ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Gıda Örneklerinde Norovirüs ve Rotavirüslerin Moleküler ve Serolojik Yöntemler ile Saptanması Karakterizasyonu ve Virüsler Üzerine Dezenfektanların Etkilerinin Belirlenmesi

Çağrı ÇELİK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Aralık, 2023

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZ ONAYI

Gıda Örneklerinde Norovirüs ve Rotavirüslerin Moleküler ve Serolojik Yöntemler ile Saptanması Karakterizasyonu ve Virüsler Üzerine Dezenfektanların Etkilerinin Belirlenmesi

Çağrı ÇELİK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 15/12/2023 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş ve Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Işıl VAR (Danışman) ……

: Prof. Dr. Nuray GÜZELER ……

: Doç. Dr. Muharrem KAMBEROĞLU ……

: Doç. Dr. Sinan UZUNLU ……

: Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ ……

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2018-11176

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

İÇİNDEKİLER

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
ÇİZELGELER DİZİNİ IV
ŞEKİLLER DİZİNİ V
SİMGELER VE KISALTMALAR VI
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 7
2.1. Norovirüs 7
2.2. Rotavirüs 13
2.3. Norovirüs ve Rotavirüs Kontrolünde Kullanılan Dezenfektanlar 17
3. MATERYAL VE METOT 21
3.1. Materyal 21
3.1.1. Gıda Örnekleri ve Dezenfektanlar 21
3.1.2. Virüs saflaştırmasında Kullanılan Malzemeler 28
3.1.3. RNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Malzemeler 28
3.1.4. Agaroz jel elektroforezi 29
3.1.5. Çalışmada Kullanılan Norovirüs ve Rotavirüs Primerleri 29
3.1.6. İmmünokromotgrafik Kaset Test 30
3.2. Metod 30
3.2.1. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Serolojik Yöntem ile Saptanması 30
3.2.2. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Moleküler Yöntem ile Saptanması 31
3.2.3. Kullanılan Metotların Performansının Değerlendirilmesi 38
3.2.4. Çeşitli Dezenfektanların Gıda ve Gıda ile Temas Eden Yüzeylerde Norovirüsler ve Rotavirüsler Üzerindeki Antimikrobiyel Etkisi 38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 39
4.1. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Serolojik Yöntem ile Saptanması 41
4.2. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Moleküler Yöntem ile Saptanması 41
4.3. Kullanılan Metotların Performansının Değerlendirilmesi 43
4.4. Çeşitli Dezenfektanların Gıda ve Gıda ile Temas Eden Yüzeylerde Norovirüsler ve Rotavirüsler Üzerindeki Antimikrobiyel Etkisi 48
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 53
KAYNAKLAR 57
ÖZGEÇMİŞ 71

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Gıda Örneklerinde Norovirüs ve Rotavirüslerin Moleküler ve Serolojik Yöntemler ile Saptanması Karakterizasyonu ve Virüsler Üzerine Dezenfektanların Etkilerinin Belirlenmesi

Çağrı ÇELİK

Danışman: Prof. Dr. Işıl VAR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZ

Gda kaynaklı gastroenterit salgınlarının genellikle bakteriyel kaynaklı olduğu düşünülse de, bu salgınların %67'sinin virüslerden kaynaklandığı bildirilmektedir. Bu amaçla bu çalışmada Adana/Türkiye'den alınan çeşitli gıdalarda norovirüs (NV) ve rotavirüs (RV) riski değerlendirilmiştir. Sistematik Derleme ile potasiyel kontamine gıdalar belirlenmiş ve bu belirlenen gıdalarda hem serolojik hem de moleküler yöntemlerle NV ve RV varlığı araştırılmıştır. Serolojik yöntem olarak immünokromatografik hızlı test kasetleri, moleküler yöntem olarak ise RT-PCR tercih edilmiştir. Bunun yanı sıra çöktürme işlemi işlemi ile ve proteinaz K enzimi kullanılarak virüs saflaştırma yapılmıştır. Çalışmadaki metotların performansını belirlemek için, 10^9 NV ve RV genom kopya/ml inoküle edilmiş marul örnekleri ile geri kazanım işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca NV ve RV ile kontamine edilmiş çeşitli yüzeylere farklı dezenfektanlar uygulanarak bu virüslere karşı antimikrobiyal aktivite değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada tekerrürleriyle birlikte 7 gıda grubundaki gıdalardan toplamda 120 gıda örneği kullanılmıştır. Bu 120 gıda örneği arasında marul, salatalık, dereotu, nane, ıspanak, maydanoz, yeşil soğan, kırmızı biber, turp, semizotu, domates, havuç, mevsimlik salata, soğan salatası, ezme salata, pişmiş soğan, kıyma, tavuk göğsü, tavuk budu, çiğ balık, taze çilek, dondurulmuş çilek, taze böğürtlen, dondurulmuş böğürtlen, musluk suyu, bici-bici, havuç suyu, portakal suyu, donmuş ıspanak, donmuş mısır, donmuş bezelye, donmuş kırmızı fasulye, çiğ süt, peynir, tereyağı, yoğurt, ekmek, simit, poğaça ve pide bulunmaktadır. Çalışma sonucunda her iki metot ile bu gıda örneklerinde NV ve RV'ye rastlanmamıştır. Fakat metotların performansının gıdalarda yüksek virüs yoğunluklarında etkili oldukları belirlenmiştir. Marul örneklerine inoküle edilen yüksek yoğunluktaki NV ve RV'ün saptanmasında ilk 48 saat içinde virüsler belirlenebilmiş, fakat 48 saat sonra kullanılan yöntemlerinin etkin olmadığı gözlenmiştir. Çeşitli gıdalarda düşük virüs yoğunluklu NV ve RV'nin tanı yöntemlerinden RT-PCR ve immünokromatografik hızlı test kasetleri ile saptanamayacağı görülmüştür. Bu durumun gdaların protein, yağ ve karbonhidrat oranları açısından farklılık göstererek karmaşık matriks yapılarına sahip olmaları ve süreç içerisinde virüslerin çeşitli şekillerde bu yapılara bağlanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Son yıllarda, gıda kaynaklı gastroenterit salgınlarının artmasıyla birlikte, virüslere karşı kullanılan dezenfektanların etkinliği sorgulanmaya başlanmıştır. Yaptığımız çalışmada marul, cam tabak ve plastik eldivene aşılanmış NV ve RV üzerine uygulanan dezenfektanların antimikrobiyel etkisine bakıldığında; etken madde oranı %10 sodyum hipoklorit ve %1 sodyum hipoklorit olan dezenfektanlar antimikrobiyel etki gösterirken, %0.0015 hipokloröz, %1 metilizotiazolinon içeren deterjan ve %65 etil alkol içeren dezenfektanların virüsler üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Ev ve işletmelerde kullanılan bu dezenfektanların firmaların önerdiği oranlarda kullanılmasına rağmen NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisinin olmaması bu ürünlerin geliştirilmesi ya da bu amaçla kullanılmaması gerektiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Gıda, Norovirüs, Rotavirüs, Salgın, Dezenfektan

CUKUROVA UNIVERSITY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

PhD THESIS

Detection of Norovirus and Rotavirus in Food Samples by Molecular and Serological Methods and Determination of The Effects of Disinfectants on Viruses

Çağrı ÇELİK

Advisor: Prof. Dr. Işıl VAR

Department of Food Engineering

ABSTRACT

Although foodborne gastroenteritis outbreaks are generally thought to be bacterial in origin, it is reported that 67% of these outbreaks are caused by viruses. For this purpose, in this study, the risk of norovirus (NV) and rotavirus (RV) in various foods purchased from Adana/Turkey was evaluated. With the Systematic Review, potentially contaminated foods were associated and the presence of NV and RV in these related foods was investigated using both serological and molecular methods. Immunochromatographic rapid test cassettes were preferred as the serological method, and RT-PCR was preferred as the molecular method. In addition, the virus was purified by precipitation process and using proteinase K enzyme. To determine the performance of the methods in the study, recovery was performed with lettuce samples inoculated with 10^9 NV and RV genome copies/ml. Additionally, different disinfectants were applied to various surfaces contaminated with NV and RV and antimicrobial activity against these viruses was evaluated. A total of 120 food samples from 7 food groups, including their repetitions, were used in the study. These 120 food samples include lettuce, cucumber, dill, mint, spinach, parsley, green onion, red pepper, radish, purslane, tomato, carrot, seasonal salad, onion salad, chopped tomato salad, cooked onion, ground meat, chicken breast, chicken thigh, raw fish, fresh strawberries, frozen strawberries, fresh blackberries, frozen blackberries, tap water, bici-bici, carrot juice, orange juice, frozen spinach, frozen corn, frozen peas, frozen red beans, raw milk, cheese, butter, yoghurt, bread, bagels, pastries and pita was present. As a result of the study, NV and RV were not detected in these food samples with both methods. However, the performance of the methods has been determined to be effective at high virus densities in foods. In detecting the high density of NV and RV inoculated into lettuce samples, viruses could be detected within the first 48 hours, but it was observed that the methods used after 48 hours were not effective. It has been observed that NV and RV with low virus density in various foods cannot be detected by RT-PCR and immunochromatographic rapid test cassettes, which are diagnostic methods. It is thought that this is due to the fact that foods have complex matrix structures, differing in terms of protein, fat and carbohydrate ratios, and viruses bind to these structures in various ways during the period.

In recent years, with the increase in foodborne gastroenteritis outbreaks, the effectiveness of disinfectants used against viruses has begun to be questioned. In our study, when we look at the antimicrobial effects of disinfectants applied on NV and RV inoculated into lettuce, glass plates and plastic gloves; While disinfectants with an active ingredient rate of 10% sodium hypochlorite and 1% sodium hypochlorite have an antimicrobial effect, detergents containing 0.0015% hypochlorous, 1% methylisothiazolinone and disinfectants containing 65% ethyl alcohol have not been observed to have any effect on viruses. Although these disinfectants used in homes and businesses are used at the rates recommended by the companies, their lack of antimicrobial effect on NV and RV shows that these products should be developedfor viruses or not used for this purpose.

Keywords: Food, Norovirus, Rotavirus, Outbreak, Disinfectant.

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimime başladığım günden bu güne ve yüksek lisans ve doktora eğitimimim süresince bilgisiyle bana yol gösteren, her zaman daha iyi olmam için hedeflerime yön veren, yaşadığım akademik ve kişisel zorluklarımda pes etmememi öğütleyerek her düştüğümde beni desteği ile kaldıran değerli danışman hocam Prof.Dr. Işıl VAR'a, çalışmam sırasında verdiği bilgi ve öneriler ile değerli hocam Doç.Dr. Muharrem KAMBEROĞLU'na ve tezimi değerlendiren Prof. Dr. Nuray GÜZELER'e, Doç. Dr. Sinan UZUNLU'ya, Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimimi başarı ile bitirmemi isteyen rahmetli babam Mustafa ÇELİK'e, her daim yanımda olan annem Emine Zuhal ÇELİK'e, teyzem Yelda ÖZER'e, sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen SemraTAŞDURMAZLI'ya, Prof. Dr. Fügen YARKIN'a ve Arş.Gör. Gökhan ÖZTÜRK'e, Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Merkezine ve iş arkadaşım Tevfik YILDIRIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Sebzelerin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimleri ve Yılları 24
Çizelge 3.2. Et, Tavuk-Su Ürünlerinin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar 24
Çizelge 3.3. Orman Meyvelerinin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar 25
Çizelge 3.4. Süt ve Süt Ürünleri Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar 25
Çizelge 3.5. Su-Buz ve Meyve Sularının Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar..... 26
Çizelge 3.6. Dondurulmuş Gıdaların Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar 26
Çizelge 3.7. Fırın Ürünlerinin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar..... 26
Çizelge 3.8. Çalışmada Kullanılan Çeşitli Dezenfektanlar, Kodları ve Özellikleri 27
Çizelge 3.9. Çalışmada Kullanılan Norovirüs ve Rotavirüs Primer Çiftleri 29

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Norovirüsün Yapısı 7
Şekil 2.2. Norovirüsün Hücre Yaşam Döngüsü 8
Şekil 2.3. Rotavirüsün Hücre Yaşam Döngüsü 14
Şekil 2.4. Rotavirüsün Yapısı 15
Şekil 3.1. Norovirüs ve Rotavirüs Üzerine Yapılan Araştırmalarda Kullanılan Gıda Gruplarının Yüzdelik Dağılımı 21
Şekil 3.2. Gıda Grupları ve Çalışılan Gıda Örnekleri 22
Şekil 3.3. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Serolojik Yöntem ile Saptanması 31
Şekil 3.4. Virüs Saflaştırma Aşamaları 33
Şekil 3.5. Virüs RNA ekstraksiyonu aşamaları 34
Şekil 3.6. Santrifüjler 35
Şekil 3.7. RT-PCR yönteminin RT ve PCR aşamalarının işlem basamakları 36
Şekil 3.8. Agaroz Jel Elektroforezi İşlem Basamakları 37
Şekil 4.1. Gıda örneklarinde NV ve RV varlığının serolojik ve moleküler yöntemler ile elde edilen sonuçları 40
Şekil 4.2. Marul Örneğinde RT-PCR ile Norovirüs Pozitif Sonuçlar 44
Şekil 4.3. Marul Örneğinde RT-PCR ile Rotavirüs Pozitif Sonuçlar 45
Şekil 4.4. Marul Örneğinde İmmünokromtografik Hızlı Test Kasetleri ile NV ve RV Pozitif Sonuçlar 46
Şekil 4.5. Çeşitli Dezenfektanların Gıda ve Gıda ile Temas Eden Yüzeylerde Norovirüsler ve Rotavirüsler Üzerindeki Antimikrobiyel Etkisi 49

SİMGELER VE KISALTMALAR

NV : Norovirüs

RV : Rotavirüs

CDC : Centers for Disease Control and Prevention - Amerika Birleşik Devletleri Salgın Kontrol ve Önleme Merkezi

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ORF : OpenReading Frame - Açık Okuma Kalıbı

HBGA : Histo-Kan Grubu Antijenleri- Histo-Blood Group Antigens

VP : Viral Protein

RNA : Ribonükleik Asit

RdRp : RNA-dependent RNA polymerase

TLP : Triple Layered Particle- Üçlü Katmanlı Partikül

DLP : Double Layered Particle- Çift Katmanlı Partikül

RT- PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction - Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FIP :The International Pharmaceutical Federation – Uluslararası Eczacılık Federasyonu

PCRU : PCR ile Çoğaltılabilir Virüs Ünitesi

A3T : Akiba Tetsuya, Tanaka Tetsuya metodu

PGM-MB : Porcine Gastric Mucin-Conjugated Magnetic Beads- Manyetik Boncuklara Birleştirilmiş (Bağlanmış) Domuz Mide Mukusu

PEG : Polietilen Glikol

UHT : Ultra High Temperature - Ultra Yüksek Sıcaklık

M : Molar

NaCl : Sodyum Klorür

KCl : Potasyum Klorür

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2019 yılında yayımladığı rapora göre dünya genelinde 600 milyon gıda kaynaklı gastroenterit salgının 420 bini ölümle sonuçlanmıştır (Di Cola ve ark., 2021). Genel olarak ölümle sonuçlanan salgınların ilk olarak bakterilerden kaynaklandığı düşünülse de gıda kaynaklı gastroenterit salgınlara bakıldığında virüslerden kaynaklanan vaka sayılarının %67 oranında olduğu ve bu vakaların birçoğunun ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir (Predmore, 2011; Öz ve ark. 2014; Bachofen, 2018; Sökel ve ark., 2018). Buna rağmen Avrupa Birliği ve bir çok ülkede gıda kaynaklı gastroenterit rahatsızlıkların hijyen indikatörü olarak bakteriler kullanılmakta ve gıda virüsleri ile ilgili analizler yapılmamaktadır (Torok ve ark., 2019).

Virüsler insanlar, hayvanlar, bitkiler ve bakteriler gibi farklı tür organizmaları enfekte edebilen, sadece enfekte ettikleri yani konakçı canlının hücresinde çoğalabilen ve hücre yapısı dışında yaşamsal fonksiyonlarını devam ettiremeyen parazitlerdir (Aydoğan, 2016). Bu parazitler ilk kez 1892 yılında Rus botanikçi Dimitri Ivanovski'nin tütün mozik bitkilerinde belirlediği bir hastalıkta saptanmıştır (Uzunoğulları ve Gümüş, 2018). Bu hastalığı 1898 yılında inceleyen Martinus Beijerinck tütün mozaik virüslerinin hastalığına neden olan parazite "Tütün Mozaik Virüsü" isimini vererek ilk kez "virüs" ismini kullanmıştır (Lecoq, 2001).

İlk kez bitkilerde saptanan bu virüslerin elektron mikroskobunun 1931 yılında keşfinden sonra virüsler hakkında yapılan çalışmalar artmaya başlamış ve artan çalışmalar ile birlikte her bir virüsün farklı özellikleri olduğu belirlenmiştir (Gelderblom ve ark., 2014). Yapılan ilk çalışmalarda virüsler bitki hayvan, insan ve bakteri olarak konakçısına göre ayrılmıştır. Çalışmalar arttıkça virüslerin DNA ya da RNA virüsü olup olmadığı, zarflı yapıya sahip olup olmadığı ve bulaşı kaynakları gibi özellikleri belirlenmiş ve bu özelliklere göre de sınıflandırılmıştır (Uzunoğulları ve Gümüş, 2018).

Virüsler insanlara solunum, kan, vücut salgıları yoluyla bulaşmakta olduğu gibi gıda ve su yoluyla da vücuda alınabilmekte ve enfeksiyona sebep olabilmektedirler (Louten, 2016). İlk gıda kaynaklı virüs olarak tanınan çocuk felci (poliomyelit) Avrupa ve Amerika'da 1900'lü yıllarda halk sağlığını önemli ölçüde tehdit etmesi ile saptanmıştır. Çocuk felci (poliomyelit) ile mücadele uzun süre devam etmiş, çocuk felci aşısının bulunması ve gıdaların hijyeni için alınan önlemler sayesinde kontrol altına alınmıştır (Trevelyan ve ark., 2005). Daha sonra 1947 yılında MacCallum hepatitin bir türünün gıdalar ile bulaştığını belirleyip bu türün hepatit A olarak isimlendirilmesini önermiştir (Gemici, 2019). Gıda kaynaklı virüs olarak çocuk felci (poliomyelit) ve hepatit A bilinirken 1972 yılında Kapikian ve arkadaşları çoğunlukla kış aylarında görüldüğü için "Kış Kusma Hastalığı" olarak adlandırılan hastalık ile yaptıkları çalışmalar sonucu yeni bir gıda virüsünü belirlemişlerdir. Bu belirledikleri virüsü "Norwalk Virüs" olarak isimlendirmişlerdir (Kapikian ve ark., 1972). Günümüzde bu virüslere norovirüs denilmektedir (Var ve Çelik, 2017). Birkaç yıl sonra Bishop ve arkadaşları Melbourne Royal Children Hospital'da ishal nedeniyle yatan bir çocuk hastanın

gastroenterit rahatsızlığının bakteriyel kökenli olmadığını belirlemişler ve çocuktan alınan gaita örneklerini elektron mikroskobu ile inceledikten sonra hastalığın virüs kaynaklı olduğunu saptamışlardır. Bu virüse rotavirüs ismini vermişler ve bulaşı kaynağının gıdalar olduğunu belirtmişlerdir (Topal ve ark., 2019).

Gıda kaynaklı virüsler hakkında Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015 yılında yayımladığı raporda norovirüs (NV) ve rotavirüsün (RV) dünya sağlığını tehdit eden en önemli gıda kaynaklı gastroenterit virüsleri olduğu belirtilmiştir (Li ve ark., 2021). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2023 yılındaki verilerine göre dünya genelinde norovirüs için yaklaşık 685 milyon ve rotavirüs için yaklaşık 25 milyon vaka rapor edilmiştir (Anonymous 1; Anonymous 2).

Norovirüs vakaları hakkında Amerika Birleşik Devletleri Salgın Kontrol ve Önleme Merkezinin (CDC / Center For Disease Control And Prevention) yaptığı açıklamaya göre gıda kaynaklı rahatsızlıkların %50'si NV salgını kaynaklıdır (Anonymous 3). Aynı merkezin bir başka araştırmasında; her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 19-21 milyon NV vakası görülmekte olup bu vakaların 109.000'i hastanede yatarak tedavi edilirken, hastanede yatanların 900'ünün öldüğü belirtilmiştir (Anonymous 4). Ülkemizde ise bu tarz çalışma ve raporlandırmalar ülke genelinde yapılmamış olmasına rağmen birçok bölgesel salgınların nedeni olarak Halk Sağlığı Merkezleri tarafından norovirüsler gösterilip ishal salgınlarının %60-95'inde norovirüs saptanmaktadır (Anonim 1).

Norovirüs salgınlarında kontaminasyondan 12-48 saat içinde semptomların meydana geldiği görülmektedir. Hastalarda görülen bu semptomlar kusma, karın krampları, ateş, mukuslu dışkı, sulu ishal, baş ağrısı, titreme şeklinde görülmektedir. Yetişkinlerde bu semptomlar kısa sürede geçmesine rağmen yaşlılarda, bebeklerde ve kronik rahatsızlığı olan kişilerde ölümlere sebep olmaktadır (Hassan ve Baldridge, 2019). Bu salgınlar daha çok kış aylarında okullarda, kreşlerde ve yaşlı bakım evlerinde sıklıkla görülmektedir (Jin ve ark., 2020).

Bir diğer gıda kaynaklı virüs olan rotavirüsler özellikle 5 yaş ve altı çocuklarda 48 saatten az bir süre içinde ateş, kusma ve ishal gibi gastroenterit rahatsızlıklara neden olmaktadır. Aşılanmamış 3-35 aylık çocuklarda ise bu belirtiler daha şiddetli görülmekte olup kanlı ishale ve hatta ölümlere bile sebep olmaktadır (Anonim 2; Özcan, 2019; Kirkwood, 2019). Amerika Birleşik Devletleri Salgın Kontrol ve Önleme Merkezi açıklamasına göre her yıl, ortalama olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde rotavirüsün 5 yaş ve altı çocuklar arasında olmak üzere 55.000-70.000 arasında hastaneye yatışa ve bu hastaneye yatışların da 20-60 arasında bir oranda hastanın ölümüne neden olduğu rapor edilmiştir (Anonymous 5). Bunun yanı sıra henüz bir semptom olarak kabul edilmese de RV salgını hakkında yapılan bir çalışmada RV gastroenterit rahatsızlığını atlatanların çölyak olmamalarına rağmen gluten hasasiyetinin görüldüğü öne sürülmektedir (Puccetti ve ark., 2018).

Toplum sağlığını olumsuz etkileyen norovirüs ve rotavirüs salgınları gıda ekonomisinde kayıplara da neden olmaktadır. Bu virüsler ile bulaşılı gıdaların ulusal ve uluslararası nakliyesi ile salgınlar bölgesel olarak kalmayıp bir çok yerde görülebilmektedir (Scharff, 2015; Bosch ve ark., 2018; Hu ve ark., 2021). Meydana gelen gıda kaynaklı norovirüs salgınlarının ABD'de yıllık maliyeti 173.5 milyon dolar olup 165.3 milyon dolar gıda üretim kaybına ve nakliye edilen gıdaların tüketilmesi ile oluşan rahatsızlıklardan dolayı 10.8 milyon dolar da sağlık harcamaları maliyetine neden olmaktadır (Bartsch ve ark., 2020). Bu rakamlar gıdaların uluslararası transferi ile meydana gelen NV salgınları ile ise gıda üretim kaybı 56.2 milyar dolar olup sağlık harcamaları 4.2 milyar olmaktadır (Bartsch ve ark., 2016).

Hem toplum sağlığını olumsuz etkileyen hem de ekonomik kayıplara neden olan bu gıda kaynaklı gastroenterit virüsler insandan insana fekal-oral yolla, yeşil sebzelere, meyvelere, hazır gıdalara bulaşarak salgınlara neden olmaktadır (Guix, 2019; Li ve ark., 2021). Bu salgınlarda NV, RV ve diğer gıda virüslerinin (adenovirüs, astrovirüs vb.) gıdaların fiziksel ve kimyasal yapısını değiştirmeden yüzeylerinde kalarak bu gıdaları tüketenlerin bağırsak hücrelerine etki etmesi ile gastroenterit rahatsızlıklar oluşmaktadır (Aydoğan, 2016; Hosmillo ve ark., 2020; Jenns ve ark. 2022). Norovirüs ve rotavirüsün çok düşük sıcaklıklarda ve 70 ^{O}C sıcaklığa kadar hayatta kalabilmeleri ve viral etkisini gösterebilmesi gıda kaynaklı NV ve RV gastroenterit salgınlarının artmasına neden olmaktadır (Bartsch ve ark., 2019).

İnsan bağırsak hücrelerini pasif enfekte ederek gastroenterik rahatsızlığa neden olan norovirüs ve rotavirüsün halk sağlığını tehdit etmesini engellemek için bu virüslerin bulaşı kaynaklarının tespit edilip önlemler alınması ve bulaşı kaynaklarının belirlenmesi ve bunlardan virüs izolasyonlarında tanı yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Rahnama ve ark, 2023, Nogales ve ark.2023).

Son yıllarda bulaşı kaynaklarının belirlenmesi için Sistematik Derleme yöntemi kullanılmaktadır (Massahi ve ark., 2023). Sistematik derleme, en kısa açıklamasıyla belirlenen bir konu hakkında çeşitli veri tabanlarında belirli arama kriterleri ile taranan makalelerin inclenerek değerlendirilmesi ve bu değerlendirmeye göre belirlenen konu hakkında bilgilerin derlenmesidir (Uman, 2011; Atılgan, 2022).

Sistematik Derlemede araştırılan konunun veri tabanlarında taramasının yapılabilmesi için anahtar kelimelerin belirlenmesi gerekmektedir. Veri tabanlarında anahtar kelimeler ile yapılan araştırma sonucunda taranan makaleler toparlanır ve hepsi ayrıntılı olarak incelenir (Cevher, 2017; Çınar, 2021). İncelenen makaleler Sistematik Derleme'nin nicel veya nitel olması göz önüne alınarak belirlenir. Nitel bir Sistematik Derleme gözlem, görüşme veya sözlü etkileşimlerden veriler elde eder ve katılımcıların anlam ve yorumlarına odaklanmaktadır. Nicel bir Sistematik Derleme ise sayısal verileri olan deneysel çalışmaların da dahil olduğu çalışmaları içermektedir (Taşkır, 2022).

Tanı yöntemlerine bakıldığında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR), reel time RT-PCR gibi moleküler yöntemlerin yanında Enzim Bağlı immünosorbent deneyi (Enzyme Linked Immunosorbent Assay-ELISA), immünokromotografik hızlı test kasetleri gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır (Topçu, 2019., FIP, 2022). Fakat moleküler ve serolojik yöntemlerin gıdalarda virüs tespiti için yeterlilikleri sorgulanmaktadır (Peng ve ark., 2008; Hrdy ve Vasickova, 2022). Çünkü, gıda örneklerinde gıdaların protein, yağ ve karbonhidratoranlarının farklılıklarına bağlı olarak karmaşık matriks yapıları nedeniyle virüs tanı yöntemleri düşük virüs yoğunluklarında yetersiz kalmaktadır (Hennechart-Collette ve ark., 2017; Var ve Çelik, 2017; Carraturo ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2022; Abbasi ve ark., 2022; Oteiza ve ark., 2022).

