 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

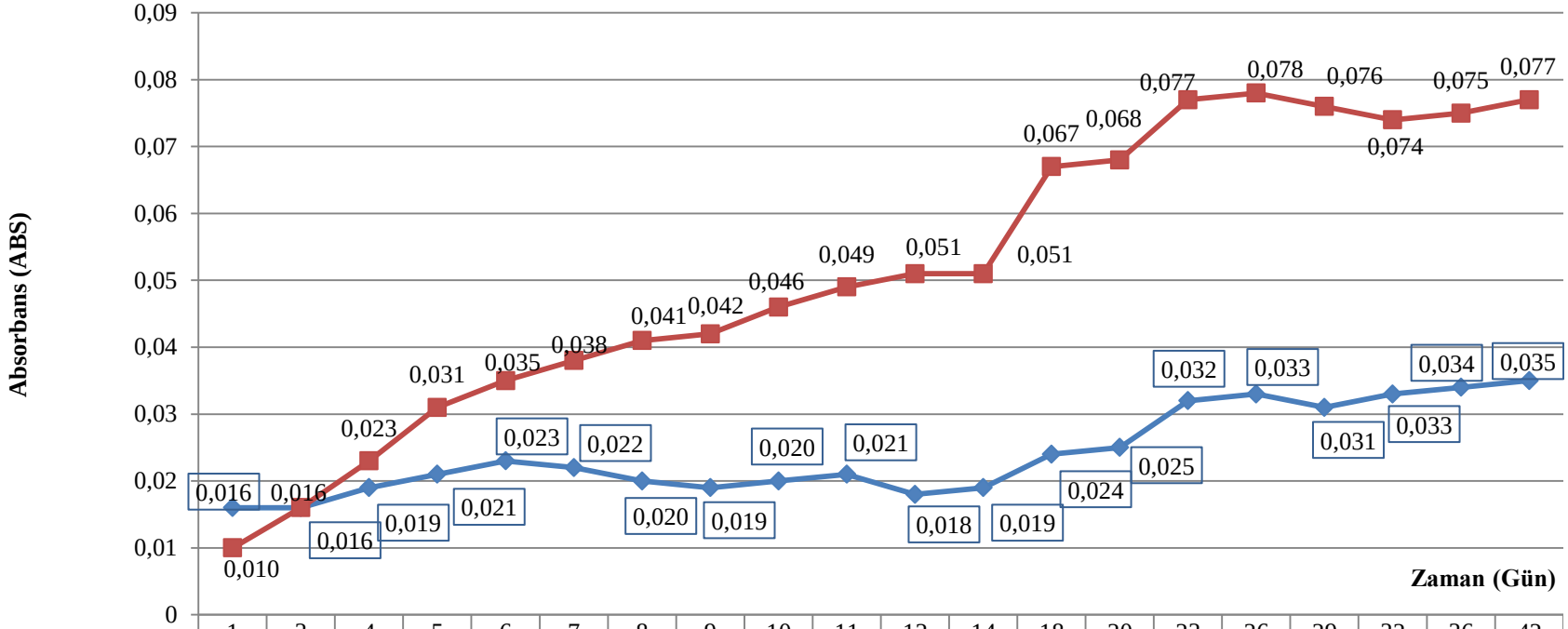
Şekil 4.15 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	8	13	17	19	22	28
ATCC/KONTROL	5,73	5,76	5,77	5,77	5,79	5,91	5,92	5,86	5,76	5,66	5,58	5,43	5,38	5,35	5,30
ATCC/DENEME	5,67	5,70	5,72	5,73	5,75	5,86	5,85	5,77	5,71	5,70	5,64	5,52	5,45	5,38	5,36

Deneme: Pediyosin uygulanmış örnek **Kontrol:** Pediyosin içermeyen örnek

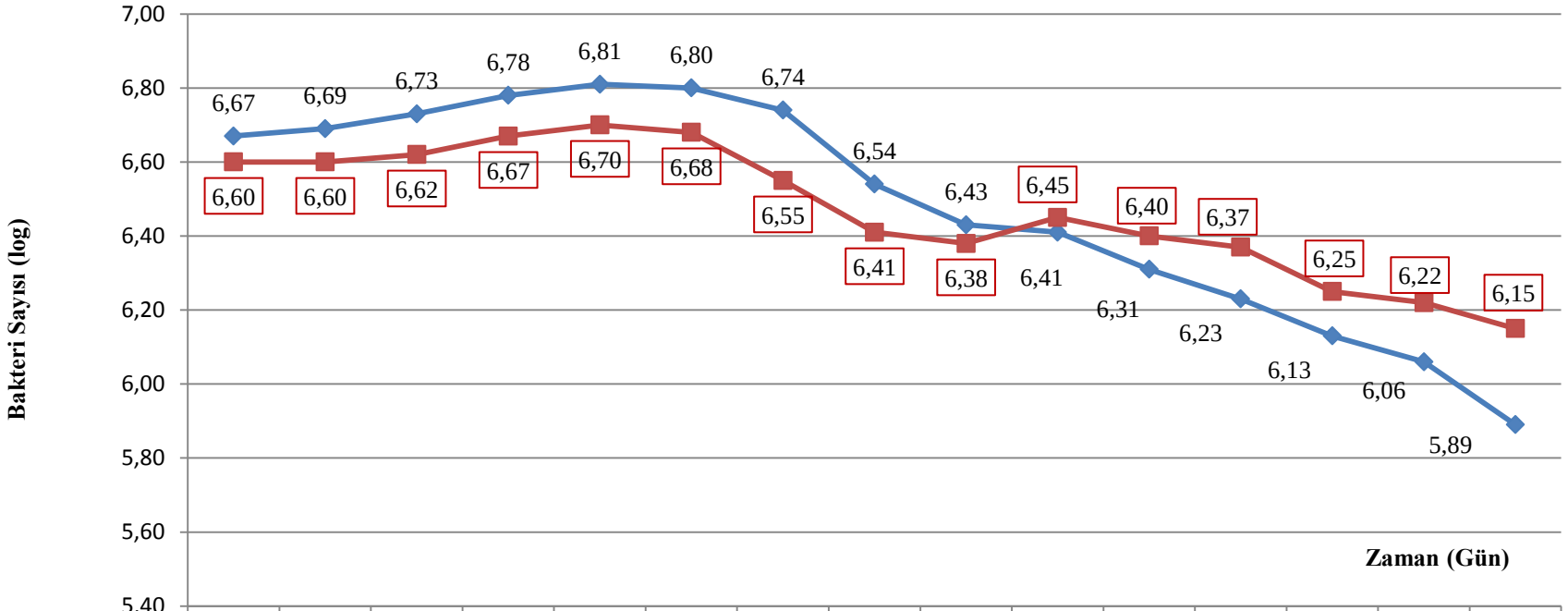
Şekil 4.16 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	18	20	23	26	29	32	36	42
ATCC7644/DENEME	0,016	0,016	0,019	0,021	0,023	0,022	0,020	0,019	0,020	0,021	0,018	0,019	0,024	0,025	0,032	0,033	0,031	0,033	0,034	0,035
ATCC7644/KONTROL	0,010	0,016	0,023	0,031	0,035	0,038	0,041	0,042	0,046	0,049	0,051	0,051	0,067	0,068	0,077	0,078	0,076	0,074	0,075	0,077

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.17 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	8	13	17	19	22	28
ATCC/KONTROL	6,67	6,69	6,73	6,78	6,81	6,80	6,74	6,54	6,43	6,41	6,31	6,23	6,13	6,06	5,89
ATCC/DENEME	6,60	6,60	6,62	6,67	6,70	6,68	6,55	6,41	6,38	6,45	6,40	6,37	6,25	6,22	6,15

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

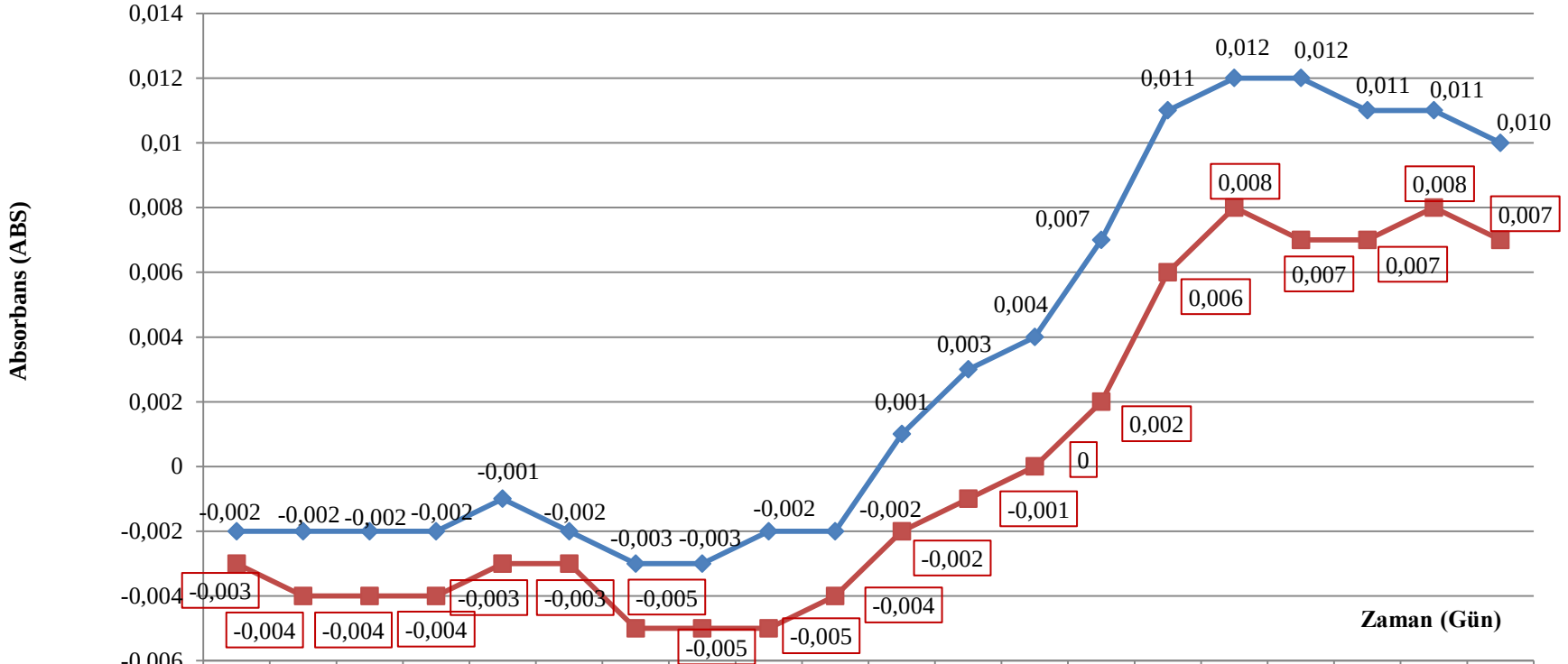
Şekil 4.18 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

4.1.4 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23, ve Şekil 4.24'te gösterilmiştir.

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^5 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 12 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 4°C'de 28 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.20'de yer almaktadır. 28 günlük inkübasyon süresi boyunca pediyosin *L. monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. İnkübasyon süresi boyunca kontrol grubuna göre pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,11-0,36 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulanmış kültür ortamlarındaki pediyosin aktivitesi 8. gün sürerken (Şekil 4.14), 12 µg/mL konsantrasyonunda pediyosin uygulamasında bu süre 28 gün boyunca devam etmiştir.

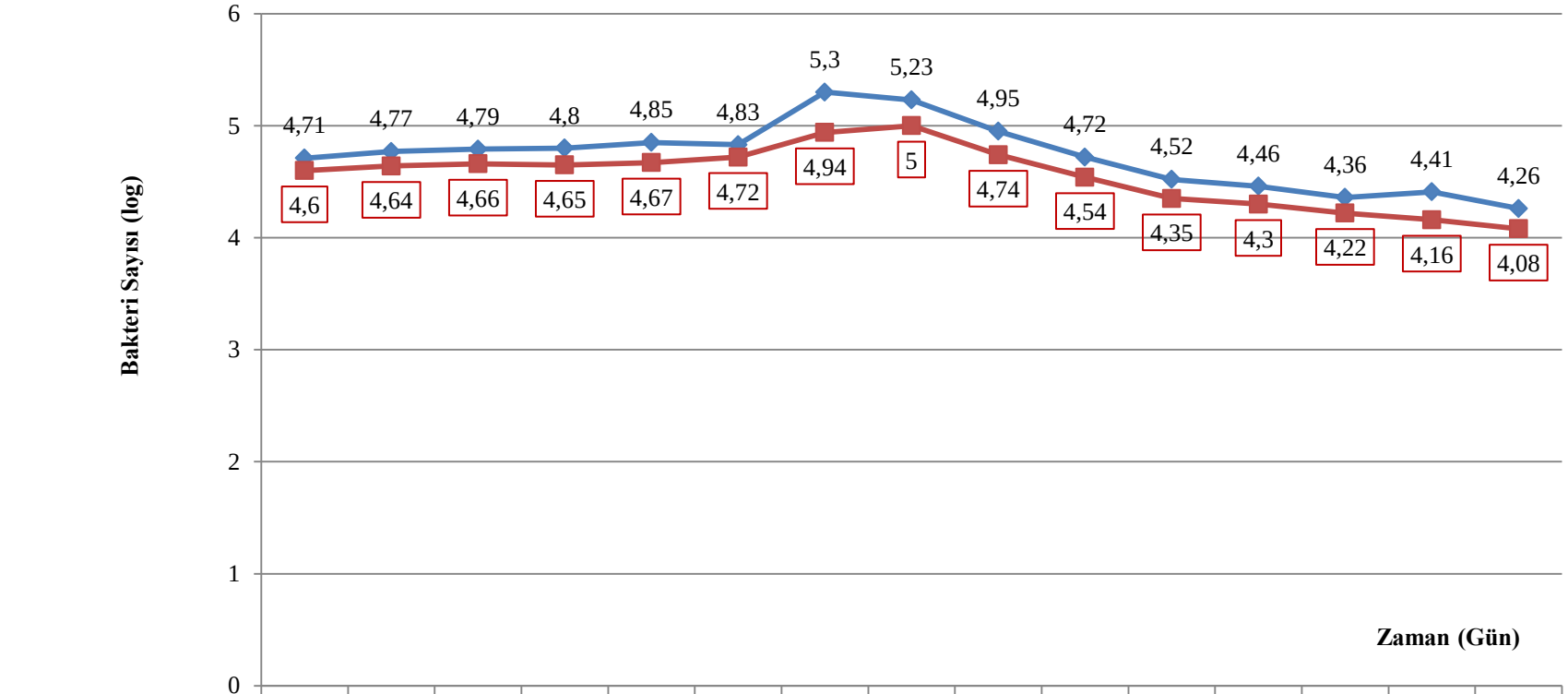
L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 12 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 4°C'de 28 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.22'de yer almaktadır. *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun canlı hücre sayımı sonuçlarına göre, inkübasyon süresi boyunca kontrol grubuna göre pediyosinin bakteri inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür. Patojen bakteri sayısında ise bu süre boyunca 0,07-0,28 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. En yüksek indirgenme oranı 13. günde 0,28 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. 4°C'de 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasına kıyasla, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasının patojen sayısında daha yüksek düzeyde bir indirgeme sağladığı görülmektedir.



	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	18	20	23	26	29	32	36	36
ATCC/KONTROL	-0,002	-0,002	-0,002	-0,002	-0,001	-0,002	-0,003	-0,003	-0,002	-0,002	0,001	0,003	0,004	0,007	0,011	0,012	0,012	0,011	0,011	0,01
ATCC/DENEME	-0,003	-0,004	-0,004	-0,004	-0,003	-0,003	-0,005	-0,005	-0,005	-0,004	-0,002	-0,001	0	0,002	0,006	0,008	0,007	0,007	0,008	0,007

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

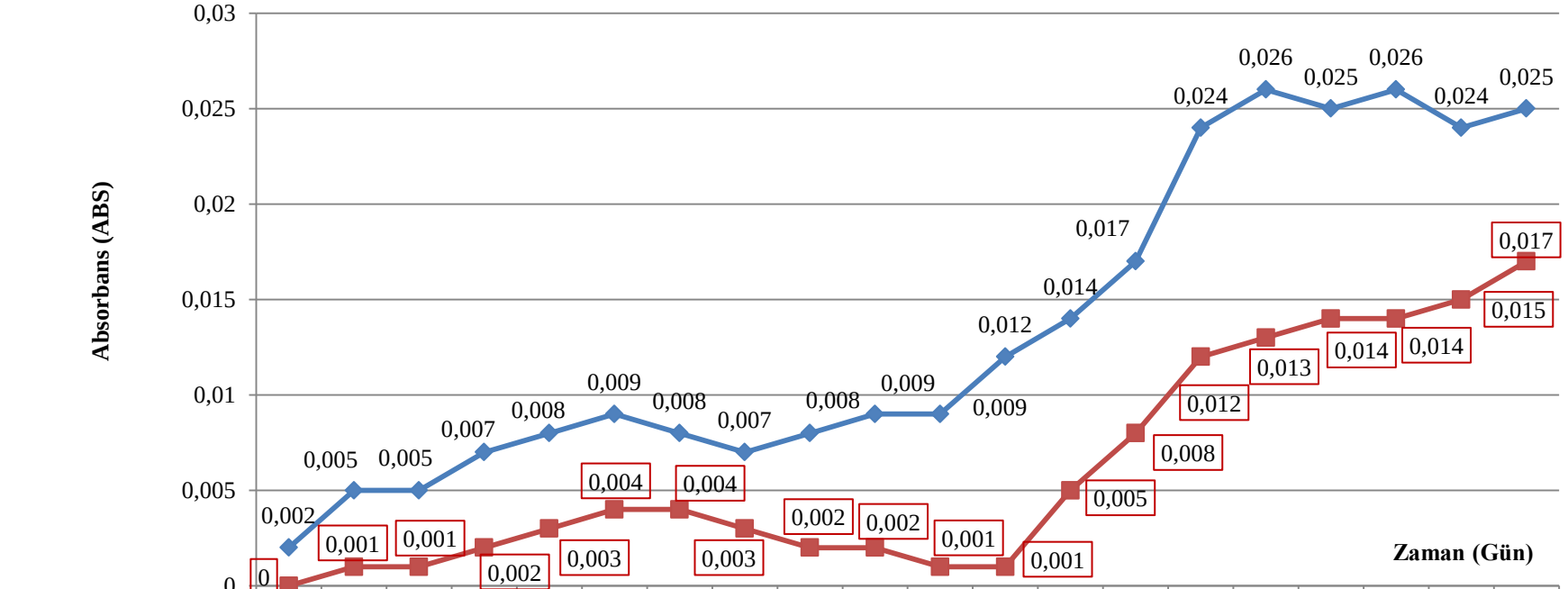
Şekil 4.19 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28
ATCC/KONTROL	4,71	4,77	4,79	4,8	4,85	4,83	5,3	5,23	4,95	4,72	4,52	4,46	4,36	4,41	4,26
ATCC/DENEME	4,6	4,64	4,66	4,65	4,67	4,72	4,94	5	4,74	4,54	4,35	4,3	4,22	4,16	4,08

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen örnek

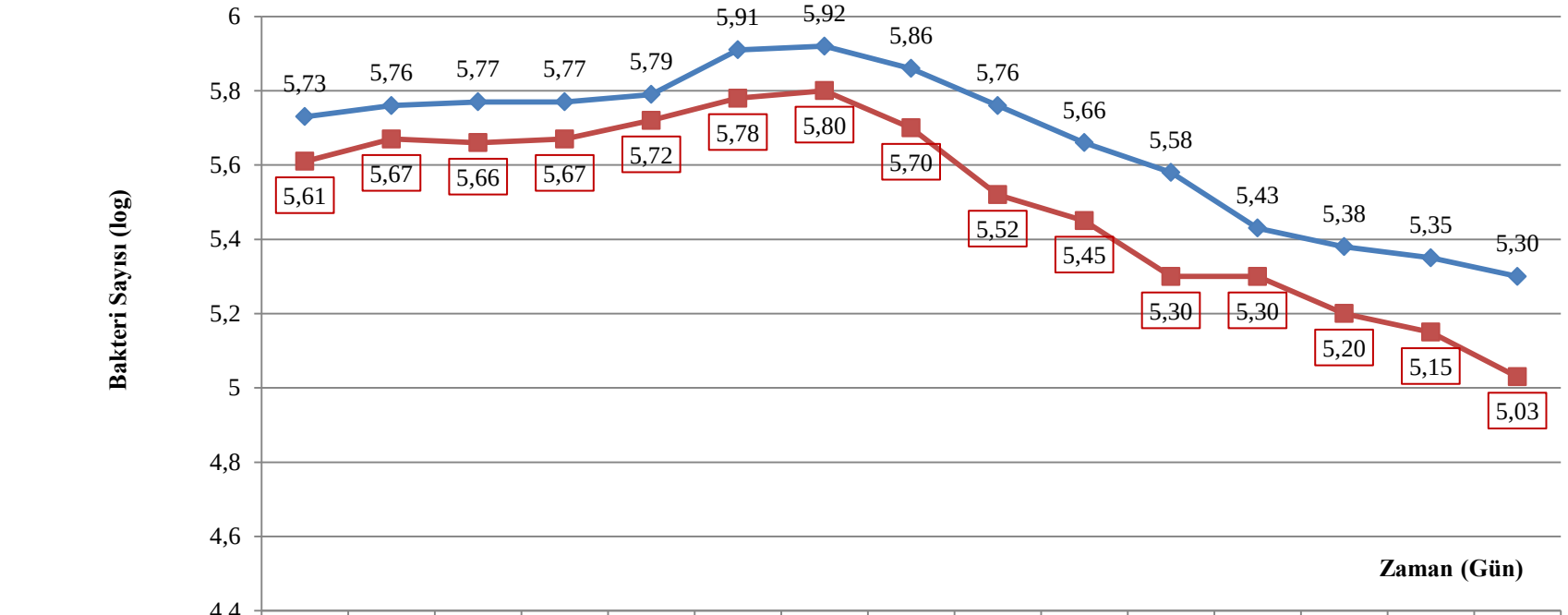
Şekil 4.20 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	18	20	23	26	29	32	36	42
ATCC/KONTROL	0,002	0,005	0,005	0,007	0,008	0,009	0,008	0,007	0,008	0,009	0,009	0,012	0,014	0,017	0,024	0,026	0,025	0,026	0,024	0,025
ATCC/DENEME	0	0,001	0,001	0,002	0,003	0,004	0,004	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001	0,005	0,008	0,012	0,013	0,014	0,014	0,015	0,017

