

Açıkta Satılan Kuru İncirlerin Mikrobiyal Florasının Araştırılması

Investigation of Microbial Flora of Dried Figs Unpacked Spices Sold

Ezgi ÜNLÜ¹ A,B,C,D,E,F,G , Bülent BOZDOĞAN² A,B,C,D,E,F,G , Serdal ÖĞÜT³ A,B,C,D,E,F,G ,

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye

² Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aydın, Türkiye

³ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Aydın, Türkiye

ÖZ

Amaç: Kuru meyveler, yüksek besin değerleri ve uzun raf ömürleri nedeniyle yaygın olarak tüketilmektedir. Ancak hijyenik olmayan koşullarda açıkta satışa sunulan kuru meyveler, çevresel kaynaklı mikroorganizmalarla kontamine olabilmekte ve bu durum halk sağlığı açısından risk teşkil etmektedir. Bu çalışmanın amacı, Aydın ilinde açıkta satılan kuru incir örneklerinde, çapraz kontaminasyon sonucu oluşabilecek ve halk sağlığı açısından risk teşkil edebilecek patojen bakterilerin varlığını metagenomik yöntemlerle değerlendirmektir.

Yöntem: Araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Besin Kimyası Laboratuvarı ile Rekombinant DNA ve Rekombinant Protein Uygulama ve Araştırma Merkezi iş birliğiyle yürütülmüştür. Çalışmada, 1 Aralık 2021–6 Nisan 2022 tarihleri arasında Aydın ilinde yer alan dört farklı pazardan toplam 10 kuru incir örneği rastgele seçilerek temin edilmiştir.

Bulgular: Metagenomik analiz sonucunda 61 şube, 134 sınıf, 315 takım, 500 aile ve 1508 cinse ait mikroorganizma tanımlanmıştır. Örneklerde en sık karşılaşılan potansiyel patojen bakteriler arasında Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, Serratia, Escherichia-Shigella, Pseudomonas, Streptococcus, Alcaligenes, Enterobacter, Acinetobacter, Staphylococcus, Aeromonas, Bacillus ve Klebsiella gibi cinsler yer almaktadır.

Sonuç: Çalışma, açıkta satılan kuru incirlerde halk sağlığını tehdit edebilecek çeşitli bakteri türlerinin varlığını ortaya koymuştur. Elde edilen veriler, açıkta satışın gıda güvenliği açısından oluşturduğu riskleri gözler önüne sermektedir ancak sonuçların genellenebilir olması için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Beslenme, Kontaminasyon, Kuru incir.

ABSTRACT

Objective: Dried fruits are widely consumed due to their high nutritional value and long shelf life. However, dried fruits sold in open-air markets under unhygienic conditions can become contaminated with environmental microorganisms, posing a risk to public health. The aim of this study is to evaluate the presence of potentially pathogenic bacteria that may pose a risk to public health as a result of cross-contamination in dried fig samples sold openly in Aydın province using metagenomic methods.

Method: The research was conducted in collaboration with the Food Chemistry Laboratory of the Faculty of Health Sciences and the Recombinant DNA and Recombinant Protein Application and Research Center at Aydın Adnan Menderes University. Between December 1, 2021, and April 6, 2022, a total of 10 dried fig samples were randomly collected from four different markets in Aydın province.

Results: As a result of metagenomic analysis, microorganisms belonging to 61 phyla, 134 classes, 315 orders, 500 families, and 1508 genera were identified. Among the most frequently encountered potential pathogenic bacterial genera in the samples were: Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, Serratia, Escherichia-Shigella, Pseudomonas, Streptococcus, Alcaligenes, Enterobacter, Acinetobacter, Staphylococcus, Aeromonas, Bacillus, and Klebsiella.

Conclusion: This study revealed the presence of various bacterial species in openly sold dried figs that may pose a threat to public health. The findings clearly demonstrate that open-air selling practices carry significant risks in terms of food safety.

Sorumlu Yazar: Ezgi Ünlü

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye.

ezgi_unlu1998@hotmail.com

Geliş Tarihi: 16.12.2024– Kabul Tarihi: 06.05.2025

Bu makale Ezgi ÜNLÜ tarafından Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Ana Bilim Dalı'nda Prof. Dr. Serdal ÖĞÜT danışmanlığında hazırlanan “Açıkta satılan kuru incirlerin mikrobiyal florasının araştırılması” başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir. (Kabul Tarihi: 13/06/2023)

Yazar Katkıları: A) Fikir/Kavram, B) Tasarım, C) Veri Toplama ve/veya İşleme, D) Analiz ve/veya Yorum, E) Literatür Taraması, F) Makale Yazımı, G) Eleştirel İnceleme

However, in order to enhance the generalizability of these results, further studies involving larger sample sizes and different regions are needed.

Key words: Contamination, Dried figs, Nutrition.

1. GİRİŞ

Kuru İncir ve Besin Değeri

Ficus caria L yani bilinen adıyla incir, ılıman ve subtropik iklimlerin egemen olduğu yerlerin sıcak bölgelerinde bulunan ve besin değerleri olarak oldukça yüksek bir meyve türü olarak karşımıza çıkmaktadır. Üretimi Türkiye'nin de dahil olduğu Akdeniz çevresindeki ülkelerde yapılmaktadır. Öte yandan Türkiye'de, Doğu Karadeniz Bölgesi'ni de içine almak suretiyle Ege, Marmara, Akdeniz, bölgelerinin kıyı kesimlerinde ve ek olarak nehir vadilerinde bulunmaktadır

Kuru incir, yüksek enerji içeriğinin dışında, mineral, vitamin ve kolay sindirimiyle insan sağlığı ve beslenmesi konusunda oldukça önem taşımaktadır. Kuru incirin, bünyesinde barındırdığı kalsiyum, bakır, magnezyum, potasyum ve kükürt değerleri açısından diğer meyvelere oranla daha zengin değerler taşıdığı bilinmektedir. Bünyesinde fruktoz ve glikoz bulunduran kuru incir, beraberinde içerdiği protein miktarıyla da diğer pek çok kuru meyvenin önüne geçmiş vaziyettedir. Çözünür özellikteki lif, kan şekerinin denetim altına alınmasında ve kandaki kolesterol düzeyinin düşürülmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Öte yandan, yapılan çalışmalar obezite tanısı olan kişilerde kilo vermeyi destekleyebileceğine değinmektedir (1).

Eski dönemlerden itibaren incirin birçok kültürde tıbbi amaçlar ile kullanıldığı bilinmektedir. İncir (*Ficus carica L.*) polifenol, flavonoid, vitaminler ve yüksek antioksidan kapasitesi nedeniyle ön plana çıkmaktadır. İncir; taze bir şekilde yenmesinin yanı sıra kurutularak, reçel yapılarak, konserve halinde, meyve suyu ya da pekmez olarak tüketilebilmektedir.

