

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları

Kardelen Cemek¹, Betül Ünal¹, Okan Zenger¹, Gözde Baydemir Peşint^{*1}

¹ Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Adana, ORCID: 0000-0003-2841-2720, 0000-0003-0371-719X, 0000-0002-5669-0325, 0000-0001-8668-8296

Geliş Tarihi:06.12.2021

Kabul Tarihi:27.12.2021

Özet

Patojenlerin tespiti ve miktar analizi, özellikle gıda güvenliği ve sağlık uygulamalarında kilit nokta haline gelmiştir. Bu mikroorganizmaların tespiti ve analizi için kullanılan ELISA ve PCR gibi geleneksel yöntemler genellikle ileri kültür yöntemleri ve uzun zaman alan çeşitli biyokimyasal analizleri içerdiğinden, geleneksel yöntemlere alternatif olarak hızlı ve hassas bir şekilde patojenleri tespit edebilen malzemelerin üretilmesi oldukça önemlidir. İleri sensör teknolojilerinden biri olan yüzey plazmon rezonans (SPR), makromoleküler etkileşimleri karakterize etmek amacıyla bir sensör yüzeyinde meydana gelen kırılma indisi değişikliklerini ölçmek için kullanılan optik bir yöntemdir ve mikroorganizmaların etiketsiz tespiti için bu yöntemden her geçen gün daha fazla yararlanılmaktadır. Oldukça kısa sürede, farklı hedeflerin aynı anda algılanmasına dahi izin veren hassas ve etkili sonuçlarıyla SPR teknolojisi çeşitli avantajlara sahiptir. Bu derlemede gıda güvenliği ve sağlık uygulamalarında patojen mikroorganizmaların tespiti için SPR biyosensörlerin kullanımı ve mevcut çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gıda güvenliği, Patojen mikroorganizmalar, Tıbbi tanı, Yüzey plazmon rezonans sensörleri

SPR biosensor applications for the detection of pathogenic microorganisms in the field of food safety and health

Abstract

Detection and quantification of pathogens has become a key point, especially in the food safety and health applications. Since traditional methods such as ELISA and PCR used for the detection and analysis of these microorganisms usually involve advanced culture techniques and various biochemical analyzes which are time-consuming, it is very important to produce materials that can detect pathogens quickly and sensitively as an alternative to traditional methods. Surface Plasmon Resonance (SPR), one of the advanced sensor technologies, is an optical method used to measure changes in the refractive index on a sensor surface to characterize macromolecular interactions, and it is being used more and more in the label-free detection of microorganisms. SPR technology has several advantages with its sensitive and effective results that allow the simultaneous detection of different targets in a very short time. In this review, the use of SPR-based sensors and current studies for the detection of pathogenic microorganisms in food safety and health applications are summarized.

Keywords: Food safety, Medical diagnosis, Pathogenic microorganisms, Surface plasmon resonance sensors

*Sorumlu yazar (Corresponding author): Gözde Baydemir Peşint, gpesint@atu.edu.tr

Künye Bilgisi: Cemek, K., Ünal, B., Zenger, O., Baydemir Peşint, G. (2021). Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları. *Artibilim: Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 50-63

1. Giriş

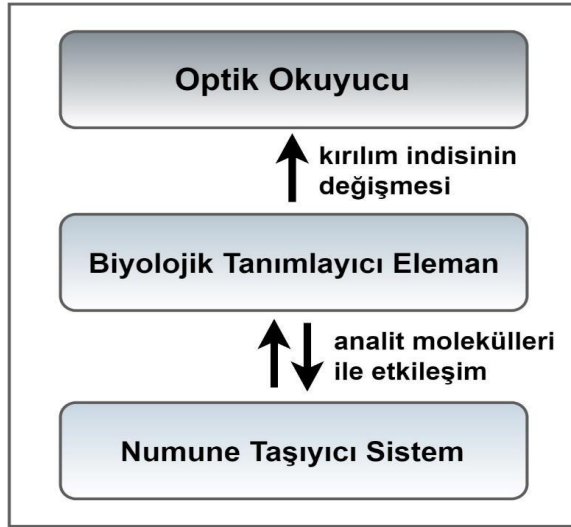
Nükleik asitler, büyüme faktörleri, glikoproteinler, enzimler, ilaçlar, virüsler, hücreler, antijen ve antikor gibi çeşitli biyomoleküllerin etkileşimlerinin gerçek zamanlı olarak izlenmesine olanak tanınması nedeniyle biyosensörlerin yer aldığı çalışmalar son zamanlarda oldukça dikkat çekmektedir [1]. Geliştirilen sistemler yardımıyla moleküler etkileşim mekanizması (bağlanma), reaksiyon ve ayrışma süreleri (kinetik), ligand-analit düzeyi (afinite), analit miktarı (konsantrasyon) ve özgüllük gibi geniş bir bilgi yelpazesi elde edilmektedir [2].

Mikroorganizmaların tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi gıda güvenliği, tıbbi tanı ve ilaç geliştirme konuları üzerine yapılan çalışmalarda kilit nokta haline gelmiştir. Mikroorganizmalar geleneksel olarak plaka sayımı, enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak saptanmaktadır. Mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılan bu geleneksel yöntemler, genellikle çeşitli kültür yöntemleri ve uzun zaman alan farklı biyokimyasal tahlilleri içerir. Bu nedenle alternatif olarak iş yükünü azaltan, hızlı ve hassas tespit platformlarına ihtiyaç duyulmaktadır [3]. Bu amaçla geliştirilen ileri modern sensör teknolojileri, patojenlerin hızlı ve hassas bir şekilde tespit edilebilmesini sağlamaktadır. Bu sensör teknolojileri arasında yer alan yüzey plazmon rezonans (SPR) biyosensörler, kinetikler, afiniteler ve konsantrasyonlar dahil olmak üzere yüzeydeki biyomoleküler etkileşimleri (oligonükleotitler, proteinler, bakteriler vb.) karakterize etmek amacıyla kullanılan önemli araçlardır. SPR teknolojisi, reaksiyonların hassas ve etiketsiz olmasını, aynı zamanda gerçek zamanlı olarak izlenmesini sağlaması sebebiyle yaşam bilimleri, elektrokimya, gıda, çevre, ilaç, tıp, çevre takibi ve biyoteknoloji gibi birçok alanda uygulanabilmektedir [4]. Tıbbi tanı alanında hızlı yanıt süresi ile son derece hassas ve spesifik biyosensörlerin geliştirilmesinde ve daha az biyolojik numune gerektiren etiketsiz yöntemlerde [5]; gıda güvenliğinde ise toksinlerin, patojenlerin, ilaçların ve besin katkı maddelerinin varlığının analizinde bu yöntemden yararlanılmaktadır [2].

SPR, makromoleküler etkileşimleri karakterize etmek amacıyla sensör yüzeyindeki kırılma indisi değişikliklerini ölçmek için kullanılan optik bir yöntemdir ve analit ile sensör yüzeyine immobilize edilmiş ligand arasındaki etkileşimi gerçek zamanlı olarak izleyerek, bağlı ligand miktarının yanı sıra bağlanma ve ayrılma oranlarının doğru bir şekilde ölçülmesine olanak sağlar [6,7]. SPR, moleküler tanıma analizlerinde etkin bir biyofiziksel yöntem olarak kendini kanıtlamış ve birçok biyokimya ve biyofizik araştırma merkezinde standart araçlar haline gelmiştir [7].

