

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin SAĞLAM

**TAVUK İŞLETMELERİNDEN VE TAVUK ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN
Listeria spp.'ler ÜZERİNE LISTEX™ P 100 BAKTERİYOFAJININ ETKİSİ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2014

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUK İŞLETMELERİNDEN VE TAVUK ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN
Listeria spp'LER ÜZERİNE LISTEX™ P 100 BAKTERİYOFAJININ
ETKİSİ**

Selin SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez .14/08./2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Doç. Dr. Işıl VAR Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU Yrd. Doç. Dr. Bülent ZORLUGENÇ
DANIŞMAN ÜYE ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No :

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma Ç. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No : ZF2013YL56**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TAVUK İŞLETMELERİNDEN VE TAVUK ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN *Listeria spp*'LER ÜZERİNE LISTEX™ P 100 BAKTERİYOFAJININ ETKİSİ

Selin SAĞLAM

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Işıl VAR

Yıl: 2014, Sayfa: 73

Jüri : Doç. Dr. Işıl VAR

: Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU

: Yrd. Doç. Dr. Bülent ZORLUGENÇ

Diğer protein kaynaklarına nazaran tavuk eti, birçok ülkede günlük diyetin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ancak, tavuk etinin zengin bileşimi kendisini gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyona sebep olan *Listeria spp.* gibi bakterilerin bulunmasına olanak sağlamaktadır.

Bu çalışmada, Çukurova'da bulunan 3 farklı tavuk işletmesinden temin edilen haşlama suyu, yıkama suyu, tüm tavuk karkası ve tavuk parçaları (göğüs, but, kanat) olmak üzere toplam 42 örnek çalışılmıştır. Toplam 42 örneğin 27'sinden izole edilen *Listeria spp.*'lerin 7'si *L. monocytogenes*, 8'i *L. innocua*, 8'i *L. welshimeri*, 2'si *L. seeligeri* ve 2'si *L. ivanovii* olarak belirlenmiştir.

Bu örneklerden izole edilen *Listeria spp.* izolatlarına Listex™ P100 bakteriyofajının antilisterial etkisi incelenmiştir.

Bu amaçla, *Listeria spp.* izolatları üzerine Listex™ P100 fajının etkisi farklı sıcaklıklarda ve farklı faj konsantrasyonları kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. 10^5 - 10^{10} konsantrasyon aralığında uygulanan Listex™ P100 bakteriyofajının *Listeria spp.* izolatları üzerine etkisi farklılık göstermiştir. Faj konsantrasyonlarının daha çok *L. monocytogenes* üzerine etkileri görülmüş ve en etkili konsantrasyonların 10^9 ve 10^{10} pob/ml olduğu gözlenmiştir.

Listex™ P100 bakteriyofajının farklı konsantrasyonlarının *Listeria spp.*'ler üzerine etkisi model olarak seçilen göğüs etine inoküle edilerek de incelenmiştir. Listex™ P100 bakteriyofajının en etkili olduğu tür olan *L. monocytogenes* için 10^9 pob/ml ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda sırasıyla 2.24 log kob/g ve 2.89 log kob/g oranında azalma belirlenmiştir. Listex™ P100'ün *L. innocua* ve *L. welshimeri*'ye ise daha az etkili olduğu görülmüştür. Buna göre 10^9 pob/ml ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonlarında *L. innocua* ve *L. welshimeri* için sırasıyla 1.34 log kob/g ve 1.38 log kob/g ile 0.35 log kob/g ve 1.56 log kob/g azalma gözlenmiştir.

Bu çalışmada, tavuk işletmelerinden ve o işletmelerdeki tavuk etlerinden izole edilmiş olan *L. monocytogenes* hariç diğer *Listeria spp.*'ler üzerine Listex™ P100 fajının belli oranda etkisi olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tavuk, Yıkama suyu, Haşlama suyu, Bakteriyofaj, *Listeria spp.*

ABSTRACT

MSc THESIS

EFFECT OF LISTEX™ P 100 BACTERIOPHAGE ON *Listeria* spp.'s ISOLATED FROM CHICKEN ENTERPRISES AND CHICKEN CARCASSES

Selin SAĞLAM

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Işıl VAR

Year: 2014, Pages: 73

Jury : Assoc. Prof. Dr. Işıl VAR

: Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU

: Asst. Prof. Dr. Bülent ZORLUGENÇ

Being a relatively inexpensive protein source, chicken is an important part of the diet in many countries; however, its rich composition makes it susceptible to bacteria, such as *Listeria* spp., that cause food-borne illnesses and intoxication.

In this research, a total of 42 samples (scalding tank water, cleaning water, whole chicken carcass, and chicken body parts (thigh, breast, wing, liver)) obtained from three different poultry enterprises in Cukurova were examined. 27 *Listeria* spp. isolates of the 42 samples were determined as 7 strains of *L. monocytogenes*, 8 strains of *L. innocua*, 8 strains of *L. welshimeri*, 2 strains of *L. seeligeri*, and 2 strains of *L. ivanovii*.

The antilisterial effect of Listex™ P100 on *Listeria* spp.'s isolates from these samples was examined.

For this purpose, the effect of Listex™ P100 on *Listeria* spp. isolates was determined at different temperatures and using different concentrations by spectrophotometry. The effect of bacteriophage Listex™ P100 at the concentration range of 10^5 - 10^{10} PFU/ml showed differentiations on *Listeria* spp. isolates. It was found the most effective concentrations were 10^9 and 10^{10} PFU/ml on *L. monocytogenes*.

The effect of different concentrations of bacteriophage Listex™ P100 on *Listeria* spp. isolates was examined also with inoculation on chicken breast for a model working. Phage Listex™ P100 was the most effective against *L. monocytogenes* with a reduction of 2.24 log CFU/g and 2.89 log CFU/g for phage concentrations of 10^9 and 10^{10} PFU/ml, respectively. It was found that phage Listex™ P100 on *L. innocua* and *L. welshimeri* less effective. It was detected that reductions of 1.34 log CFU/g and 1.38 log CFU/g for *L. innocua* and 0.35 log CFU/g and 1.56 log CFU/g for *L. welshimeri* with phage concentrations of 10^9 and 10^{10} PFU/ml, respectively

In this study, it was determined a smaller effect of phage Listex™ P100 on *Listeria* spp. isolates except *L. monocytogenes* from poultry enterprises and chicken meats.

Key Words: Chicken, Carcass water, Scalding water, bacteriophage, *Listeria* spp.

TEŞEKKÜR

Bugünlere gelmemde bana en büyük desteği sunan, hedeflerime ulaşmamda her zaman teşvikte bulunan ve motivasyonumu her daim sağlayan başta değerli babama, anneme ve kardeşlerime,

2011 yılından bu yana her konuda bana yardımcı olan, danışmanlığını yürüten, tezimin kurgulanmasını sağlayan, disiplinli çalışmanın gerekliliğini her zaman vurgulayan, akademik yönünün yanı sıra yegâne deneyimleriyle pek çok konuda bana tavsiyeler vererek bir nevi rehberlik eden ve çok daha önceden tanımış olmayı dilediğim Doç. Dr. Işıl VAR'a,

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU'na ve çalışmam sırasında her türlü ilgi ve yardımlarını sunan ve gerek uygulama gerekse yazım aşamasında bilgi ve tecrübelerini hiç tereddüt etmeden paylaşan Yrd. Doç. Bülent ZORLUGENÇ'e,

Tezimin uygulanmasında kendi laboratuvar imkânlarından faydalanmama olanak sağlayan, Arş. Gör. Süleyman POLAT'a ve Bitki Koruma Bölümü akademisyenlerinden Yrd. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĐLU'na ve Prof. Dr. Serdar SATAR'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda desteklerini gördüğüm sevgili arkadaşlarım Özlem ATASEVER, Serçin GÜNDOĐDU, Eda AKBULUT ve Behzad HESHMATI'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1. Tavuk Etlerinde Listeria spp. Aranması ve İzolasyonu Üzerine Yapılan Çalışmalar	11
2.2. Bakteriyofajların Gıdalarda Bulunan Listeria spp. ve Diğer Patojenler Üzerine Etkisinin Araştırıldığı Çalışmalar	14
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Listeria spp. İzolasyonu Yapılan Örnekler	21
3.1.2. Listeria spp. Suşları	23
3.1.3. Bakteriyofaj	23
3.1.4. Besiyerleri	23
3.1.4.1. Buffered Listeria Enrichment Broth (BLEB)	23
3.1.4.2. PALCAM Listeria Selective Agar	24
3.1.4.3. Tryptone Soya Agar Yeast Extract (TSA-YE)	24
3.1.4.4. Tryptic Soy Agar (TSA)	25
3.2. Metot	25
3.2.1. Tavuk Eti Örneklerinden ve Tavuk Karkaslarının Yıkama ve Haşlama Sularından Listeria spp. İzolasyonu	25
3.2.2. Tavuk Eti Örneklerinden ve Tavuk Karkaslarının Yıkama ve Haşlama Sularından İzole Edilen Listeria spp.'lerin Tanımlanması	26
3.2.2.1. Listeria spp.'lerin Morfolojik Tanımlamaları	28

3.2.2.1.(1). Bakteri Koloni Morfolojisinin İncelenmesi.....	28
3.2.2.1.(2). Bakteri Hücre Morfolojisinin İncelenmesi.....	28
3.2.2.2. Biyokimyasal Tanımlama Testleri	29
3.2.2.2.(1). Oksidaz Testi.....	30
3.2.2.2.(2). Katalaz Testi.....	30
3.2.2.2.(3). Hareketlilik Testi.....	31
3.2.2.2.(4). Üre Testi	31
3.2.2.2.(5). İndol Testi.....	31
3.2.2.2.(6). Microbact™ Listeria 12L Tanımlama Kiti ile Tanımlama	32
3.2.2.2.(7). Vitek 2 Compact Cihazı ile Tanımlama	33
3.2.3. Listex™ P100'ün Çalışma Materyallerinden İzole Edilen Listeria spp. İzolatları Üzerine Etkisi.....	34
3.2.3.1. Çift Tabaka Agar Metodu ile Listex™ P100 Bakteriyofaj Titresinin Hesaplanması.....	34
3.2.3.2. Farklı Sıcaklıklarda Listex™ P100'ün Farklı Konsantrasyonlarının Listeria spp. İzolatlarına Etkisinin Spektrofotometrik Yöntem ile Belirlenmesi	35
3.2.3.3. Tavuk Etine Aşıl原因 Listeria spp.'ler Üzerine Listex™ P100 Bakteriyofajının Etkisinin Araştırılması.....	36
4.ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE BULGULAR	39
4.1. Şüpheli Listeria kolonilerinin Morfolojik Tanımlama Sonuçları.....	39
4.1.1. Şüpheli Listeria spp.'lerin Koloni Morfolojilerinin Sonuçları.....	39
4.1.2. Şüpheli Listeria spp.'lerin Hücre Morfolojilerinin Sonuçları.....	40
4.2. Şüpheli Listeria spp.'lerin Biyokimyasal Olarak Tanımlanmaları	42
4.3. Listeria spp.'lerin Tür Bazında Tanımlanması.....	44
4.3.1. Listeria Türlerinin Microbact™ Listeria 12L tanımlama kiti ile Tür Bazında Tanımlaması.....	45
4.3.2. Listeria Türlerinin Vitek 2 Compact Sistemi ile Tür Bazında Tanımlanması.....	46

4.4. Çalışma Materyallerinden İzole Edilen <i>Listeria</i> spp. İzolatları Üzerine Listex™ P100'ün Etkisinin Değerlendirilmesi.....	49
4.4.1. Çift Tabaka Agar Metodu ile Hesaplanan Listex™ P100 Bakteriyofaj Titresi	49
4.4.2. Farklı Sıcaklıklarda Listex™ P100'ün Farklı Konsantrasyonlarının <i>Listeria</i> spp. İzolatlarına Etkisinin Spektrofotometrik Yöntem ile Belirlenmesi	51
4.4.3. Tavuk Etine Aşılana <i>Listeria</i> spp.'ler Üzerine Listex™ P100 Bakteriyofajının Etkisi55	
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Listeria türlerinin tanımlanma kriterleri	4
Çizelge 3.1. Örneklerin alındığı işletmeler, örnek sayıları ve çeşitleri.....	21
Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan örneklerin numune kodları ve açıklamaları.....	22
Çizelge 3.3. Gıdalarda Listeria spp.nin FDA metoduna göre klasik kültürel ekim yöntemi ile saptanmasında izlenen aşamalar	27
Çizelge 3.4. Listeria türlerine ait biyokimyasal test değerleri	30
Çizelge 4.1. Örneklerden izole edilen şüpheli Listeria spp. izolatlarının örneklerle ve işletmelere göre dağılımı	40
Çizelge 4.2. A, B ve C işletmelerinden izole edilen şüpheli Listeria spp.'lere uygulanan Gram boyama işlemi sonuçları	41
Çizelge 4.3. Şüpheli Listeria izolatlarına uygulanmış bazı biyokimyasal tanımlama testleri ve sonuçları	42
Çizelge 4.4. Listeria spp.'lerin Microbact™ 12L kiti ile tür bazında tanımlama sonuçları	45
Çizelge 4.5. Listeria spp.'lerin Vitek 2 Compact cihazı ile tür bazında tanımlanması	46
Çizelge 4.6. 10 °C'de inkübasyona bırakılan kontrol örnekleri ile faj muamalesinin gerçekleştirildiği Listeria spp.'lerin 600 nm'de optik yoğunluk ölçüm sonuçları	52
Çizelge 4.7. 30 °C'de inkübasyona bırakılan kontrol örnekleri ile faj muamalesinin gerçekleştirildiği Listeria spp.'lerin 600 nm'de optik yoğunluk ölçüm sonuçları	53
Çizelge 4.8 Farklı konsantrasyonlarda Listex™ P100 fajI muamalesi sonucunda hesaplanan Listeria spp. sayım sonuçları	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. Listeria fajı LISTEX™ P100	10
Şekil 3.1. Gram boyama yapılan Listeria spp.'lerin mikroskopik görüntüsü.....	29
Şekil 3.2. Microbact 12L Listeria tanımlama kitinin görüntüsü	33
Şekil 4.1. PALCAM Agar'da şüpheli Listeria spp. kolonilerinin görüntüsü	39
Şekil 4.2. A, B ve C işletmelerinden alınan örneklerde Listeria spp. bulunma düzeyi	43
Şekil 4.3. Örneklerden izole edilmiş olan 27 Listeria spp. izolatının Vitek 2 Compact cihazı ile tür bazında tanımlama sonuçları	47
Şekil 4.4. L.monocytogenes, L.ivanovii ve L.innocua'da oluşan faj plaklarının görüntüsü	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
USDA	: United States Department of Agriculture (Birleşmiş Devletler Tarım Bakanlığı)
BLEB	: Buffered <i>Listeria</i> Enrichment Broth
PALCAM	: Polimiksin-Akriflavin-Lityumklorid-Seftazidim-Eskülin-Mannitol Agar
TSA-YE	: Tryptone Soya Agar- Yeast Extract
TSB	: Tryptic Soy Broth
ORF	: Open Reading Frame
kob	: Koloni oluşturma birimi
pob	: Faj oluşturma birimi
EPA	: USA-Environmental Protection Agency (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı)
bp	: Base pair (baz çifti)

1. GİRİŞ

Listeria türleri doğada yaygın olarak bulunmakta olup sağlıklı hayvanlar ile insanların yanı sıra toprak, sebze ve doğal sulardan da izole edilebilmektedirler (Lakićević ve ark., 2010).

Mikroorganizmaya ilk olarak 1891 yılında Alman hastalardan alınan örneklerde rastlanmıştır (Yavuz ve Korukluoğlu, 2010). 1911 yılında Profesör G. Hülpers tavşanlarda karaciğer dokusunun kaybına neden olan bir bakteri tanımlamış ve karaciğere olan karakteristik benzerliği sebebiyle bu bakteri *Bacillus hepatis* olarak adlandırılmıştır (Peiris, 2005). 1926 yılında Murray ve çalışma arkadaşları, aynı bakteriyi tavşanlarda kendiliğinden oluşan salgın bir hastalık süresince saf kültürlerden elde etmişlerdir. Bakterinin sebep olduğu büyük mononükleer lökositöz sebebiyle bakteri *Bacterium monocytogenes* olarak adlandırılmıştır (Peiris, 2005; Paoli, 2005). 1927 yılında Pirie, Güney Afrika'da çöl farelerinin (*Tetra lobengulae*) olağan dışı ölümlerinin araştırdığı sıralarda, yeni bir mikroorganizma keşfetmiş ve bu hastalığın Tiger Nehri hastalığına sebebiyet verdiğini tespit etmiştir (Rocourt ve Buchrieser, 2007; Peiris, 2005). Bu Gram pozitif organizma, İngiliz cerrah, Sir Joseph Lister anısına *Listerella hepatolytica* ismi ile adlandırılmıştır. 1940 ise yılında Pirie bu adlandırmayı *Listeria monocytogenes* olarak değiştirmiştir.

