



Gıda Kaynaklı Patojenlerin Belirlenmesinde Yenilikçi Yaklaşımlar: Nanopartiküllerin Kullanımı



World Health Organization

Dünya Sağlık Örgütü 2014 verilerine göre, birçoğu çocuk olmak üzere 2,2 milyon insanın su ve/veya gıda kaynaklı hastalıklardan dolayı öldüğünü bildirmektedir.



Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl 48 milyon insan gıda ve/veya su kaynaklı 31 yaygın bakteri ve virüsten etkilenmekte; 130.000 vaka hastanede tedavi alıp iyileşirken, 3000 den fazla ölüme neden olmaktadır (CDC, 2011-2014). Kanada'da 4 milyon; Avustralya'da 4.1 milyon; Birleşik Krallıkta 1 milyon; Avrupa Birliğinde ise 320.000'den fazla gıda kaynaklı hastalık vakası bildirilmektedir.



Asya kıtasında birçok bölgede Salmonella sürveyansının eksik olduğu görülmektedir. Vaka sayısı 22.8 milyon olarak tahmin edilmekte, ölümlerle sonuçlanan olgu sayısının ise 37.600 olduğu bildirilmektedir. Afrika ülkelerinde gıda kaynaklı enfeksiyonların bildirim ve taramalarında eksiklikler bulunmakla birlikte 3-5 yaş arası çocuklarda salmonellozisin yıllık insidansı tahmini her 100.000 çocukta 175–388 vaka olarak bildirilmektedir. Afrika'da HIV ile infekte birey sayısıyla Salmonella arasında bir bağlantı olduğu düşünülmekte ve 100.000 HIV-infekte yetişkinin 2000 ila 7500'inin Salmonella dan etkilendiği rapor edilmektedir.



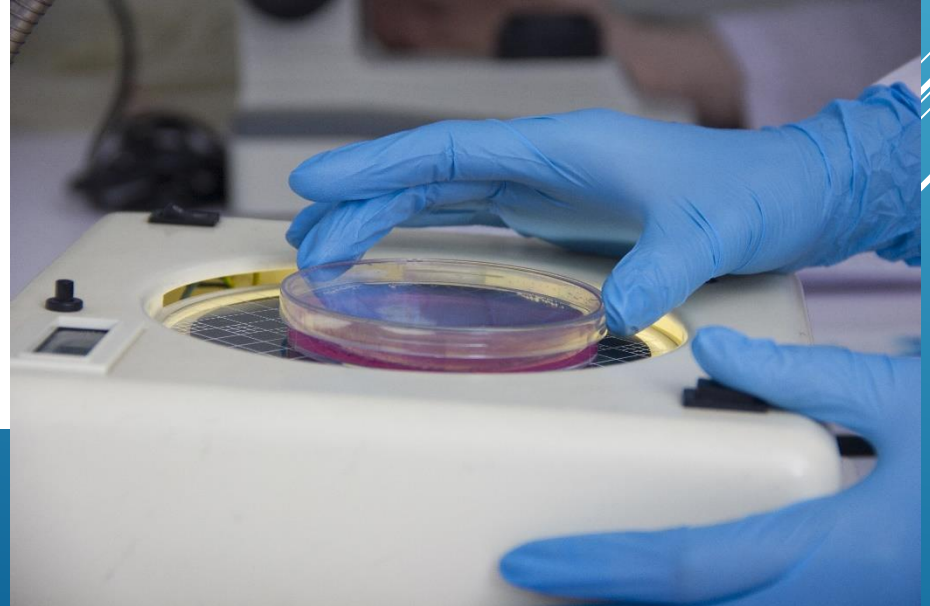
**World Health
Organization**

- ✓ *Campylobacter* spp.
- ✓ *Salmonella enterica*
- ✓ *Listeria monocytogenes*
- ✓ *Staphylococcus aureus*
- ✓ *Toxoplasma gondii*
- ✓ *Clostridium perfringens*