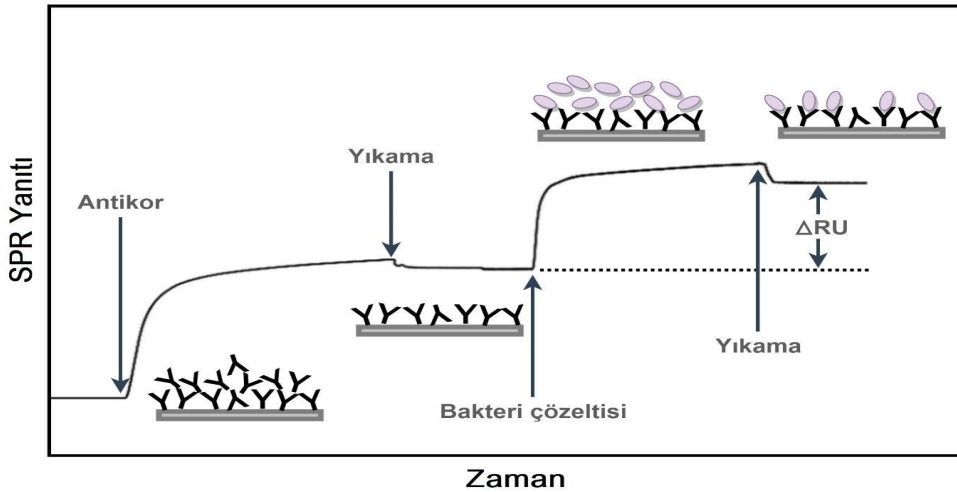
SPR afinite biyosensörleri, optik okuyucu, biyolojik tanımlayıcı eleman ve taşıyıcı sistem olmak üzere üç ana bileşenden oluşmaktadır (Şekil 1). SPR sensörünün optik okuyucusunda, ışık dalgaları özel bir elektromanyetik alan modu olan yüzey plazmonunu harekete geçirir [8]. Biyolojik tanımlayıcı eleman, sensör okuyucusunun katı yüzeyine immobilize edilerek analit moleküllerini yakalar. Biyotanımlayıcının ve immobilizasyon yönteminin seçimi, SPR biyosensörlerinin geliştirilmesinde önemli bir adımı temsil eder ve geliştirilen SPR biyosensör sisteminin özgüllük ve tespit limiti gibi temel performans özellikleri üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir [9]. İşlem sırasında sıvı numune, dağıtım sistemleri kullanılarak sabit bir hacimde, akış olmaksızın küvete enjekte edilir ya da sensör yüzeyine bağlı bir akış hücresi ünitesinden sürekli olarak akararak sensör yüzeyine ulaştırılır [10].

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları



Şekil 1. SPR afinite biyosensörlerinin temel bileşenleri.

Hedef bakterilere özgü antikorların altın film yüzeyine immobilize edilmesiyle SPR immüno-sensörleri bakterilerin doğrudan tespitinde kullanılmaktadır. Antikorların immobilizasyonunun ardından elde edilen SPR sinyali referans olarak kaydedilir. Bakteri içeren çözelti, antikorlarla kaplanmış sensör yüzeyi ile temas ettirildiğinde, hedef bakteriler antikora bağlanır. Yüzey yıkandıktan ve bağlanmamış bakteriler ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra, sensör yüzeyine bağlanan bakteriler SPR yanıtında bir kaymaya sebep olur (Şekil 2) ve oluşan bu kayma, hedef bakterilerin konsantrasyonu ile orantılıdır. Kullanılan çözeltiler ve yapılan yüzey işlemleri, SPR immüno-sensörlerin etkinliğinde kilit noktayı oluşturmaktadır [11]. SPR temelli biyosensörler aracılığıyla, farklı yüzey modifikasyonları ve analiz türleri kullanılarak çeşitli mikroorganizmaların saptanmasına yönelik çalışmalar Tablo 1' de verilmiştir.



Şekil 2. Antikor ve mikroorganizmaların sensör yüzeyine bağlanması sırasında SPR yanıtında meydana gelen kayma.

Tablo 1. Bakteri tayinine yönelik geliştirilen SPR immünosensörleri.

Bakteri Türü	SPR Markası	Analiz Türü	İmmobilizasyon Metodu	Bağlayıcı Molekül	Tespit Limiti [CFU/ml]	Referans
<i>E. coli</i> O157:H7	Spreeta	Direkt	Fiziksel Adsorpsiyon	Neutravidin	10 ² -10 ³	[12]
<i>E. coli</i> O157:H7	Multiskop	Direkt	Kovalent Bağlanma	Protein G	10 ⁴	[13]
<i>E. coli</i> O157:H7	SR7000	Sandviç	Kovalent Bağlanma	-	10 ³	[3]
<i>E. coli</i>	Spreeta	Direkt	Fiziksel Adsorpsiyon	Streptavidin	90	[14]
<i>Vibrio cholera</i> O1	Multiskop	Direkt	Kovalent Bağlanma	Protein G	10 ⁵	[15]
<i>S. enteritis</i>	Biacore	Direkt	Kovalent Bağlanma	Protein A	25	[16]
<i>S. typhimurium</i>	Spreeta	Direkt	Fiziksel Adsorpsiyon	Neutravidin	10 ⁶	[16]
<i>S. typhimurium</i>	Multiskop	Direkt	Kovalent Bağlanma	Protein G	10 ²	[17]
<i>S. paratyphi</i>	Multiskop	Direkt	Fiziksel Adsorpsiyon	Protein G	10 ²	[18]
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Multiskop	Direkt	Kovalent Bağlanma	Protein G	10 ²	[19]
<i>S. aureus</i>	Reichert SR7000	Sandviç	Kovalent Bağlanma	-	10 ⁵	[20]
<i>L. monocytogenes</i>	Biacore	Eksiltici İnhibisyon	Kovalent Bağlanma	-	10 ⁵	[21]

Bakteriler, parazitler ve virüsler de dâhil olmak üzere halk sağlığını tehdit eden birçok önemli mikroorganizmanın SPR sensörleri kullanılarak tespit edilmesindeki ilerlemeler hız kazanmıştır. Bu derlemede gıda güvenliği ve sağlık uygulamalarında SPR temelli biyosensörler ile patojen mikroorganizmaların tespiti üzerine yapılan çalışmalardan bahsedilmektedir.

2. Gıda güvenliği alanında SPR biyosensörlerin kullanımı

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, bir gıdanın güvenli olarak nitelendirilebilmesi için toksik ve zararlı olmaması gerekmektedir [22]. Gıda güvenliği, gıdanın patojenleri önleyecek şekilde işlenmesini, hazırlanmasını ve depolanmasını kapsayan çok disiplinli bir konudur ve küresel gıda ticaretinin genişlemesinde oldukça önemli bir yere sahiptir [23]. Dünyanın dört bir yanına çeşitli gıdaların ulaştırılmasıyla tüketicilerin farklı gıda türlerini tatmalarına olanak sağlanması, gıda güvenliği açısından potansiyel riskleri de beraberinde getirmektedir [24]. Bu durum, dünya genelinde gıda güvenliği ve izleme sistemlerinin güçlendirilmesine olan ihtiyacı gözler önüne sermektedir [25]. Ham maddeden nihai ürüne kadar gerçekleşen, gıda stabilizasyonu, nakliyesi ve dağıtımını da içine alan tüm süreçler halk sağlığını koruyabilmek adına doğru bir denetime ihtiyaç duymaktadır. Bu sebeple kısa sürede sonuç veren, bütünleşmiş, elde taşınabilir, hassas ve ucuz cihazlar, çevrimiçi kontrollerde ve pazar düzeyinde hızlı analizler yapabilmek amacıyla gıda endüstrisi tarafından büyük talep görmektedir [26].