İncir, içermekte olduğu karbonhidrat, kalsiyum, potasyum, B1 ve B2 vitaminlerle oldukça zengin bir besindir. İncir yaş haldeyken depolama stabilitesinin az olması sebebi ile kuru formda depolanabilir. Yaş incir ve kuru incirin besin değeri karşılaştırıldığı zaman birtakım farklılıklar olduğu görülür. Yaş incir ile kıyaslandığında kuru incirin enerji, protein, karbonhidrat ve kalsiyum miktarı bakımından daha yüksek olduğu görülür. İncir kurutulurken meydana gelen su kaybıyla beraber kuru madde miktarının artmasıdır (2).

Besin Kaynaklı Hastalıklar

Gıda işletmelerinde gıda tüketim alanlarında sanitasyonun temel amacı gıdaların işlenmesi sırasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerin ortadan kaldırılmasını sağlamaktır. FoodNet tarafından belirlenen dokuz mikroorganizma yaygın olarak gıda kaynaklı hastalığa neden olan mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar Amerika Birleşik Devletleri'nde önemli oranda mortalite ve morbiditeden sorumluyken, gıda kaynaklı hastalığın önde gelen nedeni daha yaygın olarak Norwalk benzeri veya Norovirüs olarak bilinen *Caliciviridae* ailesinin virüsleridir (3).

Uygun olmayan sıcaklık gıda kaynaklı hastalığa neden olan mikroorganizmaların gelişmesi açısından temel faktör olarak bilinmektedir (4). *C. Perfringens* ve *B. Cereus* pişmiş gıdaların uygun olmayan sıcaklıkta saklanmasıyla ilişkiliyken, *Caliciviridae* ise, gıda işçilerinin yetersiz kişisel hijyeni ile ilişkilendirilmiştir. 1993-1997 yılları arasında gıda kaynaklı

hastalıklara katkıda bulunan faktörler Olsen ve diğerleri (2000) tarafından; uygun olmayan sıcaklıkta saklama, yetersiz pişirme, çapraz kontaminasyon, sağlıklı kaynaktan gıda temini ve personelin hijyen kurallarına yeterli uymaması olarak sıralanmıştır (4).

Önceden riskli olarak kabul edilmeyen gıdalara artan dikkat ile gıda kaynaklı hastalık nedenleri listesine yeni organizmalar eklenmeye devam etmektedir. Örneğin, bir *Yersinia psödotüberküloz* salgını, Finlandiya'daki 47 vakayı ve eşleştirilmiş bir vaka kontrolünü içeren bir zehirlenme olayında taşıyıcı olarak ortak tüketilen bir marul çeşidi (İceberg Lettuce) tanımlamıştır. Yapılan araştırmalarda, kontamine marulun kaynağının yabani geyik dışkısı daha sonra sistematik olarak marul içine alınan topraktaki mikroorganizmaların olduğu kabul edilmiştir. Kontamine su daha önceki diğer gıda kaynaklı salgın vakalarında olduğu gibi ilişkilendirilmemiştir (5)

Genel olarak tüketime hazır ürün ve çiğ etin çapraz kontaminasyonu sonucu oluşan zehirlenme daha yaygındır. Örnek olarak, *Campylobacter enterit* salgını daha önce aynı doğrama tahtasında kesilmiş çiğ kümes hayvanlarından çapraz kontaminasyon sonucu marula bulaşması ile ilişkilendirilmiştir (6). Bu vakalar, özellikle Guillain-Barre Sendromu'nun gelişiminde katkıda bulunan bir faktör olarak *Campylobacter*'in tanınmasıyla, doğrama tahtalarının ve mutfak yüzeylerinin sanitasyonunun sürekli olarak sağlanması gerekliliğini vurgulamıştır

Besin Kaynaklı Hastalıklara Neden Olan Mikroorganizmalar

Günümüzde mikrobiyoloji alanındaki gelişmeler sayesinde besinlerin bozulmalarının ve besin kaynaklı hastalıkların büyük çoğunluğunun sebebinin mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Dünya çapında besin kaynaklı enfeksiyonlara neden olan vakalar, salgınlar ve ölümlerin büyük bir kısmına bakteriyel patojenler sebep olmaktadır. Bazı besin patojenleri genellikle spesifik besinlerle ilişkilendirilmektedir. Bu doğrultuda *S. Enteritidis* yumurtadan, *Salmonella spp.* ve *Campylobacter spp.* tavuk etinden, *E. Coli O157:H7* sığır etinden, *L. Monocytogenes* tüketime hazır besinlerden, *Vibrio spp.* deniz ürünlerinden, *C. Botulinum* ev yapımı konservelemlerden, *Brucella spp.* süt ürünlerinden, *Trichinella spp.* domuz etinden izole edilmektedir (6).

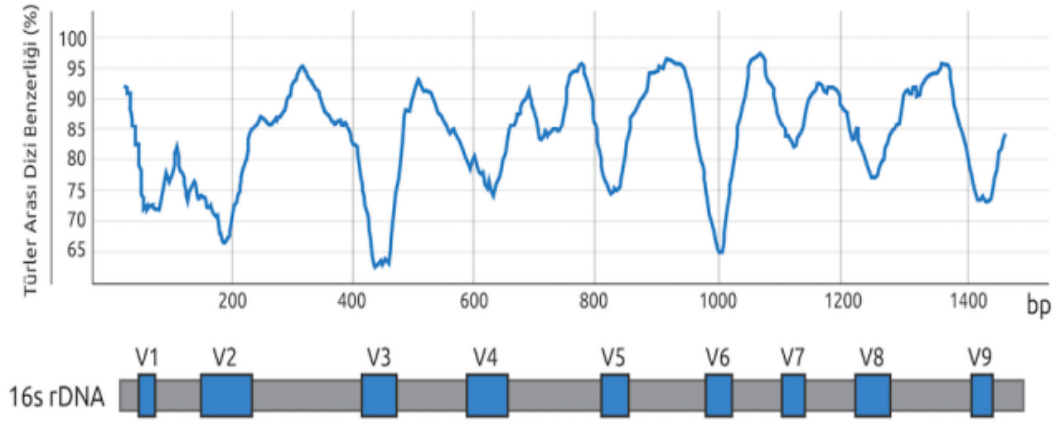
Besin kaynaklı hastalıklar içinde büyük bir orana sahip olan bakteriyel zehirlenmelerin etkeni olan mikroorganizmaları *Clostridium botulinum*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Yersinia enterocolitica* ve küfler olarak genellemek mümkündür (3).

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

16S rRNA tabanlı metagenomik analizlerde, 16S rRNA geninin bir bölgesi hedefli olarak PCR ile zenginleştirilip, elde edilen tüm PCR ürünleri dizilenmektedir. Ribozomal RNA'ların kodlanmasını sağlayan yaklaşık 1500 baz uzunluğundaki bu gen, büyük oranda tüm bakteri ve arkea türlerinde bulunmaktadır. Gen içerisinde son derece korunmuş bölgeler yer almakla beraber, aynı zamanda farklı bakteri türlerinin filogenetik olarak sınıflandırılmasına olanak verecek kadar değişkenlik gösteren bölgeler de içermektedir. 16S rRNA' nın gen bölgelerinin türler arasındaki dizi benzerliği Şekil 1' de gösterilmiştir.