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

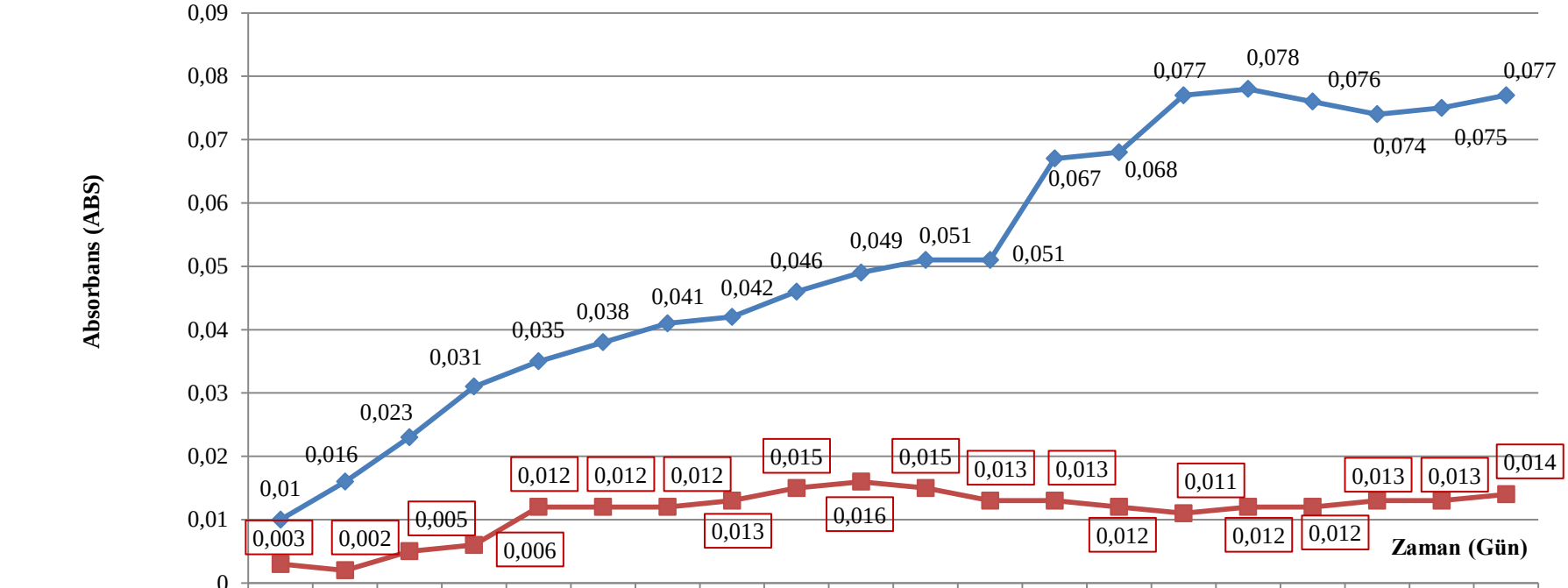
Şekil 4.21 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28
ATCC/KONTROL	5,73	5,76	5,77	5,77	5,79	5,91	5,92	5,86	5,76	5,66	5,58	5,43	5,38	5,35	5,30
ATCC/DENEME	5,61	5,67	5,66	5,67	5,72	5,78	5,80	5,70	5,52	5,45	5,30	5,30	5,20	5,15	5,03

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

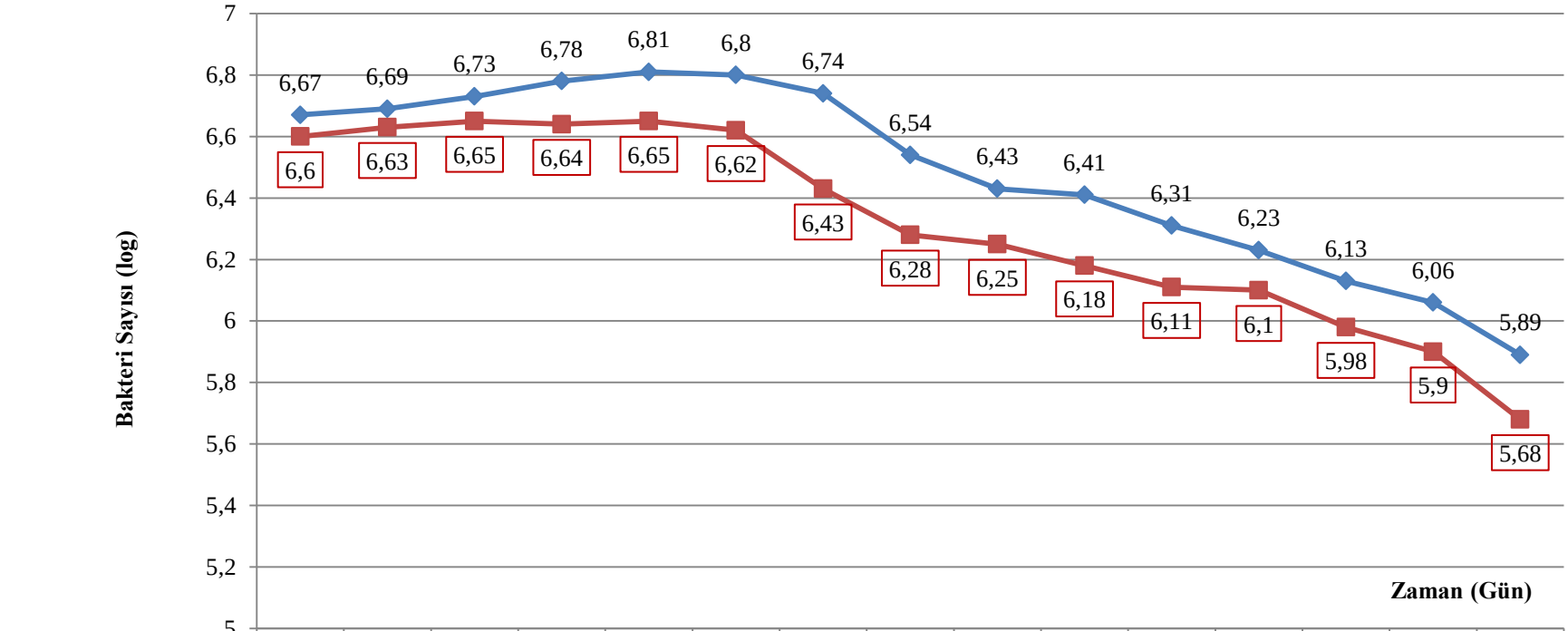
Şekil 4.22 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	18	20	23	26	29	32	36	42
ATCC/KONTROL	0,01	0,016	0,023	0,031	0,035	0,038	0,041	0,042	0,046	0,049	0,051	0,051	0,067	0,068	0,077	0,078	0,076	0,074	0,075	0,077
ATCC/DENEME	0,003	0,002	0,005	0,006	0,012	0,012	0,012	0,013	0,015	0,016	0,015	0,013	0,013	0,012	0,011	0,012	0,012	0,013	0,013	0,014

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.23 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28
ATCC/KONTROL	6,67	6,69	6,73	6,78	6,81	6,8	6,74	6,54	6,43	6,41	6,31	6,23	6,13	6,06	5,89
ATCC/DENEME	6,6	6,63	6,65	6,64	6,65	6,62	6,43	6,28	6,25	6,18	6,11	6,1	5,98	5,9	5,68

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.24 *Listeria monocytogenes* ATCC7644 suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

L. monocytogenes ATCC7644 suşunun hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 12 µg/mL pediyosin ilave edilerek 4°C'de 28 gün inkübe edilmiştir (Şekil 4.24). Kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının inkübasyon süresi boyunca etkili olduğu ve patojen sayısında 0,06-0,31 log KOB/mL düzeyinde bir azalma sağladığı tespit edilmiştir. Patojen sayısında en yüksek indirgenme oranı ise 1. günde 0,31 log KOB/mL düzeyinde belirlenmiştir. 35°C'de 12 µg/mL pediyosin ilave edilmiş 10^7 KOB/mL yoğunluğundaki kültür ortamına kıyasla (Şekil 4.12); 35°C'de pediyosin aktivitesi 10. günde biterken, 4°C'de pediyosin aktivitesi 28 gün boyunca devam etmiştir.

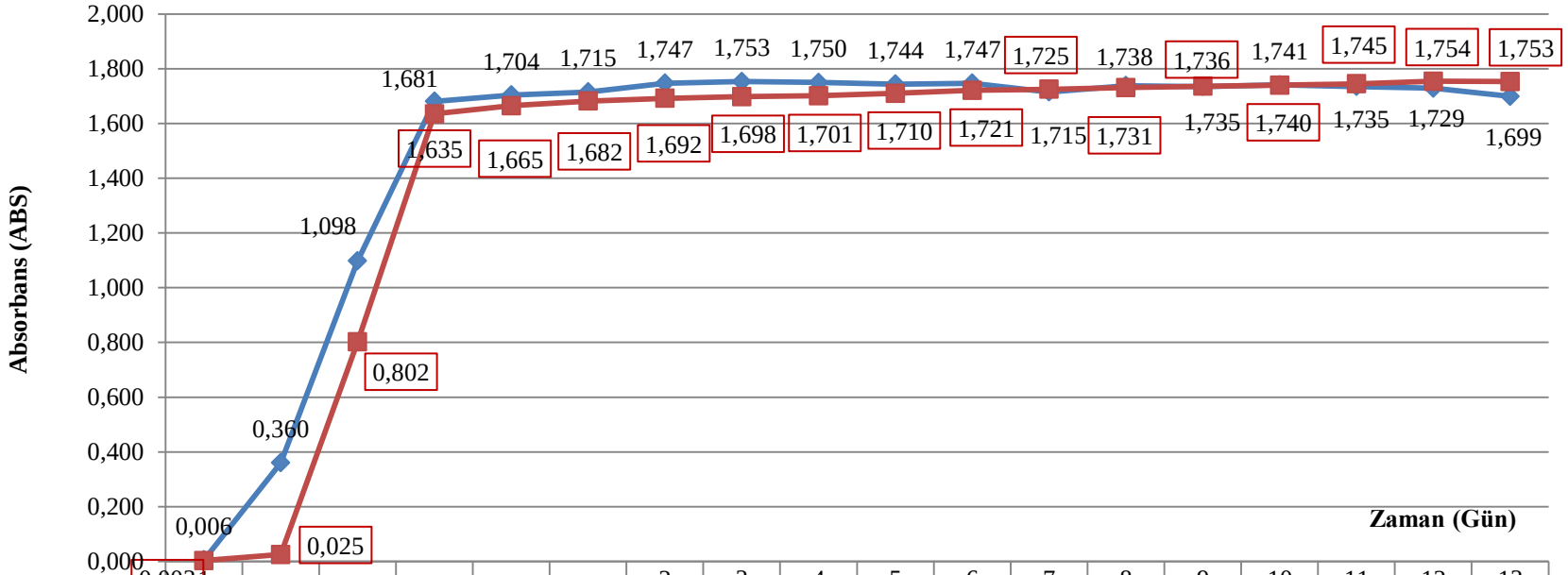
4.2 *Listeria monocytogenes* 287-1P Suşuna Karşı Pediyosin Uygulaması

L. monocytogenes 287-1P suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeyindeki hücre yoğunlukları 7 µg/mL ve 12 µg/mL konsantrasyonlarındaki pediyosin ile ayrı ayrı muamele ettirilmiştir. Bu ortamlar 35°C'de ve 4°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Depolama süresince belirli aralıklarla alınan örneklerde hem canlı kültür sayımı yapılmış ve hem de OD değerleri ölçülmüştür.

4.2.1 *Listeria monocytogenes* 278-1P suşuna karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması

L. monocytogenes 287-1P suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'da gösterilmiştir.

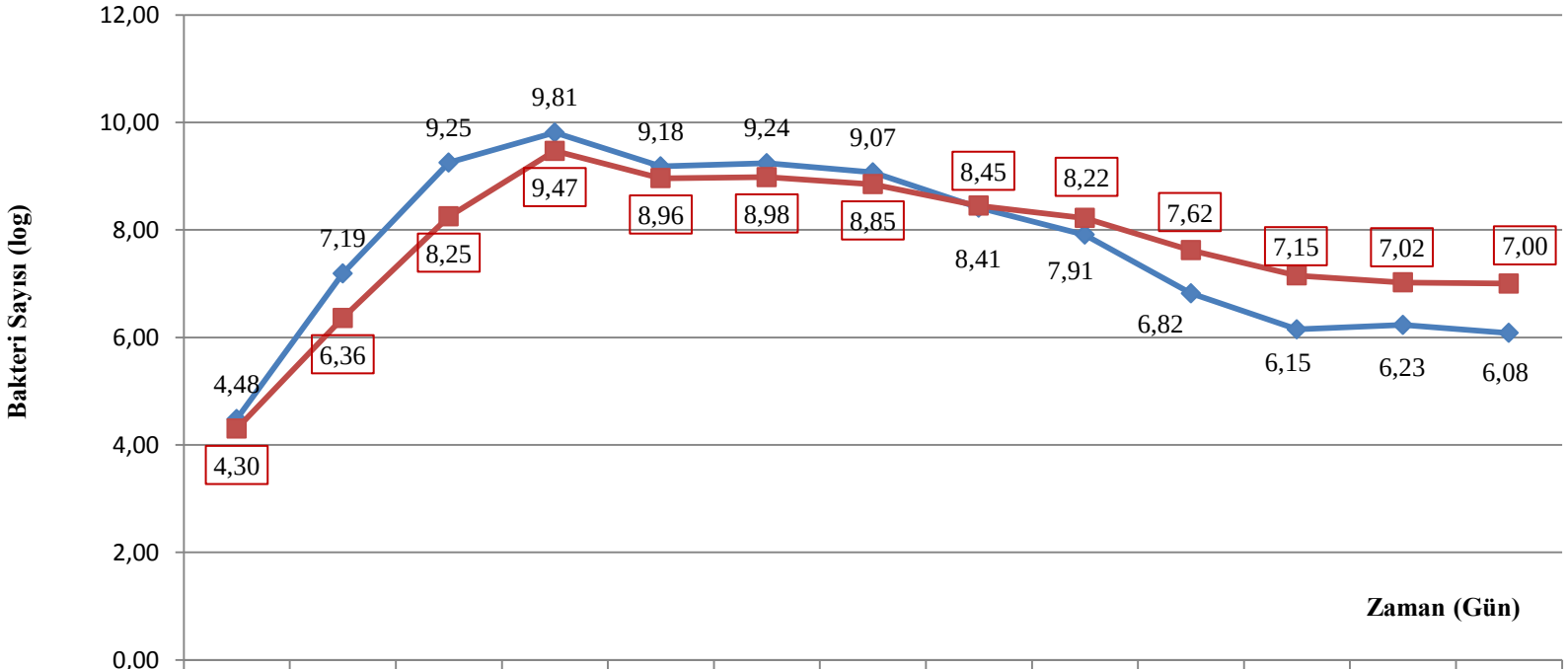
L. monocytogenes 287-1P suşunun hücre yoğunluğu 10^5 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 7 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 35°C'de 21 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.26'da yer almaktadır. İnkübasyonun ilk 8 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,18-1,00 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Ancak inkübasyonun 9. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır.



	0,0031						2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
287-1P/KONTROL	0,006	0,360	1,098	1,681	1,704	1,715	1,747	1,753	1,750	1,744	1,747	1,715	1,738	1,735	1,741	1,735	1,729	1,699
287-1P/DENEME	0,003	0,025	0,802	1,635	1,665	1,682	1,692	1,698	1,701	1,710	1,721	1,725	1,731	1,736	1,740	1,745	1,754	1,753

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

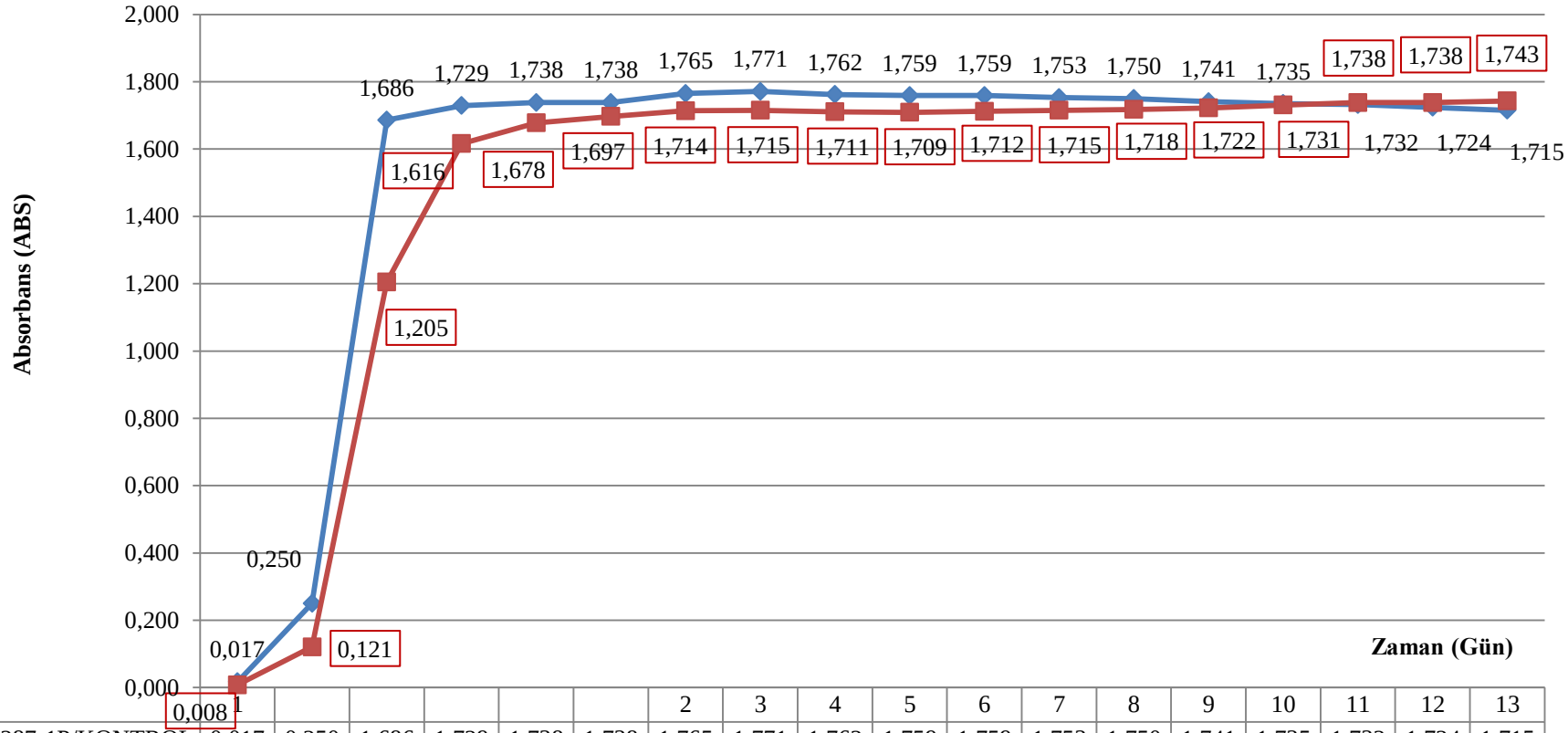
Şekil 4.25 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	8	9	11	13	16	18	21
287-1P/KONTROL	4,48	7,19	9,25	9,81	9,18	9,24	9,07	8,41	7,91	6,82	6,15	6,23	6,08
287-1P/DENEME	4,30	6,36	8,25	9,47	8,96	8,98	8,85	8,45	8,22	7,62	7,15	7,02	7,00

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

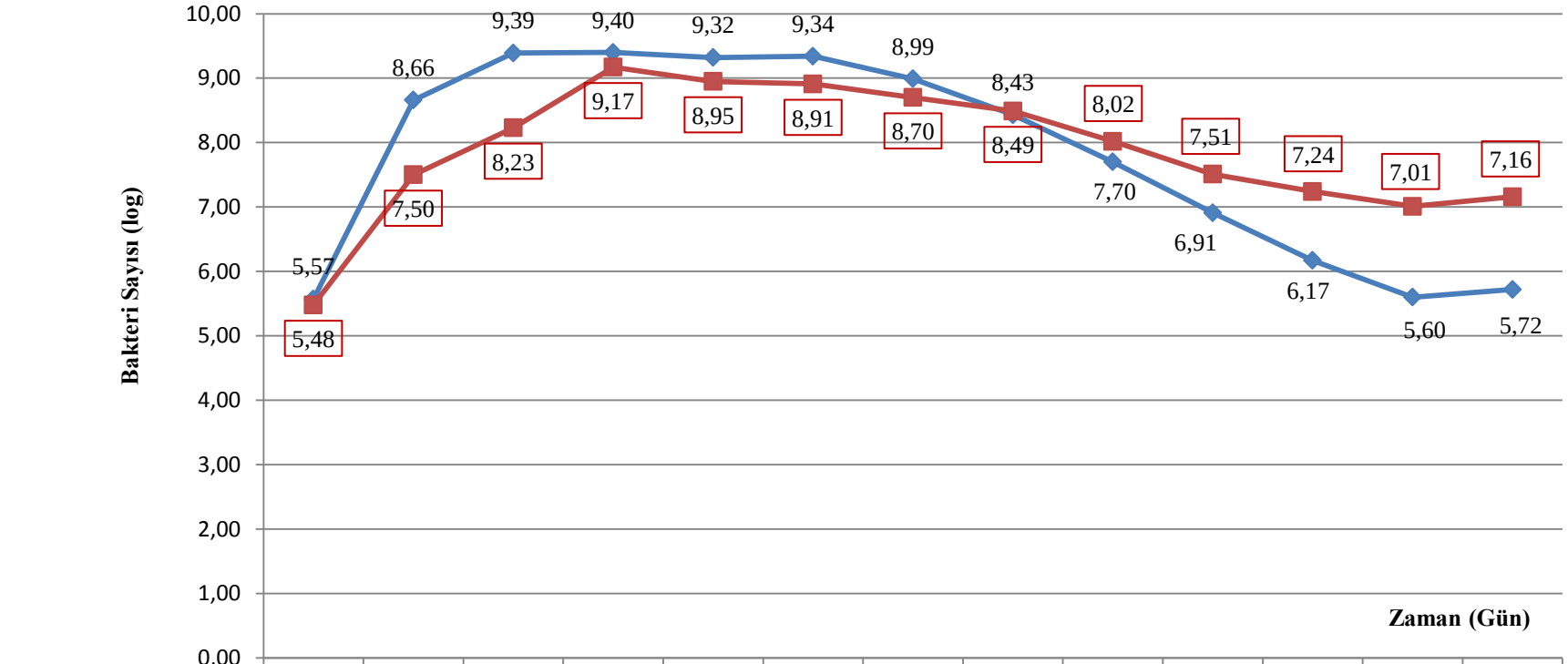
Şekil 4.26 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	0,008	1						2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
287-1P/KONTROL	0,017	0,250	1,686	1,729	1,738	1,738		1,765	1,771	1,762	1,759	1,759	1,753	1,750	1,741	1,735	1,732	1,724	1,715
287-1P/DENEME	0,008	0,121	1,205	1,616	1,678	1,697		1,714	1,715	1,711	1,709	1,712	1,715	1,718	1,722	1,731	1,738	1,738	1,743

