

## Tavuk Etinden İzole Edilen *Salmonella* spp. İzolatlarının Gıda İşletmelerinde Kullanılan Sodyum Hipoklorit ve Benzalkonyum Klorit Biyositlerine Karşı Direncinin Belirlenmesi

Seza Arslan<sup>\*</sup>, Uğur Yaman Ateş, Fatma Özdemir, Gizem Alıcı, Eda Doğan

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 14030, Bolu, Türkiye

### Öne Çıkanlar

- Tavuk eti kaynaklı *Salmonella*'nın sodyum hipoklorit ve benzalkonyum klorit duyarlılığı belirlenmiştir.
- *Salmonella* izolatlarının benzalkonyum klorite karşı 24 ve 48 saatte MİK ve MBK değerleri 16-64 µg/mL arasındadır.
- *Salmonella* izolatlarının sodyum hipoklorite karşı 24 ve 48 saatte MİK ve MBK değerleri 625-2500 ppm arasındadır.
- Benzalkonyum klorit için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri 16 ve 32 µg/mL ve sodyum hipoklorit için 1250 ppm'dir.
- Bazı izolatların biyositlere karşı MİK ve MBK değerleri referans suşlardan daha yüksek bulunmuştur.

### Makale Bilgileri

Geliş: 30/09/2025

Kabul: 07/11/2025

### Anahtar Kelimeler

*Salmonella* spp.,  
Tavuk Eti,  
Sodyum Hipoklorit,  
Benzalkonyum Klorit,  
Minimum İnhibitör  
Konsantrasyonu

### Öz

*Enterobacteriaceae* ailesine ait *Salmonella* gıda kaynaklı patojendir. Tavuk eti yüksek besin değeri nedeniyle *Salmonella*'nın kontaminasyonu için uygundur. Gıda endüstrisinde patojen kontaminasyonunu önlemek için biyositler kullanılmakta olup zamanla biyositlere karşı direnç gelişebilmektedir. Çalışmamızda, perakende tavuk etinden izole edilip adlandırılmış *Salmonella* izolatlarının, gıda endüstrisinde kullanılan sodyum hipoklorit ve benzalkonyum klorit biyositlerine karşı duyarlılıklarının tespiti amaçlanmıştır. 20 *Salmonella* izolatı 24 ve 48 saat süreyle sodyum hipoklorit ve benzalkonyum klorite maruz bırakılmış ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlenmiştir. İzolatların benzalkonyum klorite karşı 24 ve 48 saatte MİK ve MBK değerleri 16-64 µg/mL bulunmuştur. Sodyum hipoklorit için 24 ve 48 saatte MİK ve MBK değerleri 625-2500 ppm arasındadır. Benzalkonyum klorit için her iki saat uygulamasında benzer değerler bulunurken, sodyum hipokloritin süreye bağlı MİK ve MBK değerleri azalmıştır. İstatistiksel olarak her iki biyosit için uygulamalar arası fark anlamlı bulunmamıştır. Benzalkonyum kloritin MİK<sub>50</sub> 16 µg/mL ve MİK<sub>90</sub> 32 µg/mL iken, sodyum hipokloritin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> 1250 ppm bulunmuştur. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium referans suşları da aynı şartlarda biyositlere karşı test edilmiştir. Bazı izolatların biyositlere karşı MİK ve MBK değerlerinin referans suşlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, patojenlerin biyositlere karşı gelişen direncinin takip edilmesi halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından önemlidir.

## Determination of Resistance of *Salmonella* spp. Isolates from Chicken Meat to Sodium Hypochlorite and Benzalkonium Chloride Biocides Used in Food Processing Plants

### Highlights

- The susceptibility of *Salmonella* originating from chicken meat to sodium hypochlorite and benzalkonium chloride was determined.
- The MIC and MBC values of *Salmonella* isolates against benzalkonium chloride at 24 and 48 hours were between 16-64 µg/mL.
- The MIC and MBC values of *Salmonella* isolates against sodium hypochlorite at 24 and 48 hours were between 625-2500 ppm.
- The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values for benzalkonium chloride were 16 and 32 µg/mL and 1250 ppm for sodium hypochlorite.
- MIC and MBC values of some isolates against biocides were found to be higher than the reference strains.

### Article Info

Received: 30/09/2025

Accepted: 07/11/2025

### Keywords

*Salmonella* spp.,  
Chicken Meat,  
Sodium Hypochlorite,  
Benzalkonium Chloride,  
Minimum Inhibitory  
Concentration,

### Abstract

*Salmonella* belonging to *Enterobacteriaceae* are foodborne pathogens. Chicken meat is suitable for *Salmonella* contamination with high nutritional value. Biocides prevent pathogen contamination and resistance to biocides may develop over time. This study aimed to determine susceptibility of *Salmonella* from retail chicken meat to sodium hypochlorite (SH) and benzalkonium chloride (BKC) in the food industry. 20 *Salmonella* were exposed to SH and BKC for 24 and 48 hours and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined. MIC and MBC against BKC at 24 and 48 hours were 16-64 µg/mL. For SH, MIC and MBC at 24 and 48 hours were 625-2500 ppm. While similar values were found for BKC in both hourly applications, MIC and MBC values of SH decreased with time. The difference between the treatments was not statistically significant for both biocides. MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of BKC were 16 µg/mL and 32 µg/mL, while for SH they were 1250 ppm. *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium reference strains were tested against biocides under the same conditions. Some isolates had higher MIC and MBC values against biocides than reference strains. In conclusion, monitoring the resistance of pathogens to biocides is important for public health and food safety.

## 1. GİRİŞ

*Salmonella* spp. *Enterobacteriaceae* ailesine ait çubuk şeklinde Gram-negatif bir bakteridir. Dünya genelinde, *Salmonella* ile kontamine olmuş et ürünleri gıda kaynaklı hastalıkların önde gelen nedenlerindendir [1, 2]. *Salmonella* insanlarda gastroenterit, tifo-paratifo ateşi, gıda zehirlenmesi ve bakteriyemi gibi ciddi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda hayatı tehdit edebilecek durum oluşturabilir [3]. *Salmonella*'nın dünyada yılda yaklaşık 180 milyon kişinin enfeksiyonuna sebep olabildiği ve ölümle sonuçlanan ishal semptomlu hastalıkların %41'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir [4]. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl 10 kişiden 1'i gıda kaynaklı hastalıklara yakalanmaktadır [1]. *Salmonella* spp.'nin temel bulaşma yolu, özellikle zengin besin içeriğinden dolayı bakteriyel gelişime elverişli bir ortam sunan tavuk etidir [5].

Geçmişten bugüne tavuk eti, kolay ulaşılabilir ve sağlıklı besin değerleri nedeniyle yaygın olarak tüketilmektedir. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü tarafından yayımlanan Kümes Hayvancılığı Durum Tahmin Raporu (2024) istatistiğine göre, 2023 yılında ülkemiz genelinde yaklaşık 2,3 milyon ton tavuk eti üretilmiştir. Bu üretimin yaklaşık 494 bin tonu ihraç edilmiş ve 1,8 milyon tonu iç pazarda tüketilmiştir. Küresel ölçekte ise Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) verilerine göre 2023 yılında toplam tavuk eti üretimi 103,6 milyon ton olarak kayıtlara geçmiştir. Govoni ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptıkları çalışmada, bir yılda kişi başına düşen küresel tavuk eti tüketiminin 1961 yılında 2,9 kilogram iken, 2018 yılında 15,6 kilografa yükseldiği rapor edilmektedir [6, 7].

Gıda sektöründe doğrudan veya dolaylı yoldan meydana gelen kontaminasyonlar, patojenlerin gıdalara bulaşmasına yol açmakla birlikte gıda ürünlerinin bozulmasına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır [8]. Gıda endüstrisinde patojenlere engel olmak ve gıda güvenliğini sağlamak amacıyla pastörizasyon, sterilizasyon, iritasyon, özel paketleme şekilleri ve dezenfeksiyon gibi çeşitli uygulamalar ve yöntemler kullanılmaktadır [9]. Dünya genelinde oldukça sık tüketilen tavuk etinin kontamine olmadan güvenli bir şekilde üretilmesi ve paketlenmesi önemlidir [3]. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde belirtildiği üzere, gıdalarda *Salmonella* patojenine karşı sıfır tolerans politikası uygulanmaktadır [10]. Gıda sektöründe, patojenleri yok etme, azaltma, kontrol etme ve yayılmayı önleme amacıyla biyositler kullanılmaktadır [11, 12].