Farklı türler arasındaki 16S rRNA variable bölgelerindeki dizi farklılıkları, evrimsel uzaklık ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu sebeple 16S rRNA dizisi, farklı bakteri türlerinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Şu ana kadar yapılmış çok sayıda çalışma ile kültür ve çevresel örneklerden elde edilmiş sayısız bakteri türünün 16S rRNA

dizileri çıkarılmıştır. Bu diziler, Green Genes , Ribosomal Database Project ve SILVA da dahil olmak üzere çeşitli veri tabanlarında kayıt altına alınmıştır. Yeni nesil dizileme gibi yöntemlerle elde edilen yüksek hacimli dizi verileri, bu veri tabanları ile kıyaslanarak tespit edilen DNA parçalarının hangi türe ait olduğu oransal olarak hesaplanabilmektedir.



Şekil 1. 16S rRNA Gen Bölgesi ve Değişken (Variable) Bölgeleri.

Çalışmanın Hazırlanması

Pazardan alınan incirler 50 ml’lik falkonlara alındıktan sonra 30-40 ml Tris- EDTA (T.E.) Buffer eklenerek çalkalanmış ve vortekslenmiştir. Bu işlemde sonra 10 dakika santrifüj uygulanıp (5000 rpm, +4 °C) supernatant uzaklaştırılmıştır. Atılamayan supernatant ve pellet 1.5 ml’lik tüplere alınarak 10 dakika santrifüjlenmiştir (5000 rpm, +4 °C). Supernatant uzaklaştırıldıktan sonra pelletler soil kit SPB buffer kullanılarak üretici firmanın önerdiği aşağıda açıklanan modifiye protokol kullanılarak homojenize edilmiştir (GeneMark, Taiwan).

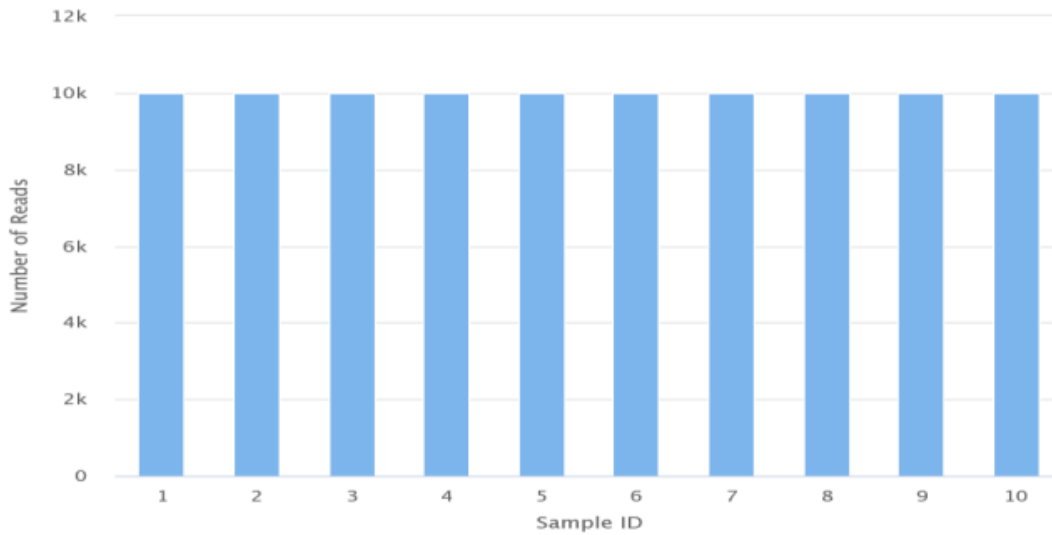
Projede, kütüphane hazırlığı sırasında 2 basamaklı PCR işlemi gerçekleştirilmiş. Bu işlemlerde, PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (Takara, Japan, #R050B) enzimi kullanılarak her bir örnek için ayrı ayrı 25 döngülü PCR gerçekleştirilmiştir. Birinci PCR aşamasında, 95°C’de 3 dk. Ardından 25 döngü boyunca 95°C-30sn + 55°C-30sn + 72°C 30sn; ve son olarak tek döngü 72°C’de 5dk. Koşulları uygulanmıştır.

İkinci PCR uygulamasında, Illumina index ve adaptör dizilerinin eklenmesi için Nextera XT Index Primer 1 ve Nextera XT Index Primer 2 setleri (illumina, USA, #FC-131- 2001) kullanılmıştır. Bu PCR aşamasında, 95°C’de 3 dk. Ardından 8 döngü boyunca 95°C30sn + 55°C-30sn + 72°C-30sn; ve son olarak tek döngü 72°C’de 5dk. Koşulları uygulanmıştır. Her iki PCR işlemi sonrasında Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA, #A63881) kiti ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

PCR sonrasında, hazırlanan kütüphanenin Qubit florometresi ile ölçümü yapılmış ve normalizasyon sonrası dizileme işlemine alınmıştır. Belirtilen protokolün detaylarına illumina’nın 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation 1 dokümanından erişilebilir (7).

Dizileme

Dizileme uygulaması, Refgen tarafından (Refgen Biyoteknoloji, Turkey), NextSeq 550 (Illumina, USA) yeni nesil dizileme platformu ve NextSeq 550 High Output Reagent kiti (Illumina, USA, #20024908) ile çift yönlü (2x150bp) okuma ile ve üretici firma yönergeleri 2 takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnek başı okuma değerleri Şekil 2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Örnek Başına Elde Edilen ve Cins Seviyesinde Tanımlanan ve Tanımlanamayan Okuma

Kalite kontrolü geçen okumalar, farklı taksonomik seviyelerde en yüksek benzerlik gösteren taksonomik birime atanmıştır. Aşağıdaki grafiklerde, her bir örnekte tespit edilen toplam okuma sayıları ve cins seviyesine kadar bir taksonomik birime tanımlanmış (açık mavi renkli) okumalar gösterilmiştir. Varsa koyu mavi renkli çubuklar, cins seviyesinden daha üst taksonomik birime atanmış okumaları göstermektedir

Biyoinformatik analiz

Dizileme işlemi sonrasında, elde edilen okuma verilerinin kalite kontrolü amacıyla FASTQC aracı kullanılmıştır. Kalite kontrol sonuçlarına göre her bir örneğin, veri miktarları, okuma kaliteleri, GC dağılımları, kmer dağılımları, olası adaptör kontaminasyonları incelenmiştir. Dizileme sürecinde, ham okuma verilerindeki düşük kalitedeki baz okumaları ve olası adaptör-indeks kontaminasyonlarının sonraki analiz basamaklarında sapmalara neden olmaması için, okumalardan kırpılmıştır. Kalite değerlerine göre kırpma işlemleri için Trimmomatic (v0.39) aracı kullanılmıştır (8). Bu basamakta, okuma uçlarındaki düşük kaliteli baz okumaları, olası adaptör kontaminantları ile kimerik diziler, Genomes OnLine Database (GOLD) temel alınarak ve Trimmomatic aracı ile kırpılmıştır. Taksonomik profillendirme için okumalar, Kraken aracı kullanılarak SILVA (2022) veritabanı temel alınarak hedef organizmalara hizalanmıştır. Hizalama sonrasında her bir örnekteki OTU grupları belirlenmiştir. Çeşitlilik endekslerinin hesaplanmasında Revegan paketi kullanılmıştır (9,10). Verilerin raporlanması, istatistik analizleri ve veri görselleştirme çalışmalarında R betikleri kullanılmıştır.