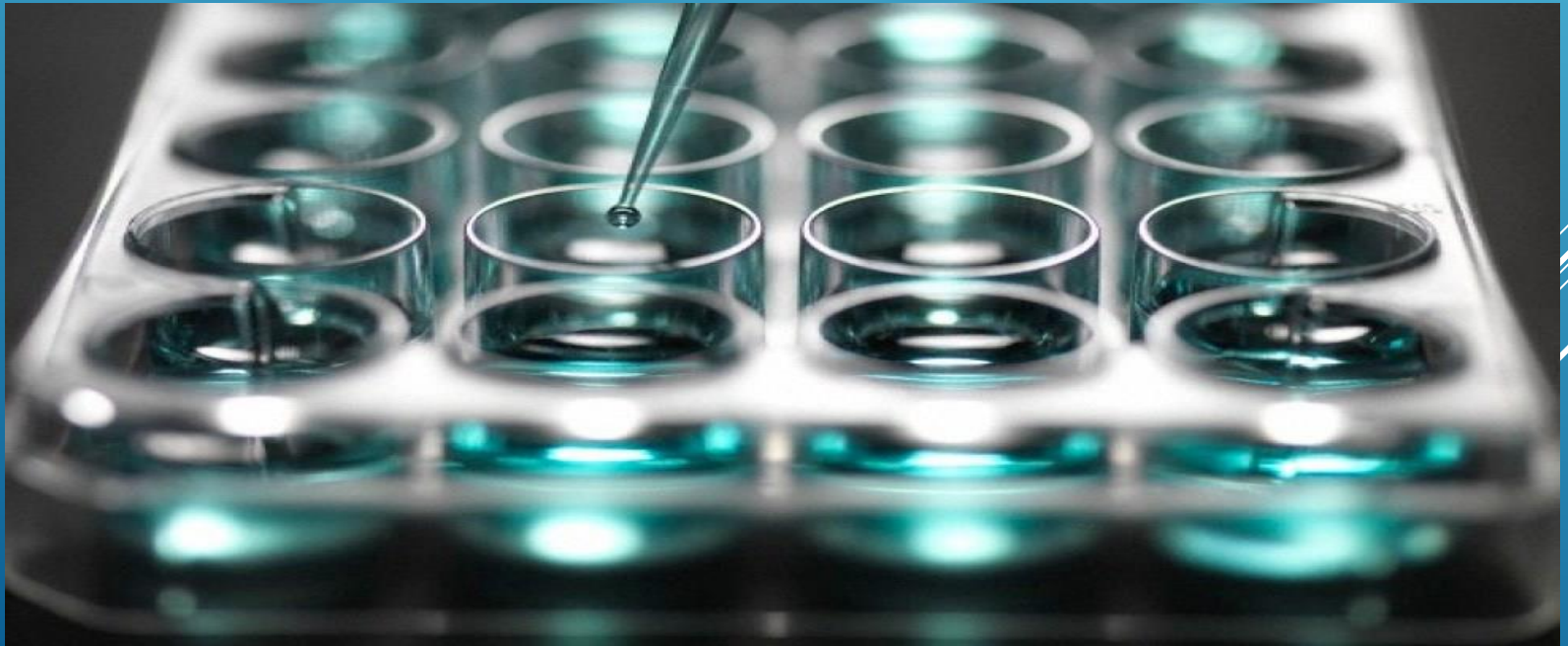


Bu veriler doğrultusunda gıda kaynaklı patojen kontaminasyonundaki artış, gıda kaynaklı hastalık etkenleri ile ve toksinlerinin tespit etmek için güvenilir, hassas, yüksek verimli, taşınabilir ve otomatikleştirilmiş sistemlerin geliştirilmesini gerekmektedir.

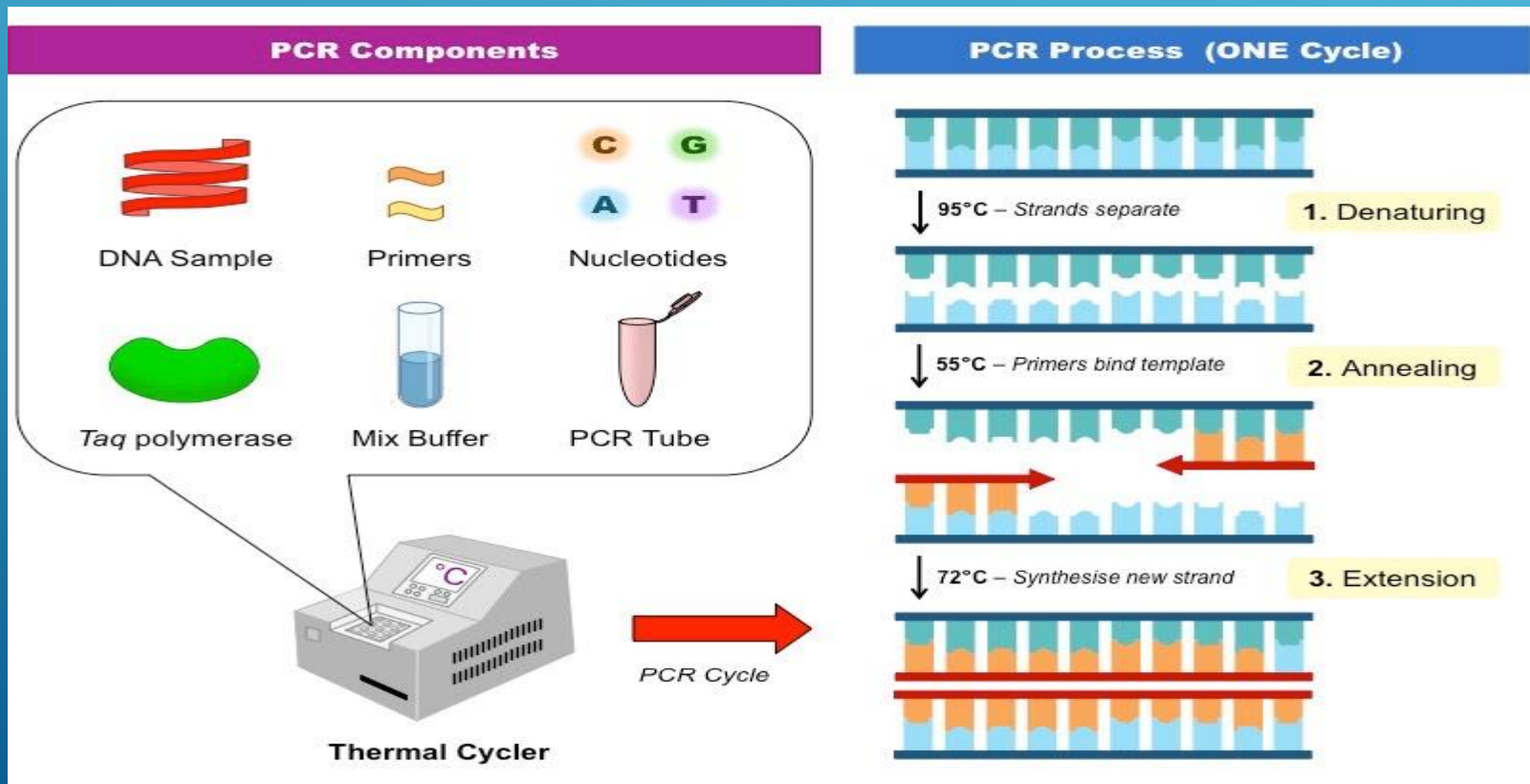
Geleneksel analiz yöntemleri, seçici büyüme ortamı üzerinde toplam hedef hücre sayımına dayanırken daha güncel yaklaşımlar nükleik asit veya antijen bazlı tespit yöntemlerine odaklanmaktadır.