Tanı yöntemlerinin yetersizlikleri gıda kaynaklı salgınların artmasının önlenmesinde de önemli bir hale gelmektedir. Günümüze kadar gıda kaynaklı virüs salgınlarının sorumluları sadece hepatit A ve çocuk felci (poliomyelit) virüsleri olarak düşünülmekteydi fakat norovirüs, rotavirüs, adenovirüs, astrovirüs gibi virüslerin gıdalardaki varlıklarının gösterilmesiyle gıda kaynaklı salgınlara neden olan virüslerin çeşitliliği artmıştır (Var ve Çelik, 2017). Hatta 2020 ve sonrasında yaşanan coronovirüs pandemisi sırasında pandemi nedeni olarak gösterilen ve solunum yolu ile bulaştığı bilinen Covid-19'un meyve, sebze, deniz ürünleri ve et ürünlerinde tespit edilmesi bu virüsün gıda kaynaklı da olabileceği şüphesini doğurmuştur (Pang ve ark., 2020; Hu ve ark., 2021; Li ve ark., 2022; Samad ve ark., 2022). Bu nedenle gıda kaynaklı salgınlardaki virüs tanı yöntemlerinin doğruluğu, kesinliği daha da önem kazanmaktadır (Kim ve ark., 2023).

Hem işletmelerde hem de ev koşullarında görülen yetersiz hijyen koşulları ve gıdalar ile temas eden NV ve RV kaynaklı gastroenterit rahatsızlıkları bulunan kişilerin düşük virüs yoğunluklarında bile bu gıda virüslerinin yaygınlaşmasına neden olurken aynı zamanda toplum sağlığına da risk oluşturabilmektedir (Barclay ve ark., 2014; Ha ve ark., 2016).

Norovirüs ve rotavirüsün kontaminasyon riskini azaltmada hijyen tedbirleri oldukça önem taşımaktadır. Bu amaçla kullanılan dezenfektanların önemi büyüktür. Fakat hijyen amaçlı kullanılan dezenfektanların çoğunluğunun bakterileri hedeflemesi ve dezenfektanların etkin maddelerinin bakterilere göre belirlenmesi virüslerle mücadelede sıkıntılar yaratmaktadır (Escudero-Abarca ve ark., 2022).

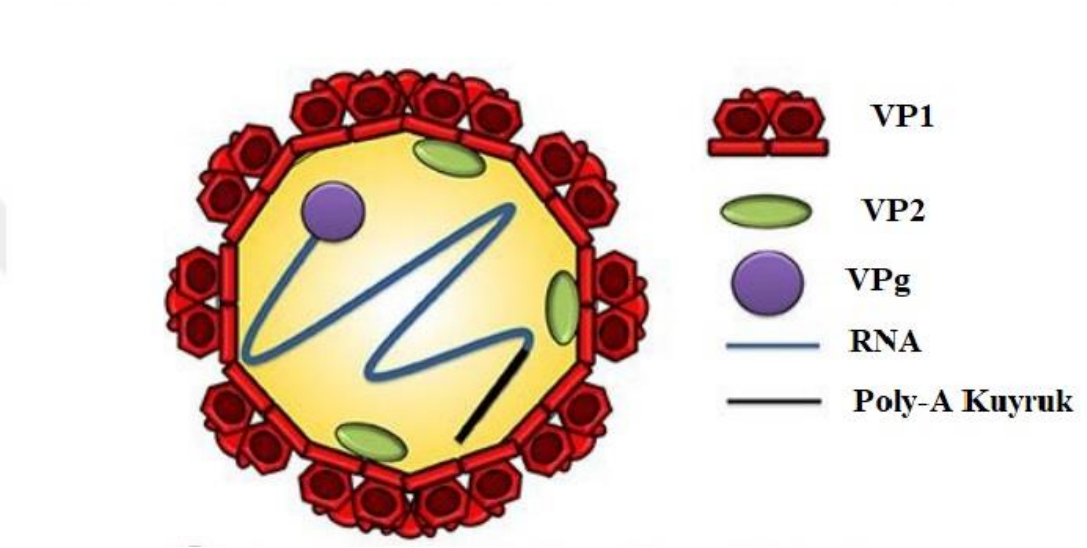
Çünkü, dezenfektanlarda kullanılan etkin maddelerin bir çoğunun NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisi bulunmamaktadır (Lee ve ark., 2018). Bu yüzden gıdalar ve gıdalar ile temas eden yüzeylerde NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisi bulunan dezenfektanların geliştirilmesi ve gıda işletmelerinde ve hatta evlerde kullanılması önem arzetmektedir (Escudero-Abarca ve ark., 2022).

Bu çalışma gıda kaynaklı gastroenterit salgınlara sebep olan norovirüs ve rotavirüsün çeşitli gıda örneklerinde araştırılmasında kullanılan tespit yöntemlerinin sorgulanması amacıyla kurgulanmıştır. Bu amaçla, iki farklı virüs tespit yöntemi ve iki farklı virüs saflaştırma yöntemi tercih edilerek en etkin olanı belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun yanı sıra olası bir norovirüs ve rotavirüsü salgınının önlenmesinde, gıda işletmelerinde ve hatta evlerde hijyen amaçlı kullanılan farklı dezenfaktanların antiviral etkinliği de araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

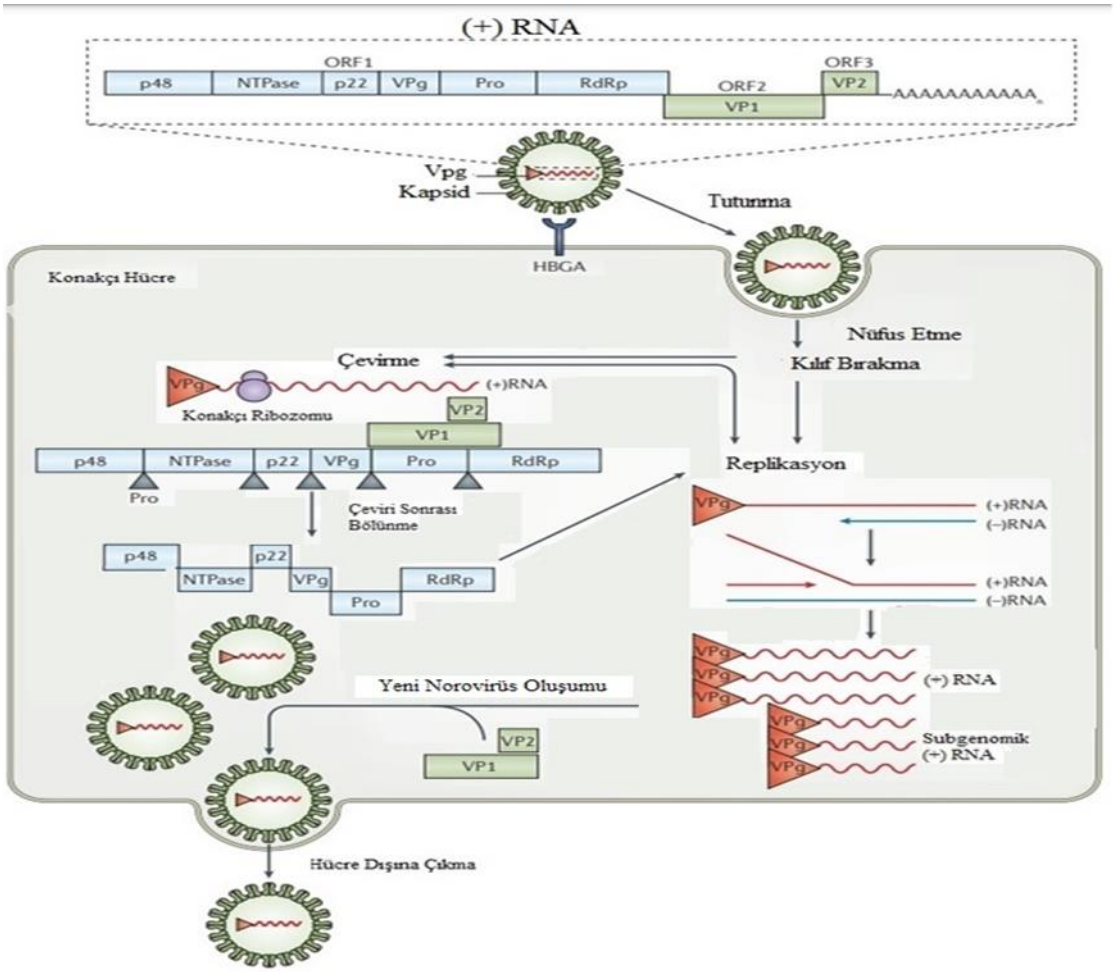
2.1. Norovirüs

Halk sağlığını tehdit eden norovirüsler (NV) 1929 yılında Dr. J Zahorsky tarafından tespit edilmiş ve "Kış Kusma Hastalığı" olarak adlandırılmıştır (Rydell ve ark., 2009). Bunun yanı sıra Amerika Birleşik Devletlerinin Norway şehrinde 1972'de meydana gelen salgında yine aynı virüs tespit edilmiş ve "Norway virüsü" olarak adlandırılmıştır (Kapikian ve ark., 1972). Daha sonra günümüze kadar norovirüsler kış kusma hastalığı, Norway virüsler, Norwalk virüsler, mide gribi, kış kusma mikrobu gibi farklı farklı adlandırılmıştır (Var ve Çelik, 2017). 9. Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesinin raporunda da norovirüsler Norovirüs veya Norway virüsü olarak adlandırılabileceği belirtilmiştir (Clarke ve ark., 2012).



Şekil 2.1. Norovirüsün Yapısı (Yalçın Bingül, 2022)

Norovirüslerin yapısına bakıldığında 27-35 nm büyüklüğünde olduğu ve ikozahedral yapıda bir kapside sahip olduğu görülmektedir. Elektron mikroskobundaki görüntüsü yuvarlak olup, yüzeyinde 32 adet kupa şeklinde çentik görüntülenmektedir (Dağcı Yaprak, 2011). Norovirüs bir RNA virüsü olup pozitif polariteli, genomu 7.3-7.5 kb uzunluğunda, lineer yapıdadır (Genç, 2020). Norovirüs RNA'sının 3'ucunda Poly(A) kuyruğu olarak isimlendirilen viral RNA'yı daha stabil hâle getiren yapılar bulunmaktadır (Güneş ve Gümüş, 2020). Şekil 2.1.'de norovirüslerin yapısı görülmektedir.



Şekil 2.2. Norovirüsün Hücre Yaşam Döngüsü (Graaf ve ark., 2016)

Norovirüs genetik mataryali olan norovirüs RNA'sı üç ORF'ye (Open Reading Frame) sahiptir. Bu üç ORF norovirüslerin insan bağırsak hücrelerini enfekte etmesi ile başlayan hücre yaşam döngüsünde önemli görevlere sahiptir (Graaf ve ark., 2016; Ryu, 2016). Şekil 2.2.'de norovirüslerin hücre yaşam döngüsü gösterilmektedir.

Bu üç ORF'den ORF1, virüsün replikasyonu ve diğer hayati işlevleri için gerekli olan enzimleri ve proteinleri içeren yapısal olmayan uzun protein zincirlerini kodlamaktadır. Yapısal olan proteinleri ise OFR2 ve OFR3 kodlamaktadır. Bu kalıpların sırasıyla kodladıkları viral protein 1 (VP1) ve viral protein 2 (VP2) norovirüslerin kapsid yapısını oluşturmaktadır (Graaf ve ark., 2016).

Norovirüsün hücre yaşam döngüsündeki ilk adımı kapsidde bulunan VP1 proteinin insan bağırsak hücresindeki Histo-Kan Grubu Antijenleri (Histo-Blood Group Antigens-HBGA) ile etkileşimi ve konakçı hücre yüzeyine bağlanmasıdır. Bağlanmadan sonra NV insan bağırsak hücresi içine nüfuz edip kapsid yapısını hücre dışında bırakırken kapsid içinde bulunan RNA'sı konakçı hücreye girmektedir (Graaf ve ark., 2016).

Norovirüs RNA'sı konakçı hücrenin ribozomlarına kolayca bağlanarak konakçı hücrenin mRNA'larının ribozomlara bağlanmasını engellemektedir. RNA yapısında görülen ve pozitif

polarite olarak adlandırılan bu RNA yapısı norovirüslerde de görülmektedir. Konakçı hücreye girdikten sonra norovirüs RNA'sı 5' ucuna kovalent olarak bağlanan yapısal olmayan VPg viral proteininin konakçı ribozomlara bağlanması ile viral proteinlerin oluşumunu sağlayan çevirme işlemi başlamaktadır. Virüslerdeki ORF1 uzun protein zincirini kodlamaya başlayarak konakçı ribozomunda proteinlere çevrilmesini sağlamaktadır. Oluşan uzun yapısal olmayan kendilerine özgü özellikleri bulunan protein zinciri Pro olarak isimlendirilen proteinaz enzimi ile bölünerek norovirüsün hücre yaşam döngüsünde önemli görevleri olan p48, NTPaz, p22, VPg, Pro ve RdRp enzimlerinin oluşmasını sağlamaktadır. Oluşan enzimlerden RdRp (RNA-dependent RNA polymerase=RNA-bağımlı RNA polimeraz) mevcut viral RNA'yı kullanarak yeni norovirüs RNA zincilerinin replikasyonunu sağlamaktadır. Konakçı hücre stoplazmasında gerçekleşen replikasyon sırasında, birincil virüs RNA'sı yanı sıra daha küçük boyutta ve belirli proteinleri kodlayan subgenomik RNA'lar da oluşmaktadır. Norovirüs subgenomik RNA'ları ORF2 ve ORF3 bölgesini içermektedir. Bu subgenomlar kapsid yapısını oluşturan VP1 ve VP2 proteinlerini kodlamaktadır. Replikasyondan sonra oluşan yeni norovirüs RNA'sı ve subgenomik RNA'lar kapsidler içine girerek yeni norovirüs oluşmakta ve hücreyi parçalayarak dışarı çıkmaktadır. (Graaf ve ark., 2016).

İnsanlarda hücre yaşam döngüsü bu şekilde olan norovirüsler sığırlara ve fareleri de enfekte etmektedir. Norovirüsler 5 genogrup içinde yer alan 32 genotip olarak tiplendirilebilmiştir (Kireçci ve Özer, 2011). İnsanlara genogrup I, II ve IV (GI, GII ve G IV) etki ederken sığırlara GIII, farelere GV etki etmektedir (Matthews ve ark., 2012; Farkas ve ark., 2014).

İnsan NV genotiplerin bakıldığında GI genogrup 8, GII genogrubu ise 17 genotipe ayrılmıştır. İnsan NV gen grupları arasında salgınlara neden olanın en yaygın genogrubun GII olduğu bildirilmektedir (Puustinen ve ark., 2012). Finlandiya'daki 2001 ve 2002 yılları arasındaki 128 norovirüs şikayetleri incelediğinde %86'sının GII genogrupta olduğu görülmüştür (Huhti ve ark., 2011). Genel olarak NV kaynaklı salgınlar incelendiğinde NV-GII genorup ve GII-4 genotipinin incelenen salgınlarda baskın olduğu gözlenmiştir (Okada ve ark., 2005).

Genotip GII-4 ilk kez 1990 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki (%55) ve Hollanda'daki (%85) norovirüs salgınlarından sorumlu olduğu tespit edilmiş ve GII-4 US95/96 türü olarak adlandırılmıştır (Lindesmith ve ark., 2011). Bu tür yerini 2002 yılında GII.4- 2002 Farmington Hills genotipine bırakmıştır (Debbink ve ark., 2013).

Widdowson ve ark. (2004)'nın yaptıkları çalışmada GII.4- 2002 Farmington Hills genotip Mayıs Aralık 2002 tarihleri arasında 14 yolcu gemisinde meydana gelen salgınların incelenmesi sonucu bu salgınların 7'sinde tespit edilmiştir. Widdowson ve ark. (2004) bu tespit ettikleri türü ilk kez Farmington Hills/Michigan/ABD'de rapor edildiği için GII.4- 2002 Farmington Hills olarak adlandırmışlardır.

Norovirüs salgınlarından GII.4- 2002 Farmington Hills genotipinden daha sonra sırasıyla 2004 yılında Hunter genotipi, 2006 yılında GII.4-2006 Minerva genotipi gözlenmiştir. GII.4-2006 Minerva genotipi 2009 yılına kadar gözlenmişken, bu tarihten sonra zamanla

GII.4-2009 New Orleans genotipi olarak rapor edilmeye başlanmıştır. Mart 2012 yılında yeni genotipe GII.4-2012 Sydney ismi verilmiş ve bu genotipin Kasım 2012'de GII.4-2009 genotipinin yerine birçok ülkede salgına neden olduğu gözlenmiştir (Debbink ve ark., 2013).

Ozawa ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada 10 Kasım 2005 ve 9 Aralık 2006 tarihleri arasında Japonya'da catering işletmelerinde meydana gelen 55 salgın ve 35 norovirüs ile ilişkili gastroenterit vakasını araştırmışlardır. Araştırmaları sonucunda 55 salgının 19'unun, 35 gastroenterit vakasının 16'sının norovirüsden kaynaklandığı ortaya çıkmıştır. Bu araştırmada gıda ile temas eden personelin bir kısmının norovirüs açısından asemptomatik olduğu gözlenmiş fakat viral yüklerinin semptomatikler kadar fazla olduğu belirlenmiştir.

Scherer ve ark. (2009) kurguladıkları çalışmalarında çeşitli gıdaların yüzeylerine ve gıda ile temas eden yüzeylere NV ve RV inoküle etmişler ve swap ile bu yüzeylerden örnekler alıp NV ve RV geri kazanımlarını tespit etmişlerdir. Bu amaçla; biber, salatalık, elma, salam ve jambon gıda örneklerinin yüzeylerine ve gıda ile temas eden seramik, ahşap, çelik, plastik metaryellerinden yapılmış doğrama tahtalarına 2.0×10^5 RT-PCRU/10 cm^2 ve 2.0×10^4 RT-PCRU/10 cm^2 (PCRU: PCR il Çoğaltılabilir Virüs Ünitesi) olmak üzere iki doz olarak NV virüs aşılanmıştır. Swab metodu için fosfat tampon çözeltisi bulunun tüpler ile belirtilen yüzeylerden örnekler alınmış ve Virüs RNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon işleminden sonra Reel-Time PCR ile virüslerin varlığı araştırılarak geri kazanım seviyeleri belirlenmiştir. Çalışmada yüzeylere inoküle edilen 2.0×10^5 RT-PCRU/10 cm^2 NV geri kazanımları salatalıkta %77.9, salamda %48.3, elmada %38.6, biberde %22.2, jambonda %1.5, seramik yüzeyde %51.9, plastikte %33.1, çelikte %28 ve ahşapta %25.5'dir. Yüzeylere inoküle edilen 2.0×10^4 RT-PCRU/10cm^2 NV geri kazanımını ise salatalıkta %31.6, salamda %48.3, elmada %23.8, biberde %20.5, jambonda %2.4, seramik yüzeyde %31.0, plastikte %25.8, çelikte %18, ahşapta %10.3 olduğunu tespit etmişlerdir.

Akiba ve ark. (2011) gıdalarda düşük yoğunluktaki NV bulaşılarını tespitte yaşanan güçlüklerden dolayı geliştirdikleri A3T (Akiba Tetsuya, Tanaka Tetsuya) metodunu kullandıkları çalışmalarında istridye örneklerine *Proteus vulgaris* NBRC 3045 bakterisi ve fekal örneklerden izole edilen NV inoküle etmişlerdir. Bu yöntem, *Proteus vulgaris* NBRC 3045 bakterisinin istridyenin yapısını bozarak istiridye örneklerinde var olan NV bulaşısının daha rahat tespit edilmesini sağladığı düşünülerek tasarlanmıştır. Çalışmada 102 istridye örneğinden 19'unda NV bulaşısı tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda NV salgınlarına karşı geliştirdikleri A3T yönteminin etkili bir NV tanı yöntemi olduğunu belirtmişlerdir.

Hidayah ve ark. (2011) NV bulaşısını tespit etmek amacıyla Malezya'nın yerel marketlerinden temin ettikleri 30 kırmızı soğan ve 30 yeşil soğan örneğini RT-PCR yöntemi ile çalışmışlardır. Yapılan inceleme sonucu 4 yeşil soğan örneğinde ve 1 kırmızı soğan örneğinde NV tespit edilmiştir.

Montazeri ve ark. (2017) çalışmalarında; Berkeley, Koliforniya, ABD'de bulunan bir laboratuvarın laboratuvar zeminine, dolap raflarına, lavaboya norovirüslerin G-I ve G-II

genogrupların 6-7 $\log_{10}$ NV genomik kopyasını (1000000 genomik kopya/ml) inoküle edip klor içerikli dezenfektanın 12.4 ml/m^3 ve 15.9 ml/m^3 oranlarındaki antiviral etkilerini araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda klor içerikli dezenfektanın 12.4 ml/m^3 oranının inoküle edilen tüm yüzeylerde NV G-I genogrubunu yaklaşık 1.7 $\log_{10}$ NV genomik kopya inaktive ettiği ve NV G-II genogrubunu yaklaşık 0.7 $\log_{10}$ NV genomik kopya inaktive ettiği belirlenmiştir. Fakat klor içerikli dezenfektanın 15.9 ml/m^3 oranının NV G-I ve NV G-II genogruplarını inoküle edilen tüm yüzeylerde 0.4 $\log_{10}$ NV genomik kopya inaktive ettiği belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda dezenfektanların uygun kullanım oranının belirlenmesi gerekliliği vurgulanmş ve dezenfektanların sadece farklı virüslere değil aynı virüslerin farklı genogruplarına da aynı antiviral etkiyi göstermediği belirtilmiştir.

Somura ve ark. (2019) Tokyo'da meydana gelen 64 NV salgınında bulaşı kaynağı olarak düşünülen 352 farklı çeşit gıda örneğini analiz etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada gıda örneklerinde norovirüsleri tespit etmek için Bakteriyel Kültür Yöntemi (A3T Metodu) virüs saflaştırma yöntemini ve reel time RT-PCR'ı tercih etmişlerdir. Yapılan analiz sonucunda alınan 352 farklı çeşit gıdadan uskumru filetosunda, aburi somon diliminde, çiğ ton balığında, çiğ amberjack balığında ve buzlarda (içecekler için kullanılan) NV tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda örneklerin alındığı gıda satışı yapan işletmelerde hijyen uygulamalarına daha çok önem verilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Lowther ve ark. (2019) çalışmalarında marul, böğürtlen ve midye örneklerinde çöktürme işlemi ile virüs saflaştırma ve reel-time RT-PCR ile NV tespit limitlerini belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada her gıda örneğine 9 ayrı seviyede 0.5 $\log_{10}$ seyreltme serisi ile NV kopya/g inoküle etmişler ve en düşük 3 değerin ortalaması alınarak tespit limitini belirlemişlerdir. Tespit limitleri, marul örneğinde 0.88 NV kopya/g, böğürtlen örneğinde 0.79 NV kopya/g ve midye örneklerinde 53 NV kopya/g olarak belirlenmiştir.

Suresh ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada iki farklı NV tespit yönteminde kullanılan virüs saflaştırma yöntemini karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırmada gıda örnekleri olarak Sidney'de faaliyet gösteren yerel marketlerden alınan fesleğen, nane, ıspanak ve deniz yosunu kullanılmış ve bu gıdalara 1.8 x 10^8 NV genomik kopya inoküle edilmiştir. Çalışmada NV analizlerinde daha çok tercih edilen çöktürme işlemi yöntemi ile virüs saflaştırma ve yeni bir yöntem olan Manyetik Boncuklara Birleştirilmiş (Bağlanmış) Domuz Mide Mukusu (Porcine Gastric Mucin-Conjugated Magnetic Beads, PGM-MB) ile virüs saflaştırma yöntemini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak, gıda örneklerinde PGM-MB ile NV geri kazanım oranları fesleğende %42, nanede %43, ıspanakta %9, deniz yosununda % 52 olduğu belirlenirken, çöktürme işlemi yöntemi ile virüs saflaştırması ile NV geri kazanım oranları fesleğende %11, nanede %7, ıspankata %2, deniz yosununda % 8 olduğu belirtilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde gıdalarda NV tespiti için çöktürme işlemi ile virüs saflaştırmanın PGM-MB metoduna kıyasla yetersiz kaldığı görülmüştür.

Arslan ve ark. (2019) Eylül 2016-Ağustos 2017 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesine başvuran 341'i çocuk ve 67'si yetişkin olan 408 hastanın gaita örneklerini norovirüs ve

rotavirüs bakımından incelemişlerdir. İnceledikleri bu örneklerin 184'ünde rotavirüs, 26'sında norovirüs ve 12 örnekte de hem rotavirüs hem de norovirüs tespit edilmiştir.

Torok ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada Avusturalya'da faaliyet gösteren süpermarketlerden ve manavlardan aldıkları 14 böğürtlen, 138 çilek, 76 sebze, 74 paketli salata karışımları olmak üzere 302 gıda örneğinde NV ve *E.coli* açısından değerlendirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda 17 örnekte *E.coli* tespit edilmiştir. Ispanak, marul ve rokayı içeren 3 gıda örneğinde NV tespit edilmiş fakat NV tespit edilen bu örnekler *E.coli* açısından temiz bulunmuştur. Bu da hijyen indikatörü olarak sadece *E.coli* aranmasının yetersiz olduğunu göstermiştir. Çalışmaları ile gıda örneklerinin virüsler açısından da değerlendirilmesinin önemini ortaya koymuşlardır.

Hennechart-Collette ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, gıdalarda NV varlığının araştırılmasında gıdaların yapılarına göre çöktürme işlemi ile virüs saflaştırma ve proteinaz K kullanılarak virüs saflaştırma metodları kullanılmıştır. Çalışmada gıda örnekleri Fransa'da 2012-2017 yılları arasında rapor edilen 56 norovirüs salgını incelenerek belirlenmiştir. Yapılan çalışmada her bir gıda örmeğine 2 x 10^9 NV genomik kopya inoküle edilmiştir. Sebze ve hayvansal kökenli (et, balık veya deniz ürünleri) örneklerde virüs saflaştırma çöktürme işlemi ile yapılırken süt ürünlerinde proteinaz K kullanılarak yapılmıştır. Her iki virüs saflaştırmasından sonra tüm örnekler RNA ekstraksyionuna tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işleminden sonra reel time RT-PCR ile NV tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada çöktürme işlemi ile virüs saflaştırma yönteminde 12 sebze örneğinin hiçbirinde NV saptanmamışken, hayvansal ürünlerin 12 örneğinin 8'inde NV saptanmıştır. Proteinaz K ile virüs saflaştırma yönteminde ise süt ürünlerinden 6 örneğin 5'inde NV saptanmıştır.

Santos-Ferreira ve ark. (2020) gıdalarda norovirüs tesptinde kullandıkları virüs saflaştırma yöntemi olan çöktürme işlemini norovirüsler dışındaki virüsler için de denemişlerdir. Çalışmalarında deniz kestaneleri örneklerine 2.7 × 10^9 kopya/µl norovirüs ve Hepatit E virüsleri inoküle ederek çöktürme işlemi ile virüs saflaştırma işlemini gerçekleştirmişler ve sonrasında reel time RT-PCR ile işleme devam etmişlerdir. Çöktürme işlemi ile virüs saflaştımanın her iki virüsün tespiti için etkili bir yöntem olduğunu belirlemişlerdir.

Alhadrami ve ark. (2020) gıdalarda NV bulaşısını tespit etmek için Laktoferrin ve altın kaplı nanoparçacıkların kullanıldığı bir serolojik yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemde NV bulaşısı olan gıdaların yüzeyinde bulunan NV antijenlerine swab yöntemi ile Lactoferrin maddesi bağlanmıştır. Norovirüs antijenlerine bağlanan Lactoferrin, altın kaplı nanoparçacıklara bağlanan NV antikorları ile yıkanmıştır. Bu yıkama işleminden sonra NV antikor ve NV antijeni birbirine bağlanırken Lactoferrin de altın kaplı nanoparçacıkların rengini altın renginden kırmızı renge çevirmiştir. Görünen kırmızı renk NV pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada ayrıca geliştirdikleri yöntemi marul, salatalık ve tavuk örneklerine NV inoküle ederek de test etmişlerdir. Test sonucunda marul, salatalık ve tavuk örnekleri için tespit edilen en fazla değer 10^5 plak oluşturan ünite/ml en az değer ise 10 plak oluşturan ünite/ml olarak belirlenmiştir.