Kuarterner amonyum bileşikleri ve klor bazlı oksitleyici dezenfektanlar, patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [13-15]. Kuarterner amonyum bileşiklerinden biri olan benzalkonyum klorit, bakteri endosporları haricinde etkisini gösteren geniş spektrumlu bir dezenfektandır. Benzalkonyum kloritin bakterisidal etkisi, içeriğindeki kimyasal yapısı sayesinde bakterinin sitoplazmik zar geçirgenliğini yıkarak hücre bütünlüğünü bozmakta ve hücre ölümüne yol açmaktadır [16]. Klor bazlı oksitleyici dezenfektanlar grubunun üyesi olan sodyum hipoklorit, toksik kalıntı bırakmadan yüzeyleri temizleyen etkili bir antiseptiktir. Sodyum hipokloritin bakterisidal etkisi, enzim, aminoasit ve solunum bileşenlerinin oksidasyonu, ATP üretiminde azalma, DNA yapısının ve sentezinin bozulması, besin alımının azalması ve hücre bütünlüğünün bozulmasına bağlı olabilmektedir [14].

Ancak bazı araştırmalar, patojenlerin, kullanılan biyositlere karşı direnç geliştirebileceğini bildirmiştir [17]. Biyositlere dirençli bakteriler uzun süreli subletal doz maruziyeti sonucu ortaya çıkabilirler ve kazandıkları direnç genlerini aktararak, bakteriler arasında bu direnç genlerinin yayılmasını sağlayabilirler [18]. Biyositlerin aşırı veya yaygın kullanımı durumunda antiseptiklere dirençli bakterilerin hayatta kalıp üreyebileceği seçici çevresel bir baskı meydana gelmektedir. Bu baskı, yalnızca dirençli suşların hayatta kalabileceği bir popülasyonun oluşmasına yol açmaktadır [17]. Ayrıca, tavuk eti üretimi aşamalarında antimikrobiyal ajanların sık kullanımı *Salmonella* spp. suşlarında biyositlere karşı direnç gelişimine neden olmaktadır [19, 20]. Bakterilerin geliştirdiği direnç sonucunda, kullanılan dezenfektanların ve antibiyotiklerin etkinliği azalmaktadır [21].

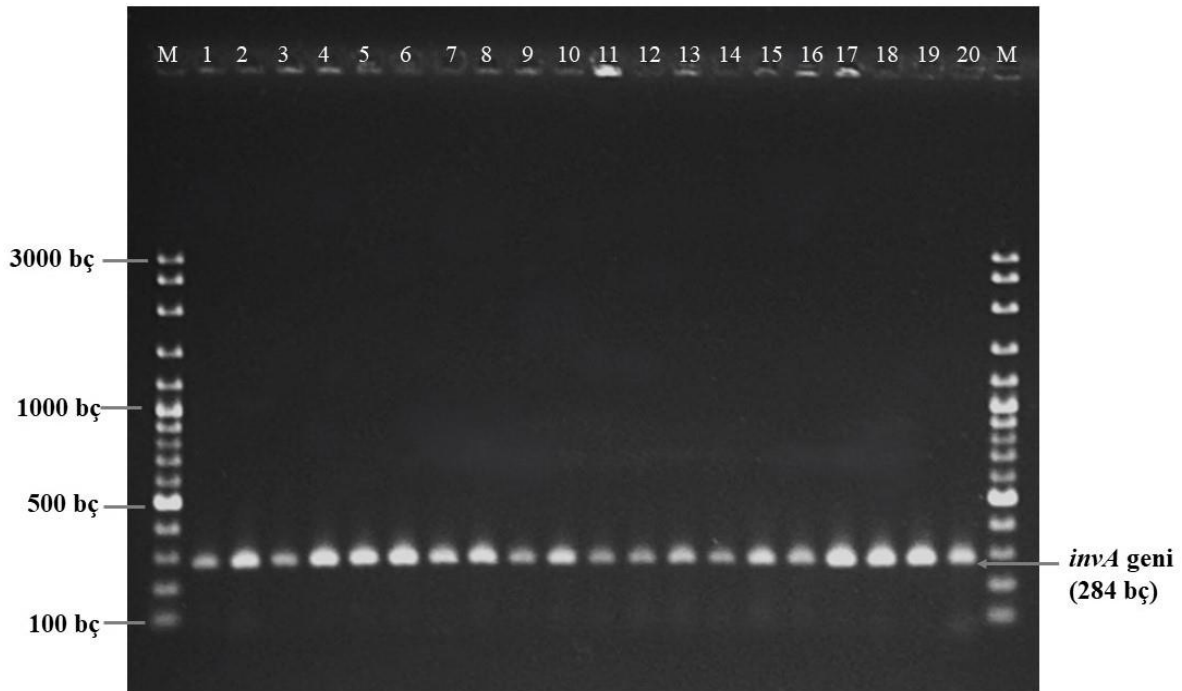
Dünyada ve ülkemizde sıklıkla tüketilen tavuk eti, patojenler için önemli kaynaktır. *Salmonella* spp. gıda kaynaklı hastalıklara neden olan dört patojenden biri olarak kabul edilmektedir [22]. Patojenleri yok etmek için biyositler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, sık kullanım, *Salmonella* spp. suşlarında biyositlere karşı direnç geliştirebilmektedir. Bu nedenle, araştırmamızda, tavuk eti örneklerinden izole edilmiş *Salmonella* spp.'nin gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan benzalkonyum klorit ve sodyum hipoklorit biyositlerine karşı duyarlılıklarının minimum inhibitör konsantrasyon ve minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Bakteri İzolatları

Araştırmada, Bolu ilindeki çeşitli kasap, şarküteri ve süpermarketlerden satın alınmış perakende tavuk eti (derisiz göğüs) örneklerinden izole edilmiş ve adlandırılmış, Fen-Edebiyat Fakültesi, Uygulamalı Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarının bakteri kültür koleksiyonunda  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de gliserolde saklanan 20 *Salmonella* spp. izolatı kullanılmıştır.

İzolatlar 5 mL Brain Heart Infusion broth (BHI, Merck) kullanılarak  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilerek geliştirilmiştir. Daha sonra BHI agar besiyerine tek koloni ekim yapılmış ve kültürlerin saflıkları kontrol edilmiştir. Saf kültürlerden DNA izolasyonu cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) yöntemi ile yapılmıştır [23]. Spesifik primerler kullanılarak *invA* geni Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) metodu ile çoğaltılmıştır [24]. Çoğaltılan PZR ürünleri, 100 bç DNA ladder (Vivantis, Malezya) kullanılarak 70 Volt'ta %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Böylece, araştırmada kullanılan *Salmonella* spp. izolatlarımızda, spesifik *invA* geninin varlığı tekrardan doğrulanmıştır. Agaroz jel fotoğrafı Şekil 1' de verilmiştir.



**Şekil 1.** *Salmonella* cins spesifik *invA* geni taşıyan 20 *Salmonella* spp. izolatının agaroz jel görüntüsü. Hat M; Moleküler ağırlık standardı (100 bç), Hat 1-20; Tavuk etinden elde edilen 20 *Salmonella* izolatı

## 2.2. Biyositler

Araştırmada, kuarterner amonyum bileşiklerden benzalkonyum klorit (Sigma-Aldrich, Almanya) ve klor bazlı sodyum hipoklorit (%5 solüsyon) (Lab Grade, ABD) olmak üzere iki farklı dezenfektan kullanılmıştır. Biyositlerden, benzalkonyum kloritin stok çözeltisi 1024 µg/mL ve sodyum hipokloritin stok çözeltisi 5000 ppm olarak literatürlere göre bazı modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır [25, 26].

## 2.3. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini

Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), bakterilerin görünür üremesini inhibe eden en düşük ajan konsantrasyonudur [27]. Sodyum hipoklorit ve benzalkonyum klorit biyositlerinin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, Mueller Hinton broth (MH, Merck) kullanılarak steril 96 kuyucuklu polistiren mikrotitre plakalarında (U tabanlı) Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kılavuzlarına uygun olarak broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri, izolatların %50 ve %90'ının büyümesini inhibe eden en düşük biyosit konsantrasyonları olarak hesaplanmıştır [28, 29].

