



GIDA PATOJENLERİNİN BİYOKONTROLÜNDE BAKTERİYOFAJ UYGULAMALARI*

Merve Akpınar **, A. Kadir Halkman

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / *Received*: 06.08.2019; Kabul / *Accepted*: 09.11.2019; Online baskı / *Published online*: 15.11.2019

Akpınar, M., Halkman, A. K. (2019). Gıda patojenlerinin biyokontrolünde bakteriyofaj uygulamaları *GIDA* (2019) 44 (6): 1106-1120 doi: 10.15237/gida.GD19133

Akpınar, M., Halkman, A. K. (2019). Application of bacteriophages for biocontrol of food pathogens GIDA (2019) 44 (6): 1106-1120 doi: 10.15237/gida.GD19133

ÖZ

Gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojenlerin antibiyotiklere gittikçe direnç kazanması, gıda kaynaklı vakaların sayısının artması ve gıda endüstrisindeki kullanılan klasik yöntemlerin yetersiz hale gelmesiyle birlikte yeni alternatif arayışlara başlanmıştır. Bu arayışların sonucunda doğada oldukça yaygın olarak bulunan ve kendilerine özgü konakçıları enfekte edip lize edebilen bakteriyofajlar “faj terapisi” adı altında alternatif çözümleri oluşturmaktadır. Bakteriyofajlar, bakterilerin hücre içi zorunlu parazitleri olup konakçıdan ayrıldıklarında metabolik faaliyetlerini gerçekleştiremezler. Ayrıca sadece hedef konakçısı üzerinde etkili oldukları için doğal flora zarar vermezler. Bu nedenle antimikrobiyel ajan olarak önem kazanırlar. Bu derlemede, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 gibi gıda patojenlerine karşı antimikrobiyel ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan bakteriyofajlar hakkında bilgi verilmesi hedeflenmektedir.

Anahtar kelimeler: Bakteriyofaj, faj terapisi, antimikrobiyel ajan

APPLICATION OF BACTERIOPHAGES FOR BIOCONTROL OF FOOD PATHOGENS

ABSTRACT

As the pathogens causing foodborne diseases become increasingly resistant to antibiotics, the number of foodborne cases increased and the traditional methods used in the food industry became insufficient, new alternatives were started to be searched. As a result of these searches; bacteriophages, which are very common in nature and capable of infecting and lysing their own hosts, constitute alternative solutions called “phage therapy”. Bacteriophages are intracellular obligatory parasites of bacteria and can not perform metabolic activities when separated from the host. In addition, they do not harm the natural flora as it only acts on the target host. Therefore, they become important as antimicrobial agents. In this review, it is aimed to give information about bacteriophages which are widely used as antimicrobial agents against food pathogens such as *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157: H7.

Keywords: Bacteriophages, phage therapy, antimicrobial agent

* Bu çalışma, sorumlu yazarın YL tezinin bir bölümüdür / *This paper is a part of corresponding author's M.Sc thesis*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉ merveakpinar@ankara.edu.tr

☎ (+90) 312 203 3300/3631

☎ (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

Gıda zincirine patojen mikroorganizmaların girişinin engellenmesi ve salgınların önlenmesi için işlem ve hasat öncesi patojenlerin eliminasyonu önemli bir rol oynar. Her yıl milyonlarca insanın patojen bulaşmış gıdaları tüketmesi nedeniyle hastalanmadan ölüme kadar giden vakalar meydana gelmektedir. Örneğin WHO (2019), tahminen 600 milyon kişi yani dünyadaki yaklaşık her 10 kişiden 1'inin patojen bulaşması olmuş gıdaları tükettikten sonra hastalandığını ve her yıl yaklaşık 420 bin kişinin öldüğünü bildirmiştir. Ayrıca sadece ABD'de yıllık olarak yaklaşık 48 milyon hastalık, 128 bin hastaneye yatış ve 3 bin ölümün meydana geldiği yine kayıtlarla bildirilmiştir (Pires vd., 2017). Hasat, kesim, sağım, işleme, paketlenme, depolama gibi aşamalarda gıdalara bulaşan *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* gibi patojen bakterilerin neden oldukları gıda kaynaklı enfeksiyonlar, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (García vd., 2008). Son yıllarda gelişen teknoloji, doğru (iyi) hijyen uygulamaları (GMP), HACCP ve risk değerlendirme gibi uygulamalara rağmen gıda kaynaklı hastalıklarda artış görülmektedir (Seçkin ve Baladura, 2010). Çiftlik hayvanlarında hijyenik kontrol, aşılama, antibiyotikler, prebiyotikler, probiyotikler ve simbiyotikler gibi yem takviyeleri içeren mevcut önleyici yöntemlerden hedeflenen başarılı sonuçlar alınamamıştır ve gıdalarda özellikle bakteriyel sayının indirgenmesi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlara dayalı bir çok yöntem geliştirilmiştir. Ancak bu uygulamalar sonucunda toksisite, kaliteyi olumsuz yönde değiştirme, yüksek maliyet gibi dezavantajlar ortaya çıkmıştır (Wong vd., 2014; Duc vd., 2018). Örneğin yapılan araştırmalarda piliç karkası dekontaminasyonunun önemini anlaşılmasıyla, laktik asit çözeltisi yanında kalsiyum hipoklorit, hidrojen peroksit ve radyasyon kullanımlarının yanı sıra greyfurt çekirdeği ekstraktı gibi doğal ürünlerin kullanımı gibi fiziksel ve kimyasal yöntemler denenmiştir. Ancak kimyasal koruyucular kullanılmadan gıda güvenliği endişelerini tamamen dindirecek bir yöntem geliştirilememiştir (Woolston ve Sulakvelidze, 2015).

Bunun yanı sıra, çeşitli antibiyotiklerin uygun olmayan kullanımı nedeni ile antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkması, oldukça büyük endişe yaratmaktadır ve kullanımı daha kısıtlı ilaçların geliştirilmesiyle birlikte özellikle Gram negatif patojenlere karşı kullanılan antibiyotik devrinin sonuna yaklaşıldığı bildirilmektedir (Hanlon, 2007; Shin vd., 2012). Bu nedenle antibiyotiğe dirençli patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların önüne geçebilmek adına da alternatif arayışlara başlanmıştır (Hanlon, 2007; Yıldızlı, 2015).

Tüketicilerin minimum işlem görmüş ve kimyasal madde içermeyen ürün talebi doğrultusunda gıdaların patojenlerden arındırılması için ve hem tüketici talepleri hem de halk sağlığını korumak için alternatif kontrol yöntemlerine gereksinim duyulmaktadır (Zinno vd., 2014; Cufaoglu ve Ayaz, 2019).

Bu derlemenin amacı patojenlere karşı biyokontrol amacıyla kullanılan ve son zamanda yaygın kullanım alanı bulan bakteriyofajlar hakkında güncel bilgi vermektir.

BIYOKONTROL

Biyokontrol ya da biyolojik kontrol, genel anlamıyla insan dışındaki organizmalarla patojenlerin etkisini ve/veya popülasyon yoğunluğunun azaltarak hastalığın kontrolü anlamına gelir. Uygulamada yüzlerce farklı örnek vardır. Asıl olarak bitkisel üretim aşamasında yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bunların en çok bilineni *Bacillus thuringiensis* olup sinekler, kovan zararlıları ve hatta orman zararlıları gibi pek çok istenmeyen türe karşı başarıyla kullanılmaktadır. Bu bakterinin zararlılara karşı toksik olan kristal protein üreten geni, mısır bitkisine aktararak mısır koçan kurduna karşı büyük başarı elde edilmiştir (Genetiği değiştirilmiş organizma). Kimi kaynaklar tarafından istilacı olarak tanımlanmasına karşı *Gambusia* türü balıklar, sivrisinek larvalarını yiyerek sıtmanın kontrol altına alınmasına destek olmaktadır (Coşkuntuncel Öztemiz, 2008; Uygun vd., 2010).

Gıda patojenlerine karşı umut vadeden bir başka mikroorganizma olan *Bdellovibrio bacteriovorus*,

Gram negatif, obligat aerob ve çok sayıda insan patojeninin de dâhil olduğu diğer Gram negatif bakterilere karşı predatör karakterli bir bakteridir. İnsan bağırsak sistemi de dâhil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunur. Hücre içine girdikten sonra hücre bileşenleri ile beslenir, orada çoğalır ve lizis sonunda ortama yayılır (Im vd., 2018).