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

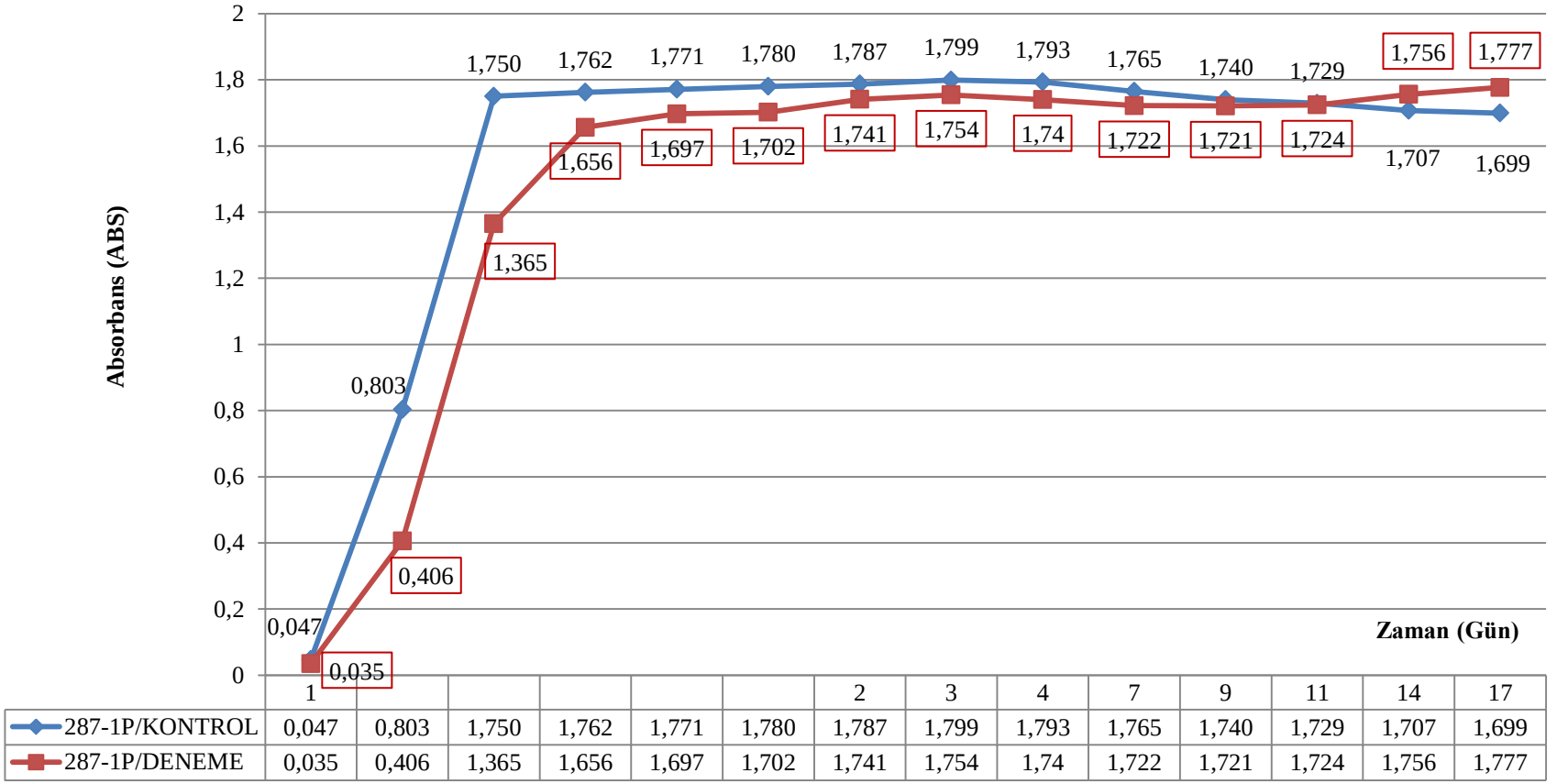
Şekil 4.27 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	8	9	11	13	16	18	21
287-1P/KONTROL	5,57	8,66	9,39	9,40	9,32	9,34	8,99	8,43	7,70	6,91	6,17	5,60	5,72
287-1P/DENEME	5,48	7,50	8,23	9,17	8,95	8,91	8,70	8,49	8,02	7,51	7,24	7,01	7,16

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

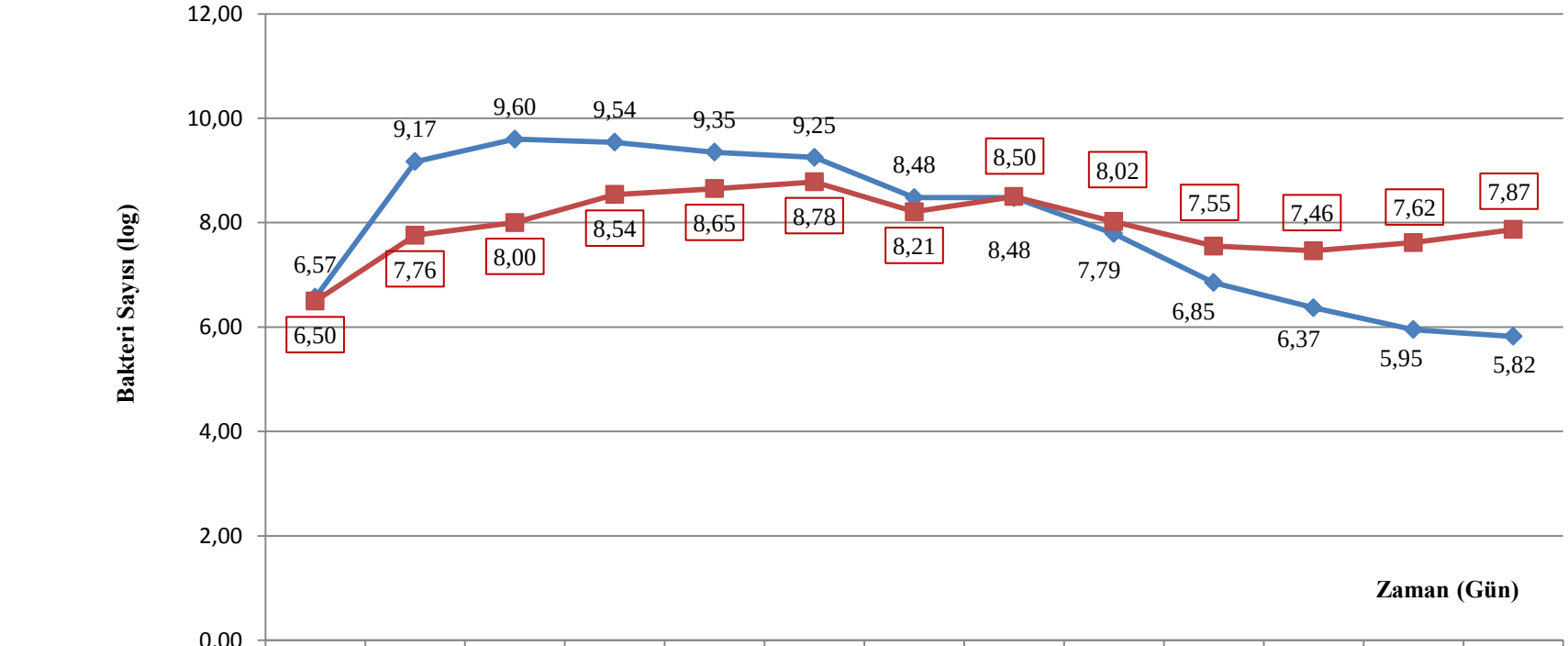
Şekil 4.28 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1						2	3	4	7	9	11	14	17
287-1P/KONTROL	0,047	0,803	1,750	1,762	1,771	1,780	1,787	1,799	1,793	1,765	1,740	1,729	1,707	1,699
287-1P/DENEME	0,035	0,406	1,365	1,656	1,697	1,702	1,741	1,754	1,74	1,722	1,721	1,724	1,756	1,777

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.29 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	8	9	11	13	16	18	21
287-1P/KONTROL	6,57	9,17	9,60	9,54	9,35	9,25	8,48	8,48	7,79	6,85	6,37	5,95	5,82
287-1P/DENEME	6,50	7,76	8,00	8,54	8,65	8,78	8,21	8,50	8,02	7,55	7,46	7,62	7,87

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.30 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

Aynı hücre yoğunluğu, pediyosin konsantrasyonu ve inkübasyon koşullarında *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda saptanan indirgenme oranı ile kıyaslandığı zaman, *L. monocytogenes* 287-1P suşundaki pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen indirgenme oranı daha yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde pediyosin *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda 7 gün süresince antimikrobiyel aktivite gösterirken, *L. monocytogenes* 287-1P suşunda 8 gün boyunca antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Bu durum *L. monocytogenes* 287-1P suşunun pediyosine karşı daha duyarlı olduğu sonucunu doğrulamaktadır.

L. monocytogenes 287-1P suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 7 μg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 35°C'de 21 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.28'de yer almaktadır. *L. monocytogenes* 287-1P suşunun canlı hücre sayımı sonuçlarına göre, inkübasyonun ilk 8 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosinin bakteri inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür. Patojen bakteri sayısında ise bu süre boyunca 0,09-1,16 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasına kıyasla, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasının patojen sayısında daha yüksek düzeyde bir indirgeme sağladığı görülmektedir. İnkübasyonun 8. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır.

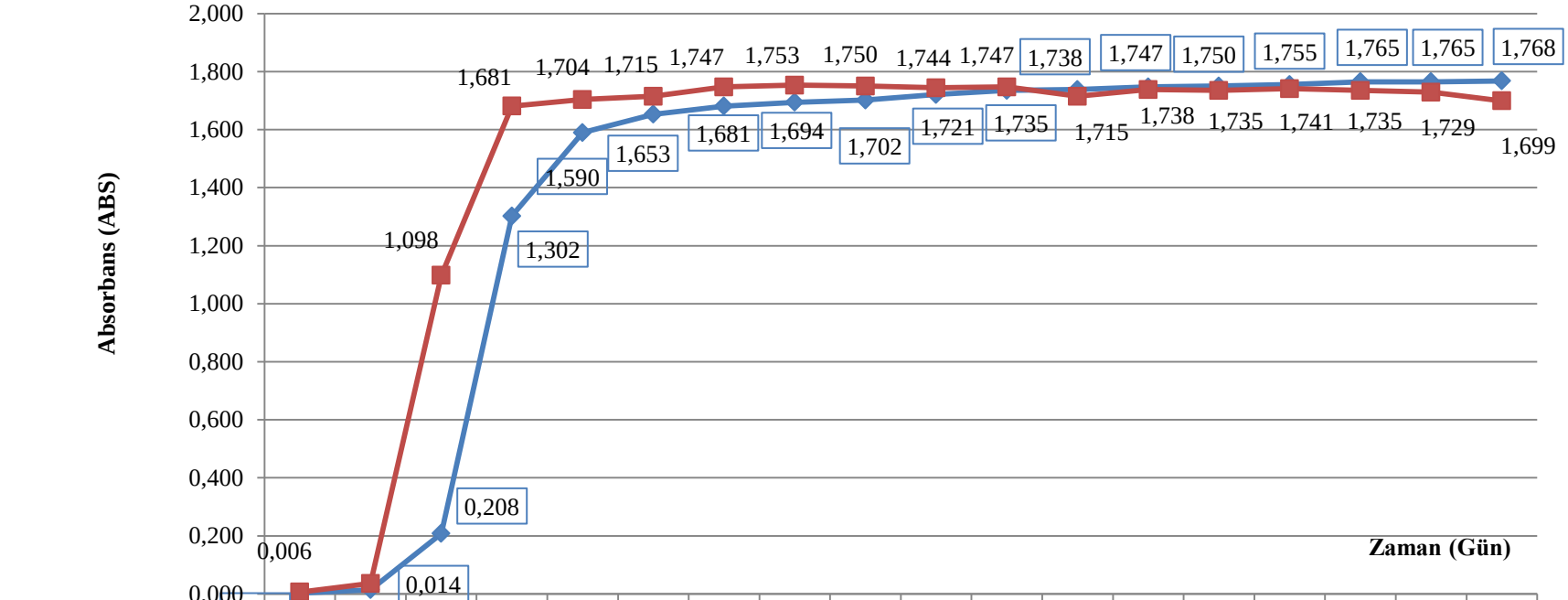
Hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL düzeyine ayarlanan *L. monocytogenes* 287-1P suşuna 7 μg/mL pediyosin ilave edilmiş ve 35°C'de 21 gün inkübe edilmiştir (Şekil 4.30). Kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının inkübasyonun ilk 8 gününde etkili olduğu ve patojen sayısında 0,07-1,6 log KOB/mL düzeyinde bir azalma sağladığı tespit edilmiştir. İnkübasyonun 9. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır. Benzer şekilde aynı hücre yoğunluğu, pediyosin konsantrasyonu ve inkübasyon koşullarında pediyosinin *L. monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel etki kıyaslandığı zaman, *L. monocytogenes* 287-1P suşundaki pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen indirgenme oranı daha yüksek bulunmuştur. Pediyosin *L. monocytogenes* ATCC7644 suşundaki antimikrobiyel etki süresi 7 gün olarak saptanırken, *L. monocytogenes* 287-1P suşunda bu süre 8 gün olarak belirlenmiştir.

4.2.2 *Listeria monocytogenes* 287-1P Suşuna Karşı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması

L. monocytogenes 287-1P suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35 ve Şekil 4.36'da gösterilmiştir.

35°C inkübasyon sıcaklığında 12 µg/mL pediyosin uygulamasının 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğuna sahip *L. monocytogenes* 287-1P suşuna karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel aktivite 21 gün boyunca incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.32'de gösterilmiştir. İnkübasyonun ilk 9 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,07-0,98 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. İnkübasyonun 10. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında yeniden artışlar olduğu görülmüştür.

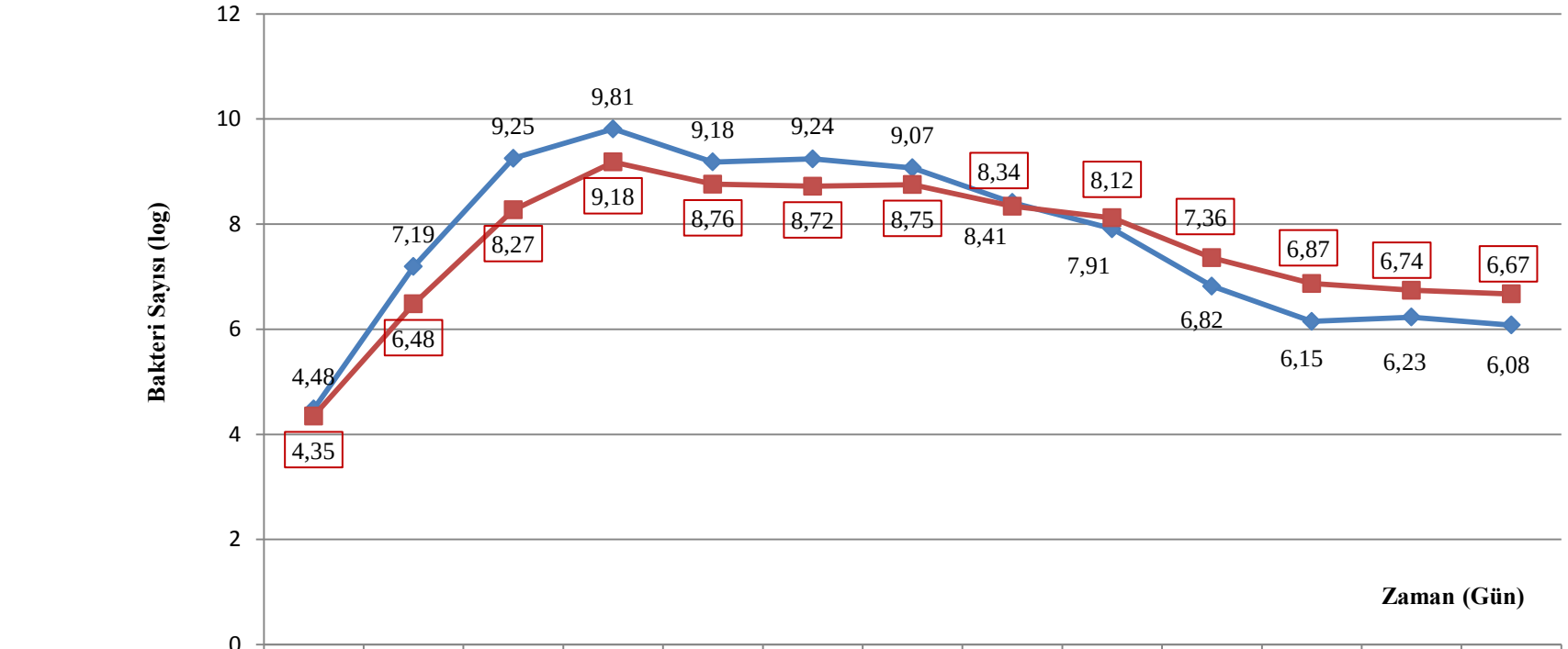
L. monocytogenes 287-1P suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 12 µg/mL pediyosin ilave edilerek, 35°C'de 21 gün inkübe edilmiştir (Şekil 4.34). *L. monocytogenes* 287-1P suşunun canlı hücre sayımı sonuçlarına göre, inkübasyonun ilk 9 günü boyunca kontrol grubuna göre pediyosinin bakteri inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür. İnkübasyonun 10. gününden itibaren kontrol grubuna göre patojen sayısında artışlar saptanmıştır. Patojen bakteri sayısında bu süre boyunca 0,10-1,61 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. 35°C'de 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki 12 µg/mL pediyosin uygulamasına kıyasla, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasının patojen sayısında daha yüksek düzeyde bir indirgeme sağladığı görülmektedir. *L. monocytogenes* 287-1P ve *L. monocytogenes* ATCC7644 suşlarına uygulanan 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen antimikrobiyel etki ile kıyaslandığı zaman, 12 µg/mL pediyosin uygulamasının patojen üzerinde daha fazla indirgediği ve ayrıca pediyosinin etkin olduğu sürenin de daha uzun olduğu görülmektedir.



	0,003	1	0,036				2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
287-1P/DENEME	0,003	0,014	0,208	1,302	1,590	1,653	1,681	1,694	1,702	1,721	1,735	1,738	1,747	1,750	1,755	1,765	1,765	1,768
287-1P/KONTROL	0,006	0,036	1,098	1,681	1,704	1,715	1,747	1,753	1,750	1,744	1,747	1,715	1,738	1,735	1,741	1,735	1,729	1,699

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

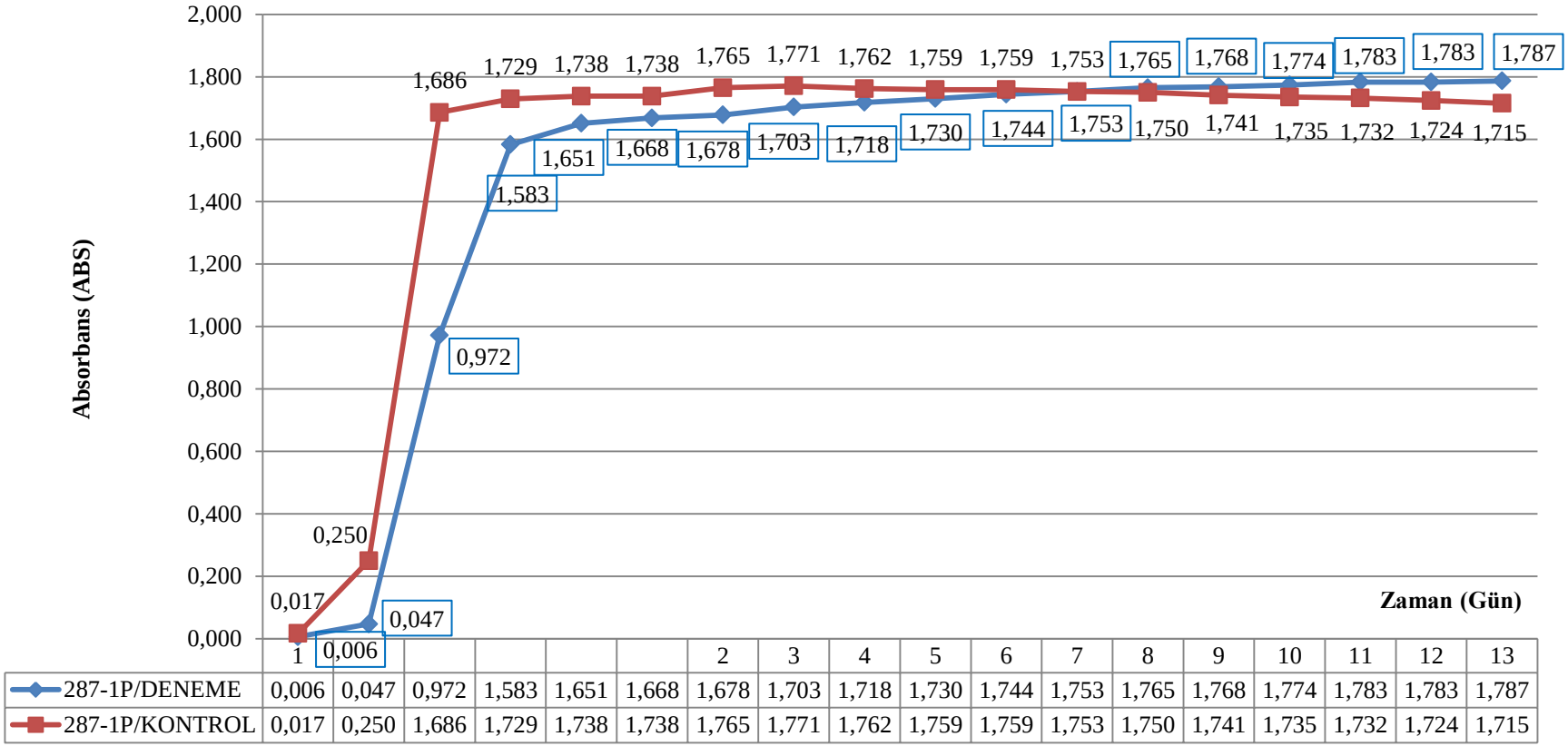
Şekil 4.31 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	7	9	10	13	16	18	21
287-1P/KONTROL	4,48	7,19	9,25	9,81	9,18	9,24	9,07	8,41	7,91	6,82	6,15	6,23	6,08
287-1P/DENEME	4,35	6,48	8,27	9,18	8,76	8,72	8,75	8,34	8,12	7,36	6,87	6,74	6,67

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen örnek

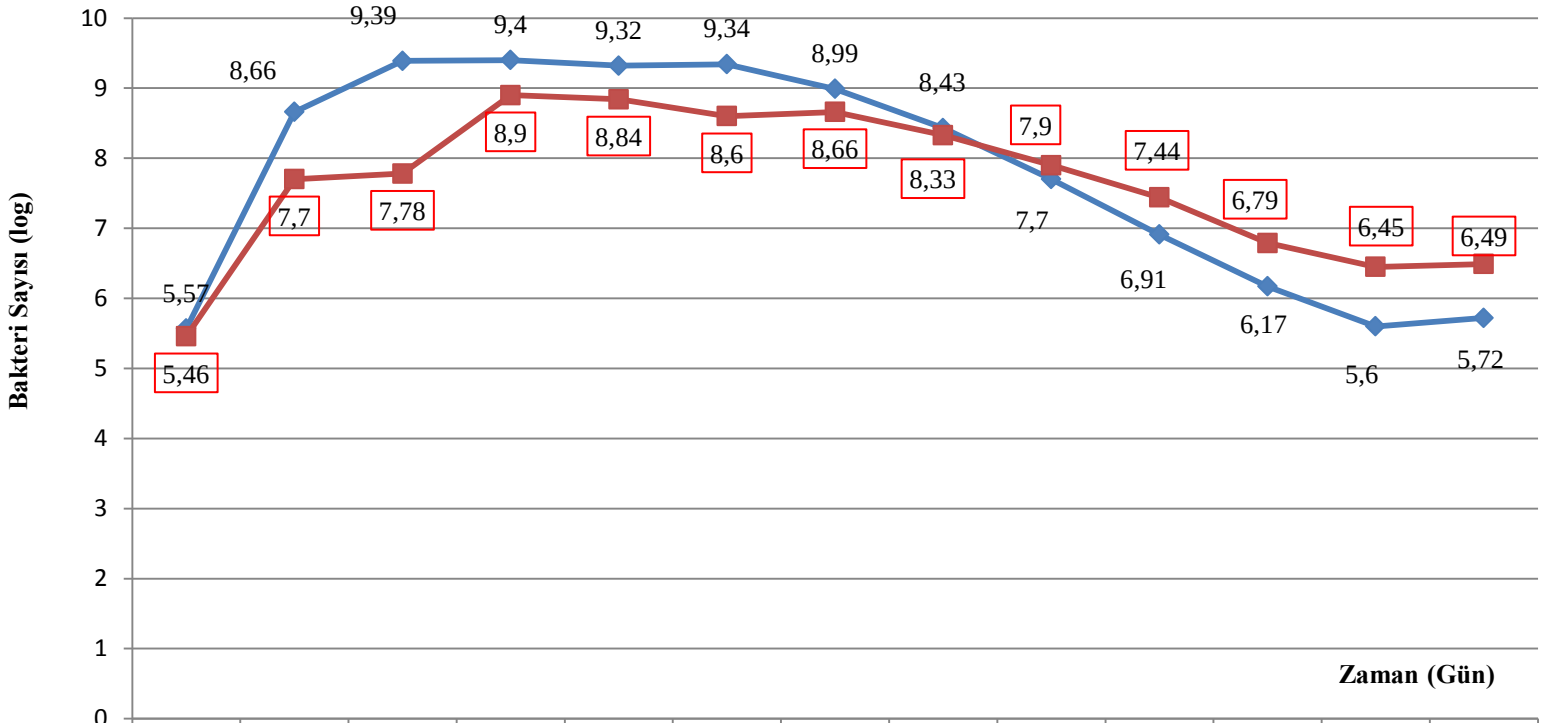
Şekil 4.32 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1						2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
287-1P/DENEME	0,006	0,047	0,972	1,583	1,651	1,668	1,678	1,703	1,718	1,730	1,744	1,753	1,765	1,768	1,774	1,783	1,783	1,787
287-1P/KONTROL	0,017	0,250	1,686	1,729	1,738	1,738	1,765	1,771	1,762	1,759	1,759	1,753	1,750	1,741	1,735	1,732	1,724	1,715