Satter ve ark. (2021) Bangladeş'te bulunan 8 farklı hastanede yaptıkları çalışmada, akut gastroenterit hastası 5 yaş altı çocuklardan toplanan 5622 gaita örneğinde NV bulaşısını incelemişler ve çalışılan örneklerin 1008'inde NV tespit etmişlerdir.

Emilse ve ark.(2021) Arjantin'de 20 bin nüfuslu Colonia Caroya şehrinde çöktürme işlemi ile virüs saflaştırma yaptıkları çalışmada yıkama suyu, marul ve hindiba örneklerinde NV ve RV varlığını araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucu 24 su örneğinin 9'unda NV, 76 marul örneğinin 43'ünde NV ve 25 hindiba örneğinin 18'inde NV saptanmıştır. Sulama sularında ve yeşil sebze örneklerinde NV bulaşışının gözlenmesi sulardan kaynaklı bulaşıların olabileceğini göstermiş ve Arjantin'deki yetkililerin önlem alması tavsiye edilmiştir.

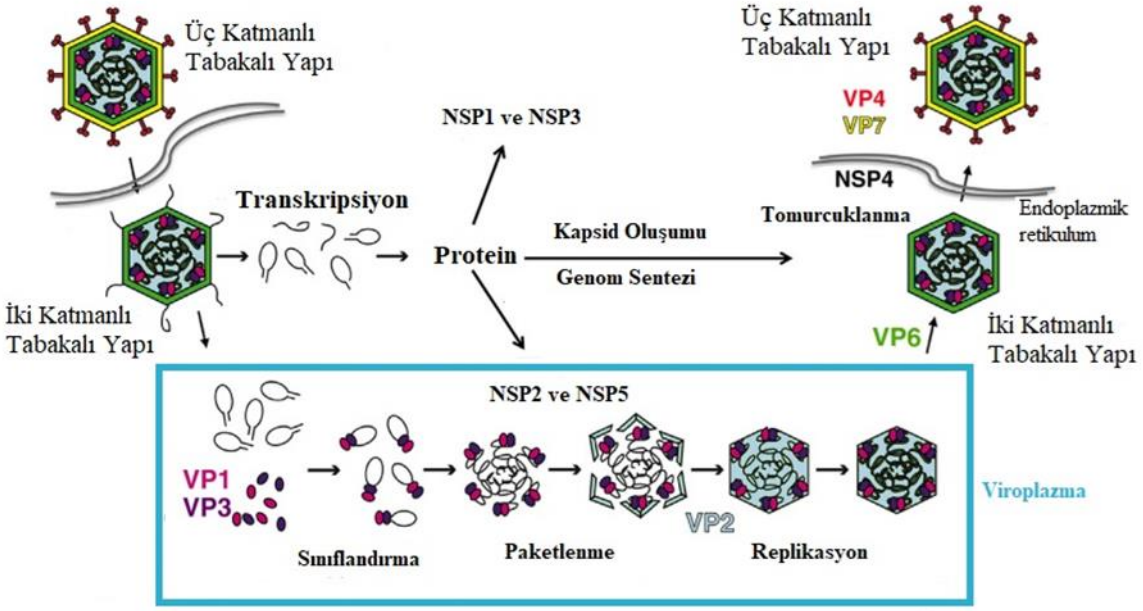
Elviss ve ark. (2022) İngiltere'de Ocak 2015-Nisan 2016 tarihleri arası 256 gıda işletmesinden topladıkları 509 personel el örneğinde NV bulaşısını inceledikleri çalışmalarında alınan el örneklerinden 15'inde pozitif sonuç gözlemlemişlerdir.

Oteiza ve ark. (2022) Arjantin'de yaptıkları çalışmada 75 çilek, 68 yaban mersini, 12 ahududu, 10 böğürtlen, 8 kuş üzümü, 6 nar tanesi, 3 siyah frenk üzümü ve 2 mürver içeren 184 gıda örneğinde NV ve RV tespit etmeye çalışmışlardır. Çöktürme işlemi ile virüs saflaştırması yaptıkları çalışmalarında sadece 1 ahududu örneğinde NV tespit etmişlerdir.

2.2. Rotavirüs

Rotavirüsler (RV), 1970'li yıllarda çocuklarda ve yeni doğanlarda akut gastroenteritin önemli bir etkeni olarak tanımlanmıştır (Öztürk, 2018). Rotavirüs ilk olarak Avusturya'da bulunan Melbourne Kraliyet Çocuk Hastanesinde 1972 yılında tespit edilmiştir (Bishop, 2011). Bu yeni tespit edilen virüsün ismi Thomas Henry FLEWEETT tarafından virüsün şekli tekerleğe benzediği için "Rotavirüs" olarak adlandırılmış ve Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından 1974 yılında kabul edilmştir (Öztaş, 2014).

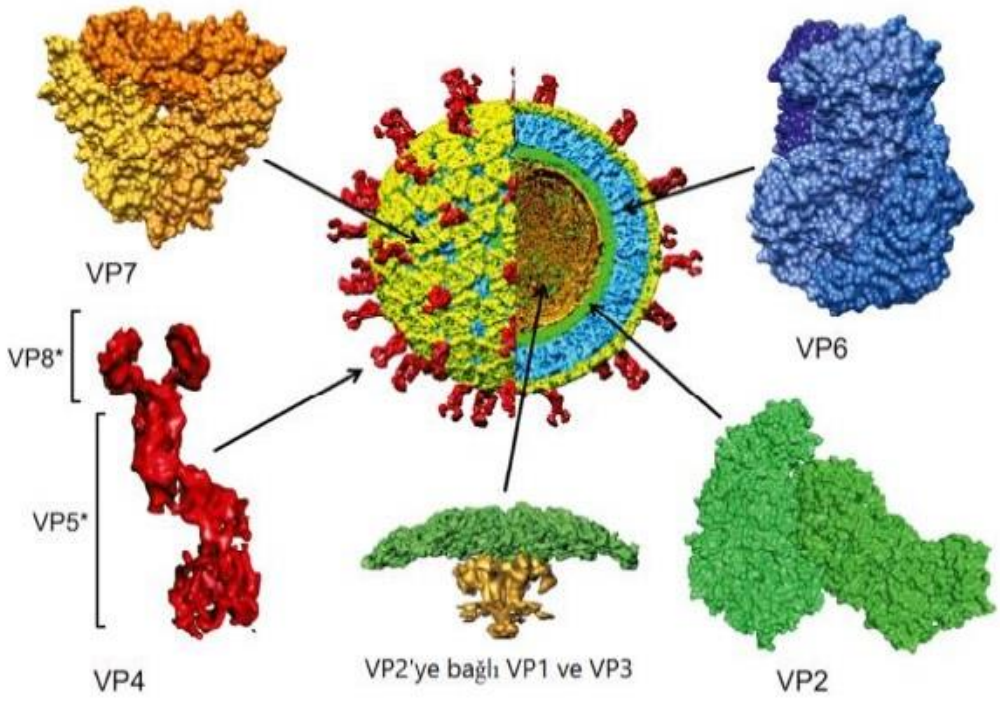
Rotavirüslerde insan bağışıklık sistemi ile etkileşimi belirleyen epitop adı verilen bölgelerin farklılıkları ile gruplandırma yapılmaktadır (Lin ve ark., 2008). Bu gruplar Grup A rotavirüs (RVA), Grup B rotavirüs (RVB), Grup C rotavirüs (RVC), Grup D rotavirüs (RVD) ve Grup E rotavirüs (RVE), Grup F rotavirüs (RVF), Grup G rotavirüs (RVG), Grup H rotavirüs (RVH) ve son zamanlarda köpeklerde yeni bir grup olarak Grup I rotavirüsü (RVI) tanımlanmıştır (Öztürk, 2018). Rotaivürslerin insanları enfekte eden türlerinin insan bağırsak hücresindeki yaşam döngüsü Şekil 2.3.'de görülmektedir.



Şekil 2.3. Rotavirüsün Hücre Yaşam Döngüsü (Navarro ve ark., 2016)

Rotavirüsün tekerleğe benzeyen kapsid yapısı üç katmanlı olup bu yapıya Üçlü Katmanlı Partikül (TLP) yapısı denilmektedir (Navarro ve ark., 2016; Alhamzah, 2021). Dış kısmında insan bağırsak hücrelerine bağlanma ve penetrasyonundan görevli VP4 ve VP7 viral proteinleri bulunur (Teimoori, 2014). Bu proteinlerden VP4 insan bağırsak hücresine tutunduktan sonra bağırsak hücresi tarafından salgılanan enzim ile VP5 ve VP8 alt biriminden oluşan kovalent bağlı olmayan yapısını oluşturur (Arias ve Lopez, 2021). Bu oluşan proteinlerden VP8 hücreye tutunmaya aracılık etmekte olup VP5 ise hücre zarına penetrasyonu kolaylaştırmaktadır (Lin ve ark., 2008).

Hücre içine giren rotavirüs en dış kapsid katmanını hücre dışında bırakmaktadır. Oluşan bu yapıya da Çift Katmanlı Yapı (DLP) denilmektedir. Çift Katmanlı Yapı (DLP) 11 RNA segmentini kodlamaktadır. Bu sekmentler de altı yapısal olmayan (Non-Structural Protein-NSP 1-6) ve altı yapısal viral protein (VP1-4, VP6, VP7) olarak kodlanmaktadır. Bu 11 RNA segmentinden NSP5 ve NSP6 proteinleri aynı segmentte kodlanmakta olup bu yüzden 12 protein 11 RNA segmenti bulunmaktadır (Navarro ve ark., 2016). Şekil 2.4.'de rotavirüslerin yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Rotavirüsün Yapısı (Öztürk, 2018)

Konakçı hücre içinde rotavirüsün DLP yapısı çevirme işlemi ile mRNA gibi davranan tek sarmallı rotavirüs RNA'larını kodlamaktadır. Kodlanan bu yapılar ribozomlara bağlanarak yeni rotavirüsleri, kapsidleri ve viroplazmayı oluşturan proteinleri meydana getirmektedir. Viroplazma, NSP2 ve NSP5 tarafından oluşturulan ve insan bağırsak hücresinin stoplazmasında özel bir bölgedir. Rotavirüs tek sarmallı RNA'sı viroplasmaya girerek VP1 ve VP3 ile bağlanır ve RNA'nın çift sarmallı yapısını oluşturmaktadır. Paketlenen RNA'lar VP2 ile kapsid yapısının ilk katmanlı yapısını oluşturduktan sonra replikasyon gerçekleşmektedir. Viroplasmadan çıkan tek katmanlı yapı VP6 proteinleri ile DLP oluşumu sağlanmaktadır. NSP4 proteini ile insan bağırsak hücresinde bulunan endoplazmik retikulum ile etkileşime girmektedir. Endoplasmik retikulum VP4 ve VP7 proteinleri ile etkileşime girerek rotavirüsün TLP yapısı oluşmaktadır. Oluşan yapılar önce endoplasmik retikulumdan sonra da insan bağırsak hücresinden dışarı çıkmaktadır (Navarro ve ark., 2016).

Leong ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada papaya, kavun, olgun ananas ve olgunlaşmamış ananastan elde edilen meyve sularındaki RV bulaşılarının zamanla değişimlerini gözlemlemişlerdir. Farklı pH değerleri olan papaya (pH:5.1), kavun (pH:6.3), olgun ananas (pH:3.6) ve olgunlaşmamış ananas (pH:3.7) meyve sularına 20 µL'de 10^6 RV plak oluşturan ünite inoküle edilmiştir. Çalışmada gıdalara NV inoküle edildikten 3 saat sonra yapılan analizlerde inoküle edilen RV miktarının kavun ve papaya sularında değişmediği gözlenmiştir. Ananas sularında ise inoküle edilen RV miktarı 3 saatin sonunda olgun ananas sularında 1.3 x 10^5 RV plak oluşturan ünite, olgunlaşmamış ananas sularında 1.1 x 10^4 RV plak oluşturan ünite olduğu gözlenmiştir. Çalışmalarının sonucunda

gıdalardan RV tespit edilebilme sürelerinin farklılık gösterdiği belirtilmiştir.-Sonuçlar incelendiğinde ananas sularının olgunlaşma durumuna göre kimyasal yapısının değişmesi sonucu RV tanı yöntemlerinin etkinliğinin değiştiği belirtmişlerdir.

Scherer ve ark. (2009) NV ve RV tespit etmek için swap metodu ile çeşitli gıda ve gıda ile temas eden yüzeylerden örnekler almışlardır. Bu amaçla; biber, salatalık, elma, salam ve jambon gıda örneklerinin yüzeylerine ve gıda ile temas eden seramik, ahşap, çelik, plastik metaryellerinden yapılmış doğrama tahtalarına 2.0 x 10^4 RT-PCRU/10 cm² (PCRU: PCR ile Çoğaltılabilir Virüs Ünitesi) ve 2.0 x 10^3 RT-PCRU/10 cm^2 olmak üzere iki doz olarak RV virüs aşılanmıştır ve real time RT-PCR ile virüslerin geri kazanım seviyeleri belirlenmiştir. Çalışmada yüzeylere inoküle edilen 2.0 x 10^4 RT-PCRU/10 cm² RV geri kazanımları salatalıkta %28.6, salamda %42, elmada %31.4, biberde %8, jambonda %19.9, seramik yüzeyde %57.7, plastikte %39.3, çelikte %11 ve ahşapta %10.2 olarak bulunmuştur. Yüzeylere inoküle edilen 2.0 x 10^3 RT-PCRU/10cm^2 RV geri kazanımı ise salatalıkta %15.1, salamda %28.7, elmada %15.3, biberde %10, jambonda %14.8, seramik yüzeyde %45.9, plastikte %14.8, çelikte %7, ahşapta %5.4 olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuçlara bakıldığında gıdaların yüzeylerinin pürüzlülüğü, gözenekli yapıda olmaları ve virüslerin gıdalara adsorbe olmasından dolayı virüslerin geri kazanım oranlarında farklılıklar görüldüğü belirtilmiştir.

Aydoğan (2016) yaptığı çalışmada, Burdur ilinin Bucak ilçesinde bulunan 5 süt işletmesinde çalışan 47 personelden el ve gaita örnekleri alarak NV ve RV bakımından incelemiştir. Çalışmada ellerden örnekler sürüntü metoduyla alınmış ve ELISA yöntemiyle çalışılmıştır. Çalışma sonucunda NV ve RV çalışılan örneklerin hiçbirinde tespit edilememiştir.

Fusco ve ark. (2017) gıdalardaki zehirlenmelerin sadece bakteri kökenli değil virüs kökenli de olabileceğini vurgulamak için yaptıkları çalışmada İtalya'nın güneyinde bulunan Campania bölgesinden 2014 ve 2015 yılları arasındaki 24 ay boyunca temin edilen midye örneklerini kullanmışlardır. Bu örneklerden hijyen indikatörü olan *E. coli*'nin tespit edildiği midye örnekleri alınarak NV ve RV ve hepatit A açısından incelenmiştir. Çalışma sonucunda 2014 yılında alınan 25 örneğin hiç birinde NV, RV ve hepatit A bulaşısı tespit edilmezken, 2015 yılında alınan 83 örneğin 14'ünde RV, 14'ünde hepatit A ve 32'sinde NV bulaşısı tespit etmişlerdir. Çalışmada 2014 yılında kış aylarında hiçbir virüs tespit edilmezken 2015 yılında kış aylarında tespit edilmesi gıda kaynaklı virüs salgınlarının mevsime ve yıllara göre değişkenlik gösterebileceğini ifade etmişlerdir.

Mercan (2018) Marmara Üniversitesi hastanesinde 0-18 yaş grubu gastroenterit hastalarından alınan 213 dışkı örneğinde RV ve NV bulaşısı incelediği çalışmasında ELISA testini kullanmış ve hastaların %21'inde rotavirüs tespit etmiştir. ELISA testi ile RV tespit edilen hastaların dışkı örnekleri ayrıca immunokromotografik test kiti ile de test edilmiş ve her iki test sonucunda da aynı veriler elde edilmiştir.

Kuzlu Ayyıldız ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, Zonguldak ilinde gastronterit şikayeti ile hastaneye başvuran 0-5 yaş arası çocukların gaita örnekleri RV açısından incelemiştir. İnceleme

sonucunda araştırmaya konu olan çocukların %15'inde RV bulaşısı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmaya katılan çocukların anne ve babasının RV hakkında bilgileri ve hijyen kurallarına uyup uymadıkları da anketler ile sorgulanmıştır. Anketler sonucunda anne-babaların %57'sinin RV hakkında bilgisinin yeteri kadar olduğu fakat tuvaletten sonra el yıkama gibi temel hijyen kurallarına büyük bir çoğunluğunun uymadığı tespit edilmiştir.

Enül (2021) İstanbulda gerçekleştirdiği çalışmasında İncelemede Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) ile 105 gıda örneğinde RV varlığını incelemiştir. Çalışmada 35 kırmızı et (hazırlanmış kıyma, paket kıyma, paket hazır köfte, sucuk, salam, sosis, kebap), 35 tavuk (soslu tavuk kanat, göğüs eti, tavuk kanat, tavuk şnitzel, tavuk jambon, tavuk sosis, tavuk salam), 5 hindi (sosis-salam) ve 20 deniz ürünleri (işlenmemiş balık, donmuş balık, hazır midye, kalamar) ve 10 adet midye gıda örneği olarak kullanılmıştır. İncelemede RT-PCR yöntemi kullanılmış ve sadece 10 adet midye örneğinin 2 tanesinde RV bulaşısı tespit edilmiştir.

Emilse ve ark. (2021) Arjantin'de 20 bin nüfuslu Colonia Caroya şehrinde çöktürme ile virüs saflaştırma yaptıkları çalışmada yıkama suyu, marul ve hindiba örneklerinde NV ve RV varlığını araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucu 24 su örneğinin 5'inde RV, 76 marul örneğinin 17'sinde RV ve 25 hindiba örneğinin 6'sında RV bulaşısı saptanmıştır. Sulama sularında ve yeşil sebze örneklerinde NV ve RV bulaşışının belirlenmesi sulardan kaynaklı bulaşıların olabileceğini göstermiş ve Arjantin'deki yetkililerin önlem alması tavsiye edilmiştir.

Yalçın ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada Burdur ilindeki 4 mezbahada bulunan gıda ile temas eden yüzeylerde ve mezbaha personelinin ellerinde RV varlığını inceledikleri çalışmada örnek olarak bıçaklardan, kesme tahtasından, paketleme hattından, önlüklerden, et çekiçlerinden, doğrayıcı bıçaklardan, depo duvarından, testerelerden, musluk kollarından alınan yüzey örnekleri kullanılmış ve serolojik yöntemler ile çalışılmıştır. Çalışma sonucunda yüzeylerden alınan örneklerde RV bulaşısı tespit edilmezken, mezbaha personelinin ellerinden alınan örneklerde bir personelde RV varlığı tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca yapılan anket sonucunda da RV tespit edilen personelin karın ağrısı çektiği belirtilmiştir.

2.3. Norovirüs ve Rotavirüs Kontrolünde Kullanılan Dezenfektanlar

Gıda virüslerinin toplum sağlığına tehditini kontrol altına alabilmek için uygun tanı yöntemlerinin yanında uygun dezenfektanların da belirlenmesi gerekmektedir. İşletmelerde ve hatta evlerde kullanılan dezenfektanların norovirüs ve rotavirüs üzerine antimikrobiyel etkileri, bu dezenfektanların insan sağlığını tehdit edecek kadar yüksek oranlarda kullanıldığı zaman görülmektedir. Gıda virüslerinin bazı dezenfektanlara karşı dirençli olması da bir başka toplum sağlığı riskini oluşturmaktadır (Faircloth ve ark., 2022; Lyaschhuk ve ark., 2022).

Ojeh ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada 2500 ppm sodyum hipoklorit ve %80 etil alkolün 10^8 plak oluşturan ünite/ml rotavirüse antimikrobiyel etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları incelemede

0.2 ml rotavirüse 1.8 ml dezenfektan eklenmiş ve RT-PCR sonuçları belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında 2500 ppm sodyum hipokloritin rotavirüs üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğu görülürken, %80 etil alkolün rotavirüs üzerine antimikrobiyel etkisi gözlenmemiştir. Çalışma sonunda rotavirüs salgınları için etkili el ve yüzey dezenfektanının kapsamlı araştırmalar ile belirlenmesi önerilmiştir.

Tung ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada sodyum hipoklorit ve etil alkolün norovirüsler üzerine antimikrobiyel etkisini laboratuvar koşullarında göstermişlerdir. Çalışmalarında 5, 75, 250, 500 ve 1000 ppm sodyum hipoklorit ve %50, 70, 90 etil alkol dezenfektan olarak kullanılmıştır. Sodyum hipoklorit ve etil alkolün belirlenen her bir çalışma konsantrasyonundan 225 µl alınarak 25 µl fosfat tampon çözeltisi içinde bulunan 10^7 RT-PCRU/ml virüs yoğunluğundaki NV üzerine antimikrobiyel etkileri belirlenmiştir. Sonuç olarak, sodyum hipokloritin 500 ppm'nin 0.5 $\log_{10}$, 1000 ppm'nin 4.5 $\log_{10}$ NV RT-PCRU/ml düzeyinde bir azalma gösterdiği belirtilmiştir. Etil alkolün ise %50, 70, 90 oranlarının 0.5 $\log_{10}$ NV RT-PCRU/ml azalma sağladığı belirtilmiştir. Sonuçlara göre gıda endüstrüsinde kullanılan dezenfektanların antimikrobiyel etkinliğinin sorgulanması gerekliliği görülmüştür.

Ha ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada sodyum hipoklorit ve etil alkolün norovirüsler üzerine antimikrobiyel etkisini laboratuvar koşullarında belirlemişlerdir. Çalışmalarında 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 10000 ppm sodyum hipoklorit ve %10, %30, %50 ve %70 oranlardaki etil alkol dezenfektan olarak kullanılmıştır. Sodyum hipoklorit ve etil alkolün belirlenen her bir çalışma konsantrasyonundan 180 µl alınarak 20 µl fosfat tampon çözeltisi içinde bulunan 4.71 $\log_{10}$ NV genomik kopya/µL virüs yoğunluğundaki NV üzerine antimikrobiyel etkilerini belirlemek için ilave etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda NV üzerine sodyum hipokloritin 200 ppm, 500 ppm ve 1000 ppm oranlarının antimikrobiyel etki gösterdiğini fakat etil alkolün tüm oranlarının NV üzerinde antimikrobiyel etkisinin olmadığı belirlnmiştir. Sonuçlar incelendiğinde sodyum hipokloritin etkili bir dezenfektan olduğu fakat yüksek oranlarda kullanımının insan sağlığına zarar verebileceği endişelerini dile getirmişlerdir. Etil alkol etkin maddeli dezenfektanların NV üzerine antimikrobiyel olarak kullanılmamasını tavsiye etmişlerdir.

Lee ve ark. (2018) gıda ile temas eden yüzeylere uygulanan çeşitli dezenfektanların NV üzerine antimikrobiyel etkisini inceledikleri çalışmada sodyum hipoklorid (100 ppm, 500 ppm, 700 ppm ve 1000 ppm), etil alkol (%50, %70), kuarter amonyum bileşikleri (1000 ppm, 2000 ppm) dezenfektan olarak kullanılmıştır. Gıda ile temas eden yüzeyler olarak cam, paslanmaz çelik, ahşap, plastik yüzeyler kullanılmış ve bu yüzeylere 9.3 x 10^5 NV genomik kopya/10 µl inoküle edilmiştir. Çalışma sonucunda sadece sodyum hipokloridin 700 ve 1000 ppm çözeltilerinin cam, paslanmaz çelik, ahşap, plastik yüzeylerde antimikrobiyel etkinliği gözlenmiştir.

Escudero-Abarca ve ark. (2022) yapıkları çalışmada paslanmaz çeliğe inoküle ettikleri 7 $\log_{10}$ NV genomik kopya/µl üzerine antimikrobiyel etkisini belirlemek için sodyum hipoklorit kullanmışlardır. Sodum hipokloritin 100, 500, 750, 1000, 2000, 3000, 4000 ve 5000 ppm

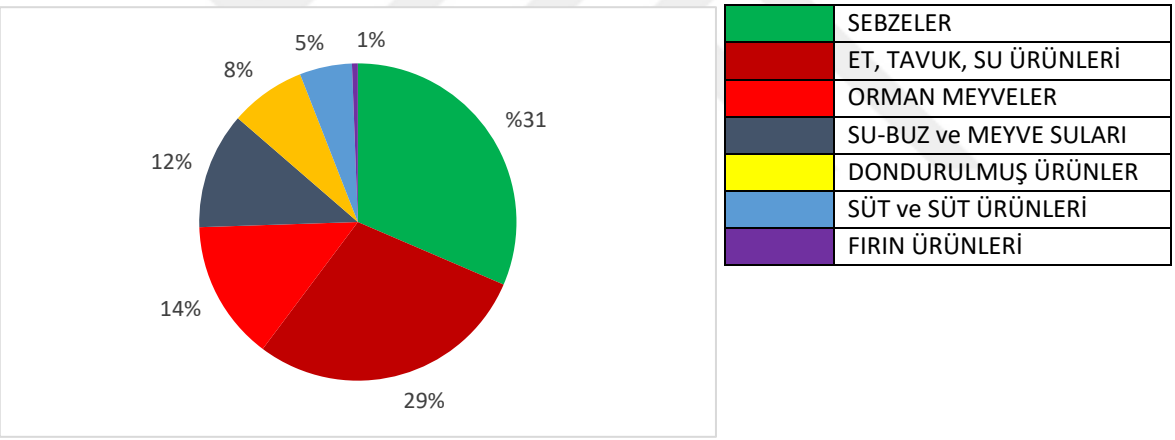
çözeltilerinin NV üzerine antimikrobiyel etkilerine bakıldığında 5000 ppm sodyum hipokloritin en yüksek antimikrobiyel etkiye sahip olduğu ve inoküle edilen miktardan 4 $\log_{10}$ NV genomik kopya/µl azalma olduğunu belirlemişlerdir. Sodyum hipokloridin 200 ppm'den fazlasının insan sağlığına zararlı olması nedeniyle gıda ile temas eden yüzeylerin sodyum hipoklorit kullanıldıktan sonra bol su ile yıkanması gerektiğini vurgulamışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Gıda Örnekleri ve Dezenfektanlar

Yaptığımız çalışmada örnek olarak aldığımız gıdalar ayrıntılı ve kapsamlı bir litaratür taraması yöntemi olan Sistematik Derleme yönteminin çalışmamıza göre modifiye edilip kullanılması ile belirlenmiştir. Modifeye ettiğimiz bu yöntem ile Google Akademik, Science Direct ve Pudmed veri tabanlarındaki makaleler incelenerek NV ve RV tespit etmek için gıdalar gruplandırılmış ve gıda örnekleri belirlenmiştir (Rahnama ve ark, 2023, Nogales ve ark.2023). Bu veri tabanlarında "Norovirus Outbreak Foodborne" ve "Rotavirus Outbreak Foodborne" arama kriterleri ile 2017-2022 yılları arası makaleler incelenerek literatür taraması yapılmıştır. Yaptığımız çalışmada derleme çalışmaları hariç tutulup ve her iki veri tabanında da bulunan makaleler tespit edildikten sonra 1200 araştıma makalesinin 337'sinin gıda örnekleri ile çalışıldığı belirlenmiştir. Şekil 3.1'de taranan 337 makalede NV ve RV üzerine yapılan araştırmalarda kullanılan gıdaların gruplarının yüzdelik dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Norovirüs ve Rotavirüs Üzerine Yapılan Araştırmalarda Kullanılan Gıda Gruplarının Yüzdelik Dağılımı

İncelenen makaleler doğrultusunda belirlenen bu gıda gruplarından çalışmamız için alınacak gıda örnekleri seçilmiştir. Şekil 3.2.'de seçilen gıda grupları ve alınan gıda örnekleri gösterilmektedir.