Her ne kadar başta peynir olmak üzere laktik starter kültürlerin kullanıldığı çeşitli süt ürünleri üretiminde, bakteriyofajlar (fajlar) starter kültüre saldırarak ürün kayıplarına yol açsa da (Tunail, 2009), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* gibi gıda patojenlerinin baskılanmasında bakteriyofaj uygulamaları giderek yaygınlaşmaktadır. Gıda güvenliğinin sağlanması için gıdalarda patojen bakterilere karşı bakteriyofajların kullanılması, en umut verici sistemlerden biri olmasının yanında bakteriyofajlar, gıda teknolojisinde engeller teknolojisinin daha karmaşık ve istenen uygulamalarında kullanımına da açıktır. Ayrıca yapılan çalışmalarda, hem sıvı hem de katı gıdalarda patojenleri kontrol etmede başarıyla kullanılması bu uygulamanın umut verici olduğunu göstermiştir (Ataman vd., 2019; El-DougDoug vd., 2019).

BAKTERİYOFAJLAR

Bakteriyofajlar, ilk kez 1915 yılında Frederick Twort tarafından keşfedilmiş, ardından 1917'de Félix Hubert d'Herelle tarafından tam olarak tanımlanmış olan konakçı hücrelerini enfekte edebilen bakteriyel virüslerdir (Summers, 2016). Küfleri enfekte eden virüsler ise mycophage olarak adlandırılır. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) tarafından belirlenmiş kurallara göre sınıflandırılırlar (Chibani vd., 2019).

Fajlar, doğada en çok bulunan biyolojik varlıklardan biri olmakla birlikte izole edilen fajların toplam faj topluluğunun oldukça küçük bir kısmını temsil ettiği kabul edilmektedir. Spesifik konakçısı mevcut olduğu sürece amplifikasyonları doğal olarak gerçekleşir ve kendi kendilerini çoğaltıp sınırlarlar (Wong vd., 2014). Potansiyel terapötik (tedavi edici) ajan olarak kullanımları 20. yüzyılın ortalarına kadar

dayanmaktadır ve bunun yanı sıra moleküler biyoloji de dâhil olmak üzere birçok bilim alanına katkı sağlamıştır (Mahony vd., 2011; Grant vd., 2016). Ancak 1940'lı yıllarda faj terapisinin, tekrar edilebilirliğinin düşük olması ve değişken sonuçlar vermesi, faj biyolojisi hakkındaki bilgi eksikliği ve ayrıca daha fazla antimikrobiyel kimyasalların geliştirilmesi ve kullanımının tercih edilmesiyle fajların terapötik amaçla kullanımları azalmıştır (Kropinski, 2018). Günümüzde ise ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkması ile birlikte faj uygulamaları tekrar gündeme taşınıp son zamanlara ait çalışmaların konusu olmuştur (Nobrega vd., 2015; Grant vd., 2016).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarla, fajların insanlarda toksik olmadığı, güvenilir olduğu ve yüksek seviyelerde bile oral olarak tüketiminin zararsız olduğu kanıtlanmıştır (Miedzybrodzki vd., 2012). Fajların insanlar üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmaları ilk olarak başlatan d'Herelle olmuştur. d'Herelle hazırladığı faj preparatını çevresindeki insanlar üzerinde denemiş ve hiçbir denek üzerinde hastalık belirtisine rastlamamıştır (Tayyarcan, 2017). Bundan başlayarak fajların güvenliği üzerine pek çok geniş çaplı araştırmanın devamı gelmiş ve olumsuz etki oluşturduğuna dair bir veri bulunamamıştır. Aynı zamanda insan ağız florasından içme sularına, gıdalardan memelilerin dışkı florasına kadar doğal olarak bulunması şüpheleri azaltmaktadır. Yine yapılan çalışmalarda, *E. coli* fajlarının hem insanlarda hem de farelerde anlamlı bir etki göstermediği bildirilmiştir (Hagens ve Loessner, 2010). Fajlar, insan dâhil memeli hayvanları enfekte edememekle birlikte her bir fajın büyük bir özgüllükle spesifik hedef bakteriyi enfekte ettiği bilinmektedir. Bakteriyofajlar yalnızca kendine özgü bakterileri hedef alır ve normal bağırsak mikroflorasını etkilemez. Örneğin *Salmonella*'ya spesifik olan ST27, ST29 ve ST35 fajları, *Salmonella* serovarlarının dış yüzeyinde bulunan TolC reseptörleriyle bağlandığı ve bu reseptörlerin diğer *Enterobacteriaceae* türlerine karşı aktivite göstermediği literatürde yer almaktadır (Grant vd., 2016). Etki mekanizmaları mevcut tüm antibiyotiklerden tamamen farklıdır ve bu nedenle çoklu antibiyotik direnci sergileyen bakterilere karşı bile etki gösterirler (Hanlon,

2007). Bu özelliklerinden dolayı günümüzde kullanılan geniş spektrumlu antibiyotik yaklaşımların tam tersine doğal mikrofloraya zarar vermeyen, çevresel olarak zararsız ve gıdaların organoleptik özelliklerine zarar vermeyen yapılarıdır (Guenther vd., 2012).

Fajların, bakterilerin genom dizilimlerinde farklılığa neden olabilecekleri ve patojeniteyi etkileyebilecekleri de ortaya konulmuştur (Hanlon, 2007). Gıda zincirinde bakteriyofajların uygulanması “çiftlikten sofraya” başlığı altında canlı hayvan uygulamalarında hastalıkların önlenmesinden, işleme sırasında kontaminasyonun önlenmesi amacıyla temas yüzeylerinin dezenfeksiyonuna ve doğal biyokoruyucu olarak kullanım ile raf ömrünün artırılmasına kadar her aşamada gerçekleştirilebilmektedir (Şanlıbaba ve Uymaz, 2015). Etkin bir biçimde biyokontrolün sağlanması için her bir hedef patojene özgü fajın belirlenmesi gereklidir. Her biri bir veya daha fazla bakteri türünü enfekte edebilen binlerce faj vardır (Rogers, 2019). Örneğin Komora vd. (2018) çalışmasında, FGCSSa1 fajının sekiz farklı *Salmonella* serovarında litik etki gösterirken *E. coli* üzerinde litik etki göstermediğini; FGCSSa2 fajının ise sekiz farklı *Salmonella* serovarından sadece üçünde litik etki gösterirken yine *E. coli* üzerinde etki göstermediğini bildirmiştir.

Fajlar, bakterilerin gelişebildiği, insan ve hayvan intestinal sistemi de dâhil olmak üzere yeraltı ve yüzey suları, toprak, atık sular, okyanus suları ve birçok gıda matrisinde gelişebilir ve böylece doğadan kolayca izole edilebilirler (Salmond ve Fineran, 2015; Pires vd., 2017). Örneğin Son vd. (2018) çalışmasında, sığır bağırsaklarından *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı 4 farklı litik faj (PE31, PE37, PE128, ve PE160) izole etmiştir. Wong vd. (2014), kanatlı dışkılarından litik etkiye sahip ve sadece *S. Typhimurium* üzerinde değil diğer serotipler üzerinde de litik etki gösteren Φ st1 fajını izole etmiştir. Bunların yanı sıra izolasyonları ile ilgili yapılan çalışmalarda kanatlı ve diğer et ürünleri, soğutulmuş ve dondurulmuş yengeç eti, peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünleri ile marul gibi gıdalardan da izole edildiği bildirilmiştir. Atık sulardan *S. Typhimurium*, *S.*

Enteritidis, *S. Kentucky* ve *S. Typhi* serovarları üzerinde etkili ve aynı morfolojiye sahip 3 farklı faj izole edilmiştir (Mahmoud vd., 2018). Duc vd. (2018) çalışmasında *Salmonella* serotipleri üzerinde litik etki gösteren 18 farklı fajı çığ kanatlı etinden izole etmiştir. LISTEXTM P100 ticari faj preparatı Almanya'daki süt işletmesinden izole edilmiş olup bütün çığ ve tüketime hazır gıdalarda 10^9 POB/g (plak oluşturan birim; plaque forming unit: PFU) düzeyini aşmamak kaydıyla kullanılmasına izin verilmektedir. Yine ticari bir ürün olan ListShield™ ise Amerika'da Baltimore kıyı sularından izole edilmiş olup altı adet farklı *Listeria* fajı kokteylden oluşmaktadır (Şanlıbaba ve Uymaz, 2015).