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları

Gıda bulaşanlarının analizinde plaka sayımı, ELISA, PCR, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisi gibi pek çok analitik yöntem kullanılmaktadır. Ancak tüm bu yöntemlerde düşük hassasiyetli analiz, eğitimli personel ihtiyacı ve zaman israfı gibi sorunlar bulunmaktadır. Gıda kalitesi ve güvenliğinin denetiminde enstrümantal analitik protokoller altın standartlar olmasına karşın, kalite parametrelerini ve güvenlik tehditlerini hızlı bir şekilde tespit edebilen tamamlayıcı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Fotonikte yenilikçi gelişmelerin artması, optik ile mikroakışkanların entegrasyonu, biyosensör sistem entegrasyonu, mikroışlemci temelli teknoloji ve biyoteknolojiye yönelik gelişmiş yaklaşımlar, gıda kalite değerlendirmesi de dâhil olmak üzere birçok uygulama alanı için umut vaat eden kimyasal sensörlerin ve biyosensörlerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır [23].

Optik biyosensörler, nispeten düşük maliyetleri ve kolay kullanımları nedeniyle gıda güvenliği alanında en çok çalışılan cihazlar arasındadır [27] ve minimum numune miktarı ile karmaşık gıda matrislerindeki analitleri tespit edebilme yeteneklerinden dolayı büyük ilgi görmektedir. En yaygın kullanılan optik biyosensör olan SPR biyosensörlerinin karmaşık gıda matrislerinde dahi doğrudan tanıma sinyali sağlayabilen hassas dönüştürücüleri sayesinde analitik performansları oldukça iyidir. SPR biyosensörleri kullanılarak süt, şarap veya meyve suyu gibi sıvı gıdalarda bakteriyel biyobelirteçler veya gıda bulaşanları doğrudan tespit edilirken; katı gıdaların analizi, numunenin plazmonik substrat üzerine yerleştirilmesiyle veya gıdaların üzerine nanopartiküllerin eklenmesiyle SERS/SEF/LSPR yöntemleri ile gerçekleştirilir [24].

2.1.Gıdalarda patojen mikroorganizma tespiti ve SPR sensör uygulamaları

Besin tüketimi ile insan hastalıkları arasındaki ilişki çok eski zamanlardan beri üzerine çalışılan bir konudur ve bu iki kavram arasındaki bağlantıyı bildiren ilk kişi Hipokrat (MÖ 460) olmuştur. Gıda kaynaklı patojenler (örneğin; virüsler, bakteriler, parazitler) hastalıklara neden olabilen biyolojik ajanlardır. Bir patojen, gıda ile beraber alındıktan sonra kendini gösterdiğinde veya toksik bir madde bir gıda ürününe yerleşip bir toksin ürettiğinde ve bu toksin daha sonra insanlar tarafından alındığında bu hastalıklar ortaya çıkar. 200'den fazla farklı gıda kaynaklı hastalık tanımlanmıştır. En şiddetli vakalar, çok yaşlı, çok genç, bağışıklık sistemi zayıf veya çok yüksek dozda bir organizmaya maruz kalan kişilerde ortaya çıkma eğilimindedir [28].

Patojenik mikroorganizmaların tespiti gıda ve su güvenliği, halk sağlığı ve biyoterörizm alanlarında her zaman öncelikli konu olmuştur. Her yıl dünya çapında milyarlarca insan patojenler tarafından enfekte edilmektedir. Özellikle *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Shigella*, *Escherichia coli* (*E. coli*) [29], *Bacillus cereus* (*B. cereus*), *Clostridium botulinum* (*C. botulinum*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) [28] ciddi hastalıklara neden olan gıda ve su kaynaklı patojenlerin en önemlileridir ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) raporuna göre, Avrupa ülkelerinde her yıl 350.000'den fazla insanın enfekte olmasından sorumludur [30,31]. Bunların yanı sıra pek çok gıda kaynaklı virüs ve alerjen de gıda temelli hastalıkların oluşmasında önemli etkenlerdendir. 100'den fazla enterik virüs türünün bu tür hastalıklara sebep olduğu gösterilmiştir, en yaygın virüs patojenleri Hepatit A ve Norovirüslerdir [28].

E. coli: İnsan ve hayvanların bağırsak florasında doğal olarak bulunan zararsız bir bakteridir ancak hastalıklara sebep olan, gıda kaynaklı patojen suşları da bulunmaktadır. Bunların en bilineni *E. coli* O157:H7 suşudur. Çiğ süt ve az pişmiş kıyma dâhil olmak üzere kontamine ve çiğ gıda tüketimi yoluyla bulaşır. Enfekte olmuş kişilerde şiddetli kanlı ishale ve ağrılı karın kramplarına neden olur. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı-Gıda Güvenliği ve Denetim Servisi (USDA- FSIS)'ne göre, *E. coli* O157:H7 patojeninin varlığı ya da yokluğu belirlenen numune alma ve ölçüm prosedürleri ile kanıtlanmalıdır [32].

C. jejuni: İnsan sağlığını olumsuz etkileyen ve ekonomik kayıplara yol açan gram negatif, spiral, mikroaerofilik bir bakteridir. Ateş, ishal, karın krampları ve gastroenterite neden olur [32]. Kümes hayvanlarında ve onların dışkılarında yaygın olarak bulunur. Bu nedenle, bakteri ile kontamine olmuş kanatlı etlerinin işlenmesi ve tüketilmesi, insanlarda *C. jejuni*'nin sebep olduğu sporadik diyare vakalarında önde gelen risk faktörleridir. 2017 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kaynaklı bakteriyel ishal hastalığının ana nedeni olarak *Salmonella* türlerini geride bırakmıştır [33].

Salmonella: Gıda kaynaklı hastalıklar ve nihai ölümlerle ilişkilendirilen en yaygın patojenlerden biridir. *Enterobacteriaceae* familyasına ait çubuk şekilli bir gram negatif bakteri türüdür. Kontamine gıdaların tüketilmesi yoluyla bulaşır ve enfekte olan kişilerde ishal, ateş, mide bulantısı, kusma ve baş ağrısı gibi bazı semptomlar görülür [34]. Amerika Birleşik Devletleri'nde *Clostridium perfringens* ve *S. aureus* dışında gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan dört patojen bakteriden biridir [35] ve her yıl yaklaşık 1.35 milyon enfeksiyona, 26.500 hastaneye yatışa ve 420 ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir [36]. Yüksek prevalansı, son derece düşük enfeksiyon limitleri (1 CFU) ve potansiyel tehlikeleri göz önüne alındığında, *Salmonella*'nın gıdalardaki kısıtlamaları yıllar içerisinde daha da sıkılaştırılmıştır [34].