ELISA



Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)



Mevcut eğilim, biyomedikal nanometre ve mikroelektromekanik sistemler (BioNEMS veya BioMEMS) olarak da adlandırılan, mikro-ve nano teknolojilerinin kullanılmasıyla otomatik numune hazırlama ve mikroorganizma sayımını sağlayan, entegre laboratuvar (LOC) cihazlarının geliştirilmesidir.



Mikro ve nano ölçekli teknolojiler, bilgisayar çiplerin ve elektroniklerin üretiminde kullanılan yarı iletken endüstrisi ile sensörler, biyolojik sensörler, biyomedikal cihazlar ve optikler gibi pek çok uygulamadan köken almıştır.



Mikroteknoloji 1-100 μm (10^{-6} - 10^{-4} m) ölçeğindeki cihazlar ve sistem bileşenlerini içerirken, nanoteknoloji tipik olarak 1-100 nm boyutlarındaki bileşenleri (10^{-9} - 10^{-7} m) içerir. Bu bağlamda mikro ve nanoteknolojiler hem çip tabanlı teknolojileri (küçük, çip benzeri bir biçimde imal edilen cihazlar) hem de mikro veya nano malzemeleri (nanopartiküller, mikropartiküller, kuantum noktalar, vb.) içermektedir.

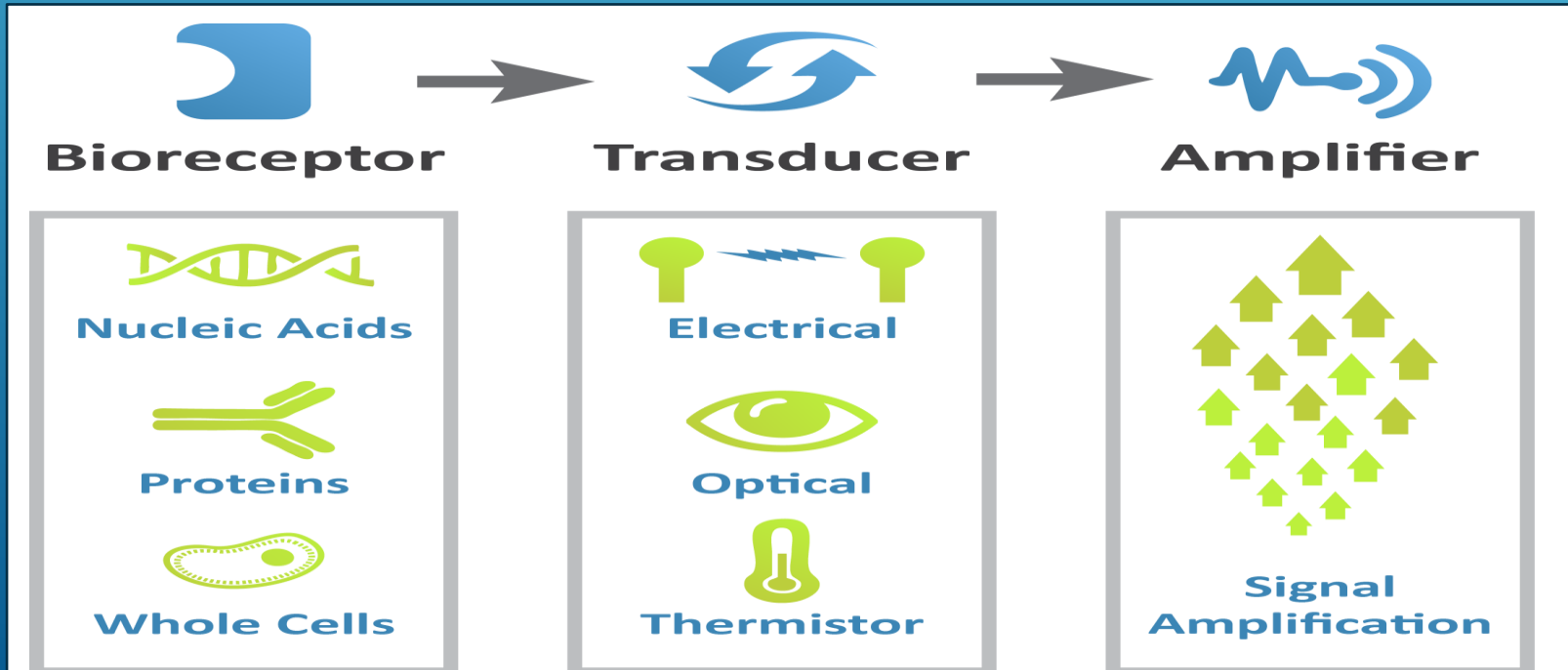
- ✓ *Yüksek duyarlılık düzeyleri,*
- ✓ *Analiz için gerekli numune miktarının ve reaktif hacmini indirgemesi,*
- ✓ *Algılama/işleme süresinin azalması,*
- ✓ *Laboratuvar dışında da kullanılabilir olması,*
- ✓ *Birden fazla patojenin tek bir cihazda veya tek bir testte saptanması, sürveyansı kolaylaştırabilir.*

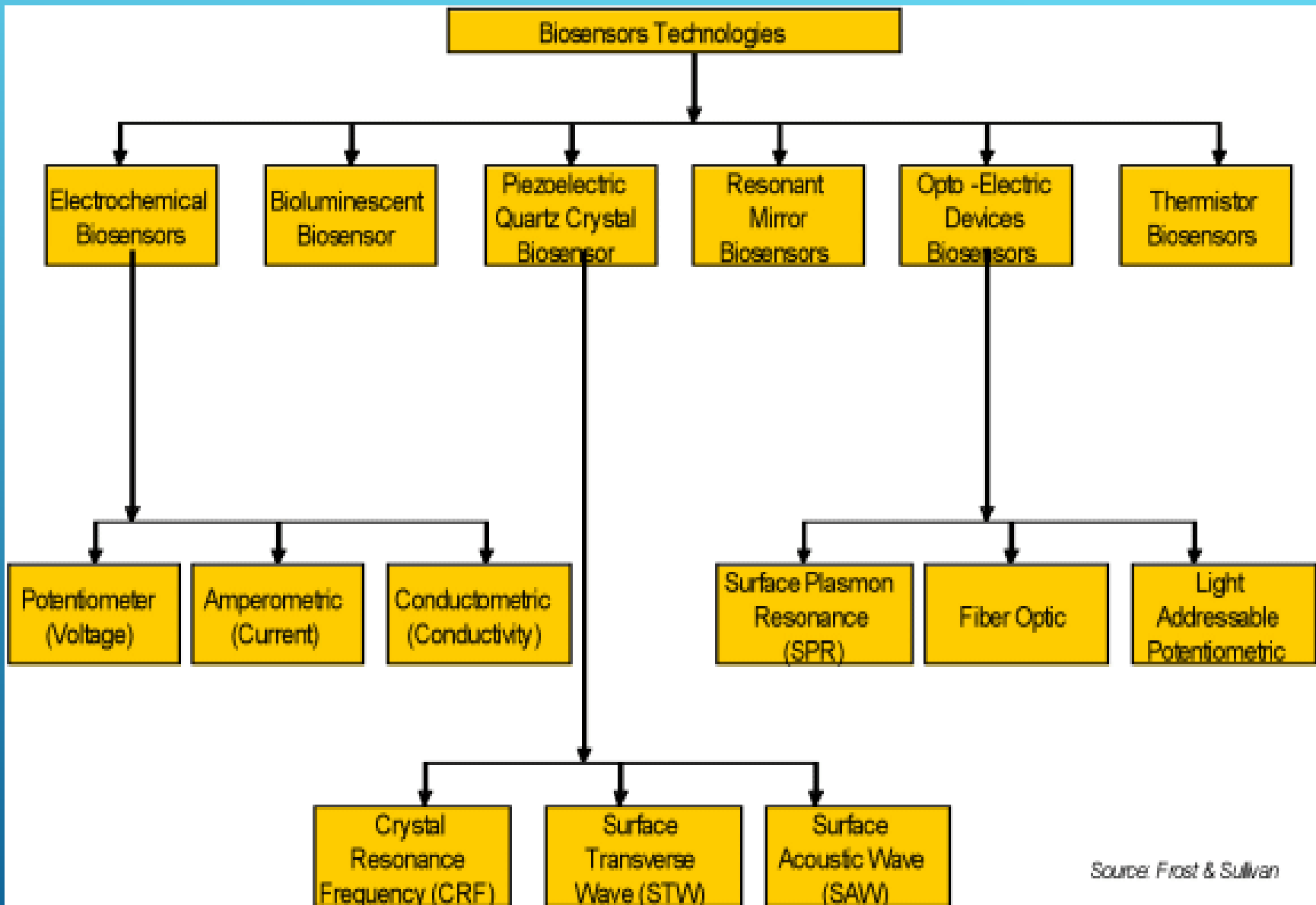
Mikro ve nano ölçekli teknolojiler tipik olarak, hedef organizmalardan (1) nükleik asitlerin (DNA veya RNA), (2) tüm/sağlam hedef organizmaların veya (3) hedef organizmalara özgü antijen, toksin, veya metabolitlerin saptanması prensibine dayanmaktadır.