Taze ve/veya işlenmiş et ve et ürünlerinde 10^8 POB/g kadar faj bulunduğu ve bunların gıdalarla birlikte tüketildiği gösterilmiştir. Bu nedenle bakteriyofajlar, gıdaların doğal mikroflorası olarak görülmektedir (Carlton vd., 2005). *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* gibi patojenlere karşı litik aktivite gösteren fajların izolasyonu kolaylıkla gerçekleştirilse bile bazı türlere spesifik fajların izolasyonlarının zor olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (Nobrega vd., 2015).

Bakteriyofajların Yapısı

Virüslerin genel özelliklerini taşıyan bakteriyofajlar, genetik materyal olarak DNA veya RNA içerirler ve proteinden oluşurlar ve sadece bir kısmı lipit içerir. Kendi metabolik sistemleri olmadığı için hiçbir genetik bilgiyi üretmezler, ribozomları bulunmadığı için protein sentezleyemezler ve konakçı hücreden ayrıldıktan sonra metabolik faaliyetlerini gerçekleştiremezler. Bütün virüsler gibi sadece enfeksiyon durumunda çoğalabilirler (Gökçe, 2010; Jończyk vd., 2011; Gümüştaş 2015).

Genel olarak bir faj baş, boyun, kuyruk ve kuyruk uzantılarından oluşur. Fajların hepsinde çift sarmallı (ds) veya tek sarmallı (ss) genom (DNA veya RNA), kapsit adı verilen protein veya lipoprotein yapısındaki kılıf içerisinde bulunur. Ağırlıklarının yaklaşık olarak %60'ı protein ve %40'ı nükleik asittir. Farklı morfolojik özelliklerde olan fajlar, farklı protein yapılarına sahip olup her canlı gibi antijenik özellikleri, bu

proteinlere bağlıdır (Salmond ve Fineran, 2015). Faj, konakçısına rastladığında protein, oligosakarit, teikoik asit, peptidoglikan ve lipopolisakarit dahil olmak üzere çok çeşitli hücre yüzey bileşenlerinden herhangi biri olan spesifik reseptör bölgeleri aracılığıyla konakçısına bağlanır (Hanlon, 2007). Faj kuyruk ucu proteinleri (Tsp) ile konakçı reseptörleri arasındaki etkileşim spesifikliği sağlamaktadır (Hodgson, 2013). Faj enfeksiyonu, konakçı içerisinde fajların amplifikasyonu ile başlayıp bakteri hücresinin lize olması ve yeni fajların ortama salınmasıyla tamamlanır. Ortama salınan hücre içi içerik birçok bileşen içermekle birlikte seçici olanları bakteri tespitinde de kullanılabilir (Richter vd., 2018).

Bakteriyofajların Yaşam Döngüleri

Bakterilerin zorunlu hücre içi parazitleri olan fajlar, litik ve lizogenik olmak üzere iki farklı yaşam döngüsüne sahiptirler. Litik yaşam döngüsünü gerçekleştiren fajlara virulent faj, lizogenik yaşam döngüsünü gerçekleştiren fajlara ise ılımlı faj denilmektedir. Fajın penetrasyon aşamasından sonra gösterdiği çoğalma stratejisi, yaşam döngüsünü belirler (Salmond ve Fineran, 2015). Adsorbsiyon aşamasıyla başlayıp konakçının hücre duvarının lizin enzimleriyle zedelenip yeni fajların ortama salınmasıyla tamamlanan döngüye litik döngü denilmektedir. Penetrasyon aşamasından sonra fajın genetik materyalinin konakçının kromozomuna rekombinasyon yoluyla girdiği yani hem fajın hem bakteri DNA'sının eş zamanlı olarak replike olduğu ve lizis aşamasının meydana gelmediği döngü ise lizogenik döngü olarak anılır (Gökçe, 2010; Seçkin ve Baladura, 2010).

Fajlar çoğalabilmek için konakçısına ihtiyaç duyarlar. Çoğalmaları adsorbsiyon, penetrasyon, latent dönem ve lizis olmak üzere dört aşamadan oluşur. Fajların konakçıları üzerinde meydana getirdikleri enfeksiyon, fajın hedef bakterinin yüzeyine bağlandığı adsorbsiyon aşamasıyla başlar. Eğer adsorbsiyon aşaması engellenirse enfeksiyon gerçekleşemez ve konakçı gelişmeye devam eder. Konakçıya olan özgüllüğün belirlendiği en önemli aşama olmakla beraber gerçekleşmesi için triptofan gibi organik

kofaktörlerin ortamda olması, iyonik ortam, sıcaklık ve pH gibi faktörlerin etkisi bulunmaktadır. Ayrıca Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi spesifik kofaktörlerin hem bakteri hem de fajın negatif elektrik yüklerini nötralize edip adsorbsiyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir. Kuyruklu fajlar için fibril, kuyruk plağı gibi adsorbsiyon yapıları konakçı hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanır ve bunlardan herhangi birinin mutasyonu, belirli bir fajın adsorbe edilme kabiliyetini olumsuz etkiler. Bu proses, büyük ölçüde fajlarda bulunan RBPs (receptör-binding proteins) özgüllüğüne bağlıdır (Adams, 1959; Acar Soykut, 2007; Gümüştas, 2015; Yüksel vd., 2016). O'Flynn vd. (2004), çalışmasında, konakçının reseptör modifikasyonuna bağlı olarak *E. coli* O157:H7 için spesifik üç fajın diğer *E. coli* suşları üzerinde etkili olmadığını göstermiştir. Bütün bakteriyofajlar için spesifik olarak genetik materyalin konakçıya aktarılması penetrasyon aşamasında gerçekleştirilir. Konakçı ribozom ve mitokondrisinin kullanılarak faj genetik materyalinin ve koruyucu protein kılıfının çoğaltılması latent dönemde gerçekleştirilir. Bu dönemde konakçı içerisindeki faj partikülü sayısı zamanla artar. Sadece virulent fajlarda gerçekleşen ve endolizin enzimlerinin konakçının hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasını parçalaması ve yeni enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahip fajların ortama salındığı aşama lizis olarak tanımlanır (Wong vd., 2014). Holinin hücre zarını bozması, endolizinin ise hücre duvarını sindirmesinin etkisiyle fajlar konakçılarından ayrılır (Hodgson, 2013). Terapötik uygulamalarda başlangıçtaki faj-konakçı konsantrasyonunun belirlenmesi için döngünün tek bir aşamasındaki büyüme eğrilerinin oluşturulması önem kazanmaktadır (Acar Soykut, 2007).

GIDA GÜVENLİĞİNDE ALTERNATİF ARAYIŞ

Gıda zincirinde, gıda güvenliğini artırabilen ürünler talep edilmektedir. Fajlar üretim, depolama ve dağıtım sırasında biyolojik bir alternatiftir. Bu nedenle patojenlerle kontamine olmuş gıdalarda faj uygulamaları ilgili bazı yaklaşımlar bulunmaktadır (Ramirez vd., 2018). İlk olarak kesim sırasında patojenlerin karkasa bulaşmasını önlemek ya da önemli ölçüde

azaltabilmek için hayvanlara kesim öncesi faj uygulamaları önerilmektedir. Konuyla ilgili olarak literatürde kümes hayvanlarının intestinal sistemlerinde yaklaşık 2 log indirgemenin piliç eti tüketimiyle ilişkili *Campylobacter* enfeksiyonlarında yaklaşık 30 kat azalma meydana getireceği yer almaktadır (Pires vd., 2017). Sklar ve Joerger (2001), piliç etlerinde *Salmonella* enfeksiyonunu kontrol altına almak için faj uygulamış ve etlerde 0.3-1.3 log birim bir indirgeme sağlamıştır. Benzer şekilde patojenik *E. coli* kaynaklı ishali buzağı ve domuzlarda faj uygulamalarından sonra 8 saat içinde iyileşme görülmüş ve elde edilen sonuçlar, umut verici olarak yorumlanmıştır (O'Flynn vd., 2004).

Bir diğer yaklaşım ise işletmelerde çapraz kontaminasyon kaynaklı tehlikeleri önlemek için kullanılan kimyasal dezenfektanların ekipmanları aşındırması, kimyasal kalıntıların toksik etkileri gibi dezavantajlarına alternatif olarak yüzeylerde faj biyosanitasyonunu sağlamaktır. *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 de dâhil olmak üzere çeşitli patojenlerin indirgenmesinde önemli sonuçların elde edildiği bildirilmiştir (Duc vd., 2018).