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

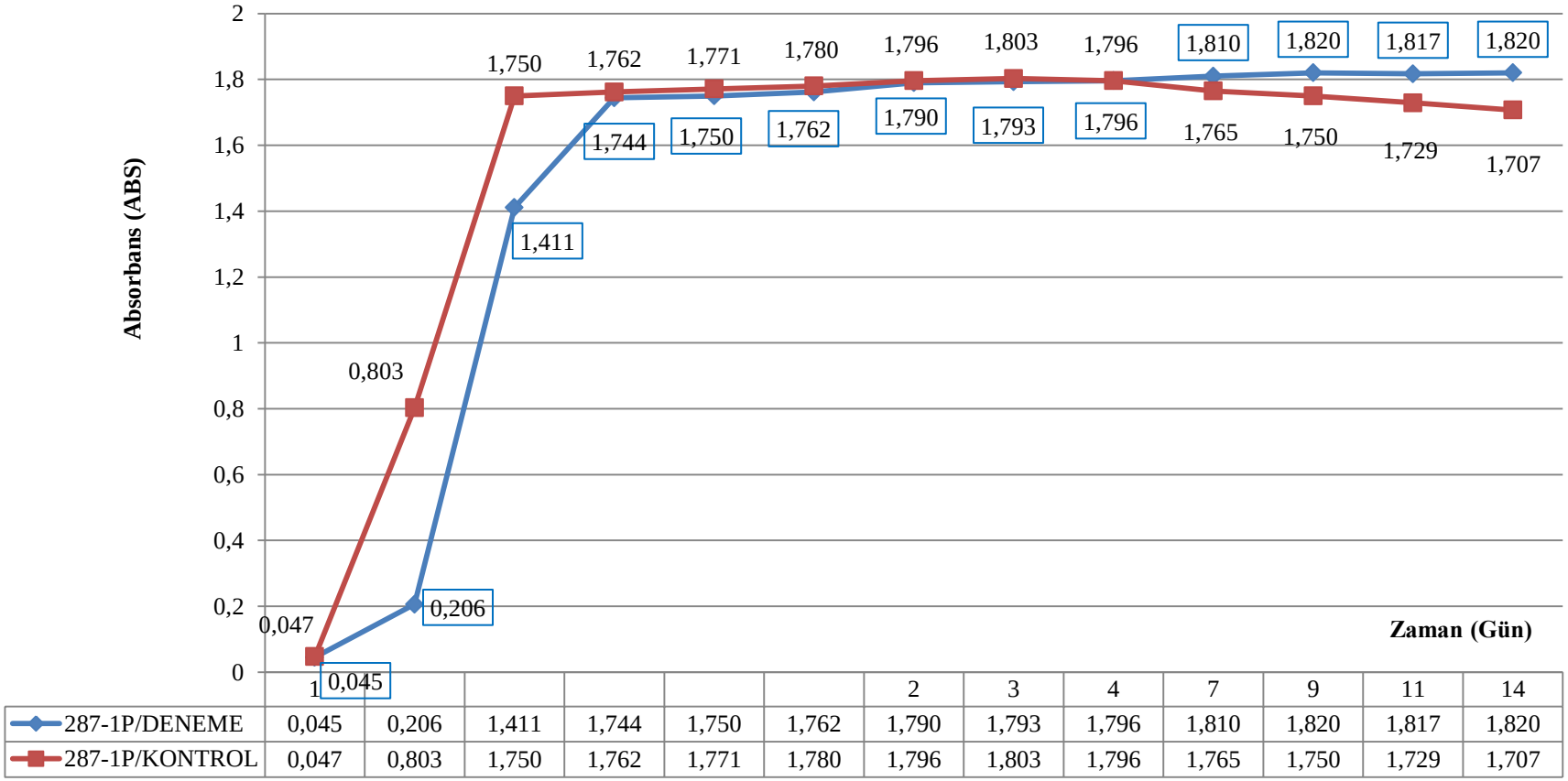
Şekil 4.33 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	7	9	10	13	16	18	21
287-1P/KONTROL	5,57	8,66	9,39	9,4	9,32	9,34	8,99	8,43	7,7	6,91	6,17	5,6	5,72
287-1P/DENEME	5,46	7,7	7,78	8,9	8,84	8,6	8,66	8,33	7,9	7,44	6,79	6,45	6,49

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

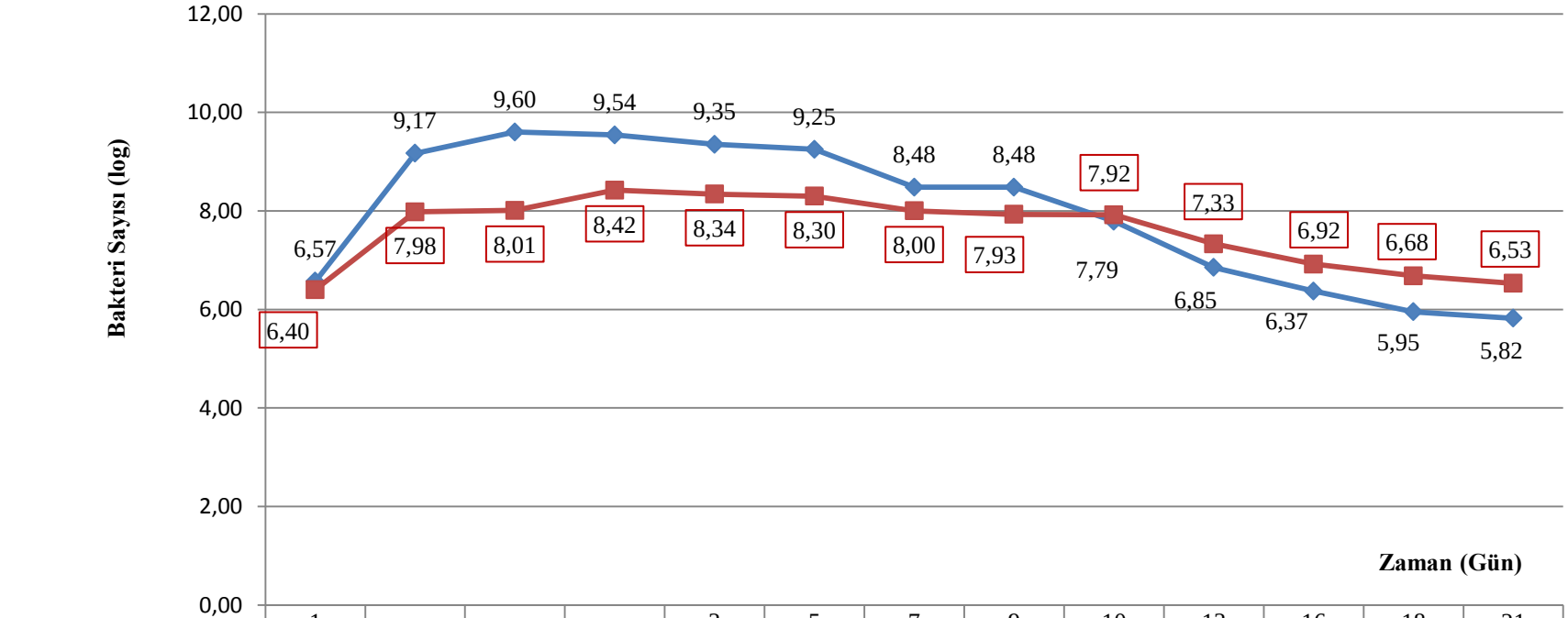
Şekil 4.34 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1						2	3	4	7	9	11	14
287-1P/DENEME	0,045	0,206	1,411	1,744	1,750	1,762	1,790	1,793	1,796	1,810	1,820	1,817	1,820
287-1P/KONTROL	0,047	0,803	1,750	1,762	1,771	1,780	1,796	1,803	1,796	1,765	1,750	1,729	1,707

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.35 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1				3	5	7	9	10	13	16	18	21
287-1P/KONTROL	6,57	9,17	9,60	9,54	9,35	9,25	8,48	8,48	7,79	6,85	6,37	5,95	5,82
287-1P/DENEME	6,40	7,98	8,01	8,42	8,34	8,30	8,00	7,93	7,92	7,33	6,92	6,68	6,53

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

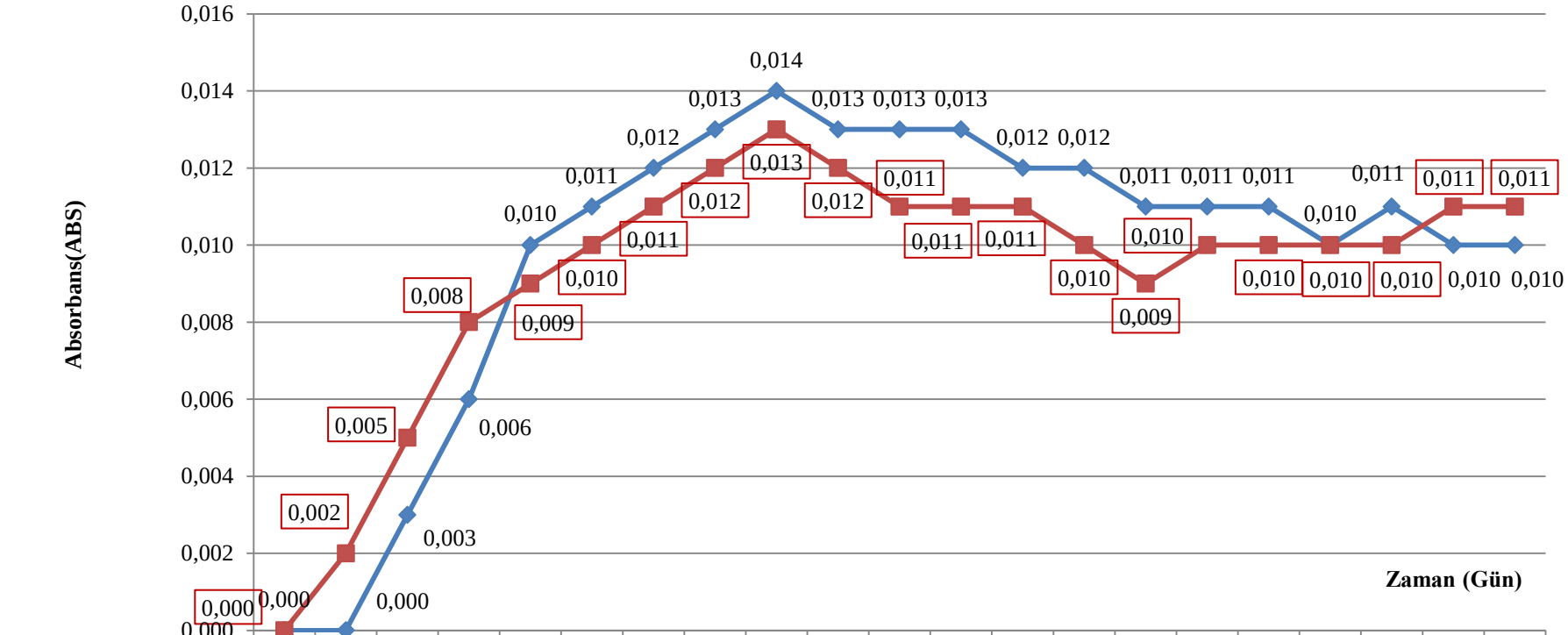
Şekil 4.36 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

Patojen hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL düzeyine ayarlanmış ve 35°C'de 21 gün boyunca 12 µg/mL pediyosin ile muamele ettirilmiştir (Şekil 4.36). *L. monocytogenes* 287-1P suşunun kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının inkübasyonun ilk 9 günü boyunca etkili olduğu ve inkübasyonun 10. günden itibaren patojen sayısında artışlar olduğu saptanmıştır. Pediyosin uygulamasının kontrol grubuna kıyasla patojen sayısında 0,17-1,59 log KOB/mL düzeyinde bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* 287-1P suşuna uygulanan 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen antimikrobiyel etki ile kıyaslandığı zaman, 12 µg/mL pediyosin uygulamasının birbirine benzer antimikrobiyel etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

4.2.3 *Listeria monocytogenes* 287-1P Suşuna Karşı 4°C'de 7 µg/mL Pediyosin Uygulaması

L. monocytogenes 287-1P suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.37, Şekil 4.38, Şekil 4.39, Şekil 4.40, Şekil 4.41 ve Şekil 4.42'de gösterilmiştir.

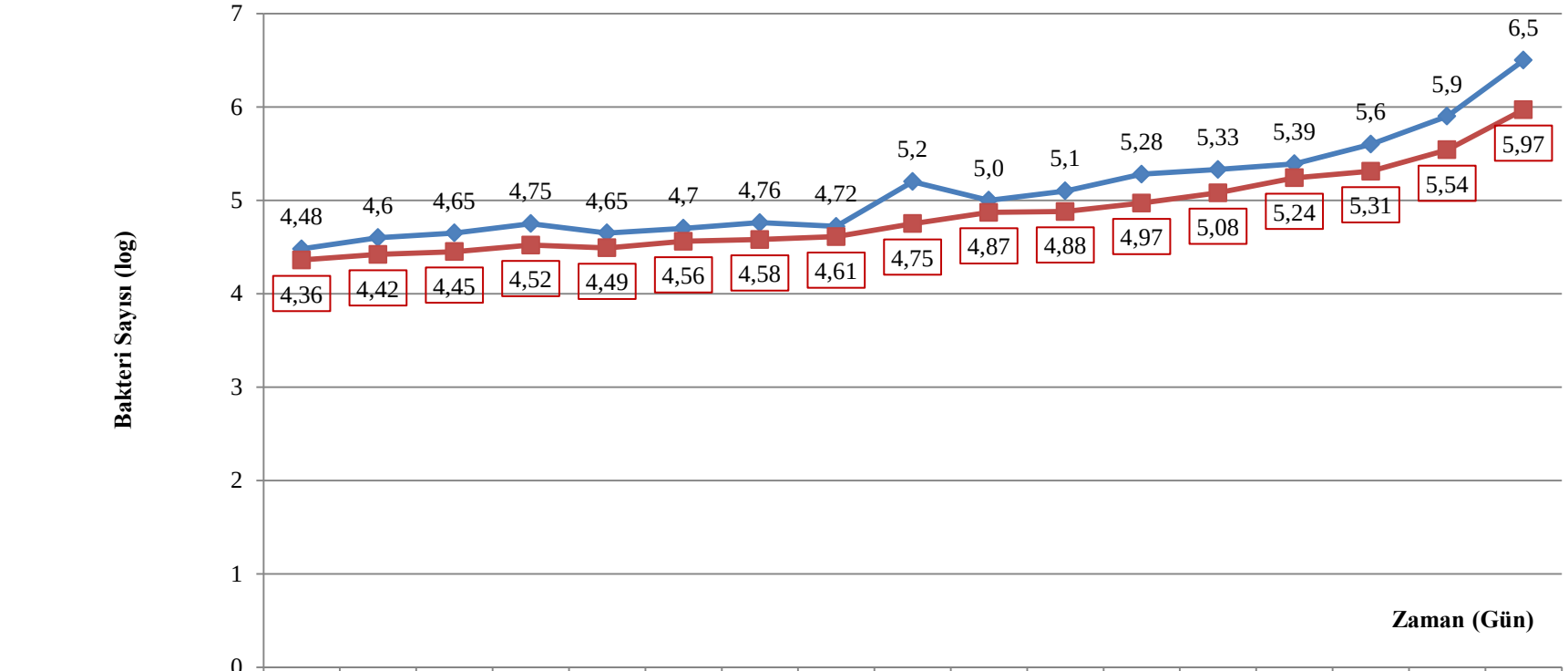
İnkübasyon sıcaklığı 4°C ayarlandığı zaman 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki *L. monocytogenes* 287-1P suşuna karşı 7 µg/mL pediyosin uygulamasının etkisi Şekil 4.38'de gösterilmiştir. Pediyosin içeren ve içermeyen kültür ortamları 37 gün boyunca 4°C'de inkübe edilmiş ve bu süre boyunca kontrol grubuna kıyasla 7 µg/mL pediyosin konsantrasyonunun patojen üzerinde baskılayıcı etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının patojen sayısında 0,11-0,53 log KOB/mL düzeyinde bir azalma sağladığı tespit edilmiştir. Aynı hücre yoğunluğu, pediyosin konsantrasyonu ve inkübasyon koşullarında *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda saptanan indirgenme oranı ile kıyaslandığı zaman, *L. monocytogenes* 287-1P suşundaki pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen indirgenme oranı daha yüksek bulunmuştur.



	1	2	3	4	6	7	8	9	10	12	13	14	15	17	20	24	27	31	38	48	62
287-1P/KONTROL	0,000	0,000	0,003	0,006	0,010	0,011	0,012	0,013	0,014	0,013	0,013	0,013	0,012	0,012	0,011	0,011	0,011	0,010	0,011	0,010	0,010
287-1P/DENEME	0,000	0,002	0,005	0,008	0,009	0,010	0,011	0,012	0,013	0,012	0,011	0,011	0,011	0,010	0,009	0,010	0,010	0,010	0,010	0,011	0,011

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

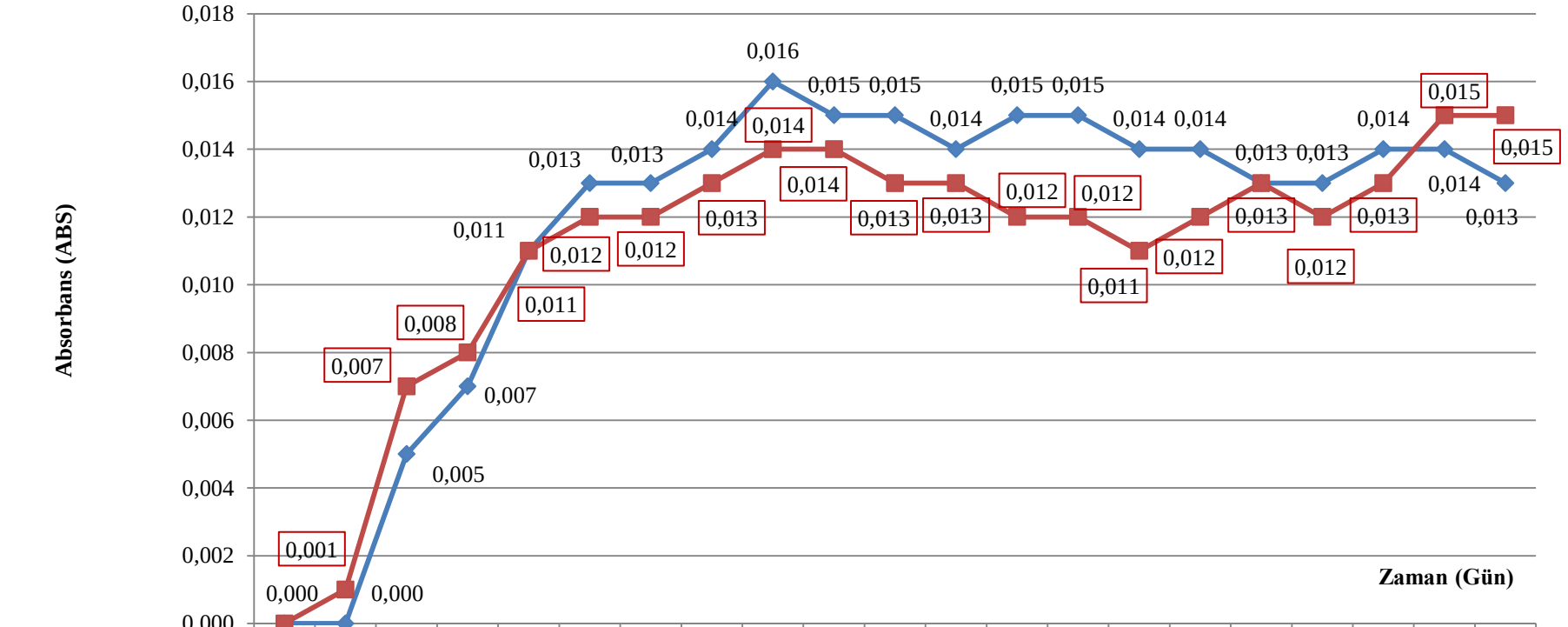
Şekil 4.37 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28	34	37
287-1P/KONTROL	4,48	4,6	4,65	4,75	4,65	4,7	4,76	4,72	5,2	5,0	5,1	5,28	5,33	5,39	5,6	5,9	6,5
287-1P/DENEME	4,36	4,42	4,45	4,52	4,49	4,56	4,58	4,61	4,75	4,87	4,88	4,97	5,08	5,24	5,31	5,54	5,97

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

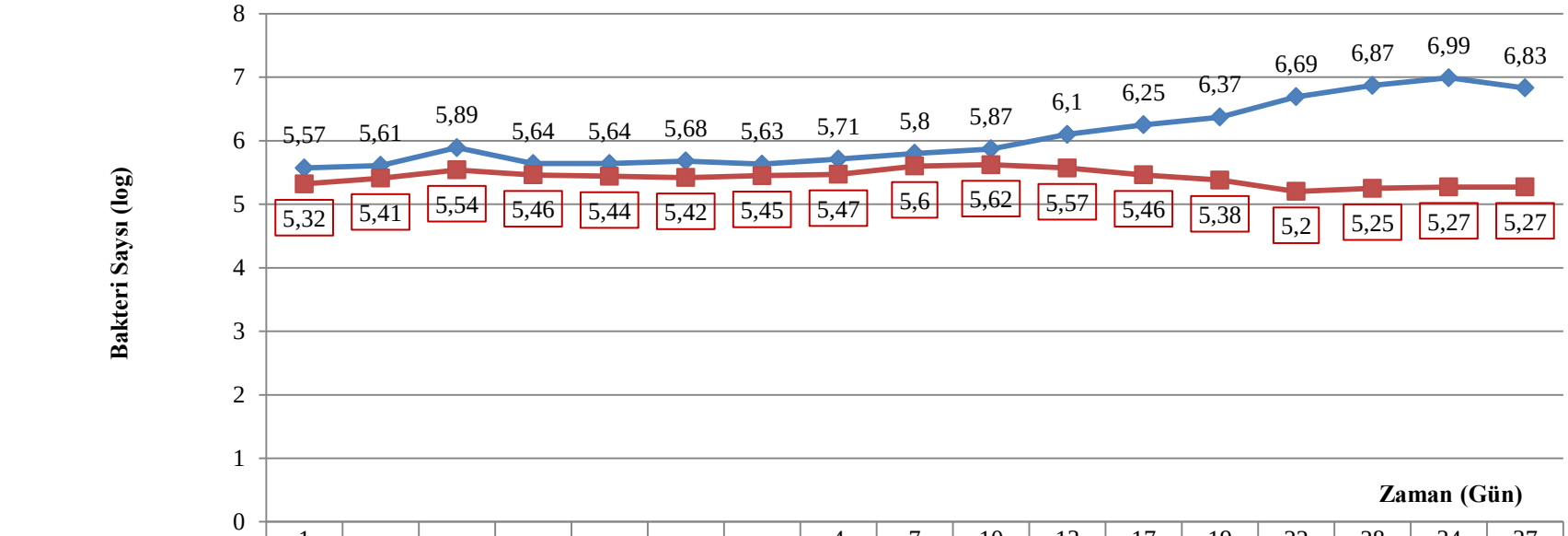
Şekil 4.38 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	2	3	4	6	7	8	9	10	12	13	14	15	17	20	24	27	31	38	48	62
287-1P/KONTROL	0,000	0,000	0,005	0,007	0,011	0,013	0,013	0,014	0,016	0,015	0,015	0,014	0,015	0,015	0,014	0,014	0,013	0,013	0,014	0,014	0,013
287-1P/DENEME	0,000	0,001	0,007	0,008	0,011	0,012	0,012	0,013	0,014	0,014	0,013	0,013	0,012	0,012	0,011	0,012	0,013	0,012	0,013	0,015	0,015