Bu araştırmada, benzalkonyum klorit için 1-512 µg/mL ve sodyum hipoklorit için 4,88-2500 ppm konsantrasyon aralığı test edilmiştir. Biyositler, iki katlı seri seyreltme metodu kullanılarak mikrotitre plakalara yerleştirilmiştir. *Salmonella* spp. izolatları BHI broth'ta 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Üreyen kültürler, BHI agar plakalarına aktararak 37 °C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra plaklardan birkaç koloni alınarak bakteriyel bulanıklığı 0,5 McFarland standartına ( $1,5 \times 10^8$  kob/mL) ayarlamak için MH broth içinde süspansiyon edilmiştir. Bakteri kültürleri, son konsantrasyon  $10^6$  kob/mL olacak şekilde biyosit içeren mikrotitre plakaların her bir kuyusuna eklenmiştir. Negatif kontrol sadece steril MH broth besiyeri, pozitif kontrol sadece bakteri kültürü içermektedir. Bu çalışmada, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 ve *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 referans suşları kullanılmıştır. Ayrıca, her mikrotitre plakasına iç kontrol olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşu ve gentamisin antibiyotigi eklenmiştir [27, 28]. Mikrotitre plakalar, 24 saat ve 48 saat sürede tutulmak üzere paralel iki plaka olarak hazırlanmış ve 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakteri büyümesi, optik yoğunluk 600 nm dalga boyunda mikropilaka okuyucu (Thermo Electron Corporation, Finlandiya) kullanılarak ölçülmüştür.

## 2.4. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Tayini

Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK), bakterisidal aktiviteyi tahmin etmenin yaygın bir yolu olup tüm bakterilerin %99,9'unu öldürmek için gereken ajan konsantrasyonu olarak belirtilmektedir [30]. Biyositlerin MBK değeri, Mueller Hinton agar (MHA) besiyerinde belirlenmiştir. Bunun için, 24 saat ve 48 saat inkübe edilen mikrotitre plakaların ilk 8 kuyusundaki bakteri kültürlerinden MHA besiyerlerine nokta ekimi yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından üreme gözlenmeyen bakteri konsantrasyonları MBK değeri olarak değerlendirilmiştir.

## 2.5. İstatistiksel Analiz

Biyositlerin farklı iki zaman dilimi içinde bakteri izolatları üzerindeki etkilerini değerlendirmek için elde edilen verilerin istatistiksel analizi Microsoft Excel (Microsoft Office 365, Microsoft Corp., Redmond, WA, ABD) yazılım programı ile gerçekleştirilmiştir. Tek yönlü Varyans analizi (One-Way NOVA) ile Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  kabul edilmiştir.

## 3. BULGULAR

Bu araştırmada, perakende tavuk örneklerinden elde edilen 20 *Salmonella* spp. izolatının benzalkonyum klorit ve sodyum hipoklorit biyositlerine karşı direnç profilleri belirlenmiştir. İzolatlar, belirlenen biyosit konsantrasyonlarına, 24 saat ve 48 saat sürecince maruz bırakılmıştır. Araştırmanın sonuçları benzalkonyum klorit ve sodyum hipoklorit başlıkları altında verilmiştir.

Araştırmada, CLSI kriterlerine uyumlu olarak gentamisin MİK değerleri 0,12-1 µg/mL arasında tespit edilmiştir. Biyosit etkinliği için *S. aureus* ATCC 6538 suşunun MİK değerleri (0-500 µg/mL) referanslarda belirtildiği gibi bulunmuştur [25, 26, 31].

### 3.1. Benzalkonyum Klorit

*Salmonella* spp. izolatları ve referans *Salmonella* Typhimurium ve *Salmonella* Enteritidis suşlarının benzalkonyum klorite karşı duyarlılıkları belirlenmiş ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri Çizelge 1’de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.** *Salmonella* spp. İzolatlarının Benzalkonyum Klorite Karşı 24 ve 48 Saatlik MİK ve MBK Değerleri

| İZOLAT                           | 24 SAAT                 |             | 48 SAAT                 |             |
|----------------------------------|-------------------------|-------------|-------------------------|-------------|
|                                  | MİK (µg/mL)             | MBK (µg/mL) | MİK (µg/mL)             | MBK (µg/mL) |
| T1                               | 64                      | 64          | 64                      | 64          |
| T2                               | 64                      | 64          | 64                      | 64          |
| T3                               | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T4                               | 32                      | 32          | 32                      | 32          |
| T5                               | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T6                               | 32                      | 32          | 32                      | 32          |
| T7                               | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T8                               | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T9                               | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T10                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T11                              | 16                      | 32          | 16                      | 16          |
| T12                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T13                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T14                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T15                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T16                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T17                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T18                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T19                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
| T20                              | 16                      | 16          | 16                      | 16          |
|                                  | 16 (MİK <sub>50</sub> ) |             | 16 (MİK <sub>50</sub> ) |             |
|                                  | 32 (MİK <sub>90</sub> ) |             | 32 (MİK <sub>90</sub> ) |             |
| <i>S. Enteritidis</i> ATCC 13076 | 16                      | 16          | 4                       | 4           |
| <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 | 8                       | 8           | 8                       | 8           |
| <i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028 | 16                      | 16          | 16                      | 16          |

MİK, minimum inhibitör konsantrasyon; MBK, minimum bakterisidal konsantrasyon.

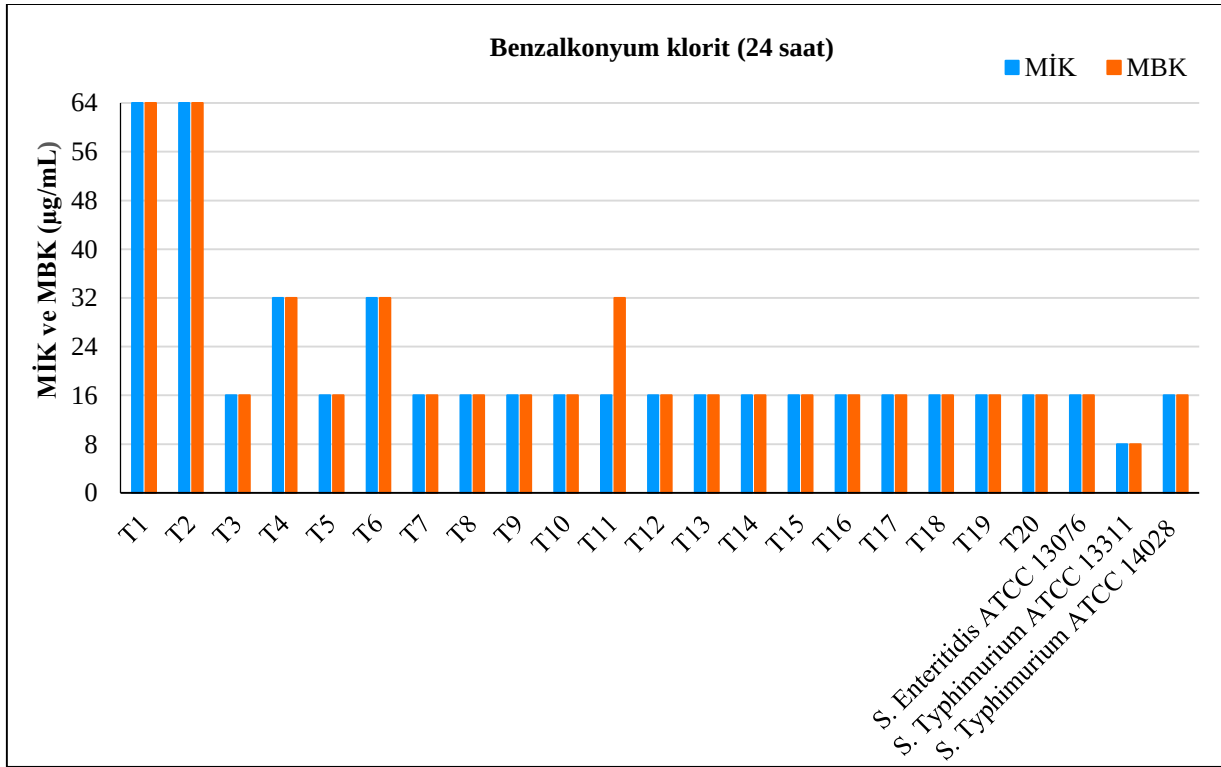
Araştırmamızda, 20 *Salmonella* spp. tavuk izolatının kuarternler amonyum bileşikler sınıfında yer alan benzalkonyum klorit (BKC) biyositine karşı 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası MİK değerleri 16-64 µg/mL aralığında bulunmuştur.