Ayrıca endüstriyel üretim sırasında taze ürünler, etler hatta çiğ sütlere doğrudan uygulanmasıyla biyokontrolün oldukça yüksek oranlarda sağlanabildiği bildirilmektedir. Bir çalışmada, henüz *L. monocytogenes* ile kontamine olmayan kavunlara 0-1 saat arası faj uygulamasının etkili bir yöntem olduğu, doğrama sırasında veya sonrasında paketlenme aşamasında oluşabilecek kontaminasyonlara karşı etkisinin olduğu kanıtlanmış ve böylece faj uygulamasının doğru zamanının önemi gösterilmiştir. Fajın, kontaminasyon anında veya 0.5 saat önce uygulanması ile patojen gelişmesinin 10 °C'ta 7 günlük depolama süresinde bile inhibe edilebileceği de ifade edilmiştir (Leverentz vd., 2004).

ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention; CDC), gıda kaynaklı patojenlerden kaynaklı ölüm ve patojenlerin nedeni olarak en çok *L. monocytogenes*, *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7'yi

göstermiştir. Yapılan son çalışmalara göre, bakteriyofajların indirgeyici etkisi belirlenmiş ve bu nedenle gıdalarda patojenlerin indirgenmesi ve yok edilmesine karşı bakteriyofajların kullanımı en çok bu bakterilerin üzerine yoğunlaşmıştır (CDC, 2019).

Gıda Patojenlerine Karşı Faj Uygulamaları

Fajların geniş spektrumlu antimikrobiyellere göre en önemli avantajı, karışık popülasyondaki belli bir tür veya cinse spesifik oluşudur. Sahip oldukları bu spesiflik sayesinde fajların gıda işleme ve paketlenmede kullanımları çekici hale gelmektedir. Ayrıca antimikrobiyel ajanlar birçok gıda ürünün tat, koku ve tekstürünü olumsuz bir şekilde etkilerken gıdaların yapısında doğal olarak da bulunan fajların herhangi bir olumsuz etkisi bulunmamaktadır (Leung vd., 2018).

Fajla muamelelerden önce hedef bakteriyi belirlemek önem kazanmaktadır. Ayrıca bazı *Salmonella* fajları da dâhil olmak üzere geniş konakçı aralığına sahip fajların da bulunduğu belirtilmiştir (Huang vd., 2018). Liu vd. (2015), farklı fajların *E. coli* O157:H7 üzerindeki lize edebilme kabiliyetleri arasında T5 fajının denenen tüm sıcaklıklarda en etkili olduğunu bildirmiştir. Hong vd. (2014) ise çalışmasında, T5 fajının benzeri olan FFH2, FFH1, FFH3 fajlarının hedef patojeni sırasıyla 4.48, 1.24 ve 0.48, 1.97 ve 0.56 log KOB/mL indirgediğini bildirmiştir.

Salmonella'nın tanımlanan 2600'den fazla serotipinden özellikle *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* insan enfeksiyonuyla ilişkilendirilmekte ve faj tedavileri, hem tarımsal üretimde hem de gıda işletmelerinde bu serotipler için çalışılmaktadır (Pao vd., 2004). Örneğin *Salmonella* serotiplerine spesifik st104a ve st104b fajları konakçısına enfeksiyonundan 1 saat sonra hücre sayısını 2 log kadar düşürdüğü bildirilmiştir. Yine benzer olarak W25 fajının 24 saat içinde *S. Typhimurium* konakçısını 2.19 log indirdiği rapor edilmiştir (Shin vd., 2012). Modi vd. (2001) çedar peynirinde, Leverentz vd. (2001) kavunda, Pao vd. (2004) tavuk derisi ve hardal tohumlarında faj uygulamalarının *Salmonella* yükünde indirgeme meydana getirdiğini çalışmalarında göstermişlerdir.

Fajlar en verimli olarak buldukları spesifik ortamlarda çoğalıp geliştikler ve adapte oldukları için biyokontrol uygulamalarında iyi bir faj performansının sağlanabilmesi için fajların ait oldukları ve bulunma olasılıkları yüksek olan spesifik ortamlardan izolasyonu önem kazanmaktadır (Boyd ve Brüssow, 2002). Fajlar çevreden izole edilmekle birlikte kullanılmadan önce bir takım optimizasyon ve karakterizasyon işlemlerinden geçirilir. Shin vd. (2012) çalışmasında, 25 yeni fajın izolasyonunu gerçekleştirip, reseptörlerini belirlemiş ve konakçı özgüllüklerini incelemiş ve flagella, O antijeni ve dış membran proteini BtuB olmak üzere sadece üç reseptör tanımlamıştır.

Duc vd. (2018), izole ettiği fajlardan SEG5 fajının 22 farklı *Salmonella* serovarı içinden 16'sını lize edip yaklaşık olarak %73'lük bir oranda geniş bir konakçı aralığı sergilediğini belirlemiştir. Yine izole ettiği fajların 2 ve 4 saatlik inkübasyonlar sonunda *S. Enteritidis* yükünde sırasıyla 2.2 ve 3.7 log indirgeme meydana getirdiği ve 24 saat sonunda ise tespit edilebilir limitin altında olduğunu, *S. Typhimurium* üzerinde ise sırasıyla 2.8, 4.9 ve 4.2 log indirgeme olduğunu göstermiştir. El-DougDoug vd. (2019), *S. Newport* üzerinde litik etki gösteren 4 fajı kanalizasyon sularından izole etmiş ve kokteyl halinde cherry domatesler üzerine uygulayarak *S. Newport*'un gelişme etkinliğini incelemiş, faj konsantrasyonuna göre 2-4 log kadar önemli bir indirgeme sağladığını göstermiştir. Wong vd. (2014) çalışmasında, Φ st1 fajının *S. Typhimurium* üzerinde 5-6 log, *S. Hadar* üzerinde de 1-2 log indirgeme sağladığını belirtmiştir. Böylece Φ st1'in sadece konakçı hücrelerine (*S. Typhimurium*) karşı değil aynı zamanda *S. Hadar* için de litik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Huang vd. (2018) ise, 2 saat inkübasyon sonunda LPST10, LPST18 ve LPST23 fajlarının LPST11, LPST13 ve LPST21 fajlarına göre daha yüksek bir litik kapasite göstermekle birlikte bu inkübasyon süresi sonunda *S. Typhimurium* gelişimini inhibe ettiğini belirtmiştir. Zinno vd. (2014) ise, P22 fajının *Salmonella*'ya karşı litik etkisini tüketime hazır gıdalar üzerinde incelemiş ve sütte tespit edilebilir limitin altına düştüğü, elma suyunda 3 log, enerji içecekleri ve sıvı yumurtada 2 log

indirgeme gösterdiğini kaydetmiştir. Modi vd. (2001), çedar peynirinde faj uygulamalarının *Salmonella* üzerine etkisini incelemiş ve 1.0-2.0 log indirgeme olduğunu görmüştür. Ayrıca, 89 günlük depolama sonunda test peynirlerindeki var/yok testlerinde *Salmonella* bulamamıştır. Leverentz vd. (2001), çalışmalarında taze doğranmış meyve dilimlerinde *Salmonella*'ya karşı faj uygulamalarının etkisini incelemiş ve 5 °C ile 10 °C'ta depolanan örneklerde 3.5 log indirgeme gerçekleştiğini ancak elma dilimlerinde *Salmonella* yükünde önemli bir indirgeme gerçekleşmediğini bildirmiştir. Galarce vd. (2014), çiğ ve tütülenmiş somon örneklerinde faj enfeksiyonunun *Salmonella* serotiplerine karşı indirgeme gücüne bakmış ve en büyük indirgemenin tütülenmiş somon örneklerinde depolama sıcaklığından bağımsız olarak 3.19 ve 2.82 log arası indirgeme olduğunu göstermiştir. Çiğ somon örneklerinde ise 1.96 ve 1.16 log indirgeme sağlamıştır. İki örnek arasındaki bu farkı gıda matrisindeki su içeriğine bağlı geliştiğini bildirmiştir. Geniş konakçı spektrumuna sahip F01-E2 fajının çikolata ve deniz ürünleri gibi tüketime hazır gıdalarda *Salmonella* serotiplerinin kontrolü için uygun olduğu gösterilmiş ve 24 saatlik inkübasyon sonunda 3 log indirgeme sağlanmıştır (Guenther vd., 2012).