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

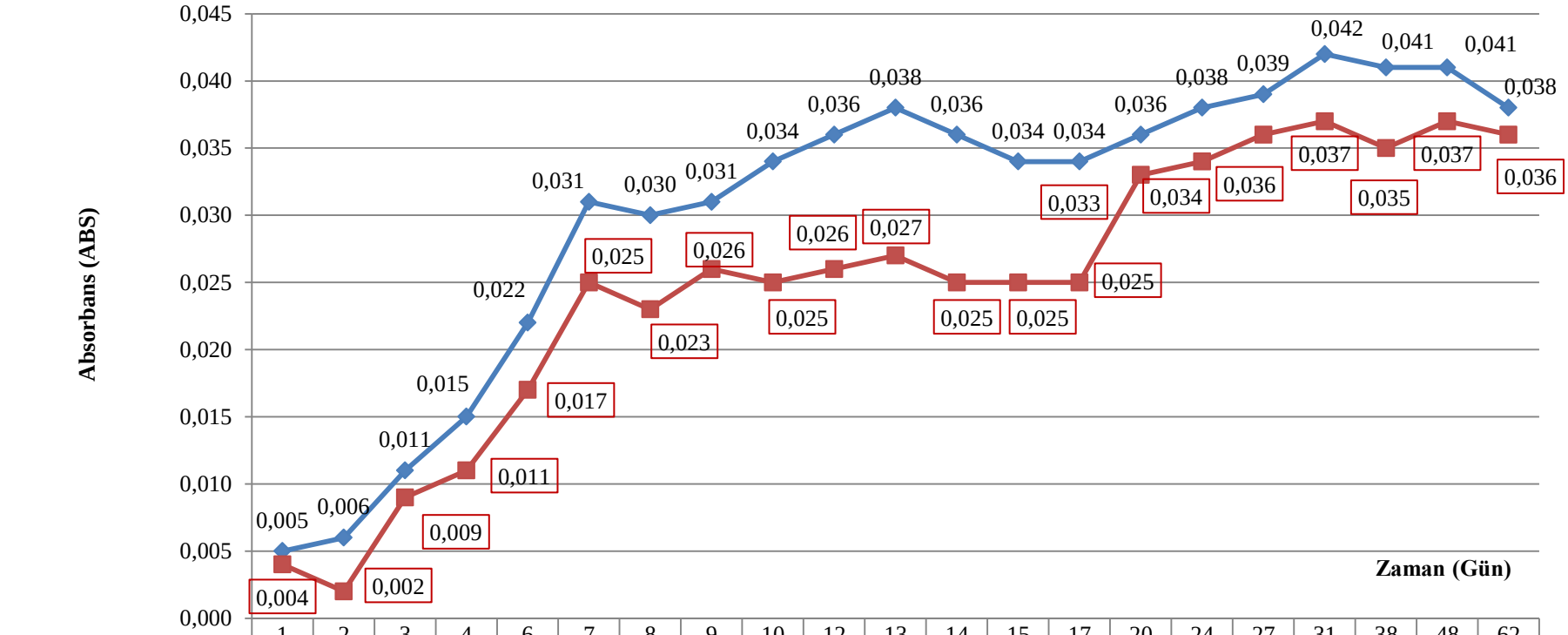
Şekil 4.39 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28	34	37
287-1P/KONTROL	5,57	5,61	5,89	5,64	5,64	5,68	5,63	5,71	5,8	5,87	6,1	6,25	6,37	6,69	6,87	6,99	6,83
287-1P/DENEME	5,32	5,41	5,54	5,46	5,44	5,42	5,45	5,47	5,6	5,62	5,57	5,46	5,38	5,2	5,25	5,27	5,27

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

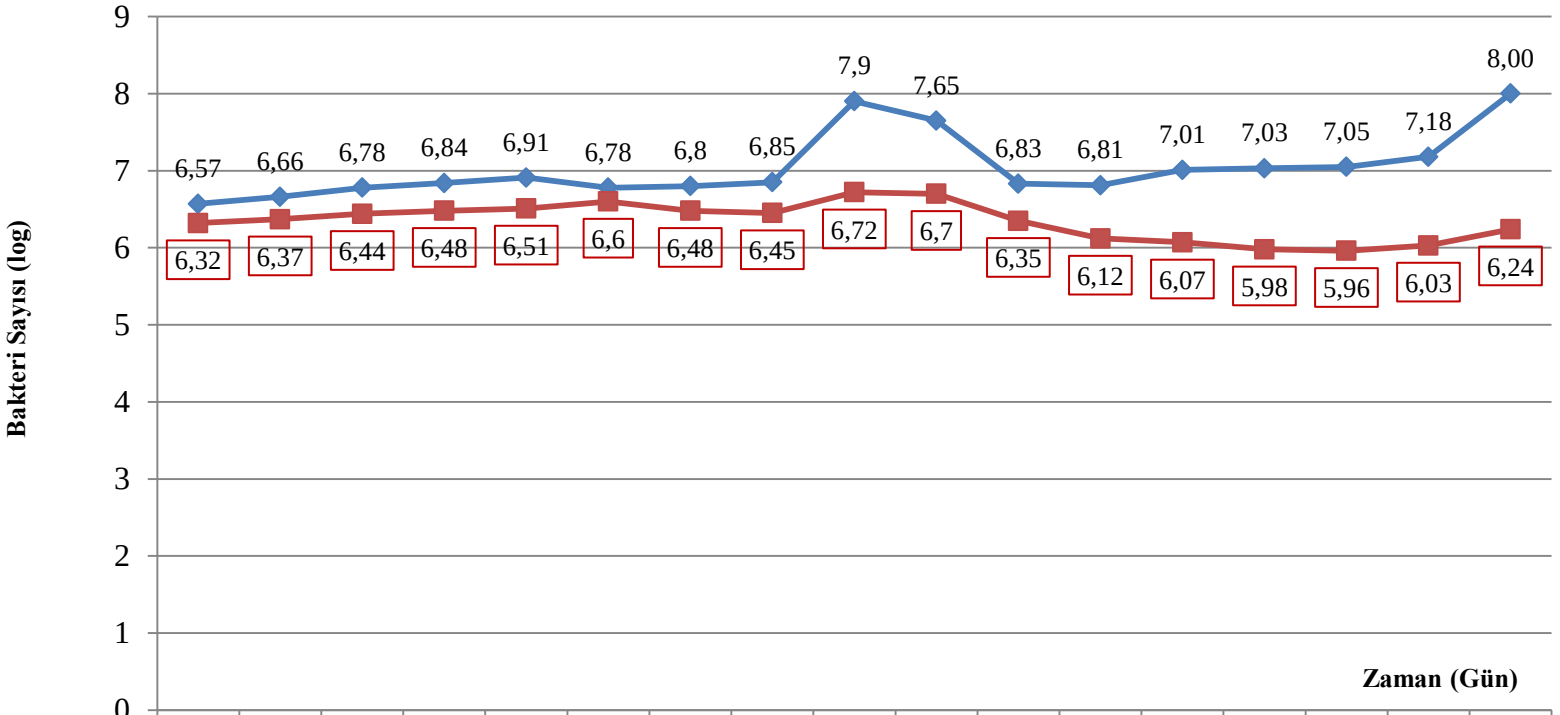
Şekil 4.40 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	2	3	4	6	7	8	9	10	12	13	14	15	17	20	24	27	31	38	48	62
287-1P/KONTROL	0,005	0,006	0,011	0,015	0,022	0,031	0,030	0,031	0,034	0,036	0,038	0,036	0,034	0,034	0,036	0,038	0,039	0,042	0,041	0,041	0,038
287-1P/DENEME	0,004	0,002	0,009	0,011	0,017	0,025	0,023	0,026	0,025	0,026	0,027	0,025	0,025	0,025	0,033	0,034	0,036	0,037	0,035	0,037	0,036

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.41 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28	34	37
287-1P/KONTROL	6,57	6,66	6,78	6,84	6,91	6,78	6,8	6,85	7,9	7,65	6,83	6,81	7,01	7,03	7,05	7,18	8,00
287-1P/DENEME	6,32	6,37	6,44	6,48	6,51	6,6	6,48	6,45	6,72	6,7	6,35	6,12	6,07	5,98	5,96	6,03	6,24

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.42 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

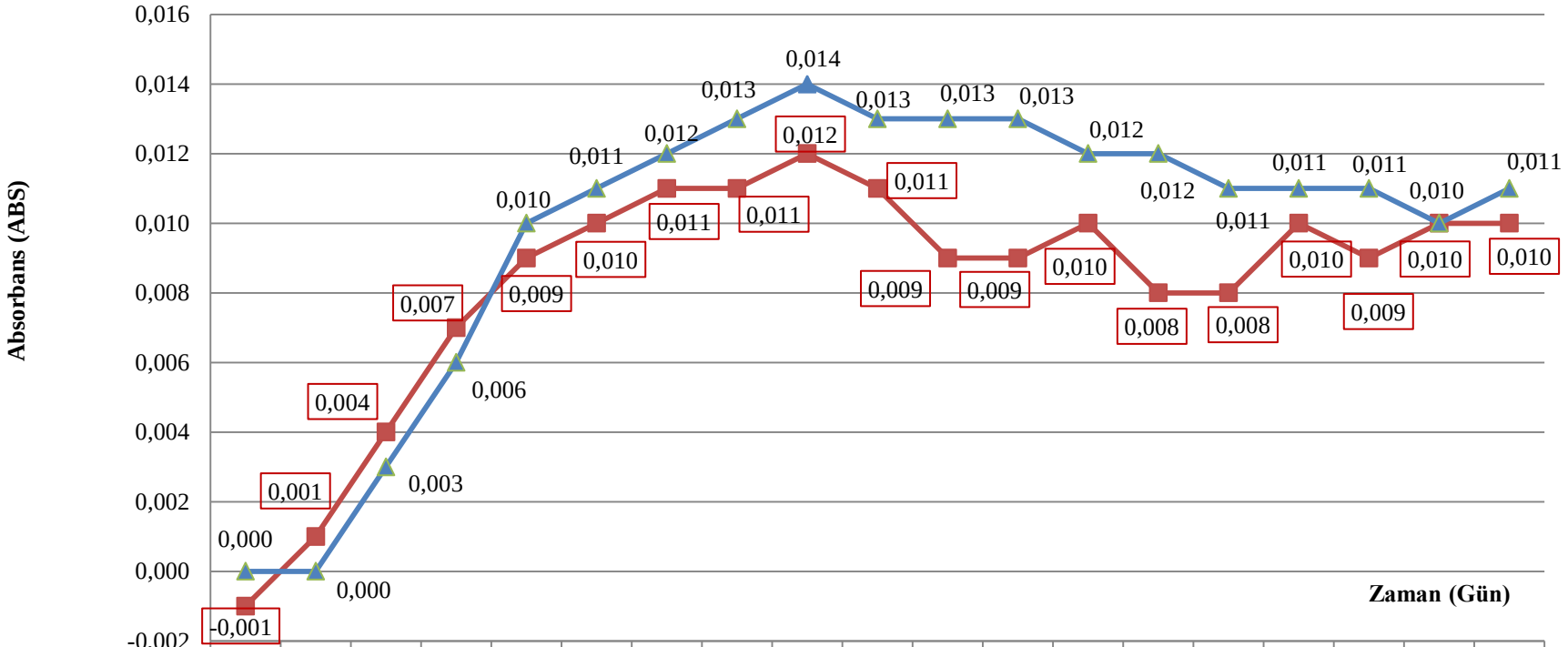
L. monocytogenes 287-1P suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 7 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 4°C'de 37 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.40'da yer almaktadır. Patojen bakteri sayısında ise bu süre boyunca kontrol grubuna kıyasla 0,18-1,72 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki patojen karşı uygulanan pediyosine kıyasla, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğundaki hücrelerde pediyosin uygulamasının patojen sayısında daha yüksek düzeyde bir indirgeme sağladığı görülmektedir.

L. monocytogenes 287-1P suşunun hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL ayarlanmış ve bu ortama 7 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. Pediyosin içeren kültür ortamı 4°C'de 37 gün boyunca inkübe edilmiştir (Şekil 4.42). Kontrol grubuna kıyasla *L. monocytogenes* 287-1P suşundaki canlı hücre sayımlarında pediyosin uygulamasının 37 gün boyunca etkin olduğu gözlemlenmiştir. Patojen sayısında bu süre boyunca kontrol grubuna kıyasla 0,18-1,76 log KOB/mL düzeyinde indirgenme saptanmıştır.

4.2.4 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması

L. monocytogenes 287-1P suşunun farklı hücre yoğunluklarına karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları ve OD değerleri Şekil 4.43, Şekil 4.44, Şekil 4.45, Şekil 4.46, Şekil 4.47 ve Şekil 4.48'de gösterilmiştir.

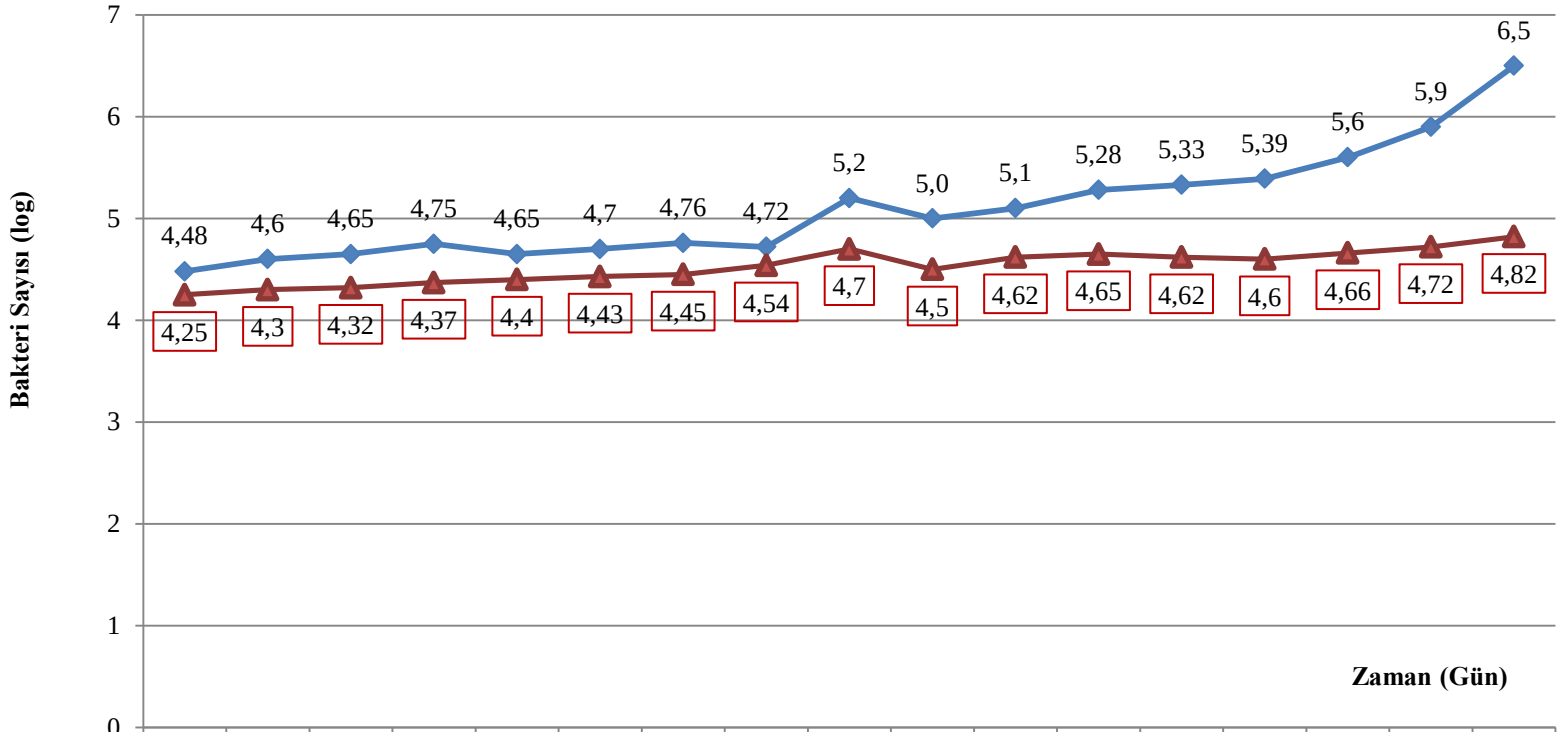
4°C depolama sıcaklığında 12 µg/mL pediyosin uygulamasının 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğuna sahip *L. monocytogenes* 287-1P suşuna karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel aktivite 37 gün boyunda incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.44'te gösterilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulanmış kültür ortamlarında canlı hücre sayısında 0,18-1,68 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Aynı hücre yoğunluğu, pediyosin konsantrasyonu ve inkübasyon koşullarında *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda saptanan indirgenme oranı ile kıyaslandığı zaman, *L. monocytogenes* 287-1P suşundaki 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen indirgenme oranı daha yüksek bulunmuştur.



	1	2	3	4	6	7	8	9	10	12	13	14	15	17	20	24	27	31	38
287-1P/ DENEME	-0,001	0,001	0,004	0,007	0,009	0,010	0,011	0,011	0,012	0,011	0,009	0,009	0,010	0,008	0,008	0,010	0,009	0,010	0,010
287-1P/KONTROL	0,000	0,000	0,003	0,006	0,010	0,011	0,012	0,013	0,014	0,013	0,013	0,013	0,012	0,012	0,011	0,011	0,011	0,010	0,011

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

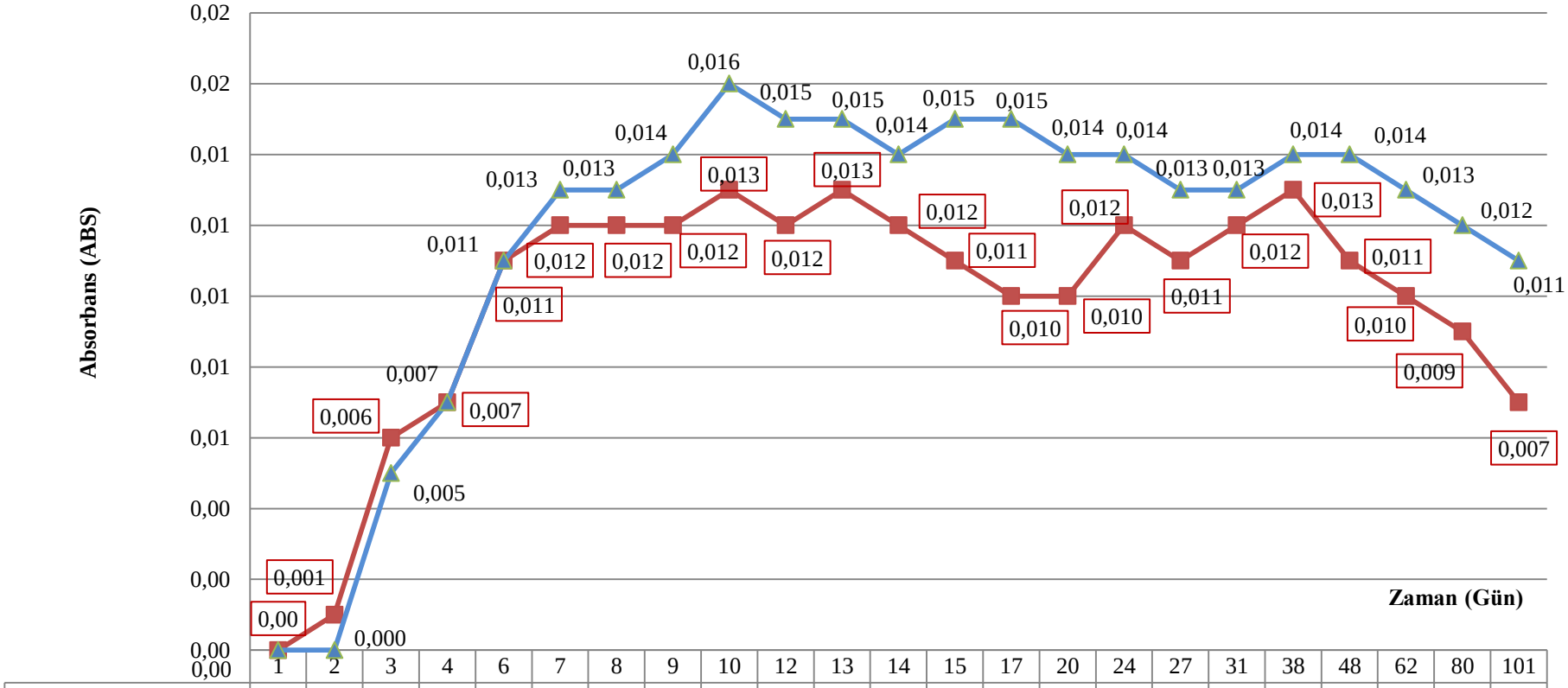
Şekil 4.43 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28	34	37
287-1P/KONTROL	4,48	4,6	4,65	4,75	4,65	4,7	4,76	4,72	5,2	5,0	5,1	5,28	5,33	5,39	5,6	5,9	6,5
287-1P/DENEME	4,25	4,3	4,32	4,37	4,4	4,43	4,45	4,54	4,7	4,5	4,62	4,65	4,62	4,6	4,66	4,72	4,82