Ayrıntılı incelendiğinde, izolatların %80'i 16 µg/mL, %10'u 32 µg/mL ve %10'u 64 µg/mL MİK değeri göstermiştir. MİK<sub>50</sub> değeri, 16 µg/mL ve MİK<sub>90</sub> değeri 32 µg/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). İzolatların 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası MBK değerleri 16-64 µg/mL aralığında MİK değerleri ile benzer bulunmuştur. İstatistiksel veri analizi sonucunda, 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası BKC biyositine karşı izolatların MİK ve MBK değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

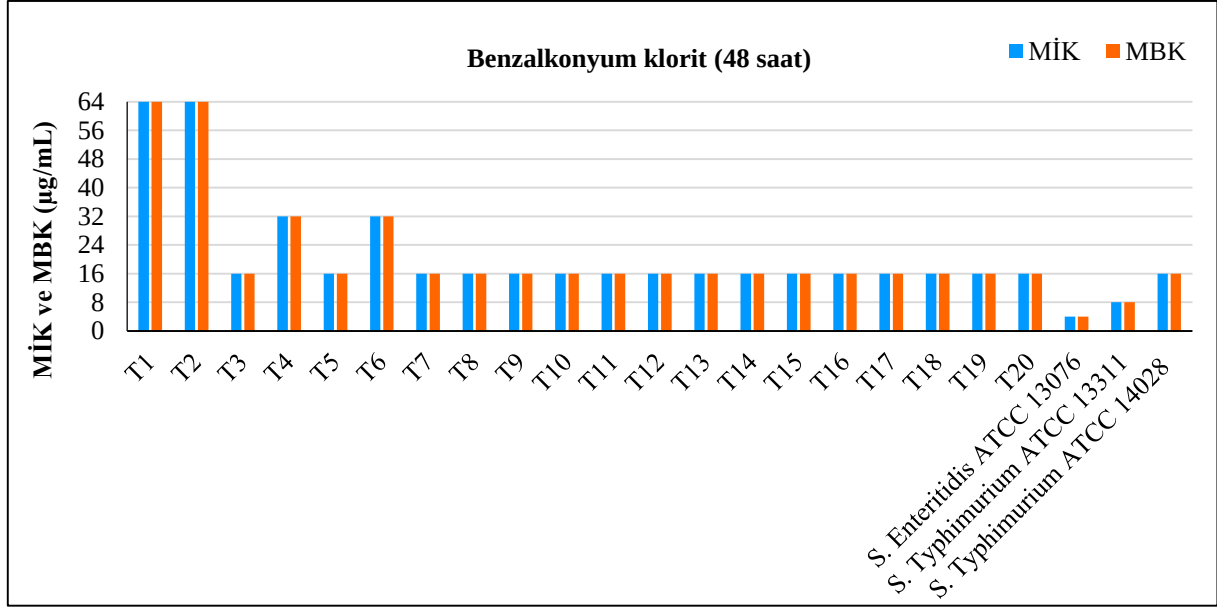
Araştırmamızda, *Salmonella* spp. tavuk izolatları ile birlikte iki *Salmonella* Typhimurium referans suşu ve bir *Salmonella* Enteritidis referans suşunun BKC biyositine karşı 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası MİK ve MBK değerleri belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre, tavuk izolatlarının %100'ünün referans suş *S. Typhimurium* ATCC 13311'in MİK ve MBK değerlerinden (8 µg/mL) daha yüksek MİK ve MBK değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. *Salmonella* izolatlarının %75'i *S. Typhimurium* ATCC 14028 referans suşunun 24 ve 48 saat uygulama sonrası MİK ve MBK değerleri (16 µg/mL) benzer iken, *S. Enteritidis* ATCC 13076 referans suşunun 24 saatlik MİK ve MBK değerleri (16 µg/mL) ile benzerlik göstermiştir. Ancak, 48 saat uygulama sonrası, *S. Enteritidis* ATCC 13076 referans suşunun MİK ve MBK değerleri (4 µg/mL) kıyaslandığında, izolatlarımızın tümünün MİK ve MBK değerleri (>16 µg/mL) bu referansa göre daha yüksek bulunmuştur.

Bununla birlikte, 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası, tavuk izolatlarının %20'sinin MİK ve MBK değerlerinin ( $\geq 32$  µg/mL) araştırmada kullanılan *Salmonella* referans suşlarının tümünün MİK ve MBK değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre, tavuktan izole edilen bazı *Salmonella* spp.'lerin benzalkonyum klorit biyositine karşı referans suşlardan daha dirençli oldukları görülmektedir. Böylece, çiğ tavuk etinden izole edilen bazı *Salmonella* bakterilerinin inhibe olması veya yok edilmesi için referans suşlara kıyasla daha yüksek biyosit konsantrasyonunun kullanılması gerekmektedir.

*Salmonella* tavuk izolatlarının ve *Salmonella* referans suşlarının, benzalkonyum klorite karşı 24 ve 48 saat uygulama sonrası MİK ve MBK sonuçları karşılaştırmalı olarak Şekil 2 ve Şekil 3'te görülmektedir.

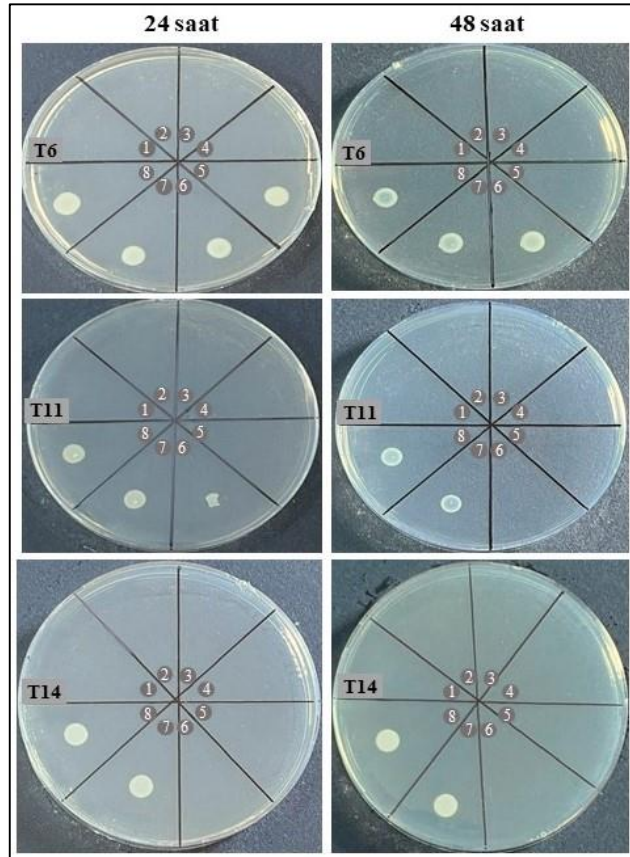


**Şekil 2.** *Salmonella* spp. izolatlarının benzalkonyum klorite karşı 24 saatlik uygulama sonrası minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri



**Şekil 3.** *Salmonella* spp. izolatlarının benzalkonyum klorite karşı 48 saatlik uygulama sonrası minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri

Araştırmamızda, 24 saatlik ve 48 saatlik benzalkonyum klorit uygulamasından sonra seçilen T6, T11 ve T14 numaralı *Salmonella* izolatlarının MBK plak fotoğrafları Şekil 4’de verilmiştir.



**Şekil 4.** *Salmonella* spp. izolatlarının benzalkonyum klorit ile 24 ve 48 saat inkübasyon sonrası elde edilen minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) plaklarının fotoğrafları. 1 (512 µg/mL), 2 (256 µg/mL), 3 (128 µg/mL), 4 (64 µg/mL), 5 (32 µg/mL), 6 (1 µg/mL), 7 (8 µg/mL) ve 8 (4 µg/mL).



### 3.2. Sodyum Hipoklorit

Sodyum hipoklorit biyositine 24 ve 48 saat maruz bırakılmış *Salmonella* spp. izolatlarının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri Çizelge 2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.** *Salmonella* spp. İzolatlarının Sodyum Hipoklorite Karşı 24 ve 48 Saatlik MİK ve MBK Değerleri

| İZOLAT                    | 24 SAAT                   |           | 48 SAAT                   |           |
|---------------------------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|
|                           | MİK (ppm)                 | MBK (ppm) | MİK (ppm)                 | MBK (ppm) |
| T1                        | 625                       | 625       | 625                       | 625       |
| T2                        | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T3                        | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T4                        | 625                       | 625       | 625                       | 625       |
| T5                        | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T6                        | 625                       | 625       | 625                       | 625       |
| T7                        | 1250                      | 2500      | 1250                      | 1250      |
| T8                        | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T9                        | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T10                       | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T11                       | 1250                      | 1250      | 1250                      | 2500      |
| T12                       | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T13                       | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T14                       | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T15                       | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |
| T16                       | 1250                      | 2500      | 1250                      | 1250      |
| T17                       | 1250                      | 1250      | 625                       | 625       |
| T18                       | 1250                      | 2500      | 625                       | 1250      |
| T19                       | 1250                      | 2500      | 1250                      | 1250      |
| T20                       | 625                       | 625       | 625                       | 625       |
|                           | 1250 (MİK <sub>50</sub> ) |           | 1250 (MİK <sub>50</sub> ) |           |
|                           | 1250 (MİK <sub>90</sub> ) |           | 1250 (MİK <sub>90</sub> ) |           |
| S. Enteritidis ATCC 13076 | 625                       | 625       | 625                       | 625       |
| S. Typhimurium ATCC 13311 | 625                       | 625       | 625                       | 625       |
| S. Typhimurium ATCC 14028 | 1250                      | 1250      | 1250                      | 1250      |

MİK, minimum inhibitör konsantrasyon; MBK, minimum bakterisidal konsantrasyon.