L. monocytogenes: Gıda kaynaklı önemli bir patojen olarak kabul edilmiştir ve birçok gıda zehirlenmesi salgınının nedeni olmuştur. 1 ila 45 °C arasında büyüyen, gram pozitif, fakültatif anaerobik çubuk şeklinde bir bakteridir. Çiğ ve kontamine gıda ürünleri yoluyla insanlar *L. monocytogenes*'e maruz kalmaktadır. ABD, Japonya, Yeni Zelanda, Almanya, Fransa, İngiltere ve diğer Avrupa ülkelerinde çok sayıda listeriosis salgını bildirilmiştir [37]. Vakaların çoğunda, hafif baş ağrısının eşlik ettiği hafif ateş, ishal, mide bulantısı veya kusma gibi belirtiler görülmüştür [21]. Birçok ülke, patojenin neden olduğu olası tehlikeler nedeniyle, yemeye hazır gıdalarda *L. monocytogenes* varlığına karşı sıfır tolerans politikasına sahiptir [37].

B. cereus: *Bacillaceae* familyasına ait, gram pozitif, çubuk şeklinde, spor oluşturma yeteneğine sahip bakterilerdir. Toprak, tatlı su ve deniz suyu gibi ortamlarda yaygın olarak bulunur. *B. cereus*'un vejetatif hücreleri 4–15 ila 35–55 °C arasında değişen sıcaklıklarda ve 4.9-9.3 pH'da büyür. *B. cereus*, ürettiği iki tür toksin ile emetik (kusma) sendrom ve ishal sendromu adı verilen iki tip gastrointestinal hastalığa neden olan bir gıda zehirlenmesi etmenidir. Emetik sendrom, kontamine gıda ürünlerinde büyüme aşamasında olan bakteriler tarafından üretilen kusturucu toksinden kaynaklanırken; ishal sendromu, ince bağırsakta bakterilerin büyümesi sırasında üretilen ishal toksinlerinden kaynaklanır. *B. cereus*'un neden olduğu gıda zehirlenmesi, bu bakterinin gıda, dışkı veya kusmuk örneklerinden izolasyonu ile doğrulanabilir. Birçok ülkede *B. cereus* ile ilişkili gıda zehirlenmesinin bildirimi zorunlu olmadığından insidans verileri sınırlıdır [38,28].

C. botulinum: Anaerobik, spor oluşturan, gram pozitif bir basildir ve bilinen en güçlü nörotoksinleri üretir [39]. Sporları ısıya karşı dayanıklıdır, yanlış veya minimum düzeyde işlenmiş gıdalarda hayatta kalabilir. Antijenik özgüllüğüne bağlı olarak yedi tip (A-G) *botulinum* nörotoksini bulunur. Bu toksinler arasından A, B, E veya F toksinleri insanlarda botulizme neden olur. Botulizmde semptomlar, *Botulinum* nörotoksini içeren gıdaların tüketilmesinden 12-36 saat sonra veya sekiz gün kadar uzun bir süre içinde ortaya çıkabilir. İlk belirtiler bulantı ve kusma olabilir, ancak bu belirtilerin toksinlere, diğer *C. botulinum* ürünlerine ya da farklı bozulma ürünlerine bağlı olup olmadığı açıktır. Toksin başlangıçta çift görme, odaklanamama, göz kapaklarında düşme (ptozis), ağız kuruluğu, net konuşmada zorluk (disfoni) ve yutamama (disfaji) gibi semptomlara neden olur. Artan kas yetmezliği görülebilir ve solunum için gerekli kasların veya kalp kaslarının yetersizliğinden ölüm meydana gelebilir [40].

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları

S. aureus: Dünya çapında gıda kaynaklı hastalıkların önde gelen nedenlerinden biridir. Spor oluşturmaz ancak %15'e kadar NaCl konsantrasyonunda, geniş bir sıcaklık (7 ila 48.5°C; optimum 30 ila 37°C) ve pH (4.2 ila 9.3; optimum 7 ila 7.5) aralığında büyüebildiği için gıda hazırlama ve işleme prosesleri sırasında ürünlerde bulaşa neden olabilir [41]. İlk olarak 1884 yılında Michigan'da (Amerika Birleşik Devletleri) peynirden kaynaklanan bir gıda zehirlenmesi araştırmasının mikrokokların varlığını ortaya çıkarması ile rapor edilmiştir [42]. O zamandan bu yana, birçok ülkede çok çeşitli gıdalarla bağlantılı olarak *S. aureus* gıda zehirlenmesi vakaları bildirilmiştir. En belirgin semptomları, genellikle sulu ishal, karın ağrısı, orta derecede ateş ve titremenin eşlik ettiği bulantı ve şiddetli kusmadır [43].

Biyolojilama üzerine kapsamlı araştırmalar yapılmış ve patojenlerin tespit edilebilmesi için çok çeşitli biyosensörler geliştirilmiştir. Bu biyosensörler arasında bulunan SPR biyosensörleri [44] kullanılarak gıdalarda çeşitli patojen mikroorganizmaların tespit edilmesi ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır.

Oh ve ark. [18] tarafından 10^2 - 10^7 CFU/ml'lik bir saptama aralığı ile *Salmonella paratyphy* (*S. paratyphy*)'yi tespit edebilen, yüzeyi kendi kendine birleşen protein G ile kaplanmış bir SPR immünosensörü geliştirilmiştir.

Subramanian ve ark. [13] tarafından yapılan bir çalışmada sandviç testi kullanılarak *E. coli* O157:H7'nin hızlı ve spesifik tespiti için kendinden montajlı tek tabakalı (SAM) bir SPR immünosensörü rapor edilmiştir. Sensör, *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*)'e karşı yüksek özgüllük ile 10^3 CFU/ml kadar düşük miktardaki *E. coli* O157:H7'yi tespit edebilmiştir.

Ayrıca, birçok araştırmacı tarafından gıda kaynaklı patojenleri tespit etmek ve tanımlamak için SPR teknolojisinin baz alan ve ticari olarak temin edilebilen optik cihazlar kullanılmıştır. Bunlardan Spreeta™, *E. coli* O157: H7'nin tespitinde kullanılırken, BIACORE 3000 *L. monocytogenes* ve *Salmonella*'nın tespitinde kullanılmaktadır [44]. Waswa ve ark. [11], *E. coli* O157:H7 tespiti için SPR tabanlı bir Spreeta™ biyosensörü kullanmıştır. Spreeta™ biyosensöründe, LED'den gelen ışık altın bir yüzeyden yansıtılır ve SPR minimumuna karşılık gelen açı ile yoğunluk ölçülür ve sensör yüzeyindeki antijen-antikor eşleşmesine karşılık gelen bir kırılma indisi değişikliği olarak gösterilir. Biyosensörün bakteriyi tespit etmesi için yapılan bu test neredeyse gerçek zamanlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar yaklaşık 30 dakikalık numune enjeksiyonundan sonra elde edilmiştir. *E. coli* O157:H7 testinin duyarlılığı 10^2 - 10^3 CFU/ml olarak belirlenmiştir. Ayrıca Wei ve ark. [45], *C. jejuni*'nin hızlı tanımlanması için Spreeta™, SPR tabanlı biyosensörü kullanmıştır.