Meyve ve sebzelerde de patojenlerin bulaşma risklerini azaltmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ramirez vd. (2018) in vivo çalışmalarını mikrokapsüllenmiş fajların domateslerin yüzeylerine püskürtülmesiyle gerçekleştirmiştir. *E. coli* O157:H7 ile aşılınmış ve 5 gün boyunca 4 °C'ta depolanan örneklerde 24 saatlik depolama sürecinden başlayarak beşinci güne kadar konakçı hücrenin sayısında önemli indirimler olduğunu bildirmiştir. Amarillas vd. (2018) çalışmasında, vB_EcoMH2W bakteriyofajını içeren ve içermeyen kitosan yenilebilir filmleri domates yüzeylerinde kullanmış ve kontrol gruplarına göre konakçılarında yaklaşık 3 log indirgeme sağladığını ve fajların önemli bir antimikrobiyel aktivite sağladığını göstermiştir. Ayrıca vB_EcoMH2W fajının yenilebilir kitosan kaplamasıyla uygulanmasının, fajların gıda yüzeylerine depolanabildiğini ortaya koymuştur. Bir başka çalışmada 8 günlük depolama sonucunda karpuz ve armut dilimlerinde, elma

dilimlerine nazaran daha büyük bir indirgemenin sağlandığı gösterilmiştir. Fajla muamele edilmiş armut dilimlerinde *L. monocytogenes* sayısında 2, 5 ve 8 günlük depolama sonucunda sırasıyla 1.00, 1.15 ve 0.62 log indirgeme olduğu belirlenmiştir (Oliveira vd., 2014).

Çizelge 1’de çeşitli gıda matrislerinde farklı fajların hedef patojenleri üzerinde meydana getirdiği indirgemeler gösterilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli gıda matrislerinde bazı fajların hedef patojenleri üzerinde meydana getirdiği indirgeme

Faj	Hedef Patojen	Gıda Matrisi	İndirgeme (log KOB/mL(g))	Kaynak
A511	<i>L. monocytogenes</i>	Dilimlenmiş pişmiş hindi göğsü	1.5	(Guenther vd., 2009)
		Karışık deniz ürünleri	2.5	
		Lahana, marul, çikolatalı süt, mozzarella peyniri	2.3 - 5.0	
	<i>S. Enteriditis</i>	Çiğ süttten yapılan peynir, pastörize süttten yapılan peynir	2.0 - 3.0	(Modi vd., 2001)
	<i>Salmonella</i> spp.	Dana kıyma	2.29	(Yeh vd., 2018)
WT45Ø	<i>S. Typhimurium</i>	Marul	1.1 - 3.9	(Bai vd., 2019)
	<i>S. Typhimurium</i>	Hıyar	0.7 - 2.8	
	<i>S. Enteriditis</i>	Çin lahanası	3.0	(Bao vd., 2015)
	<i>S. Enteriditis</i>	Kavun	2.5	(Leverentz vd., 2001)
	<i>S. Newport</i>	Hıyar	1.83	(Sharma vd., 2017)
SalmoFresh	<i>L. monocytogenes</i>	Marul	0.5 - 1.1	(Perera vd., 2015)
Listex™ P100	<i>L. monocytogenes</i>	Yumuşak Peynir	2.0 -3.0	(Şanlıbaba ve Uymaz, 2015)

Bakteriyofajlar, konakçlarına göre olumsuz çevre koşullarına daha fazla direnç gösterebilirler de sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu veya bazı iyonların varlığı ve konsantrasyonları gibi faktörler çoğalmaları, depolanabilirlikleri ve enfeksiyon oluşturmaları üzerinde etkilidir. Ayrıca DNA gibi ana yapılarının kaybı veya değişikliğe uğraması da etkinliklerini değiştirebilir (Jończyk vd., 2011). Faj enfeksiyonunun en kritik noktası konakçının spesifik reseptörüne bağlanması olduğu için reseptörlerde meydana gelen mutasyon faj direncine giden en önemli nedendir. Bakteriyofaj terapisinin farmakokinetiği, konakçı içinde çoğalıp daha sonra salındığında başlangıç dozunun üssel olarak artacağı şekildedir (Shin vd., 2012; Huang vd., 2018)

Fajlar, konakçlarına kıyasla daha geniş bir sıcaklık aralığında çoğalabilirler ve canlı kalabilirler. Fajlar hakkında yapılan birçok çalışma hedef konakçının

optimum gelişme sıcaklığı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ancak optimum indirgeme hakkında daha doğru sonuçlar alabilmek için hammaddenin hazırlandığı, gıdaların işlendiği ve depolandığı sıcaklık değerleri göz önünde bulundurulmalıdır (Milho vd., 2018). Bir çalışmada *E. coli* O157:H7 aşılansız çiğ et üzerinde 8 ve 25 °C sıcaklıkta ve farklı inkübasyon sürelerinde bu suşa özgü PE37 fajının etkisi incelenmiştir. 25 °C’ta gerçekleştirilen uygulamalarda 2, 4, 6, ve 24 saatlik inkübasyon sürelerinde sırasıyla 2.8, 3.2, 4.9 log KOB/mL ve kontrol grubuyla yakın sayıda indirgeme, 8 °C’ta ise sırasıyla 2.2, 2.3, 2.6 ve 2.1 log KOB/mL indirgeme gözlemlendiği bildirilmiştir (Son vd., 2018).

Literatürde fajların konakçı üzerine adsorbe olup enfeksiyonu başlatabilmesi için bazı aminoasitlerle iyonların ortamda bulunması gerektiği belirtilmektedir. Fajların, konakçıya

adsorbsiyonunu gerçekleştirebilmesi için ortamda Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi katyonların ve L-triptofanın bulunması gerektiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Cufaoglu ve Ayaz, 2019). Bu maddeler adsorbsiyon sırasında fajın kuyruk iplikçiklerinin açılmasına ve hücre çeperine tutunmasına yardım ederler. Örneğin farklı iki aşamada reseptöre bağlanarak konakçısına adsorbe olan T4 fajları, ortamda L-triptofan olması durumunda konakçısına daha etkin şekilde bağlanabilirken λ fajı reseptörü, ancak maltoz varlığında aktive olmaktadır (Acar Soykut, 2007).

Terapötik faj uygulamalarının etkinliği, faj konsantrasyonunun bakteri konsantrasyonuna oranına önemli ölçüde bağlıdır. Bu oran genellikle enfeksiyon çokluğu (multiplicity of infection - MOI) olarak tanımlanır ve böylece konakçı patojen başına düşen enfektif faj sayısı belirlenir ve basitçe $MOI = PFU / \text{konakçı sayısı}$ formülü ile hesaplanır.

Terapötik uygulamaların düşük MOI değerinde gerçekleştirilmesi hem düşük maliyet hem de faj preparatlarının ticarileştirilmesi anlamında avantaj sağlamaktadır (Acar Soykut, 2007; Wong vd., 2014). Bir başka çalışmada yumuşak peynirler üzerinde *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için P100 fajının etkileri incelenmiş ve etkisinin doza bağlı olduğu açıkça ortaya koyulmuştur. Düşük konsantrasyondaki faj uygulamalarının *Listeria* üzerinde yaklaşık olarak 2-3 log azalma meydana getirdiği ve bu, büyük bir indirgeme olarak görülsede tümüyle bir indirgeme sağlamadığı bildirmiştir. Ancak yüksek konsantrasyonda (3×10^9 POB/mL) uygulandığında *L. monocytogenes* hücrelerinin tamamının elimine edildiği gözlemlenmiştir. Peynirlerin yüzeyine fajın daha yüksek hacimlerde sıvı ile uygulanmasıyla P100 fajların yüzeyde daha iyi yayıldığı ve *Listeria* hücrelerinin belirlenebilir limitin altında olduğu görülmüştür. (Carlton vd., 2005)

Fajlar, türe özgü ve hızlı çoğalan biyolojik varlıklar oldukları için her durumda çok sayıda biyolojik kontrol ajanları olarak avantaj ve diğer antimikrobiyellere kıyasla daha az dezavantaj sağlar (LeLièvre vd., 2019). Antimikrobiyel ajan olarak fajlar özgüllük, güvenlik, MDR (multi-

drug-resistant) patojenlere karşı geleneksel ajanlara kıyasla önemli avantajlar sağlar. Ayrıca, faj litik enzimleri (endolisinler ve peptidoglikan hidrolazlar), enzim biyotikleri adı verilen yeni bir antibiyotik sınıfı olarak kabul edilmektedir ve ayrıca gıda güvenliği açısından talep edilen birçok özelliğe sahiptirler (Fernández vd., 2018).