Araştırmamızda, 20 *Salmonella* spp. tavuk izolatının klor bazlı bir bileşik olan sodyum hipoklorit biyositine karşı 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası MİK değerleri 625-1250 ppm aralığında tespit edilmiştir. MİK değerleri, 24 saatlik uygulama sonrası izolatların %80’i için 1250 ppm ve %20’si için 625 ppm olarak belirlenmiştir. Ancak, 48 saatlik uygulama sonrası MİK değerleri, izolatların %70’i için 1250 ppm ve %30’u için 625 ppm olarak görülmüştür. Burada, MİK değeri 1250 ppm olan iki izolatın MİK değerinin süreye bağlı olarak (48 saat sonra) 625 ppm’e düştüğü belirlenmiştir. İzolatların MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değeri 1250 ppm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2).



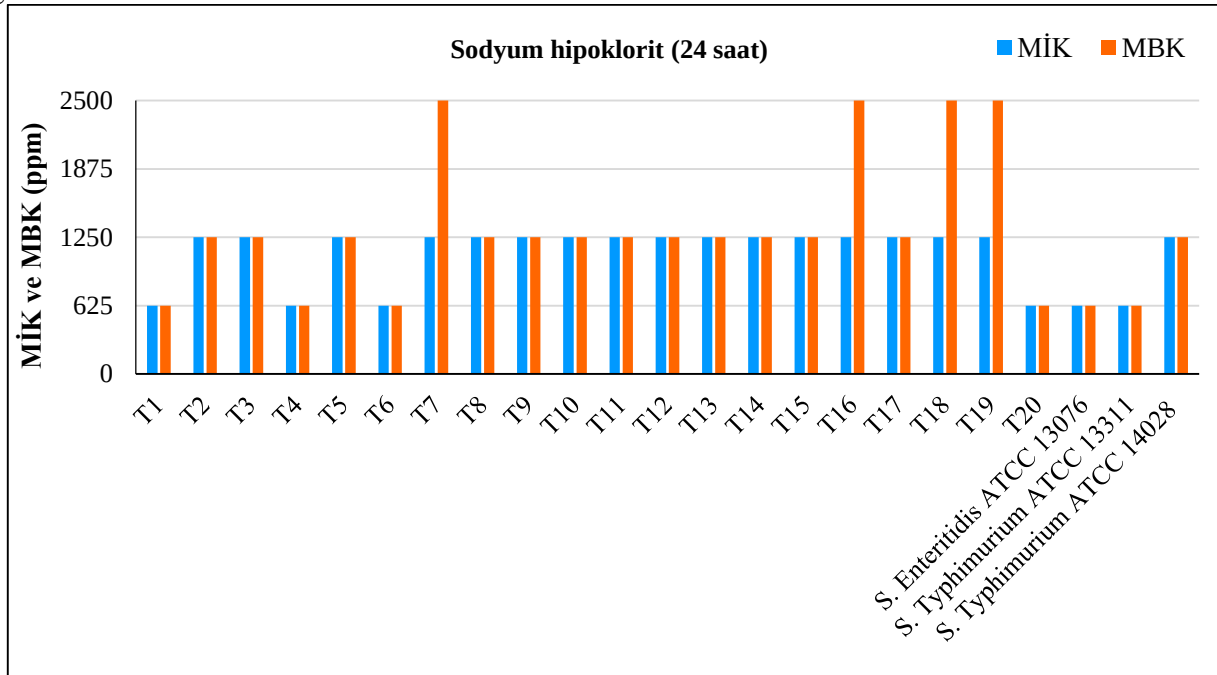
Bununla birlikte, 24 saatlik inkübasyon sonrası sodyum hipoklorit için izolatların %60'ı 1250 ppm, %20'si 2500 ppm ve %20'si 625 ppm MBK değerleri göstermiştir. Ancak, 48 saatlik inkübasyon sonrasında, MBK değerleri %70 izolat için 1250 ppm, %25 izolat için 625 ppm, %5 izolat için 2500 ppm olarak tespit edilmiştir. Bazı izolatlarda, MBK değerlerinin, MİK değerlerinde olduğu gibi süreye bağlı olarak azaldığı rakamsal olarak tespit edilmiştir. Ancak, istatistiksel olarak incelendiğinde, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrası sodyum hipoklorite karşı izolatların MİK ve MBK değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

Tavuk izolatlarının sodyum hipoklorite karşı 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası MİK ve MBK değerleri (625-2500 ppm aralığında) karşılaştırıldığında, kullanılan üç *Salmonella* referans suşunun sonuçları 625-1250 ppm arasında daha düşük bulunmuştur. Bunlardan, *S. Enteritidis* ATCC 13076 ve *S. Typhimurium* ATCC 13311 referans suşlarının MİK ve MBK değerleri 625 ppm olarak belirlenmiştir. Tavuk izolatlarının %75'nin bu referans suşlara göre daha yüksek MİK ve MBK (>625 ppm) değerlerine sahip olduğu ve böylece sodyum hipoklorite karşı referans suşlardan daha dirençli olduğu tespit edilmiştir.

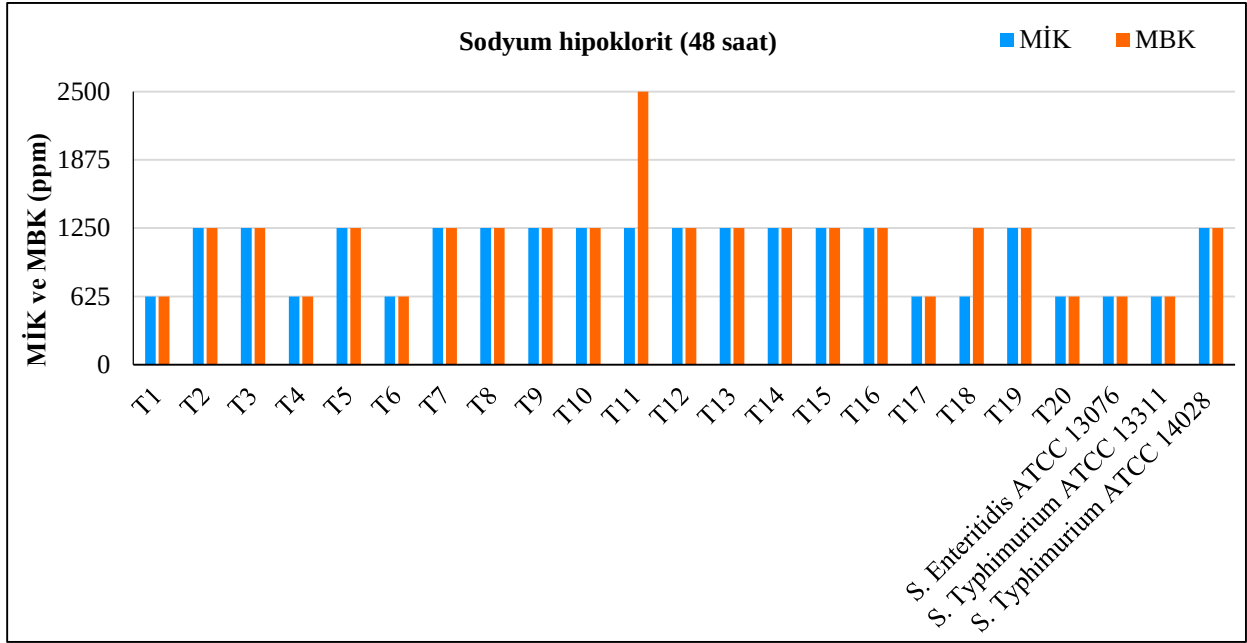
Ancak, T1, T4, T6 ve T20 izolatlarının MİK ve MBK sonuçları (625 ppm/ 24 ve 48 saat) bu iki referans suşun sonuçları ile aynı bulunmuştur. Yanı sıra, T17 izolatının MİK ve MBK değerleri 24 saat uygulama sonrası 1250 ppm, 48 saat uygulama sonrası 625 ppm olarak belirlenmiştir.