3. BULGULAR

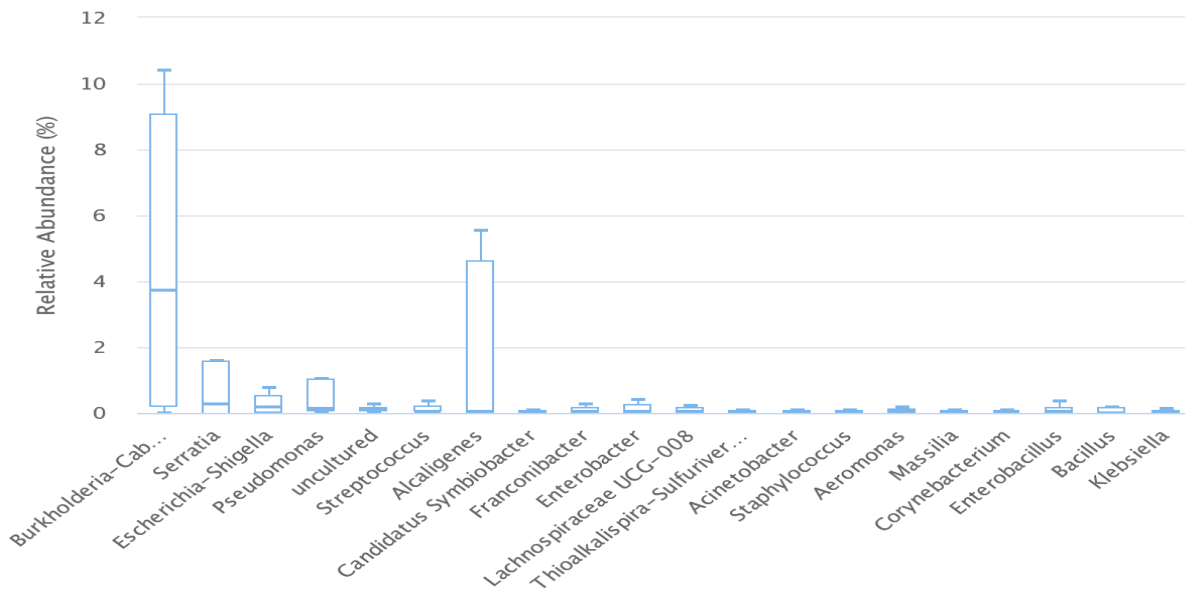
Her bir örneğe ait okumaların farklı taksonomik basamaklardaki birimlere ne oranda tanımlanabildiği Tablo 1.'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Her Bir Örneğe Ait Okumaların Farklı Taksonomik Basamaklardaki Birimlere Dair anımlanması.

Örnek	Alem	Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins
1	1370517	1070599	775629	482459	202583	62128
2	1338315	1038353	742311	452346	253190	109259
3	1375173	1075202	806060	541865	340801	157690
4	1560611	1260626	961965	666583	410117	191353
5	1719183	1419246	1121251	826238	536268	262414
6	1384893	1085404	797028	527069	346396	170963
7	1685583	1385615	1086546	788033	491915	244228
8	1632514	1332582	1034632	738641	475200	233351
9	1781896	1481912	1183181	884864	588271	293475
10	1420422	1120449	835082	560433	333557	156378

Tablo 1.' de görüldüğü gibi tür seviyesindeki düşüş 16S rRNA temelli çalışmalarda beklenen bir durumdur. Seçilen bölgeler (V3-V4) açısından bazı türlerin dizi olarak farklılık göstermemesinden kaynaklanmaktadır.

Tüm numunelerde en yüksek oranda görülen 20 cins listelenmiştir (Şekil 3.). Sıralama, ilgili cinsin tüm örnekler dikkate alındığında, medyan değerine göre gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. Tüm Numunelerde En Yüksek Oranda Görülen 20 Cins.

Aşağıdaki Tablo 2.' de her bir cinsin, minimum, maksimum, ortanca ve birinci-üçüncü çeyrek değerleri bulunmaktadır.

Taksonomik dağılım

Isı grafiklerinde (heatmap), her bir taksonomik basamakta en yüksek oranda gözükten maksimum 20 takson, göreceli oranlarına göre görselleştirilmiştir (Şekil 4.-Şekil .6). Renk

kodları maviden kırmızıya doğru, göreceli olarak artacak şekilde kullanılmıştır. Beyaz renkli kutucuklar, o taksonun, ilgili örnekte hiç tespit edilmediğini gösterir. Organizmalar alfabetik olarak sıralanmıştır.

Tablo 1. Her Bir Cinsin, Minimum, Maksimum, Ortanca ve Birinci-Üçüncü Çeyrek Değerleri.

Cins	Veri				
	En düşük	1. çeyrek	Ortalama	3. çeyrek	En yüksek
<i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i>	0.00	0.21	3.72	9.09	10.38
<i>Serratia</i>	0.00	0.00	0.28	1.55	1.55
<i>Escherichia-Shigella</i>	0.02	0.04	0.18	0.52	0.77
<i>Pseudomonas</i>	0.01	0.09	0.12	1.02	1.02
<i>Uncultured</i>	0.03	0.06	0.11	0.14	0.26
<i>Streptococcus</i>	0.01	0.05	0.06	0.21	0.34
<i>Alcaligenes</i>	0.00	0.00	0.06	4.60	5.54
<i>Candidatus Symbiobacter</i>	0.00	0.00	0.05	0.08	0.09
<i>Franconibacter</i>	0.00	0.01	0.05	0.17	0.25
<i>Enterobacter</i>	0.00	0.00	0.05	0.24	0.38
<i>Lachnospiraceae UCG-008</i>	0.00	0.01	0.04	0.15	0.22
<i>Thioalkalispira-Sulfurivermis</i>	0.03	0.03	0.04	0.05	0.05
<i>Acinetobacter</i>	0.01	0.02	0.04	0.05	0.05
<i>Staphylococcus</i>	0.01	0.02	0.04	0.07	0.07
<i>Aeromonas</i>	0.00	0.00	0.03	0.11	0.16
<i>Massilia</i>	0.00	0.01	0.03	0.07	0.09
<i>Corynebacterium</i>	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
<i>Enterobacillus</i>	0.00	0.00	0.03	0.18	0.32
<i>Bacillus</i>	0.00	0.01	0.02	0.16	0.16
<i>Klebsiella</i>	0.00	0.00	0.03	0.08	0.12

Şube

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 61 şube tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 şube aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 4.).