Alternatif antimikrobiyel uygulamalarına duyulan ihtiyacın artmasına yönelik temel gerekçelerden biri, bakterilerin mutasyon veya yabancı DNA edinimi sonucu antibiyotiklere direnç geliştirme özelliğine sahip olmalarıdır. Bakteriyofajlar, dış zarlarındaki spesifik hücresel reseptörlere bağlanarak bakterileri yok etmesi nedeniyle mutasyon potansiyeli vardır. Ancak mutasyonlar ortaya çıkarken frekansın düşük olduğu ve mutantların çoklu kuşaklardan sonra duyarlı suşlara geri döndüğü bildirilmiştir (O'Flynn vd., 2006). Konakçı patojenlerde faj enfeksiyonuna karşı mutasyonların ortaya çıkmasıyla birlikte etkin bir faj uygulanmasındaki soru işaretlerini gidermek adına çözümler aranmıştır. Bakteri popülasyonda fajlara karşı artan dirençlerine çözüm olarak birkaç farklı spesifik faj seçimi ve kokteyl halinde uygulanması çözüm haline getirilmiştir (Toro vd., 2005; Liu vd., 2015).

Duc vd. (2018), izole ettiği fajları kokteyl halinde uygulamış ve 2, 4 ve 6 saat inkübasyon sonunda *S. Enteritidis* üzerinde sırasıyla 1.5, 1.7 ve 2.7 log, *S. Typhimurium* üzerinde ise 2.0, 1.9 ve 2.2 log indirgeme saptadığını belirtmiştir. Her iki serovarında 24 saat inkübasyon sonunda kontrol gruplarına kıyasla daha az sayıda olduğu gösterilmiştir.

Tüketime sunulacak etin *E. coli* O157:H7 ile kesim sırasında kontamine olduğu varsayılarak yeterli indirgeme için faj kokteyli uygulanmasının etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Bunun için *E. coli* O157:H7 inoküle edilen 9 örnekten 7'sinin kontrol edildiği ve 2 örnekte ise 10 KOB/mL'den daha az sayıda *E. coli* O157:H7 olduğunu rapor edilmiştir (O'Flynn vd., 2004).

Abuladze vd. (2008) ise ticari bir faj kokteyli olan EcoShield™ kullanarak, sığır etinde *E. coli* O157:H7 konsantrasyonunu 24 saat 10 °C'ta

depolama sırasında yaklaşık % 95 oranında azaltıldığını bildirmiştir.

Ramirez vd. (2018), in vitro koşullarda *E. coli* O157:H7'ye karşı bir faj kokteyli hazırlamış ve 60 dakikalık uygulama sonunda konakçı popülasyonunda 2 log azalma gözlemlendiğini bildirmiştir.

Guenther vd. (2009), füme somonları da içeren tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* enfeksiyonuna karşı uyguladığı faj kokteylinin sonucunda 2.2 log indirgeme görmüştür. Aynı şekilde Soni ve Nannapaneni (2010) çiğ somonları (LISTEX™ P100) ile muamele etmiş ve 2.3 log indirgeme olduğunu bildirmiştir.

Shin vd. (2012)'e göre, 45 farklı fajdan oluşan kokteyl *Salmonella* konakçısının sayısını 2 saat içerisinde 5 log indirmiştir ve faj kokteyli kullanımı, faja dirençli patojenlere karşı uygulanması yanı sıra konakçı aralığını da genişletmektedir. Fajlar arasındaki rekabetçi etkileşim, etkin bir kokteyl tasarlanmasını zorlaştırırsa bile bakteriyofajlar bakteri yüzeyindeki spesifik reseptörlere yapışarak bir suşu veya yakın ilişkili bakteri suşlarını hedef almalarına izin verir (Heringa, 2008).

Bakteriler antibiyotiklere direnç kazandığı gibi fajlara da direnç kazanmaktadır, ancak bakteriler özel faj savunma mekanizmaları geliştirirken, fajlar da sürekli olarak bu değişen konakçı sistemleri enfekte etmek için adapte olmaktadır (Akhtar vd., 2014; Mutlu, 2015; Nobrega vd., 2015). Faj uygulamaları, bakteriyel enfeksiyonları ve gıda kaynaklı hastalıkları kontrol etmek için kesin çözüm olarak görülmesi bile diğer stratejilerle kombinasyon halinde kullanımlarında umut vaat edici bir potansiyel sergilemektedirler (Hodgson, 2013). Bu konuda en yeni strateji ise faj ve çeşitli antimikrobiyellerin ve yöntemlerin birlikte sinerjik etkisini incelemektir.

Leverentz vd. (2003), farklı meyveler üzerinde nisinle birlikte kombinasyon halinde faj uygulamasının sadece nisin uygulamasından daha fazla indirgeme sağladığı bildirmiştir. 200 ve 400 IU birimde nisin uygulaması ile 2.8-3.2 log kadar

bir indirgeme sağlanırken faj ve aynı birimde nisin uygulaması 4.3-5.7 log indirgeme sağlamıştır. Bir başka çalışmada ise fajlarla farklı antibiyotiklerin *Staphylococcus aureus* üzerindeki sinerjik etkisi incelenmiş ve SA11 fajının sefoksitin, kloramfenikol ve polimiksin ile birlikte muamele edilen hücrelerin tamamında zarar meydana getirdiğini belirtilmiştir (Jo vd., 2016).

Komora vd. (2018) çalışmasında, tam yağlı UHT süt, fermente sucuk ve peynirlerin 300 MPa yüksek basınç uygulamalarında faj kullanımını destekleyen matrislere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca *L. monocytogenes*'e yüksek basınç uygulamaları da hasar verdiği ve faj P100 enfektivitesi inoküle edilen matrise göre muhafaza edildiği için çevre dostu ve minimal işleme teknolojilerinin birleşik etkisi, *L. monocytogenes*'lerin kontrolü için etkili bir sinerjik sistemi temsil edebilir.

SONUÇ

Fajlar, türe özgü ve hızlı çoğalan varlıklar olduklarından, her durumda çok sayıda biyolojik kontrol ajanları olarak avantaj ve nispeten daha az dezavantaj sağlar. Antimikrobiyeller olarak fajlar, özgüllük, güvenlik, MDR (multi-drug-resistant) bakterilere karşı etkinlik gibi daha geleneksel ajanlara göre bazı çarpıcı avantajlar sunar. Konakçı patojenlerde faj enfeksiyonuna karşı mutasyonların ortaya çıkmasıyla birlikte faj tedavilerinin etkin bir şekilde uygulanmasında sorunlar çıkabilir. Bakteri popülasyonunun bakteriyofajlara karşı artan dirençleriyle birlikte tedavi amacıyla birkaç farklı spesifik faj seçimi ve kokteyl karışımı halinde uygulanması çözüm haline getirilmeye başlanmıştır. Sonuç olarak, fajlar, tarım ve hayvancılık uygulamalarıyla ilişkili antibiyotik direncindeki artışı sınırlamaya yardımcı olmakta ve patojenlerin biyokontrolündeki uygulamalarla ilgili çalışmalar önem ve hız kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

Abuladze, T., Li, M., Y. Menetrez, M., Dean, T., Senecal, A., Sulakvelidze, A. (2008). Bacteriophages reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli, and ground beef by *Escherichia coli*