GIDA ÖRNEKLERİ

Sebzeler:

-Marul	-Domates
-Salatalık	-Havuç
-Dereotu	-Yeşil Soğan
-Nane	-Kırmızı Biber
-Ispanak	-Mevsim Salata
-Maydanoz	-Soğan Salatası
-Turp	-Ezme salatası
-Tere	-Pişmiş Soğan

Et, Tavuk-Su Ürünleri:

-Kıyma	-Tavuk Budu
-Tavuk Göğüsü	-Çiğ Balık

Orman Meyveleri:

-Taze Çilek	-Taze Böğürtlen
-Dondurulmuş Çilek	-Dondurulmuş Böğürtlen

Su-Buz ve Meyve Suları:

-Şebeke Suyu	-Havuç Suyu
-Bici-Bici Tatlısı	-Portakal Suyu

Dondurulmuş Gıdalar:

-Ispanak	-Bezelye
-Mısır	-Barbunya

Süt ve Süt Ürünleri:

-Çiğ Süt	-Tereyağı
-Peynir	-Yoğurt

Fırın Ürünleri:

-Ekmek	-Poğaça
-Simit	-Pide

Şekil 3.2. Gıda Grupları ve Çalışılan Gıda Örnekleri

Yaptığımız çalışmada 7 gıda grubu ve 40 gıda örneği belirlenmiştir. Bu 40 gıda örneği üç tekrarlı olarak çalışıldığından toplam 120 gıda örneğinde NV ve RV tespit edilmeye çalışılmıştır. Örnek olarak aldığımız gıdalardan bici-bici tatlısı, Adana ilinde yaz mevsiminde tüketilen ve ana malzemesi rendelenmiş buz, pişmiş nişasta, pudra şekeri olan bir tür yöresel tatlıdır (Güzeler ve Özbek, 2017). Bu tatlı Var ve ark.'nın (2014) yaptıkları çalışmada Adana İlinden alınan 40 bici-bici tatlısı örneğinin tamamında fekal bulaşının bulunduğunun belirtilmesi ve bu örneklerde NV ve RV bulaşışının da bulunabileceği olasılığı üzerinden örnekler arasında değerlendirilmiştir. Adana ilinde en çok tercih edilen yemek olan kebap yanında servis edilen mevsim salata, soğan salatası, ezme salatası ve pişmiş soğan salatası da örnek olarak çalışılmıştır.

Seçilen bu örnekler Adana İli Seyhan, Çukurova ve Yüreğir ilçelerinde faaliyet gösteren semt pazarlarından, marketlerden, kebapçılardan, büfelerden, pastane ve unlu mamul satışı yapılan lokasyonlardan alınmıştır.

Norovirüs ve rotavirüs salgınlarının kış aylarında artmasından ve salgınların yine bu aylarda rapor edilmesinden dolayı (Atchison ve ark., 2010; Kambhampati ve ark., 2023) örneklerimiz kış aylarında alınmıştır. Diğer yandan-su-buz-meyve suları gıda grubuna dahil şebeke suyu, bici-bici tatlısı, havuç suyu ve portakal suyu kaynaklı gastroenterit rahatsızlıkların yaz aylarında daha sık olmasından dolayı (Horm ve D'Souza, 2011; Var ve ark, 2014; Zhao ve ark., 2022) bu gıdalar yaz mevsiminde çalışılmıştır.

Çizelge 3.1., 3.2., 3.3., 3.4., 3.5., 3.6. ve 3.7.'de aldığımız gıda örnekleri, gıda örneklerinin alındığı lokasyonlar ve gıda örneklerinin alındığı mevsim ve yıllar gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Sebzelerin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimleri ve Yılları

Sebzeler	Lokasyonlar	Mevsimler ve Yıllar
Marul, Salatalık, Dereotu, Nane, Ispanak, Maydanoz, Yeşil Soğan, Kırmızı Biber, Turp, Tere, Domates, Havuç,	Semt Pazarı (Seyhan)	KIŞ 2020
	Semt Pazarı (Çukurova)	KIŞ 2021
	Semt Pazarı (Yüreğir)	KIŞ 2022
Mevsim Salatası Ezme Salatası Soğan Salatas Pişmiş Soğan	Kebapçı (Seyhan)	KIŞ 2020
	Kebapçı (Çukurova)	KIŞ 2021
	Kebapçı (Yüreğir)	KIŞ 2022

Çizelge 3.2. Et, Tavuk-Su Ürünlerinin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar

Et, Tavuk-Su Ürünleri	Lokasyonlar	Mevsimler ve Yıllar
Kıyma	Semt Pazarı (Yüreğir)	KIŞ 2020
	Şarküteri (Çukurova)	KIŞ 2021
	Şarküteri (Seyhan)	KIŞ 2022
Tavuk Budu	Şarküteri (Çukurova)	KIŞ 2020
	Semt Pazarı (Yüreğir)	KIŞ 2021
	Şarküteri (Seyhan)	KIŞ 2022
Tavuk Göğsü	Şarküteri (Seyhan)	KIŞ 2020
	Şarküteri (Yüreğir)	KIŞ 2021
	Semt Pazarı (Çukurova)	KIŞ 2022
Çiğ Balık	Semt Pazarı (Çukurova)	KIŞ 2020
	Balık Pazarı (Çukurova)	KIŞ 2021
	Balık Pazarı (Seyhan)	KIŞ 2022

Çizelge 3.3. Orman Meyvelerinin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar

Orman Meyveleri	Lokasyonlar	Mevsimler ve Yıllar
Taze Çilek Taze Böğürtlen	Semt Pazarı (Yüreğir)	KIŞ 2020
	Semt Pazarı (Çukurova)	KIŞ 2021
	Semt Pazarı (Yüreğir)	KIŞ 2022
Dondurulmuş Çilek Dondurulmuş Böğürtlen	Market (Çukurova)	KIŞ 2020
	Market (Yüreğir)	KIŞ 2021
	Market (Seyhan)	KIŞ 2022

Çizelge 3.4. Süt ve Süt Ürünleri Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar

Süt ve Süt Ürünleri	Lokasyonlar	Mevsimler ve Yıllar
Çiğ Süt	Sokak Satıcısı (Yüreğir)	KIŞ 2020
	Sokak Satıcısı (Seyhan)	KIŞ 2021
	Sokak Satıcısı (Çukurova)	KIŞ 2022
Peynir Tereyağı Yoğurt	Şarküteri (Seyhan)	KIŞ 2020
	Şarküteri (Yüreğir)	KIŞ 2021
	Semt Pazarı (Çukurova)	KIŞ 2022

Çizelge 3.5. Su-Buz ve Meyve Sularının Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar

Su-Buz ve Meyve Suları	Lokasyonlar	Mevsimler ve Yıllar
Şebeke Suyu	Semt Pazarlarına Yakın Çeşmeler (Çukurova)	YAZ 2020
	Semt Pazarlarına Yakın Çeşmeler (Seyhan)	YAZ 2021
	Semt Pazarlarına Yakın Çeşmeler (Yüreğir)	YAZ 202
Bici-Bici Tatlısı	Sokak Satıcıları (Yüreğir)	YAZ 2020
	Sokak Satıcıları (Seyhan)	YAZ 2021
	Sokak Satıcıları (Çukurova)	YAZ 202
Havuç Suyu Portakal Suyu	Büfe (Çukurova)	YAZ 2020
	Büfe (Seyhan)	YAZ 2021
	Büfe (Yüreğir)	YAZ 2022

Çizelge 3.6. Dondurulmuş Gıdaların Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar

Dondurulmuş Gıdalar	Lokasyonlar	Mevsimler
Ispanak Mısır Bezelye Barbunya	Market (Çukurova)	KIŞ 2020
	Market (Seyhan)	KIŞ 2021
	Market (Yüreğir)	KIŞ 2022

Çizelge 3.7. Fırın Ürünlerinin Alındığı Lokasyonlar, Mevsimler ve Yıllar

Fırın Ürünleri	Lokasyonlar	Mevsimler ve Yıllar
Ekmek Simit Poğaça Pide	Fırın (Çukurova)	KIŞ 2020
	Fırın (Seyhan)	KIŞ 2021
	Fırın (Yüreğir)	KIŞ 2022

Yaptığımız çalışmada dezenfektan olarak gıdaları ve gıdalar ile temas eden yüzeyleri dezenfekte etmek amaçlı kullanılan dezenfektanlar tercih edilmiştir. Gıda kaynaklı rahatsızlıkların en çok evlerdeki yetersiz dezenfeksiyondan kaynaklandığının bilgisiyle dezenfektanlarımız evlerde sıkça kullanılan dezenfektanlardan seçilmiştir (EFSA, 2016; Li ve ark., 2020). Çalışılan dezenfektanlar Çizelge 3.8.'de kodları ve özellikleri ile birlikte verilmektedir.

Çizelge 3.8.Çalışmada Kullanılan Çeşitli Dezenfektanlar, Kodları ve Özellikleri

Dezenfektanlar	**Kodları**	**Konsantrasyon***
Sodyum Hipoklorit içeren yüzey dezenfektanı	D-1	Hacim olarak %10 oranında
Sodyum Hipoklorit içeren yüzey dezenfektanı	D-2	Hacim olarak %1 oranında
Gıda ve gıda ile temas eden yüzeyleri yıkama solusyonu	D-3	Aktif klor olarak da bilinen % 0.0015 hipokloröz asit
Sıvı Bulaşık Deterjanı	D-4	% 1 oranında metilizotiazolinon (2-Metil-3(2H)-izotiyazolon)
El ve Yüzey Dezenfektanı	D-5	%65 etil alkol

*: Dezenfektanların 1000 ml'deki etken maddelerinin oranları

Dezenfektanlar kullanım öncesinde firmalarının tavsiye ettiği 1000 ml sudaki oranlara göre hazırlanmıştır. Fakat D-5 dezenfektanı çalışmada kullandığımız yüzeylere firmanın tavsiyesi üzerine direk uygulanmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız dezenfektanlardan klor içerikli D-1, D-2 ve D-3 ve alkol içerikli D-5 dezenfektanları virüslerin kapsid proteinlerini ve virüs RNA'sını inaktive etmektedir (Martín-González ve ark., 2020; Sato ve ark., 2020: Qiao ve ark., 2022).

Dezenfektan amaçlı kullanılan bir deterjan olan D-4 dezenfektanının sadece metilizotiazolinon içerdiği bilgisi deterjan firması tarafından verilmiştir. Metilizotiazolinon sık kullanılan bir biosit olup klorometilizotiazolinon ile birlikte dezenfektan olarak kullanılmaktadır (He ve ark., 2021). Metilizotiazolinonnun virüsler üzerine olan etkisinin elektrofilik yani elektronları çekme özelliğinden dolayı olduğu ve virüslerin protein yapılarına etki ederek bu yapıların bozulmasına neden olabileceği son yıllarda belirtilmektedir (Fang ve ark., 2023).

3.1.2. Virüs saflaştırmasında Kullanılan Malzemeler

Elüsyon Çözeltisi Tris Base Glycine Beef Ekstrakt (TGBE) Çözeltisinin Hazırlanması

Çalışmada elüsyon çözeltisi olarak kullanılmıştır. Çözelti 12.1 g Tris Base (Sigma-Aldrich Co. LLC), 3.8 g Glycine (Merck), 10 g Beef Ekstrakt (Conda) 1 litre damıtık suda çözünmüştür. Elde edilen çözelti otoklavda 115 ^{0}C'da 15 dakika sterilize edilmeden önce pH 9.5 olarak ayarlanmıştır.

5 x Polietilen Glikol /NaCl Çözeltisinin Hazırlanması

1 litre damıtık suya 500 g polietilen glikol (PEG-8000, Sigma-Aldrich Co. LLC) ve 87.66 g 1.5 M Sodyum Klorid (NaCl-Lab M) ilave edilerek otoklavda 115 ^{o}C'da 15 dakika sterilize edilerek çözelti hazırlanmıştır. Polietilen glikol virüs saflaştırmalarında virüslerin protein yapılarına bağlanarak onların gıdalardan ayrılıp çöktürülmesi amacıyla kullanılmıştır.

Pektinaz Kullanımı

Meyve ve sebze örneklerinde bulunan pektinin daha basit karbonhidrat moleküllerine parçalanması için kullanılmıştır. Bu enzim Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Meyve-sebze Laboratuvarından temin edilmiştir.

Proteinaz K Kullanımı

Moleküler yöntemler ile gıdalarda NV ve RV tespit edilmesinde virüslerin ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Örnek olarak alınan gıdaların 1 ml'sinde 0.2 mg olacak şekilde hazırlanmıştır.

Fosfat Tamponlu Salin Çözeltisi (PBS) Hazırlanması

Bu çözelti çöktürme ile virüs saflaştırmada santrifüj işlemi sonucu oluşan peleti çözündürmek için kullanılmıştır. Çözelti PBS tabletlerinin 200 ml saf su ile karıştırılması ile elde edilmiştir.

Kloroform/Bütanol (1/1 w/v)Kullanımı

Çöktürme ile virüs saflaştırmada santrifüj işlemi sonucu oluşan pelette kalan virüs dışı partikülleri çöktürüp uzaklaştırmak için homojenizasyonda kullanılmaktadır. Bu karışımın miktarı 500 µL olacak şekilde kloroform ve bütanolün aynı hacimde karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

3.1.3. RNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Malzemeler

Çalışmada virüs RNA ekstraksiyonu için Roche marka Yüksek Saflıktaki RNA izalosyon kiti kullanılmıştır.

Proteinaz K Kullanımı

Bu enzim, ekstraksiyon işleminde hücrelerin protein moleküllerinin parçalanması için kullanılmaktadır. Proteinaz K, 5 ml elüsyon çözeltisinde çözülmüş ve -20 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

Çalışma Çözeltisi Hazırlanması

Bu çözelti bağlama tamponları çözeltisi ve Poly(A) ile hazırlanmaktadır. Bağlama tamponları çözeltisi, 6 M guanidine-HCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM urea, 20% Triton X-100 (w/v), (pH 4.4,+25°C) içermektedir. Poly(A), 0.5 ml çift damıtılmış, deiyonize ve otoklavlanmış su ile karıştırılmış ve elde edilen çözelti 50 µl olacak şekilde ependorf tüplerine bölünmüştür. Çalışma

çözeltisi hazırlanması için 50 µl Poly (A) ve 2.5 ml bağlama tamponları her RNA ekstraksiyonundan önce karıştırılarak hazırlanmıştır.

İnhibitör Ayırma Çözeltisi Hazırlanması

Bu çözelti PCR inhibitörlerini temizlemek için kullanılmaktadır. İçerik olarak 5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl'den oluşmaktadır. Çözeltiye 20 ml saf etil alkol eklenerek ekstrakiyona hazırlanmıştır.

Yıkama Çözeltisi Hazırlanması

Bu çözelti ekstraksiyon esnasında meydana gelen kirliliklerin uzaklaştırılması için kullanılmaktadır. Çözelti içerik olarak 20 mM NaCl, 2 mM Tris- HCl'den oluşmaktadır. Yıkama Tampon Çözeltisi bulunan 10 ml'lik iki kaba 40 ml saf etil alkol eklenerek hazırlanmıştır.

3.1.4. Agaroz jel elektroforezi

Tampon çözelti olarak kullanılan TBE (Tris Borat EDTA) buffer 108 gr Tris base (tris(hidroksimetil)aminometan, Sigma-Aldrich, USA), 55 gr borik asit (Sigma-Aldrich, USA) ve 7.5 gr EDTA (etilendiamin tetraasetik asit, Sigma-Aldrich, USA) ile 1000 ml suda karıştırılarak hazırlanmıştır (Öztürk, 2018).

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Norovirüs ve Rotavirüs Primerleri

Çalışmada kullanılan primerler norovirüs ve rotavirüs primer çiftleri Çizelge.3.9.'da gösterilmektedir.

Çizelge 3.9.Çalışmada Kullanılan Norovirüs ve Rotavirüs Primer Çiftleri

Virüs	Primer	Sekans (5'-3')	Kaynak
NV G-I	G1F1	CTG CCC GAA TTY GTA AAT GAT	**Kojima ve ark. (2002); Kim ve ark. (2005); Kobayashi ve ark. (2004); Ruether ve ark. (2014); Kong ve ark. (2014)**
	G1R1	CCA ACC CAR CCA TTR TAC ATT T	
NV G-II	G2F1	GTG GGA GGG CGA TCG CAA TCT	
	G2R1	TGC ATA ACC ATT RTA CAT TCT	
RV group A	RV1	GTC ACA TCA TAC AAT TCT AAT CTA AG	**Kittigul ve ark. (2014); Gilgen ve ark.(1997)**
	RV2	CTT TAA AAG AGA GAA TTT CCG TCT G	

3.1.6. İmmünokromotgrafik Kaset Test

Çalışmamızda gıdalardaki norovirüslerin ve rotavirüslerin serolojik yöntem ile tespit edilmesi amacıyla serolojik testlerden biri olan immünokromotgrafik kaset test (Immunochromatographic Card Tests) yöntemi Microcult norovirüs ve rotavirüs hızlı tanı kitleri kullanılmıştır. Norovirüs ve rotavirüs test kitlerinde, norovirüs ve rotavirüs immünokromotgrafik kaset testleri ve alınan örnekleri seyreltmek için 3 ml fosfat tampon çözeltisi bulunan tüpler bulunmaktadır. Bu test kasetlerinin analiz edilen gıdalarda 10^9 genomik kopya/ml'den fazla NV ve RV olması halinde pozitif sonuç verebileceği belirtilmiştir (Anonim 3; Anonim 4).

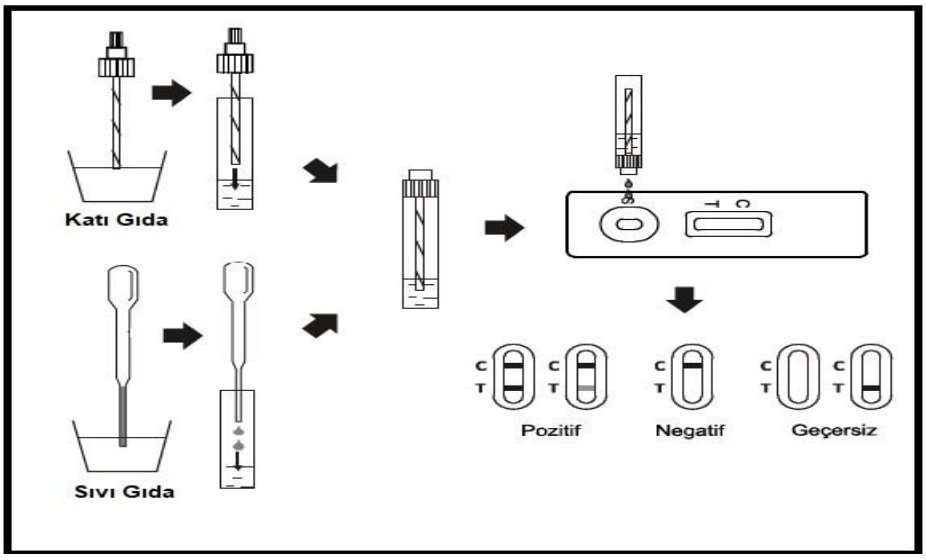
3.2. Metod

Sistematik Derleme yöntemi modifiye edilerek belirlenen gıda örneklerinde NV ve RV tespiti iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemlerden serolojik yöntem olarak immünokromotgrafik testlerden olan NV ve RV immünokromotgrafik hızlı test kasetleri tercih edilmiştir. Moleküler yöntemde ise Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) yöntemi tercih edilmiştir. Bu süreçte çöktürme ile virüs saflaştırma ve proteinaz K ile virüs saflaştırma yöntemlerini içeren virüs ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

3.2.1. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Serolojik Yöntem ile Saptanması

Çalışmamızda, gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin serolojik yöntem ile saptanması amacıyla serolojik testlerden biri olan immünokromotgrafik test tercih edilmiştir (immunochromatographic assay-ICA). Çalışmada NV ve RV için geliştirilmiş olan immünokromotgrafik hızlı test kasetleri kullanılmıştır. Bu kasetlerin yatay pedlerinde bulunan renk molekülleri gıdalarda bulunan NV ve RV antijenleri ile birlikte hareket ederek test çizgisinde bulunan antikorlara bağlanırlar. Test çizgisinde bu bağlanma sonucu renk değişimi meydana gelir. Renk molekülleri kontrol çizgisine gelerek ordaki sekonder antikorlara bağlanıp birikerek yine renk değişimi meydana gelmektedir. Negatif test sonuçlarında sadece kontrol çizgisinde renk değişimi gözlenirken pozitif sonuçlarda hem test çizgisinde hem de kontrol çizgisinde renk değişimi gözlenir (Akata ve ark., 2014).

Yaptığımız çalışmada katı örneklerin yüzeylerinden swab yöntemi ile örnekler alınırken sıvı gıda örneklerinden ise 1'er ml örnek alınarak çalışıldı. Alınan örnekler fosfat tamponlu tuz çözeltisi içeren tüplere aktarıldı. Tüplere aktarılan örneklerin fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile karışması sağlandı. Tüpler oda sıcaklığında 2 dakika reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon süresi dolduktan sonra tüplerdeki örnek ve fosfat tamponlu tuz çözeltisinden 2 damla (yaklaşık 80µL) test kasetinin numune kuyusuna (S) kabarcık oluşmamasına dikkat edilerek damlatıldı. Test kasetine damlatıldıktan 10-20 dakika sonra sonuçlar değerlendirildi. Bu aşamalar Şekil 3.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3.Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Serolojik Yöntem ile Saptanması (Anonim 3; Anonim 4).

Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin serolojik yöntem ile saptanması için tercih ettiğimiz immünokromotgrafik test kasetlerinin doğrulama çalışması kapsamında norovirüs ve rotavirüs bulaşılı su ile yıkanan marul örnekleri kullanlmıştır.

3.2.2. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Moleküler Yöntem ile Saptanması

Gıdalardaki norovirüslerin ve rotavirüslerin moleküler yöntem ile saptanması amacıyla örnek olarak aldığımız 120 gıda örneğinin virüs saflaştırılması çöktürme ve proteinaz K enzimi kullanılarak yapılan virüs saflaştırma olarak iki farklı yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Her iki virüs saflaştırmasından sonra virüs RNA ekstraksiyonu ve Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) gerçekleştirilmiştir.

Virüs saflaştırma

Gıdaların protein, yağ ve şeker oranlarının farklılıklarına bağlı olarak karmaşık matriks yapıları nedeniyle virüs tanı yöntemleri düşük virüs yoğunluklarında yetersiz kalmaktadır (Hennechart-Collette ve ark., 2017; Var ve Çelik, 2017; Carraturo ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2022; Abbasi ve ark., 2022, Oteiza ve ark., 2022). Bu yetersizlik gıdalarda virüslerin moleküler yöntemler ile tespitinde hatalı sonuçlar alınmasına neden olmaktadır. Hatalı sonuçları önlemek için gıdalarda virüslerin moleküler yöntemler ile tespiti kadar virüs saflaştırma yöntemlerinin de önemi öne çıkmaktadır (Hrdy ve Vasickova, 2022).

Bu saflaştırma yöntemlerinden proteinaz K enzimi virüslerin kapsid yapısını denatüre ederek kapsid içinde bulunan virüs genomlarının ortaya çıkmasını sağlarken, çöktürme ile polietilen glikol virüslere bağlanarak virüslerin gıda matriksinden ayırılıp çökmesi sağlanmaktadır (Gibbons, 2008; Hrdy ve Vasickova, 2022).

Proteinaz K ile virüs saflaştırmasında gıda örnekleri 2.5 g (ml) alınıp 7.5 ml TRIS glycine beef extract tampon çözeltisinde (TGBE, pH 9.5) çözündürülmüştür. Karıştırma işlemi ile TGBE tampon çözeltisinin gıdalar ile iyice temas etmesi sağlanmıştır. Daha sonra karışıma 1.5 mg proteinaz K (ml'sinde 0.2 mg olacak şekilde hazırlanan) eklenmiştir. Elde edilen karışım seramik filtrelerden geçirilerek filtre kağıtları ile süzülmüştür. Süzülmüş karışım 37 ^{o}C'de 15 dakika inkübe edildikten sonra yine 15 dakika buzlu kapta bekletilmiştir. Bekletildikten sonra pH kontrolü yapılmış ve karışıma 12.5 M NaOH çözeltisi eklenerek pH:9.5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu işlemlerden sonra 10 ^{o}C'de 6000 x*g* 45 dakika santrifüj edilmiştir. Santrüfüj sonrası oluşan berrak süpernatant temiz bir ependorf tüpüne aktarılmıştır. Aktarılan karışım virüs RNA ekstraksiyonu için -20 ^{o}C'de saklanmıştır (Hennechart-Collette ve ark., 2017).

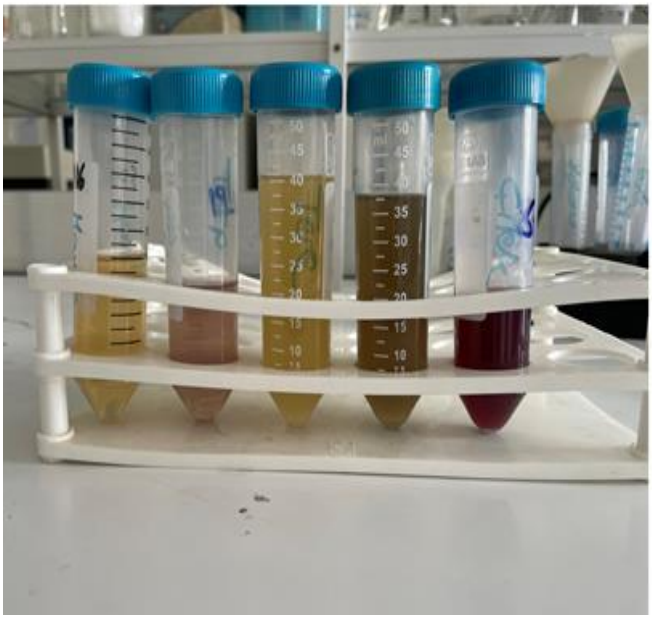
Çöktürme ile virüs saflaştırma için 10 g gıda örneği ile 30 ml TGBE çözeltisi 20 dakika 300 rpm'de oda sıcaklığında karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırıldıktan sonra pH kontrolü yapılmış ve karışım 12.5 M NaOH çözeltisi eklenerek pH:9.5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Karışımlar içindeki gıda kalıntılarının ve tortuların ayrılması için önce seramik süzgeçlerden sonra filtre kağıdından geçirilmiştir. Süzülen karışım 50 ml'lik Falcon tüplerine aktarılmış ve karışım 4.500 x*g* için 30 dakika 10 ^{o}C'de santrüfüj edilmiştir. Berrak süpernatant temiz bir Falcon tüpüne aktarılmıştır. Süpernatantın pH'sının 7.2-7.4'e olabilmesi için 3 M HCl eklenerek pH ayarlaması yapılmıştır. Karışımın %25'i kadar 5 x PEG/NaCl çözeltisi eklenmiştir. Karışım özel karışım düzeneği ile 350 dakika devir sayısında (Revolutions Per Minute-rpm) hızla 4 ^{o}C'de bir gece boyunca buzdolabında inkübasyona bırakılmıştır. Bir gece bekletilen karışım 10 ^{o}C'de 6000 xg hızla 45 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanın ayrılmasından sonra kalan pelet yeniden 10 ^{o}C'de 6000 x*g* hızla 45 dakika santrifüj edilmiştir. Bu santrifüj işleminden sonra kalan kısım 15 ml'lik Falcon tüplerine aktarılmıştır. Aktarılan bu kısım 500 µl PBS ile dikkatli bir şekilde karıştırılmış ve Kloroform/Bütanol (1/1 w/v) eklenmiştir. Oluşan karışım 10 ^{o}C'de 6000 x*g* hızla 45 dakika santrifüj edilmiş ve satrifüj işlemi sonucunda üstte kalan kısım eppendorf tüplerine aktarılarak virüs RNA ekstraksiyonu için -20 ^{o}C'de saklanmıştır (Mäde ve ark., 2013; Hennechart-Collette ve ark., 2017).