L.monocytogenes'in keşfinden sonra uzun bir süre boyunca, *Listeria* cinsinde sadece *Listeria monocytogenes* türü yer almıştır (Rocourt ve Buchrieser, 2007). 1948 yılında *L. monocytogenes* Bergey's Manual of Determinative Bacteriology kitabının altıncı edisyonuna aynı isimle girmiştir (Peiris, 2005). Aynı yıl, *L.denitrificans* nitrati indirgeyebilme yeteneği sebebiyle bu cinse eklenmiştir. *L.grayi*, 1966 yılında Amerikalı mikrobiyolog M.L. Gray anısına; *L.murrayi*, 1961 yılında Kanadalı mikrobiyolog E.G.D. Murray anısına; *L.ivanovii*, 1985 yılında Bulgar mikrobiyolog I. Ivanov anısına; *L.welshimeri*, 1983 yılında Amerikalı mikrobiyolog H.J. Welshimer anısına ve *L.seeligeri*, aynı yıl Alman mikrobiyolog H.P.R. Seeliger anısına bu cinse dâhil edilmiştir (Rocourt ve Buchrieser, 2007).

Listeria cinsinin günümüzde; *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii* ve *L. grayi* olmak üzere 6 türü içerdiği kabul edilmektedir

(Beverly, 2004). Ancak son yıllarda 4 yeni türün (*L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis* ve *L.fleischmanni*) daha tanımlandığı bildirilmiştir (Alsheikh, 2014; Lazaro ve Hernandez, 2014).

Listeria'lar gram pozitif, spor oluşturmayan, fakültatif anaerob, kısa çubukçuklar veya kokobasiller şeklinde olup uçları yuvarlak görünümündedir (Ekici ve ark., 2004; Oovermann ve ark., 2010). Tek tek, ikili, kısa zincirler halinde, bazen de "V" veya "Y" şeklinde görülürler (Ekici ve ark., 2004; Rocourt ve Buchrieser, 2007). Bu mikroorganizmalar 0.4-0.5 µm çapında, 0.5-2.0 µm uzunluğunda ve kapsülsüzdürler. *Listeria*'lar 6-20 µm uzunluğunda filamentlere sahiptirler. *Listeria* spp. ortam koşullarına çok iyi derecede adapte olur; yüksek tuz içeriğini (% 10-20), oksijenin az olduğu bir ortamda pH 6'nın aşağısını ve 1 °C'nin altındaki sıcaklıkları tolere edebilir (Guenther ve ark., 2009). Özellikle *Listeria monocytogenes*'in oldukça yüksek sıcaklıklara dirençli olduğu, ayrıca buzdolabı sıcaklıklarında da çoğalabildiği ve nemli ortamlarda birkaç ay, tuzlu ve kuru ortamlarda ise iki yıla yakın yaşayabildiği bilinmektedir (Yavuz ve Korukluoğlu, 2010). *Listeria* türlerinin gelişmesi için optimum sıcaklık dereceleri 30-37 °C olmakla birlikte, 1-45 °C arasında da gelişebilme yeteneğine sahiptirler (Ekici ve ark., 2004). 20-25°C'de 24 saatlik kültürlerde aktif olarak hareket ederlerken, 37°C'de hareketleri daha zayıftır; hatta hiç görülmeyebilir. Yumuşak agarlı kültür içeren tüplerde, agar yüzeyinde şemsiye ya da çam ağacı görüntüsünde hareketlilik gösterirler (Rocourt ve Buchrieser, 2007). Kathariou ve ark. (1995) *L. monocytogenes* ve *L.innocua*'nın 37 °C'deki flagella üretimlerini ve hareketliliklerini karşılaştırdıkları çalışmada; *L.monocytogenes* suşlarının hareketsiz olduklarını, az veya tespit edilemeyen flagella üretebildiklerini; *L.innocua* suşlarının ise genellikle hareketli olduklarını ve önemli miktarda flagella üretebildiklerini belirlemişlerdir (Rocourt ve Buchrieser, 2007).

Listeria türleri, serolojik tanımlamalarda temel alınan somatik (O) ve flagella (H) antijenleri gibi spesifik yüzey proteinlerine sahiptirler. *L.monocytogenes*'te 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7; *L.seeligeri*'de 1/2a, 1/2b, 3b, 4a, 4b, 4c, ve 6b; *L.ivanovii*'de 5; *L. innocua*, *L. welshimeri* and *L. grayi*'de 1/2b, 6a ve 6b olmak üzere en az 12 tane serotip bulunmaktadır (Liu, 2006). *Listeria monocytogenes* bu cins içindeki en patojenik tür olmakla birlikte, *Listeria* türlerinin

neden oldukları hastalıklarda seyrek de olsa *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. welshimeri*'nin varlığı saptanmış olup enfeksiyonlar temel olarak yeni doğmuş bebekler, hamile kadınlar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde görülmektedir (Tunail, 2000; Lakıćević ve ark., 2010).

Listeria türlerinin karbonhidrat fermantasyonları hakkındaki çalışmalar Pine ve arkadaşları tarafından 1989 yılında ortaya konmuştur. Anaerobik koşullar altında sadece heksozlar ve pentozlar, aerobik koşullar altında ise sadece maltoz ve laktoz *Listeria* türlerinin gelişmelerini desteklemektedir. Aerobik koşullar altında, *L. monocytogenes* ve *L. innocua* glukoz, laktoz ve ramnozu; *L. grayi* ve *L. murrayi* ise ayrıca galaktozu da kullanmaktadır. Ksilozu fermente edebilen *Listeria* türlerinin ise *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* olduğu bildirilmektedir (Farber ve Peterkin, 1991). *Listeria* türlerinin tanımlanma kriterleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Tavuk eti, diğer hayvansal kaynaklı proteinlerle karşılaştırıldığında pahalı olmadığı için birçok ülkede günlük diyetin önemli bir kısmını oluşturur ve zengin bileşimi nedeniyle pek çok gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyona sebep olan gıdalar arasındadır (Chiarini ve ark., 2009; Ergeldi, 2010; Sakaridis ve ark., 2014). Kesimhanelerde, etin bozulmasını önlemek ve halk sağlığını korumak amacıyla, karkaslardaki mikrobiyal bulaşmayı azaltmak proses sırasında oldukça önemlidir. Buna rağmen, canlı hayvandan ete dönüşüm aşamasında mikrobiyal bulaşımın olmaması da kaçınılmazdır. Sağlıklı hayvanlarda iç kaslar kesim sırasında steril olsa da, proses sırasında ekipmanlar ve personel tarafından et yüzeylerine mikroorganizma bulaşısı gerçekleşebilmektedir (Miliotis ve ark., 2014). Mikroorganizmalar tavuklara, deri ve vücut boşluğundan kesim, haşlama, tüylerin yolunması, yıkama, iç organların çıkarılması gibi işlemler sırasında bulaşmaktadır (Var ve ark., 2012).

Çizelge 1.1. *Listeria* türlerinin tanımlanma kriterleri (Tekin, 2010)

		<i>Listeria spp.</i>					
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayi</i>
Hidroлизasyon	Eskulin	+	+	+	+	+	+
	Hippurat	+	+	-			-
	Jelatin	-	-	-	-	-	-
	Kazein	-	-	-	-	-	-
	Nişasta	d	-	d			-
	Selüloz	-	-	-			-
Asit Oluşumu	Arabinoz	-	-	-	?	?	-
	Dekstrin	d	-	-			+
	d-xylose	-	+	-	+	+	-
	Galaktoz	d	d	-	?	?	+
	Glikoz	+	+	+	+	+	+
	Laktöz	d	+	+	?	?	-
	-liksoz	-	-	-			-
	Mannitol	-	-	-	-	-	+
	Melezitaz	d	d	d			-
	Melebiaz	-	-	-			-
	a-Mehty-b-glukozid	+	+	+			+
	a-Mehty-b-Mannosidasid	+	-	+	+	-	-
	Ramnoz	+	-	d	d	-	-
	Salisin	+	+	+	+	+	+
	Sorbitol	d	-	-	?	?	
Sükroz	-	d	d			-	
b-hemoliz oluşturma	b-hemoliz oluşturma	+	+	-	-	+	-
	CAMP Testi	+	-	-	-	+	-
	Metil Red	+	+	+	+	+	+
	Voges Proskauer Testi	+	+	+	+	+	+
	Nitrat Redüksiyonu	-	-	-	-	-	-
	Fosfataz	+	+	+			+
	Oksidaz	-	-	-	-	-	-
	Katalaz	+	+	+	+	+	+
	Lesitinaz	d	+	d			-
	Üre	-	-	-	-	-	-
	Mol % G+C						
	Virülans Fare Testi	+	+	-	-	-	-

d: değişken

Yapılan pek çok araştırma tavuk etinin insanda gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve intoksikasyonlara neden olan; *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp.; özellikle *S. aureus*, *Enterobacter* spp., *Shigella* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *E. coli*, *Pseudomonas* spp., koliform grubu bakteriler, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp. ve sülfid indirgeyen anaerob bakteriler açısından sıklıkla kontamine olduğunu göstermektedir (Ergeldi, 2010).

Özellikle hazır dondurulmuş tavuk etinden üretilmiş gıda maddelerinin tüketimi sonucu insanlarda sporadik ve epidemik listeriozis olgularının görülmesi araştırmacıların dikkatini *Listeria* spp. üzerine yoğunlaştırmasına neden olmuştur (Özmen ve Kılıç, 2006).

Listeriozis, özellikle hayvanlarda ve insanlarda merkezi sinir sistemine ilişkin bozukluklarla karakterize bir zoonotik hastalıktır (Mahmood ve ark., 2003; Anonymous, 2014-a). İnsanlarda listeriosisin ilk kez 1929 yılında Nyfeldt tarafından rapor edildiği bildirilmiştir (Dutta, 2007). *Listeria monocytogenes*'in sebep olduğu gıda kaynaklı listeriozis, ölüm oranı (%25'ten fazla) ve ekonomiye olan olumsuz etkisi sebebiyle gıda endüstrisi ve halk sağlığı açısından önemli bir sorun oluşturmaya devam etmektedir (Barbalho ve ark., 2005). Sağlıklı insanların %5'inin gastrointestinal sistemlerinde *Listeria monocytogenes* bulunduğu tahmin edilmektedir (Donnelly, 2001). Uzun kuluçka dönemi sebebiyle oluşabilecek salgının kaynağını belirlemenin oldukça güç olduğu bildirilmektedir (Beverly, 2004).

Kaczmarek ve Jones (1989), İngiltere'de steroid tedavisi gören bağışıklık sistemi baskılanmış bir kişide fast food tipi pişmiş piliç eti tüketimine bağlı bir listeriozis olgusunun *L. monocytogenes* serotip 1/2a'dan kaynaklandığını ve bunun da muhtemelen yetersiz pişirme sonucu meydana geldiğini bildirmişlerdir (Erol ve ark, 1999).

Çiğ tavukta yüksek oranda bulunan *L. monocytogenes* işlenmiş tavuk ürünlerinde canlı kalabilmesi ve dolayısı ile evde diğer gıdalara çapraz bulaşabilme ihtimali sebebiyle problemler teşkil etmektedir (Barbalho ve ark., 2005). Bu durum özel kontrol yöntemlerini gerektiren mikrobiyolojik bir risk oluşturmaktadır (Peccio ve ark., 2003).

Listeria monocytogenes, Amerika Birleşik Devletler’inde 2500 menenjit, kan zehirlenmesi ve cenin ölümü olayları ile 500 kadar ölüme neden olabilmektedir. Oldukça fazla sayıda gıda ürününde *L. monocytogenes*’e rastlanılmaktadır (Zhou and Jiao, 2006).

Et ve tavuk endüstrisinde *Listeria* spp. kontaminasyonuna karşı pek çok kimyasal ve fiziksel dekontaminasyon sistemleri kullanılmakta ve önerilmektedir. Bu yöntemlere örnek olarak klor, organik asitler, fosfatlar, hidrojen peroksit, ozon, ultra yüksek hidrostatik basınç, ışınlama, vurgulu elektrik alanı, ultrasonik enerji, UV ışık ve benzeri pek çok yöntem örnek olarak verilmektedir (Sakaridis ve ark., 2014). Ozon uygulamaları, hayvansal kökenli gıdalarda ransiditeye neden olmaktadır (Anonymous, 2014-b). Klor ve klorlu bileşikler kullanıldığı takdirde ortamda serbest kalan klorun gıdalardaki proteinlerle ve aminoasitlerle etkileşimi, mutajenik ve kanserojenik etkilere sebep olmaktadır (Crapo ve ark., 2004). Işınlama ise lipid peroksidasyonuna ve diğer kimyasal değişikliklere neden olabilen serbest radikaller oluşturarak kanatlı etlerin kalitesini olumsuz yönde etkilemekte ve renk değişimine sebep olmaktadır (Alkın ve Başoğlu, 2005). Ozon, klor ve ışınlama gibi antimikrobiyal sistemlerinin, kalite ve görünüş bakımından et ve tavuklarda oluşturduğu olumsuz özelliklerinden ve tüm bunların yanı sıra tüketicilerin, tavuk ürünlerinde gıda güvenliğinin geliştirilmesinde ve etlerdeki karakteristik özelliklerin değişmeden mikrroorganizmaların kontrol edimesinde doğal yolları tercih etmelerinden dolayı alternatif olarak bakteriyofajlar antimikrobiyal olarak kullanılmaya başlanmıştır (Sakaridis ve ark., 2014; Soni ve Nannapaneni, 2010).

Bakteriyofajlar veya fajlar bakterilerin virüsleri olup zorunlu parazitlerdir (Tarhan ve ark., 2007; Brown, 1997; Hagens ve Loessner, 2010). Bakteriyofajlar, insan, bitki ve hayvanlara zararsız olup gıdalarda oldukça fazla (10^8 faj/g) bulunurlar ve taze ürünlerden (kırmızı et, tavuk eti, vb.), işlenmiş gıdalardan (turta, bisküvi hamuru ve kızarmış tavuk, vb.), fermente gıdalardan (peynir, yoğurt vb.) ve deniz ürünlerinden (midye, istiridye, vb.) izole edilebildikleri bildirilmiştir. Bu durum, fajların bakteriyel konakçılarıyla bir arada bulduklarını veya öncelardan beri var olduklarını göstermektedir (Sillankorva ve ark., 2012). Ayrıca, gıdalar aracılığıyla da

rutin olarak insanlar tarafından önemli miktarda tüketildikleri görülmektedir (Sillankorva ve ark., 2012; Carlton ve ark., 2005).

Bakteri içine girerek metabolizmasını bozan ve litik faz durumunda bakterinin parçalanmasına neden olan bakteriyofajlarla ilgili ilk gözlemler, 1896 yılında Ernest Hankin tarafından yapılmıştır (Durupınar, 2005). 1915 yılında İngiliz mikrobiyolog Frederick Twort bakterileri enfekte eden ve onları etkisiz hale getiren küçük ajanları keşfetmiştir. 1917 yılında ise Paris'te Pasteur Enstitüsü'nde çalışan ve aslen Fransız olan Kanadalı mikrobiyolog Felix D'Herelle tarafından bu küçük ajanlar "Bakteriyofaj" olarak isimlendirilmiştir (Ackermann, 2011). Bakteriyofajlar keşfedildiklerinden beri, sadece tıp ve veterinerlikte değil, tarım sektöründe de kullanılmışlardır (Sillankorva ve ark., 2012). Faj üzerine ilk araştırmalar, bakteriyofajın doğasını belirlemek için yapılan çalışmalarla olmuştur (Tarhan ve ark., 2007). Fajlar replikasyon stratejilerine göre litik (virulent) faj ve lizojenik (ılımlı) faj olarak sınıflandırılmaktadırlar (Endersen ve ark., 2014). Litik fajlar, kendilerine duyarlı konakçı bakterilere adsorbe olduktan sonra genetik materyallerini hücrelere enjekte ederek DNA ve RNA'ları ile konakçı genomunu kontrol altına almaktadırlar. Hücrenin tüm olanaklarını kullanarak kendi replikasyonunu gerçekleştirmektedirler. Belli bir süre sonunda çok sayıda olgun faj hücre duvarını parçalayarak yeni faj olarak ortama salınmaktadır. Bu döngü, ortamda sağlam konakçı bakteri kalmayınca kadar devam etmektedir. Lizojenik fajlar ise, konakçı bakterilere enjekte ettikleri DNA'larını bakteri genomuyla birleştirmektedirler. Bu birleşimin sonucunda konakçı genomu ve faj DNA'sını içeren dairesel formu DNA sarmalı oluşmaktadır. Lizojenik fajların genlerde meydana gelebilecek mutasyonlar sonucunda virulent formlara dönüştükleri bildirilmiştir (Guttman ve ark., 2005).