- O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 74(20): 6230-6238, doi: 10.1128/aem.01465-08.
- Acar Soykut, E. (2007). *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* virulent fajlarının replikasyon parametreleri, kapsid protein profilleri ve restriksiyon endonükleaz analizleri esas alınarak tanımlanmaları ve sınıflandırılmaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 176 s.
- Adams, M. H. (1959). *Bacteriophages*. Interscience Publishers. New York, Amerika, 591 s.
- Akhtar, M., Viazis, S., Diez-Gonzalez, F. (2014). Isolation, identification and characterization of lytic, wide host range bacteriophages from waste effluents against *Salmonella enterica* serovars. *Food Control*, 38: 67-74, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.09.064.
- Amarillas, L., Lightbourn-Rojas, L., Angulo-Gaxiola, A. K., Heredia, J. B., González-Robles, A., León-Félix, J. (2018). The antibacterial effect of chitosan-based edible coating incorporated with a lytic bacteriophage against *Escherichia coli* O157:H7 on the surface on tomatoes. *J Food Saf*, 38: 1-10, doi: 10.1111/jfs.12571.
- Ataman, P., Halkman, A. K., Akpınar, M. (2019). Gıda Güvenliği. *Gıda Mikrobiyolojisi*, ISBN 978-605-245-683-5Ed. A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 648 s.
- Bai, J., Jeon, B., Ryu, S. (2019). Effective inhibition of *Salmonella* Typhimurium in fresh produce by a phage cocktail targeting multiple host receptors. *Food Microbiol*, 77: 52-60, doi: 10.1016/j.fm.2018.08.011.
- Bao, H., Zhang, P., Zhang, H., Zhou, Y., Zhang, L., Wang, R. (2015). Bio-control of *Salmonella* Enteritidis in foods using bacteriophages. *Viruses*, 7: 4836-4853, doi: 10.3390/v7082847.
- Boyd, E. F., Brüssow, H. (2002). Common themes among bacteriophage-encoded virulence factors and diversity among the bacteriophages involved. *Trends Microbiol*, 10(11): 521-529, doi: 10.1016/S0966-842X(02)02459-9.
- Carlton, R. M., Noordman, W. H., Biswas, B., Meester, E. D., Loessner, M.J. (2005). Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regul Toxicol Pharmacol*, 43: 301-312, doi: 10.1016/j.yrtph.2005.08.005.
- CDC (2019). Estimates of foodborne illness in the United States. <https://www.cdc.gov/foodborneburden/burden/index.html>. (Accessed: 01 October 2019).
- Chibani, C. M., Farr, A., Klama, S., Dietrich, S., Liesegang, H. (2019). Classifying the unclassified: A phage classification method. *Viruses*, 11(195): 1-15, doi: 10.3390/v11020195.
- Coşkuntuncel Öztemiz, S. (2008). Organik tarımda biyolojik mücadele. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2): 19-27, doi: 10.13002/v2008i2.5000012603.
- Cufaoglu, G., Ayaz, N. D. (2019). *Listeria monocytogenes* risk associated with chicken at slaughter and biocontrol with three new bacteriophages. *J Food Saf*, 39: 1-10, doi: 10.1111/jfs.12621.
- Duc, H. M., Son, H. M., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2018). Isolation and application of bacteriophages to reduce *Salmonella* contamination in raw chicken meat. *LWT-Food Sci Technol*, 91: 353-360, doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.072.
- El-DougDoug, N.K., Cucic, S., Abdelhamid, A.G., Brovko, L., Kropinski, A.M., Griffiths, M.W., Anany, H. (2019). Control of *Salmonella* Newport on cherry tomato using a cocktail of lytic bacteriophages. *Int J Food Microbiol*, 293: 60-71, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.003.
- Fernández, L., Gutiérrez, D., Rodríguez, A., García, P. (2018). Application of bacteriophages in the agro-food sector: A long way toward approval. *Front Cell Infect Microbiol*, 8(296): 1-5, doi: 10.3389/fcimb.2018.00296.
- Galarce, N. E., Bravo, J. L., Robeson, J. P., Borie, C. F. (2014). Bacteriophage cocktail reduces *Salmonella enterica* serovar Enteritidis counts in raw and smoked salmon tissues. *Rev Argent Microbiol*, 46(4): 333-337, doi: 10.1016/S0325-7541(14)70092-6.

- García, P., Martínez, B., Obeso, J. M., Rodríguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *Lett Appl Microbiol*, 47: 479-485, doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02458.x.
- Gökçe, Ö. (2010). *Lactobacillus delbrueckii* bakteriyofajı LL-H'nin konakçı spektrumu. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 58 s.
- Grant, A., Hashem, F., Parveen, S. (2016). *Salmonella* and *Campylobacter*: Antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry. *Food Microbiol*, 53: 104-109, doi: 10.1016/j.fm.2015.09.008.
- Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S., Loessner, M. J. (2009). Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Appl Environ Microbiol*, 75(1): 93-100, doi: 10.1128/AEM.01711-08.
- Guenther, S., Herzig, O., Fieseler, L., Klumpp, J., Loessner, M. J. (2012). Biocontrol of *Salmonella* Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2. *Int J Food Microbiol*, 154: 66-72, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.023.
- Gümüştas, A. (2015). Laktik asit bakterileri ve bakteriyofajlarının çeşitli kaynaklardan izolasyonu ve karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 76 s.
- Hagens, S., Loessner, M. J. (2010). Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: Calculations and considerations. *Curr Pharm Biotechnol*, 11(1): 58-68, doi: 10.2174/138920110790725429.
- Hanlon, G. W. (2007). Bacteriophages: An appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*, 30: 118-128, doi: 10.1016/j.ijwt.2018.01.072.
- Heringa, S. (2008). The application of bacteriophage for the elimination of pathogenic bacteria in compost. Graduate School of Clemson University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science Microbiology, USA, 448s.
- Hodgson, K. (2013). Bacteriophage Therapy. *Under the Microscope*, March: 28–31.
- Hong, Y., Pan, Y., Ebner, P. D. (2014). Development of bacteriophage treatments to reduce *Escherichia coli* O157:H7 contamination of beef products and produce. *J Anim Sci*, 92: 1366-1377, doi: 10.2527/jas2013-7272.
- Huang, C., Shi, J., Ma, W., Li, Z., Wang, J., Li, J., Wang, X. (2018). Isolation, characterization, and application of a novel specific *Salmonella* bacteriophage in different food matrices. *Food Res Int*, 111: 631-641, doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.071.
- Im, H., Dwidar, M., Mitchell, R. J. (2018). *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100, a predator of Gram-negative bacteria, benefits energetically from *Staphylococcus aureus* biofilms without predation. *ISME J*, 12: 2090-2095, doi: 10.1038/s41396-018-0154-5.
- Jo, A., Ding, T., Ahn, J. (2016). Synergistic antimicrobial activity of bacteriophages and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Food Sci Biotechnol*, 25(3): 935-940, doi: 10.1007/s10068-016-0153-0.
- Jończyk, E., Klak, M., Miedzybrodzki, R., Górski, A. (2011). The influence of external factors on bacteriophages - Review. *Folia Microbiol*, 56: 191–200, doi: 10.1007/s12223-011-0039-8.
- Komora, N., Bruschi, C., Ferreira, V., Maciel, C., Brandão, T. R. S., Fernandes, R., Saraiva, J. A., Castro, S. M., Teixeira, P. (2018). The protective effect of food matrices on *Listeria* lytic bacteriophage P100 application towards high pressure processing. *Food Microbiol*, 76: 416-425, doi: 10.1016/j.fm.2018.07.002.
- Kropinski, A. M. (2018). Bacteriophage research – What we have learnt and what still needs to be addressed. *Res Microbiol*, 169: 481-487, doi: 10.1016/j.resmic.2018.05.002.
- LeLièvre, V., Besnard, A., Schlusshuber, M., Desmaures, N., Dalmasso, M. (2019). Phages for biocontrol in foods: What opportunities for *Salmonella* spp. control along the dairy food