Zhang ve ark. [46] üç önemli gıda patojeni olan *E. coli* O157:H7 (O157), *S. Enteritidis* ve *L. monocytogenes*'in hızlı ve eşzamanlı tespitinde yeni bir yöntem geliştirmek için SPR biyosensörlerini kullanmıştır. Çeşitli hücre konsantrasyonlarında bakteriyel süspansiyonlardan sonikasyon yoluyla hazırlanan bakteriyel homojenatlar, hedef patojenlerin her birine özel poliklonal antikorlara sahip SPR biyosensörleri ve sensör çipleri kullanılarak analiz edilmiştir ve 10^5 ila 10^8 CFU/ml konsantrasyonlarda hedef olmayan patojenlerin varlığında, O157, *S. enteritidis* ve *L. monocytogenes* için en düşük tespit limiti sırasıyla 0.6×10^6 , 1.8×10^6 ve 0.7×10^7 CFU/ml olarak belirlenmiştir.

Farka ve ark.[47] tarafından yapılan çalışma ile *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*)'a özgü bir antikor, 10^4 CFU/ml tespit limiti (LOD) ve 10 dakikalık analiz süresi ile bakterinin doğrudan etiketsiz tespitine izin veren SPR çipi üzerine immobilize edilmiştir. Alternatif olarak, bir başka antikor, 4-kloro-1-naftol'ün çözünmeyen benzo-4-klorosikloheksadienon'a biyokatalizli dönüşümüyle sinyal güçlendirmesine izin vermek için yaban turpu peroksidaz ile konjuge edilmiştir. *Salmonella*'nın antikor ile etkileşimi ve çökelti oluşumu atomik kuvvet mikroskobu ile detaylı olarak incelenmiştir ve etiketsiz

Kardelen Cemek, Betül Ünal, Okan Zenger, Gözde Baydemir Peşint yaklaşıma kıyasla güçlendirilmiş algılama durumunda hassasiyetin 40 kat arttığı gözlenmiştir. Bakteri bağlama ve geliştirme aşamasını içeren toplam analiz süresi 60 dakikanın altında bir sürede gerçekleştirilmiştir. Çalışmada süt tozu, gıda kaynaklı patojenler tarafından kontamine olmuş bir süt ürününün temsili örneği olarak seçilmiş ve *Salmonella*, bu üründe 10^3 CFU/ml LOD ile başarılı bir şekilde tespit edilerek geliştirilen immünoensörün pratik gıda taraması için uygunluğunu doğrulamıştır.

Vaisocherová-Lisalová ve ark. [48], hamburger ve salatalık örneklerinde *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella sp*'nin hızlı ve hassas tespiti için düşük kirlilik yaratan ve işlevselleştirilebilir poli(karboksibetain akrilamid) (pCBAA) kaplı SPR biyosensörünü kullanmışlardır. pCBAA ile kaplanmış SPR biyosensörü, kısa süre içerisinde yüksek hassasiyet ve özgüllük ile *E. coli* ve *Salmonella*'yı tespit edebilmiştir. Salatalık ve hamburger özütlerinde tespit limitleri sırasıyla *E. coli* için 57 CFU/ml ve 17 CFU/ml ve *Salmonella sp.* için 7.4×10^3 CFU/ml ve 11.7×10^3 CFU/ml olarak belirlenmiştir.

Khateb ve ark. [49] yaptıkları bir çalışmada nano yapı plazmonik elementlerde aptamerler aracılığıyla *S. aureus*'un basit, taşınabilir ve etiketsiz bir şekilde tespit edilebilmesi için bir optik biyosensör geliştirmişlerdir. Lokalize bir SPR (LSPR) algılama cihazına konjuge edilmiş aptamerler, saf kültüre ve yapay olarak kontamine olmuş süt numunelerine uygulanmış ve sütte *S. aureus* için 10^3 CFU/ml'lik bir tespit limiti sağlanmıştır. Ön zenginleştirme aşamasına gerek duyulmamış ve toplam analiz süresi 30 dakikadan 120 saniyeye düşürülmüştür. Yakın alanın rolünü ve içsel kırılma indisi hassasiyetini ele alan bir dizi farklı sensör tasarımında (100 ve 200 nm diskler) deneysel olarak ölçülen optik tepkileri taklit etmek için zamanda sonlu farklar yöntemi kullanılmıştır. Aptamerin antikor bazlı tanıma yaklaşımlarıyla karşılaştırılması sonucu, daha ince aptamer katmanı için önemli ölçüde daha büyük bir tepki ile algılama katmanının kalınlığının kritik olduğu görülmüştür. Farklı boyuttaki metal nano yapıların karşılaştırılması ile de, toplu kırılma indisi duyarlılığındaki artıştan ve yerel alanın metal yüzeyinden dışarı uzanma derecesinden dolayı 100 nm çaplı disk yapılarına kıyasla 200 nm çaplı disklerde önemli ölçüde daha yüksek bir hassasiyet gözlenmiştir. Bu bulgular ile birlikte, geliştirilen altın nanodisk tabanlı LSPR algılama çiplerinin, gıda örneklerinde *S. aureus*'un tespitini kolaylaştırabileceği doğrulanmıştır.

3.Sağlık uygulamalarında patojenlerin tespiti için SPR biyosensörlerin kullanımı

SPR biyosensörler, biyomoleküllerin protein-protein, enzim-substrat, antikor-antijen, protein-nükleik asit ve protein-polisakkarit gibi kovalent olmayan etkileşimleri hakkında bilgi sağlamaya yardımcı olur [50,51]. Son yıllarda yapılan çalışmalar, bakteriler, virüsler, viral ve bakteriyel parçacıklar gibi çeşitli patojenleri tespit etmek için SPR tabanlı görüntüleme yöntemlerinin uygunluğunu göstermiştir [52].

Bulaşıcı hastalıkları teşhis etmek için kullanılan yöntemler temel olarak mikroskopi, kültür, nükleik asit çoğaltma ve immüno analizleri içeren çeşitli laboratuvar testlerine dayanır ve bu yöntemler, sonuç alabilmek için gereken sürenin oldukça uzun olması gibi bir dezavantaja sahiptir [51]. Tedavi ve prognoz geliştirmek için hızlı teşhis ve tanı oldukça önemlidir. Böylece, sağlık bakım maliyetleri azaltılmış ve patojenlerin yayılmasını önlemek için erken halk sağlığı müdahalelerine olanak sağlanmış olur [53]. Virüs, bakteri ve bunlardan kaynaklanan patojenik parçacıkların teşhisi için literatüre çeşitli çalışmalar sunulmuştur.

Wang ve ark. [54] eksiltici inhibisyon deneylerinde yüksek afiniteli monoklonal antikorlar kullanarak, *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*) sporlarının hızlı, hassas ve etiketsiz tespiti için SPR sensörüne dayalı bir yöntem geliştirmiştir. Geliştirilen bu yöntem ile 104 CFU/ml kadar düşük konsantrasyonlara sahip *B. anthracis* sporlarının 40 dakika içinde tespit edilebildiği ve *B. anthracis*'in yüksek konsantrasyonlarda bile diğer *Bacillus* sporlarından ayırt edilebildiği gösterilmiştir.