Bakterilerin doğal düşmanı olarak görülmekte olan bakteriyofajlar; *Listeria*, *Salmonella*, *Campylobacter* ve *Escherichia* gibi tehlikeli gıda kaynaklı patojenlerin kontrolünde geniş ölçüde kullanılabilen ajanlar olarak değerlendirilmektedir (Carlton ve ark., 2005; Endersen, 2014). Hedef bakteri hücrelerine etki eden fajlar, gen veya türe özgü oldukları için örneğin fermente gıdalarda bulunan starter kültürleri etkilemezler. Ayrıca buna bağlı olarak gastrointestinal sistemdeki ve çevredeki bakteri florasını da etkilemezler (Carlton ve ark., 2005). Genel olarak, kasaplık

hayvanların gastrointestinal mikrobiyel ekosisteminin doğal birer üyesi olan bakteriyofajlar, oldukça dar bir hedef spektrumuna sahip olup, hatta bazıları yalnızca spesifik bir suşa karşı etkilidir (Oral ve Gülmez, 2006). Konak spesifitesi genel olarak suş, tür veya nadiren gen veya sınıf seviyesinde sağlanır. Bu spesifite, faj kullanarak tehlikeli bakterinin hedef olmasına veya öldürülmesine doğrudan izin verir (Hagens ve Loessner, 2010; Chibeu, 2013). Faj enfeksiyonları bakteri hücre yüzeyinde bulunan özel reseptörlerin varlığına bağlıdır; ve hücre duvarının yapısının ve biyosentezinin incelenmesi faja dayanıklı mutantlar kullanarak yapılabilmektedir (McNerney, 1999).

İlk bakteriyofaj preparatları 1920 ve 1930'larda Eli Lilly ve E.R. Squibb & Sons firması tarafından *Staphylococcus* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak üzere hazırlanmış ve pazara sunulmuştur. Buna rağmen Amerika Birleşik Devletleri'nde pek çok faktör tıp uygulamalarında bakteriyofaj kullanımının gerilemesine sebep olmuştur (Walker, 2006). Yarım asırdan fazla süredir doktorlar ve klinik uzmanları patojen bakterilerin sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisini antibiyotik ile yapmaktadırlar. Ancak, bakteriler tarafından antibiyotiğe gösterilen direnç, antibiyotiklerin tedavilerde kontrol amaçlı kullanımlarının artık etkisiz olmasına neden olmuştur. Son 30 yıldır genetik mühendisliği gibi modern biyoteknoloji yardımına rağmen yeni bir antibiyotik keşfedilememiştir. Antibiyotiklerin yerine kullanılacak tek alternatif, antimikrobiyal ajan olarak bakteriyofajların kullanılması olmaktadır. Özellikle antibiyotiğe dirençli bakterilerin enfeksiyonlarının tedavisinde litik fajların kullanımı; faj terapisi kapsamında ele alınmaktadır. Sadece, litik fajlarla hazırlanmış faj preparatlarının tedavi edici uygulamalarda kullanımlarının iyi bir seçenek olduğu bildirilmektedir (Chhibber ve Kumari, 2012). Gıda güvenliği açısından bakıldığında, litik fajlar tam anlamıyla var olan en zararsız antimikrobiyal yaklaşımlardan birisi olarak bildirilmektedir (Sillankorva ve ark., 2012).

Bakteriyofajların yüksek spesifikliğı, sadece hedef mikroorganizma üzerinde etkili olması, insanda yüksek oranda alımının bile zararlı etkisinin bulunmaması bakteriyofajların antimikrobiyal olarak kullanımını önemli hale getirmektedir (Hagens ve Loessner, 2010). Yüksek spesifite özelliklerinden faydalanılarak gıda

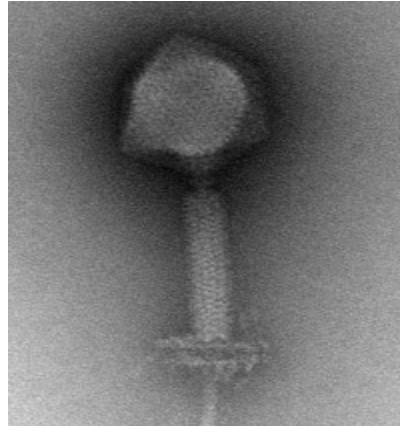
sanayisinde fajlar, hayvan ve bitki kökenli gıdalarda tüketime hazır hale gelmeden önce patojen bakterilerin biyokontrolünde kullanılabilir (Keary ve ark., 2013; Greer, 2005).

Çalışmada kullanılan Listex™ P100 fajı litik faj olsa da, *Listeria* türlerini etkileyen fajların çoğunun ılımlı olduğu ve oldukça dar bir konakçı aralığına sahip olduğu bilinmektedir (Carlton ve ark., 2005). Son yıllarda et ve tavukçuluk sektöründe sorun yaratan *L. monocytogenes* bakterisine karşı çok spesifik belirli fajlardan elde edilen faj preparatları, tüketime hazır etler ve tavukçuluk ürünlerinde kullanılmaya başlanmıştır. Bu preparasyonlar, ürünlerin yüzeyine sprey şeklinde veya pipetlerle uygulanmaktadır (Tarhan ve ark., 2007).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), hazır gıda ürünlerinde ve kanatlılarda ListShield™, Listex™ P100 gibi *Listeria* fajlarının kullanımını onaylamıştır (Kim, 2008; FDA, 2005). Daha önceleri LMP-102 olarak adlandırılan ListShield™, Intralytix firması tarafından üretildiği bildirilmektedir. Çevreden izole edilen 6 farklı bakteriyofajı içeren antimikrobiyal bir karışım olup, karışımın tüm hazır gıda ürünlerinde ve kanatlı ürünlerde kullanımının yanı sıra ayrıca gıda işletmelerinde yüzeylerde kullanılabilirliği de EPA tarafından onaylanmıştır (Anon, 2014-f). Karışımın içeriğindeki fajların Siphoviridae familyasına ait olan litik fajlar olduğu belirtilmiştir (FDA, 2005). Preparasyonun Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 500 kişinin ölümüne sebep olan gıda kaynaklı *Listeria monocytogenes*'i hedef aldığı bildirilmiştir (Anon, 2014-f).

LISTEX™ P100 ise, Microcos Food Safety şirketi tarafından satışa sunulan ve gıda ürünlerinde tehlike yaratan *Listeria monocytogenes* suşları için geliştirilmiş doğal bir bakteriyofaj preparatıdır. 2007 yılında FDA ve USDA (Birleşik Devletler Tarım Dairesi) tarafından tüm gıda ürünlerinde GRAS (genel olarak güvenilir kabul edilen) olarak onaylandığı bildirilmiştir (Goodridge ve Bisha, 2011). Bu bakteriyofajın gıda ürünlerinde proses yardımcısı olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Jambon, domuz eti, pişmiş sucuk, hindi göğsü, kıyma, biftek, füme tavuk veya diğer et ürünlerinde LISTEX™ P100, *L. monocytogenes* kontrolü için kullanılan bir ticari ürün olarak piyasada bulunmaktadır (Anonymous, 2014-c).

LISTEX™ P100, son yıllarda tanımlanmış olsa da, aslında 1997 yılında Almanya'da bulunan bir süt işleme fabrikasındaki dışkı örneklerinden izole edilmiştir. LISTEX™ P100, A511 gibi litik bir yaşam çemberine sahip olup morfolojik olarak incelendiğinde, Myoviridae (A1 alt grubu) özellikli olup bükülmez, kontraktıl kuyruğu ve izometrik kapsidi olan bir faj olduğu bildirilmiştir. dsDNA genom boyutu 131,384 bp olup; genomun sağ tarafının sonunda 18 adet tRNA geni bulunduran 174 adet ORF tanımlanmıştır. Bilinen diğer Myoviridae fajları, *Staphylococcus aureus* fajı (K-94) ve *Lactobacillus plantarum* fajı (LP665-24) ile benzer özellikleri göstermektedir (Kim, 2008). Şekil 1.1'de Listeria LISTEX™ P100 fajı gösterilmektedir.



Şekil 1.1. *Listeria* fajı LISTEX™ P100 (Anon, 2014-e)

Bu çalışmada; Çukurova bölgesinde faaliyet gösteren tavukçuluk işletmelerinde ve bu işletmelerden alınan tavuk etleri örneklerinde *Listeria spp.* varlığının saptanması sonrasında, yetersiz hijyen koşulları sebebiyle sıklıkla bulunabilecek *Listeria spp.* probleminin bakteriyofaj etkisiyle çözümünün sağlanması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tavuk Etlerinde *Listeria* spp. Aranması ve İzolasyonu Üzerine Yapılan Çalışmalar

Bailey ve ark. (1989)'nın yapmış olduğu çalışmada 3 değişik perakende satış yerinden alınan 90 broiler (etlik piliç) karkasından 34'ünde *Listeria* türleri tespit edilmiş olup bunlardan 21 tanesi *L. monocytogenes* olarak belirlenmiştir (Arslan ve ark., 1999).

Farber ve ark. (1989) inceledikleri 16 tavuk etinin 8'inde *L. monocytogenes*'e rastlamışlardır (Arslan ve ark., 1999).

Genigeorgis ve ark. (1989) inceledikleri 160 tavuk eti örneğinin 20'sinde *L. monocytogenes*, 42'sinde *L. innocua* ve 2'sinde *L. welshimeri* saptamışlardır (Arslan ve ark., 1999).

Gilbert ve ark. (1989) tüketilmeye hazır piliç etlerinin % 12'sinin *L. monocytogenes* ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir (Arslan ve ark., 1999).

Schönberg ve ark. (1989) inceledikleri 100 tavuk etinin 85'inde *L. monocytogenes*, 8'inde *L. innocua* ve 1'inde *L. welshimeri* saptamışlardır (Arslan ve ark., 1999).

Weis (1989) yaptığı bir çalışmada, 8 tavuk eti örneğinin 5'inde *L. monocytogenes*'i, 1'inde de *L. innocua*'yı izole etmiştir (Arslan ve ark., 1999).

Rahmat ve ark. (1991) 24 tavuk karkasının 15'inde *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Kwiatek ve ark. (1992) inceledikleri 20 tavuk etinin 12'sinde *L. monocytogenes*, 2'sinde ise diğer *Listeria* türlerini saptamışlardır (Arslan ve ark., 1999).

Arslan ve ark. (1999) Elazığ ilinde bir tavuk kesimhanesinden alınan tavuk gövde kısımları (but, boyun, kanat ve göğüs) ile karkas yıkama suyu örneklerinde *Listeria* türlerinin varlığını araştırdıkları çalışmada her örnekten 20 adet incelemişlerdir. İncelenen but örneklerinin 2'sinde *L. monocytogenes*, 7'sinde *L. innocua*, 4'nde *L. welshimeri*; kanat örneklerinin 1'inde *L. monocytogenes*, 3'ünde *L.*

innocua, 5'inde *L. welshimeri*; göğüs örneklerinin 3'ünde sadece *L. innocua*; boyun örneklerinin 3'ünde *L. monocytogenes*, 2'sinde *L. innocua*; alınan yıkama suyu örneklerinin 2'sinde *L. monocytogenes*, 5'inde *L. innocua* ve 4'ünde *L. welshimeri* saptamışlardır.

Erol ve ark., (1999) Ankara'da 6 değişik firmaya ait 30' ar adet taze piliç parça eti (but, göğüs, kanat) ve yenilebilir iç organlarından (kalp, karaciğer) oluşan toplam 120 örnekte *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, parça et örneklerinin % 90'nın ve yenilebilir iç organ örneklerinin % 46.6'sının değişik *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir.

Mahmood ve ark. (2003) tarafından Faisalabad'da farklı kanatlı satış merkezleri, süpermarketler ve alışveriş yerlerinden alınan 320 adet kanatlı eti ve ürünleri, 40'ar adet taze kanatlı eti, taze kemiksiz tavuk, dondurulmuş kanatlı eti, dondurulmuş tavuk nuggetları, dondurulmuş tavuk burgerleri, kesme tahtaları, dilimleme tahtaları ve temizleme kıyafetlerinde yapılan çalışmada, çalışılan tüm örneklerin 76'sında farklı oranlarda *Listeria* türleri izole edildiği bildirilmiştir. *L.monocytogenes* tespit edilen 31 örneğin 23'ü Tip 1'e ve 8'i Tip 4'e ait bulunmuştur. Çalışmada donmuş tavuk etlerinde taze tavuk etlerine nazaran daha yüksek *L. monocytogenes* oranı saptadıkları belirtilmiştir.

Rorvik ve ark. (2003) Norveç'te 7 tavuk kesimhanesinden ve 2 tavuk ürünü işleme fabrikasından alınan 385 adet çiğ ve işlenmiş tavuk ürünleriyle yaptıkları çalışmada, ızgaralık piliçlerde daha düşük oranda *L. monocytogenes* varlığı belirlenmiştir. 7 kesimhanenin sadece 2'sinden alınan tavuk karkaslarında *Listeria monocytogenes* varlığı gözlenmemişken, diğer 5 kesimhaneden alınan tavuk karkaslarında %20 ile %100 arasında değişen oranlarda *L.monocytogenes* varlığı gözlenmiştir. Çiğ tavuk ürünlerindeki (karkaslar) mikroorganizma miktarı genelde düşük (100 kob/g altında) olsa da *Listeria monocytogenes* varlığı saptanan 123 örneğin 17'sinde 2 ile 3 log kob/g arasında *L. monocytogenes* ve 14'ünde de 3 ile 4 log kob/g arasında *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. İzole edilen diğer *Listeria* spp. türleri *L. innocua* ve *L.welshimeri* olarak tanımlanmıştır.

Soultos ve ark. (2003) Kuzey İrlanda'da süpermarketlerde haftalık olarak satışa sunulan tavuk kanadı ve tavuk göğsünün bulunduğu paketlenmiş haldeki 205 adet tavuk parçasında *Listeria* spp. izolasyonu yapmışlardır. Analiz edilen 80 paketin 38'inde *Listeria* spp. ve bu 38 örneğin 14'ünde *L. monocytogenes* varlığını göstermişlerdir.

Barbalho ve ark. (2005) Brezilya'da bulunan bir tavuk işletmesinden 37 işçinin ellerinden alınan örnekler, 18 haşlama suyu, 66 adet tavuk karkası olmak üzere toplam 121 adet örnek olarak izolasyon ve tanımlama gerçekleştirmişlerdir. Örnekler değerlendirildiğinde, elde edilen 33 izolatın 28'inin *L. innocua*, 3'ünün *L. monocytogenes* ve 2'sinin de *L. grayi* olduğunu tespit etmişlerdir. İşçilerin ellerinden alınan örneklerde %40.5 *L. innocua* ve %11.8 *L. monocytogenes* varlığı belirlenmiştir. Haşlama suyunda *Listeria* spp.'ye rastlanmamıştır.

Özmen ve Kılıç (2006) Gemlik Garnizonundaki askeri birliklerde tüketime sunulan 18 °C'de dondurulmuş-poşetlenmiş 100 tavuk karkası üzerine yaptıkları çalışmada 100 adet karkas örneğinin 24'ünde *L. monocytogenes*, 4'ünde *L. murrayi*, 2'sinde *L. welshimeri*, 43'ünde *L. innocua*, 3'ünde *L. grayi* olmak üzere 76'sında *Listeria* spp. izole etmişlerdir.

El-Malek ve ark. (2010) Assiut şehrindeki marketlerden ve bakkallardan alınmış 25 kıyılmış donmuş tavuk göğsü filetosunu *Listeria monocytogenes* açısından incelemişlerdir. Bu örneklerin dördünün *Listeria* spp. içerdiğini saptamışlardır. *Listeria* izolatlarının 3'nün *L. ivanovii*, 2'nin *L. innocua*, 4'nün *L. grayi* ve 2'sinin *L. welshimeri* olduğunu belirlemişlerdir.

Indrawattana ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada Bangkok'ta bulunan süper marketler ve açık marketlerden alınan 104 adet çiğ kırmızı et, domuz eti ve tavuk eti örneklerinin %15.4'ünde *L. monocytogenes* saptamışlardır.

Gambarin ve ark. (2012) İtalya'da aynı partiye ait 3 alt üniteden oluşturulan 38 adet tüketilmeye hazır deniz ürünü örnekleri ile yaptıkları çalışmada, üç ünitenin birincisini hemen analiz etmişler; ikincisini +4 °C'de (raf ömrü süresince), üçüncüsünü ise +10 °C'de analiz öncesinde saklamışlardır. Kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik parametreler eş zamanlı olarak test etmişlerdir. Kültür sonuçlarına göre analiz edilen 38 örneğin 9'unda *L. monocytogenes* varlığını belirlemişlerdir.