Şekil 4.'deki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Proteobacteria* (%64.6±17.6) olarak belirlenmiştir.

Sınıf

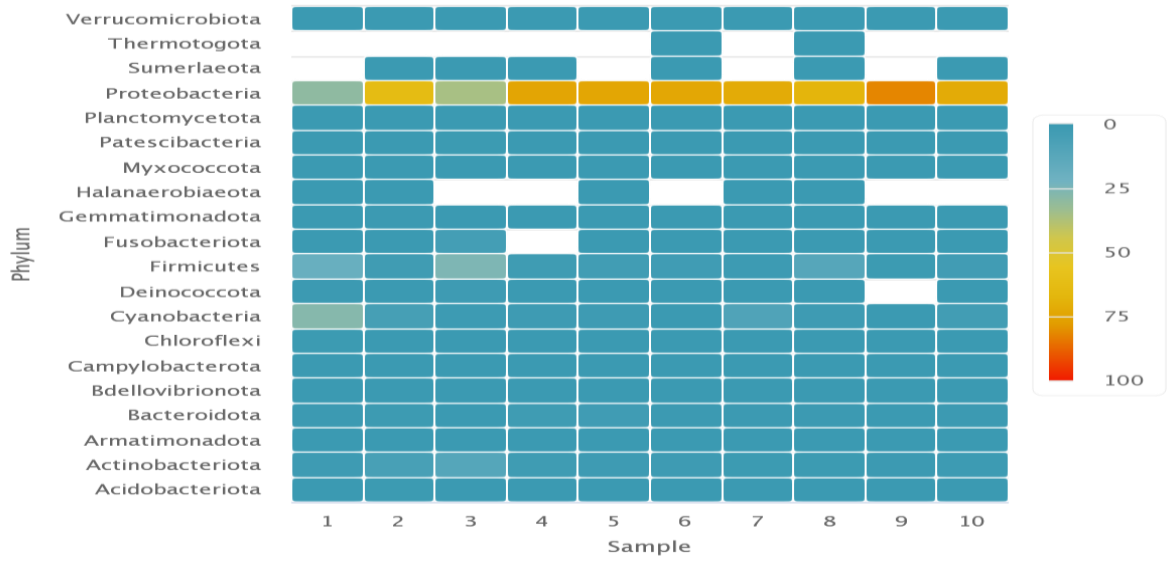
Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 134 sınıf tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 sınıf aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 5.).

Şekil 5.'deki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Gammaproteobacteria* (%46.4 ± 17.5) olarak belirlenmiştir.

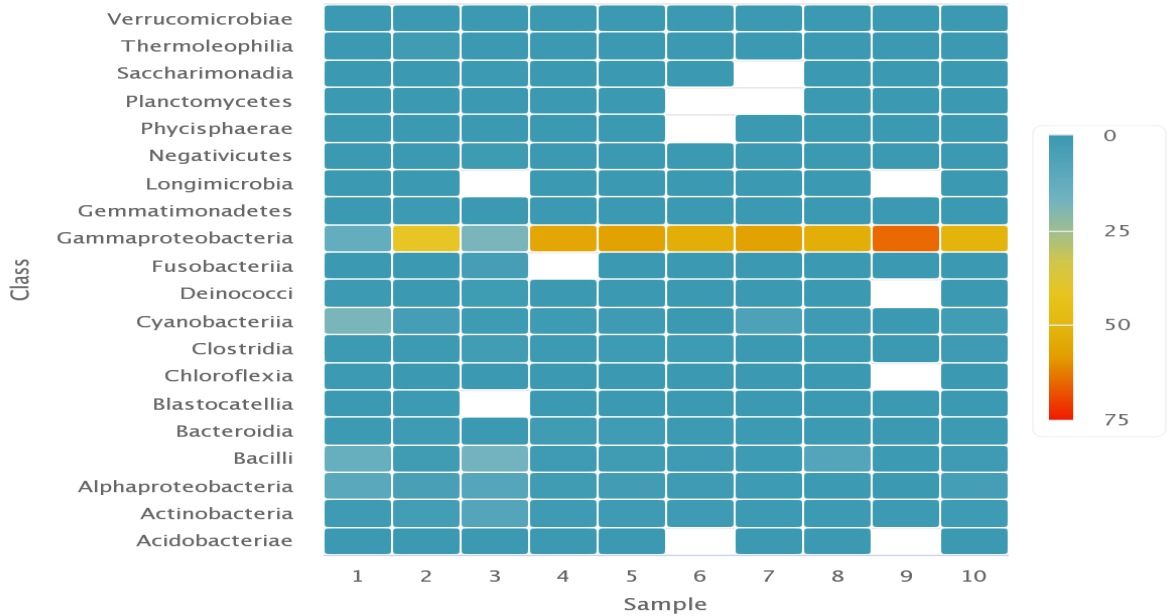
Takım

Metagenomik analiz sonucunda, tüm örneklerde toplamda 315 takım tespit edilmiştir. En yüksek oranda görülen ilk 20 takım aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 6.).

Şekil 6.'daki tüm örnekler dikkate alındığında en yüksek oranda görülen takson *Burkholderiales* (%20.3 ± 19.2) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. En Yüksek Oranda Görülen Şubelerin Dağılımları.



Şekil 5. En Yüksek Oranda Görülen Sınıfların Dağılımları.

Temel bileşen analizi (PCA)

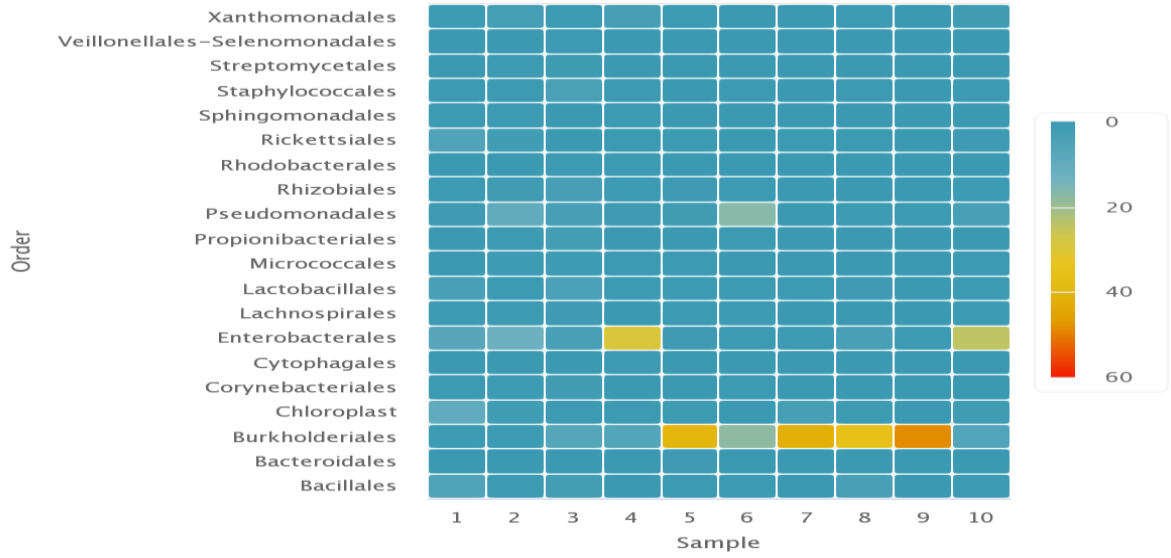
Bu dağılım grafiği, tüm örneklerin normalleştirilmiş göreceli mikrobiyal çeşitliliğini, Temel Bileşen Analizi (Principal Coordinate Analysis – PCA) yaklaşımı ile gösterir. PCA, numuneler arasında taksonomik sınıflandırmaların dağılımındaki sabit bir taksonomik seviyeye kadar olan farkları ölçer. Dağılım içinde, küme oluşturan örnekler, benzer mikrobiyal dağılım göstermektedir.