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları

Baccar ve ark. [55], yaptıkları bir çalışmada *E. Coli*'yi tespit etmek için SPR teknolojisine dayanan iki farklı biyosensör geliştirmiştir. İlk biyosensörde, işlevselleştirilmiş altın substrat temel alınırken, ikincisinde işlevselleştirilmiş altın nanoparçacıklardan faydalanılmıştır. İlk biyosensör için, altın elektrot, kendi kendine bir araya gelebilen tek tabaka tekniği kullanılarak tiyol ile fonksiyonel hale getirilirken, ikincisi, modifiye edilmiş altın substrat üzerinde immobilize edilmiş altın nanopartiküller ile fonksiyonelleştirilmiştir. Altın nanoparçacıkların kullanımı, yüzey alanı-hacim oranını artırır, bu da artan bir hassasiyete ve gelişmiş bir algılama limitine olanak sağlar. Bir poliklonal anti-*E. coli* antikoru, spesifik (*E. coli*) ve spesifik olmayan (*Lactobacillus*) bakteri tespiti için immobilize edildi. *E. coli* bakterisinin tespiti için, birinci ve ikinci biyosensörde sırasıyla 10^4 ve 10^3 CFU/ml tespit limiti elde edilmiştir. Yapılan denemeler, tasarlanan biyosensörlerin tekrarlanabilirlik açısından da yeterli olduğunu ortaya koymuştur. *E. coli* tespiti için gerçekleştirilen bir diğer çalışmada [56], "grating-coupled long range surface plasmon"larına (GC-LRSP'ler) dayalı yeni bir yaklaşım rapor edilmiş ve bu yöntem bakteriyel patojen *E. coli* O157:H7'nin saptanması için uygulanmıştır. Sunulan yaklaşımın potansiyeli, 50 CFU/ml kadar düşük konsantrasyonlarda *E. coli* O157:H7'nin tespit edildiği bir model deneyinde gösterilmiştir. Elde edilen sonucun, doğrudan algılama formatına sahip "regular grating-coupled SPR" ile elde edilen algılama limitinden 4 kat daha iyi olduğu belirlenmiştir.

Struck ve ark. [57] tarafından yapılan SPR temelli bir çalışmada, SARS-CoV virüsünün insan hücrelerine bağlanma afinitesinin önemli bir bölümünü taşıyan Spike proteininin reseptöre bağlanma bölgesinde (RBD) bir heksapeptit bulunmuştur. Bu amaçla, reseptör proteini ACE2, sensör çipi üzerinde immobilize edilerek, peptitler sensör yüzeyi üzerinden geçirilmiştir. Heksapeptidin (Tyr-Lys-Tyr-Arg-Tyr-Leu) üst solunum yollarında bulunan epitel hücrelerin viral enfeksiyonunu 600 kat azalttığı ve ACE2 reseptörüne bağlanan koronavirüslere karşı spesifik olduğu gözlenmiştir. SPR teknolojisinin kullanıldığı bir diğer çalışmada Zidane ve ark. [58], benzer şekilde peptitlerin ve farmakolojik moleküllerin ACE reseptörü üzerindeki inhibitör etkinliklerini incelemiştir. Çalışmada, saflaştırılmış enzimi standart amin birleştirme yöntemi ile immobilize etmek için karboksimetillenmiş dekstran sensör çipi kullanarak, potansiyel inhibitör moleküllerin ACE reseptörü üzerindeki inhibisyonu değerlendirilmiştir.

Choi ve ark. [59], reseptör moleküllerinin immobilizasyonu için plazma ile muamele edilmiş bir parilen-N filmi kullanarak insan hepatitinin virüs yüzey antijeni (HBsAg) tespiti için SPR biyosensörleri geliştirmiş ve hepatit B'nin tıbbi tanısı için kullanmıştır. Bir başka çalışmada, İnfluenza A ve influenza B, H1N1, solunum sinsityal virüsü (RSV), parainfluenza virüsü 1-3 (PIV1, 2, 3), adenovirüs ve ciddi akut solunum sendromu koronavirüsü (SARS) dahil olmak üzere dokuz yaygın solunum virüsünün spesifik tespiti için, SPR çipi üzerine dokuz solunum virüsüne özgü oligonükleotidin immobilize edilmesiyle SPR biyosensör geliştirilmiştir. Biyosensörün duyarlılığını artırmak için, PCR primeri etiketlenmiş ve hibridizasyondan sonra streptavidin ekleyerek sinyali daha da yükseltmek için biyotin kullanılmıştır. Dokuz yaygın solunum yolu virüsünü temsil eden boğaz swab örnekleri, bu yöntemin hassasiyetini, özgüllüğünü ve tekrarlanabilirliğini değerlendirmek için yenilikçi SPR biyosensör tarafından test edilmiştir [53].

Kuş gribinin tanısına yönelik bir çalışmada, bütün H5Nx virüslerinin tespiti için son derece hassas ve spesifik sandviç tipi SPR biyosensörler üzerine çalışılmıştır. İlk kez birkaç aptamer, Multi-GO-SELEX yöntemi kullanılarak tüm kuş gribi (AI) virüsleri H5Nx için başarıyla taranmış ve karakterize edilmiştir [60]. Bir diğer çalışmada, hala kuşlar ve insanlar arasında dolaşan ve insan sağlığını etkileyen önemli virüs türlerinden biri olan H7N9 virüsü hedef alınmıştır. Klinik olarak H7N9'dan şüphelenilen hastanın teşhisi için sadece birkaç ticari teşhis kiti veya platformu bulunmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada, yeni üretilen bir monoklonal antikor ile bütünleşmiş bir IM-

SPR biyosensörü kullanılarak H7N9 virüsünü hızlı ve hassas bir şekilde tespit etmek amacıyla basit bir platform geliştirilmiştir. Kuş gribi A H7N9 virüsüne benzer yüzey özellikleri gösteren H7N9-RG virüsünün, yaklaşık 10 dakika gibi kısa bir sürede tespit edilebildiği gösterilmiştir [61].

Shang ve ark. [62], ACE2 ile kompleks halinde SARS-CoV-2'nin S proteininin reseptör bağlanma bölgesinin (RBD) kristal yapısını belirlemiştir. SARS-CoV-2 RBD'nin bu yapısal özelliklerinin, ACE2'ye bağlanma afinitesini arttırdığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada farklı RBD'ler amin grupları aracılığıyla bir sensör çipine kovalent olarak immobilize edilmiştir. SPR teknolojisinden faydalanılarak, kimerik RBD'nin, kimerik RBD ve ACE2 arasındaki N-O köprüsünden dolayı SARS CoV-2 RBD'den daha yüksek bir ACE2 afinitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Kimerik RBD ve SARS-CoV-2 RBD'nin ikisinin de SARS-CoV RBD'ye kıyasla daha yüksek ACE2 afinitesine sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Brielle ve ark. [63], moleküler dinamik simülasyonları kullanarak SARS-CoV-2 virüsünün yüksek enfeksiyon oranını anlamak için insan ACE2 reseptörü ile SARS-CoV-2 S proteini arasındaki etkileşimi, diğer patojenik koronavirüs etkileşimleri ile karşılaştırmıştır. Daha sonra SPR teknolojisinden faydalanılarak çalışmanın deneysel hesaplamaları yapılmış ve sonuçların güvenilirliği ispatlanmıştır.