Var ve ark. (2012) 'nın yaptıkları çalışmada Adana ilinde satışa sunulan 31 adet tüm tavuk karkası, 1 adet kendilerinin kesmiş olduğu tavuktan elde ettikleri tavuk karkası ve 8 adet parça tavuk eti (but, göğüs, kanat, sarma) örneği olmak üzere toplam 40 adet tavuk eti örneği *Listeria spp.* varlığı bakımından araştırmaya alınmıştır. FDA ve ISO metodları ile yapılan çalışmada; araştırma sonuçlarına göre 40 adet örneğin 2 göğüs örneğinde *Listeria welshimeri* izole edilirken, but, kanat ve sarma örneklerinden izole edilen 6 izolat ise *Listeria innocua* olarak tanımlanmıştır. Örneklerin hiç birinde *L.monocytogenes*'e rastlanmamıştır.

Alsheikh ve arkadaşları (2013), Sudan'da dondurulmuş olarak satın alınan 50 adet tavuk burger, 50 adet tavuk sosis, 50 adet tavuk köfte, 50 adet tavuk sandviç ve 50 adet İtalyan usulü tavuk sosisi olmak üzere toplam 250 adet hazır tavuk ürününde ISO metodu ile *Listeria monocytogenes* izolasyonu ve tanımlaması yapmışlardır. 250 adet örneğin 95'inin (%38) *Listeria spp.* ile kontamine olduğu görülmüştür. Örneklerdeki *Listeria spp.*'ler tür bazında incelendiğinde bu izolatların %13.6'sının *L. monocytogenes*, % 20.8'inin *L. ivanovi*, % 1.6'sının *L. grayi*, % 0.8'inin *L. seeligeri* ve % 1.2'sinin *L. welshimeri* olduğu tespit edilmiştir.

Alsheikh ve ark. (2014), dondurulmuş tavuk örneklerinde *Listeria spp.* izolasyonu ve tanımlaması yapmışlardır. Buna göre bir firmadan alınan 300 örnekten 11'inin *Listeria spp.* olduğu tespit edilmiştir. Tür bazında değerlendirme yapıldığında ise 39'unun *L. monocytogenes*, 54'ünün *L. ivanovii*, 11'inin *L. grayi*, 3'ünün *L. seeligeri* ve 4'ünün *L. welshimeri* olduklarını belirlemiştir.

2.2. Bakteriyofajların Gıdalarda Bulunan *Listeria spp.* ve Diğer Patojenler Üzerine Etkisinin Araştırıldığı Çalışmalar

Capita ve ark. (2002) bazı deneysel fajların değerlendirilmesi için Fransa, İspanya ve Danimarka'daki kümes hayvanlarından izole edilen *L. monocytogenes* ile yapılan serotip çalışmalarında; fajların 1/2 ve 4 serogruplarındaki *L. monocytogenes* suşlarına etki ettikleri görülmüştür. Bu çalışma, fajların durumunun coğrafi bölgelere göre spesifikliğinin önemini ortaya çıkarmıştır.

Goode ve ark. (2003) *Salmonella enterica*'nın Enteritidis alttürü ve *Campylobacter jejuni* ile kontamine edilmiş tavuk derisinde yaptıkları çalışmada P22, HTint ve 29C bakteriyofajlarının inoküle edilen mikroorganizmalar üzerine etkisini gözlemişlerdir. Antibakteriyel faj aktivitesini 4 °C'de saptamışlar ve hedef hücrelerin %95' inin öldüğünü belirlemişlerdir.

O'Flynn ve ark. (2004), Tokyo Enstitüsü'nden temin ettikleri litik pp01 fajı ile büyükbaş hayvan çiftliğinden izole ettikleri e11/2 ve e4/1c olmak üzere 3 bakteriyofaj ile oluşturdukları faj kokteylini kullanarak etlerde *E. coli* O157:H7 kontaminasyonunu azaltmak için yaptıkları çalışmada, bu kokteylin 9 örneğin 7'sinde etkili olduğunu bulmuşlardır.

Leverentz ve ark. (2004), kavun örneklerine *L. monocytogenes* inokülasyonu öncesi ve sonrası LMP-102 faj uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla *L. monocytogenes* inokülasyonundan 1, 0.5 ve 0 saat önce ve *L. monocytogenes* inokülasyonundan sonraki 30. dakika, 1, 2 ve 4. saatlerde faj kokteyli uygulamışlardır. Bu çalışmada kavun örneklerine uygulanan bakteri konsantrasyonunun 5×10^5 kob/ml, faj konsantrasyonunun 10^8 pob/ml olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada farklı sürelerde uygulanan faj muamelesinde en yüksek azalmanın 1.3 log azalma ile 4. saatte gerçekleştirilen uygulamada sağlandığı tespit edilmiştir.

Higgins ve ark. (2005), yaptıkları bir çalışmada, belediye atık sularından *Salmonella enteritidis* PT 13A varlığında PHL4 fajı izole etmişlerdir. Tavuk karkaslarının yıkama sularına ve tavuk karkaslarına 10^0 , 10^1 , 10^2 ve 10^3 kob/ml konsantrasyonlarında *S. enteritidis* inokülasyonunu takiben, yıkama sularına 10^6 ve 10^{10} pob/ml, tavuk karkaslarına 10^2 , 10^4 , 10^8 ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda PHL4 fajı eklemiştir. Tavuk yıkama suları ve tavuk haşlama suları ile gerçekleştirilen uygulamalarda 10^2 , 10^4 ve 10^6 pob/ml konsantrasyonları herhangi bir azalma sağlamazken 10^8 ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonlarının *Salmonella* miktarında azalma sağladığını gözlemişlerdir.

Guenther ve ark. (2009) sekiz farklı yiyecekte (hot dog, dilimlenmiş hindi eti, tütsülenmiş somon balığı, karıştırılmış deniz ürünleri, çikolatalı süt, mozerella peyniri salamurası, dilimlenmiş lahana ve marul yaprakları) A511 ve P100 faj

preparatlarının *Listeria monocytogenes* üzerine etkilerini incelemiştir. Gıda örneklerine 1×10^3 kob/g bakteri ve $3 \times 10^6 - 3 \times 10^8$ pob/g faj eklenmiş ve 6°C 'de 6 gün muhafaza etmişlerdir. Bakteri yükünde sıvı gıdalarda (çikolatalı süt, mozerella peyniri salamurası) 2.3 log kadar azalma, katı gıdalarda yaklaşık 5 log kadar azalma gözlemişlerdir. Kullanılan fajların etkileri birbirine yakın bulunmuş olup *Listeria monocytogenes*'nin biyokontrolünde etkili olabilecekleri bildirilmiştir.

Holck ve Berg (2009) dilimlenmiş pişmiş ette *Listeria monocytogenes* gelişimini azaltmak için fajlarla birlikte koruyucu kültürler (% 2.3 NaCl ve % 0.01 disodyum difosfat) kullandıkları çalışmada; tek başına eklenen fajların etkisiyle *Listeria monocytogenes*'in 10 kat azaldığını, 14-28 günlük bekleme sonrasında faj ve koruyucu kültür içeren örneklerin sadece faj eklenen örnekler ile kıyaslandığında 100 katlık bir azalma olduğunu gözlemişlerdir.

Soni ve ark. (2009) et filetosu üzerindeki *Listeria monocytogenes* yükünü azaltmak için kullanılan LISTEX™ P100 fajının faj dozuna, faj temas zamanına ve depolama sıcaklığına bağlı olarak listerisidal aktivitesinin incelenmesi çalışmasında, et filetosuna yaklaşık 4.3 log kob/g konsantrasyonunda *Listeria monocytogenes* karışımı inoküle edilmiş ve daha sonra faj tedavisi uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda; 2×10^7 pob/g (7.3 log pob/g) miktarında P100 fajı ile muamele edilen örnekte 4°C sıcaklıkta 1.4-2.0 log kob/g, 10°C 'de 1.7-2.1 log kob/g, 22°C 'de 1.6-2.3 log kob/g *Listeria monocytogenes* yükünde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Soni ve Nannapaneni (2010) çiğ alabalık filetosu et dokularındaki *L. monocytogenes*'in üzerine LISTEX P100 fajının kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Çalışmalarında; *L. monocytogenes* inoküle edilmiş et dokusuna 10^8 pob/g LISTEX fajı muamelesi sonucu başlangıçta yaklaşık 4 log kob/g olan *Listeria* yükünde yaklaşık 3.5 log kob/g azalma sağlandığını göstermişlerdir. 4°C 'de 10 günlük periyotta depolanmış faj ile muamele edilen örnek ile kontrol örneği değerlendirildiğinde kontrol örneğinde 1 log artış gözlenirken faj ile muamele edilen örneklerde ise 2.3 log kadar azalma belirlemişlerdir. 10^8 pob/g LISTEX fajı muamelesi sonucu başlangıçta ilk gün 1.4 log kob/g azalma görülmüş, bu periyodun sonunda ise olan *L. monocytogenes* miktarının kontrol örneklerindeki sonuca göre 2.3 log kob/g daha az olduğunu gözlemişlerdir. 8 log pob/g fajın 4°C 'de

stabilitesi incelendiğinde 10 günlük depolama sonunda 0.6 log pob/g miktarında faj yükünde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Viazis ve ark. (2011) gıda işletmesinde kullanılan materyaller üzerine inoküle edilen *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 suşları üzerine BEC8 olarak adlandırılan faj karışımının etkisini incelemiştir. Kombine edilen EK27, ATCC 43895 ve 472 kodlu *Escherichia coli* O157:H7 suşlarının belirlenen yüzeylere (Steril paslanmaz çelik, seramik fayans ve HDPE parçaları) suş karışımından 10^6 , 10^5 ve 10^4 kob/parça olacak şekilde; 4, 12, 23 ve 37 °C sıcaklıklarda inoküle edilmeleri sağlanmıştır. EHEC varlığı TSA agarda standart sayım yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada steril paslanmaz çelik yüzeyinde 37°C ve 12 °C'lerde BEC8 uygulamasından 10 dakika sonra; 23 °C'de 1 saat sonra mikroorganizma varlığı gözlenmediği bildirilmiştir. Seramik fayans yüzeyde, BEC8 uygulamasından 10 dakika sonra 37 °C'de ve 1 saat sonra 23 °C'de herhangi bir mikroorganizma varlığına rastlamamışlardır. HDPE parçalarında ise 12 °C'de 24. saate kadar herhangi bir üreme gözlememişlerdir. 4 °C'de ise uygulamadan sonraki 10 dakika içinde tüm örneklerde 3 log kob'dan daha fazla azalma gözlediklerini bildirmişlerdir.

Rossi ve ark. (2011), 40 adet Brezilya usulü taze domuz ve tavuk sosislerinde *Listeria monocytogenes* varlığını araştırmışlar ve LISTEX P100 fajının etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çalışmada 2.1×10^4 kob/g konsantrasyonundaki *L. monocytogenes* sosislere inoküle edilmiş ve ardından 3.0×10^7 pob/g oranında faj uygulaması yapılmıştır. Örnekler 4 °C'de 10 gün saklanmıştır. İlk gün ve 10. günde analize alınan örnekler kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında, her iki güne ait örneklerde de bakteriyofajın *L.monocytogenes* sayısında 2.5 log kadar azalma sağladığını tespit etmişlerdir.

Bigot ve ark. (2011), çalışmalarında koyun gaitalarından *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*'yi etkileyen ancak *L. grayi* ve *L. innocua*'yı etkilemeyen, morfolojik olarak A511 fajına benzeyen bir faj izole etmişlerdir. Satın alınan tavuk etine 10^5 kob/cm² oranında *L. monocytogenes* eklenmesinin ardından 5.2×10^7 pob/ml konsantrasyonunda faj muamelesi gerçekleştirilmiştir. 30 °C'de 7 saatlik inkübasyon sonunda *L. monocytogenes*'in gelişmesini önlemişler, ancak 24 saatlik inkübasyonun sonucunda yeniden gelişim gözlemişlerdir. Aynı sıcaklıkta, dilimlenmiş tavuk göğsü

yüzeyinde faj kullanımını takiben patojen miktarında 2.5 log kob/cm² azalma gözlemlenmişler, sonrasında ise yeniden gelişme meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yaklaşık olarak 10⁴ kob/ml bakteri inokülasyonunu takiben 1.5x10⁶ pob/cm² konsantrasyonunda faj ile muamele edilen örnekte, 1.5 log kob/cm² azalma sağlandığını belirtmişlerdir.

Izquierdo ve ark. (2012), çalışmalarında oda sıcaklığında nemli şartlarda bulunan paslanmaz çelik yüzeylerdeki *Listeria monocytogenes* biyofilmlerini kontrol etmede faj P100'ün etkinliğini epifloresan mikroskop (DEM) kullanarak belirlemişlerdir. 72 saat boyunca gelişimine izin verilen biyofilmler, farklı faj konsantrasyonları (5, 6, 7 ve 8 log pob/ml) ile muamele edilmişlerdir. *L. monocytogenes* varlığını hem mikroskop hem de kültür metodu ile 48 saate kadar izlemişlerdir. *L. monocytogenes* kültür metodu ile izlendiğinde ilk önemli azalmayı 8.saatte 7 ve 8 log pob/ml faj muamelesinde gözlemlemişlerdir. Bu konsantrasyonlarla, ortalama 5.29 log kob/cm²'lik azalma ile 48. saatte üremenin tespit edilemediği bildirilmiştir. 6, 7 ve 8 log pob/ml konsantrasyonlarla muamele edilen örneklerin mikroskopla incelenmesi sonucu, uygulamadan 8 saat sonra biyofilmlerde parçalanma meydana gelse de 48 saate kadar bakteri hücrelerinin canlılığını koruduğu tespit edilmiştir. Çalışma süresince, faj titresinin ya stabil kaldığı ya da 2.59 log kadar artış gösterdiği belirtilmiştir. Sonuç olarak, paslanmaz çelik yüzeylerde faj P100 *L. monocytogenes* biyofilmini kontrol etmede yardımcı bir kontrol önlemi olarak kullanılsa da, faj muamelesinin etkinliğini artırmak için diğer hijyen önlemleriyle kombine olarak kullanılması gerektiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada, epifloresan mikroskop (DEM)'un *L. monocytogenes* biyofilmlerine faj P100'ün gerçek etkisini tam olarak ve hızlı şekilde değerlendirme olanağı sağlamada etkili bir araç olduğu bildirilmiştir.

Hungaro ve ark. (2013)'nın tavuk derisinde *S. enteritidis* sayısını azaltmada bakteriyofajları ve klasik kimyasal ajanları kullandıkları çalışmalarında, tavuk dışkılarından 5 adet faj izole edilmiş, tanımlanmış ve biyosanitizer olarak seçilmiştir. Bu bakteriyofajların Podoviridae familyasına ait oldukları tespit edilmiştir. 1x10⁵ kob/cm² *S. enteritidis* ile kontamine edilen tavuk derisi örnekleri, faj kokteyli ve biyokimyasal ajanlarla muamele edilmiş, her iki durumda ortalama 1 log kob/cm²

azalma olduğu belirtilmiştir.

Chibeu ve ark. (2013), çalışmalarında hazır kızarmış kırmızı et ve pişmiş hindi etinde *L. monocytogenes* yükünü azaltmada Listex P100 fajı, potasyum laktat (PL), sodyum diasetat (SD), PL-SD, PL-faj, PL-SD-faj kombinasyonlarının etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla dilimlenen etlerin merkezlerine, yüzey kontaminasyonları 10^3 kob/cm² olacak şekilde *L. monocytogenes* inoküle edilmiştir. Pişmiş hindide % 2.8 PL, kızarmış ette ise % 2.8 PL + % 0.2 SD kombinasyonu kullanmışlardır. Listex™ P100 fajı 10^7 pob/cm² oranında uygulanmıştır. Tüm örnekler 4 ve 10 °C'de 30 dakika, 1, 2, 3, 7, 10, 14, 20 ve 28 günlük periyotlarda inkübasyona bırakılmıştır.

Et çeşidine, uygulanan antimikrobiyal madde ve kombinasyonlarına ve sıcaklıklara göre farklı sonuçlar elde edilmiştir. 28. günün sonunda bakteriyofaj uygulamasını gerçekleştirildiği tüm örneklerde kontrol örneklerinde yapılan kıyaslamaya göre azalma sağlandığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın, hazır etlerin güvenliğini sağlamak amacıyla kimyasal antimikrobiallarla birlikte Listex P100 muamalesinde *L. monocytogenes* sayısında önemli bir azalma sağladığını bildirmişlerdir.