Numuneler arasında mikrobiyal çeşitlilik analizine yönelik profil benzerliklerin en iyi anlaşılmasını sağlayan yaklaşımlardan biri, çok boyutlu ölçekleme (Multidimensional scaling, MDS) veya Principal Component Analysis (PCA) grafiğidir. Bu görselleştirme, numuneler

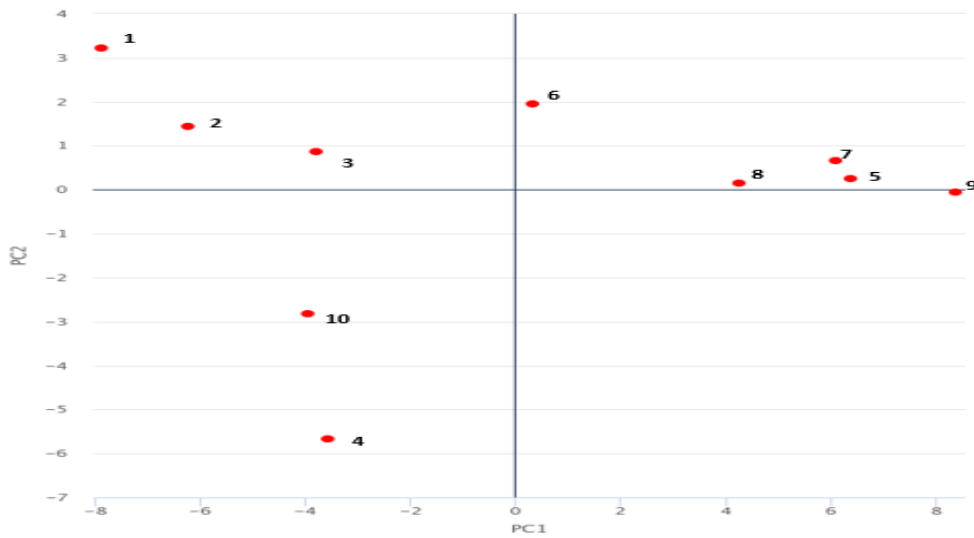
arasında ön bilgi olmadan benzerlikler ve farklılıkların görselleştirilmesini sağlar. Şekil 7’de çalışmada analiz edilen örneklerin tüm organizmalar dikkate alındığında PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki dağılımları görülmektedir. PCA hesaplanmasında, cins basamağındaki mikrobiyal profil esas alınmıştır.

Hiyerarşik kümeleme

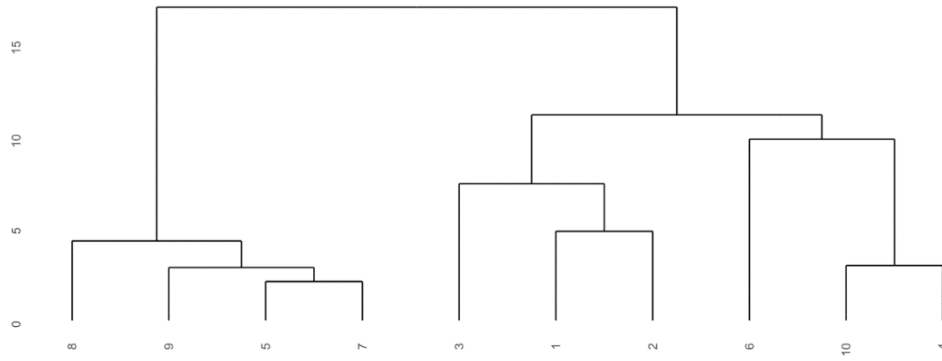
Hiyerarşik kümelemede benzer mikrobiyal profil dağılımı gösteren örnekler birbirine yakın dallarda gösterilmektedir. Hiyerarşik kümeleme hesaplanmasında cins basamağındaki mikrobiyal profil esas alınmış; analiz için R:clust paketi kullanılmış ve grup ortalaması esas alınmıştır. Şekil 8.’de görüldüğü gibi alınan numunelerin dağılım içinde küme oluşturmadığı görülmektedir. Alınan numunelerin ben



Şekil 6. En Yüksek Oranda Görülen Takımların Dağılımları.



Şekil 7. Örneklerin PCA Sonrası PC1 ve PC2 Düzlemindeki Dağılımları.



Şekil 8. Örneklerin Hiyerarşik Kümeleme Sonrası Dağılımları.

Çeşitlilik

Çeşitlilik endeksi (alpha diversity veya filogenetik metrikler olarak da adlandırılır), bir veri kümesinde kaç farklı organizmanın bulunduğunu ve aynı zamanda dağıtılan bireyler arasındaki filogenetik ilişkileri (eş-dağılım, tür yakınlığı, tür zenginliğini) yansıtan nicel bir ölçüdür. Çalışma kapsamında, çeşitlilik hesaplamasında Shannon (Spellerberg and Fedor 2003) ve Simpson endeksleri (11,12) kullanılmıştır. Shannon Endeksi (H'), bir ekosistemdeki biyoçeşitliliği ölçmek için kullanılan bir indekstir. Bu indeks, sadece tür sayısını (zenginlik) değil, aynı zamanda bu türlerin bolluğunu (dağılımını) da dikkate alır. (13). Simpson's Çeşitlilik İndeksi (D), bir ekosistemdeki tür çeşitliliğini ve bu türlerin ekosistem içindeki nispi bolluğunu değerlendirmek için kullanılan bir ölçümdür. Simpson's indeksi 0 ile 1 arasında değişir. Değer 1'e yaklaştıkça, topluluk içindeki türler daha eşit dağılımlıdır ve biyoçeşitlilik daha yüksektir. Değer 0'a yaklaştıkça, ekosistemde az sayıda tür baskın hale gelmiştir ve çeşitlilik düşüktür. (11) Tablo 3.' de, her bir türün Shannon, Simpson ve Inverse Simpson endeksleri ve tespit edilen türlerin sayısı belirtilmiştir.

Tablo 2. Türlerin Shannon, Simpson ve Inverse Simpson Endeksleri ve Tespit Edilen Türlerin Sayısı.