Çilek ve böğürtlen örneklerinde virüs saflaştırmalarında pH nötürleşmesi aşamasında, bu gıdaların yüksek su miktarından dolayı pektinler jel oluşturmaktadır. Bu oluşan jel yapısını engellemek için pektinaz enzimi örneklere ilave edilmiştir (Lévesque ve ark., 2021).





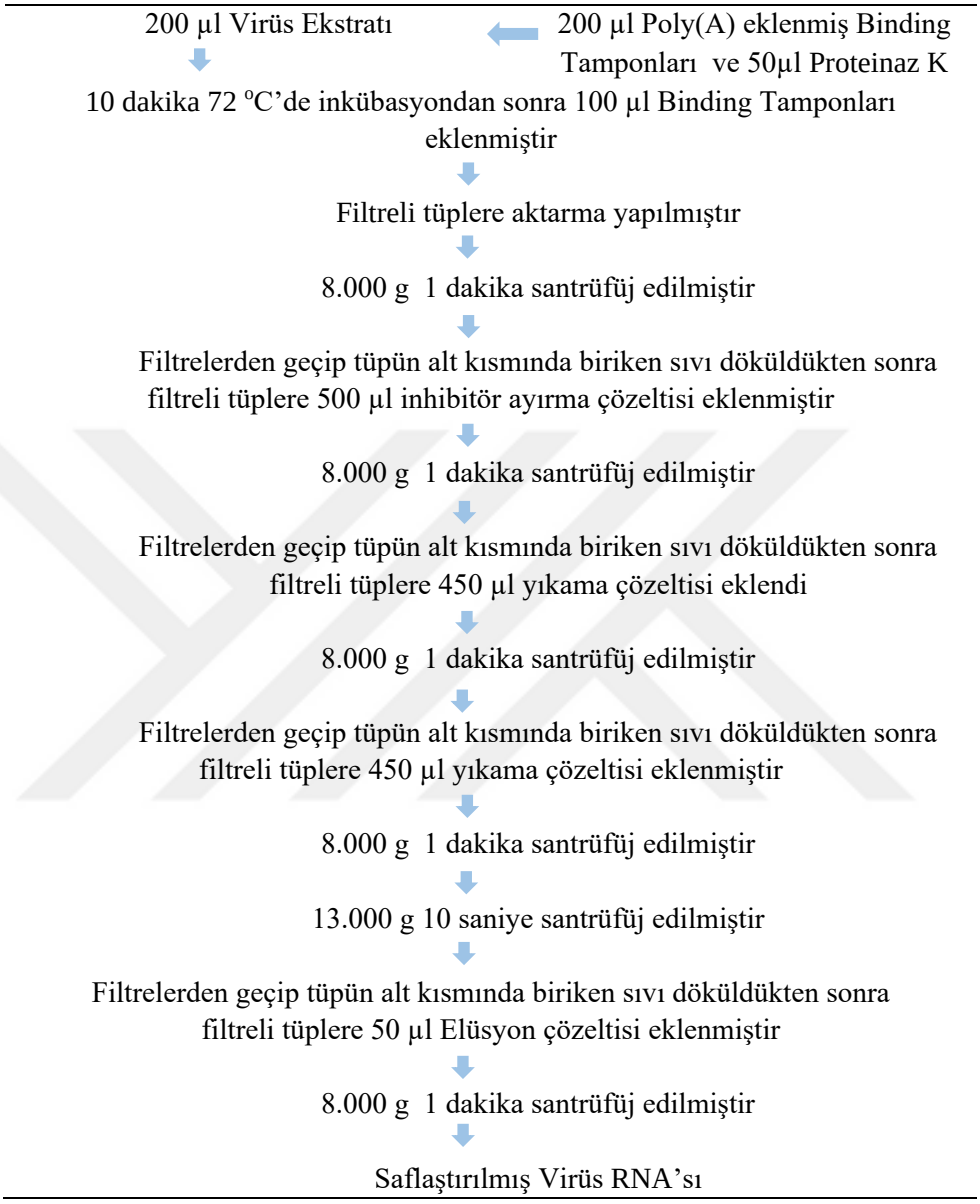




Şekil 3.4. Virüs Saflaştırma Aşamaları

Virüs RNA Ekstrraksiyonu

Çalışmada Virüs RNA ekstraksiyonu için Roche marka Yüksek Saflıktaki RNA izalosyon kitinin belirtilen prosedürü uygulanmıştır. Bu prosedürün aşamaları Çizelge 3.5.'de gösterilmektedir.



Şekil 3.5. Virüs RNA ekstraksiyonu aşamaları



Şekil 3.6. Santrifüjler

Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin RT-PCR ile Saptanması

Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin moleküler yöntem ile saptanması amacıyla Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) metodu kullanılmıştır. Bu yöntem kapsamında Reverse Transcriptase (RT) enzimi kullanılarak norovirüs ve rotavirüs örneklerinden RNA'dan cDNA (comlementary DNA-tamamlayıcı DNA)'lar oluşturularak Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) işlemi gerçekleştirilmiştir. RT-PCR işlemi iki aşamalı olarak gerçekleştirilirmiştir. İlk aşamada RT (Reverse transcription) işlemi cDNA elde etmek amacıyla yapılmıştır (Özçınar, 2020). Şekil 3.7.'de RT-PCR yönteminin RT ve PCR aşamalarının işlem basamakları gösterilmektedir.

RT Aşaması	Her PCR tüpüne, elde edilmiş total RNA' dan 3 µl konulmuştur ↓ Üzerine 2 µl reverse primer ve 10 µl ddH_2O ilave edilmiştir ↓ 95 °C' de 3 dakika bekletilmiştir ↓ Daha sonra tüpler buz üzerine alınmıştır ↓ PCR tüplerine, 3.6 µl saf su, 5 µl RT tampon çözeltisi (250 mM Tris- HCl ↓ (pH 8.3), 250 mM KCl, 20 mM $MgCl_2$, 50 mM DTI), 1 µl dNTP (10 mM), 0.3 µl ↓ RNAse ve 0.1 µl RT enzimi ilave edilmiştir ↓ 42 ^oC ' de 60 dakika inkübe edilmiştir ↓ cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir ↓
PCR Aşaması	10 µl cDNA'lar üzerine 26.5 µl saf su, 5 µl 10X PCR tampon çözeltisi (100 mM) Tris- HCl (pH 8.8),500 mM KCl, % 0.8 Nonidet P40), 3 µl $MgCl_2$ (25mM), 2 µl dNTP (10 mM), 0.5 µl Taq DNA polymerase, 2 µl forward primer ve 1 µl reverse primer ilave edilmiştir ↓ 94 ^oC 'de 4 dakika 1 döngü ↓ 94 ^oC ' de 30 saniye 35 döngü ↓ 56- 62 ^oC ' de 1 dakika 35 döngü ↓ 72 ^oC ' de 2 dakika 35 döngü ↓ 72 ^oC'de 10 dakika 1 döngü

Şekil 3.7. RT-PCR yönteminin RT ve PCR aşamalarının işlem basamakları

Agaroz jel elektroforezi

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile NV ve RV açısından incelenmiştir. Şekil 3.8'de agaroz jel elektroforezi işlem basamakları gösterilmektedir.

100 ml TBE 900 ml distile su seyreltilmiştir

↓

Seyreltilmiş TBE'den 100 ml alınarak 2 gr agaroz ile karıştırılmıştır

↓

Agar 3 defa 30 saniye mikrodalga fırında ısıtılmıştır

↓

Agarın sıcaklığı 60-65 ^{o}C'ye düşmesi beklenmiştir

↓

5 µl etidyum bromid (20 mg/ml) eklenmiştir

↓

Elektroforez tank tablasına taraklar yerleştirilmiştir

↓

Agar tablaya dikkatli bir şekilde dökülmüştür

↓

10-15 dakika agarın katılaşması ve 24 ^{o}C'ye gelmesi beklenmiştir

↓

Taraklar dikkatlice alınıp tabla tank içerisine kuyucuklar (-) kutba gelecek biçimde yerleştirilmiştir

↓

TBE eklenmiştir

↓

Ependorf tüplerine

2 µl Loading (Thermo Scientific, USA) dye + 10 µl PCR ürünü

eklenip kuyucuklara dağıtılmıştır

↓

İlk kuyucuğa 6 µl 50 bp'lik DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, USA) yüklenmiştir

↓

100 V akım verilmiştir

↓

45 dakika sonra MiniBİS jel görüntüleme sistemi ile görüntüleme yapılmıştır

Şekil 3.8.Agaroz Jel Elektroforezi İşlem Basamakları

3.2.3. Kullanılan Metotların Performansının Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan metotların performansını belirlemek için geri kazanım işlemi kullanılmıştır. Geri kazanım işlemi orantılı sistematik hata saptanmasında kullanılan bir çalışmadır. Esas olarak ölçüm materyaline eklenen analitin saptanmasına dayanır ve yüzde (%) olarak ifade edilir. İdeal değer %100 olup farklı bir oran belirlenmesi durumu metotlarda hata yapıldığının göstergesidir (Yücel, 2014). Çalışmamızda geri kazanım işlemi kullanılmış ama metotların özelliklerinden dolayı geri kazanım oranı belirlenememiştir.

Çalışmada kullanılan metotların performansını belirlemek amacıyla marul örneğine 10^9 genomik kopya/ml'den fazla NV ve RV inoküle edilmiştir. Geri kazanım işlemi için marul örneğine inoküle edilen NV ve RV, hem immünokromotgrafik hızlı test kasetleri hem de RT-PCR ile analize alınmıştır. RT-PCR yönteminden önce çöktürme ile virus saflaştırma ve RNA ekstraksiyonu uygulanmıştır. Çalışmada inoküle edilen gün 0. gün olarak kabul edilmiştir. Marul örnekleri 24 ^oC'de muhafaza edilmiş ve her gün NV ve RV izolasyonu için çalışmalar sürdürülmüştür. İki tekerrürlü olarak yapılan bu çalışma marul örneğinde NV ve RV saptanamadığı güne kadar devam ettirilmiştir (Escudero ve ark., 2012).

3.2.4. Çeşitli Dezenfektanların Gıda ve Gıda ile Temas Eden Yüzeylerde Norovirüsler ve Rotavirüsler Üzerindeki Antimikrobiyel Etkisi

Çeşitli dezenfektanların gıda ve gıda ile temas eden yüzeylerde norovirüs (NV) ve Rotavirüs (RV) üzerine antimikrobiyel etkisini belirlemek amacıyla 1000 ml virüs yoğunluğu 10^9 NV ve RV genomik kopya/ml bulunan su ile 1 dakika yıkanmış marul, cam tabak ve plastik eldiven kullanılmıştır. Norovirüs ve rotavirüs bulunan su ile yıkanmış marul, cam tabak ve plastik eldiven Çizelge 3.8'de isimleri, kodları ve özellikleri verilmiş olan 1000 ml D-1, D-2, D-3, D-4 ve D-5 dezenfektanlarının 1 dakikalık yıkama işleminden sonra NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkileri tespit edilmiştir. Tespit işleminde yüzey örnekleri marul, cam tabak ve plastik eldiven yüzeylerinin 100 cm^2'lik alanlarından eküvyon ile alınıp 1 ml'lik PBS bulunan tüplere yerleştirilmiştir. Tüplerdeki örneklerde immünokromotgrafik hızlı test kasetleri ve Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) ile NV ve RV tespit işlemi gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

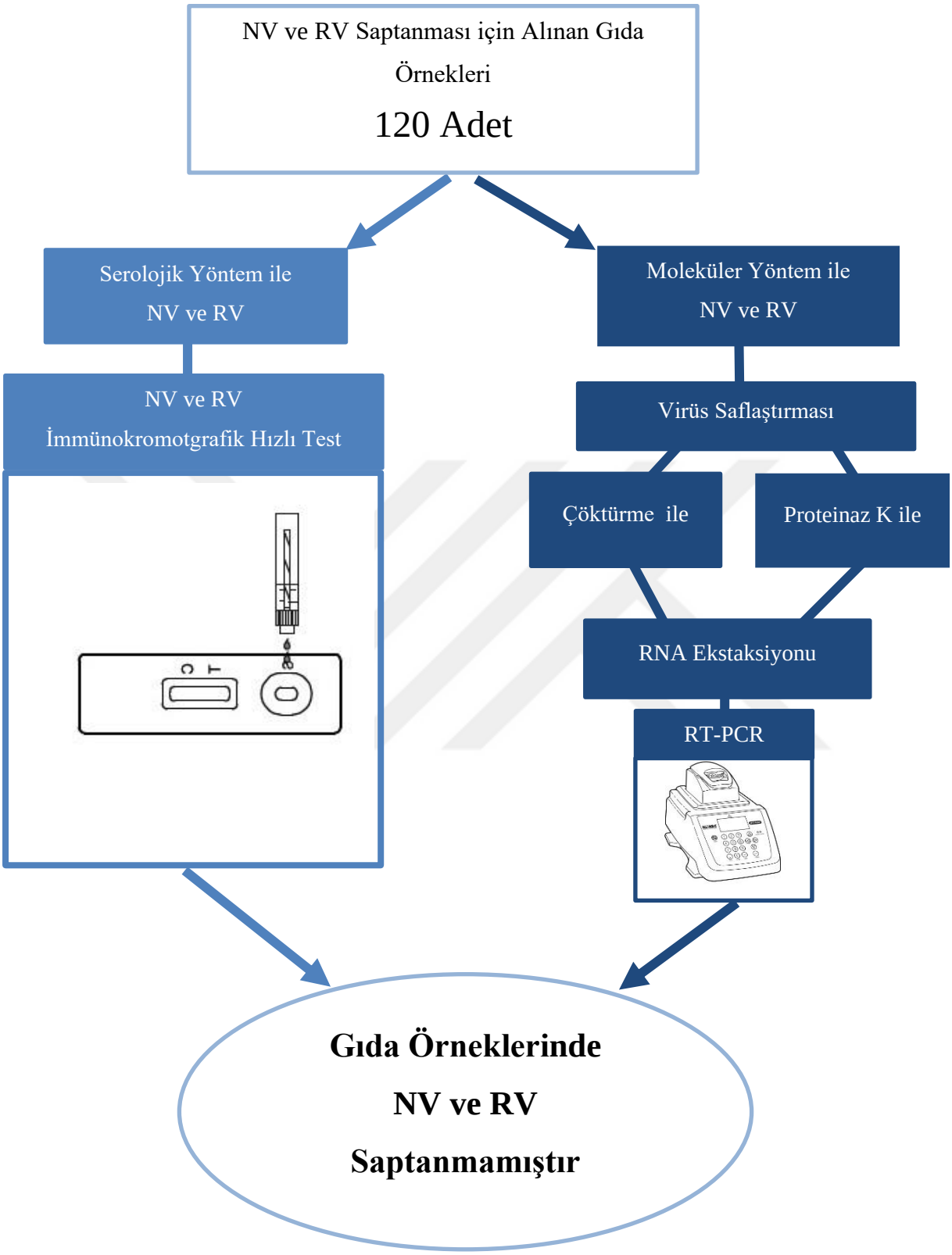
Bu çalışmada, gıda kaynaklı gastroenterit rahatsızlıkların bakteri kökenli olduğu gibi virüs kökenli de olabileceği anlayışı ile halk sağlığını tehdit eden NV ve RV'nin çeşitli gıdalardaki varlığı araştırılmıştır. Bu kapasamda gıda örnek grupları Sistematik Derleme ile belirlenmiş ve bu gıda gruplarına göre bölgemizde tüketilen gıdalar ve yöresel ürünler gıda örneği olarak kullanılmıştır.

Rahnama ve ark. (2023) gıdalardaki *Bacillus cereus* bulaşı riskini göstermek istedikleri çalışmalarında, Sistematik Derleme yöntemi ile riskli olabilecek gıda gruplarını belirlemek için PubMed, Scopus, and Science Direct veri tabanlarında *Bacillus cereus* ile ilgili 6035 araştırma makalesini incelemişler ve 97 gıda örneğini saptamışlardır. Okumuş (2023) gıdalardaki NV salgın risklerine karşı gelecekteki çalışmalara yardımcı olmak ve öneriler sunmak için sistematik derleme çalışması yapmıştır. Çalışmalarında Google Scholar veri tabanında "Norovirus", "Food", "Outbreak" arama kriterleri ile 134 araştırma makalesi incelemişlerdir.

Çalışmamızda ise Google Scholar, Science Direct ve Pudmed veri tabanlarından "Norovirus Foodborne Outbreak" ve "Rotavirus Foodborne Outbreak" anahtar kelimeleri ile 1200 araştırma makalesine ulaşılmış ve incelemeler sonrası bu makalelerin 337'sinin özgün çalışma olarak nitelendirdiğimiz çalışmaları içerdiği tespit edilmiştir.

Yapılan incelemeler sonucunda, NV ve RV bulaşısı muhtemel gıda grupları olarak sebzeler, et-tavuk-su ürünleri, orman meyveler, dondurulmuş gıdalar, su-buz ve meyve suları ve fırın ürünleri belirlenmiştir.

Çalışmada serolojik yöntem ve molekükler yöntem ile NV ve RV saptanması amacıyla marul, salatalık, dereotu, nane, ıspanak, maydanoz, yeşil soğan, kırmızı biber, turp, tere, domates, havuç, mevsim salata, soğan salatası, ezme salatası, pişmiş soğan, kıyma, tavuk göğüsü, tavuk budu, çiğ balık, taze çilek, dondurulmuş çilek, taze böğürtlen, dondurulmuş böğürtlen, şebeke suyu, bici-bici tatlısı, havuç suyu, portakal suyu, dondurulmuş ıspanak, dondurulmuş mısır, dondurulmuş bezelye, dondurulmuş barbunya, çiğ süt, peynir, tereyağı, yoğurt, ekmek, simit, poğaça, pide olarak çalışılan 120 örneğin hiç birinde risk oluşturacağı düşünülen RV ve NV virüsleri tespit edilememiştir. Çalışılan toplam 120 gıda örneğindeki serolojik ve moleküler yöntemler ile elde edilen NV ve RV varlığının sonuçları Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Gıda örneklarinde NV ve RV varlığının serolojik ve moleküler yöntemler ile elde edilen sonuçları

4.1. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Serolojik Yöntem ile Saptanması

Çalışmamızda immünokromtografik hızlı test kasetlerini sebzeler, et, tavuk, su ürünleri, orman meyveler, su-buz ve meyve suları, dondurulmuş ürünler, süt ve süt ürünlei, fırın ürünleri gıda gruplarına dahil 120 gıda örneğinde NV ve RV tespit edilmek amacıyla kullanılmış ve gıda örneklermizin hiçbirinde NV ve RV'ye ratlanmadığı görülmüştür.

Bu metodun kullanıldığı farklı amaçlarla yapılmış olan çalışmalara bakıldığında;

Zeng ve ark. (2021) çalışmalarında çeşitli gıda örneklerine inoküle ettikleri *Pseudomonas aeruginosa*'un en düşük tespit sınırlarını belirlemek için immünokromtografik hızlı test kasetlerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda en düşük tespit limitleri şebeke suyunda 1.23×10^5 CFU, portakal suyunda 1.25×10^5 CFU, sütte 2×10^7 CFU ve dana etinde 4×10^6 CFU olarak belirlenmiştir.

Shang ve ark. (2021) ise *Salmonella* Typhimurium üzerine benzer bir çalışma yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada immünokromtografik hızlı test kasetleri ile şebeke suyunun 10^3 CFU/ml, portakal suyu 10^4 CFU/ml, marul 10^4 CFU/ml ve tavuk etinde 10^5 CFU/ml gıda örneklerinde *Salmonella*'nın en düşük tespit sınırını belirlemişlerdir.

Orlov ve ark. (2022) mısır ununda immünokromtografik hızlı test kasetleri ve manyetik parçacıklar kullanarak okratoksin A mikotoksinini belirlemek için geliştirdikleri yöntemlerinde en düşük tespit miktarını 0.011 ng/ml olarak belirlemişlerdir.

4.2. Gıdalardaki Norovirüslerin ve Rotavirüslerin Moleküler Yöntem ile Saptanması

Yapılan çalışmada gıdalardaki moleküler yöntem ile norovirüs (NV) ve rotavirüs (RV) saptanması için 120 gıda örneği çöktürme ile virüs saflaştırma ve proteinaz K ile virüs saflaştırma olarak iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile çalışılmıştır. Her iki virüs saflaştırma yönteminden sonra virüs RNA ekstraksiyonu için Roche marka yüksek saflık RNA izalosyon kiti kullanılmıştır. RNA ekstraksiyonundan sonra NV ve RV Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) ile moleküler olarak saptanması için çalışılmıştır.

Çalışmamızda sebzeler, balık ve su örneklerimizin yanı sıra Adana ilinde çok tercih edilen Adana kebabının yanında gelen mevsim salata, soğan salatası, ezme salata ve pişmiş soğan salatası da gıda örneği olarak alınmış ve bu örnklerde de NV ve RV'ye bu yöntemle de rastlanmamıştır.

Hidayah ve ark. (2011) 30 yeşil soğan ve 30 kırmızı soğan örnekleriyle yaptıkları çalışmada örnekler RT-PCR ile NV bakımından incelenmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda yeşil soğan örneklerinin 4'ünde ve kırmızı soğan örneklerin 1'inde NV tespit etmişlerdir.

Somura ve ark. (2019) ise Tokyo'da yaptıkları çalışmada 232 ısıtılmış hazır yiyecek, 63 taze sebze ve meyve (turşu, sebze salatası dahil), 43 taze veya az pişmiş balık (sashim, suşi malzemeleri, somon füme, kurutulmuş somon, marine edilmiş uskumru dahil) ve iki buz örneğinde

NV aramışlar ve bir moleküler yöntem olan Reel Time RT-PCR ile yatıkları çalışmada örneklerde NV'e rastlamamışlardır.

Enül (2021) yaptığı çalışmada RT-PCR metodu ile İstanbul'un çeşitli bölgelerinden topladığı 105 kırmızı et ürünlerini (sucuk, köfte vs.), beyaz et ürünlerini (jambon, kanat vs.) ve deniz ürünlerini (midye, kalamar, donmuş balık, işlenmemiş balık) içeren gıda örneklerinde rotavirüs aramışlar ve sadece 2 midye örneğinde rotavirüsü tespit etmişlerdir.

Suresh ve ark. (2019) çöktürme ile virüs saflaştırma yöntemini kullanarak NV geri kazanımlarını gözlemlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; fesleğen, nane, ıspanak ve deniz yosunu örnekleri alınmış ve NV geri kaznımları tüm gıda örneklerinde %10'un altında kalmıştır.

Emilse ve ark. (2021) Arjantin'de yaptıkları çalışmada çöktürme ile virüs saflaştırma yöntemi ile yaptıkları çalışmada 24 su örneğin 9'unda NV, 5'inde RV, 76 marul örneğinin 43'ünde NV, 17'sinde RV ve 25 hindiba örneğinin 18'inde NV, 6'sında RV tespit etmişlerdir.

Oteiza ve ark. (2022) Arjantin'de çilek, yaban mersini, ahududu, böğürtlen, kuş üzümü, nar taneleri, siyah frenk üzümü ve mürver gıda örneklerinin bulunduğu 184 örnekte NV ve RV'i çöktürme ile virüs saflaştırma yöntemi ile saptanmaya çalışmışlardır. Yapılan çalışma sonucu 1 ahududu örneğinde NV tespit etmişlerdir.

Proteinaz K ile virüs saflaştırma yöntemini kullandıkları çalışmalarında, Hennechart-Collette ve ark. (2017) süt ve peynir örneklerine inoküle ettikleri NV genomlarının geri kazanım oranlarını değerlendirmişler ve inoküle ettikleri NV miktarı ile geri kazanım olarak tespit edebildikleri NV miktarı arasındaki oranı ekstraksiyon verimi olarak ifade ederek sütlerde %73 ve peynirde %65 ortalama ekstraksiyon verimi aldıklarını bildirmişlerdir.

Zhang ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada midya örneklerin inoküle ettikleri 2 µl'de 7.92×10^6 kopya NV'yi proteinaz K ile virüs saflaştırma ve reel time RT-PCR ile geri kazanım oranını belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda proteinaz K ile virüs saflaştırma yöntemi kullanılarak geri kazanım oranının %5 olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan tüm çalışmalar gösteriyor ki gıdalarda NV ve RV başta olmak üzere bir çok gıda virüsünün analizinde gıdaların protein, yağ ve karbonhidratoranlarının farklılıklarına bağlı olarak karmaşık matriks yapıları nedeniyle virüs tanı yöntemleri düşük virüs yoğunluklarında yetersiz kalmaktadır (Hennechart-Collette ve ark., 2017; Var ve Çelik, 2017; Carraturo ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2022; Abbasi ve ark., 2022, Oteiza ve ark., 2022).

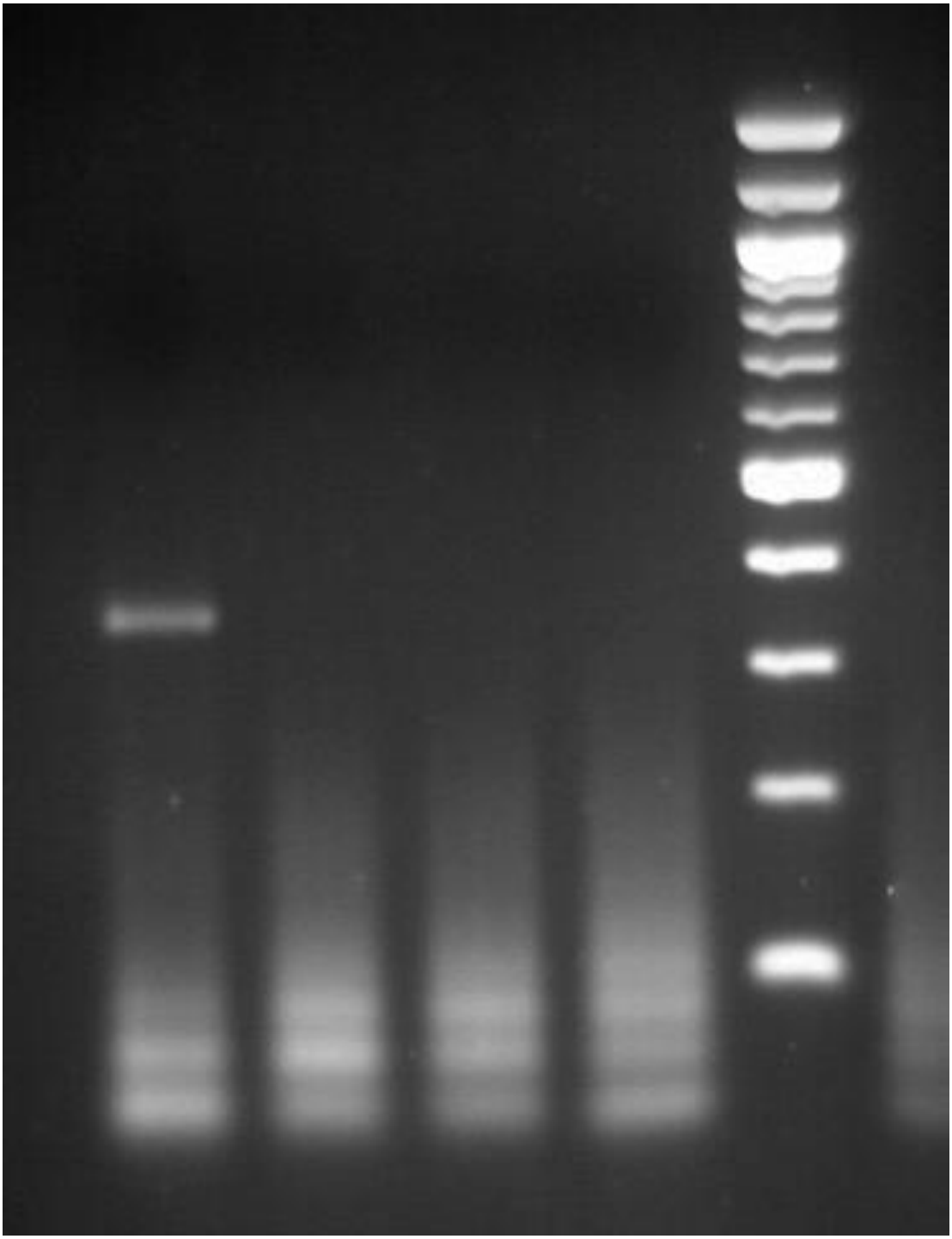
İmmünokromtografik hızlı test kasetleri yerine genel olarak Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PCR) tercih edilse de PCR analizlerinin yüksek maliyetli olması, analiz sürelerinin uzunluğu, analiz prosedürlerini uygulayacak nitelikte uzman personelin bulunamayışı gibi dezavantajları olduğundan immünokromotografik test kasetleri ön plana çıkmaktadır (Zeng ve ark., 2021). Fakat moleküler yöntemde olduğu gibi serolojik yöntemlerde de NV ve RV tanı yöntemlerinde bu virüslerin gıdalarda düşük yoğunluklu olmaları durumunda yine bu virüslerin

saptanmasında yetersiz kalmaktadır (Hennechart-Collette ve ark., 2017; Var ve Çelik, 2017; Carraturo ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2022; Abbasi ve ark., 2022, Oteiza ve ark., 2022).