Silva ve ark. (2014), yumuşak peynirlere inoküle edilen *L. monocytogenes* suşları üzerine bakteriyofaj P100 etkisini çalışmışlardır. Bu amaçla Minas Frescal ve Coalho peynirlerine *L. monocytogenes* 10^5 kob/g oranında 1/2a and Scott A suşları karışımını inoküle etmişlerdir. Ardından 8.3×10^7 pob/g oranında bakteriyofaj eklemişlerdir. Örnekler analize alınmış ve 10 °C'de 7 gün saklanmıştır. İnokülasyonun ardından 30 dakikalık enfeksiyon sonrasında, kontrol örneği ile karşılaştırma yapıldığında bakteriyofaj P100'ün Minas Frescal peynirinde 2.3 log birimlik, Coalho peynirinde ise 2.1 log birimlik azalma sağladığını tespit etmişlerdir. Ancak, buzdolabında saklanan örneklerde bakteriyofaj P100'ün daha zayıf bir antilisterial etki gösterdiğini (en düşük azalma: Minas Frescal peynirinde 1.0 log birim, Coalho peynirinde 0.8 log birim) belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. *Listeria* spp. İzolasyonu Yapılan Örnekler

Bu çalışmada materyal olarak, Çukurova bölgesinde faaliyet gösteren 3 farklı tavuk işletmesinden alınan 2'şer adet tüm tavuk karkası, karkas parçaları (göğüs, but, kanat), tavuk ciğeri, haşlama suyu ve yıkama suyu örnekleri kullanılmıştır. 2 tekerrürlü olarak yürütülen bu çalışmada toplam 42 örnek çalışılmıştır.

Örneklerin alındığı işletmeler, örnek sayıları ve çeşitleri ile tekerrürler Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Aseptik koşullar altında gerçekleştirilen numune alma işlemleri sırasında, alınan örneklerden tüm tavuk son ürün ambalajı haliyle diğer örnekler ise steril cam kavanozlara alınarak soğuk zincir bozulmadan laboratuvara getirilip, 12 saat içinde analize alınmıştır.

Çizelge 3.1. Örneklerin alındığı işletmeler, örnek sayıları ve çeşitleri

İşletme Adı	A	B	C
İşletme Yeri	Seyhan/Adana	Seyhan/Adana	Seyhan/Adana
Örnek Sayısı	14	14	14
Örnek Çeşidi	2 adet Tüm tavuk eti	2 adet Tüm tavuk eti	2 adet Tüm tavuk eti
	2 adet Kanat	2 adet Kanat	2 adet Kanat
	2 adet But	2 adet But	2 adet But
	2 adet Göğüs	2 adet Göğüs	2 adet Göğüs
	2 adet Tavuk ciğeri	2 adet Tavuk ciğeri	2 adet Tavuk ciğeri
	2 adet Yıkama Suyu	2 adet Yıkama Suyu	2 adet Yıkama Suyu
	2 adet Haşlama Suyu	2 adet Haşlama Suyu	2 adet Haşlama Suyu

İşletmelerden alınan örnekler belirli kodlar verilmiştir. Verilen kodlar, 3 haneden oluşmaktadır. İlk hanede işletmenin adı, ikinci hanede numunenin adını temsilen yapılan isimlendirmelere ve üçüncü hanede ekimin yapıldığı gün belirtilmektedir. Kodlar ve açıklamaları liste halinde Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan örneklerin numune kodları ve açıklamaları

Örnek kodu	Açıklama	Örnek kodu.	Açıklama	Örnek kodu.	Açıklama
A-G-1	A işletmesi, göğüs örneği, 1.ekim	B-G-2	B işletmesi, göğüs örneği, 2.ekim	C-B-1	C işletmesi, but örneği, 1.ekim
A-K-1	A işletmesi, kanat örneği, 1.ekim	B-B-2	B işletmesi, but örneği, 2.ekim	C-G-2	C işletmesi, göğüs örneği, 2.ekim
A-YS-1	A işletmesi, yıkama suyu örneği, 1.ekim	B-TT-2	B işletmesi, tüm tavuk örneği, 2.ekim	C-TT-2	C işletmesi, tüm tavuk örneği, 2.ekim
A-B-2	A işletmesi, but örneği, 2.ekim	B-YS-2	B işletmesi, yıkama suyu örneği, 2.ekim	C-G-3	C işletmesi, göğüs örneği, 3.ekim
A-G-2	A işletmesi, göğüs örneği, 2.ekim	B-K-3	B işletmesi, kanat örneği, 3.ekim	C-B-4	C işletmesi, but örneği, 4.ekim
A-YS-2	A işletmesi, yıkama suyu örneği, 2.ekim	B-G-3	B işletmesi, göğüs örneği, 3.ekim	C-G-4	C işletmesi, göğüs örneği, 4.ekim
A-B-4	A işletmesi, but örneği, 4.ekim	B-TT-3	B işletmesi, tüm tavuk örneği, 3.ekim	C-TT-4	C işletmesi, tüm tavuk örneği, 4.ekim
A-G-4	A işletmesi, göğüs örneği, 4.ekim	B-K-4	B işletmesi, kanat örneği, 4.ekim	C-YS-4	C işletmesi, yıkama suyu örneği, 4.ekim
A-K-4	A işletmesi, kanat örneği, 1.ekim	B-G-4	B işletmesi, göğüs örneği, 4.ekim		
		B-YS-4	B işletmesi, yıkama suyu örneği, 4.ekim		

*G: Göğüs, K: Kanat, YS: Yıkama suyu, B: But, TT: Tüm tavuk

**1 ve 2: 1. tekrüre ait ekimler

*** 3 ve 4: 2. tekrüre ait ekimler

3.1.2. *Listeria* spp. Suşları

Bu çalışmada tavuk işletmelerinden alınan örneklerden izole edilmesi amaçlanan *Listeria* türlerinin pozitif kontrolü olarak kullanılacak olan suşlar, Biomeriux firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Bakteriyofaj

Araştırmada kullanılacak LISTEX™ P100 fajı ticari olarak 2×10^{11} pob/ml konsantrasyonunda olup, Micros Food Safety (Hollanda) firması ile imzalanan protokolün ardından temin edilmiştir.

3.1.4. Besiyerleri

Kullanılan tüm katı ve sıvı besiyerleri uygulamadan hemen önce hazırlanmış ve taze olarak kullanılmıştır.

3.1.4.1. Buffered *Listeria* Enrichment Broth (Merck 1.09628)

Buffered *Listeria* Enrichment Broth, FDA tarafından önerilen metotta ön zenginleştirme amacıyla kullanılan besiyeridir. Besiyerinden 8.12 g alınarak 225 ml distile suda çözündürülmüştür. Daha sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Selektif katkı (*Listeria* Selective Enrichment Supplement) (Merck 1.11781) piyasada ticari olarak bir kutuda 10 vial (küçük şişe) şeklinde satılan hazır haliyle temin edilmiştir.

Listeria Selective Enrichment Supplement hazırlanışı;

- Seçici katkı 1 vial
- Steril distile su 1 ml

Otomatik pipet yardımıyla aseptik koşullarda 1 vial içine 1 ml saf su eklenmiş

ve karışım vial içerisinde tamamen çözündürüldükten sonra, her bir 225 ml'lik besiyerine 0,5 ml katkı eklenmiştir.

3.1.4.2. PALCAM *Listeria* Selective Agar (Merck 1.11755.0500)

PALCAM *Listeria* Selective Agar, ön zenginleştirme sonrasında zenginleştirmede ve izolasyonda, seçici katı besiyeri kullanılmıştır. 35.9 g besiyerinin hassas terazide tartılarak 500 ml distile su içerisinde çözündürülmesinin ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

Besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra, dökme sıcaklığına soğuduğunda selektif katkı eklenmiştir.

Selektif katkı (PALCAM Selective Supplement) (Merck 1.12122) piyasada ticari olarak bir kutuda 10 vial (küçük şişe) şeklinde satılan hazır haliyle temin edilmiştir.

PALCAM Selective Supplement hazırlanışı;

- Seçici katkı 1 vial
- Steril distile su 1 ml

Otomatik pipet kullanılarak aseptik koşullarda 1 vial içine 1 ml saf su eklenmiş ve karışım vial içerisinde tamamen çözündürüldükten sonra 500 ml'lik PALCAM Selective Agar besiyerine eklenmiştir. Selektif katkı eklendikten sonra katılaşma gerçekleşmeden besiyeri steril cam petrilere her birinde yaklaşık 15 ml olacak biçimde dağıtılmıştır.

3.1.4.3. Tryptone Soya Agar Yeast Extract (TSA-YE)

TSA-YE Agar, ileri tanımlama testlerini gerçekleştirmek üzere seçici besiyerinde gelişen kolonilerin tek düşürülmesini sağlamak amacıyla tercih edilen besiyeridir. 500 ml erlen içerisine 15 g Tryptic Soy Broth (Merck 1.05459), 3 g maya

ekstraktı (Yeast Extract; Merck 1.03753) ve 7.5 g agar (Merck 1.01613) konularak hazırlanmıştır.

Bileşenler damıtık su içinde çalkalanarak eritilmiş ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip, steril petri kutularına yaklaşık 15'er ml olacak şekilde dökülmüştür.

3.1.4.4. Tryptic Soy Agar (TSA)

In vitro (canlı hücre dışında) yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde genel katı besiyeri olarak kullanılır (Anon, 2014-h). Bu çalışmada, faj titresi hesabında alt (base) agar olarak tercih edilmiştir (Soni ve Nannapaneni, 2010). Tryptic Soy Agar, 15 g Tryptic Soy Broth (Merck 1.05459) ve 7.5 g agar (Merck 1.01613) karıştırılması ile 500 ml olarak hazırlanmıştır.

Bileşenler damıtık su içinde çalkalanarak eritilmiş ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip, steril petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dökülmüştür.

3.2. Metot

3.2.1. Tavuk Eti Örneklerinden ve Tavuk Karkaslarının Yıkama ve Haşlama Sularından *Listeria* spp. İzolasyonu

Çalışılacak tavuk eti örneklerinden tüm tavuk karkası, tavuk karkas parçaları (göğüs, but, kanat), tavuk ciğeri, tavuk karkası haşlama ve yıkama suyundan *Listeria* spp. izolasyonu FDA metodu ile gerçekleştirilmiştir. 1988 yılında Lovett ve arkadaşları tarafından geliştirilen FDA metodu; süt, süt ürünleri, deniz ürünleri ve sebze – meyveler gibi birçok gıdadan *Listeria* spp. izolasyonu ve sayımı amacıyla kullanılmaktadır.

Analize alınacak her bir katı örnek 25'er gram olarak tartılarak kıyma haline gelecek şekilde steril bıçak yardımı ile parçalara ayrılarak; her bir sıvı örnek 25'er ml alınarak ön zenginleştirme amacıyla 225 ml Buffered Listeria Enrichment Broth

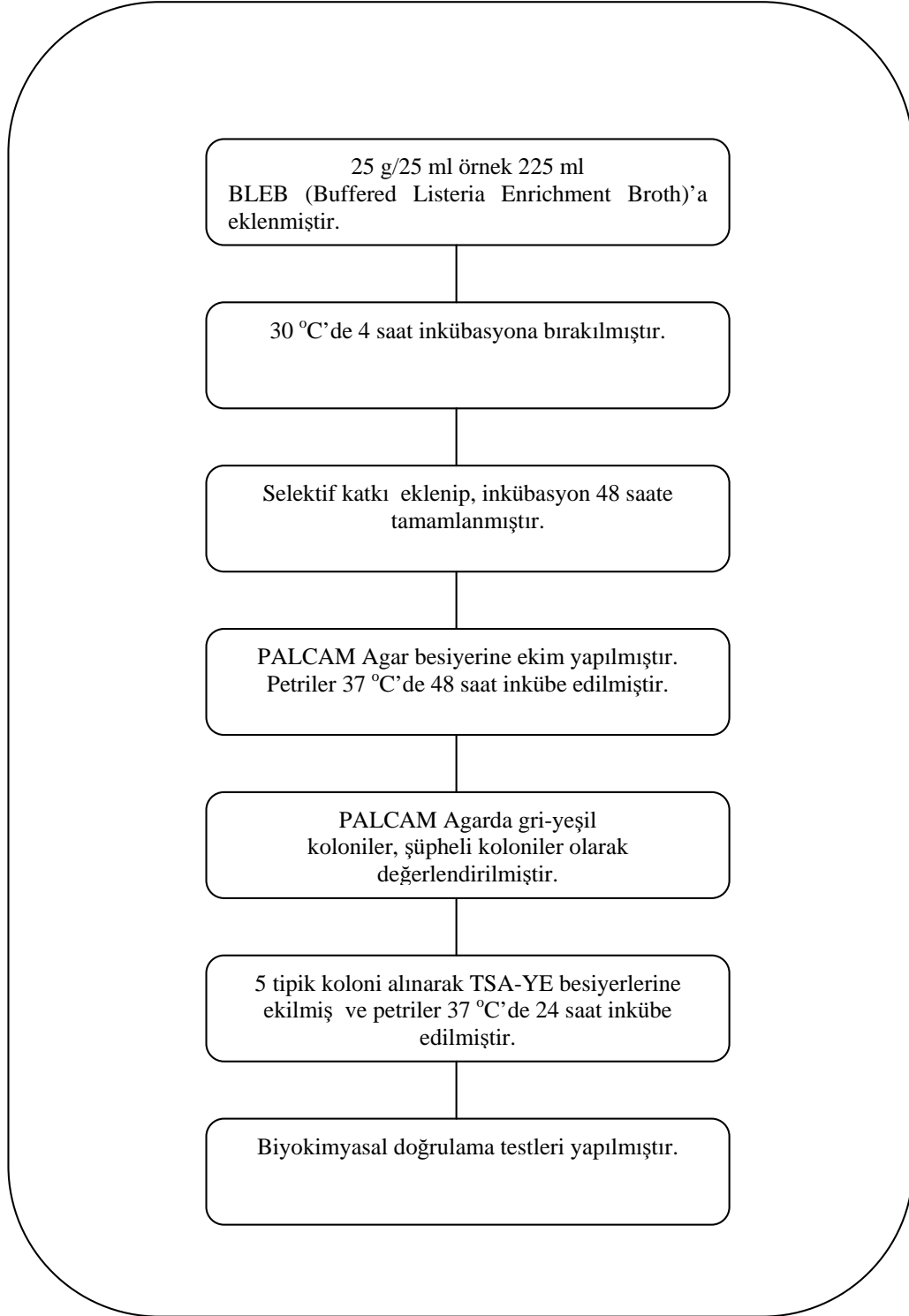
(BLEB) besiyerinde homojenize edilmiştir. Besiyeri önce 30°C’de 4 saat inkübe edilmiş, 4 saatin sonunda selektif katkı (10 mg/l akriflavin, 40 mg/l nalidiksik asit) ilave edilip inkübasyon 48 saate tamamlanmıştır. İnkübasyonun başlangıcından itibaren 24. ve 48. saatlerde PALCAM Agar besiyerine sürme ekimi yapılmış ve petripler 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Seçici katı besiyerinde gelişen 5 tipik koloni TSA-YE besiyerine ekilmiş ve 24 saat inkübasyon sonucunda ileri tanımlama testlerine tabi tutulmuştur (Var ve ark., 2012; FDA, 1998). Yapılan çalışmada izlenen aşamalar Çizelge 3.3’te şematize edilmiştir.

3.2.2. Tavuk Eti Örneklerinden ve Tavuk Karkaslarının Yıkama ve Haşlama Sularından İzole Edilen *Listeria* spp.’lerin Tanımlanması

Listeria şüpheli gri-yeşil veya siyah haleli kolonilerden saflaştırma amacıyla Tryptic Soy Agar-Yeast Extract yüzeyine ekim yapılarak petri kutuları 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından bu hücrelerin koloni ve hücre morfolojileri değerlendirilmiştir. Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, hareketlilik pozitif ve üre negatif koloniler *Listeria* spp. şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir.

İzolat cins bazında *Listeria* olarak doğrulandıktan sonra çeşitli kültürel ve biyokimyasal testler ile tür bazında tanımlama yapılmıştır. *Listeria* spp. izolatlarının tür bazında tanımlamalarının yapılması için Microbact™ *Listeria* 12L (Oxoid) adlı hazır tanımlama kiti ve Vitek 2 Compact cihazı kullanılmıştır (Var ve ark., 2012).

Çizelge 3.3 Gıdalarda *Listeria* spp.nin FDA metoduna göre klasik kültürel ekim yöntemi ile saptanmasında izlenen aşamalar (Tekin, 2010).



3.2.2.1. *Listeria* spp.'lerin Morfolojik Tanımlamaları

3.2.2.1.(1). Bakteri Koloni Morfolojisinin İncelenmesi

Ekim yapılmış plaklardaki şüpheli *Listeria* spp.'lerin seçici katı besiyerindeki koloni görünüşleri incelenmiştir. PALCAM Agar'da 1.5-2 mm çapında zeytin yeşili-gri-kahverengi renkli ve siyah zonlu koloniler, şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir.