Örnek Adı	Shannon Endeksi	Simpson Endeksi	Inverse Simpson Endeksi	Tür Sayısı
1	3.59	0.92	12.41	648
2	2.97	0.83	5.76	833
3	3.68	0.95	21.62	647
4	2.03	0.63	2.69	739
5	1.61	0.55	2.21	944
6	1.44	0.6	2.53	465
7	0.94	0.5	1.98	354
8	1.66	0.66	2.9	625
9	0.9	0.49	1.96	335
10	2.37	0.77	4.43	565

Tablo 3.' de görüldüğü gibi Shannon Endeksi değerlendirmesinde 1. yerden alınan örneklerde (3.59) türlerin sayısına göre bolluklarının en yüksek, 9. yerden alınan örneklerde (0.9) türlerin sayısına göre bolluklarının en düşük olduğu görülmüştür. Simpson's çeşitlilik indeksi değerlendirmesinde 3. yerden alınan örneklerde (0.95) tür zenginliği hem de türler arasındaki nispi bolluklarının en yüksek, 9. yerden alınan örneklerde (0.49) tür zenginliği hem

de türler arasındaki nispi bolluklarının en düşük olduğu belirlenmiştir. Tür sayısı değerlendirmesinde de en yüksek türün 5. yerden (944), en düşük türün de 9. yerden (335) olduğu görülmüştür.

4. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında, Aydın ilinde açıkta satılan kuru incir örnekleri üzerinde yapılan metagenomik analizler sonucunda elde edilen bulgular, bu tür gıdalarda mikrobiyal çeşitliliğin oldukça yüksek olduğunu ve bazı patojenik mikroorganizmaların da varlık gösterdiğini ortaya koymuştur. Tüm örneklerde toplamda 61 şube, 134 sınıf, 315 takım, 500 aile ve 1508 cinsin belirlenmiş olması, açıkta satılan kuru incirlerin zengin bir mikrobiyal topluluğa sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, incirlerin satış ve depolama koşullarının, çevresel faktörlerin ve hijyen uygulamalarının mikrobiyal kompozisyon üzerindeki etkisini de gözler önüne sermektedir.

Örneklerde en yüksek oranda tespit edilen ilk 20 cins arasında Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, Serratia, Escherichia-Shigella, Pseudomonas, Streptococcus ve Staphylococcus gibi hem çevresel hem de patojen potansiyeli taşıyan bakterilerin bulunması dikkat çekicidir. Özellikle Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia cinsi bakterilerin yüksek oranlarda bulunması, bu bakterilerin toprak, su ve bitkilerle olan doğal ilişkileri ile açıklanabilir. Ancak bu türler bağışıklık sistemi zayıf bireylerde ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir (14).

Toksonomik dağılımlar analiz edildiğinde, şubelerin dağılımında Proteobacteria (%64.6±17.6), sınıfların dağılımında Gammaproteobacteria (%46.4 ± 17.5), takımların dağılımında Burkholderiales (%20.3 ± 19.2), ailelerin dağılımında Burkholderiaceae (%9.1 ± 8.6) ve cinslerin dağılımında Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia (%4.6 ± 4.3) öne çıkmaktadır. Bu bulgular, özellikle gram-negatif bakterilerin baskın olduğunu göstermektedir ki bu da gıda kaynaklı patojenler açısından endişe verici bir durumdur.

Örneklerin PCA ve hiyerarşik kümeleme analizleri sonucunda benzer mikrobiyal dağılımlar göstermediği, dolayısıyla kümelenme oluşturmadıkları gözlemlenmiştir. Bu durum, her bir satış noktasının farklı hijyen koşullarına, çevresel kirleticilere ve muhtemel çapraz kontaminasyon kaynaklarına sahip olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca Shannon ve Simpson çeşitlilik indekslerinin değerlendirilmesi de bu farklılıkları desteklemektedir. Örneğin, 1. yerden alınan örneklerde Shannon Endeksi 3.59 ile en yüksek değeri gösterirken, 9. yerde bu değer 0.9'a kadar düşmektedir. Benzer şekilde, Simpson Endeksi de en yüksek 0.95 (3. yer), en düşük 0.49 (9. yer) olarak belirlenmiştir.

Bu çeşitlilik farklılıkları, örneklerin alındığı yerlerdeki çevresel faktörler, kirlilik düzeyi, habitat yapısı, rekabet ve insan etkileşimi gibi birçok etkene bağlı olabilir. Ayrıca tür sayısına bakıldığında 5. yerden alınan örneklerde 944 tür tespit edilmişken, 9. yerde yalnızca 335 tür bulunmuştur. Bu da biyolojik çeşitlilik açısından ciddi bir dengesizliği işaret etmektedir.

Yapılan çalışmadaki bulgularımız incelendiğinde en yüksek oranda tespit edilen türler bitkilerin doğal mikroflorasında olan türlerdir ancak bulunmaması gereken *E.Coli* gibi patojenik bakterilerin de varlığı kişisel hijyen eksikliğine bağlanabilir. Gıdalarda *E. coli* bulunması, toplum sağlığını ciddi şekilde tehdit eden salgın hastalıklara yol açabilir. Özellikle toplu tüketim alanlarında hızla yayılabilen bu bakteri, gıda zehirlenmeleri, şiddetli ishal, hemorajik kolit ve böbrek yetmezliği gibi sağlık sorunlarına neden olabilir. Bu durum,