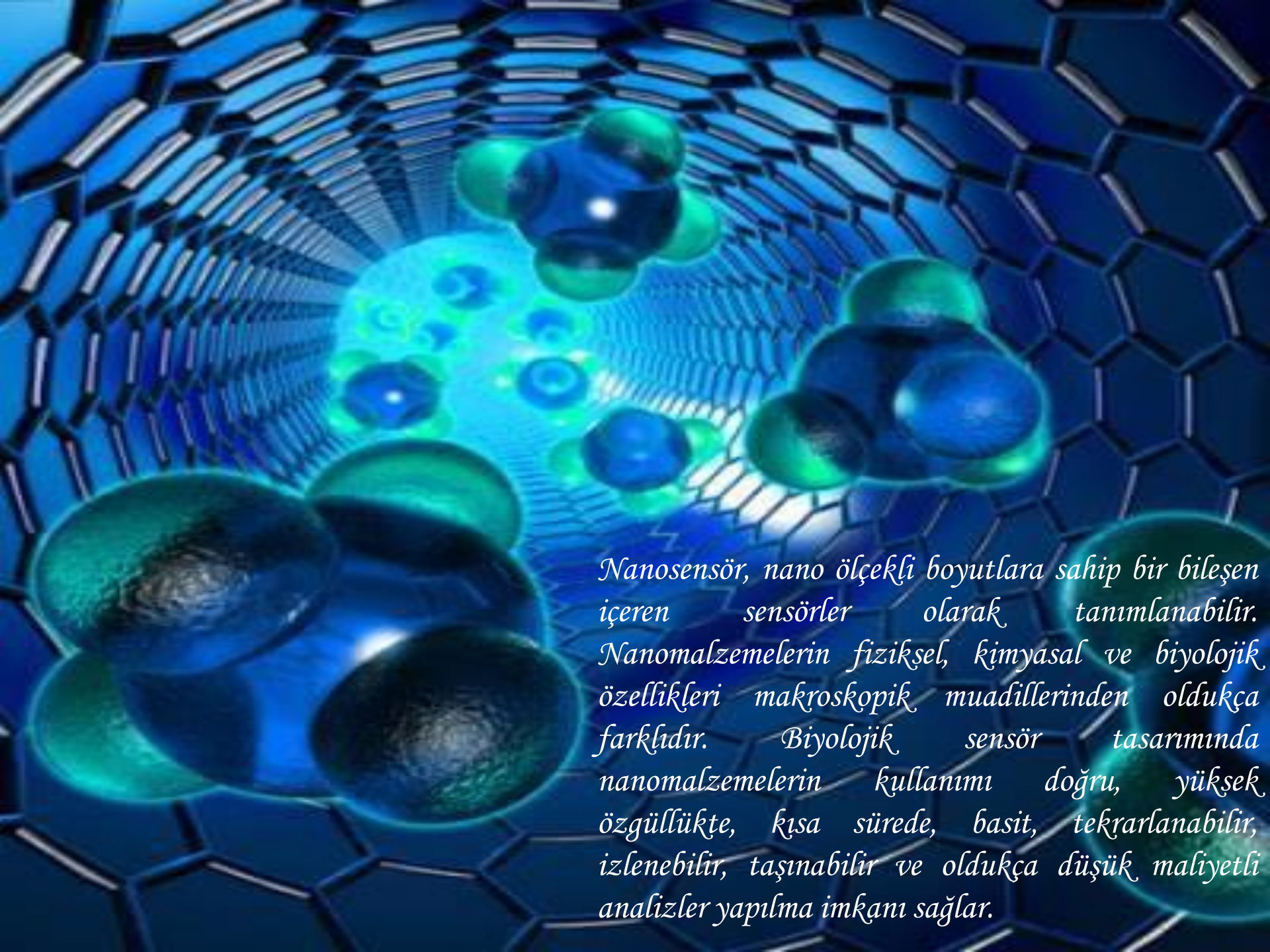
Biyosensör

Biyosensör, biyomoleküler bir bileşen kullanılarak analitin sensöre spesifik bağlanması veya etkileşime girmesiyle analitlerin varlığını veya aktivitesini bildiren ve kütle, flüoresans, elektrik yükü veya kırılma indeksinde saptanabilir bir değişikliğe neden olabilen, ve bu etkileşimi uygun bir elektronik sinyal haline getirebilen bir dönüştürücü cihazdır. Tipik bir biyosensör esas olarak üç kısımdan oluşur: (1) biyolojik materyal (2) dönüştürücü ve (3) sinyal işlemcileri



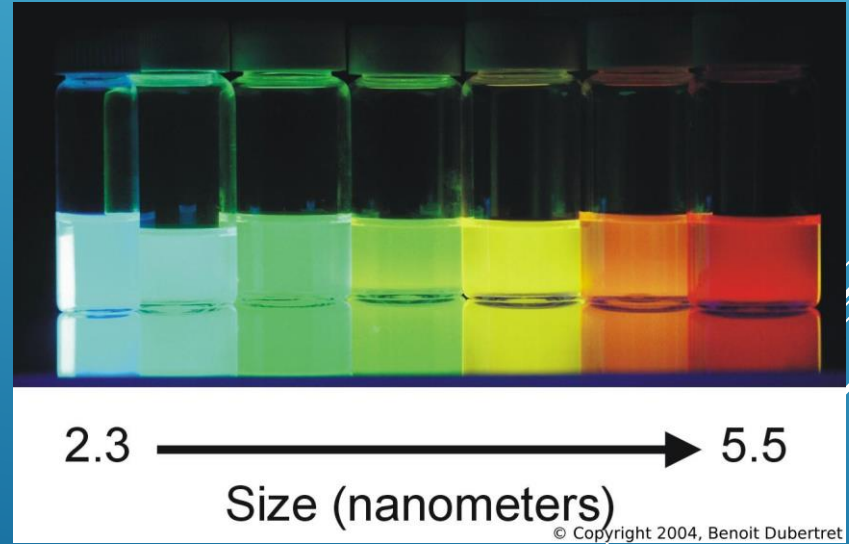


Source: Frost & Sullivan



Nanosensör, nano ölçekli boyutlara sahip bir bileşen içeren sensörler olarak