Koloni görüntüleri beklenen özelliklere sahip olanların hücre morfolojilerinin araştırılması için Gram boyama yapılmıştır.

3.2.2.1.(2). Bakteri Hücre Morfolojisinin İncelenmesi

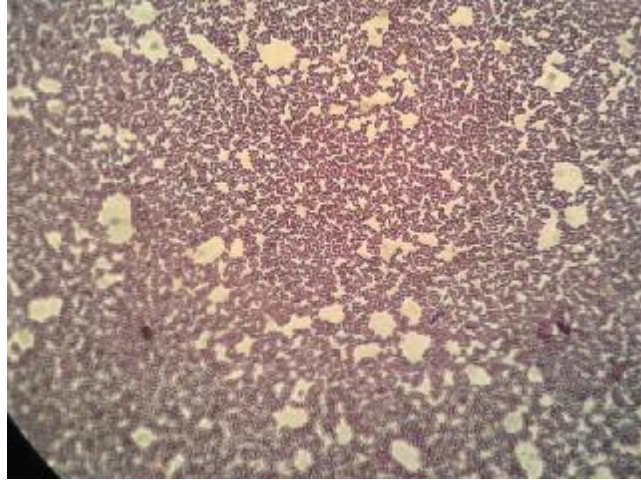
Koloni görüntüleri incelenen örneklere gram boyama işlemi uygulanmış ve hücre morfolojileri ışık mikroskopunda incelenmiştir. Bakteri hücrelerinin hücre zarlarını aşırı zorlayacak osmotik basınç farklılığını engellemek ve dolayısıyla hücre morfolojisini korumak amacıyla preparat hazırlamada su yerine serum fizyolojik (%0.85 NaCl çözeltisi) kullanılmıştır (Temiz, 2000).

Gram boyamada kullanılan kimyasallar Kristal Violet, Lugol Çözeltisi, %96'lık Etil Alkol ve Sulu Fuksin Çözeltisi'dir (Temiz, 2000).

- a) Kristal Violet: Gram boyamada kullanılan ilk boya olan Kristal Violet için; 0.5 g boya tartılarak 100 ml damıtık su içinde çözündürüp kullanılmıştır (Temiz, 2000).
- b) Lugol Çözeltisi: Gram boyamada kullanılan lugol çözeltisi içerisindeki iyot Gram pozitif bakterinin oldukça dayanıklı hücre duvarında bulunan çift katlı peptidoglukan yapı tarafından hapsedilir. Yıkama ile bu kompleksin akıp gitmesine izin verilmez (Anon, 2014-g). Lugol çözeltisi hazırlamak için 2 g potasyum iyodür (KI) kullanılmış ve 300 ml damıtık suda çözündürülmüştür. Bu çözeltiye daha sonra 1g iyice ezilmiş iyot kristali eklenmiş ve oda sıcaklığında tam çözünme sağlanıncaya kadar karıştırılmıştır (Temiz, 2000).

- c) %96'lık Etil Alkol: Gram boyamada kullanılan etil alkol (Tekkim) piyasada ticari olarak satılan % 96'lık saflıkta temin edilmiştir.
- d) Sulu Fuksin Çözeltisi: Preparatlar etil alkol ile muamele edildikten sonra sulu fuksin çözeltisi ile işleme tabi tutulmuştur. Sulu fuksin çözeltisinden önce bazik fuksin çözeltisi hazırlanmıştır. Bazik fuksin, 1 g fuksin (%90 boya içerikli) tartılarak 1000 ml distile suda çözündürülmesiyle elde edilmiştir. Ardından bu boya çözeltisinden 10 ml alınıp 100 ml damıtık suya karıştırılmasıyla sulu fuksin çözeltisi hazırlanmıştır (Temiz, 2000).

Şekil 3.1'de *Listeria* spp.'lerin Gram boyama sonucunda ışık mikroskopunda görülen hücre morfolojileri verilmiştir.



Şekil 3.1. Gram boyama yapılan *Listeria* spp.'lerin mikroskopik görüntüsü

3.2.2.2. Biyokimyasal Tanımlama Testleri

D-Xylose, L-Rhamnose, K-methyl-D-mannoside ve D-mannitol 'den asit üretimine göre ayrılan *Listeria* türlerini belirlemede biyokimyasal testler uygulanmaktadır (Allerberger, 2003).

Listeria spp.'lere ait bazı biyokimyasal test değerlendirmeleri Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. *Listeria* türlerine ait biyokimyasal test değerleri (Allerberger, 2003)

	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. grayi</i>
Oksidaz	-	-	-	-	-	-
Katalaz	+	+	+	+	+	+
İndol	-	-	-	-	-	-
D-Xylose	-	+	+	-	+	-
L-Rhamnose	+	-	-	d	d	d
a-Methyl-D-mannoside	+	-	-	+	+	+
D-Mannitol	-	-	-	-	-	+

+: pozitif, -: negatif, d: değişken

Çalışma sırasında, hücre ve koloni morfolojileri sonucunda şüpheli bulunan izolatlara biyokimyasal testler uygulanmıştır.

3.2.2.2.(1). Oksidaz Testi

Bu test hazır oksidaz kiti (Merck Bactident Oxidase) kullanılarak uygulanmıştır. Test kâğıtları üzerinde kare şeklinde ayrılan kısma şüpheli koloniden öze yardımı ile alınmıştır.

Sürüntü bölgesinde 5-15 saniye içinde mor renk oluşumunun gözlenmesi halinde oksidaz testi pozitif olarak kabul edilmiştir. Oksidaz testi negatif veren koloniler *Listeria* spp. olarak değerlendirilmiştir (Anonymus, 2014-d).

3.2.2.2.(2). Katalaz Testi

Başka bir biyokimyasal tanımlama testi olan katalaz testi %30'luk H₂O₂ kullanılarak gerçekleştirilmiştir. %30'luk H₂O₂, analizde kullanılmak üzere %3'lük olarak ayarlanmıştır (Anonymus, 2014-d).

Kullanımdan önce taze olarak hazırlanan % 3'lük hidrojen peroksitten bir lam üzerine 1-2 damla konulmuş ve şüpheli koloni öze yardımı ile alınarak hidrojen peroksit karıştırılmıştır. Gaz kabarcıklarının oluşumunun gözlenmesi halinde test sonucu pozitif kabul edilmiştir (Anonymus, 2014-d).

3.2.2.2.(3). Hareketlilik Testi

Şüpheli kolonilere yumuşak dik agarlı besiyerinde hareketlilik testi uygulanmıştır. İğne uçlu öze yardımı ile şüpheli koloniden alınmış ve 5 ml Nutrient Agar (%0.4 agar eklenmiş) içeren besiyerine ekim yapılmıştır. 18-24 saat süre ile 25 °C'de inkübasyona bırakılan besiyerleri, inkübasyonun sonunda değerlendirmeye alınmıştır. İnokülasyon hattının yanlarına doğru yayılmış, şemsiye görümlü bulanıklık bakterinin hareketliliğinin pozitif olduğunu göstermektedir (Anonymus, 2014-d).

3.2.2.2.(4). Üre Testi

Bir öze dolusu koloni alınıp Urea Broth (Merck 1.08483) besiyerine inoküle edilmiştir. 35 °C'de 48 saate kadar inkübasyon sonunda tüp rengi kontrol edilmiştir. Kırmızı renk oluşumu gözlenenler pozitif, sarı renk oluşumu gözlenenler ise testin negatif olarak değerlendirilmiştir (Anonymus, 2014-d).

3.2.2.2.(5). İndol Testi

Bu test, mikroorganizmaların bir aminoasit olan triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılmaktadır. Mikroorganizmalar sıvı besi yerine veya peptonlu sıvıya ekildikten sonra 37 °C de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda kültürlerin üzerine Kovacs (veya Ehrlich) ayıracından 0.5 ml ilave edilip iyice karıştırılmıştır.

Tüplerin üst kısmında bir iki dakika içinde kırmızı bir halkanın oluşması indol pozitif, sarımsı halka indolun oluşmadığının göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Anonymus, 2014-d).

3.2.2.2.(6). Microbact™ *Listeria* 12L Tanımlama Kiti ile Tanımlama

Biyokimyasal tanımlama sonrası *Listeria* spp. olarak doğrulanan koloniler (katalaz pozitif, Gram pozitif-kokobasil, oksidaz negatif, hareketlilik pozitif ve üre negatif) Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kiti ile analize alınmışlardır.

Ticari olarak satılan Oxoid marka Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kitiprotokollerine uygun olarak kullanılmıştır.

Bu hazır kit içerisinde bulunan donanım; her biri 1 test çubuğu içeren 20 poşet, 20 koloni sulandırma sıvısı içeren tüp ve bir tepsiden oluşmaktadır.

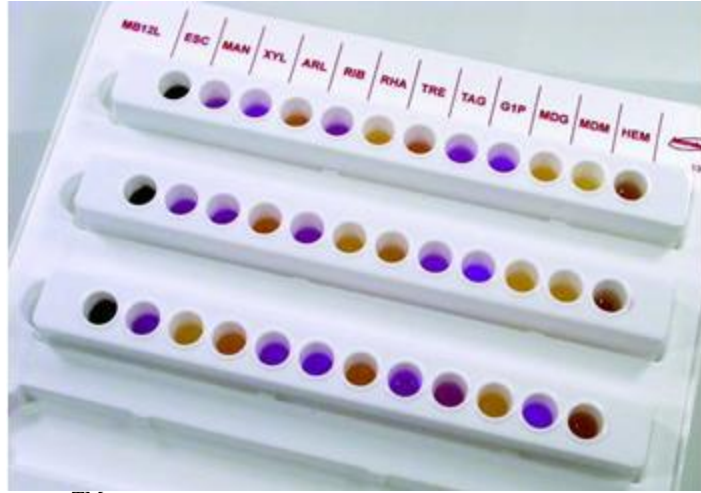
Her bir çubukta hemoliz oluşumunu gözlemek için gerekli olan hemoliz test reaktifi (haemolysin reagent) ayrıca temin edilmiştir.

Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kiti aşağıdaki işlem sırasına göre uygulanmıştır;

1. TSA-YE besiyerinde üreyen *Listeria* spp. kolonilerden tek koloni alınmış ve sulandırma sıvısı ile karıştırılmıştır.
2. Alüminyum poşetinden bir test stripi çıkarılmış ve tepsinin içerisine yerleştirilmiştir.
3. Hemolizin reaktifi oda sıcaklığına getirilmiştir.
4. Test çubuğunun üzerindeki kapak açılıp, steril bir pipet yardımıyla her bir kuyucuğa sulandırma sıvısından 4'er damla (yaklaşık 100 µl) konulmuştur.
5. Kapak kapatılıp, çubuklar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.
6. Çubuklar inkübatörden çıkarılmış, kapağı kaldırılmış, tüm test sonuçları kayıt formuna not edilmiştir. Sonuçları yorumlamada yardımcı olması açısından reaksiyon tablosuna bakılmıştır.
7. Elde edilen reaksiyon sonuçları kitin içerisinde bulunan veri tablosu ile karşılaştırılmıştır.

8. Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kitinin bilgisayar destekli tanımlama programı ile sonuçlar değerlendirilmiştir (Anonymus, 2014-d).

Şekil 3.2.'de inkübasyon sonrasında Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kiti ile renk değişimi veren test çubuklarının görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.2: Microbact™ 12L *Listeria* tanımlama kitinin görüntüsü

3.2.2.2.(7). Vitek 2 Compact Cihazı ile Tanımlama

Biyokimyasal testler sonucunda *Listeria* spp. olduğu doğrulanan kolonilerin Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kitinin yanı sıra Vitek 2 Compact cihazı ile de tanımlaması yapılmıştır. *Listeria* türlerinin tanımlamasında kullanılan Gram Pozitif (GP) cihaz kartları Biomeriux (Fransa) firmasından temin edilmiştir.

3.2.3. Listex™ P100'ün Çalışma Materyallerinden İzole Edilen *Listeria* spp. İzolatları Üzerine Etkisi

3.2.3.1. Çift Tabaka Agar Metodu ile Listex™ P100 Bakteriyofaj Titresinin Hesaplanması

Besiyeri üzerinde yaygın bir şekilde tabaka oluşturan bakteri içerisinde plak üreten bir fajın, konakçısını lize edebilme yeteneği yani faj titresi genellikle klasik plak oluşturma denemesi olan çift tabaka agar tekniği kullanılarak ölçülmektedir (Santos ve ark., 2009). Çalışmamızda, bakteriyofaj plak oluşumu için 5 farklı *Listeria* türü (*L. monocytogenes*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*) seçilmiş ve 6 farklı faj konsantrasyonu uygulanarak çift tabaka agar yöntemi ile çalışılmıştır.

Çalışma sırasında kullanılacak olan *Listeria* türlerinin 10 ml TSB (Tryptic Soy Broth) içinde 37 °C'de 18 saat süre inkübasyona bırakılarak 10^9 kob/ml (McFarland: 1.2) hücre konsantrasyonuna ulaşıncaya kadar yeniden üremeleri sağlanmıştır. Ardından bu süspansiyon 10 000 xg'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve 2 kez % 0.9 NaCl içeren çözelti ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işleminin ardından pellet % 0.9 NaCl solüsyonu ile orijinal hacime getirilmiştir. İstenen konsantrasyona ulaşmak için NaCl çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

Bu çalışmada kullanılan Listex™ P100 bakteriyofajı tamponlanmış tuzlu su içerisinde yaklaşık 10^{11} pob/ml konsantrasyonunda hazırlanmış olarak Micros Food Safety (Hollanda) firmasından temin edilmiştir. Listex™ P100 bakteriyofajının 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml olmak üzere 6 farklı konsantrasyonun etkisini incelemek amacıyla % 0.9 NaCl solüsyonu ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

Çift tabaka agar tekniğinde yumuşak agar ve alt (base) agar kullanılacak olup alt agar olarak TSA, üst agar için % 0.5 agar içeren TSB ile hazırlanmış yumuşak agar kullanılmıştır (Oliveira ve ark., 2012) Otoklav sonrası donmaması için yumuşak agar, 42 °C'ye ayarlı su banyosunda kullanım öncesinde bekletilmiştir.

4 ml hacimli yumuşak agara (% 0.5 agar içeren TSB) önce 150 µl *Listeria* spp. suşları ardından 100 µl 10^5 - 10^{10} aralığındaki farklı konsantrasyonlara seri olarak seyreltilen faj Listex™ P100'den 100 µl eklenerek vortekslenmiş ve faj ile bakterinin karışması sağlanmıştır. Bu işlem her bir *Listeria* türü için tekrarlanmıştır. Daha önceden hazırlanan ve içerisinde TSA bulunan petriyer üzerine bu yumuşak agar dökülmüş ve agarların katılaşmaları için petriyer 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından petriyer 30 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

İnkübasyonun ardından fajın tek tek düştüğü noktalarda bakterinin lize edilmesi sonucu oluşan çıplak gözle görülebilir sınırları belli, yuvarlak plaklar (şeffaf/berrak zonlar) sayılarak sayım sonucu PFU/ml olarak belirtilmiştir (Tunail, 2009; Soni ve Nannapaneni, 2010).

3.2.3.2. Farklı Sıcaklıklarda Listex™ P100'ün Farklı Konsantrasyonlarının *Listeria* spp. İzolatlarına Etkisinin Spektrofotometrik Yöntem İle Belirlenmesi

Tavuk işletmelerinden izole edilen 5 farklı *Listeria* türü (*L. monocytogenes*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*) üzerine Listex™ P100 fajının etkisini görebilmek için farklı sıcaklıklarda farklı faj konsantrasyonları bu izolatlarla muamele edilmiştir.

Çalışma sırasında kullanılacak olan *Listeria* türlerinin 10 ml TSB (Tryptic Soy Broth) içinde 37 °C'de 18 saat süre inkübasyona bırakılarak 10^9 kob/ml (McFarland: 1.2) hücre konsantrasyonuna ulaşmaya kadar yeniden üremeleri sağlanmıştır. Ardından bu süspansiyon 10 000 xg'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve 2 kez % 0.9 NaCl içeren çözelti ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işleminin ardından pellet % 0.9 NaCl solüsyonu ile orijinal hacime getirilmiştir. İstenen konsantrasyona ulaşmak için NaCl çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

10^{11} pob/ml konsantrasyonuna sahip Listex™ P100 bakteriyofajının 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml olmak üzere 6 farklı konsantrasyonunun etkisini

incelemek amacıyla % 0.9 NaCl solüsyonu ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

Listeria spp.'ler üzerine Listex™ P100 etkisinin spektrofotometrik yöntem aracılığıyla 600 nm'de optik yoğunluk ölçümü yapılarak belirleneceği yöntemde, seri olarak % 0.9 NaCl çözeltisi ile seyreltilmiş belirli konsantrasyondaki *Listeria spp.* hücre süspansiyonundan 2 ml hacimli her bir küvete 1,8 ml dağıtılmıştır. Küvetler 30 °C'de 30 dakika inkübatörde ve 10 °C'de 1 saat buzdolabında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, % 0.9 NaCl içeren çözeltide bulunan 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonlarındaki Listex™ P 100 fajı süspansiyonlarından bu küvetlere 0,2 ml eklenmiştir. Kontrol örneği olarak hazırlanan her bir küvete ise Listex™ P100 yerine 0,2 ml % 0.9 NaCl içeren çözeltiden eklenmiştir. Ardından tüm küvetler 600 ve 630 nm'de okutularak sonuçlar kaydedilmiştir (Soni ve Nannapaneni, 2010).