- chain?. *Food Microbiol*, 78: 89-98, doi:10.1016/j.fm.2018.10.009.
- Leung, V., Szewczyk, A., Chau, J., Hosseinidoust, Z., Groves, L., Hawsawi, H., Anany, H., Griffiths, M. W., Ali, M. M., Filipe, C. D. M. (2018). Long-term preservation of bacteriophage antimicrobials using sugar glasses. *ACS Biomater Sci Eng*, 4: 3802-3808, doi: 10.1021/acsbomaterials.7b00468.
- Leverentz, B., Conway, W. S., Alavidze, Z., Janisiewicz, W. J., Fuchs, Y., Camp, M. J., Chghladze, E., Sulakvelidze, A. (2001). Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh-cut fruit: A model study. *J Food Prot*, 64(8): 1116-1121, doi: 10.4315/0362-028x-64.8.1116.
- Leverentz, B., Conway, W. S., Camp, M. J., Janisiewicz, W., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., ve Sulakvelidze, A. (2003). Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Appl Environ Microbiol*, 69(8): 4519-4526, doi: 10.1128/AEM.69.8.4519.
- Leverentz, B., Conway, W. S., Janisiewicz, W., Camp, M. J. (2004). Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. *J Food Prot*, 67(8): 1682-86, doi: 10.4315/0362-028X-67.8.1682.
- Liu, X., Nelson, M., Mahapatra, A. K., Styles, E. (2015). Perceptions of information gaps in farm-to-table studies. *Food Control*, 50: 663-669, doi: 10.1016/j.foodcont.2014.09.033.
- Mahmoud, M., Askora, A., Barakat, A., Rabie, O. E., Hassan, S. E. (2018). Isolation and characterization of polyvalent bacteriophages infecting multi drug resistant *Salmonella* serovars isolated from broilers in Egypt. *Int J Food Microbiol*, 266: 8-13, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.009.
- Mahony, J., McAuliffe, O., Ross, R. P., Sinderen D. (2011). Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens. *Curr Opin Biotechnol*, 22: 157-63, doi: 10.1016/j.copbio.2010.10.008.
- Miedzybrodzki, R., Borysowski, J., Weber-Dabrowska, B., Fortuna, W., Letkiewicz, S., Szufnarowski, K., Pawelczyk, Z. (2012). Clinical Aspects of Phage Therapy. *Adv Virus Res*, doi: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00003-7.
- Milho, C., Silva, M. D., Melo, L., Santos, S., Azeredo, J., Sillankorva, S. (2018). Control of *Salmonella* Enteritidis on food contact surfaces with bacteriophage PVP-SE2. *Biofouling*, 34(7): 753-768, doi: 10.1080/08927014.2018.1501475.
- Modi, R., Hirvi, Y., Hill, A., Griffiths, M. W. (2001). Effect of phage on survival of *Salmonella* Enteritidis during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *J Food Prot*, 64(7): 927-933, doi: 10.4315/0362-028x-64.7.927.
- Mutlu, N. (2015). Çevresel örneklerden *Listeria monocytogenes*'e özgü faj izolasyonu ve genotipik karakterizasyonu. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Kars, Türkiye, 71 s.
- Nobrega, F. L., Costa, A. R., Kluskens, L. D., Azeredo, J. (2015). Revisiting phage therapy: New applications for old resources. *Trends Microbiol*, 23(4): 185-191, doi: 10.1016/j.tim.2015.01.006.
- O'Flynn, G., Ross, R. P., Fitzgerald, G. P., Coffey, A. (2004). Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 70 (6): 3417-3424, doi: 10.1128/AEM.70.6.3417.
- O'Flynn, G., Coffey, A., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P. (2006). The newly isolated lytic bacteriophages st104a and st104b are highly virulent against *Salmonella enterica*. *J Appl Microbiol*, 101(2006): 251-59, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02792.x>.
- Oliveira, M., Viñas, I., Colàs, P., Anguera, M., Usall, J., Abadias, M. (2014). Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. *Food Microbiol*, 38: 137-142, doi: 10.1016/j.fm.2013.08.018.
- Pao, S., Rolph, S.P., Westbrook, E.W., Shen, H. (2004). Use of bacteriophages to control *Salmonella* in experimentally contaminated sprout seeds. *J Food Sci*, 69(5): M127-30, doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10720.x.

- Perera, M. N., Abuladze, T., Li, M., Woolston, J., Sulakvelidze, A. (2015). Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates *Listeria monocytogenes* contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods. *Food Microbiol*, 52: 42-48, doi: 10.1016/j.fm.2015.06.006.
- Pires, D. P., Melo, L. D. R., Boas, D. V., Sillankorva, S., Azeredo, J. (2017). Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections. *Curr Opin Microbiol*, 39: 48-56, doi: 10.1016/j.mib.2017.09.004.
- Ramirez, K., Cazarez-Montoya, C., Lopez-Moreno, H. S., Castro-del Campo, N. (2018). Bacteriophage cocktail for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7: Stability and potential allergenicity study. *PLoS ONE*, 13(5): 1-19, doi: 10.1371/journal.pone.0195023.
- Richter, L., Janczuk-Richter, M., Niedziółka-Jönsson, J., Paczesny, J., Holyst, R. (2018). Recent advances in bacteriophage- based methods for bacteria detection. *Drug Discov Today*, 23(2), doi: 10.1016/j.drudis.2017.11.007.
- Rogers, K. (2019). Bacteriophage. *Encyclopedia Britannica*, 1-3. <https://www.britannica.com/science/bacteriophage>.
- Salmond, G. P. C., Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: past, present and future. *Nat Rev Microbiol*, 13: 777-786, doi: 10.1038/nrmicro3564.
- Şanlıbaba, P., Uymaz, B. (2015). Gıdalarda *Listeria monocytogenes*'in Biyokontrolünde Faj Uygulaması. *Akademik Gıda*, 13 (1): 81-88.
- Seçkin, A. K., Baladura, E. (2010). Gıdaların muhafazasında bakteriyosin ve bakteriyofaj uygulamaları. *GIDA*, 35(6): 461-467.
- Sharma, M., Dashiell, G., Handy, E. T., East, C., Reynnells, R., White, C., Nyarko, E., Micallef, S., Hashem, F., Millner, P. D. (2017). Survival of *Salmonella* Newport on whole and fresh-cut cucumbers treated with lytic bacteriophages. *J Food Prot*, 80(4): 668-673, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-449.
- Shin, H., Lee, J. H., Kim, H., Choi, Y., Heu, S., Ryu, S. (2012). Receptor diversity and host interaction of bacteriophages infecting *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *PLoS ONE*, 7(8), doi: 10.1371/journal.pone.0043392.
- Sklar, I. B., Joerger, R. D. (2001). Attempts to utilize bacteriophage to combat *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection in chickens. *J Food Saf*, 21:15-29, doi: 10.1111/j.1745-4565.2001.tb00305.x.
- Son, H. M., Duc, H. M., Masuda, Y., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2018). Application of bacteriophages in simultaneously controlling *Escherichia coli* O157:H7 and extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102: 10259-10271, doi: 10.1007/s00253-018-9399-1.
- Soni, K. A., Nannapaneni, R. (2010). Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillet tissue. *J Food Prot*, 73(1): 32-38, doi: 10.4315/0362-028x-73.1.32.
- Summers, W. C. 2016. Félix Hubert d'Herelle (1873-1949): History of a scientific mind. *Bacteriophage*, 6(4): e1270090, doi: 10.1080/21597081.2016.1270090.
- Tayyarcı, E. K. (2017). Gıda kaynaklı patojen bakterilerin biyokontrolünde faj terapi ve fitoterapinin birlikte kullanımı. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 126 s.
- Toro, H., Price, S. B., McKee, S., Hoerr, F. J., Krehling, J., Perdue, M., Bauermeister, L. (2005). Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce *Salmonella* from infected chickens. *Avian Dis*, 49: 118-24, doi: 10.1637.
- Tunail, N. (2009). Mikrobiyoloji. Pelin Ofset, Ankara, 434s. ISBN: 978605-603-62-0-0.
- Uygun, N., Ulusoy, M. R., Satar, S. (2010). Biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1): 11-14.
- WHO 2019. "Food Safety". <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/food-safety>. (Accessed: 01 October 2019).

Wong, C. L., Siew, C. C., Tan, W. S., Abdullah, N., Hair-Bejo, M., Abu, J., Ho, Y. W. (2014). Evaluation of a lytic bacteriophage, Φ st1, for biocontrol of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens. *Int J Food Microbiol*, 172: 92-101, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.034.

Woolston, J., Sulakvelidze, A. (2015). Bacteriophages and food safety. *eLS. John Wiley & Sons*, doi: 10.1002/9780470015902.a0025962.

Yeh, Y., De Moura, F. H., Broek, V.D., De Mello, A. S. (2018). Effect of ultraviolet light, organic acids, and bacteriophage on *Salmonella* populations in ground beef. *Meat Sci*, 139: 44-48, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.01.007.

Yıldızlı, G. (2015). Balık patojeni bazı *Vibrio* bakteriyofajlarının izolasyonu ve karakterizasyonu. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Mersin, Türkiye, 68 s.

Yüksel, H. T., Erbaş, G., Parın, U., Kırkan, Ş. (2016). Antibiyotik dirençli bakterilerin tedavi ve biyokontrolünde bakteriyofaj kullanımı. *Anim Health Prod and Hyg*, 5(2): 477-480.

Zinno, P., Devirgiliis, C., Ercolini, D., Ongeng, D., Mauriello, G. (2014). Bacteriophage P22 to challenge *Salmonella* in foods. *Int J Food Microbiol*, 191: 69-74, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.037.