4. Sonuç

Çok sayıda moleküler etkileşimin paralel olarak nicel analizini yapabilen SPR sensörlerinin geliştirilmesi, gıda güvenliği, tıbbi tanı ve ilaç geliştirme üzerinde önemli etkilere sahiptir. SPR teknolojisinin kullanılmasıyla, gıda güvenliği ve tıbbi tanı uygulamalarında iş yükü, uzun analiz süreçleri ve yüksek maliyet gibi olumsuz etkiler ortadan kaldırılarak, mikroorganizmalar hızlı ve hassas bir şekilde tespit edilebilecek, bu da bireysel sağlık ve halk sağlığında önemli olumlu etkiler yaratacaktır.

Yazarların katkısı: Yazarlar bu çalışmaya eşit oranda katkı sağlamıştır.

Çıkar çatışması beyanı: Bu çalışmayla ilgili olarak yazarların herhangi bir kurum ve ya kişi ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırma ve yayın etiği beyanı: Yapılan çalışmada yazarlar araştırma ve yayın etiğine uygun davranıldığını beyan ederler.

Kaynakça

- [1] Karlsson, R. (2004). SPR for molecular interaction analysis: a review of emerging application areas. *Journal of Molecular Recognition*, 17(3), 151-161.
- [2] Miyazaki, C. M., Shimizu, F. M., Mejía-Salazar, J. R., Oliveira Jr, O. N., Ferreira, M. (2017). Surface plasmon resonance biosensor for enzymatic detection of small analytes. *Nanotechnology*, 28(14), 145501.
- [3] Dudak, F. C., Boyacı, İ. H. (2007). Development of an immunosensor based on surface plasmon resonance for enumeration of *Escherichia coli* in water samples. *Food Research International*, 40(7), 803-807.
- [4] Homola, J. (2003). Present and future of surface plasmon resonance biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 377(3), 528-539.
- [5] Homola, J. (2008). Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chemical Reviews*, 108(2), 462-493.
- [6] Liu, Y., Liu, Q., Chen, S., Cheng, F., Wang, H., Peng, W. (2015). Surface plasmon resonance biosensor based on smart phone platforms. *Scientific Reports*, 5(1), 1-9.

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları

- [7] McDonnell, J. M. (2001). Surface plasmon resonance: towards an understanding of the mechanisms of biological molecular recognition. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5(5), 572-577.
- [8] Piliarik, M., Vaisocherová, H., Homola, J. (2007). Towards parallelized surface plasmon resonance sensor platform for sensitive detection of oligonucleotides. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 121(1), 187-193.
- [9] Ward, L. D., Winzor, D. J. (2000). Relative merits of optical biosensors based on flow-cell and cuvette designs. *Analytical Biochemistry*, 285(2), 179-193.
- [10] Dudak, F. C., Boyacı, İ. H. (2009). Rapid and label- free bacteria detection by surface plasmon resonance (SPR) biosensors. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 4(7), 1003-1011.
- [11] Waswa, J., Irudayaraj, J., DebRoy, C. (2007). Direct detection of E. coli O157: H7 in selected food systems by a surface plasmon resonance biosensor. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 187-192.
- [12] Oh, B. K., Kim, Y. K., Bae, Y. M., Lee, W. H., Choi, J. W. (2002). Detection of Escherichia coli O157: H7 using immunosensor based on surface plasmon resonance. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(5), 780-786.
- [13] Subramanian, A., Irudayaraj, J., Ryan, T. (2006). A mixed self-assembled monolayer-based surface plasmon immunosensor for detection of E. coli O157: H7. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(7), 998-1006.
- [14] Jyoung, J. Y., Hong, S., Lee, W., Choi, J. W. (2006). Immunosensor for the detection of Vibrio cholerae O1 using surface plasmon resonance. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(12), 2315-2319.
- [15] Waswa, J. W., Debroy, C., Irudayaraj, J. (2006). Rapid detection of Salmonella enteritidis and Escherichia coli using surface plasmon resonance biosensor. *Journal of Food Process Engineering*, 29(4), 373-385.
- [16] Lan, Y. B., Wang, S. Z., Yin, Y. G., Hoffmann, W. C., Zheng, X. Z. (2008). Using a surface plasmon resonance biosensor for rapid detection of Salmonella typhimurium in chicken carcass. *Journal of Bionic Engineering*, 5(3), 239-246.
- [17] Oh, B. K., Kim, Y. K., Park, K. W., Lee, W. H., Choi, J. W. (2004). Surface plasmon resonance immunosensor for the detection of Salmonella typhimurium. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(11), 1497-1504.
- [18] Oh, B. K., Lee, W., Kim, Y. K., Lee, W. H., Choi, J. W. (2004). Surface plasmon resonance immunosensor using self-assembled protein G for the detection of Salmonella paratyphi. *Journal of Biotechnology*, 111(1), 1-8.
- [19] Oh, B. K., Lee, W., Chun, B. S., Bae, Y. M., Lee, W. H., Choi, J. W. (2005). Surface plasmon resonance immunosensor for the detection of Yersinia enterocolitica. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 257, 369-374.
- [20] Subramanian, A., Irudayaraj, J., Ryan, T. (2006). Mono and dithiol surfaces on surface plasmon resonance biosensors for detection of Staphylococcus aureus. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 114(1), 192-198.

- [21] Leonard, P., Hearty, S., Quinn, J., O’Kennedy, R. (2004). A generic approach for the detection of whole *Listeria monocytogenes* cells in contaminated samples using surface plasmon resonance. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(10), 1331-1335.
- [22] Lv, M., Liu, Y., Geng, J., Kou, X., Xin, Z., Yang, D. (2018). Engineering nanomaterials-based biosensors for food safety detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 106, 122-128.
- [23] Narsaiah, K., Jha, S. N., Bhardwaj, R., Sharma, R., & Kumar, R. (2012). Optical biosensors for food quality and safety assurance—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(4), 383-406.
- [24] Balbinot, S., Srivastav, A. M., Vidic, J., Abdulhalim, I., Manzano, M. (2021). Plasmonic biosensors for food control. *Trends in Food Science & Technology*.
- [25] Wu, M. Y. C., Hsu, M. Y., Chen, S. J., Hwang, D. K., Yen, T. H., Cheng, C. M. (2017). Point-of-care detection devices for food safety monitoring: proactive disease prevention. *Trends in Biotechnology*, 35(4), 288-300.
- [26] Thakur, M. S., Ragavan, K. V. (2013). Biosensors in food processing. *Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 625-641.
- [27] Kim, S. H., Lee, J., Lee, B. H., Song, C. S., Gu, M. B. (2019). Specific detection of avian influenza H5N2 whole virus particles on lateral flow strips using a pair of sandwich-type aptamers. *Biosensors and Bioelectronics*, 134, 123-129.
- [28] Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529.
- [29] Arya, S. K., Singh, A., Naidoo, R., Wu, P., McDermott, M. T., Evoy, S. (2011). Chemically immobilized T4-bacteriophage for specific *Escherichia coli* detection using surface plasmon resonance. *Analyst*, 136(3), 486-492.
- [30] European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, 16(12), e05500.
- [31] Lachenmeier, D. W., Löbell-Behrends, S., Böse, W., Marx, G. (2013). Does European Union food policy privilege the internet market? Suggestions for a specialized regulatory framework. *Food Control*, 30(2), 705-713.
- [32] Sharma, H., Mutharasan, R. (2013). Review of biosensors for foodborne pathogens and toxins. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 183, 535-549.
- [33] Burnham, P. M., Hendrixson, D. R. (2018). *Campylobacter jejuni*: collective components promoting a successful enteric lifestyle. *Nature Reviews Microbiology*, 16(9), 551-565.
- [34] Shen, Y., Xu, L., Li, Y. (2021). Biosensors for rapid detection of *Salmonella* in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 149-197.
- [35] Anonim 2021a, <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html> (21.12.2021)
- [36] Anonim 2021b, <https://www.cdc.gov/salmonella/> (21.12.2021)
- [37] Soni, D. K., Ahmad, R., Dubey, S. K. (2018). Biosensor for the detection of *Listeria monocytogenes*: emerging trends. *Critical Reviews in Microbiology*, 44(5), 590-608.