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

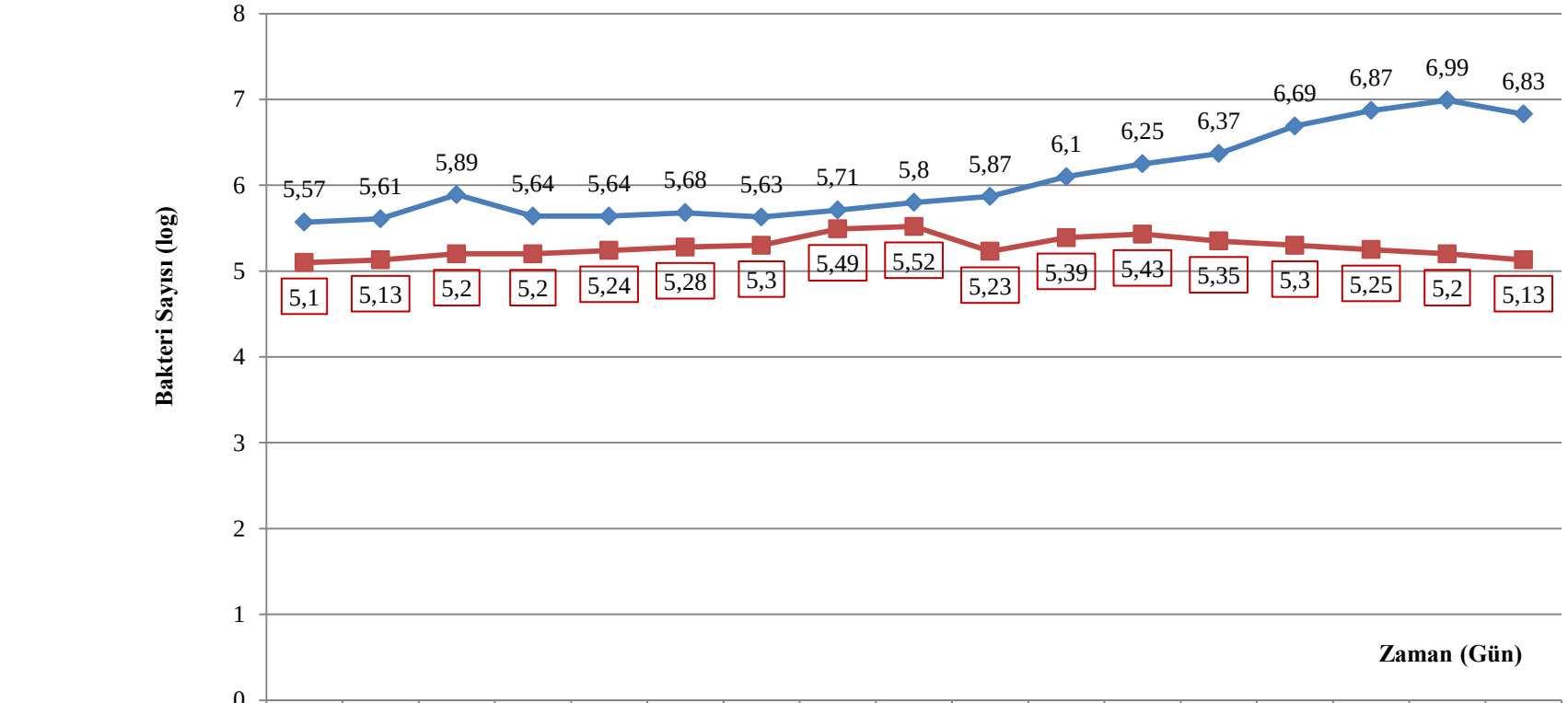
Şekil 4.44 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	2	3	4	6	7	8	9	10	12	13	14	15	17	20	24	27	31	38	48	62	80	101
287-1P/ DENEME	0,00	0,001	0,006	0,007	0,011	0,012	0,012	0,012	0,013	0,012	0,013	0,012	0,011	0,010	0,010	0,012	0,011	0,012	0,013	0,011	0,010	0,009	0,007
287-1P/KONTROL	0,00	0,000	0,005	0,007	0,011	0,013	0,013	0,014	0,016	0,015	0,015	0,014	0,015	0,015	0,014	0,014	0,013	0,013	0,014	0,014	0,013	0,012	0,011

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

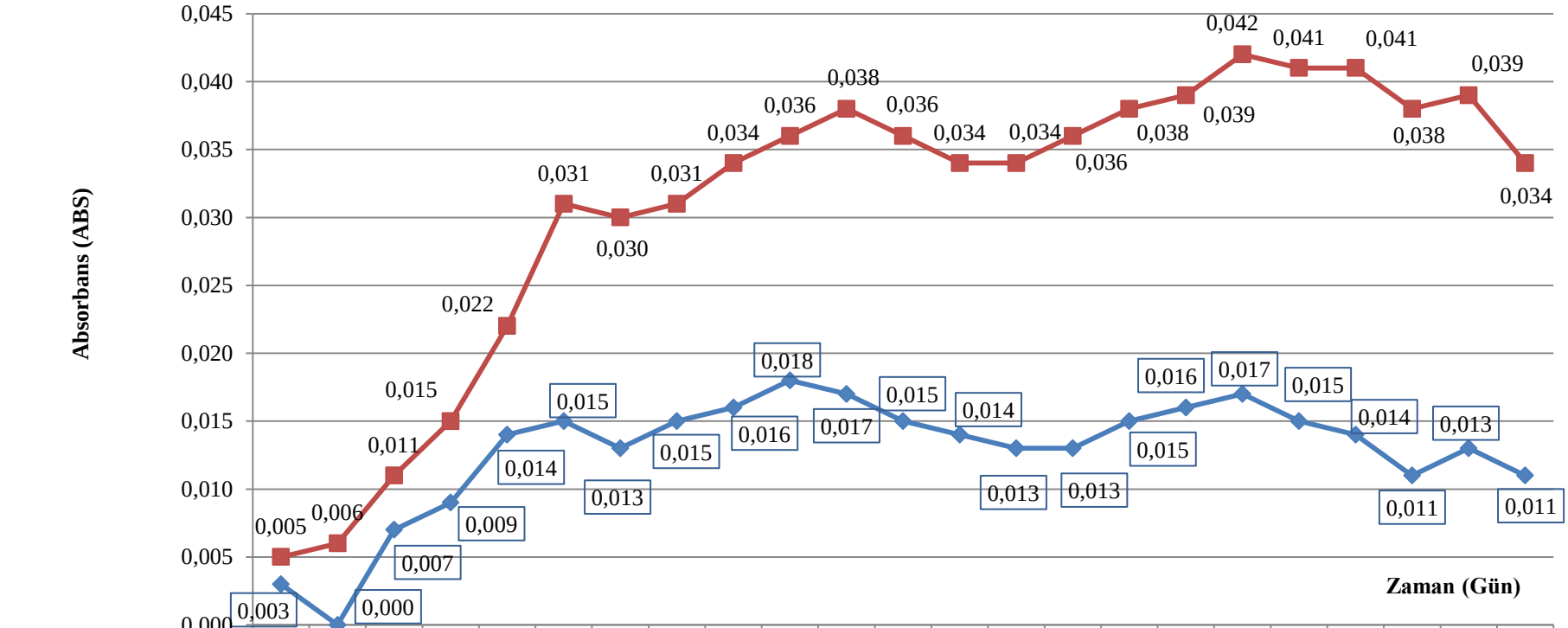
Şekil 4.45 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28	34	37
287-1P/KONTROL	5,57	5,61	5,89	5,64	5,64	5,68	5,63	5,71	5,8	5,87	6,1	6,25	6,37	6,69	6,87	6,99	6,83
287-1P/DENEME	5,1	5,13	5,2	5,2	5,24	5,28	5,3	5,49	5,52	5,23	5,39	5,43	5,35	5,3	5,25	5,2	5,13

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

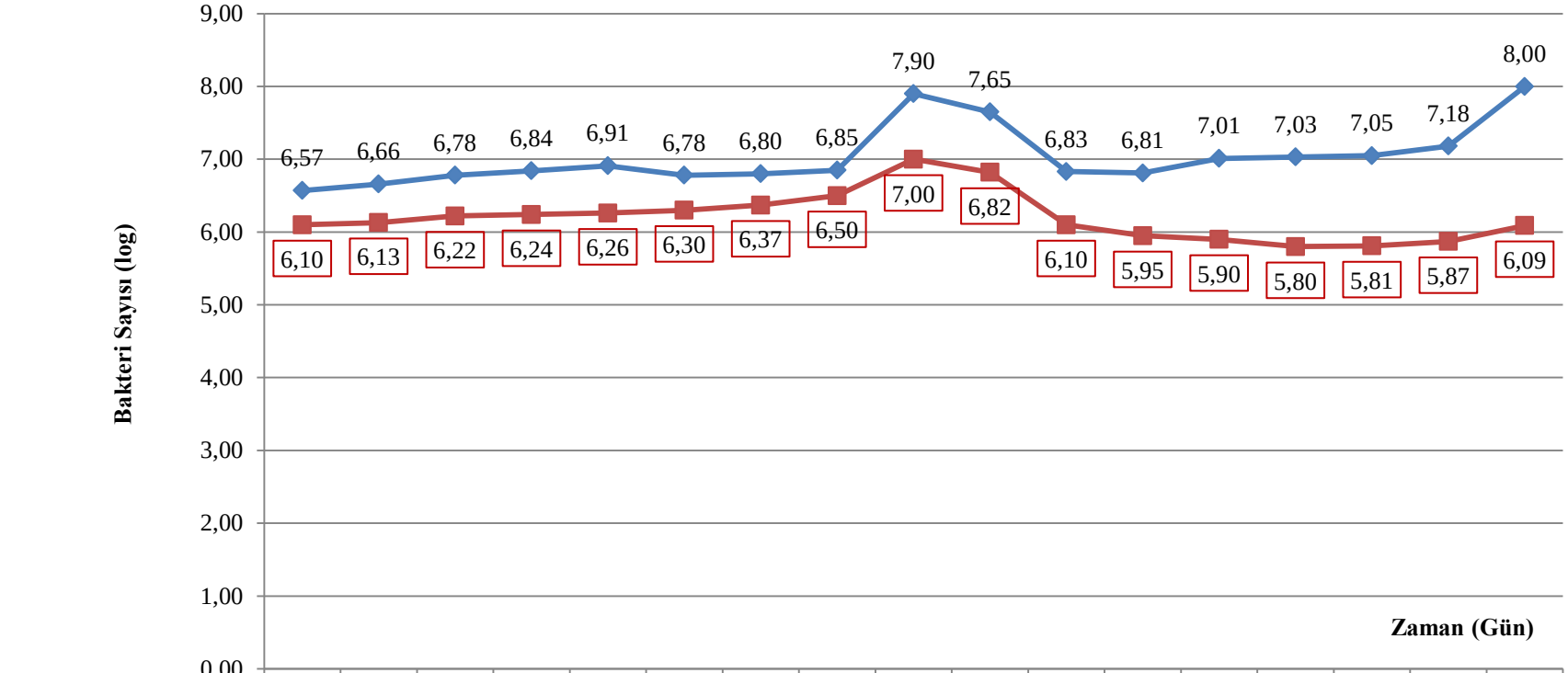
Şekil 4.46 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları



	1	2	3	4	6	7	8	9	10	12	13	14	15	17	20	24	27	31	38	48	62	80	101
287-1P/ DENEME	0,003	0,000	0,007	0,009	0,014	0,015	0,013	0,015	0,016	0,018	0,017	0,015	0,014	0,013	0,013	0,015	0,016	0,017	0,015	0,014	0,011	0,013	0,011
287-1P/KONTROL	0,005	0,006	0,011	0,015	0,022	0,031	0,030	0,031	0,034	0,036	0,038	0,036	0,034	0,034	0,036	0,038	0,039	0,042	0,041	0,041	0,038	0,039	0,034

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.47 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda 625 nm'de belirli aralıklarla ölçülen OD değerleri



	1							4	7	10	13	17	19	22	28	34	37
287-1P/KONTROL	6,57	6,66	6,78	6,84	6,91	6,78	6,80	6,85	7,90	7,65	6,83	6,81	7,01	7,03	7,05	7,18	8,00
287-1P/DENEME	6,10	6,13	6,22	6,24	6,26	6,30	6,37	6,50	7,00	6,82	6,10	5,95	5,90	5,80	5,81	5,87	6,09

Deneme: Pediyosin uygulanmış kültür ortamı **Kontrol:** Pediyosin içermeyen kültür ortamı

Şekil 4.48 *Listeria monocytogenes* 287-1P suşuna ait 10^7 KOB/mL hücre yoğunluğunun 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen canlı hücre sayımları

L. monocytogenes 287-1P suşunun hücre yoğunluğu 10^6 KOB/mL'ye ayarlanmış ve bu kültür ortamına 12 µg/mL pediyosin ilave edilmiştir. 4°C'de 37 gün inkübe edilen bu ortamlardaki canlı hücre sayımları Şekil 4.46'da yer almaktadır. Patojen bakteri sayısında ise bu süre boyunca kontrol grubuna kıyasla 0,22-1,79 log KOB/mL düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Patojen bakteri sayısındaki indirgenme inkübasyon süresi boyunca devam etmiştir. 10^5 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasına kıyasla, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluğundaki pediyosin uygulamasının patojen sayısında daha yüksek düzeyde bir indirgeme sağladığı görülmektedir.

Hücre yoğunluğu 10^7 KOB/mL düzeyine ayarlanan *L. monocytogenes* 287-1P suşuna 12 µg/mL pediyosin ilave edilmiş ve 4°C'de 37 gün inkübe edilmiştir (Şekil 4.48). Kontrol grubuna kıyasla pediyosin uygulamasının inkübasyon süresi boyunca devam etmiştir. Kontrol grubuna kıyasla 12 µg/mL pediyosin uygulamasının patojen sayısında 0,35-1,91 log KOB/mL düzeyinde indirgeme sağlamıştır. Benzer şekilde aynı hücre yoğunluğu, pediyosin konsantrasyonu ve inkübasyon koşullarında pediyosinin *L. monocytogenes* ATCC7644 suşuna karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel etki ile kıyaslandığı zaman, *L. monocytogenes* 287-1P suşundaki pediyosin uygulaması sonucunda elde edilen indirgenme oranı daha yüksek bulunmuştur.

4.3 Kültür Ortamlarına Pediyosin Uygulamasının Genel Değerlendirmesi

Tez çalışmasında *L. monocytogenes* suşlarının indirgenmesi üzerine farklı pediyosin konsantrasyonlarının (7 µg/mL ve 12 µg/mL), farklı inkübasyon sıcaklık derecelerinin (4°C ve 35 °C) ve farklı patojen hücre yoğunluklarının (10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL) etkisi araştırılmış ve elde olunan veriler Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1 Kültürel sayım sonuçlarına göre *Listeria monocytogenes* ATCC7644 ve *Listeria monocytogenes* 287-1P sayılarındaki indirgenme düzeyleri

İnkübasyon sıcaklığı	Bakteri hücre yoğunluğu (KOB/mL)	**Pediyosin: 7 µg/mL**				**Pediyosin: 12 µg/mL**			
		L. monocytogenes ATCC7644 Log KOB/mL	Pediyosinin patojen üzerinde etkin olduğu gün sayısı	*L. monocytogenes* 287-1P Log KOB/mL	Pediyosinin patojen üzerinde etkin olduğu gün sayısı	*L. monocytogenes* ATCC7644 Log KOB/mL	Pediyosinin patojen üzerinde etkin olduğu gün sayısı	*L. monocytogenes* 287-1P Log KOB/mL	Pediyosinin patojen üzerinde etkin olduğu gün sayısı
35 ˚C	10^5	0,06-0,38	8	0,18-1,00	8	0,04-0,6	10	0,07-0,98	10
	10^6	0,13-0,69	8	0,09-1,16	8	0,11-0,95	10	0,10-1,61	10
	10^7	0,05-1,1	8	0,07-1,6	8	0,13-1,2	10	0,17-1,59	10
4 ˚C	10^5	0,05-0,22	8	0,11-0,53	>8-	0,11-0,36	>10	0,18-1,68	>10
	10^6	0,04-0,09	8	0,18-1,72	>8	0,07-0,28	>10	0,22-1,79	>10
	10^7	0,05-0,19	8	0,18-1,76	>8	0,06-0,31	>10	0,35-1,91	>10

Tez çalışmamızda ticari olarak temin edilmiş olan pediyosin preparatı kullanılmıştır. Literatürde pediyosin üreticisi suşların *L. monocytogenes* suşlarına karşı biyokontrol ajanı olarak kullanımı üzerine çalışmalar yapılmış olup (Berry vd. 1991, Chen vd. 2004, Huang vd. 2009, Nieto-Lozano vd. 2010, Hartmann vd. 2011, Kingcha vd. 2012, Amado vd. 2016, Cavicchioli vd. 2017, Bahrami vd. 2020, Furlaneto-Maia vd. 2020, Komora vd. 2020, Ramos vd. 2020), ticari toz pediyosin preparatının kullanılmış olduğu bir çalışmaya rastlanmamıştır.

L. monocytogenes suşlarına karşı 4°C inkübasyon sıcaklığında 7 µg/mL pediyosin uygulamasında 0,04-1,76 log KOB/mL düzeyinde indirgenme sağlanabilirken, 35°C'de bu oran 0,05-1,6 log KOB/mL düzeyinde bulunmuştur. Benzer şekilde 12 µg/mL pediyosin uygulamasında *L. monocytogenes* suşlarıdaki indirgenme miktarları 4°C inkübasyon sıcaklığında 0,06-1,79 log KOB/mL bulunurken, 35°C'de bu oran 0,04-1,59 log KOB/mL düzeyinde bulunmuştur (Çizelge 4.1).

L. monocytogenes suşlarının tez çalışmasında denenen 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki hücre yoğunluklarının pediyosinin antimikrobiyel aktivitesi üzerine çok fazla bir etkisi olmadığı görülmektedir.

Chen vd. (2004) tarafından *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiş sosis örneklerine 3000 AU ve 6000 AU düzeyinde pediyosin uygulanması sonucunda, örneklerdeki patojen sayısında 3,40 log birimlik düşüş saptanırken, 6000 AU konsantrasyonundaki pediyosin denemesinde bu değerin 5,20 log birime çıktığını belirlemişlerdir. Kingcha vd. (2012) kontamine sosis numunelerine, pediyosin üreticisi *P. pentosaceus* BCC3772 suşundan 10^4 KOB/g düzeyinde inoküle etmişler ve 18-24 h boyunca *L. monocytogenes* sayısındaki indirgenmeleri gözlemlemişlerdir. Araştırıcılar deneme sonunda *L. monocytogenes* sayısında <2 log KOB/g düzeyinde düşüş olduğunu vurgulamışlardır. Aynı denemede inkübasyon süresi 36 saate çıkarıldığında ise patojen sayısında 0,2-0,4 log KOB/g düzeylerinde artış saptadıklarını belirtmişlerdir. *P. pentosaceus* BCC3772 suşu 10^6 KOB/g düzeyinde inoküle edildiği zaman ise 24 h'lik inkübasyon sonunda *L. monocytogenes* sayısında 3 kog KOB/g düzeyinden daha yüksek düşüşler saptanmıştır.

Yukarıda kısaca özetlenen bu çalışmalarda elde olunan indirgenme oranları, tez çalışmasında elde olunan indirgenme oranlarından daha yüksek değerlerdir. Bu durum ticari toz pediyosin preparatlarının biyokontrol ajanı olarak gıda patojenlerine karşı kullanımını kısıtlayıcı bir etken olarak görülmektedir.

Tez çalışmasında *L. monocytogenes* ATCC7644 suşu kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde bakteri sayısındaki düşüş, *L. monocytogenes* 287-1P suşu denemelerinden daha az düzeyde gerçekleşmiştir. Bu veri, *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun pediyosine karşı daha dirençli olduğunu göstermektedir. Tez çalışmamızda yapılan MIK testinin sonucu da bu durumu desteklemektedir.

Tez çalışmamızda pediyosin uygulaması sonucunda *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda 35°C'de daha yüksek indirgenme düzeyleri elde olunurken (1,2 log KOB/m), *L. monocytogenes* 287-1P suşunda ise 4°C'de daha yüksek indirgenme oranı elde olunmuştur (1,79 log KOB/mL). Nieto-Lozano vd. (2010) sosis örneklerinde yaptıkları çalışmada, *L. monocytogenes*'e karşı pediyosin PA-1'in 4°C'deki antimikrobiyel etkisinin, 15°C'ye kıyasla daha fazla olduğunu saptamıştır. Araştırıcılar 4°C'de 60 gün depolanan örneklerde patojen sayısında 2 log birimlik düşüş saptanırken 15°C'de 30 gün depolanan örnekte sadece 0,6 log birimlik redüksiyon tespit edilmiştir. Benzer şekilde Huang vd. (2009) izole ettikleri Pediocin 05-10 ile muamele ettirdikleri kontamine jambonları 4°C'de 10 gün depolamışlardır. Depolama süresi boyunca kontrol grubundaki *L. monocytogenes* sayısının $5{,}5 \times 10^3$ KOB/g'dan $3{,}3 \times 10^7$ KOB/g düzeyine çıktığını belirlemişlerdir. Ancak 4°C'de pediyosin uygulanan örneklerdeki *L. monocytogenes* sayısının ise sadece 640 KOB/mL düzeyinden 980 KOB/mL düzeyine yükseldiğini vurgulamışlardır. Çalışmamızda elde olunan veriler, bu çalışmaları destekler niteliktedir.

Tez çalışmamızda elde olunan veriler istatistiksel olarak değerlendirildiği zaman; *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun pediyosin uygulanmış kültür ortamlarına ait indirgenme ölçümlerinin inkübasyonun ilk üç gününde anlamlı olduğu, *L. monocytogenes* 287-1P suşuna ait ölçümlerde ise inkübasyonun 9. gününden sonra indirgenme oranlarının anlamlı olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p<0{,}001$; $p=0{,}048$;

p=0,036; p=0,013). *L. monocytogenes* suşlarına karşı pediyosin uygulamasında 35^{o}C'lik inkübasyon sıcaklığının 4°C'ye kıyasla istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu saptanmıştır (1. gün ilk ölçümü hariç tümü için p<0,001). Pediyosin konsantrasyonu ile pediyosinin etkin olduğu süreç birbiri ile kıyaslandığı zaman; kontrol grubu (0 µg/ml pediyosin) ile 7 µg/mL pediyosin uygulanmış grup karşılaştırıldığında kontrol grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,001; p=0,003; p=0,036). Kontol grubu ile 12 µg/ml pediyosin grubu karşılaştırıldığında benzer şekilde kontrol grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla p<0,001; p=0,002; p=0,002; p=0,026; p=0,037). 7 µg/mL pediyosin ile 12 µg/mL pediyosin grubu karşılaştırıldığında ise, sadece 1. gün ilk ölçüm zamanında 7 µg/mL pediyosin grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0,033).

L. monocytogenes suşlarının tez çalışmasında denenen 10^5 KOB/mL ile 10^6 KOB/mL hücre yoğunluk grupları karşılaştırıldığında, 10^6 KOB/mL hücre yoğunluk grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla p<0,001; p<0,003; p=0,001). 10^5 ile 10^7 KOB/mL hücre yoğunluk grupları karşılaştırıldığında 5. gün ölçüm zamanı hariç tüm ölçüm zamanlarında 10^7 KOB/mL hücre yoğunluk grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. 10^6 ile 10^7 KOB/mL hücre yoğunluk grupları karşılaştırıldığında 1. gün son ölçüm, 3. gün, 5. gün ve 7. gün ölçüm zamanları hariç tüm ölçüm zamanlarında 10^7 KOB/mL hücre yoğunluk grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

5. SONUÇ

- Tez çalışması kapsamında öncelikle gıdalardan izole edilmiş ve moleküler tanımlaması yapılmış olan 29 adet *L. monocytogenes* suşu ile *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun pediyosine karşı duyarlılık düzeylerini saptamak amacıyla MIK testi uygulanmıştır.
- MIK testi sonucunda pediyosine karşı en duyarlı suş olarak belirlenen *L. monocytogenes* 287-1P suşu ile *L. monocytogenes* ATCC7644 suşu tez çalışmasında kullanılmıştır.
- Farklı hücre yoğunluğundaki (10^5 KOB/mL, 10^6 KOB /mL ve 10^7 KOB /mL) *L. monocytogenes* ATCC7644 ve *L. monocytogenes* 287-1P suşlarını indirgeyebilmek için, 4°C ve 35°C inkübasyon sıcaklıklarında 7 µg/mL ve 12 µg/mL konsantrasyonlarındaki pediyosin denenmiştir. İnkübasyon süresi boyunca belirli aralıklarla canlı kültürel sayımlar ve 625 nm'de OD ölçümü yapılmıştır.
- *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, ilk 7 gün patojen sayısında indirgenmeler saptanırken, inkübasyonun 8. gününden itibaren her üç uygulamada da patojen sayısında artışlar olduğu belirlenmiştir.
- *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, ilk 9 gün patojen sayısında indirgenmeler saptanırken, inkübasyonun 10. gününden itibaren her üç uygulamada da patojen sayısında artışlar olduğu belirlenmiştir.
- *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, ilk 7 gün patojen sayısında indirgenmeler saptanırken, inkübasyonun 8. gününden itibaren her üç uygulamada da patojen sayısında artışlar olduğu belirlenmiştir.
- *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması

sonucunda, 28 günlük inkübasyon uygulanmış ve bu süre boyunca patojen sayısında indirgenmeler saptanmıştır.