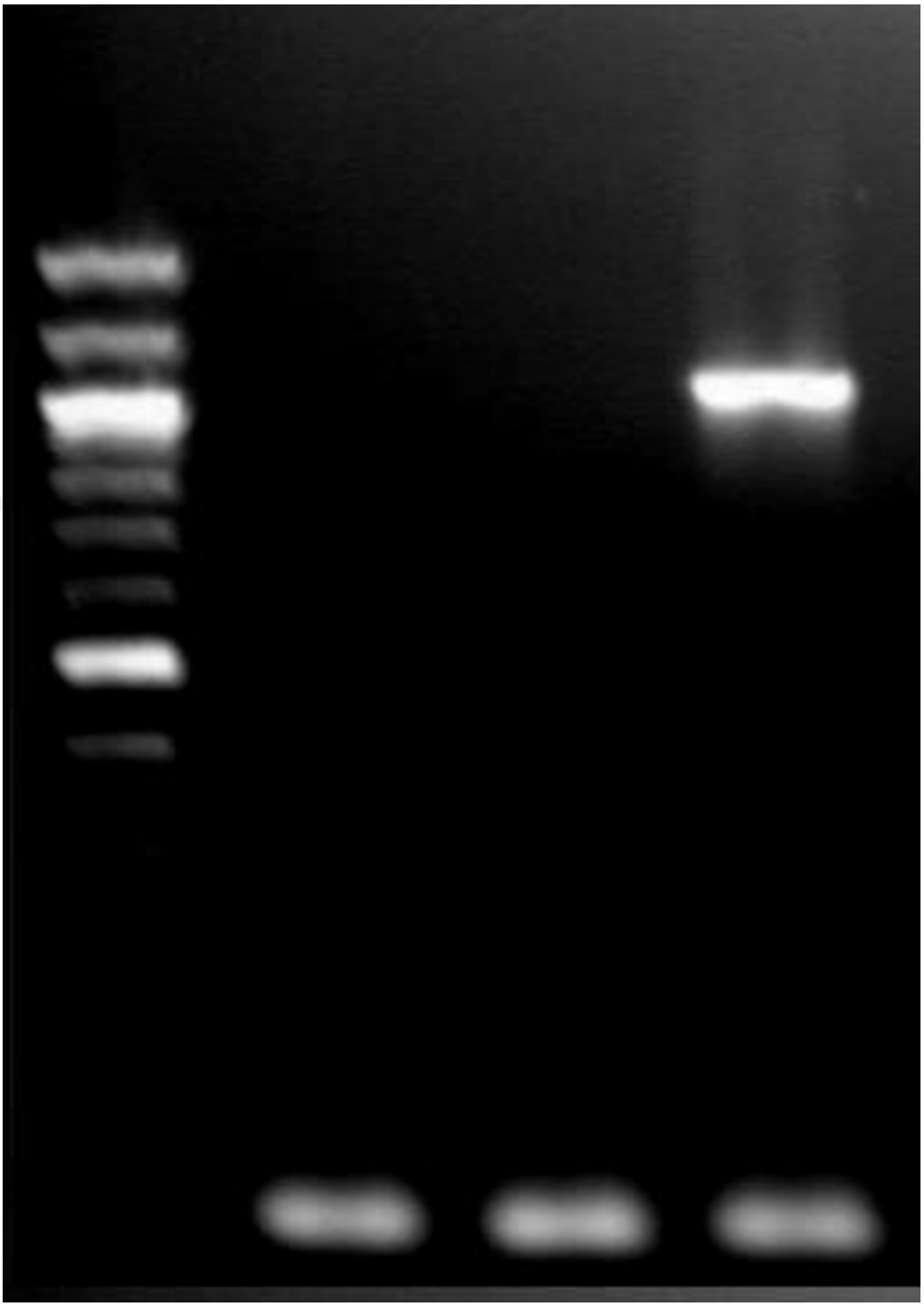
Virüslerin gıdalardaki bulaşılarını tespit etmek için çeşitli yöntemler de geliştirilmektedir. Suzuki ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada Norovirüs bulaşışının tespitinde Bioluminescent Enzyme Immunoassay (EIA) yöntemini geliştirerek hem PCR hem de immünokromotgrafik yöntemlere alternatif bir yöntem geliştirdiklerini belirtmişlerdir. Alhadrami ve ark. (2020) geliştirdikleri Sandviç İmmünolojik Test Tekniği ile genel bir bağlayıcı ajan olarak Laktoferrin ile immobilize edilmiş Q-tips pamuklu çubukları ve spesifik bir bağlayıcı ajan olarak ikincil bir antikor ile kaplı altın nanoparçacıklarını kullanarak salatalık, marul ve tavuk eti gibi gıda örneklerinde NV ajanlarını kolayca tespit ettiklerini belirtmektedir. Chung ve ark. (2021) ise geliştirdikleri immünokromotgrafik yöntemde akıllı telefon temelli bir floresans mikrokopu yardımıyla sularda NV antiko-antijen bağlamını 20 dakikadan az sürede tespit etme analizini yapabileceklerini belirtmişlerdir.

4.3. Kullanılan Metotların Performansının Değerlendirilmesi

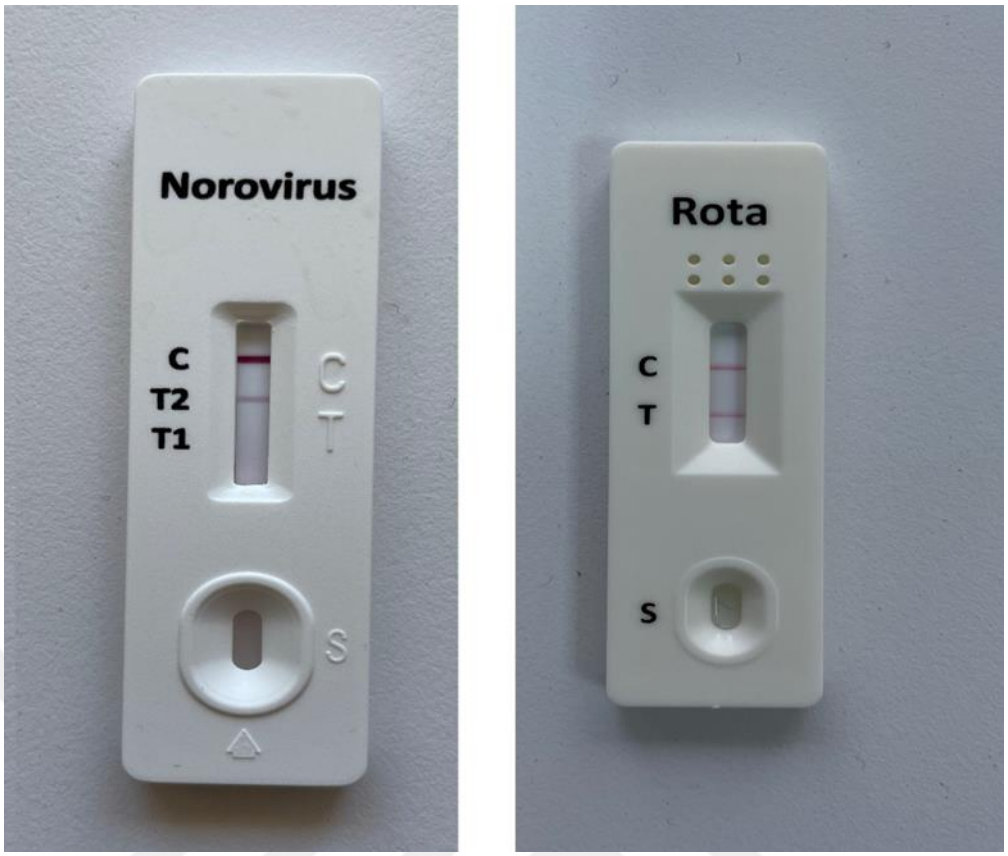
Çalışmamızda kullanılan metotların performansları olanaklar ölçüsünde yapılmış olup var ya da yok olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, salgınlarda en çok rapor edilen gıda olan marul örnekleri tercih edilmiş ve 10^9 genomik kopya/ml NV ve RV inokülasyonu yapılan marul örnekleri 24 ^oC'de muhafaza edilmiş, 0.gün, 1.gün, 2.gün ve 3. gün sürelerinin sonunda çöktürme ile virüs saflaştırma ve RNA ekstraksiyonu işlemleri uygulanmış NV ve RV izolasyonları immünokromotgrafik hızlı test kasetleri ve RT-PCR ile gerçekleştirilmiştir. İki tekerrür olarak yürütülen bu çalışmada, 0.gün, 1.gün, 2.günün sonunda NV ve RV marul örneklerinde tespit edilirken, 3. günde herhangi bir virüsle karşılaşılmamıştır. Bu nedenle geri alma analizlerine devam edilmemiştir. Üçüncü günün sonunda virüslerin tespit edilememesi ortamda serbest halde bulunan virüslerin yoğunluğunun azalmasını düşündürtmüştür. Wu ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada gıdalarda düşük virüs yoğunluğunda tanı yöntemlerinin performanslarının yetersiz olduğunu belirtmektedirler. Bu yetersizlik dikkate alınarak çalışmamızda kullandığımız metotların performansı değerlendirilmiştir. Şekil 4.2'de NV ve Şekil 4.3'de RV RT-PCR ile ve Şekil 4.4.'de NV ve RV immünokromtografik hızlı test kasetleri ile elde edilen pozitif sonuçlar verilmiştir.



Şekil 4.2. Marul Örneğinde RT-PCR ile Norovirüs Pozitif Sonuçlar



Şekil 4.3. Marul Örneğinde RT-PCR ile Rotavirüs Pozitif Sonuçlar



Şekil 4.4. Marul Örneğinde İmmünokromtografik Hızlı Test Kasetleri ile NV ve RV Pozitif Sonuçlar

Geri kazanım işlemleri sonucu çalışmamızda kullandığımız her iki metodun performansının da marul örneklerine inoküle edilen yüksek virüs yoğunluklarında etkili olduğu belirlenmiştir. Mäde ve ark. (2013) çilek örneklerine inoküle ettikleri 10^5 plak oluşturan birim yoğunluğunda 10 µL *E.coli*'yi etkileyen MS2 bakteriyofajınının etkisine bakmışlar ve çalışmalarında çöktürme ile virüs saflaştırma ve reel time RT-PCR'ı kullanmışlardır. Araştırmacılar, geri kazanım oranlarının %0-1 arasında olduğunu ve gıdaların karmaşık yapısından dolayı bu oranın düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Hennechart-Collette ve ark. (2021) ise gıdalarda çöktürme ile virüs saflaştırma ve reel-time RT-PCR ile virüs tespiti için 8 ıspanak, 8 somonlu ıspanak salatası ve 8 etli sulu yemek örneklerine 1.30×10^7 NV genomik kopya/ml inoküle etmişler ve her bir örneğin ortalama geri kazanım oranlarını belirlemişlerdir. Çalışmalarında 8 ıspanak örneğinde ortalama %96.75, 8 somonlu ıspanak salatası örneğinde ortalama %84.56, 8 etli sulu yemekte ortalama %84.29 geri kazanım oranlarını belirlemişlerdir. Çalışmaları sonucunda çöktürme ile virüs saflaştırma ve reel-time RT-PCR ile virüs tespiti yöntemlerinin gıdalarda yüksek virüs yoğunluklarında etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Scherer ve ark. (2009) çeşitli gıdaların yüzeylerine NV ve RV inoküle edip geri kazanım oranlarını belirledikleri çalışmalarında; biber, salatalık, elma, salam ve jambon gıda örneklerinin yüzeylerine 2.0 x 10^5 RT-PCRU/10 cm² ve 2.0 x 10^4 RT-PCRU/10 cm^2 olmak üzere NV ve 2.0 x 10^4 RT-PCRU/10 cm² ve 2.0 x 10^3 RT-PCRU/10 cm^2 olmak üzere RV inoküle edilmiştir. Çalışmada yüzeylere inoküle edilen 2.0 x 10^5 RT-PCRU/10 cm² NV geri kazanımları salatalıkta %77.9, salamda

%48.3, elmada %38.6, biberde %22.2, jambonda %1.5 olarak bulunmuştur. Yüzeylere inoküle edilen 2.0 x 10^4 RT-PCRU/10cm^2 NV geri kazanımını ise salatalıkta %31.6, salamda %48.3, elmada %23.8, biberde %20.5, jambonda %2.4 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada yüzeylere inoküle edilen 2.0 x 10^4 RT-PCRU/10 cm^2 RV geri kazanımları salatalıkta %28.6, salamda %42, elmada %31.4, biberde %8, jambonda %19.9 olarak bulunmuştur. Yüzeylere inoküle edilen 2.0 x 10^3 RT-PCRU/10cm^2 RV geri kazanımı ise salatalıkta %15.1, salamda %28.7, elmada %15.3, biberde %10, jambonda %14.8 olduğunu tespit etmişlerdir.

Alhadrami ve ark. (2020) çalışmalarında, kendilerinin geliştirdiği serolojik yöntemi kullanarak marul, salatalık ve tavuk örneklerine 10^5 plak oluşturan ünite/ml NV inoküle etmişler ve geliştirdikleri yöntemin virus geri alımında başarılı olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmalar ve çalışmamız değerlendirildiğinde gıdalarda virüs tanı yöntemlerinin yüksek virüs yoğunluklarında etkili olduğu görülmektedir. Fakat geri alma çalışmamızda marul örneklerine 10^9 genomik kopya/ml NV ve RV gibi yüksek yoğunlukta NV ve RV inoküle edildiği halde 3. günün sonrasında NV ve RV'nin saptanamadığı görülmüştür.

Bu konuda yapılan bir çalışmaya baktığımızda; Escudero ve ark., (2012) geri kazanımları belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, marul örneklerine 10^4 genomik kopya NV inoküle etmişlerdir. 4 ^oC ve 22 ^oC'de muhafaza edilen marul örneklerinde 14 gün boyunca her gün reel time RT-PCR ile NV tespiti analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmaları sonucunda marul örneklerine aşılanan 10^4 genomik kopya NV'nin, 4 ^oC'de 3.gün ve 22 ^oC'de 2.gün içinde 3.5 log_{10} genomik kopya azaldığını tespit etmişlerdir.

Verhaelen ve ark. (2012) da yaptıkları geri alma çalışmalarında çilek örneklerine 10^4 NV genomik kopya/100 µl inoküle edip 21 ^oC'de 3 gün bekletmişlerdir. Süre sonunda inoküle edilen 10^4 NV genomik kopya/100 µl miktarında azalma meydana geldiğini ve 10^3 NV genomik kopya/100 µl'e düştüğünü belirtmişlerdir.

Bir başka çalışmada, Wu ve ark. (2023) marul örnekleri 10^3 PFU/yaprak NV inoküle edilerek sulanmış ve 1.gün sonunda inoküle edilen 10^3 PFU/yaprak NV'nin 10^2 PFU/yaprak NV'ye düştüğü gözlenmiştir.

Marul yapraklarının yüzeyinin karmaşık mikro ölçekli topografik yapıya sahip olması ve bu yapıda bulunan hidrofobik kütikülün zamanla kalınlaşarak virüsleri hapsetmesi sonucu düşük virüs yoğunluklarında NV ve RV saptanmasında tanı yöntemlerinin performansı yetersiz kalabilmektedir (Wu ve ark., 2023).

Marul yapraklarında bulunan hidrofobik kütikül, NV ve RV'nin polar olmayan kapsid proteinleri ile etkileşime girerek NV ve RV'yi marul örneklerine bağlamaktadır (Samandoulgou ve ark., 2015). Marul yapraklarının yüzeylerinin hidrofobikliği norovirüslerin ve rotavirüslerin bu yerlere yapışmasında önemli bir rol oynayıp bu virüslerin yıkamaya karşı dirençli bir mekanizma ile marul yapraklarına tutunmasını sağlamaktadır. Bu tutunma nedeniyle NV ve RV marullarda düşük virüs yoğunluklarında saptanamamaktadır (Gandhi ve ark., 2010).

Norovirüs ve rotavirüs gibi enterik virüsler, konakçının dışında, gıda işleme ve depolama koşulları altında yapılarını koruyabilmektedir (Lamhoujeb ve ark., 2008). Konakçı dışına çıktıklarında bu virüsler inert parçacıklar olduğundan, gıdalar aracılığı ile insandan insana bulaşırken bu virüslerin gıdalardaki kalıcılığı gıdaların yapısına bağlıdır (Sánchez ve Bosch, 2016).

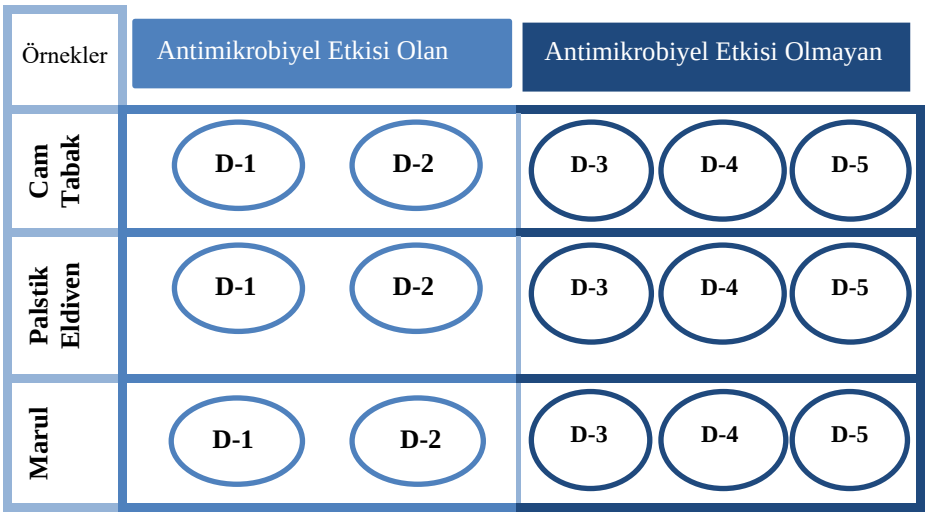
Başlangıç virüs yoğunluklarının gıda matriksleri ve gıdanın yapı ve bileşimleri açısından azalmasını araştıran çalışmalardan birinde; Gandhi ve ark. (2010) marul örneklerine Norovirüs kapsid benzeri proteinlerin adsorpsiyonunda marulun damarlı yapılarının etken olduğunu ve bu yapı içinde norovirüsün birikerek yapıştıklarını göstermişlerdir.

Trudel-Ferland ve ark. (2021) geri kazanım çalışmalarında çilek, hindi füme, yağsız hindi füme, jambon ve cheddar peynirine 2 x 10^7 PFU/ ml NV inoküle etmişlerdir. Çalışma sonucunda geri kazanım oranları çilekde %9, hindi fümede %68, yağsız hindi fümede %38, jambonda %50 ve cheddar peynirinde %52 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, Trudel-Ferland ve ark. (2021) gıdaların farklı pH'larda olması durumunda geri kazanımların değerlendirilmesi için pH:7 ve pH:4 değerlerinde çalışmayı kurgulamışlardır. Sonuç olarak geri kazanım oranları çilek için pH:7'de %7 iken pH:4'de %4, hindi füme için pH:7'de %34 iken pH:4'de %6 ve cheddar peyniri için pH:7'de %43 iken pH:4'de %9 olduğu görülmüştür.

Leong ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada fekal buzağı serumuna inoküle ettikleri 6 x 10^5 RV plak oluşturan ünitenin üç saat içinde pH:3.6'da %98 oranında azaldığı fakat pH:7.4'de azalma olmadığını gözlemlemişlerdir.

4.4. Çeşitli Dezenfektanların Gıda ve Gıda ile Temas Eden Yüzeylerde Norovirüsler ve Rotavirüsler Üzerindeki Antimikrobiyel Etkisi

Çeşitli dezenfektanların gıda ve gıda ile temas eden yüzeylerde norovirüs (NV) ve rotavirüs (RV) üzerine antimikrobiyel etkisini belirlemek amacıyla 1000 ml virüs yoğunluğu 10^9 NV ve RV genomik kopya/ml bulunan su ile 1 dakika yıkanmış marul, cam tabak ve plastik eldiven kullanılmıştır. Norovirüs ve rotavirüs bulunan su ile yıkanmış marul, cam tabak ve plastik eldiven Çizelge 3.8.'de isimleri, kodları ve özellikleri verilmiş olan 1000 ml D-1, D-2, D-3, D-4 ve D-5 dezenfektanlarının 1 dakikalık yıkama işleminden sonra NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkileri tespit edilmiştir. Tespit işlemi marul, cam tabak ve plastik eldiven yüzeylerinin 100 cm^2 'lik alanlarından alınan örnekler ile immünokromtografik hızlı test kasetleri ve Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar Şekil.4.5. 'de gösterilmektedir.



Şekil 4.5. Çeşitli Dezenfektanların Gıda ve Gıda ile Temas Eden Yüzeylerde Norovirüsler ve Rotavirüsler Üzerindeki Antimikrobiyel Etkisi

Şekil 4.5'den de görüleceği gibi marul, cam tabak ve plastik eldiven yüzeylerindeki NV ve RV üzerine D-1 (%10 sodyum hipoklorit) ve D-2 (%1 sodyum hipoklorit) dezenfektanlarının antimikrobiyel etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra çalışmamızda kullanmış olduğumuz D-3 (% 0.0015 hipokloröz), D-4 (metilizotiazolinon içeren deterjan) ve D-5 (%65 etil alkol) dezenfektanlarının hiçbir antimikrobiyel etkisi olmadığı gözlenmiştir.

Lee ve ark. (2018) sodyum hipokloridin 100, 500, 700 ve 1000 ppm arası çözeltilerinin gıda ile temas eden cam, paslanmaz çelik, ahşap, plastik yüzeylere inoküle edilen NV genomları üzerine antimikrobiyel etkisini inceledikleri çalışmalarında, sodyum hipokloridin 700 ppm ve 1000 ppm çözeltilerinin NV üzerine antimikrobiyel etkisini gözlemlemişlerdir. Yapıltığımız çalışmada da ev koşullarında sıklıkla kullanılan oranlar olan %1 ve %10 sodyum hipoklorid oranlarının NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisininin olması Lee ve ark. (2018) yaptıkları çalışma ile birlikte değerlendirildiğinde benzerlik gözlenmiştir.

Escudero-Abarca ve ark. (2022) paslanmaz çeliğe inoküle ettikleri 7 $\log_{10}$ NV genomik kopya/µL üzerine antimikrobiyel etkisini belirlemek istedikleri çalışmada 5000 ppm (%0.5) sodyum hipoklorit kullanılmış ve başlangıç NV miktarının dezenfektanın etkisiyle 4.5 $\log_{10}$ NV genomik kopya/µL düşüş olduğu belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada sodyum hipokloridin %1 ve %10 oranları NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkide bulunmaktadır.Fakat Escudero-Abarca ve ark. (2022) çalışmalarında da belirtikleri gibi sodyum hipokloritin % 0.02'den fazlası insan sağlığına zarar vermektedir. Bu nedenle sodyum hipokloridin hem virüslere antimikrobiyel etkisinin olduğu hem de insan sağlığına zararlı olmadığı oranların kapsamlı çalışmalar ile belirlenmesi gerekliliği görülmüştür.

Gıda ve gıda ile temas eden yüzeyler için kullanılan klor içerikli dezenfektanlar özellikle enterik virüslere karşı etkili bir antimikrobiyeldir. Klor içerikli dezenfektanlardan da sodyum hipoklorit ve hipokloröz asitin genel olarak gıda ve gıda ile temas eden yüzeyler için önerilmektedir. (Block ve Rowan, 2020; Gobeil ve ark. 2022).

Park ve ark. (2007) çalışmalarında hipokloröz asitin 20 ile 200 ppm aralığındaki tüm konsantrasyonlarının çelik ve seramik yüzeylere inoküle edilen 6 $\log_{10}$ RT-PCR ünitesi/ml NV'nin 3 $\log_{10}$ RT-PCR ünitesi/ml NV'ye kadar inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda kullanılan D-3 dezenfektanın NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisinin belirlenemesi muhtemelen etken maddesinin düşük olarak nitelendirilebilecek 15 ppm (%0.0015) hipokloröz asit içermesinden kaynaklanmış olabilir.

Ayrıca Montazeri ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada klor içerikli dezenfektanların norovirüsün NV G-I ve NV G-II gibi farklı türlerine farklı antimikrobiyel etkisi olduğunu belirtmeleri NV ve RV alt türlerinin de dahil ederek gelecek çalışmalar için geliştirilerek sodyum hipoklorit ve hipokloröz asitin antimikrobiyel etkisinin değerlendirilmesi gerekliliğini göstermiştir.

Çalışmamızda, metilizotiazolinon içeren D-4 dezenfektanı NV ve RV üzerine antimikrobiyel etki göstermemiştir. Metilizotiazolinon genel olarak temizlik malzemelerinde kullanılan bir antimikrobiyel madde olup mikroorganizmaların gelişimini sınırlayıcı etkisi bulunmaktadır (Kim ve ark. 2021). Fakat bu kimyasalın bakterilerin ve küflerin hücre zarına etki ederek antimikrobiyel etkisi olduğu bilinmesine rağmen virüslere karşı nasıl bir etki gösterdiği bilinmemektedir (Nowak-Lange ve ark. 2022). Yine de metilizotiazolinonnun elektrofilik yani elektronları çekme yapısından dolayı virüslerin protein yapılarına ederek bu yapıyı bozabilecekleri düşünülmektedir (Fang ve ark., 2023).