tanımlanabilir. Nanomalzemelerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri makroskopik muadillerinden oldukça farklıdır. Biyolojik sensör tasarımında nanomalzemelerin kullanımı doğru, yüksek özgülükte, kısa sürede, basit, tekrarlanabilir, izlenebilir, taşınabilir ve oldukça düşük maliyetli analizler yapılma imkanı sağlar.

Bunun iyi bir örneği, yüksek derecede florasan özelliği ve optik uyarım özelliklerine sahip nanopartiküller olan yarı iletken kuantum noktalarıdır. Kuantum noktaları, kadmiyum selenid ve kurşun selenit gibi yarı iletken malzemelerden sentezlenir.

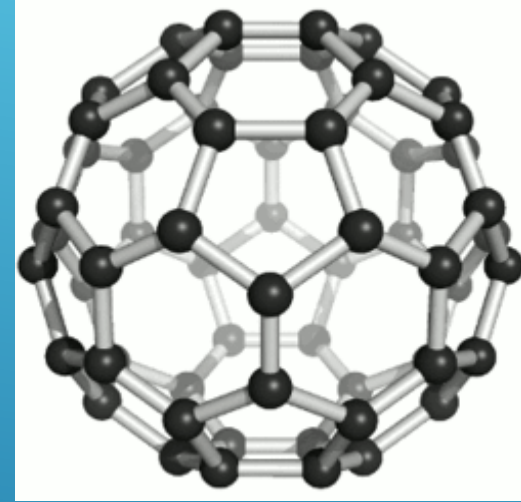


Gıdalarda patojen bulguları için kullanılan diğer nanomalzemeler arasında karbon esaslı malzemeler bulunmaktadır:

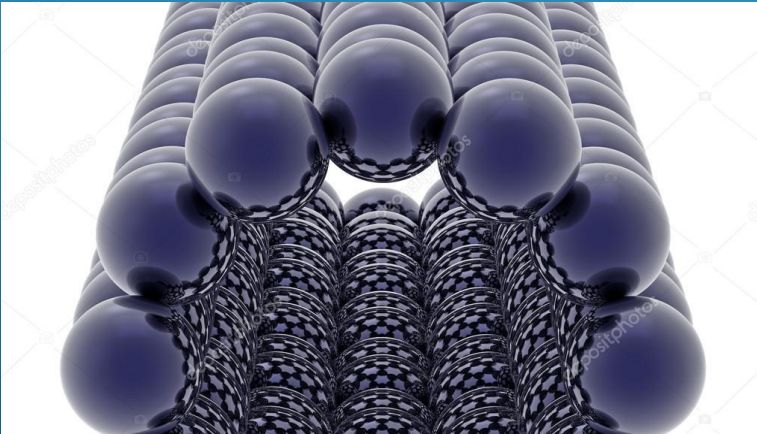
Grafen



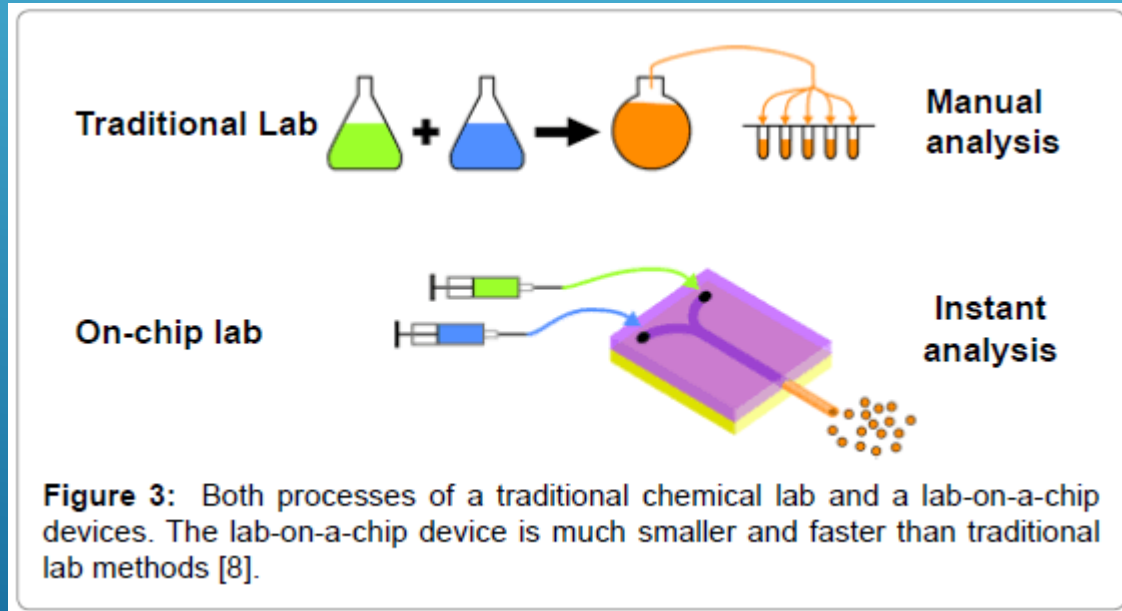
Fulleren



Karbon nanotüpleri



İlk defa 1990'larda Manz ve arkadaşlarının kullanmaya başladığı Lab-on-a-chip (LOC) kavramı, birkaç büyük laboratuvar cihazının veya testlerinin tek bir özlü birime entegre edildiği; akışkanlar mekaniği, fizik ve mikro/nanoteknolojilerin bir araya getirildiği sistemleri tanımlamaktadır.



Mikroakışkan kanallarda çok küçük hacimlerde (mikroliterler, nanolitler ve hatta pikoliterler) laminar akış sağlayabilen bu cihazlar, küçük numune hacimleri gerektirdiği, kompakt, taşınabilir, imalatı ucuz oldukları ve yüksek derecede proses kontrolü sağladıkları için avantajlıdır. LOC teknolojisi, çevresel analizler, genomik, ilaç keşfi, tıbbi teşhisler ve hücre kültürü ile hücresel analizler için uygundur.

Uygun tasarımla nanobiyosensörlerle donatılan bu cihazlar çiftlikler, su işleme tesisleri ve gıda paketleme tesisleri de dahil olmak üzere gıda endüstrisinde hızlı ve yerinde patojen tespiti için kullanılabilir.

*Gıdalarda patojen varlığı ve miktarı, mikro-akışkan
ELISA, çip üzerinde PCR, parçacık
immünoagglütinasyon, manyetik boncuk hücre ayırma ve
kağıt mikroakışkanlar gibi farklı LOC sistemlerine
nanobiyosensörlerin entegre edildiği denemelerde hassas ve
hızlı bir şekilde sonuç alınmaktadır.*



A nanoparticle amplification based quartz crystal microbalance DNA sensor for detection of *Escherichia coli* O157:H7

Xiaole Mao, Liju Yang, Xiao-Li Su, Yanbin Li  

 [Show more](#)

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2005.04.021>

[Get rights and content](#)