- *L. monocytogenes* 287-1P suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 35°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, ilk 7 gün patojen sayısında indirgenmeler saptanırken, inkübasyonun 8. gününden itibaren her üç uygulamada da patojen sayısında artışlar olduğu belirlenmiştir.
- *L. monocytogenes* 287-1P suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, ilk 9 gün patojen sayısında indirgenmeler saptanırken, inkübasyonun 10. gününden itibaren her üç uygulamada da patojen sayısında artışlar olduğu belirlenmiştir.
- *L. monocytogenes* 287-1P suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 4°C'de 7 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, 37 günlük inkübasyon uygulanmış ve bu süre boyunca patojen sayısında indirgenmeler saptanmıştır.
- *L. monocytogenes* 287-1P suşunun 10^5 KOB/mL, 10^6 KOB/mL ve 10^7 KOB/mL düzeylerindeki kültür ortamlarına karşı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda, 37 günlük inkübasyon uygulanmış ve bu süre boyunca patojen sayısında indirgenmeler saptanmıştır.
- Bakteri sayısındaki indirgenme düzeyleri incelendiğinde *L. monocytogenes* 287-1P suşunda daha yüksek redüksiyon oranları kaydedilmiştir. Bu da MIK testini doğrular nitelikte olup, söz konusu suşun pediyosine karşı *L. monocytogenes* ATCC7644 suşundan daha duyarlı olduğunu kanıtlamaktadır.
- *L. monocytogenes* ATCC7644 suşunda en yüksek indirgenme oranı 35°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilmiştir (1,2 log KOB/mL).
- *L. monocytogenes* 287-1P suşunda en yüksek indirgenme oranı 4°C'de 12 µg/mL pediyosin uygulaması sonucunda elde edilmiştir (1,91 log KOB/mL).
- Tez çalışmasında pediyosinin *L. monocytogenes* suşlarına karşı antimikrobiyel etkinlik süreleri 4°C'de daha uzun süreli olmuştur. Benzer şekilde 12 µg/mL

pediyosin uygulaması sonucunda elde olunan antimikrobiyel etki süresi ise, 7 µg/mL pediyosin uygulamasına kıyasla daha uzun süreli olmuştur.

KAYNAKLAR

Abdollahzadeh, E., Ojagh, S. M., Hosseini, H., Irajian, G. and Ghaemi, E. A. 2016. 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, 73, 205-211.

Abrahão, W. M., Abrahão, P. R. D. S., Monteiro, C. L. B. and Pontarolo, R. 2008. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 44(2), 289-296.

Acedo, J. Z., Chiorean, S., Vederas, J. C. and van Belkum, M. J. 2018. The expanding structural variety among bacteriocins from Gram-positive bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 42(6), 805-828.

Ahmad, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A. and Siddiqui, M. U. 2017. Antimicrobial potential of bacteriocins: In therapy, agriculture and food preservation. International Journal of Antimicrobial Agents, 49(1), 1-11.

Aksoy, A., Sezer, Ç., Vatansever, L. and Gülbaz, G. 2018. Presence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in raw milk and dairy products. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 24(3), 415-421.

Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D. and Kuipers, O. P. 2016. Bacteriocins of lactic acid bacteria: Extending the family. Applied Microbiology and Biotechnology, 100(7), 2939-2951.

Amso, Z., Bisset, S. W., Yang, S. H., Harris, P. W., Wright, T. H., Navo, C. D., Patchett, M. L., Norris, G. E. and Brimble, M. A. 2018. Total chemical synthesis of glycocin F and analogues: S-glycosylation confers improved antimicrobial activity. Chemical Science, 9(6), 1686-1691.

Anonim. 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. 29.12.2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete. Web Sitesi: https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm Erişim Tarihi: 06.03.2022.

Anonymous. 2008. Web Sitesi: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cpg-sec-555320-listeria-monocytogenes Erişim Tarihi: 27.10.2021.

Anonymous. 2019. Web Sitesi: https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/listeria-listeriosis. Erişim Tarihi: 07.07.2021.

Anonymous. 2019. Web Sitesi: https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/eggs-12-19/index.html Erişim Tarihi: 14.11.2021.

Anonymous, 2020. Web Sitesi: https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/delimeat-10-20/index.html Erişim Tarihi: 14.11.2021.

Anonymous. 2021. Web Sitesi: https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/listeria Erişim Tarihi: 02.11.2021.

Authority, E. F. S. 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA Journal, 15(12).

Bahrami, A., Moaddabdoost Baboli, Z., Schimmel, K., Jafari, S. M. and Williams, L. 2020. Efficiency of novel processing technologies for the control of *Listeria monocytogenes* in food products. Trends Food Science and Technology, 96, 61–78.

Balciunas, E. M., Martinez, F. A. C., Todorov, S. D., de Melo Franco, B. D. G., Converti, A., de Souza Oliveira, R. P. 2013. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. Food Control, 32(1), 134-142.

Bali, V., Panesar, P. S., Bera, M. B. and Kennedy, J. F. 2016. Bacteriocins: Recent Trends and Potential Applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56(5), 817-834.

Batiha, G. E. S., Hussein, D. E., Algammal, A. M., George, T. T., Jeandet, P., Al-Snafi, A. E., Tiwari, A., Pagnossa, J. P., Lima, C. M., Thorat, N. D., Zahoor, M., El-Esawi,M., Dey, A., Alghamdi, S., Hetta, H. F. and Cruz-Martins, N. 2021. Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. Food Control, 108066.

Bédard, F. and Biron, E. 2018. Recent Progress in the Chemical Synthesis of Class II and S-glycosylated Bacteriocins. Frontiers in Microbiology, 9, 1048.

Bemena, L. D., Mohamed, L. A., Fernandes, A. M. and Lee, B. H. 2014. Applications of bacteriocins in food, livestock health and medicine. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(12), 924-49.

Berry, E. D., Hutkins, R. W. and Mandigo, R. W. 1991. The use of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactici* to control postprocessing *Listeria monocytogenes* contamination of frankfurters. Journal of Food Protection, 54, 681–686.

Bertsch, D., Rau, J., Eugster, M. R., Haug, M. C., Lawson, P. A., Lacroix, C. and Meile, L. 2013. *Listeria fleischmannii* sp. nov., isolated from cheese. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63(2), 526-532.

Besse, A., Peduzzi, J., Rebuffat, S. and Carre-Mlouka, A. 2015. Antimicrobial peptides and proteins in the face of extremes: Lessons from archaeocins. Biochimie, 118, 344-355.

Bizani, D., Morrissy, J. A., Dominguez, A. P. and Brandelli, A. 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in dairy products using the bacteriocin-like peptide cerein 8A. International Journal of Food Microbiology, 121(2), 229-233.

Bodie, A. 2019. Potential antimicrobials for controlling *Listeria monocytogenes* in frankfurters. University of Arkansas. Master Thesis, University of Arkansas, Bachelor of Arts in Biology, 110, Fayetteville.

Bohaychuck, V.M., Gensler, G.E., King, R.K., Manninen, K.I., Sorensen, O., Wu, J.T., Stiles, M.E. and McMullen, L.M. 2006. Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. Journal of Food Protection 69 (9), 2176–2182.

Boerlin, P., Rocourt, J., Grimont, F., Grimont, P. A., Jacquet, C. and Piffaretti, J. C. 1992. *Listeria ivanovii* subsp. *londoniensis* subsp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 42(1), 69-73.

Boldyreva, E. M., Hill, A., Griffiths, M. and Marcone, M. 2016. The quality and safety of washed-rind cheeses with a focus on antilisterial protection. International Dairy Journal, 55, 26-37.

Bonade, A., Murelli, F., Vescovo, M. and Scolari, G. 2001. Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus*. Letters in Applied Microbiology, 33(2), 153-158.

Buchanan, R. L., Gorris, L. G., Hayman, M. M., Jackson, T. C., and Whiting, R. C. 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. Food Control, 75, 1-13.

Canak, I., Markov, K., Jakopovic, Z., StarCevic, A., Gavrilovic, A., Dujakovic, J. J. and Frece, J. 2017. Application of *L. plantarum* O1 producer of plantaricin NC8 (PLNC8) in biopreservation of aquatic food products. Journal of Biotechnology, 256, S65.

Carlin, C. R., Liao, J., Weller, D. L., Guo, X., Orsi, R. and Wiedmann, M. 2021. Corrigendum: *Listeria cossartiae* sp. nov., *Listeria farberi* sp. nov., *Listeria immobilis* sp. nov., *Listeria portnoyi* sp. nov. and *Listeria rustica* sp. nov., isolated from agricultural water and natural environments. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 71(6), 1-16.

Carpentier, B. and Cerf, O. 2011. Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. International Journal of Food Microbiology, 145(1), 1-8.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2021. *Listeria* Outbreak Linked to Fully Cooked Chicken. Food Safety Alert Posted, 9. Web Sitesi: https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/precooked-chicken-07-21/index.html Erişim Tarihi: 22.10.2021.

Centers for Disease Control and Prevention. 2021. *Listeria* Outbreak Linked to Queso Fresco Made by El Abuelito Cheese Inc. Food Safety Alert Posted, 14. Web Sitesi: https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/hispanic-soft-cheese-02-21/index.html Erişim Tarihi: 05.03.2022.

Centers for Disease Control and Prevention. 2020. Outbreak of *Listeria* infections linked to enoki mushrooms. Web Sitesi: https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/enoki-mushrooms-03-20/index.html#:~:text=FDA%20collected%20samples%20of%20enoki,2020%2C%20FDA%20placed%20Green%20Co. Erişim Tarihi: 05.03.2022.

Charlesworth, J. C. and Burns, B. P. 2015. Untapped resources: biotechnological potential of peptides and secondary metabolites in archaea. Archaea, 2015, 1-7.

Chen, C. M., Sebranek, J. G., Dickson, J. S. and Mendonca, A. F. 2004. Combining pediocin (ALTA 2341) with postpackaging thermal pasteurization for control of *Listeria monocytogenes* on frankfurters. Journal of Food Protection, 67(9), 1855-1865.

Chen, J. Q., Regan, P., Laksanalamai, P., Healey, S. and Hu, Z. 2017. Prevalence and methodologies for detection, characterization and subtyping of *Listeria monocytogenes* and *L. ivanovii* in foods and environmental sources. Food Science and Human Wellness, 6(3), 97-120.

Cossart, P. 2007. Listeriology (1926–2007): the rise of a model pathogen. Microbes and Infection, 9(10), 1143-1146.

Cossart, P. and Lebreton, A. 2014. A trip in the "New Microbiology" with the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes*. FEMS Letters, 588(15), 2437-2445.

Cui, Y., Zhang, C., Wang, Y., Shi, J., Zhang, L.., Ding, Z., Qu, X. and Cui, H. 2012. Class IIa bacteriocins: Diversity and New Developments. International Journal of Molecular Sciences, 13(12), 16668-16707.

da Costa, R. J., Voloski, F. L., Mondadori, R. G., Duval, E. H. and Fiorentini, Â. M. 2019. Preservation of Meat Products with Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat. Journal of Food Quality, 2019, 1-12.

da Silva Sabo, S., Vitolo, M., González, J. M. D. and de Souza Oliveira, R. P. 2014. Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. Food Research International, 64, 527-536.

De Martinis, E. C. P., Alves, V. F. and Franco, B. D. G. M. 2002. Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. Food Reviews International, 18(2-3), 191-208.

Deegan, L. H., Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, P. 2006. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. International Dairy Journal, 16(9), 1058-1071.

Den Bakker, H. C., Manuel, C. S., Fortes, E. D., Wiedmann, M. and Nightingale, K. K. 2013. Genome sequencing identifies *Listeria fleischmannii* subsp. *coloradonensis* subsp. nov., isolated from a ranch. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63(9), 3257-3268.

Den Bakker, H. C., Warchocki, S., Wright, E. M., Allred, A. F., Ahlstrom, C., Manuel, C. S., Stasiewicz, M. J., Burrell, A., Roof, S., Strawn, L. K., Fortes, E., Nightingale, K. K., Kephart, D. ve Wiedmann, M. 2014. *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 64(6), 1882-1889.

Dillon, V. M. 2014. Natural Anti-microbial Systems| Preservative Effects during Storage. Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition), 941-947.

Dinçer, E., Kıvanç, M. ve Karaca, H. 2010. Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri. Gıda, 35(1), 1-8.

Disson, O., Moura, A. and Lecuit, M. 2021. Making Sense of the Biodiversity and Virulence of *Listeria monocytogenes*. Trends in Microbiology.29 (9), 811-822.

Doijad, S. P., Poharkar, K. V., Kale, S. B., Kerkar, S., Kalorey, D. R., Kurkure, N. V., Rawool, D. B., Malik, S. V. S., Ahmad, R. S., Hudel, M., Chaudhari S. P., Abt, B., Overmann, J., Weigel, M., Hain, T., Barbuddhe S. B. and Chakraborty, T. 2018. *Listeria goaensis* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 68(10), 3285-3291.

Dortu, C., Huch, M., Holzapfel, W. H., Franz, C. M. A. P. and Thonart, P. 2008. Anti-listerial activity of bacteriocin-producing *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 and *Lactobacillus sakei* CWBI-B1365 on raw beef and poultry meat. Letters in Applied Microbiology, 47(6), 581-586.

El-Hajjaji, S., Gérard, A. and Sindic, M. 2020. Is Butter A Product at Risk Regarding *Listeria monocytogenes*?-A Review. Food Reviews International, 1-12.

European Food Safety Authority (EFSA). 2007. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. EFSA Journal, 5(12), 130 pages.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. (EFSA and ECDC). 2013. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. EFSA Journal, 11(4), 3129.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. (EFSA and ECDC). 2014. The European Union Summary REPORT on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. EFSA Journal, 12(2), 3547.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. (EFSA and ECDC). 2015a. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. EFSA Journal, 13(1), 3991.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). 2015b. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal, 13(12), 4329.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. (EFSA and ECDC). 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal, 14(12), e04634.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal, 16(12).

European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). 2019. The European Union one health 2018 zoonoses report. EFSA Journal, 17(12), e05926.

European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. EFSA Journal, 19(2), e06406.

Ennahar, S., Aoude-Werner, D., Sorokine, O., Van Dorsselaer, A. L. A. I. N., Bringel, F., Hubert, J. C. and Hasselmann, C. 1996. Production of pediocin AcH by *Lactobacillus plantarum* WHE 92 isolated from cheese. Applied Environmental Microbiology, 62(12), 4381-4387.

Ennahar, S., Sashihara, T., Sonomoto, K. and Ishizaki, A. 2000. Class IIa bacteriocins: Biosynthesis, structure and activity. FEMS Microbiology Reviews, 24(1), 85-106.

Espitia, P. J. P., Otoni, C. G. and Soares, N. F. F. 2016. Pediocin applications in antimicrobial food packaging systems. In Antimicrobial food packaging (pp. 445-454). Academic Press. ISBN: 978-0-12-800723-5.

Fallico, V., McAuliffe, O., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. and Hill, C. 2011. The potential of lacticin 3147, enterocin AS-48, lacticin 481, variacin and sakacin P for food biopreservation. In Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation (pp. 100-128). Woodhead Publishing. ISBN: 978-1-84569-669-6.

Fantelli, K. and Stephan, R., 2001. Prevalence and characteristics of Shiga toxin producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. International Journal of Food Microbiology 70, 63–69.

FDA, 2008. Compliance Policy Guide Sec. 555.320 *Listeria monocytogenes.* Erişim Tarihi: 15.12.2021.

Feng, Y., Yao, H., Chen, S., Sun, X., Yin, Y. and Jiao, X. A. 2020. Rapid detection of hypervirulent serovar 4h *Listeria monocytogenes* by multiplex PCR. Frontiers in Microbiology, 11, 1309.

Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P. and Stasiewicz, M. J. 2014. *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. Journal of Food Protection, 77(1), 150-170.

Furlaneto-Maia, L., Ramalho, R., Rocha, K. R. and Furlaneto, M. C. 2020. Antimicrobial activity of enterocins against *Listeria* sp. and other food spoilage bacteria. Biotechnological Letters, 42, 797–806.

Gabrielsen, C., Brede, D. A., Nes, I. F. and Diep, D. B. 2014. Circular Bacteriocins: Biosynthesis and Mode of Action. Applied and Environmental Microbiology, 80(22), 6854-6862.

Gálvez, A., Abriouel, H., Benomar, N. and Lucas, R. 2010. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. Current Opinion in Biotechnology, 21(2), 142-148.

Gandhi, M. and Chikindas, M. L. 2007. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. International Journal of Food Microbiology, 113(1), 1-15.

García, P., Rodríguez, L., Rodríguez, A. and Martínez, B. 2010. Food biopreservation: Promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. Trends in Food Science & Technology, 21(8), 373-382.

Garneau, S., Martin, N. I. and Vederas, J. C. 2002. Two-peptide bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Biochimie, 84(5-6), 577-592.

Graves, L. M., Helsel, L. O., Steigerwalt, A. G., Morey, R. E., Daneshvar, M. I., Roof, S. E., Orsi, R. H., Fortes, E. D., Milillo, S. R., Den Bakker H. C., Wiedmann, M., Swaminathan, B. and Sauders, B. D. 2010. *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60(6), 1280-1288.

Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S. and Loessner, M. J. 2009. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Applied and Environmental Microbiology, 75(1), 93-100.

Guerini, M. N., Brichta-Harhay, D. M., Shackelford, S. D., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Kalchayanand, N., Wheeler, T. L. and Koohmaraie, M. 2007. *Listeria* prevalence and *Listeria monocytogenes* serovar diversity at cull cow and bull processing plants in the United States. Journal of food protection, 70(11), 2578-2582.

Halkman, A. K., Akpınar M., Ataman, P., Bağder Elmacı, S., Halkman, B., Halkman, H., Koçaker, N., Kolcuoğlu, G., Ömeroğlu, P. Y., Özçelik, F., Sağdaş, Ö. E., Sancar, B. Ç, Yıldırım, G. ve Yılmaz, A. 2019. Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar: Gıda Mikrobiyolojisi. Halkman A. K. (ed), Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri, 309-404, Ankara.

Halter, E. L., Neuhaus, K. and Scherer, S. 2013. *Listeria weihenstephanensis* sp. nov. isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63(2), 641-647.

Hartmann, H. A., Wilke, T. and Erdmann, R. 2011. Efficacy of bacteriocin-containing cell-free culture supernatants from lactic acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* in food. International Journal of Food Microbiology, 146(2), 192-199.

Hashim, H., Sikandar, S., Khan, M. A. and Qurashi, A. W. 2019. Bacteriocin: The avenues of innovation towards applied microbiology. Pure and Applied Biology (PAB), 8(1), 460-478.

Hassan, M., Kjos, M., Nes, I. F., Diep, D. B. and Lotfipour, F. 2012. Natural antimicrobial peptides from bacteria: Characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. Journal of Applied Microbiology, 113(4), 723-736.

Haugen, H. S., Kristiansen, P. E., Fimland, G. and Nissen-Meyer, J. 2008. Mutational analysis of the class IIa bacteriocin curvacin A and its orientation in target cell membranes. Applied Environmental Microbiology, 74(21), 6766-6773.

Hoelzer, K., Pouillot, R., Van Doren, J. M. and Dennis, S. 2014. Reduction of *Listeria monocytogenes* contamination on produce–a quantitative analysis of common liquid fresh produce wash compounds. Food Control, 46, 430-440.

Huang, L. 2009. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground beef under isothermal and dynamic temperature conditions. Journal of Food Engineering, 90(3), 380-387.

Huang, Y., Luo, Y., Zhai, Z., Zhang, H., Yang, C., Tian, H., Li, Z., Feng, J., Liu, H. and Hao, Y. 2009. Characterization and application of an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* 05-10 isolated from Sichuan Pickle, a traditionally fermented vegetable product from China. Food Control, 20(11), 1030-1035.

Ibrahim, O. O. 2019. Classification of Antimicrobial Peptides Bacteriocins and the Nature of Some Bacteriocins with Potential Applications in Food Safety and Bio-Pharmaceuticals. EC Microbiology, 15, 591-608.

İpçak, H. H., Özüretmen, S., Özelçam, H. ve Ünlü, H. B. 2017. Hayvan beslemede doğal koruyucular ve etki mekanizmaları. Hayvansal Üretim, 58(1), 57-65.

Jarvis, N. A., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., Johnson, M. G. and Crandall, P. G. 2016. A review of minimal and defined media for growth of *Listeria monocytogenes*. Food Control, 66, 256-269.

Ji, S., Li, W., Baloch, A. R., Wang, M. and Cao, B. 2015. Improved production of sublancin via introduction of three characteristic promoters into operon clusters responsible for this novel distinct glycopeptide biosynthesis. Microbial Cell Factories, 14(1), 17.

Jones, R. J., Zagorec, M., Brightwell, G. and Tagg, J. R. 2009. Inhibition by *Lactobacillus sakei* of other species in the flora of vacuum packaged raw meats during prolonged storage. Food Microbiology, 26(8), 876-881.

Jordan, K. and McAuliffe, O. 2018. *Listeria monocytogenes* in foods. Advances in Food and Nutrition Research, 86, 181-213.

Juturu, V. and Wu, J. C. 2018. Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. Biotechnology Advances, 36(8), 2187-2200.

Kaškonienė, V., Stankevičius, M., Bimbiraitė-Survilienė, K., Naujokaitytė, G., Šernienė, L., Mulkytė, K., Malakauskas, M. and Maruška, A. 2017. Current state of purification, isolation and analysis of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(4), 1323-1335.

Kassaa, I. A., Rafei, R., Moukhtar, M., Zaylaa, M., Gharsallaoui, A., Asehraou, A., Omari, K. E., Shahin, A., Hamze, M. and Chihib, N. E. 2019. LABiocin database:

A new database designed specifically for Lactic Acid Bacteria bacteriocins. International Journal of Antimicrobial Agents, 54(6), 771-779.

Kastin A. (Ed.). 2013. Handbook of Biologically Active Peptides. Academic Press. ISBN: 978-0-12-385095-9.

Kaur, G., Singh, T. P. and Malik, R. K. 2013. Antibacterial efficacy of Nisin, Pediocin 34 and Enterocin FH99 against *Listeria monocytogenes* and cross resistance of its bacteriocin resistant variants to common food preservatives. Brazilian Journal of Microbiology, 44, 63-71.

Kıran, F. ve Osmanağaoğlu, Ö. 2012. Gram-Pozitif Bakteriyosinlerin Genel Özellikleri ve Güncel Sınıflandırılması. Academic Food Journal/Akademik Gıda, 10(4), 91-101.

Kingcha, Y., Tosukhowong, A., Zendo, T., Roytrakul, S., Luxananil, P., Chareonpornsook, K., Valyasevi, R., Sonomoto, K. and Visessanguan, W. 2012. Anti-listeria activity of *Pediococcus pentosaceus* BCC 3772 and application as starter culture for Nham, a traditional fermented pork sausage. Food Control, 25(1), 190-196.

Komora, N., Maciel, C., Pinto, C. A., Ferreira, V., Brandão, T. R., Saraiva, J. M., Castro, S. M. and Teixeira, P. 2020. Non-thermal approach to *Listeria monocytogenes* inactivation in milk: the combined effect of high pressure, pediocin PA-1 and bacteriophage P100. Food Microbiology, 86, 103315.

Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P. and Elias, T. 2013. *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. Food Control, 30(1), 24-29.

Kumar, Y., Kaur, K., Shahi, A. K., Kairam, N. and Tyagi, S. K. 2017. Antilisterial, antimicrobial and antioxidant effects of pediocin and Murraya koenigii berry extract in refrigerated goat meat emulsion. LWT-Food Science and Technology, 79, 135-144.