hastanelere başvuru sayısını artırarak sağlık sistemine ek yük getirir ve tedavi maliyetlerini yükseltir. Ayrıca, gıda kaynaklı salgınlar tarım, gıda üretimi ve restoran sektörlerinde ekonomik kayıplara yol açabilirken, halkın gıda güvenliğine olan güvenini de sarsar. Bağışıklık sistemi zayıf bireyler, çocuklar ve yaşlılar için ölümcül sonuçlara yol açabilecek bu enfeksiyonların önlenmesi, hijyen standartlarına uyulması, tüketicilerin bilinçlendirilmesi ve denetimlerin artırılmasıyla mümkündür. (15) Nuorti ve diğerleri (2004) Finlandiya’da yapmış olduğu araştırmada *Yersinia psödotüberküloz* salgınının sebebi bir marul çeşidinin (İceberg Lettuce) geyik dışkısıyla çarpaz kontaminasyon sonucu olduğu belirlenmiştir (5). Noormohamed ve Fakhr (2014) yaptığı çalışmada *Campylobacter enterit* salgını daha önce aynı doğrama tahtasında kesilmiş çiğ kümes hayvanlarından çarpaz kontaminasyon sonucu marula bulaşması ile ilişkilendirilmiştir (6). Yeonhwa Jo ve diğerleri (2020) Güney Kore’de yaptığı çalışmada, 3 adet mumyalanmış şeftalide baskın olarak *Monilinia fructigena*, *Sclerotinia borealis*, *S. Sclerotiorum* ve *Botrytis Cinera* gibi mantar türleri tespit etmiştir. Ayrıca *Frateuria aurantia*, *Neosaisa chiangmaiensis*, *Robbsia andropogonis* ve *Ewingella americana* gibi çeşitli Proteobacteria üyeleri bulunmuştur (16). Louise Vermote ve diğerleri (2022) Kuzey Arjantin’de yaptığı çalışmada, beyaz guava, çarkıfelek meyvesi ve papayanın yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar incelenmiş ve bakteri türleri açısından *Enterobacter spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pantoea spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Sphingomonas spp.* ve *Pseudomonas spp.*’nin baskın olduğu görülmüştür (17). Ahmed Abdelfattah ve diğerleri (2021), yaptığı çalışmada 8 farklı ülke ve 21 farklı bahçeden toplanan royal gala çeşidi elmaların yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar incelenmiştir. Bulgular ülkelere göre farklılık gösterse de baskın bakteri türü olarak *Sphingomonas* ve *Methylobacterium* tespit edilmiştir (18).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız açıkta satılan kuru incirlerin mikrobiyal çeşitliliğini detaylı bir şekilde ortaya koymakta ve halk sağlığını tehdit edebilecek bazı mikroorganizmaların varlığına dikkat çekmektedir. Metagenomik analizler sayesinde, örneklerin büyük çoğunluğunda hem çevresel hem de potansiyel olarak patojenik bakterilere rastlanmıştır. Bu durum, açıkta satılan gıdaların tüketimi sırasında dikkatli olunması gerektiğini ve hijyen uygulamalarının daha sıkı bir şekilde denetlenmesini gerekli kılmaktadır. Özellikle *Escherichia coli*, *Staphylococcus* ve *Klebsiella* gibi bakterilerin bazı örneklerde tespit edilmiş olması, bu ürünlerin çarpaz kontaminasyon riski taşıdığını ve kişisel hijyenin ihmal edildiğini göstermektedir. Bu tür bakterilerin insan sağlığına olan etkileri göz önüne alındığında, kuru meyvelerin tüketiminden önce mutlaka yıkanması, uygun koşullarda saklanması ve satış noktalarında hijyen kontrollerinin artırılması gerekmektedir. Çalışma, kuru incirle yapılan ilk metagenomik analizlerden biri olma özelliği taşımaktadır. Ancak sonuçların daha geniş bir şekilde genellenebilmesi için İzmir, Manisa ve Muğla gibi diğer kuru incir üretim bölgelerinde, farklı zaman dilimlerinde daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır. Böylelikle hem mevsimsel hem bölgesel mikrobiyal değişiklikler analiz edilebilir ve daha güvenli tüketim politikaları geliştirilebilir.

Sonuç olarak, açıkta satılan gıdalarda mikrobiyal kontaminasyonun yaygınlığı, gıda güvenliği politikalarının daha kapsamlı hale getirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Tüketicilerin bilinçlendirilmesi, düzenli hijyen denetimleri, satış alanlarının standartlara uygun

hale getirilmesi ve eğitim programlarıyla gıda hijyeninin artırılması bu risklerin azaltılmasında etkili olacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek

Yazarlar araştırma için herhangi bir fon almamıştır.

KAYNAKLAR

1. Somuncuoğlu, İ (2007). Kuru incirlerde Siklopiazonik Asit varlığının ve miktarının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, 169s.
2. Soltana, H., Pinon, A., Limami, Y., Zaid, Y., Khalki, L., Zaid, N., et al. (2019). Antitumoral activity of Ficus carica L. On colorectal cancer cell lines. *Cellular and Molecular Biology*, 65(5). DOI: 10.14715/cmb/2019.65.5.9
3. Lederberg, J. (1997). Infectious disease as an evolutionary paradigm. *Emerging Infectious Diseases*, 3(4), 417-423. DOI: 10.3201/eid0304.970402
4. Olsen, S. J., MacKinon, L. C., Goulding, J. S., Bean, N. H., & Slutsker, L. (2000). Surveillance for foodborne-disease outbreaks, United States, 1993-1997.
5. Nuorti, J., Niskanen, T., Hallanvuori, S., Mikkola, J., Kela, E., Hatakka, M. Et al. (2004). A wide spread outbreak of yersinia pseudotuberculosis o:3 infection from iceberg lettuce,. *Infectious Diseases*,(5), 189. DOI: 10.1086/381766
6. Noormohamed, A., and Fakhr, M. (2014). Outbreak of Campylobacter enteritis associated with cross-contamination of food – Oklahoma. *The Open Mikrobiyology Journal*(8), 130-137. DOI: 10.2174/1874285801408010130
7. URL-1: [https://support.illumina.com](https://support.illumina.com/Documents/Documentation/Chemistry/documentation), “Documents/Documentation/Chemistry documentation” 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Erişim 23 Temmuz 2024).
8. Bolger, Anthony M., Marc Lohse, and Bjoern Usadel. (2014). “Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data.” *Bioinformatics* 30 (15), 2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170
9. Wood, Derrick E, Jennifer Lu, and Ben Langmead. (2019). “Improved Metagenomic Analysis with Kraken 2.” *Genome Biology*. 20 (1): 257. DOI: 10.1186/s13059-019-1891-0
10. Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., et al. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41(D1), D590-D596. DOI: 10.1093/nar/gks1219
11. Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity. *nature*, 163(4148), 688-688. DOI: 10.1038/163688a0
12. Spellerberg, Ian F., and Peter J. Fedor. (2003). “A Tribute to Claude Shannon (1916-2001) and a Plea for More Rigorous Use of Species Richness, Species Diversity and the ‘Shannon-Wiener’ Index.” *Global Ecology and Biogeography*. DOI: 10.1046/j.1466-

822x.2003.00015.x

13. Fedor, P., & Zvaríková, M. (2019). Biodiversity indices. *Encycl. Ecol*, 2, 337-346. DOI: 10.1016/B978-0-12-409548-9.10558-5
14. Kunakom, S., & Eustáquio, A. S. (2019). Burkholderia as a source of natural products. *Journal of natural products*, 82(7), 2018-2037. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b01068
15. Gündüz, M., Çiçek, Ş. K., & Bekteş, A. (2024). Escherichia coli Kaynaklı Gıda Enfeksiyonları. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 38(2), 487-508. DOI: 10.20479/bursauludagziraat.1518397
16. Jo, Y., Back, C. G., Choi, H., Cho, W. K. (2020). Comparative microbiome study of mummified peach fruits by metagenomics and metatranscriptomics. *Plants*, 9(8), 1052. DOI: 10.3390/plants9081052
17. Vermote, L., Verce, M., Mozzi, F., De Vuyst, L., & Weckx, S. (2022). Microbiomes associated with the surfaces of Northern Argentinian fruits show a wide species diversity. *Frontiers in Microbiology*, 13, 872281. DOI: 10.3389/fmicb.2022.872281
18. Abdelfattah, A., Freilich, S., Bartuv, R., Zhimo, V. Y., Kumar, A., Biasi, A. et al. (2021). Global analysis of the apple fruit microbiome: are all apples the same. *Environmental Microbiology*, 23(10), 6038-6055. DOI: 10.1111/1462-2920.15469