Fernández-Calviño ve ark. (2023) yaptıkları çalışma ile metilizotiazolinon bakteriler ve küfler üzerine antimikrobiyel etkisini mikroorganizmaların belirli biyokimyasal süreçleri ve metabolizma yollarını incelemek için laboratuvar araştırmalarında kullanılan radyoaktif işaretlenmiş bileşikler olan [14C]asetat (küflere özel) ve [3H]leucine incorporation (bakterilere özel) yöntemleri ile belirlemişlerdir. Bu iki yöntem ile yapılan analizler sonucunda metilizotiazolinon yarım maksimal etkili konsantrasyon (Half Maximal İnhibitory Concentration- IC50) değeri bakteriler için 4 saat sonunda 5.6 mg/kg olup küfler için 4 saat sonunda 13.8 mg/kg olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar metilizotiazolinon bakteri ve küfler üzerine antimikrobiyel etki ettiğini göstermektedir fakat yaptığımız çalışmada da görüldüğü gibi NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisi gözlenmemiştir. Metilizotiazolinon içeren dezenfektan amaçlı kullanılan deterjanların hem NV ve RV için hem de diğer virüsler için antimikrobiyel ekileri gelecekteki çalışmalar ile incelenmelidir.

Çalışmamızda kullanılan D-5 dezenfektanı %65 etil alkol içeriğinde olup NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisi gözlenmemiştir.

Lee ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada cam, paslanmaz çelik, ahşap, plastik yüzeylere inoküle edilen 5.97 $\log_{10}$ NV genomik kopyanın etil alkolün %50 ve %70 oranlarının 1 $\log_{10}$ NV genomik kopyadan az inaktive etmesi bu oranların NV üzerine etkili bir antimikrobiyel olmadığını göstermiştir.

Kampf (2018) ise RV üzerine etil alkolün antimikrrobiyel etkisinin en etkili oranının %70 olduğunu belirtmektedir. Yapılan çalışmada D-5 dezenfektanın %65 etil alkol oranında olması NV ve RV üzerine antimikrobityel etki gösterecek oranda olmadığını düşündürmüştür.

Gıda virüsleri üzerine antimikrobiyel etki gösteren yeni dezenfektanlar hakkında çalışmalar da bulunmaktadır. Shimakura ve ark. 2019 yılında mezoskopik kristaller kalsiyum hidrojen karbonat (CAC-717) dezenfektanını norovirüs üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğunu standardizasyonun yapılması durumunda aktif olarak kullanılabileceğini belirtmiştlerdir. Imai ve ark. 2020 yılında olaneksidin (1-(3,4-dichlorobenzyl)-5-octylbiguanide) glukonat içeren el dezenfektanının norovirüslere üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğunu vurgulamışlardır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Günümüzde halk sağlığını gıda kaynaklı tehdit eden bakteriyel kökenli gastroenterit salgınlar için alınan önlemler virüs kökenli gastroenterit salgınlar için alınan önlemlerden daha fazla yer tutmaktadır. Bu nedenle de gıda kaynaklı virüs salgınları gün geçtikçe artmaktadır. Gıda kaynaklı virüs salgınlarını kontrol edebilmek için muhtemel bulaşılı gıdaların doğru belirlenmesi, gıdalardaki virüslerin aranmasında en etkin virüs tanı yöntemlerinin seçilmesi ve antimikrobiyel etkisi olan dezenfektanların kullanılması gerekmektedir

Son yıllarda tercih edilen Sistematik Derleme gıdalarda mikrobiyel bulaşıların hangi gıdalardan dolayı daha çok insanlara bulaştığını kapsamlı literatür çalışması ile göstermek amacındadır. Yaptığımız çalışmada yapılan tarama sonucunda derleme makaleleri ve her üç veri tabanında da ortak bulunan makaleler hariç tutularak 1200 makale incelenmiştir. İnceleme sonucunda gıda örnekleri ile çalışan 337 araştırma makalesi kaynak alınarak NV ve RV salgınına neden olabilecek muhtemel gıda grupları tespit edilmiştir. Gıda örnekleri sebzeler, et-tavuk-su ürünleri, orman meyveler, dondurulmuş gıdalar, su-buz ve meyve suları ve fırın ürünleri olarak gruplardırılmıştır.

Ve daha sonrasında bu gıda grupları kaynak alınarak bölgemiz koşullarına göre gıda örnekleri belirlenmiştir. Sebze gıda grubuna Adana ilinde en çok tercih edilen yemek olan kebabın yanında servis edilen mevsim salata, soğan salatası, ezme salatası ve pişmiş soğan örnekleri dahil edilmiştir. Bici-bici tatlısı da Adana ilinde en çok tercih edilen buzlu bir tatlı olduğundan su ve buz örnekleri grubuna alınmıştır.

Gruplandırdığımız gıda örneklerinde NV ve RV varlığının tespitinde tanı yöntemlerinden serolojik olarak immünokromtografik hızlı test kasetleri ve moleküler olarak Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction-RT-PCR) tercih edilmiştir. Ayrıca moleküler yöntemde iki farklı virüs saflaştırma yöntemi (çöktürme ile ve proteinaz K ile virüs saflaştırma) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan her iki yöntemle de NV ve RV saptanamamış olması, gıdaların farklı protein, yağ ve karbonhidrat oranlarına sahip bir matriks yapılarının virüs yoğunluğunu etkilemesinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü bu yöntemlerin düşük vürüs yoğunluklarında performanslarının yetersiz olabileceği yapılan çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur.

Çalışmamızda da kullanılan metotların performansları olanaklar ölçüsünde yapılmıştır. Bu amaçla, 10^9 genomik kopya/ml NV ve RV inokülasyonu yapılan marul örnekleri 24 ^oC'de muhafaza edilmiş, 0.gün, 1.gün, 2.gün ve 3. gün sürelerinin sonunda NV ve RV izolasyonları immünokromotgrafik hızlı test kasetleri ve RT-PCR ile gerçekleştirilmiştir. 0.gün, 1.gün, 2.günün sonunda NV ve RV marul örneklerinde tespit edilirken, 3. günde herhangi bir virüsle karşılaşılmamıştır. Bu nedenle geri alma analizlerine devam edilmemiştir. Üçüncü günün sonunda

virüslerin tespit edilememesi ortamda serbest halde bulunan virüslerin yoğunluğunun azalmasını düşündürtmüştür.

Yapılan bazı çalışmalar marul yapraklarının yüzeyinin karmaşık mikro ölçekli topografik yapıya sahip olduğu, marul yaprağının yapısında bulunanan hidrofobik kütikülün zamanla kalınlaşarak virüslerin hapsolması ve yine katikülün hidrofobik özelliği ile virüslerin kapsid proteinlerindeki amino asit yükleri arasındaki etkileşim sonucu bu virüslerin marul yapraklarına yapışması ile ilgili bilgiler vermektedir. Tüm bunlar gözönüne alındığında üçüncü günün sonunda virüslerin marul örneklerinde yoğunluklarının azalmış olabileceği ve bu nedenle de kullanılan yöntemlerin performanslarını etkilemiş olabileceği şeklinde değerlendirilebilir.

Bu veriler sonucu gıdalarda yüksek yoğunlukta NV ve RV bulunması durumunda hem moleküler hem de serolojik yöntemlerin NV ve RV saptanmasında etkili olduğu görülmüştür. Bu da virüs tanı yöntemlerinin gıdalardaki NV ve RV'nin düşük yoğunluklarda saptanması açısından yetersiz kaldığını göstermektedir.

Gıdalardan NV ve RV bulaşılarının ortaya koyulmasındaki tanı yöntemlerinin yanı sıra bu virüslere karşı kullanılması gereken antimikrobiyel etki gösteren dezenfektanların da etkinliği önemlidir.

Gastroenterit rahatsızlıklara neden olabilmekte olan gıda kaynaklı virüsler, en çok evsel kaynaklı olup, gıda ve gıda ile temas eden yüzeylerin yetersiz sanitasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda kullanılan dezenfektanlar, genel olarak ev koşularında kullanılan dezenfektanlardan seçilmiştir.

Çalışmamızda dezenfektan amaçlı kullanılan ürünlerin norovirüs ve rotavirüs üzerine antimikrobiyel etkilerinin farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Bu farklılığın nedeninin klor içerikli D-1, D-2 ve D-3, alkol içerikli D-5 ve metilizotiazolinon içeren D-4 dezenfektanların her birinin uygulandıkları oranlara ve uygulandıkları yüzeylerin yapısına bağlı olarak norovirüs ve rotavirüs üzerine antimikrobiyel etkisinin değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca bu dezenfektanların öncelikli olarak virüsler üzerine değil de bakteriler üzerine antimikrobiyel etkisi gözetilerek piyasaya sürüldüğüdür. Bu nedenle bu firmaların virüslere antimikrobiyel etkiyi de gözeterek ve içerikteki etken maddelerinin ve oranlarının araştırılmasına ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

Bir başka önemli konu, çalışmada sodyum hipoklorit içeren D-1 ve D-2 dezenfektanlarının firmalarının önerdiği %1 ve %10 oranlarının NV ve RV üzerine antimikrobiyel etkisi belirlenmiş fakat bu oranların insan sağlığı için tehdit oluşturacak en düşük oran olan % 0.02 seviyesinden yüksek olması dikkat çekmiştir. Virüsler açısından sorun berteraf edilirken yine halk sağlığı bu sefer kimyasal bir tehditle karşı karşıya bırakılmıştır.

Çalışmamız sonuçları dikkate alındığında gıda kaynaklı NV ve RV'ler nedeniyle gastroenterit salgınların oluşmaması için:

-Meyve ve sebzelerin topraktayken kontamine olmamış sular ile sulanmasına dikkat edilmesi,

-Meyve ve sebzelerin tarladan çatala gelene kadar taşınmada, satışında ve paketlenmesinde gıda hijyen kurallarına uyulması,

-Pazarlardan, marketlerden vb. satış noktalarından alınan meyve ve sebzelerin yenmeden önce iyice yıkanması,

-Restoranlarda, kafelerde ve büfelerde işlenmiş gıdalar için kullanılan malzemelerin hijyenine, tazeliğine önem verilmesi,

-Restoranlarda, kafelerde ve büfelerde gıda ile temas eden personelin el hijyenine önem verilmesi ve gastroenterit hastalık semptomları gösteren personelin rahatsızlığı geçene kadar çalıştırılmaması,

- Restoranlarda, kafelerde ve büfelerde çalışan personelin hijyen eğitimlerinin düzenli olarak verilerek gıda hazırlanmasından satışına kadar maske, eldiven ve bone kullanılmasının teşfik edilmesi,

-NV ve RV salgınları kış aylarında görülmesinden dolayı bu aylarda önlemlerin arttırılması,

- NV ve RV 70 ^{o}C altındaki sıcaklarda viral etkisini sürdürebildiği için kantaminasyon riski bulunan gıdaların yüksek sıcaklıklarda ısıtılması,

-Suların NV ve RV açısından kontamine olmamasına dikkat edilip şüpheli durumlarda gerekirse tüketilmeden önce kaynatılması,

--NV ve RV 0 ^{o}C'nin altında da viral etkisini sürderebildiği için dondurulmuş gıdalara çözündürüldükten sonra ısıl işlem uygulanması,

-Geleneksel gıdaların sokak satıcılar yerine hijyen kontrolleri düzenli olarak yapılan restoranlardan, kafelerden ve büfelerden temin edilmesi,

-Gıda hijyeni kontrollerinde bakterilerin hijyen indikatörü kullanılmasının yanı sıra NV ve RV gibi gıda virüslerinin de hijyen indikatörü olarak kabul edilmesi,

-Hayvansal gıdaların özellikle iç kısımlarının iyi pişmiş olduğuna dikkat edilmesi

-Açıkta satılan gıdaların alımında dikkatli olunması,

-Çiğ sütlerin ısıl işlemlerden sonra tüketilmesi,

-Evlerde, kreşlerde, restoranlarda, kafelerde ve büfelerde uygun dezenfektanın uygun formülasyonunda kullanılması,

-Gıda ile temas eden yüzeylerde kullanılan dezenfektanların insan sağlığını tehlikeye atmayacak şekilde förmülize edilmesi önerilmektedir.

Gıdalarda NV ve RV saptama çalışmaları oldukça sınırlı sayıda olduğundan yaptığımız çalışmanın sonuçları dikkate alınarak;

-Gıdalarda virüsler saptanmadan önce Sistematik Derleme yapılarak muhtemel kontamine olmuş gıdaların belirlenmesi,

-Sağlık bakanlığı tarafından gıda kaynaklı salgınlar raporlanarak salgınların meydana geldiği lokasyonların belirlenmesi,

-Gıda virüs kaynaklı salgınların meydana geldiği lokasyonlar belirlendikten sonra muhtemel kontaminasyonlu gıdaların seçilmesi için salgından etkilenen kişiler ile anketler yapılarak son günlerde tükettiği gıdaların belirlenmesi,

-Tanı yöntemlerinin yetersizlikleri gelişen teknoloji ile desteklenerek giderilmesi,

-Tanı yöntemlerinin gıdaların karmaşık matrikslerine göre ayarlanması,

-Tanı yöntemlerinin daha az prosedürlü ve daha az nitelikli personele ihtiyaç duyacak şekilde olması,

-Tanı yöntemlerinin maliyetli ve temini zor olmaması,

-Yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesi,

-Yeni tanı yöntemlerinin gıdalardaki virüsleri hızlı ve pratik olarak saptaması,

-Virüs saflaştırma yöntemlerinin her gıdaya spesifik olmadan standart bir prosedür ile yapılacak şekilde tasarlanması,

-NV ve RV saptama çalışmaları yapacak araştırmacıların çalışmalarını titizlikle gerçekleştirmesi,

-Araştırmacıların hem kendi sağlıkları hem de aynı laboratuvarı kullanacak diğer araştırmacıların sağlığı için NV ve RV gibi çok kolay bulaşan virüsler ile çalışırken çalışma ortamının hijyenine özen göstermesi,

-Araştırma sonucunda oluşan atıklar çevre ve insan sağlığına tehlikeli olduğundan uygun prosedürlere göre atılması,

-Araştırmacıların tanı yöntemlerinin gıdalarda NV ve RV saptanmasındaki zorluklardan dolayı titiz çalışması,

-Araştırmacıların virüs saflaştırma yöntemlerini uygularken gıdaların spesifik özelliklerini dikkate almaları,

-Tanı yöntemlerinin yüksek maaliyeti hesaba katılarak araştırmacıların çalışmalarını kurgulaması gibi konular önemli hususlar olarak görülmüştür.

Özellikle virüslere karşı geliştirilmiş ve önerilen dezenfektanların bir başka halk sağlığı riki yaratmaması bu çalışmada öne çıkan bir sonuç olmuştur.

KAYNAKLAR

Abbasi, A., Kafil, H. S., Ozma, M. A., Sangtarash, N., Sabahi, S., 2022. Can food matrices be considered as a potential carrier for Covıd-19. Le Infezioni in Medicina. 30(1): 59-72.

Akata, İ., Bakırcı, S., Dereli, D., Küçükgüven, E., Yılmaz, İ., Kaya, E., 2014. İmmünokromatografik Kart Testlerin Çalışma Prensibi ve Üretim Teknikler. Duzce Med J., 16(3):45-53.

Akiba, T., Nagano, M., Tanaka, T., Mori, K., Hayıı, Y., Kai, A., 2011. Feasibility of Employing a Bacterial Culture Method(A 3 T Method) for Detection of Norovirus in Oysters. Japanese Journal of Food Microbiology, 28(2): 128-132.

Alhadrami, H. A., Al-Amer, S., Aloraij, Y., Alhamlan, F., Chinnappan, R., Abu-Salah, K. M., Almatrrouk, S., Zourob, M. M., 2020. Development of a simple, fast, and cost-effective nanobased immunoassay method for detecting Norovirus in food samples. Acs Omega, 5(21): 12162-12165.

Alhamzah, H. A. N., 2021. Orta Irak'ta A Grubu Rotavirüs Suşlarının Moleküler Karakterizasyonu. Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Çankırı. 75s.

Anonim 1. Noravirüs https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/hastaliklar/norovirus.html. [Son erişim tarihi: 11.05.2022].

Anonim 2. Rotavirüs. https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/rota-vir%C3%BCs. [Son erişim tarihi: 11.05.2022].

Anonim 3. Microcult. Norovirüs İmmünokromatografik Hızlı Test Kasetleri Prospektüsü.

Anonim 4. Microcult. Rotavirüs İmmünokromatografik Hızlı Test Kasetleri Prospektüsü.

Anonymous 1: https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals/ diseases/ norovirus. [Son erişim tarihi: 04.01.2024].

Anonymous 2: https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccines-quality/rotavirus. [Son erişim tarihi: 04.01.2024].

Anonymous 3: https://www.cdc.gov/norovirus/burden.html. [Son erişim tarihi: 01.02.2021].

Anonymous 4: https://www.cdc.gov/norovirus/outbreaks/common-settings.html. [Son erişim tarihi: 21.11.2022].

Anonymous 5: https://www.cdc.gov/rotavirus/surveillance.html. [Son erişim tarihi: 11.03.2021].

Arias, C. F., and Lopez, S., 2021. Rotavirus cell entry: not so simple after all. In Current Opinion in Virology, 48:42-48.

Arslan, A., Çiçek, C., Aksoylar, S., Saz, E. U., Taşbakan, M. I., 2019. Akut İshali Olan Hastalarda Rotavirüs ve Norovirüs Sıklığının Araştırılması. FLORA. 24(2): 113-118.

Atılgan, T., 2022. Müziksel İşitme Okuma ve Yazma Araştırmalarının İncelenmesi: Bir Sistematik Derleme Çalışması. Bolu İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Bolu. 97s.

Atchison, C. J., Tam, C. C., Hajat, S., van Pelt, W., Cowden, J. M., Lopman, B. A., 2010. Temperature-dependent transmission of rotavirus in Great Britain and the Netherlands. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 277(1683): 933-942.

Aydoğan, H., 2016. Burdur İlindeki Süt İşletmeleri Çalışanlarında Astrovirüs, Norovirüs Ve Rotavirüs Varlığının Araştırılması, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Burdur. 47 s.

Bachofen, C., 2018. Selected Viruses Detected on and in our Food. Current Clinical Microbiology Reports, 5:143–153.

Barclay, L., Park, G. W., Vega, E., Hall, A., Parashar, U., Vinjé, J., Lopman, B., 2014. Infection control for norovirus. In Clinical Microbiology and Infection, 20(8): 731-740).

Bartsch, S. M., Lopman, B. A., Ozawa, S., Hall, A. J., Lee, B. Y., 2016. Global economic burden of norovirus gastroenteritis. PloS one., 11(4):87-97.

Bartsch, C., Plaza-Rodriguez, C., Trojnar, E., Filter, M., and Johne, R., 2019. Predictive models for thermal inactivation of human norovirus and surrogates in strawberry puree. Food Control, 96: 87–97.

Bartsch, S. M., O'Shea, K. J., Lee, B. Y., 2020. The clinical and economic burden of norovirus gastroenteritis in the United States. The Journal of infectious diseases. 222(11): 1910-1919.

Bishop, R., 2011. Discovery of rotavirus: Implications for Child Health. J Gastroenterol Hepatol. 24(3): 81-85.

Block, M. S., and Rowan, B. G., 2020 Hypochlorous Acid: A Review. J Oral Maxillofac Surg., 78(9):1461-1466.

Bosch, A., Gkogka, E., Le Guyader, F. S., Loisy-Hamon, F., Lee, A., Van Lieshout, L., Marthi, B., Myrmel, M., Sansom, A., Schultz, A. C., Winkler, A., Zuber, S., Phister, T., 2018. Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing. International Journal of Food Microbiology. 285: 110-128.

Carraturo, F., Del Giudice, C., Morelli, M., Cerullo, V., Libralato, G., Galdiero, E., Guida, M. 2020. Persistence of SARS-CoV-2 in the environment and COVID-19 transmission risk from environmental matrices and surfaces. Environmental Pollution. 265: 115010.

Cevher, A. Y., 2017. Öğrenme stilleri konusunda yapılmış akademik çalışmaların incelenmesi Sistematik derleme. Atatürk Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Eğitim Bilimleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 111s.

Chung, S., Breshears, L. E., Gonzales, A., Jennings, C. M., Morrison, C. M., Betancourt, W. Q., Reynolds, K. A., Yoon, J. Y., 2021. Norovirus detection in water samples at the level of single virus copies per microliter using a smartphone-based fluorescence microscope. Nature Protocols, 16(3): 1452-1475.

Clarke, I. N., Green, K. Y., Knowles, N. J., Koopmans, M., Mc, E., 2012. Caliciviridae, Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viruses. https://www.researchgate.net/publication/281053477. [Son erişim tarihi: 11.12.2023].

Çınar, N., 2021. İyi Bir Sistematik Derleme Nasıl Yazılmalı?. OTSBD, 6(2): 310-314.

Dağcı Yaprak, Ş., 2011. İmmünkompetan Erişkinler ve İmmünsupresif Tedavi Alanlarda Norovirüs Enfeksiyonunun Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Sağlı Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep. 48s.

Debbink, K., Lindesmith, L. C., Donaldson, E. F., Costantini, V., Beltramello, M., Corti, D., Swanstrom, J., Lanzavecchia, A., Vinje, J., Baric, R. S., 2013. Emergence of new pandemic GII. 4 Sydney norovirus strain correlates with escape from herd immunity. The Journal of Infectious Diseases, 208(11): 1877-1887.

Di Cola, G., Fantilli, A. C., Pisano, M. B., Ré, V. E., 2021. Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review. International Journal of Food Microbiology. 338: 1-14.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 2016, 14(12): 1-231.

Elviss, N. C., Allen, D. J., Kelly, D., Akello, J. O., Hau, S., Fox, A. J., Hopkins, M., Derrick, J., O'Brien, S., Iturriza-Gomara, M., 2022. Norovirus attribution study: Detection of norovirus from the commercial food preparation environment in outbreak and non-outbreak premises. Journal of Applied Microbiology. 133: 3391-3403.

Emilse, P. V., Matías, V., Cecilia, M. L., Oscar, G. M., Gisela, M., Guadalupe, D., Elizabeth, R. V., Victorio, P. J., Rodney, C., Viviana, N. S., Angélica, B. P., 2021. Enteric virus presence in green vegetables and associated irrigation waters in a rural area from Argentina. A quantitative microbial risk assessment. LWT. 144.

Enül, H., 2021. Çiğ ve Tüketime Hazır Gıda Örneklerinde Rotavirusun Moleküler Tanısı. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doktora Tezi. 101s.

Escudero-Abarca, B. I., Goulter, R. M., Bradshaw, J., Faircloth, J., Leslie, R. A., Manuel, C. S., Arbogast, J. W., Jaykus, L. A., 2022. Efficacy of an alcohol-based surface disinfectant formulation against human norovirus. Journal of Applied Microbiology, 132(5): 3590–3600.

Escudero, B. I., Rawsthorne, H., Gensel, C., Jaykus, L. A., 2012. Persistence and transferability of noroviruses on and between common surfaces and foods. Journal of Food Protection, 75(5): 927-935.

Faircloth, J., Goulter, R. M., Manuel, C. S., Arbogast, J. W., Escudero-Abarca, B., Jaykus, L. A., 2022. The Efficacy of Commercial Surface Sanitizers against Norovirus on Formica Surfaces with and without Inclusion of a Wiping Step. Applied and Environmental Microbiology, 88(17): 1-14.

Fang, S., Cao, W., Wu, Q., Cheng, S., Yang, Y., Liu, J., Wu, Y., Fang, F., Feng, Q., Cao, J., Luo, J., 2023. Multifaceted roles of methylisothiazolinone intervention in sludge disintegration and acidogenic and methanogenic pathways for efficient carboxylate production during anaerobic fermentation. Chemical Engineering Journal, 472: 1-12.

Farkas, T., Lun, C. W. P., Fey, B., 2014. Relationship between genotypes and serotypes of genogroup 1 recoviruses: a model for human norovirus antigenic diversity. The Journal of General Virology, 95(7): 1469-1478.

Fernández-Calviño, D., Rousk, J., Bååth, E., Bollmann, U., Bester, K., Brandt, K. K., 2023. Isothiazolinone inhibition of soil microbial activity persists despite biocide dissipation. Soil Biology and Biochemistry, 178: 1-9.

Fusco, G., Di Bartolo, I., Cioffi, B., Ianiro, G., Palermo, P., Monini, M., Amoroso, M. G., 2017. Prevalence of foodborne viruses in mussels in Southern Italy. Food and Environmental Virology, 9(2): 187-194.

Gandhi, K. M., Mandrell, R. E., Tian, P., 2010. Binding of virus-like particles of norwalk virus to romaine lettuce veins. Applied and Environmental Microbiology, 76(24): 7997-8003.

Gelderblom, H. R., Krüger, D. H., 2014. Helmut Ruska (1908–1973): his role in the evolution of electron microscopy in the life sciences, and especially virology. In Advances in Imaging and Electron Physics. 182: 1-94.

Gemici, Ü., 2019. Kronik Hepatit B Hastalarında Güncel Hepatit A Bağışıklık Oranı ve Hepatit C Koenfeksiyonu. T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Tıpta Uzamanlık Tezi. İstanbul. 53s.

Genç, F., 2020. Fırat Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Gönderilen Diyereli Dışkı Örneklerinde Enfeksiyon Etkenlerinin Araştırılması. Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi. Elazığ. 284s.

Gibbons, C., 2008. Concentration of Adenoviruses and Noroviruses From Seawater with Argonide Nanoceram Cartridge Filters: Method Effectiveness and Occurrence in Southern California Recreatıonal Waters. University of North Carolina, Master of Science in the Department of Environmental Sciences and Engineering, Chapel Hill, 51s.

Gilgen, M., Germann, D., Lüthy, J., Hübner, P. H., 1997. Three-step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus, and small round structured viruses in water samples. International Journal of Food Microbiology, 37(2-3): 189-199.

Gobeil, A., Maherani, B., Lacroix, M., 2022. Norovirus elimination on the surface of fresh foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62(7): 1822-1837.

Graaf, M., Beek, J., Koopmans, M. P., 2016. Human norovirus transmission and evolution in a changing world. Nat Rev Microbiol., 14(7):421-433.

Guix, S., Pintó, R. M., and Bosch, A., 2019. Final consumer options to control and prevent foodborne norovirus infections. Viruses, 11(4): 1-23.

Güneş, N., ve Gümüş, M., 2020. Genome Structure and Organization in Plant Viruses. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 50(4): 192-203.

Güzeler, N., ve Özbek, Ç., 2017. Conceptual Analysis of Street Flavors of Turkey. Presented at the The 13th Annual Meeting-"Durable Agriculture-Agriculture of the Future, CRAIVOA.

Ha, J. H., Choi, C., Lee, H. J., Ju, I. S., Lee, J. S., Ha, S., 2016. Efficacy of chemical disinfectant compounds against human norovirus. Food Control, 59; 524–529.

Hassan, E., and Baldridge, M. T., 2019. Norovirus encounters in the gut: multifaceted interactions and disease outcomes. Mucosal Immunology, 12(6): 1259-1267.

He, W. Z., Pan, L. L., Han, W. H., Abd-Rabou, S., Liu, S. S., Wang, X. W., 2021. Effects of Kathon, a Chemical Used Widely as a Microbicide, on the Survival of Two Species of Mosquitoes. Molecules., 26(14): 1-10.

Hennechart-Collette, C., Martin-Latil, S., Fraisse, A., Perelle, S., 2017. Comparison of three extraction methods to detect noroviruses in dairy products. Food Microbiology, 61:113-119.

Hennechart-Collette C, Martin-Latil S, Fraisse A, Niveau F, Perelle S., 2020. Virological analyses in collective catering outbreaks in France between 2012 and 2017. Food Microbiol, 91: 1-9.

Hennechart-Collette, C., Dehan, O., Laurentie, M., Fraisse, A., Martin-Latil, S., Perelle, S., 2021. Detection of norovirus, hepatitis A and hepatitis E viruses in multicomponent foodstuffs. International Journal of Food Microbiology, 337: 1-10.

Hidayah, N., Tuan Zainazor, C., Pui, C. F., Noorlis, A., Noor Eliza, M. R., Naziehah, M. D., Ghazali, F. M., Cheah, Y. K., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, M., Son, R., 2011. Occurrence of Norovirus GI in green and red onion. International Food Research Journal, 18(2): 677-681.