3.2.3.3. Tavuk Etine Aşıl原因 *Listeria spp.*'ler Üzerine Listex™ P100 Bakteriyofajının Etkisinin Araştırılması

Bu çalışmada marketlerden satın alınan ve *Listeria spp.* açısından temiz bulunmuş göğüs eti örneklerine Listex™ P100 fajının farklı konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır.

Çalışma sırasında kullanılacak olan *Listeria* türlerinin 10 ml TSB (Tryptic Soy Broth) içinde 37 °C'de 18 saat süre inkübasyona bırakılarak 10^9 kob/ml (McFarland: 1.2) hücre konsantrasyonuna ulaşmaya kadar yeniden üremeleri sağlanmıştır. Ardından bu süspansiyon 10 000 xg'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve 2 kez % 0.9 NaCl içeren çözelti ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işleminin ardından pellet % 0.9 NaCl solüsyonu ile orijinal hacime getirilmiştir. İstenen konsantrasyona ulaşmak için NaCl çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

10^{11} pob/ml konsantrasyonuna sahip Listex™ P100 bakteriyofajının 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml olmak üzere 6 farklı konsantrasyonunun *Listeria spp.*'ler

üzerine etkisini incelemek amacıyla % 0.9 NaCl solüsyonu ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

Analize alınan göğüs etinden aseptik koşullarda steril tartım kaplarına 10'ar gram alınmıştır. Bu örnekler steril bıçak yardımıyla 2 cm² bloklar halinde doğranmıştır. Göğüs örnekleri üzerine % 0.9 NaCl solüsyonu ile seri olarak seyreltilmiş belirli konsantrasyonda 50 µl *Listeria spp.* farklı noktalara dağıtılarak inoküle edilmiştir. *Listeria spp.*'lerin göğüs örneklerine tutunması için steril kabin (Airstream® Class II Biological Safety Cabinet, Esco Micro Pte. Ltd., Singapur) içinde 15 dakika kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutmanın ardından, aynı örnekler üzerine % 0.9 NaCl solüsyonu ile 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹ ve 10¹⁰ pob/ml olarak seri olarak seyreltilmiş Listex P100 bakteriyofajının bu konsantrasyonlarından 100 µl eklenmiştir. Kontrol örnekleri için Listex™ P100 fajı yerine 100 µl % 0.9 NaCl solüsyonu *Listeria spp.* içeren göğüs örnekleri üzerine eklenmiş ve ardından çalışılan tüm örnekler +10 °C'de 2 saat inkübe edilmiştir (Soni ve Nannapaneni, 2010).

İnkübasyon sonunda göğüs örnekleri *Listeria* sayımı için; 25 ml peptonlu su (%0.1 pepton ve %0.02 Tween 80) bulunan homojenizatör poşetlerine alınıp stomacherde (Bagmixer 400P, Interscience, Fransa) 150 saniye homojenize edilmiştir. Her bir homojenattan 2 ml hacimli eppendorf tüplerine 1 ml alınarak 12,000 xg'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üstte kalan faj içeren kısım (supernatant) uzaklaştırılıp *Listeria* hücreleri içeren dibeye çöken kısım (pellet) 1 ml peptonlu su ile sulandırılmıştır. Bu süspansiyondan 100 µl alınıp PALCAM agara ekilmiş ve inkübasyondan sonra değerlendirmeler yapılmıştır. Faj kullanılan örneklerle NaCl solüsyonu ile muamele edilmiş kontrol örneklerinde gelişen *Listeria* kolonileri sayılarak fajın etkisi değerlendirilmiştir (Soni ve Nannapaneni, 2010)

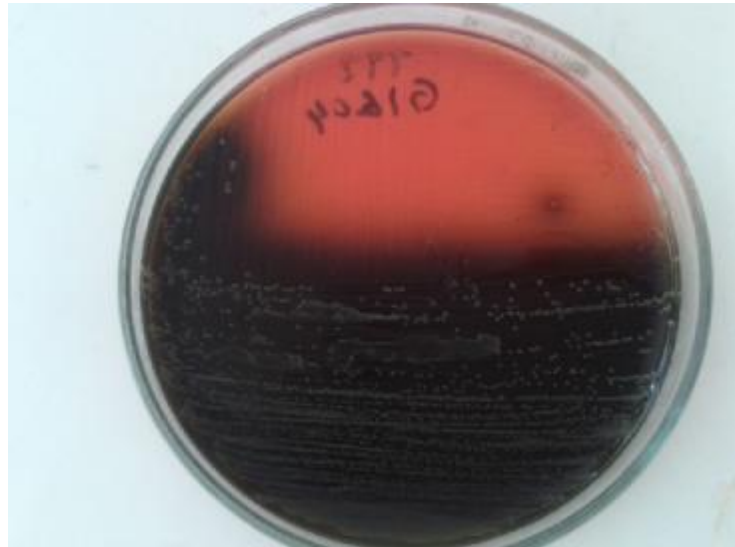
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE BULGULAR

Araştırma kapsamında 2 tekerrürlü olarak çalışılan toplam 42 adet tüm tavuk karkası, tavuk karkas parçaları, tavuk ciğeri, haşlama suyu ve yıkama suyu örnekleri kullanılmıştır. Örnekler *Listeria* türlerinin varlığı açısından incelenmiştir. *Listeria* spp. olarak belirlenen izolatlar üzerine farklı konsantrasyonlarda Listex™ P100 bakteriyofajının etkisi önce spektrofotometrik yöntemle daha sonra ise göğüs eti örneği üzerine yapılan denemeler ile belirlenmiştir.

4.1. Şüpheli *Listeria* Kolonilerinin Morfolojik Tanımlama Sonuçları

4.1.1. Şüpheli *Listeria* spp.'lerin Koloni Morfolojilerinin Sonuçları

Çalışmada, seçici katı besiyeri olarak kullanılan PALCAM Agar besiyerinde 1.5-2 mm çapında, tipik zeytin yeşili-gri renkli ve siyah zonlu *Listeria* spp. görüntüsü veren koloniler değerlendirmeye alınmıştır. PALCAM Agar'da görülen şüpheli *Listeria* spp.'ler Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. PALCAM Agar'da şüpheli *Listeria* spp. kolonilerinin görüntüsü

Bu araştırmada incelenen 42 adet örneğin 32'sinde *Listeria* spp. şüpheli koloniler izole edilmiştir. Örneklerden izole edilen şüpheli *Listeria* spp. varlığı Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Örneklerden izole edilen şüpheli *Listeria* spp. izolatlarının örneklere ve işletmelere göre dağılımı

Örnek Adı	İşletme Adı		
	A	B	C
G	+	+	+
K	+	+	+
YS	+	+	+
C	-	-	-
B	+	-	-
TT	-	+	+
HS	-	+	-

*G: Göğüs, K: Kanat, YS: Yıkama suyu, C: Ciğer, B: But, TT: Tüm tavuk, HS: Haşlama suyu

Çalışma materyallerinden göğüs, kanat ve yıkama sularında şüpheli *Listeria* spp. varlığı üç işletmede de görülmüştür. Ayrıca, A işletmesinde butta, B işletmesinde haşlama suyunda, B ve C işletmelerinde tüm tavukta şüpheli *Listeria* spp. kolonileri görülmüşken, tavuk ciğerinde üç işletmede de şüpheli *Listeria* spp. varlığı gözlenmemiştir.

4.1.2. Şüpheli *Listeria* spp.'lerin Hücre Morfolojilerinin Sonuçları

Koloni görüntüleri beklenen özelliklere sahip olan şüpheli *Listeria* spp.'lere hücre morfolojilerinin araştırılması için Gram boyama yapılmış ve yapılan gram boyama sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. A, B ve C işletmelerinden izole edilen şüpheli *Listeria* spp.'lere uygulanan Gram boyama işlemi sonuçları

Örnek No.	Gram Boyama	Örnek No.	Gram Boyama	Örnek No.	Gram Boyama
A-G-1	Gr (+) Kokobasil	B-G-2	Gr (+) Kokobasil	C-G-1	Gr (+) Kok
A-K-1	Gr (+) Kokobasil	B-B-2	Gr (+) Kokobasil	C-B-1	Gr (+) Kokobasil
A-YS-1	Gr (+) Kokobasil	B-TT-2	Gr (+) Kokobasil	C-G-2	Gr (+) Kokobasil
A-TT-1	Gr (+) Basil	B-YS-2	Gr (+) Kokobasil	C-TT-2	Gr (+) Kokobasil
A-B-2	Gr (+) Kokobasil	B-K-3	Gr (+) Kokobasil	C-YS-2	Gr (+) Basil
A-G-2	Gr (+) Kokobasil	B-G-3	Gr (+) Kokobasil	C-G-3	Gr (+) Kokobasil
A-YS-2	Gr (+) Kokobasil	B-TT-3	Gr (+) Kokobasil	C-B-4	Gr (+) Kokobasil
A-K-3	Gr (+) Kok	B-K-4	Gr (+) Kokobasil	C-G-4	Gr (+) Kokobasil
A-B-4	Gr (+) Kokobasil	B-G-4	Gr (+) Kokobasil	C-TT-4	Gr (+) Kokobasil
A-G-4	Gr (+) Kokobasil	B-HS-4	Gr (+) Basil	C-YS-4	Gr (+) Kokobasil
A-K-4	Gr (+) Kokobasil	B-YS-4	Gr (+) Kokobasil		

*G: Göğüs, K: Kanat, YS: Yıkama suyu, C: Ciğer, B: But, TT: Tüm tavuk, HS: Haşlama suyu, Gr: Gram boyama, +: pozitif

Çizelge 4.2.'de görüldüğü üzere toplam 32 şüpheli *Listeria* spp.'lere yapılan hücre morfolojisinin incelenmesi sonucunda, bu izolatlardan 27'sinin şüpheli *Listeria* spp. olduğu bulunmuştur.

Koloni ve hücre morfolojilerinin inceleme sonuçlarına göre çalışılan 3 işletmeden temin edilen tavuk ciğeri ve haşlama suyunda *Listeria* spp. tespit edilememiştir. Haşlama sularında *Listeria* bulunamamasının sebebi olarak örneklerin alındığı işletmelerde bu sulara antimikrobiyal amaçla kullanılan klordan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Aynı zamanda, çalışmamızda her 3 işletmeden de alınan haşlama sularının ortalama 45 °C'lik bir sıcaklığa sahip olduğu termometre ile belirlenmiştir. Haşlama sularında *Listeria* spp.'lere rastlanmamasının diğer bir nedeni olarak sıcaklığın bu mikroorganizmaların aktivitesini etkilemiş olabileceğidir.

Nitekim, Barbalho ve ark. (2005) Brezilya'da tavuk işletmelerinden aldıkları çeşitli örneklerde *Listeria* kontaminasyonunu inceledikleri çalışmada haşlama sularında *Listeria* spp. izole edemediklerini bildirmişlerdir. *Listeria* spp. bulunamasının sebebi olarak tavuk karkasının ön haşlama ve haşlama sularına 102 ve 156 ppm konsantrasyonunda klor ilave edilmesinden dolayı olduğunu belirtmişlerdir.

4.2. Şüpheli *Listeria* spp.'lerin Biyokimyasal Olarak Tanımlanmaları

Koloni ve morfolojik incelemeler sonucunda tespit edilen 27 şüpheli *Listeria* spp. izolatının doğrulanması amacıyla izolatlara katalaz, oksidaz, hareketlilik, üre ve indol testleri uygulanmış ve sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Şüpheli *Listeria* izolatlarına uygulanmış bazı biyokimyasal tanımlama testleri ve sonuçları

Örnek No.	Biyokimyasal Testler				
	Katalaz	Oksidaz	Hareketlilik	İndol	Üre
A-G-1	+	-	+	-	-
A-K-1	+	-	+	-	-
A-YS-1	+	-	+	-	-
A-B-2	+	-	+	-	-
A-G-2	+	-	+	-	-
A-YS-2	+	-	+	-	-
A-B-4	+	-	+	-	-
A-G-4	+	-	+	-	-
A-K-4	+	-	+	-	-
B-G-2	+	-	+	-	-
B-B-2	+	-	+	-	-
B-TT-2	+	-	+	-	-
B-YS-2	+	-	+	-	-
B-K-3	+	-	+	-	-
B-G-3	+	-	+	-	-
B-TT-3	+	-	+	-	-
B-K-4	+	-	+	-	-
B-G-4	+	-	+	-	-
B-YS-4	+	-	+	-	-
C-B-1	+	-	+	-	-
C-G-2	+	-	+	-	-
C-TT-2	+	-	+	-	-
C-G-3	+	-	+	-	-
C-B-4	+	-	+	-	-
C-G-4	+	-	+	-	-
C-TT-4	+	-	+	-	-
C-YS-4	+	-	+	-	-

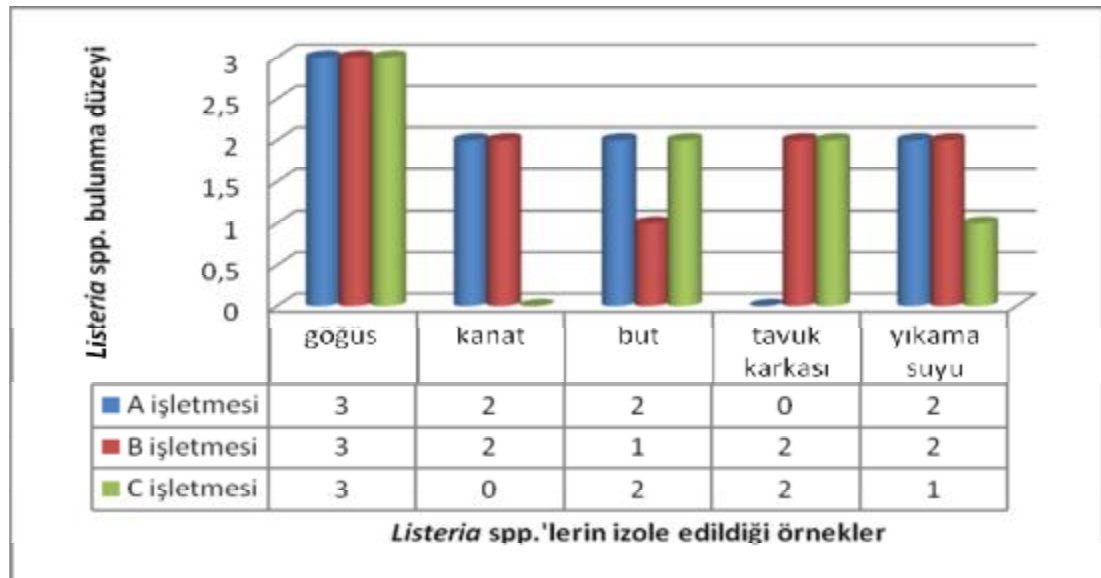
*G: Göğüs, K: Kanat, YS: Yıkama suyu, B: But, TT: Tüm tavuk,

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi incelenen 27 izolatın tamamının oksidaz pozitif, katalaz negatif, hareketlilik pozitif, indol negatif ve üre negatif oldukları görülmüş ve bunların sonucunda bu 27 izolatın *Listeria* spp. oldukları tespit edilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde 27 *Listeria* spp. izolatının 9'unun göğüsten,

4'ünün kanattan, 5'inin yıkama suyundan, 4'ünün tüm tavuk karkasından ve 5'inin but örneğinden izole edildiği gözlenmiştir.

Listeria spp. izolatlarının işletmeler bazında çalışılan örneklere göre dağılımına bakıldığında; A işletmesinde belirlenen *Listeria* spp.'lerin 3'ü göğüsten, 2'si kanattan, 2'si yıkama suyundan ve 2'si buttan izole edilmiştir. B işletmesinde ise izolatların 3'ü göğüsten, 1'i buttan, 2'si tüm tavuk karkasından, 2'si yıkama suyundan ve 2'si kanattan izole edilmişken; C işletmesinde *Listeria* spp. izolatlarının 3'ü göğüsten, 2'si tüm tavuk karkasından, 2'si buttan ve 1'i yıkama suyundan izole edilmiştir. Şekil 4.2.'de *Listeria* spp. izolatlarının işletmeler bazında çalışılan örneklere göre dağılımı verilmiştir.