Kumariya, R., Garsa, A. K., Rajput, Y. S., Sood, S. K., Akhtar, N. and Patel, S. 2019. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. Microbial Pathogenesis, 128, 171-177.

Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. 2005. Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(1), 77-83.

Larsen, H. E. and Seeliger, H. P. R. 1966. A mannitol fermenting *Listeria*: *Listeria grayi* sp., Proceedings of the Third International Symposium on Listeriosis, 1994, 35-39, Bilthoven, Holland.

Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P. A., Le Fleche-Mateos, A., Roche, S. M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Monnier, A., Lecuit, M. and Allerberger, F. 2010. *Listeria rocourtiae* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60(9), 2210-2214.

Leclercq, A., Moura, A., Vales, G., Tessaud-Rita, N., Aguilhon, C. and Lecuit, M. 2019. *Listeria thailandensis* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 69(1), 74-81.

Leong, D., NicAogáin, K., Luque-Sastre, L., McManamon, O., Hunt, K., Alvarez-Ordóñez, A., Scollard, J., Schmalenberger, A., Fanning, S., O'Byrne, C. and Jordan, K. 2017. A 3-year multi-food study of the presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in 54 small food businesses in Ireland. International Journal of Food Microbiology, 249, 18-26.

Liu, L., O'conner, P., Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, R. P. 2008. Controlling *Listeria monocytogenes* in cottage cheese through heterologous production of enterocin A by *Lactococcus lactis*. Journal of Applied Microbiology, 104(4), 1059-1066.

Liu, Y., Sun, W., Sun, T., Gorris, L. G., Wang, X., Liu, B. and Dong, Q. 2020. The prevalence of *Listeria monocytogenes* in meat products in China: A systematic literature review and novel meta-analysis approach. International Journal of Food Microbiology, 312, 108358.

Lynch, D., O'Connor, P. M., Cotter, P. D., Hill, C., Field, D. and Begley, M. 2019. Identification and characterisation of capidermicin, a novel bacteriocin produced by *Staphylococcus capitis*. PloS One, 14(10), 1-17.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H. and Stahl, D. A. 2017. Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi (Ed. C., Çökmüş). Palme Yayınları, 1002 s., ISBN: 978-605-355-596-4, Ankara.

Magalhães, R., Almeida, G., Ferreira, V., Santos, I., Silva, J., Mendes, M. M., Pita, J., Mariano, G., Mancio, I., Sousa, M. M., Farber, J., Pagotto, P. and Teixeira, P. 2015. Cheese-related listeriosis outbreak, Portugal, March 2009 to February 2012. Eurosurveillance, 20(17), 21104.

Maks, N., Zhu, L., Juneja, V. K. and Ravishankar, S. 2010. Sodium lactate, sodium diacetate and pediocin: Effects and interactions on the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* on bologna. Food Microbiology, 27(1), 64-69.

Mapelli, C., Barbiroli, A. G., De Benedetti, S., Musatti, A. and Rollini, M. S. 2018. Antilisterial bacteriocins for food security: the case of sakacin a. Encyclopedia of Food Security and Sustainability, 2, 385-392.

Melo, J., Andrew, P. W. and Faleiro, M. L. 2015. *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. Food Research International, 67, 75-90.

Morgan, S. M., Galvin, M., Ross, R. P. and Hill, C. 2001. Evaluation of a spray-dried lacticin 3147 powder for the control of *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* in a range of food systems. Letters in Applied Microbiology, 33(5), 387-391.

Murray, E.G.D., Webb, R.A. and Swann, M.B.R. 1926. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear monocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. The Journal of Pathology and Bacteriology, 29(4), 407-439.

Neves, M. A., Ung, P., Uemura, K., Takahashi, C., Kobayashi, I., Romano, P. and Nakajima, M. 2016. Antimicrobial Oil-in-Water Nanoemulsions: Synergistic Effect of Nisin and Carvacrol against *Bacillus subtilis*. Journal of Food Science and Engineering, 6, 63-74.

Netz, D. J. A., Pohl, R., Beck-Sickinger, A. G., Selmer, T., Pierik, A. J., de Freire Bastos, M. D. C. and Sahl, H. G. 2002a. Biochemical characterisation and genetic analysis of aureocin A53, a new, atypical bacteriocin from *Staphylococcus aureus*. Journal of Molecular Biology, 319(3), 745-756.

Netz, D. J. A., de Freire Bastos, M. D. C. and Sahl, H. G. 2002b. Mode of action of the antimicrobial peptide aureocin A53 from *Staphylococcus aureus*. Applied Environmental Microbiology, 68(11), 5274-5280.

Newstead, L. L., Varjonen, K., Nuttall, T. and Paterson, G. K. 2020. Staphylococcal-Produced Bacteriocins and Antimicrobial Peptides: Their Potential as Alternative Treatments for *Staphylococcus aureus* Infections. Antibiotics, 9(2), 40.

Nieto-Lozano, J. C., Reguera-Useros, J. I., Peláez-Martínez, M. D. C., Sacristán-Pérez-Minayo, G., Gutiérrez-Fernández, Á. J. and de la Torre, A. H. 2010. The effect of the pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* in Spanish dry-fermented sausages and frankfurters. Food Control, 21(5), 679-685.

Nissen-Meyer, J., Holo, H., Håvarstein, L. S., Sletten, K. and Nes, I. F. 1992. A novel lactococcal bacteriocin whose activity depends on the complementary action of two peptides. Journal of Bacteriology, 174(17), 5686-5692.

Núñez-Montero, K., Leclercq, A., Moura, A., Vales, G., Peraza, J., Pizarro-Cerdá, J. and Lecuit, M. 2018. *Listeria costaricensis* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 68(3), 844-850.

O'Connor, E. and Shand, R. F. 2002. Halocins and sulfolobicins: The emerging story of archaeal protein and peptide antibiotics. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 28(1), 23-31.

Oliveira, M., Viñas, I., Colàs, P., Anguera, M., Usall, J. and Abadias, M. 2014. Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. Food Microbiology, 38, 137-142.

Oppegård, C., Rogne, P., Emanuelsen, L., Kristiansen, P. E., Fimland, G. and Nissen-Meyer, J. 2007. The two-peptide class II bacteriocins: Structure, production, and mode of action. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 13(4), 210-219.

Oppegård, C., Rogne, P., Kristiansen, P. E. and Nissen-Meyer, J. 2010. Structure analysis of the two-peptide bacteriocin lactococcin G by introducing D-amino acid residues. Microbiology, 156(6), 1883-1889.

Orsi, R. H. and Wiedmann, M. 2016. Characteristics and Distribution of *Listeria* Spp., Including *Listeria* Species Newly Described Since 2009. Applied Microbiology and Biotechnology, 10*0*(12), 5273-5287.

Papagianni, M. and Anastasiadou, S. 2009. Pediocins: The bacteriocins of Pediococci. Sources, production, properties and applications. Microbial Cell Factories, 8(1), 3.

Parisi, A., Latorre, L., Fraccalvieri, R., Miccolupo, A., Normanno, G., Caruso, M. and Santagada, G. 2013. Occurrence of *Listeria* spp. in dairy plants in Southern Italy and molecular subtyping of isolates using AFLP. Food Control, 29(1), 91-97.

Perez, R. H., Zendo, T. and Sonomoto, K. 2018. Circular and leaderless bacteriocins: Biosynthesis, mode of action, applications, and prospects. Frontiers in Microbiology, 9, 2085.

Pirie, J. H. 1940. *Listeria*: change of name for a genus bacteria. Nature, 145, 264-264.

Porto, M. C. W., Kuniyoshi, T. M., Azevedo, P. O. S., Vitolo, M. and Oliveira, R. S. 2017. *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. Biotechnology Advances, 35(3), 361-374.

Quereda, J. J., Leclercq, A., Moura, A., Vales, G., Gómez-Martín, Á., García-Muñoz, Á., Thouvenot, P., Tessaud-Rita, N., Bracq-Dieye, H. and Lecuit, M. 2020. *Listeria valentina* sp. nov., isolated from a water trough and the faeces of healthy sheep. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70(11), 5868-5879.

Radford, D., Guild, B., Strange, P., Ahmed, R., Lim, L. T. and Balamurugan, S. 2017. Characterization of antimicrobial properties of *Salmonella* phage Felix O1 and *Listeria* phage A511 embedded in xanthan coatings on Poly (lactic acid) films. Food Microbiology, 66, 117-128.

Radoshevich, L. and Cossart, P. 2018. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. Nature Reviews Microbiology, 16(1), 32-46.

Ramos, B., Brandão, T. R., Teixeira, P. and Silva, C. L. 2020. Biopreservation approaches to reduce *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables. Food Microbiology, 85, 103282.

Rea, M. C., Ross, R. P., Cotter, P. D. and Hill, C. 2011. Classification of Bacteriocins from Gram Positive Bacteria. In Prokaryotic Antimicrobial Peptides (pp. 29-53). Springer, New York, NY.

Rhoades, J. R., Duffy, G. and Koutsoumanis, K. 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. Food Microbiology, 26(4), 357-376.

Rhoades, J. R., Duffy, G. and Koutsoumanis, K. 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. Food Microbiology, 26(4), 357-376.

Rocourt, J. and Grimont, P. A. 1983. *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 33(4), 866-869.

Rocourt, J., Boerlin, P., Grimont, F., Jacquet, C. and Piffaretti, J. C. 1992. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 42(1), 171-174.

Rodríguez, J. M., Martínez, M. I. and Kok, J. 2002. Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 42(2), 91-121.

Rodríguez-Rubio, L., García, P., Rodriguez, A., Billington, C., Hudson, J. A. and Martínez, B. 2015. Listeriaphages and coagulin C23 act synergistically to kill *Listeria monocytogenes* in milk under refrigeration conditions. International Journal of Food Microbiology, 205, 68-72.

Santos, J. C., Sousa, R. C., Otoni, C. G., Moraes, A. R., Souza, V. G., Medeiros, E. A., Espitia, J. P., Pires, A. C., Coimbra, J. S. and Soares, N. F. 2018. Nisin and other antimicrobial peptides: Production, mechanisms of action, and application in active food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 48, 179-194.

Seeliger, H. P. R. 1981. Apathogene Listerien: *L. innocua* sp. n.(Seeliger et Schoofs, 1977). Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. 1. Abt. Originale. A, Medizinische Mikrobiologie, Infektionskrankheiten und Parasitologie, 249(4), 487-493.

Seeliger, H. P., Rocourt, J., Schrettenbrunner, A., Grımont, P. A. and Jones, D. 1984. *Listeria ivanovii* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 34(3), 336-337.

Sidhu, P. K. and Nehra, K. 2019. Bacteriocin-nanoconjugates as emerging compounds for enhancing antimicrobial activity of bacteriocins. Journal of King Saud University-Science, 31(4), 758-767.

Stessl, B., Fricker, M., Fox, E., Karpiskova, R., Demnerova, K., Jordan, K., Ehling-Schulz, M. and Wagner, M. 2014. Collaborative survey on the colonization of different types of cheese-processing facilities with *Listeria monocytogenes*. Foodborne Pathogens and Disease, 11(1), 8-14.

Şanlıbaba, P. ve Uymaz, B. 2015. Gıdalarda *Listeria monocytogenes*'in Biyokontrolünde Faj Uygulaması. Akademik Gıda, 13(1), 81-88.

Üstündağ, H. Ç. and Yalçın, H. 2017. Bacteriocins and their use in food products. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 5(1), 53-65.

Valladares, G. L. 2019. Human Listeriosis–Grouping of Human *Listeria monocytogenes* Isolates With PFGE and ASCI Restriction Enzyme. Academic Dissertation. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Environmental Health, 121, Helsinki.

Vasilchenko, A. S. and Valyshev, A. V. 2019. Pore-forming bacteriocins: structural–functional relationships. Archives of Microbiology, 201(2), 147-154.

Vesković-Moračanin, S. M., Đukić, D. A. and Memiši, N. R. 2014. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria: A review. Acta Periodica Technologica, (45), 271-283.

Wang, Y., Qin, Y., Zhang, Y., Wu, R. and Li, P. 2019. Antibacterial mechanism of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin against *Listeria monocytogenes*. Food Control, 97, 87-93.

Wayah, S. B. and Philip, K. 2018. Pentocin MQ1: a novel, broad-spectrum, pore-forming bacteriocin from *Lactobacillus pentosus* CS2 with quorum sensing regulatory mechanism and biopreservative potential. Frontiers in Microbiology, 9, 564.

Weller, D., Andrus, A., Wiedmann, M. and Den Bakker, H. C. 2015. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 65(1), 286-292.

Yavuz, M. ve Korukluoğlu, M. 2010. *Listeria monocytogenes'* in Gıdalardaki Önemi ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 24(1), 1-10.

Yin, Y., Yao, H., Doijad, S., Kong, S., Shen, Y., Cai, X., Tan, W., Wang, Y., Feng, Y., Ling, Z., Wang, G., Hu, Y., Lian, K., Sun, X., Liu, Y., Wang, C., Jiao, K., Liu, G., Song, R., Chen, X., Pan, Z., Loessner, M. and Chakraborty, T. 2019. A hybrid sub-lineage of *Listeria monocytogenes* comprising hypervirulent isolates. Nature Communications, 10(1), 1-16.

Zacharof, M. P. and Lovitt, R. W. 2012. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. Apcbee Procedia, 2, 50-56.

Zarei, M., Maktabi, S. and Ghorbanpour, M. 2012. Prevalence of *Listeria monocytogenes, Vibrio parahaemolyticus, Staphylococcus aureus,* and *Salmonella* spp. in seafood products using multiplex polymerase chain reaction. Foodborne Pathogens and Disease, 9(2), 108-112.

Zhang, R. Y., Thapa, P., Espiritu, M. J., Menon, V. and Bingham, J. P. 2018. From nature to creation: Going around in circles, the art of peptide cyclization. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 26(6), 1135-1150.

EKLER

EK 1 Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar ve besiyerleri

Besiyeri/Katkı/Kimyasal	**Firma**	**Katalog Numarası**
Brain Heart Infusion Broth	MERCK	1. 10493.0010
Tryptic Soya Yeast Broth	MERCK	1.05459.0500
Tryptic Soy Agar	MERCK 1	.05458.0500
Etanol	MERCK	1. 00983. 2511
Gliserol	MERCK	1. 04092. 2500
Pediyosin	SIGMA	133108-87-9

EK 2 Her bir ölçüm zamanı için suş ortalamalarının karşılaştırılması**

	287-1P	ATCC7644		
Zaman	Ort±SH	Ort±SH	Fark±SH	p*
1. Gün-1	5,41±0,017	5,62±0,017	-0,214±0,023	**<0,001**
1. Gün-2	6,63±0,065	6,51±0,065	0,116±0,09	0,202
1. Gün-3	7,07±0,101	7,14±0,101	-0,065±0,139	0,645
1. Gün-4	7,35±0,114	7,67±0,114	-0,321±0,157	**0,048**
3. Gün	7,27±0,099	7,57±0,099	-0,294±0,136	**0,036**
5. Gün	7,33±0,136	7,29±0,136	0,04±0,187	0,833
7. Gün	7,29±0,132	7,02±0,132	0,274±0,181	0,138
9. Gün	7,14±0,111	6,74±0,111	0,399±0,153	**0,013**
11. Gün	6,89±0,109	6,61±0,109	0,287±0,15	0,063
13. Gün	6,46±0,102	6,51±0,102	-0,044±0,14	0,756
16. Gün	6,23±0,119	6,47±0,119	-0,237±0,164	0,156
18. Gün	6,14±0,138	6,35±0,138	-0,207±0,19	0,282
21. Gün	6,17±0,142	6,17±0,142	-0,008±0,196	0,970
*Bonferroni düzeltmeli p değerleri; ** Tahminlenen Ortalamalar; SH: Standart Hata				

EK 3 Her bir ölçüm zamanı için sıcaklık gruplarının karşılaştırılması**

	4^o C	35^o C		
Zaman	Ort±SH	Ort±SH	Fark±SH	p*
1. Gün-1	5,5±0,017	5,53±0,017	-0,029±0,023	0,215
1. Gün-2	5,59±0,065	7,54±0,065	-1,954±0,09	<0,001
1. Gün-3	5,59±0,101	8,62±0,101	-3,027±0,139	<0,001
1. Gün-4	5,66±0,114	9,37±0,114	-3,705±0,157	<0,001
3. Gün	5,66±0,099	9,18±0,099	-3,517±0,136	<0,001
5. Gün	5,7±0,136	8,93±0,136	-3,228±0,187	<0,001
7. Gün	5,77±0,132	8,54±0,132	-2,767±0,181	<0,001
9. Gün	5,74±0,111	8,14±0,111	-2,394±0,153	<0,001
11. Gün	5,72±0,109	7,78±0,109	-2,055±0,15	<0,001
13. Gün	5,6±0,102	7,37±0,102	-1,765±0,14	<0,001
16. Gün	5,6±0,119	7,1±0,119	-1,505±0,164	<0,001
18. Gün	5,58±0,138	6,91±0,138	-1,327±0,19	<0,001
21. Gün	5,59±0,142	6,75±0,142	-1,154±0,196	<0,001
*Bonferroni düzeltmeli p değerleri; ** Tahminlenen Ortalamalar; SH: Standart Hata				

EK 4 Her bir ölçüm zamanı için pediyosin konsantrasyon gruplarının karşılaştırılması**

	0	**7**	**12**	**0-7**		**0-12**		**7-12**	
Zaman	Ort±SH	Ort±SH	Ort±SH	Fark±SH	p*	Fark±SH	p*	Fark±SH	p*
1. Gün-1	5,62±0,016	5,51±0,023	5,42±0,023	0,113±0,028	**0,001**	0,199±0,028	**<0.001**	0,086±0,032	**0,033**
1. Gün-2	6,84±0,063	6,44±0,09	6,42±0,09	0,392±0,11	**0,003**	0,414±0,11	**0,002**	0,022±0,127	1,000
1. Gün-3	7,46±0,098	7,01±0,139	6,84±0,139	0,448±0,17	**0,036**	0,617±0,17	**0,002**	0,169±0,197	1,000
1. Gün-4	7,8±0,111	7,48±0,157	7,27±0,157	0,324±0,193	0,300	0,532±0,193	**0,026**	0,208±0,223	1,000
3. Gün	7,63±0,096	7,45±0,136	7,19±0,136	0,176±0,166	0,886	0,435±0,166	**0,037**	0,258±0,192	0,557
5. Gün	7,57±0,132	7,21±0,187	7,16±0,187	0,364±0,229	0,357	0,413±0,229	0,234	0,049±0,264	1,000
7. Gün	7,38±0,128	7,07±0,181	7,01±0,181	0,314±0,222	0,493	0,368±0,222	0,316	0,053±0,256	1,000
9. Gün	7,06±0,108	7±0,153	6,76±0,153	0,056±0,188	1,000	0,293±0,188	0,378	0,237±0,217	0,843
11. Gün	6,78±0,106	6,85±0,15	6,62±0,15	-0,073±0,184	1,000	0,156±0,184	1,000	0,229±0,213	0,862
13. Gün	6,46±0,099	6,61±0,14	6,38±0,14	-0,149±0,171	1,000	0,083±0,171	1,000	0,232±0,198	0,745
16. Gün	6,27±0,116	6,54±0,164	6,24±0,164	-0,273±0,201	0,543	0,033±0,201	1,000	0,306±0,232	0,582
18. Gün	6,15±0,134	6,49±0,19	6,1±0,19	-0,337±0,232	0,465	0,057±0,232	1,000	0,393±0,268	0,451
21. Gün	6,05±0,138	6,46±0,196	5,99±0,196	-0,41±0,24	0,284	0,062±0,24	1,000	0,472±0,277	0,287

*Bonferroni düzeltmeli p değerleri; ** Tahminlenen Ortalamalar; SH: Standart Hata

EK 5 Her bir ölçüm zamanı için hücre yoğunluk gruplarının karşılaştırılması**

Zaman	10^5	10^6	10^7	10^5-10^6		10^5-10^7		10^6-10^7	
	Ort±SH	Ort±SH	Ort±SH	Fark±SH	p*	Fark±SH	p*	Fark±SH	p*
1. Gün-1	4,51±0,02	5,53±0,02	6,51±0,02	-1,026±0,028	**<0.001**	-1,999±0,028	**<0.001**	-0,973±0,028	**<0.001**
1. Gün-2	5,55±0,079	6,71±0,079	7,44±0,079	-1,161±0,11	**<0.001**	-1,886±0,11	**<0.001**	-0,725±0,11	**<0.001**
1. Gün-3	6,49±0,123	7,13±0,123	7,69±0,123	-0,646±0,17	**0,001**	-1,204±0,17	**<0.001**	-0,558±0,17	**0,006**
1. Gün-4	7,22±0,139	7,52±0,139	7,8±0,139	-0,301±0,193	0,379	-0,578±0,193	**0,014**	-0,277±0,193	0,475
3. Gün	7,02±0,12	7,43±0,12	7,81±0,12	-0,407±0,166	0,056	-0,786±0,166	**<0.001**	-0,378±0,166	0,085
5. Gün	7,01±0,165	7,37±0,165	7,56±0,165	-0,361±0,229	0,368	-0,548±0,229	0,064	-0,188±0,229	1,000
7. Gün	6,84±0,16	7,11±0,16	7,51±0,16	-0,262±0,222	0,734	-0,669±0,222	**0,013**	-0,407±0,222	0,220
9. Gün	6,5±0,135	6,9±0,135	7,42±0,135	-0,401±0,188	0,116	-0,916±0,188	**<0.001**	-0,516±0,188	**0,027**
11. Gün	6,29±0,133	6,69±0,133	7,27±0,133	-0,394±0,184	0,115	-0,984±0,184	**<0.001**	-0,589±0,184	**0,008**
13. Gün	6,07±0,123	6,48±0,123	6,9±0,123	-0,408±0,171	0,066	-0,836±0,171	**<0.001**	-0,429±0,171	**0,049**
16. Gün	5,89±0,144	6,31±0,144	6,85±0,144	-0,418±0,201	0,130	-0,955±0,201	**<0.001**	-0,537±0,201	**0,032**
18. Gün	5,84±0,167	6,13±0,167	6,77±0,167	-0,294±0,232	0,637	-0,927±0,232	**0,001**	-0,633±0,232	**0,028**
21. Gün	5,76±0,172	6,08±0,172	6,67±0,172	-0,313±0,24	0,595	-0,911±0,24	**0,001**	-0,598±0,24	**0,0499**

*Bonferroni düzeltmeli p değereri; ** Tahminlenen Ortalamalar; SH: Standart Hata

EK 6 Bakteri sayılarına ilişkin tekrarlı ölçüm sonuçları ile diğer faktörlere ilişkin varyans çözümlemesi

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F*	p	Kısmi Eta Kare
Sabit	25458,55	1	25458,55	13563,19	<0,001	0,997
Suş	0,07	1	0,07	0,04	0,850	0,001
Sıcaklık˚C	745,94	1	745,94	397,40	<0,001	0,906
Pediyosin konsantrasyonu (µg/mL)	8,30	2,00	4,15	2,21	0,123	0,097
Hücre yoğunluk (KOB/mL)	107,26	2,00	53,63	28,57	<0,001	0,582
Zaman	174,95	2,36	74,09	97,78	<0,001	0,705
Zaman × Suş	7,99	2,36	3,38	4,47	0,010	0,098
Zaman × Sıcaklık˚C	161,06	2,36	68,21	90,02	<0,001	0,687
Zaman × Pediyosin konsantrasyonu (µg/mL)	9,75	4,72	2,07	2,73	0,026	0,117
Zaman × Hücre yoğunluk (KOB/mL)	20,61	4,72	4,36	5,76	<0,001	0,219
Error (Zaman)	73,36	96,81	0,76			
Error	76,96	41	1,88			

*Greenhouse-Geisser