Hrdy, J., and Vasickova, P., 2022. Virus detection methods for different kinds of food and water samples – The importance of molecular techniques. Food Control, 134: 1-21.

Hu, L., Gao, J., Yao, L., Zeng, L., Liu, Q., Zhou, Q., Zhang, H., Lu, D., Fu, J., Liu, Q. S., Li, M., Zhao, X., Shi, J., Liu, L., Guo, Y., Wang, Y., Ying, G., Cai, Y., Yao, M., Cai, Z., Wu, Y., Qu, G., Jiang, G., 2021. Evidence of foodborne transmission of the coronavirus (COVID-19) through the animal products food supply chain. Environmental Science & Technology, 55(5): 2713-2716.

Huhti, L., Szakal, E. D., Puustinen, L., Salminen, M., Huhtala, H., Valve, O., Blazevic, V., Vesikari, T., 2011. Norovirus GII-4 causes a more severe gastroenteritis than other noroviruses in young children. Journal of Infectious Diseases, 203(10):1442-1444.

Horm, K. M., and D'Souza, D. H., 2011. Survival of human norovirus surrogates in milk, orange, and pomegranate juice, and juice blends at refrigeration (4 °C). Food Microbiology, 28(5): 1054-1061.

Hosmillo, M., Chaudhry, Y., Nayak, K., Sorgeloos, F., Koo, B. K., Merenda, A., Lillestol, R., Drumright, L., Zilbauer, M., Goodfellow, I., 2020. Norovirus Replication in Human Intestinal Epithelial Cells Is Restricted by the Interferon-Induced JAK/STAT Signaling Pathway and RNA Polymerase II-Mediated Transcriptional Responses. mBio, 17;11(2): 1-22.

Imai, K., Hagi, A., Inoue, Y., Amarasiri, M., Sano, D., 2020. Virucidal Efficacy of Olanexidine Gluconate as a Hand Antiseptic Against Human Norovirus. Food Environ Virol., 12(2):180-190.

Jenns, K., Sassi, H. P., Zhou, R., Cullen, P. J., Carter, D., Mai-Prochnow, A., 2022. Inactivation of foodborne viruses: Opportunities for cold atmospheric plasma. Trends in Food Science & Technology, 124:323–333.

Jin, M., Wu, S., Kong, X., Xie, H., Fu, J., He, Y., VFeng, W., Liu, N., Li, J., Rainey, J. J., Hall, A. J., Vinje, J., Duan, Z., 2020. Norovirus outbreak surveillance, China, 2016–2018. Emerging İnfectious Diseases, 26(3): 437-445.

Kapikian, A. Z., Wyatt, R. G., Dolin, R., Thornhill, T. S., Kalica, A. R., Chanock, R. M., 1972. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. Journal of Virology, 10(5): 1075-1081.

Kambhampati, A. K., Calderwood, L., Wikswo, M. E., Barclay, L., Mattison, C. P., Balachandran, N., Vinje, J., Hall, A. J., Mirza, S. A., 2023. Spatiotemporal Trends in Norovirus Outbreaks in the United States, 2009-2019. Clinical Infectious Diseases, 76(4): 667-673.

Kampf, G., 2018. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection. J Hosp Infect., 98(4):331-338.

Kim, S. H., Cheon, D. S., Kim, J. H., Lee, D. H., Jheong, W. H., Heo, Y. J., Chung, H. M., Jee, Y., Lee, J. S., 2005. Outbreaks of gastroenteritis that occurred during school excursions in Korea were associated with several waterborne strains of norovirus. Journal of Clinical Microbiology, 43(9): 4836-4839.

Kim, Y. H,, Song, M. K,, Lee, K., 2021. A Study on the Behavior Patterns of Liquid Aerosols Using Disinfectant Chloromethylisothiazolinone/Methylisothiazolinone Solution. Molecules, 26(19): 1-15.

Kim, T., Zhu, X., Kim, S.,, Lim, J., Woo, M., Lim, M., Luo, K., 2023. A Review of Nucleic Acid-Based Detection Methods for Foodborne Viruses: Sample Pretreatment and Detection Techniques. Food Research International, 17: 1-19.

Kireçci, E., ve Özer, A., 2011. Norovirüsler, Salgınlar ve Mücadele. Van Tıp Dergisi. 18 (1): 49-56.

Kirkwood, C. D., Ma, L. F., Carey, M. E., Steele, A. D., 2019. The rotavirus vaccine development pipeline. Vaccine, 37(50): 7328-7335.

Kittigul L, Panjangampatthana A, Rupprom K, Pombubpa K., 2014. Genetic Diversity of Rotavirus Strains Circulating in Environmental Water and Bivalve Shellfish in Thailand. Int J Environ Res Public Health, 11: 1299-1311.

Kobayashi, S., Natori, K., Takeda, N., Sakae, K., 2004. Immunomagnetic capture rt-PCR for detection of norovirus from foods implicated in a foodborne outbreak. Microbiology and Immunology, 48(3): 201-204.

Kojima, S., Kageyama, T., Fukushi, S., Hoshino, F. B., Shinohara, M., Uchida, K., Natori, K., Takeda, N., Katayama, K., 2002. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. Journal of Virological Methods, 100(1-2): 107-114.

Kong, B. H., Lee, S. G., Han, S. H., Jin, J. Y., Jheong, W. H., Paik, S. Y., 2014. Development of enhanced primer sets for detection of norovirus. BioMed Research International, 2015:1-9.

Kuzlu Ayyıldız, T., Altıntaş, H. K., Aydın, C., Minaz, E., Yörük, T., 2020. 0-5 yaş çocuklarda rotavirüs sıklığı ve anne-babaların rotavirüse yönelik bilgi düzeyleri ve uygulamaları. Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi, 13(3): 124-130.

Lamhoujeb, S., Fliss, I., Ngazoa, S. E., Jean, J., 2008. Evaluation of the persistence of infectious human noroviruses on food surfaces by using real-time nucleic acid sequence-based amplification. Applied and Environmental Microbiology, 74(11): 3349-3355.

Lecoq H., 2001. Découverte du premier virus, le virus de la mosaïque du tabac: 1892 ou 1898? C. R. Acad Sci. III., 324(10):929-33.

Lee, H. M., Yang, J. S., Yoon, S. R., Lee, J. Y., Kim, S. J., Lee, H. W., Kim, S. H., Ha, J. H., 2018. Immunomagnetic separation combined with RT-qPCR for evaluating the effect of disinfectant treatments against norovirus on food contact surfaces. LWT, 97: 83-86.

Leong, Y. K., Xui, O. C., Chia, O. K., 2008. Survival of SA11 rotavirus in fresh fruit juices of pineapple, papaya, and honeydew melon. Journal of Food Protection, 71(5): 1035-1037.

Lévesque, A., Jubinville, E., Hamon, F., Jean, J., 2021. Detection of enteric viruses on strawberries and raspberries using capture by apolipoprotein H. Foods, 10(12): 1-9.

Li, S., Kallas, Z., Rahmani, D., 2022. Did the COVID-19 lockdown affect consumers' sustainable behaviour in food purchasing and consumption in China?. Food Control, 132: 1-10.

Li, W., Pires, S. M., Liu, Z., Ma, X., Liang, J., Jiang, Y., Chen, J., Liang, J., Wang, S., Wang, L., Wang, Y., Meng, C., Huo, X., Lan, Z., Lai, S., Liu, C., Haihong, H., Jikai, H., Ping, L., Yunchang, F., Guo, Y., 2020. Surveillance of foodborne disease outbreaks in China, 2003–2017. Food Control, 118: 1-9.

Li, Y., Fan, X., Yu, G., Wei, P., Wang, Y., Guo, H., 2021. An acute gastroenteritis outbreak associated with breakfast contaminated with norovirus by asymptotic food handler at a kindergarten in Shenzhen, China. BMC Infectious Diseases, 21(1): 1-7.

Lin Y. P., Kao, C. L., Chang, S. Y., Taniguchi, K., Hung, P. Y., Lin, H. C., Huang, L. M., Huang, H. H., Yang, J. Y., Lee, C. N., 2008. Determination of human rotavirus VP6 genogroups I and II by reverse transcription-PCR. J Clin Microbiol, 46(10): 3330-3337.

Lindesmith, L C., Donaldson, E. F., Baric, R. S., 2011. Norovirus GII.4 Strain Antigenic Variation. J Virol., 85(1): 231-242.

Lowther, J. A., Bosch, A., Butot, S., Ollivier, J., Mäde, D., Rutjes, S. A., Hardouin, G., Lombard, B., Veld, P., Leclerecq, A., 2019. Validation of EN ISO method 15216 - Part 1 – Quantification of hepatitis A virus and norovirus in food matrices. International Journal of Food Microbiology, 288: 82–9.

Louten, J., 2016. Chapter 5 Virus Transmission and Epidemiology. Academic Press. London, İngiltere. 326s.

Lyaschuk, Y., Ovchinnikov, A., Ivanischev, K., Schur, A., 2022. Assessment of the resistance of alimentary-related risk factors to the effects of chemical disinfectants. Agrarian Bulletin of The, 227(12): 54-61.

Massahi, T., Kiani, A., Sharafi, K., Omer, A. K., Ebrahimzadeh, G., Jaafari, J., Fattahi, N., Parnoon, K., 2023. A national systematic literature review for aflatoxin M1 in commonly consumed cheese brands in Iran: Human health risk assessment by Monte Carlo simulation. Heliyon, 9(9): 1-13.

Mäde, D., Trübner, K., Neubert, E., Höhne, M., Johne, R., 2013. Detection and typing of norovirus from frozen strawberries involved in a large-scale gastroenteritis outbreak in Germany. Food and Environmental Virology. 5(3): 162-168.

Matthews, J. E., Dicke, B. W., Miller, R. D., Felzer, J. R., Dawson, B. P., Lee, A. S., Rocks, J. J., Kiel, J., Montes, J. S., Moe, C. L., Eisenberg, J. N., Leon, J. S., 2012. The Epidemiology of Published Norovirus Outbreaks: A Review of Risk Factors Associated with Attack Rate and Genogroup. Epidemiol Infect. 140 (7): 1161-1172.

Martín-González, N., Vieira Gonçalves, L., Condezo, G. N., San Martín, C., Rubiano, M., Fallis, I., Rubino, J. R., Ijaz, M. K, Maillard, J. Y., De Pablo, P. J., 2020. Virucidal Action Mechanism of Alcohol and Divalent Cations Against Human Adenovirus. Front Mol Biosci., 7: 1-9.

Mercan, Y., 2018. Çocuklarda Viral Gastroenterit Etkeni Olan Rotavirüs ve Norovirüsün Araştırılması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 55s.

Montazeri, N., Manuel, C., Moorman, E., Khatiwada, J. R., Williams, L. L., Jaykus, L. A., 2017. Virucidal activity of fogged chlorine dioxide-and hydrogen peroxide-based disinfectants against human norovirus and its surrogate, feline calicivirus, on hard-to-reach surfaces. Frontiers in Microbiology, 8: 1-9.

Navarro, A., Williamson, L., Angel, M., 2016. Chapter 2.3 - Rotavirus Replication and Reverse Genetics, Viral gastroenteritis. Academic Press, Cambridge, 121–143.

Nogales, A., Mora-Cantallops, M., Morón, R. D., García-Tejedor, Á. J., 2023. Network analysis for food safety: Quantitative and structural study of data gathered through the RASFF system in the European Union. Food Control, 145: 1-13.

Nowak-Lange, M., Niedziałkowska, K., Lisowska, K., 2022. Cosmetic Preservatives: Hazardous Micropollutants in Need of Greater Attention? Int J Mol Sci., 23(22): 1-28.

Ojeh, C. K., Cusack, T. M., Yolken, R. H., 1995. Evaluation of the effects of disinfectants on rotavirus RNA and infectivity by the polymerase chain reaction and cell-culture methods. Mol Cell Probes, 9(5):341-346.

Okada, M., Ogawa, T., Kaiho, I., Shinozaki, K., 2005. Genetic analysis of noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004. Journal of Clinical Microbiology. 43(9): 4391-4401.

Okumuş, B., 2023. Norovirus and Coronavirus Risks in Food Service Settings: A Systematic Review for Future Researchjournal of Culinary Science & Technology, 21(1):71-98.

Orlov, A.V., Malkerov, J. A., Novichikhin, D. O., Znoyko, S. L., Nikitin, P. I., 2022. Express high-sensitive detection of ochratoxin A in food by a lateral flow immunoassay based on magnetic biolabels. Food Chem., 30(383): 1-7.

Oteiza, J. M., Prez, V. E., Pereyra, D., Jaureguiberry, M. V., Sánchez, G., Sant'Ana, A. S., Barril, P. A., 2022. Occurrence of Norovirus, Rotavirus, Hepatitis a Virus, and Enterovirus in Berries in Argentina. Food and Environmental Virology, 14: 170-177.

Ozawa, K., Oka, T., Takeda, N., Hansman, G. S., 2007. Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. Journal of Clinical Microbiology, 45(12): 3996-4005.

Özcan, Ş. K., 2019. Akut Gastroenterit Nedeniyle Başvuran Hastaların Laboratuar Değerlerinin Prognostik Açıdan Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Şehir Hastanesi, Çocuk Hastanesi Tıpta Uzmanlık Tezi. Ankara. 86s.

Öz, V., Karadayı, Ş., Çakan, H., Karadayı, B., Kaya, A., 2014. Acil tedavi birimlerinde gıda zehirlenmeleri. Marmara Medical Journal, 27: 95-89.

Özçınar, S., 2020. Adana ve Mersin İlleri Karpuz ve Kavun Alanlarında Mevcut Karpuz Mozaik Virüsü (Watermelon Mosaic Virus, Wmv)'nün Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana. 72s.

Öztaş, S., 2014. Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus ve Adenovirus Sıklığı ve Rotavirusun Moleküler Epidemiyolojisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Afyonkarahisar. 128s.

Öztürk, G., 2018. Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus Enfeksiyon İnsidansı ve Genotiplerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 117s.

Pang, X., Ren, L., Wu, S., Ma, W., Yang, J., Di, L., Li, J., Xiao, Y., Kang, L., Du, S., Du, J., Wang, J., Li, G., Zhai, S., Chen, L., Zhou, W., Lai, S., Gao, L., Pan, Y., Wang, Q., Li, M., Wang, J., Huang, Y. Wang, J., 2020. Cold-chain food contamination as the possible origin of COVID-19 resurgence in Beijing. National Science Review, 7(12): 1861-1864.

Park, G. W., Boston, D. M., Kase, J. A., Sampson, M. N., Sobsey, M. D., 2007. Evaluation of liquid- and fog-based application of Sterilox hypochlorous acid solution for surface inactivation of human norovirus. Appl Environ Microbiol, 73(14):4463-4468.

Peng, F., Wang, Z., Zhang, S., Wu, R., Hu, S., Li, Z., Wang, X., Bi, D., 2008. Development of an immunochromatographic strip for rapid detection of H9 subtype avian influenza viruses. Clinical and Vaccine Immunology, 15(3): 569-574.

Predmore A, Li J., 2011. Enhanced Removal of a Human Norovirus Surrogate from Fresh Vegetables and Fruits by a Combination of Surfactants and Sanitizers. Appl Environ Microbiol, 7 (14): 4829-4838.

Puccetti, A., Saverino, D., Opri, R., Gabrielli, O., Zanoni, G., Pelosi, A., Fiore, P. F., Moretta, F., Lunardi, C., Dolcino, M., 2018. Immune Response to Rotavirus and Gluten Sensitivity. J Immunol Res., 2018: 1-26.

Puustinen, L., Blazevic, V., Huhti, L., Szakal, E. D., Halkosalo, A., Salminen, M., Vesikari, T., 2012. Norovirus genotypes in endemic acute gastroenteritis of infants and children in Finland between 1994 and 2007. Epidemiology & Infection, 140(2): 268-275.

Qiao, Z., Yinyin, Y., Szczuka, A., Harriso, K. R., Dodd, M. C., 2022. Reactivity of Viral Nucleic Acids with Chlorine and the Impact of Virus Encapsidation. Environ. Sci. Technol., 56: 218-227.

Rahnama, H., Azari, R., Yousefi, M. H., Berizi, E., Mazloomi, S. M., Hosseinzadeh, S., Derakhshan, Z., Ferrante, M., Conti, G. O., 2023. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of Bacillus cereus in foods. Food Control, 143: 1-6.

Ruether, I. G. A., Dimitriou, T. G., Tsakogiannis, D., Kyriakopoulou, Z., Amoutzias, G. D., Gartzonika, C., Levidiotuu-Stefanou, S., Markoulatos, P., 2014. Characterization of novel intergenogroup and intergenotype recombinant noroviruses from central Greece. Molecular and Cellular Probes, 28(4), 204-210.

Rydell, G. E., Nilsson, J., Rodriguez-Diaz, J., Ruvoën-Clouet, N., Svensson, L., Le Pendu, J., Larson, G., 2009. Human noroviruses recognize sialyl Lewis x neoglycoprotein. Glycobiology, 19(3):309-320.

Ryu, W. S., 2016. Molecular virology of human pathogenic viruses. Academic Press. London, İngiltere. 423s.

Samad, A., Hamza, M., Muazzam, A., Ahmer, A., Tariq, S., Ahmad, S., Mumtaz, M. T., 2022. Current Perspectives on the Strategic Future of the Poultry Industry After the COVID-19 Outbreak. Brilliance: Research of Artificial Intelligence, 2(3): 90-96.

Samandoulgou, I., Fliss, I., Jean, J., 2015. Zeta Potential and Aggregation of Virus-Like Particle of Human Norovirus and Feline Calicivirus Under Different Physicochemical Conditions. Food and Environmental Virology, 7(3): 249-260.

Sánchez, G., and Bosch, A., 2016. Survival of Enteric Viruses in the Environment and Food, In Viruses in Foods. Springer International Publishing, Switzerland, 367-392.

Santos-Ferreira, N., Mesquita, J. R., Rivadulla, E., Inácio, Â. S., Nascimento, M. S. J., Romalde, J., da Costa, P. M., 2020. Norovirus contamination of sea urchins (Paracentrotus lividus): Potential food risk for consumers. Food Control, 111: 1-5.

Sato, Y., Shamsi, W., Jamal, A., Bhatti, M. F., Kondo, H., Suzuki, N., 2020. Hadaka Virus 1: a Capsidless Eleven-Segmented Positive-Sense Single-Stranded RNA Virus from a Phytopathogenic Fungus, Fusarium oxysporum. mBio, 11(3): 1-18.

Satter, S. M., Abdullah, Z., Cardemil, C. V., Flora, M. S., Gurley, E. S., Rahman, M., Talha, M., Islam, D., Hossain, M. E., Balachandran, N., Lopman, B., Rahman, M., Vinje, J., Hall, A. J., Parashar, U. D., 2021. Hospital-based Surveillance for Pediatric Norovirus Gastroenteritis in Bangladesh, 2012–2016. The Pediatric İnfectious Disease Journal, 40(3): 215-219.

Scharff, R. L., 2015. State estimates for the annual cost of foodborne illness. Journal of Food Protection, 78(6): 1064-1071.

Scherer, K., Mäde, D., Ellerbroek, L., Schulenburg, J., Johne, R., Klein, G., 2009. Application of a swab sampling method for the detection of norovirus and rotavirus on artificially contaminated food and environmental surfaces. Food and Environmental Virology, 1(1): 42-49.

Shang, Y., Cai, S., Ye, Q., Wu, Q., Shao, Y., Qu, X., Xiang, X., Zhou, B., Ding, Y., Chen, M., Xue, L., Zhu, H., Zhang, J., 2021. Quantum dot nanobeads-labelled lateral flow immunoassay strip for rapid and sensitive detection of Salmonella Typhimurium based on strand displacement loop-mediated isothermal amplification. Engineering, 7: 1-21.

Shimakura, H., Gen-Nagata, F., Haritani, M., Furusaki, K., Kato, Y., Yamashita-Kawanishi, N., Le, T. D., Tsuzuki, M., Tohya, Y., Kyuwa, S., Saito, H., Horimoto, T., Onodera, T., Haga,T., 2019. Inactivation of human norovirus and its surrogate by the disinfectant consisting of calcium hydrogen carbonate mesoscopic crystals, FEMS Microbiology Letters, 366(19): 1-7.

Somura, Y., Nagano, M., Kimoto, K., Oda, M., Mori, K., Shinkai, T., Sadamasu, K., 2019. Detection of norovirus in food samples collected during suspected food-handler-involved foodborne outbreaks in Tokyo. Letters in Applied Microbiology, 69(3): 175-180.

Sökel, S., Mehmet, K. A. L. E., Hasırcıoğlu, S., Yavru, S., Gürsoy, O., Kocatürk, K., 2018. Kabuklu deniz ürünleri: Norovirüs salgınları ve sporadik enfeksiyonlar için risk. Akademik Gıda. 16(3): 340-350.

Suresh, M., Harlow, J., Nasheri, N., 2019. Evaluation of porcine gastric mucin assay for detection and quantification of human norovirus in fresh herbs and leafy vegetables. Food Microbiology, 84: 1-6.

Suzuki, W., Ohiro, Y., Tsukagoshi, H., Kimura, H., 2015. Evaluation of norovirus detection method based on a newly developed bioluminescent enzyme immunoassay (BLEIA) system. Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases, 89(2): 230-236.

Taşkır, N., 2022. Corona Virüsün Medikal Turizm Üzerine Etkileri: Betimsel Tipte Nitel Sistematik Derleme. İstanbul Gelişim Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 62s.

Teimoori, A., Soleimanjahi, H., Makvandi, M., 2014. Characterization and transferring of human rotavirus double-layered particles in MA104 cells. Jundishapur Journal of Microbiology, 7(6): 1-5.

The International Pharmaceutical Federation (FIP)., 2022. COVID-19: Tanı testi yöntem ve araçlarının değerlendirilmesi. https://www.fip.org/file/4943. [Son erişim tarihi: 05.05.2022].

Topal, İ., Çikman, A., Arslan, Y. K., Kara, İ. S., Aydin Peker, N., Karakeçili, F., 2019. Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Sıklığı. Fırat Tıp Dergisi, 24 (1): 14-17.

Topçu, M., 2019. Gastroenterit Etkeni Virüslerin İmmünokromatografik ve Moleküler Yöntemlerle Saptanması. Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 46s.

Torok, V. A., Hodgson, K. R., Jolley, J., Turnbull, A., McLeod, C., 2019. Estimating risk associated with human norovirus and hepatitis A virus in fresh Australian leafy greens and berries at retail. Int J Food Microbiol, 309: 1-8.

Trevelyan, B., Smallman-Raynor, M., Cliff, A. D., 2005. The Spatial Dynamics of Poliomyelitis in the United States: From Epidemic Emergence to Vaccine-Induced Retreat, 1910-1971. Annals of the Association of American Geographers, 95(2): 269-293.

Trudel-Ferland, M., Goetz, C., Girard, M., Curt, S., Mafu, A. A., Fliss, I., Jean, J., 2021. Physicochemical parameters affecting norovirus adhesion to ready-to-eat foods. Applied and Environmental Microbiology, 87(23): 1-11.

Tung, G., Macinga, D., Arbogast, J., Jaykus, L. A., 2013. Efficacy of commonly used disinfectants for inactivation of human noroviruses and their surrogates. Journal of Food Protection, 76(7): 1210-1217.

Uman, L., S., 2011. Systematic reviews and meta-analyses. J Can Acad Child Adolesc Psychiatry, 20(1):57-59.

Uzunoğulları, N., ve Gümüş, M., 2018. Virüs Taksonomisinin Tarihsel Gelişimi ve Son Durumu. Bahçe, 46(2): 51-57.

Wu, X., Moyne, A., Ramos, T. D. M., Harris, L. J., DiCaprio, E., 2023. Impact of irrigation water quality on human norovirus surrogate survival during leafy green production. Front. Plant Sci., 14: 1-11.

Var , I., Heshmatı, B., Çelık, Ç., Uzunlu, S., 2014. Bici Bici'nin Gıda Güvenliği Açısından Değerlendirilmesi . 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 955-958. Adana, Turkey.

Var, I., ve Çelik, Ç., 2017. Salgınlara Neden Olan Bazı Gastroenterit Virüslerinin İrdelenmesi. Gıda, 42(4): 392-404.

Verhaelen, K., Bouwknegt, M., Lodder-Verschoor, F., 2012. Persistence of human norovirus GII.4 and GI.4, murine norovirus, and human adenovirus on soft berries as compared with PBS at commonly applied storage conditions. Int J Food Microbiol., 160:137–144.

Widdowson, M. A., Cramer, E. H., Hadley, L., Bresee, J. S., Beard, R. S., Bulens, S. N., Charles, M., Chege, W., Isakbaeva, E., Wright, J. G., Mintz, E., forney, D., Massey, J., Glass, R. I., Monroe, S. S., 2004. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus—United States, 2002. The Journal of Infectious Diseases, 190(1): 27-36.

Yalçın, H., Mehmet, K. A. L. E., Gürsoy, O., Saltik, H. S., Yilmaz, Y., 2022. Presence of Rotavirus and Astrovirus in Employees, Tools and Equipment of Slaughterhouses and Meat Processing Plants. Akademik Gıda, 20(2): 132-137.

Yalçın Bingül, D., 2022. Aşı Adayı Norovirüs Antijenlerinin Klonlanması ve İmmünojenitelerinin Araştırılması. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Doktora Programı, Doktora Tezi. Aydın. 107s.

Yücel, D., 2014. Pratik Metot Validasyonu ve Verifikasyonu. https://www.turkbiyokimyadernegi.org.tr/upload/48/Dosyalar/tmp/Metot.Validasyonu.pdf.

Zeng, L., Guo, L., Wang, Z., Xu, X., Ding, H., Song, S., Xu, L., Kuang, H., Xu, C., 2021. Gold nanoparticle-based immunochromatographic assay for detection Pseudomonas aeruginosa in water and food samples. Food Chemistry, X(9): 1-9.

Zhang, L., Xue, L., Gao, J., Cai, W., Jiang, Y., Zuo, Y., Lio, Y., Wu, H., Cheng, T., Luo, X., Wu, Q., Wu, K., Zhang, J., 2020. Development of a high-efficient concentrated pretreatment method for noroviruses detection in independent oysters: An extension of the ISO/TS 15216-2: 2013 standard method. Food Control, 111: 1-5.

Zhao, Z., Hossain, M. I., Jung, S., Wang, Z., Yeo, D., Song, M., Min, A., Park, S., Choi, C., 2022. Survival of murine norovirus and hepatitis A virus in bottled drinking water, strawberries, and oysters. Food Control, 133: 1-8.

ÖZGEÇMİŞ

Çağrı ÇELİK ilk, orta ve lise eğitimini Adana Gündoğdu Koleji'nde tamamladı. Lise eğitiminden sonra 2004 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2009 yılında tamamlayıp Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine kabul edildi. Yüksek lisans eğitimi sırasında 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalına geçiş yapıp 2015 yılında Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. 2015 yılında Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. 2012-2015 yılları arasında sırasıyla Sofra Yemek A.Ş., Adana Gündoğdu Koleji ve LVG Holding A.Ş. bünyesinde çalıştı. 2015 yılından beri Çukurova Belediyesi'nde çalışmaktadır. Mezun olduğu 2009 yılından itibaren Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Prof. Dr. Işıl VAR danışmanlığında "Bici-bici'nin Gıda Güvenliği Açısından Değerlendirilmesi", "Adana Kebaplarının Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü" projelerinde görev almıştır. Prof. Dr. Işıl VAR ile birlikte "Salgınlara Neden Olan Bazı Gastroenterit Virüslerin İrdelenmesi", "Mikroorganizmalarda Çoğunluğun Algılanması ve Çoğunluğun Algılama Mekanizmasının Engellenmesi" makaleleri bulunmaktadır.