Gıda güvenliği ve sağlık alanında patojen mikroorganizmaların tespitine yönelik SPR biyosensör uygulamaları

- [38] Anonim 2021c, <http://www.bccdc.ca/health-info/diseases-conditions/bacillus-cereus#:~:text=Definition,ingestion%20of%20the%20contaminated%20food> (21.12.2021)
- [39] Harris, A. (2016). Clostridium botulinum. Encyclopedia of Food and Health, 141–145.
- [40] Lund, B. M., Peck, M. W. (2013). Clostridium botulinum. Guide to Foodborne Pathogens, 91–111.
- [41] Kadariya, J., Smith, T. C., Thapaliya, D. (2014). Staphylococcus aureus and staphylococcal foodborne disease: an ongoing challenge in public health. BioMed Research International, 2014.
- [42] Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiology Reviews, 36(4), 815-836.
- [43] Fetsch, A., Johler, S. (2018). Staphylococcus aureus as a foodborne pathogen. Current Clinical Microbiology Reports, 5(2), 88-96.
- [44] Velusamy, V., Arshak, K., Korostynska, O., Oliwa, K., Adley, C. (2010). An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. Biotechnology Advances, 28(2), 232-254.
- [45] Wei, D., Oyarzabal, O. A., Huang, T. S., Balasubramanian, S., Sista, S., Simonian, A. L. (2007). Development of a surface plasmon resonance biosensor for the identification of Campylobacter jejuni. Journal of Microbiological Methods, 69(1), 78-85.
- [46] Zhang, X., Kitaoka, H., Tsuji, S., Tamai, M., Kobayashi, H., Honjoh, K. I., Miyamoto, T. (2014). Development of a simultaneous detection method for foodborne pathogens using surface plasmon resonance biosensors. Food Science and Technology Research, 20(2), 317-325.
- [47] Farka, Z., Juřík, T., Pastucha, M., Skládal, P. (2016). Enzymatic precipitation enhanced surface plasmon resonance immunosensor for the detection of Salmonella in powdered milk. Analytical Chemistry, 88(23), 11830-11836.
- [48] Vaisocherová-Lísalová, H., Višová, I., Ermini, M. L., Špringer, T., Song, X. C., Mrázek, J., Lamačová, J., Lynn Jr., N.S., Šedivák, P., Homola, J. (2016). Low-fouling surface plasmon resonance biosensor for multi-step detection of foodborne bacterial pathogens in complex food samples. Biosensors and Bioelectronics, 80, 84-90.
- [49] Khateb, H., Klös, G., Meyer, R. L., Sutherland, D. S. (2020). Development of a label-free LSPR-apta sensor for Staphylococcus aureus detection. ACS Applied Bio Materials, 3(5), 3066-3077.
- [50] Erickson, D., Mandal, S., Yang, A. H., Cordovez, B. (2008). Nanobiosensors: optofluidic, electrical and mechanical approaches to biomolecular detection at the nanoscale. Microfluidics and Nanofluidics, 4(1-2), 33-52.
- [51] Altintas, Z., Uludag, Y., Gurbuz, Y., Tohill, I. E. (2011). Surface plasmon resonance based immunosensor for the detection of the cancer biomarker carcinoembryonic antigen. Talanta, 86, 377-383.
- [52] Puiu, M., Bala, C. (2016). SPR and SPR imaging: Recent trends in developing nanodevices for detection and real-time monitoring of biomolecular events. Sensors, 16(6), 870.
- [53] Shi, L., Sun, Q., He, J. A., Xu, H., Liu, C., Zhao, C., Xu, Y., Wu, C., Xiang, J., Gu, D., Long, J., Lan, H. (2015). Development of SPR biosensor for simultaneous detection of multiplex respiratory viruses. Biomedical Materials and Engineering, 26(1), 2207-2216.

- [54] Wang, D. B., Bi, L. J., Zhang, Z. P., Chen, Y. Y., Yang, R. F., Wei, H. P., Zhou, Y.F., Zhang, X. E. (2009). Label-free detection of *B. anthracis* spores using a surface plasmon resonance biosensor. *Analyst*, 134(4), 738-742.
- [55] Baccar, H., Mejri, M. B., Hafaiedh, I., Ktari, T., Aouni, M., Abdelghani, A. (2010). Surface plasmon resonance immunosensor for bacteria detection. *Talanta*, 82(2), 810-814.
- [56] Wang, Y., Knoll, W., Dostalek, J. (2012). Bacterial pathogen surface plasmon resonance biosensor advanced by long range surface plasmons and magnetic nanoparticle assays. *Analytical Chemistry*, 84(19), 8345-8350.
- [57] Struck, A. W., Axmann, M., Pfefferle, S., Drosten, C., Meyer, B. (2012). A hexapeptide of the receptor-binding domain of SARS corona virus spike protein blocks viral entry into host cells via the human receptor ACE2. *Antiviral Research*, 94(3), 288-296.
- [58] Zidane, F., Zeder-Lutz, G., Altschuh, D., Girardet, J. M., Miclo, L., Corbier, C., Cakir-Kiefer, C. (2013). Surface plasmon resonance analysis of the binding mechanism of pharmacological and peptidic inhibitors to human somatic angiotensin I-converting enzyme. *Biochemistry*, 52(48), 8722-8731.
- [59] Choi, Y. H., Lee, G. Y., Ko, H., Chang, Y. W., Kang, M. J., Pyun, J. C. (2014). Development of SPR biosensor for the detection of human hepatitis B virus using plasma-treated parylene-N film. *Biosensors and Bioelectronics*, 56, 286-294.
- [60] Nguyen, V. T., Seo, H. B., Kim, B. C., Kim, S. K., Song, C. S., Gu, M. B. (2016). Highly sensitive sandwich-type SPR based detection of whole H5Nx viruses using a pair of aptamers. *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 293-300.
- [61] Chang, Y. F., Wang, W. H., Hong, Y. W., Yuan, R. Y., Chen, K. H., Huang, Y. W., Lu, P.L., Chen, Y.H., Chen, Y.M.A., Su, L.C., Wang, S. F. (2018). Simple strategy for rapid and sensitive detection of avian influenza A H7N9 virus based on intensity-modulated SPR biosensor and new generated antibody. *Analytical Chemistry*, 90(3), 1861-1869.
- [62] Shang, J., Ye, G., Shi, K., Wan, Y., Luo, C., Aihara, H., Geng, Q., Auerbach, A., Li, F. (2020). Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*, 581(7807), 221-224.
- [63] Brielle, E. S., Schneidman-Duhovny, D., Linial, M. (2020). The SARS-CoV-2 exerts a distinctive strategy for interacting with the ACE2 human receptor. *Viruses*, 12(5), 497.