Sodyum hipoklorite karşı referans suş *S. Typhimurium* ATCC 14028'in MİK ve MBK değerleri (24 ve 48 saat) 1250 ppm bulunmuştur. *Salmonella* tavuk izolatlarının sonuçları bu referans suş ile karşılaştırıldığında, çoğunlukla (1250 ppm) benzer MİK ve MBK değerlerinin tespit edildiği görülmüştür. Ancak, izolatların %20'sinde (T7, T16, T18, T19) 24 saat sodyum klorit uygulaması sonrası MBK değeri 2500 ppm olarak bulunmuştur. Ek olarak, T11 izolatının 48 saat sodyum hipoklorit uygulaması sonrası MBK değeri 2500 ppm'dir. Sonuçlarımıza göre, referans suş *S. Typhimurium* ATCC 14028 ile karşılaştırıldığında bu doğal *Salmonella* tavuk izolatlarının tamamıyla yok edilebilmesi için daha yüksek biyosit konsantrasyonunun gerekli olduğu tespit edilmiştir.

*Salmonella* tavuk izolatlarının ve *Salmonella* referans suşlarının, sodyum hipoklorit biyositine karşı 24 ve 48 saatlik uygulama sonrası elde edilen MİK ve MBK sonuçları karşılaştırmalı olarak Şekil 5 ve Şekil 6'da görülmektedir.

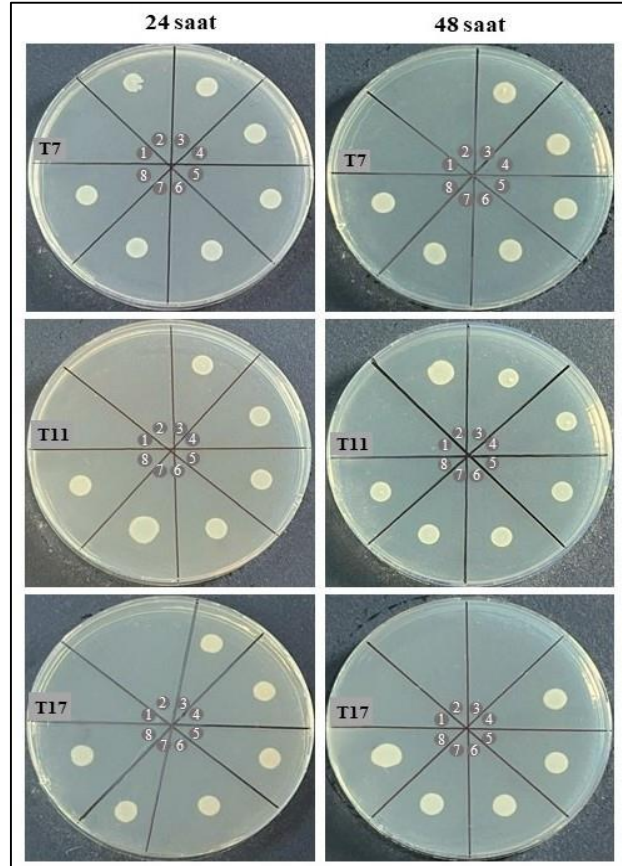


Şekil 5. *Salmonella* spp. izolatlarının sodyum hipoklorite karşı 24 saatlik uygulama sonrası MİK ve MBK değerleri



**Şekil 6.** *Salmonella* spp. izolatlarının sodyum hipoklorite karşı 48 saatlik uygulama sonrası MİK ve MBK değerleri

Araştırmamızda, 24 saatlik ve 48 saatlik sodyum hipoklorit uygulamasından sonra MBK değerleri farklı olan T7, T11 ve T17 numaralı *Salmonella* izolatlarının MBK plak fotoğrafları Şekil 7’de verilmiştir.



**Şekil 7.** *Salmonella* spp. izolatlarının, sodyum hipoklorit ile 24 ve 48 saat inkübasyon sonrası elde edilen MBK plaklarının fotoğrafları. 1 (2500 ppm), 2 (1250 ppm), 3 (625 ppm), 4 (312,5 ppm), 5 (156,25 ppm), 6 (78,125 ppm), 7 (39,06 ppm) ve 8 (15,53 ppm)

### 3.3. Biyositlerin MİK Dağılımı

Benzalkonyum klorit ve sodyum hipoklorit biyositlerinin tavuk etinden izole edilen elde 20 *Salmonella* spp. izolatına karşı 24 ve 48 saatlik MİK değerlerinin dağılımı Çizelge 3'te gösterilmiştir.

**Çizelge 3.** *Salmonella* spp. izolatlarının biyositlere karşı MİK değerlerinin dağılımı

| Süre, n (%)    | Benzalkonyum klorit MİK değerleri (µg/mL) |        |         |        |        |        |         |      |
|----------------|-------------------------------------------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------|
|                | 4                                         | 8      | 16      | 32     | 64     | 128    | 256     | 512  |
| 24 saat, n (%) |                                           |        | 16 (80) | 2 (10) | 2 (10) |        |         |      |
| 48 saat, n (%) |                                           |        | 16 (80) | 2 (10) | 2 (10) |        |         |      |
| Süre, n (%)    | Sodyum hipoklorit MİK değerleri (ppm)     |        |         |        |        |        |         |      |
|                | 19,531                                    | 39,062 | 78,125  | 156,25 | 312,5  | 625    | 1250    | 2500 |
| 24 saat, n (%) |                                           |        |         |        |        | 4 (20) | 16 (80) |      |
| 48 saat, n (%) |                                           |        |         |        |        | 6 (30) | 14 (70) |      |

## 4. TARTIŞMA

Biyositler, gıda endüstrisinde yüzeylerin veya ekipmanların dezenfeksiyonu, gıda ürünlerinin bozulmasını önlemek, ürünlerin raf ömrünü uzatmak, gıda ve içeceklerde mikrobiyal gelişmenin kontrolü, karkas ve işlenmiş ürünlerin dekontaminasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [13, 14, 15, 32]. Biyositler, dezenfektanlar, koruyucular, haşere kontrol ajanları dahil olmak üzere çok geniş bir uygulama alanına sahiptir [11, 31, 33].

Kuarterner amonyum bileşiklerinden biri olan benzalkonyum klorit ve klor bazlı oksitleyici dezenfektanlar grubunun üyesi olan sodyum hipoklorit, gıda endüstrisinde zararlı patojenlerle mücadele etmek ve gıda güvenliğini sağlamak amacıyla sıkça kullanılan biyositlerdir [13, 14, 15]. Bu çalışmada, gıda enfeksiyonlarına neden olan en önemli patojenlerden biri olan *Salmonella* spp.'nin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan benzalkonyum klorit (BKC) ve sodyum hipoklorit (SH) biyositlerine karşı duyarlılığı iki farklı zaman aralıklarında belirlenmiştir. Test edilen tavuk orijinli izolatların minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra BKC için 16 ila 64 µg/mL (Çizelge 1), SH için ise 625 ila 1250 ppm bulunmuştur (Çizelge 2).

Benzalkonyum klorit (BKC), bakteri, mantar ve virüslere karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tarımsal, endüstriyel ve klinik gibi yaygın uygulamaları olan kimyasallardır [26]. Çalışmamızda 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrası izolatların çoğu (n=16, %80) için BKC MİK değeri 16 µg/mL'dir. 24 ve 48 saat sonrası izolatların sırasıyla %75 ve %80'i için minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değeri 16 µg/mL olarak bulunmuştur. Ancak, analiz edilen verilerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0,05$ ). Benzer bir çalışmada, organik gıdalardan izole edilen *Salmonella* de dahil olmak üzere çeşitli bakteri izolatlarının çoğu (98%), benzalkonyum klorit biyositi için 10 mg/l konsantrasyonu ile inhibe edildiği bildirilmiştir [34]. Beier ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, çeşitli *Salmonella enterica* serovar suşlarının %67,6 (98/145)'sında BKC MİK değeri 16 µg/mL, %0,7 (1/145)'sinde BKC MİK değeri 64 µg/mL olarak bulunmuş olup ve bu sonuçlar bizim bulgularımızda desteklemektedir [35]. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir araştırmada, BKC biyositi için çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *Salmonella* izolatlarının  $\geq$  %50'sinin üreyemediği minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) veya MİK<sub>50</sub> değeri 40 µg/mL'dir [36]. Condel ve arkadaşları tarafından İrlanda'da yapılan bir çalışmada, çeşitli *Salmonella* serotiplerinin yabani tip ve mutant suşları için benzalkonyum kloritin MİK değerleri sırasıyla 15 ve 50 µg/mL olarak belirlemiştir. Bununla birlikte, test ettikleri biyositleri, planktonik olarak yetiştirilen çeşitli *Salmonella* serotiplere karşı etkili bulmuşlardır [37]. Pereira ve Tagkopoulos tarafından yapılan bir araştırmada, *Salmonella* suşlarında BKC MİK değerinin 256 µg/mL olduğu rapor edilmiştir [26]. Sodyum hipoklorit birçok patojene karşı geniş kapsamlı antibakteriyel etkinliği nedeniyle yaygın olarak kullanılan klor bazlı bir dezenfektandır [14]. Çalışmamızda, sodyum hipoklorit ile 24 ve 48 saat muamele sonrası izolatların çoğunda sırasıyla %80 ve %70 olmak üzere MİK değeri 1250 ppm belirlenmiştir.