Abstract

A quartz crystal microbalance (QCM) DNA sensor, based on the nanoparticle amplification method, was developed for detection of *Escherichia coli* O157:H7. A thiolated single-stranded DNA (ssDNA) probe specific to *E. coli* O157:H7 *eaeA* gene was immobilized onto the QCM sensor surface through self-assembly. The hybridization was induced by exposing the ssDNA probe to the complementary target DNA, and resulted in the mass change and therefore frequency change of the QCM. Streptavidin-conjugated Fe₃O₄ nanoparticles (average

Quartz crystal microbalance (QCM) DNA sensörleri ile *E. coli* O157: H7 varlığının ve miktarının belirlendiği bir çalışmada *E. coli* O157: H7 spesifik ssDNA'sı (*eaeA* geni) QCM sensörünün yüzeyine immobilizasyonunu sağlanmıştır. ssDNA probunun komplementer hedef DNA'ya hibridizasyonu (patojen varlığında), QCM'nin rezonans frekansında ölçülebilen bir değişime yol açar. Bu çalışmada Streptavidin konjuge magnetit (Fe₃O₄) nanopartikülleri, frekans değişiminin yükseltilmesi için kullanılmıştır.

Amperometric method for rapid detection of *Escherichia coli* by flow injection analysis using a bismuth nano-film modified glassy carbon electrode

Wen Zhang ^a, Hui Tang ^a, Ping Geng ^a, Qingjiang Wang ^a, Litong Jin ^a  , Zirong Wu ^b

 [Show more](#)

<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2006.11.019>

[Get rights and content](#)

Abstract

A new method for rapid detection of *Escherichia coli* (*E. coli*) was developed by flow injection analysis (FIA) using bismuth nano-film modified glassy carbon electrode (BiNFE) in this paper. The method depended on a good marker β -D-glucuronidase which is found in *E. coli* strains. β -D-Glucuronidase was produced by the induction of methyl- β -D-glucuronide sodium (MetGlu), then released from *E. coli* cells through the permeabilization of cell membrane caused by cyanuric triazine particles and lysozyme. The released β -D-glucuronidase

Tıbbi, çevresel ve gıda örneklerinde *E. coli* tespiti için camsı karbon elektrodu değiştirmek için bizmut nanofilm kullanılmıştır. Deney, harici olarak eklenen substrat 4-nitrofenil β -glukuronidazın, 4-nitrofenole (4-NP) hidrolizini katalize eden *E. coli* β -d-glukuronidaz enzim varlığının tespitine dayanır. Test 3 saat içinde tamamlanmış ve 100 cfu mL⁻¹ e kadar *E. coli* hücreleri tespit edilebilmiştir.

Membrane filter-assisted surface enhanced Raman spectroscopy for the rapid detection of *E. coli* O157:H7 in ground beef ☆

Il-Hoon Cho ^{a, c}, Pushpak Bhandari ^a, Pradip Patel ^b, Joseph Irudayaraj ^a ✉

▣ Show more

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.08.063>

Get rights and content

Highlights

- Detection of O157:H7 in 1 h in buffer and 3 h in ground beef samples.
- Highly sensitive with a limit of detection of less than 10 CFU/mL.
- Excellent potential to be generalized and expanded to other pathogens with opportunities for miniaturization.

Ette düşük konsantrasyonda bulunan E. coli O157: H7'yi belirlemek için antikor konjuge nanopartikül (altın ve manyetik) komplekslerini kullandıkları çalışmada kısa sürede (1-3 saat) yüksek hassasiyette (10 cfu mL⁻¹) analiz imkanı sağlamıştır.

Real-time pathogen monitoring during enrichment: a novel nanotechnology-based approach to food safety testing

Kristin Weidemaier ^a  , Erin Carruthers ^a, Adam Curry ^a, Melody Kuroda ^a, Eric Fallows ^a, Joseph Thomas ^a, Douglas Sherman ^a, Mark Muldoon ^b

 Show more

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.018>

Get rights and content

Highlights

- Real-time, in-culture detection of food pathogens is described.
- The method utilizes Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS).
- Real-time detection allows for faster detection of contaminated samples.
- This new method allows for complete biocontainment of pathogens.

E. coli, Salmonella veya Listeria gibi çok sayıda patojeni gerçek zamanlı saptamak üzere SERS tabanlı nanosensörler kullanılmıştır.

Simultaneous, rapid and sensitive detection of three food-borne pathogenic bacteria using multicolor quantum dot probes based on multiplex fluoroimmunoassay in food samples

Beibei Wang^{a, b}, Qi Wang^a, Zhaoxia Cai^a  , Meihu Ma^a  

 **Show more**

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.016>

[Get rights and content](#)

Highlights

- We develop a fluoroimmunoassay method to detect three pathogens simultaneously.
- The fluorescence intensities quenches linearly with the log count of bacteria increases.

Gıdalarda aynı anda üç patojeni (S. enteritidis, Staphylococcus aureus ve E. coli) tespit etmek için spesifik antikörlerle etiketlenmiş kuantum nokta problemlerinin kullanıldığı hassas floresan immünoassay testleri geliştirilmiştir.



Teşekkürler.....