En düşük MİK değeri 625 ppm, 24 ve 48 saat sonra sırasıyla izolatların %20 ve %30'unda kaydedilmiştir. Bununla birlikte, sodyum hipokloritin 24 ve 48 saat sonra MBK değeri sırasıyla izolatların %60 ve %70'inde 1250 ppm olarak tespit edilmiştir. Sodyum hipoklorit için test edilen en yüksek konsantrasyonda (2500 ppm), izolatların %25'i 24 saat sonra ve %10'u için 48 saat sonra MBK değeri saptanmıştır. Araştırmamızda, izolatlar üzerinde sodyum hipokloritin etkinliği süreye bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Ancak, istatistiksel analizde 24 ve 48 saat sonra elde edilen MİK ve MBK değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ). Nunes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 and *Salmonella* Schwarzengrund suşlarının önerilen veya daha yüksek sodyum hipoklorit konsantrasyonlarına duyarlı olduğunu, su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilen izolatlar söz konusu olduğunda önerilen konsantrasyon ile birlikte daha uzun bir maruz kalma süresi gerektirdiğini göstermişlerdir [38]. Bu çalışma, bizim bulgularımızda tavuk izolatlarının sodyum hipoklorite karşı süreye bağlı olarak azalan MİK ve MBK değerleri sonucumuzla uyumludur. Xiao ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada *E. coli* ATCC 29522 ve *S. enteritidis* CVCC 1806 suşlarının sodyum hipoklorite karşı MİK değerini 128 mg/L olarak belirlediğini, domuz etinden elde edilen *Salmonella* izolatlarında 128 mg/L'den büyük bir MİK değerinde sodyum hipoklorite karşı %100 tolerans gözlemlendiğini bildirmişlerdir [39]. Bizim çalışmamızda da bazı tavuk *Salmonella* izolatları kullanılan *Salmonella* referans suşlarından daha yüksek MİK değerleri göstermiştir. Kenya'da yapılan bir çalışmada, *Salmonella* bakteri izolatları üzerinde sodyum hipoklorit biyositin %1 ve %2'lik konsantrasyonlarının inhibitör etkisi tespit edilmemiştir [40].

Biyositlerin sürekli ve yaygın kullanımı sonucunda mikroorganizmalarda direnç gelişimi giderek önem kazanmaktadır [17, 33]. Direnç gelişiminin olası potansiyel sebepleri arasında, biyositlerin kalitesi, organizmanın genomunda onları biyositlere karşı daha toleranslı hale getiren bazı genetik değişimler veya mutasyonlar olabilir [39, 41]. Bununla birlikte, dirençli bakterilerin ortaya çıkması, hastanelerde enfeksiyon riskini artırmakta ve gıda zincirinde halk sağlığı açısından doğrudan bir risk teşkil etmektedir. Bu nedenle, yeni kontrol stratejilerinin geliştirilmesi gerektiği bildirilmektedir [32, 41].

Biyositler, dezenfektanlar, sanitasyon maddeleri, deterjanlar ve etkisiz hale getirmek için kullanılan her türlü kimyasal maddeleri kapsayan geniş bir kategoriye kapsamaktadır. Farklı biyositlerin farklı etki mekanizmaları olması nedeniyle, gıda ile temas eden ve gıda ile temas etmeyen yüzeylerde mikrobiyal popülasyonu azaltma seviyesinde farklılıklar göstermektedirler [18, 42]. Biyositlerin, biyofilm oluşum mekanizması, biyofilm inhibisyonu, temas süresi, sıcaklık, biyosit konsantrasyonu, organik madde varlığı ve yüzey malzeme tipleri gibi çok çeşitli faktörleri içeren şartlarda biyosit etkinliklerinin değerlendirilmesi üzerine literatürde birçok çalışma bulunmaktadır [13, 32, 38].

Bu araştırmada, tavuk etinden izole edilen *Salmonella* spp. izolatlarının, 24 ve 48 saat uygulama sonrası benzalkonyum klorit ve sodyum hipoklorit biyositlerine karşı MİK ve MBK değerleri belirlenmiştir. Benzalkonyum klorite karşı 24 ve 48 saatte en yüksek MİK ve MBK değeri 64 µg/mL bulunmuştur. Sodyum hipoklorit için 24 ve 48 saatte en yüksek MİK ve MBK değerleri sırasıyla 1250 ve 2500 ppm olarak tespit edilmiştir. Benzalkonyum klorit için her iki saat uygulamasında benzer MİK ve MBK değerleri bulunurken, sodyum hipokloritin süreye bağlı MİK ve MBK değerleri azalma göstermiştir. Bununla birlikte, bazı izolatların biyositlere karşı MİK ve MBK değerlerinin *Salmonella* referans suşlarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, yaygın olarak kullanılan biyositlerin *Salmonella* spp. izolatlarına karşı etkinliği kantitatif olarak MİK değerlerinin belirlenmesi ile gerçekleştirilmiş olup, araştırma bu yönüyle önemlidir. Gelecekteki çalışmalarda, biyosit MİK değerleri temel alınarak biyofilm oluşumu- uzaklaştırılması, farklı temas yüzey ve süre gibi daha ileri biyosit etkinliği uygulamaları ve hedef stratejileri mümkün olabilecektir. Sonuç olarak, gıda, sağlık ve tarım alanlarında patojen mikroorganizmaların kontrolü amacıyla biyositlerin yaygın ve bilinçsiz kullanımına karşı direnç gelişiminin izlenmesi önem taşımaktadır. MİK değerlerinin izlenmesi, en etkili biyosidal ajanın ve konsantrasyonun belirlenmesine ve biyositlerin olumsuz sağlık ve çevresel etkilerinin azaltılmasına katkı sağlayabilir.

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı 2024 yılı 1. döneminde 1919B012402684 numaralı proje ile desteklenmiştir. Projemize desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz. Ayrıca, çalışmanın gerçekleşmesine destek veren BAİBÜ Fen-Edebiyat Fakültesi, Uygulamalı Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarına ve Yüksek Lisans öğrencileri Melek Melisa Özgök ve Şerife Topçuoğlu'na teşekkür ederiz.

## YAZARLAR'IN KATKI ORANLARI

**Seza Arslan:** Kavramlaştırma, Metodoloji, Deney sonuçlarının doğruluğunu kontrolü, Araştırma, Materyal temini, Makalenin yazımı-Orijinal taslak, Makalenin yazımı- İnceleme ve Düzenleme, Danışman, Finansman edinimi. **Uğur Yaman Ateş:** Metodoloji, Araştırma, Makalenin yazımı-Orijinal taslak, Finansman edinimi. **Fatma Özdemir:** Araştırma, İçerik analizi, Materyal temini, Makalenin yazımı-Orijinal taslak, Makalenin yazımı- İnceleme ve Düzenleme. **Gizem Alıcı:** Metodoloji, Araştırma. **Eda Doğan:** Metodoloji, Araştırma.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] World Health Organization (2018). *Salmonella (non-typhoidal)*. Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).
- [2] Huoy, L., Vuth, S., Hoeng, S., Chheang, C., Yi, P., San, C., Chhim, P., Thorn, S., Ouch, B., Put, D., Aong, L., Phan, K., Nasirzadeh, L., Tieng, S., BongcamRudloff, E., SternbergLewerin, S., and Boqvist, S. (2024). Prevalence of *Salmonella* spp. in meat, seafood, and leafy green vegetables from local markets and vegetable farms in Phnom Penh, Cambodia. *Food Microbiology*, 124, 104614.
- [3] Bhunia, A.K. (2008). *Salmonella enterica*. In: *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*. New York: Springer. p. 201-216.
- [4] Besser, J.M. (2018). *Salmonella* epidemiology: A whirlwind of change. *Food Microbiology*, 71, 55-59.
- [5] Lozano-Villegas, K.J. and Rondón-Barragán, L.S. (2024). Virulence and antimicrobial resistant gene profiles of *Salmonella* spp. isolates from chicken carcasses markets in Ibagué city, Colombia. *International Journal of Microbiology*, Volume 2024, 4674138.
- [6] Govoni, C., Chiarelli, D.D., Luciano, A., Ottoboni, M., Perpelek, S.N., Pinotti, L., and Rulli, M.C. (2021). Global assessment of natural resources for chicken production. *Advances in Water Resources*, 154, 103987.
- [7] T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü (2024). *Kümes Hayvancılığı Durum Tahmin Raporu 2024*.
- [8] Scharff, R. (2020). Food attribution and economic cost estimates for meat and poultry related illnesses. *Journal of Food Protection*, 83(6), 959-967.
- [9] Ray, B. (2004). *Fundamental Food Microbiology*. 3rd ed. Florida: CRC Press LLC, p.439-534.
- [10] ResmiGazete, 2011. Türk Gıda Kodeksi mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği, Tarih: 29/12/2011 Sayı: 28157.
- [11] Butucel, E., Balta, I., Ahmadi, M., Dumitrescu, G., Morariu, F., Pet, I., Stef, L., and Corcionivoschi, N. (2022). Biocides as biomedicines against foodborne pathogenic bacteria. *Biomedicines*, 10(2), 379.
- [12] Singh, R. and Puniya, A.K. (2024). Role of food safety regulations in protecting public health. *Indian Journal of Microbiology*, 64(3), 1376-1378.
- [13] Gadea, R., Fuentes, M.A., Rubén Pérez Pulido, Gálvez, A., and Elena Martín Ortega (2017). Effects of exposure to quaternary-ammonium-based biocides on antimicrobial susceptibility and tolerance to physical stresses in bacteria from organic foods. *Food Microbiology*, 63, 58-71.
- [14] Nasr, A.M., Mostafa, M.S., Arnaout, H.H., and Elshimy, A.A.A. (2018). The effect of exposure to sub-inhibitory concentrations of hypochlorite and quaternary ammonium compounds on antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *American Journal of Infection Control*, 46(7), E57-E63.
- [15] Wu-Chen, R.A., Feng, J., Elhadidy, M., Nambiar, R.B., Liao, X., Yue, M., and Ding, T. (2023). Long-term exposure to food-grade disinfectants causes cross-resistance to antibiotics in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strains with different antibiograms and sequence types. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 12(1), 145.

- [16] Maillard, J.-Y. (2022). Impact of benzalkonium chloride, benzethonium chloride and chloroxylenol on bacterial antimicrobial resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 133(6), 3322-3346.
- [17] SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks). (2009, January 19). *Assessment of The Antibiotic Resistance Effects of Biocides*. European Commission.
- [18] Betim, M.E., Santos, D.L.S.d., Lopes, T.d.S., Crippa, B.L., Bonsaglia, É.R., Dantas, S.T.A., Rall, V.L.M., Buzzola, F., Galvão, J.A., Gebara, C., Neto, A.T., Silva, N.C.C. (2025). Influence of sub-inhibitory concentrations of sanitizers and oxacillin on the resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. *Veterinary Sciences*, 12, 979.
- [19] EFSA, Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Dewulf, J., Hald, T., Michel, V., and Niskanen, T. (2019). *Salmonella* control in poultry flocks and its public health impact. *EFSA Journal*, 17(2).
- [20] Luisa, M., Burgos, Pulido, R.P., Gálvez, A., and López, R.L. (2016). Biocide tolerance and antibiotic resistance in *Salmonella* isolates from hen eggshells. *Foodborne Pathogens and Disease*, 14(2), 89-95.
- [21] Coombs, K., RodriguezQuijada, C., Clevenger, J.O., and SauerBudge, A.F. (2023). Current understanding of potential linkages between biocide tolerance and antibiotic cross-resistance. *Microorganisms*, 11(8), 2000.
- [22] World Health Organization (2024). *Diarrhoeal Disease*. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.
- [23] Ausubel, F.M., Kingston, R.E., Brent, R., Moore, D.D., Seidman, J., Smith, J.A., Struhl, K. (1991). *Current protocols in molecular biology*. Greene Publishing Associates & Wiley Interscience, New York.
- [24] Rahn, K., De Grandis, S.A., Clarke, R.C., McEwen, S.A., Galán, J.E., Ginocchio, C., Curtiss, R., and Gyles, C.L. (1992). Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Molecular and Cellular Probes*, 6(4), 271-279.
- [25] Lee, Y., Jo, S., Cho, S., Kim, G., Kim, Y., Lee, D., Park, S., Bae, D., Chung, M., Bahk, G. and Ha, S. (2009). Effects of chlorine concentrations and washing conditions on the reduction of microbiological contamination in lettuce. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(3), 270-274.
- [26] Pereira, B.M.P. and Tagkopoulos, I. (2019). Benzalkonium chlorides: Uses, regulatory status, and microbial resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(13), e00377-19.
- [27] Andrews, J.M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(1), 5-16.
- [28] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*; Ninth edition, M7-A9, Wayne, PA, USA.
- [29] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2022). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*; 32nd edition, Malvern, PA, USA.
- [30] Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibensouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- [31] Furi, L., Ciusa, M.L., Knight, D., Di Lorenzo, V., Tocci, N., Cirasola, D., Aragones, L., Coelho, J.R., Freitas, A.T., Marchi, E., Moce, L., Visa, P., Northwood, J.B., Viti, C., Borghi, E., Orefici, G., the BIOHYPO Consortium, and Morrissey, I. (2013). Evaluation of reduced susceptibility to quaternary ammonium compounds and bisbiguanides in clinical isolates and laboratory-generated mutants of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57 (8), 3488-3497.
- [32] Aryal, M. and Muriana, P.M. (2019). Efficacy of commercial sanitizers used in food processing facilities for Inactivation of *Listeria monocytogenes*, *E. Coli* O157:H7, and *Salmonella* Biofilms. *Foods*, 8, 639.
- [33] Maillard, J.-Y. (2005). Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage, policies, and perceived problems. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 1(4), 307-320.
- [34] Fernández-Fuentes, M.A., Morente, E.O., Abriouel, H., Pulido, R.P., and Gálvez, A. (2012). Isolation and identification of bacteria from organic foods: Sensitivity to biocides and antibiotics. *Food Control*, 26, 73-78.
- [35] Beier, R.C., Callaway, T.R., Andrews, K., Poole, T.L., Crippen, T.L., Anderson, R.C., and Nisbet, D.J. (2017). Disinfectant and antimicrobial susceptibility profiles of *Salmonella* strains from feedlot water-sprinkled cattle: Hides and feces. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, 3(2), 50-59.
- [36] Humayoun, S.B., Hiott, L.M., Gupta, S.K., Barrett, J.B., Woodley, T.A., Johnston, J.J., Jackson, C.R., and Frye, J.G. (2018). An assay for determining the susceptibility of *Salmonella* isolates to commercial and household biocides. *PLoS ONE*, 13(12), e0209072.
- [37] Condell, O., Iversen, C., Cooney, S., Power, K.A., Walsh, C., Burgess, C., and Fanning, S. (2012). Efficacy of biocides used in the modern food industry to control *Salmonella enterica*, and links between biocide tolerance and resistance to clinically relevant antimicrobial compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 3087-3097.
- [38] Nunes, N.B., Oliveira, J., Castro, V.S., Moura, A., Neto, A. da C., and Eustáquio, E. (2024). Optimizing the antimicrobial activity of sodium hypochlorite (NaClO) over exposure time for the control of *Salmonella* spp. in vitro. *Antibiotics*, 13(1), 68-68.

- [39] Xiao, X., He, M., Ma, L., Lv, W., Huang, K., Yang, H., Li, Y., Zou, L., Xiao, Y., and Wang, W. (2024). Insights into microbial contamination and antibiotic resistance traits in pork wholesale market: An evaluation of the disinfection effect of sodium hypochlorite. *Journal of Hazardous Materials*, 468, 133811.
- [40] Wanja, D.W., Mbuthia, P.G., Waruiru, R.M., Bebora, L.C., Ngowi, H.A., and Nyaga, P.N. (2020). Antibiotic and disinfectant susceptibility patterns of bacteria isolated from farmed fish in Kirinyaga county, Kenya. *International Journal of Microbiology*, Volume 2020, 8897338.
- [41] Alajlan, A.A., Mukhtar, L.E., Almussallam, A.S., Alnuqaydan, A.M., Albakiri, N.S., Almutari, T.F., Bin Shehail, K.M., Aldawsari, F.S., and Alajel, S.M. (2022). Assessment of disinfectant efficacy in reducing microbial growth. *PLoS ONE*, 17(6), e0269850.
- [42] Arthur, M., Afari, E.L., Alexa, E-A., Zhu, M-J., Gaffney, M.T., Celayeta, J.M.F., Burgess, C.M. (2025). Recent advances in examining the factors influencing the efficacy of biocides against *Listeria monocytogenes* biofilms in the food industry: A systematic review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 24, e70083.