Şekil 4.2. incelendiğinde her üç işletmede de çalışılan tüm örnekler içinde göğüs etlerinde *Listeria* spp. bulunma oranının daha yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2. A, B ve C işletmelerinden alınan örneklerde *Listeria* spp. bulunma düzeyi

Örneklerden *Listeria* spp. izolasyonunda kullanmış olduğumuz selektif besiyerinde her ne kadar akriflavin, nalidiksik asit gibi seçici katkıları kullanılmışsa da, koloni morfolojisi *Listeria* türlerine çok benzer olan ortamdaki refakatçi mikroorganizmalar (*Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. gibi) 42 örneğin 5'inde gelişmiş ve bu yüzden sahte pozitif sonuçların alınmasına sebep

olmuştur. Bu izolatlarla tüm tavuk karkası, kanat, göğüs, haşlama suyu ve yıkama suyunda rastlanılmış olup, 5 izolatın 3'ü *Bacillus* spp., 1'i *Enterococcus faecalis*, 1'i *Staphylococcus lentus* olarak belirlenmiştir. *Bacillus* spp.'lere yıkama ve haşlama suları ile tüm tavuk karkasında, *Enterococcus faecalis*'e kanatta, *Staphylococcus lentus*'a ise göğüste rastlanmıştır.

Nitekim, Wartburton ve ark, (2003) PALCAM Agar'da *Enterococcus* veya *Staphylococcus* suşlarının gelişebildiğini ve bu bakterilerin gri koloniler etrafında kahverengi-yeşil hâle veya sarı koloniler etrafında sarı hâle oluşturduğunu yani sahte pozitif sonuçlar verebildiğini belirtmiştir.

Koçan ve ark., 2007 yılında Oxford Agar besiyerinde *L. monocytogenes* analizi sırasında gelişen refakatçi floranın belirlendiği bir çalışmada, elde edilen 7 izolatın 4'ünün *Bacillus* spp., diğerlerinin ise *Micrococcus sedentarius*, *Micrococcus roseus* ve *Enterococcus* spp. olarak tanımlandığı bildirilmiştir. Çalışmalar sırasında; *Listeria* spp. izole edemediklerini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, Oxford Agar'ın kuvvetli bir selektiviteye sahip olmadığını ve bu nedenle refakatçi florayı yeterince baskılayamadığı için sahte pozitif sonuçlar verebileceğini söylemişlerdir.

Tekin (2010), dondurmalarda *Listeria* spp. izolasyonu ile ilgili çalışmasında kullandığı Oxford Agar ve PALCAM Agar'dan tipik *Listeria* spp. kolonisi görüntüsüne sahip plaklar elde etmiş ve bu plaklardaki kolonilere hücre morfolojileri ve uygulanan biyokimyasal testler sonucunda toplam 21 plaktaki koloniler *Listeria* spp. şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kitinde yapılan analiz sonucunda ise bu 21 plaktaki şüpheli koloninin hiç birinin, *Listeria* spp. olmadığı görülmüştür. *Listeria* spp. açısından pozitif olduğu düşünülen kolonilerin tümünün sahte pozitif sonuç vermiş olduğu bildirilmiştir.

4.3. *Listeria* spp.lerin Tür Bazında Tanımlanması

Morfolojik olarak tanımlanan ve ardından biyokimyasal testlerin uygulanması ile *Listeria* spp. olarak değerlendirilen 27 izolatın tür bazında tanımlamaların

Microbact™ *Listeria* 12L Tanımlama Kiti ve Vitek 2 Compact cihazı kullanılarak yapılmıştır.

4.3.1. *Listeria* Türlerinin Microbact™ *Listeria* 12L Kiti ile Tür Bazında Tanımlaması

Listeria spp. olarak belirlenen 27 izolatın, Oxoid marka Microbact™ *Listeria* 12L Tanımlama Kiti ile tür bazında tanımlaması yapılmıştır. 11 adet farklı şekerin fermantasyonuna bağlı olarak görülen renk değişimleri sonucunda, her bir şeker pozitif veya negatif şeklinde not edilmiştir. Kit içerisinde hazır halde bulunan deftere kaydedilen bu bilgiler doğrultusunda, her bir grup altına bu işaretlemeler toplanmış ve sayı olarak sonuç alınmıştır. Bilgisayar destekli program ile bu sayıların hangi *Listeria* türüne ait olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Çizelge 4.4'te Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kiti yapılan biyokimyasal test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Listeria* spp.'lerin Microbact™ *Listeria* 12L Kiti ile tür bazında tanımlama sonuçları

Örnek No	<i>Listeria</i> spp.	Örnek No	<i>Listeria</i> spp.	Örnek No	<i>Listeria</i> spp.
A-G-1	<i>L.innocua</i>	B-G-2	<i>L.monocytogenes</i>	C-B-1	<i>L.innocua</i>
A-K-1	<i>L.welshimeri</i>	B-B-2	<i>L.welshimeri</i>	C-G-2	<i>L.ivanovii</i>
A-YS-1	<i>L.welshimeri</i>	B-TT-2	<i>L.innocua</i>	C-TT-2	<i>L.monocytogenes</i>
A-B-2	<i>L.welshimeri</i>	B-YS-2	<i>L.welshimeri</i>	C-G-3	<i>L.welshimeri</i>
A-G-2	<i>L.innocua</i>	B-K-3	<i>L.monocytogenes</i>	C-B-4	<i>L.monocytogenes</i>
A-YS-2	<i>L.seeligeri</i>	B-G-3	<i>L.monocytogenes</i>	C-G-4	<i>L.monocytogenes</i>
A-B-4	<i>L.welshimeri</i>	B-TT-3	<i>L.innocua</i>	C-TT-4	<i>L.monocytogenes</i>
A-G-4	<i>L.ivanovii</i>	B-K-4	<i>L.monocytogenes</i>	C-YS-4	<i>L.monocytogenes</i>
A-K-4	<i>L.welshimeri</i>	B-G-4	<i>L.monocytogenes</i>		
		B-YS-4	<i>L.seeligeri</i>		

*G: Göğüs, K: Kanat, YS: Yıkama suyu, B: But, TT: Tüm tavuk

Çizelge 4.4.'te görüldüğü üzere 27 *Listeria* spp. izolatının Microbact™ *Listeria* 12L tanımlama kiti ile yapılan değerlendirme sonucunda, 10'unun *L. monocytogenes*, 5'inin *L. innocua*, 8'inin *L. welshimeri*, 2'sinin *L. seeligeri* ve 2'sinin *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir.

4.3.2. *Listeria* Türlerinin Vitek 2 Compact Sistemi ile Tür Bazında Tanımlanması

27 *Listeria* spp. izolatının Vitek 2 Compact cihazı ile de tür bazında tanımlamaları yapılmıştır. Vitek 2 Compact cihazı yapılan tanımlamalar Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. *Listeria* spp.'lerin Vitek 2 Compact cihazı ile tür bazında tanımlanması

Örnek No	<i>Listeria</i> spp.	Örnek No	<i>Listeria</i> spp.	Örnek No	<i>Listeria</i> spp.
A-G-1	<i>L.innocua</i>	B-G-2	<i>L.monocytogenes</i>	C-B-1	<i>L.innocua</i>
A-K-1	<i>L.welshimeri</i>	B-B-2	<i>L.welshimeri</i>	C-G-2	<i>L.ivanovii</i>
A-YS-1	<i>L.welshimeri</i>	B-TT-2	<i>L.innocua</i>	C-TT-2	<i>L.innocua</i>
A-B-2	<i>L.welshimeri</i>	B-YS-2	<i>L.welshimeri</i>	C-G-3	<i>L.welshimeri</i>
A-G-2	<i>L.innocua</i>	B-K-3	<i>L.monocytogenes</i>	C-B-4	<i>L.monocytogenes</i>
A-YS-2	<i>L.seeligeri</i>	B-G-3	<i>L.monocytogenes</i>	C-G-4	<i>L.monocytogenes</i>
A-B-4	<i>L.welshimeri</i>	B-TT-3	<i>L.innocua</i>	C-TT-4	<i>L.innocua</i>
A-G-4	<i>L.ivanovii</i>	B-K-4	<i>L.monocytogenes</i>	C-YS-4	<i>L.innocua</i>
A-K-4	<i>L.welshimeri</i>	B-G-4	<i>L.monocytogenes</i>		
		B-YS-4	<i>L.seeligeri</i>		

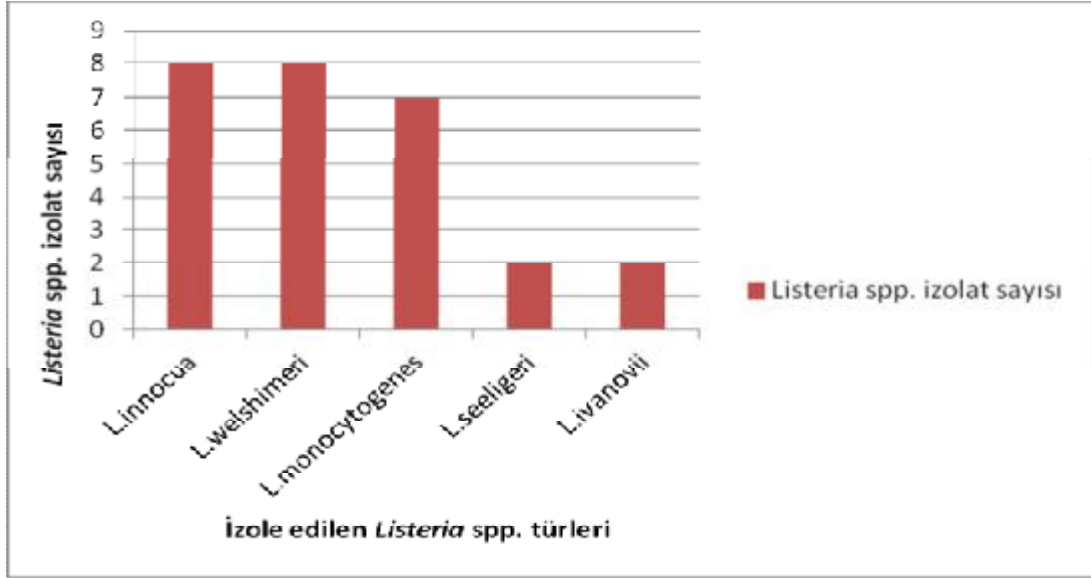
*G: Göğüs, K: Kanat, YS: Yıkama suyu, B: But, TT: Tüm tavuk

Çizelge 4.5.'te görüldüğü üzere 27 izolatın 7'si *L. monocytogenes*, 8'i *L. innocua*, 8'i *L. welshimeri*, 2'si *L. seeligeri* ve 2'si *L. ivanovii* olarak belirlenmiştir.

Microbat 12 L tanımlama kiti ile *L. monocytogenes* olarak tanımlanan 10 izolatın Vitek 2 Compact cihazı ile 3'ünün *L. innocua* olduğu görülmüştür.

Laboratuvarında yapılan daha önceki çalışmalar değerlendirildiğinde ve referans suşlarla yapılan çalışmalar sonucunda Vitek 2 cihazı ile yapılan tür bazında tanımlama sonuçları bu çalışma için değerlendirmeye alınmıştır (Var ve ark., 2012; Tekin, 2010).

Örneklerden izole edilen 27 *Listeria* spp. izolatının Vitek 2 Compact cihazı ile yapılan tür bazında tanımlama sonuçları Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Örneklerden izole edilmiş olan 27 *Listeria* spp. izolatının Vitek 2 Compact cihazı ile tür bazında tanımlama sonuçları

Şekil 4.3'ten de görüldüğü gibi toplam 27 izolatın 7'si *L. monocytogenes*, 8'i *L. innocua*, 8'i *L. welshimeri*, 2'si *L. seeligeri* ve 2'si *L. ivanovii*'dir. 27 izolatın hiç birinde *L. grayi* türüne rastlanılmamıştır.

Barbalho ve ark. (2005) Brezilya'da bulunan bir tavuk işletmesinden 37 işçinin ellerinden alınan örneklerle, 18 haşlama suyu, 66 adet tavuk karkası olmak üzere toplam 121 adet örnekte izolasyon ve tanımlama gerçekleştirmişlerdir. Örneklerin değerlendirilmesi sonucu, elde edilen 33 izolatın 28'inin *L. innocua*, 3'ünün *L. monocytogenes* ve 2'sinin de *L. grayi*' olduğunu görmüşlerdir.

Alsheik ve ark. (2014) inceledikleri 300 adet dondurulmuş tavuktan elde ettikleri *Listeria* spp. izolatlarında tür bazında değerlendirme yaptıklarında izolatların 39'unun *L. monocytogenes*, 54'ünün *L. ivanovii*, 11'inin *L. grayi*, 3'ünün *L. seeligeri* ve 4'ünün *L. welshimeri* olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda tanımlamalar sonucunda izole edilen *Listeria* türleri işletmeler bazında değerlendirildiğinde; A işletmesinden izole edilen 9 *Listeria* spp. izolatının 2'sinin *L. innocua*, 5'inin *L. welshimeri*, 1'inin *L. seeligeri* ve 1'inin *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir. B işletmesinden izole edilen 10 *Listeria* spp. izolatının 5'inin *L. monocytogenes*, 2'sinin *L. welshimeri*, 2'sinin *L. innocua* ve 1'inin *L. seeligeri* olduğu tespit edilmiştir. C işletmesinden izole edilen 8 *Listeria* izolatının ise 2'sinin

L. monocytogenes, 4'ünün *L. innocua*, 1'inin *L. welshimeri* ve 1'inin de *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir. İşletmeler bazında bakıldığında, *Listeria* spp.'nin B işletmesinde diğer işletmeler göre daha yüksek oranda bulunduğu görülmüştür.

İnsan patojeni olarak bilinen *Listeria monocytogenes* ise yalnızca B ve C işletmelerinde tespit edilmiştir. *Listeria monocytogenes* bu cins içindeki en patojenik tür olarak bilinmektedir. Ancak *Listeria* türlerinin neden oldukları hastalıklarda seyrek de olsa *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. welshimeri*'nin varlığının saptandığı bildirilmiştir. Buna göre bu türlerden A ve B işletmesinde *L. welshimeri* ve *L. seeligeri*, C işletmesinde *L. ivanovi* ve *L. seeligeri* varlığı belirlenmiştir.

A, B ve C işletmelerinden izole edilen *Listeria*'ların örneklere göre dağılımına baktığımızda, A işletmesinden izole edilen toplam 10 *Listeria* spp.'nin alınan 2 but örneğinin 2'sinde *L. welshimeri*; göğüs örneklerinin 2'sinden 1'inde *L. innocua* ve *L. ivanovii*, 1'inde *L. innocua*; kanat örneklerinin 2'sinde *L. welshimeri*; yıkama suyunun 1'inde *L. seeligeri* ve 1'inde *L. welshimeri* olarak dağılımı tespit edilmiştir.

B işletmesinden izole edilen 11 *Listeria* spp. izolatu göğüs örneklerinin 2'sinde *L. monocytogenes*, but örneklerinin 1'inde *L. welshimeri*, kanat örneklerinin 2'sinde *L. monocytogenes*, tüm tavuk karkasının 2'sinde *L. innocua* ve yıkama suyunun 1'inde *L. welshimeri* 1'inde *L. seeligeri* olarak tespit edilmiştir.

C işletmesinden elde edilen izolatlar incelendiğinde ise, toplam 8 izolattan but örneklerinin 1'inde *L. innocua* 1'inde *L. monocytogenes*, göğüs örneklerinin 1'inde *L. ivanovii* ve *L. welshimeri*, 1'inde *L. monocytogenes*; tüm tavuk karkaslarının 2'sinde *L. innocua* ve yıkama suyunun 1'inde *L. innocua* olarak belirlenmiştir.

Arslan ve ark. (1999) Elazığ ilinde bir tavuk kesimhanesinden alınan tavuk gövde kısımları (but, boyun, kanat ve göğüs) ile karkas yıkama suyu örneklerinde *Listeria* türlerinin varlığını araştırmışlardır. Çalışmalarında her birinden 20'şer adet olmak üzere toplam 100 örnekten but örneklerinin 2'sinde *L. monocytogenes*, 7'sinde *L. innocua*, 4'ünde *L. welshimeri*; kanat örneklerinin 1'inde *L. monocytogenes*, 3'ünde *L. innocua*, 5'inde *L. welshimeri*; göğüs örneklerinin 3'ünde sadece *L. innocua*; boyun örneklerinin 3'ünde *L. monocytogenes*, 2'sinde *L. innocua*; alınan

yıkama suyu örneklerinin 2'sinde *L. monocytogenes*, 5'inde *L. innocua* ve 4'ünde *L. welshimeri* saptamışlardır.

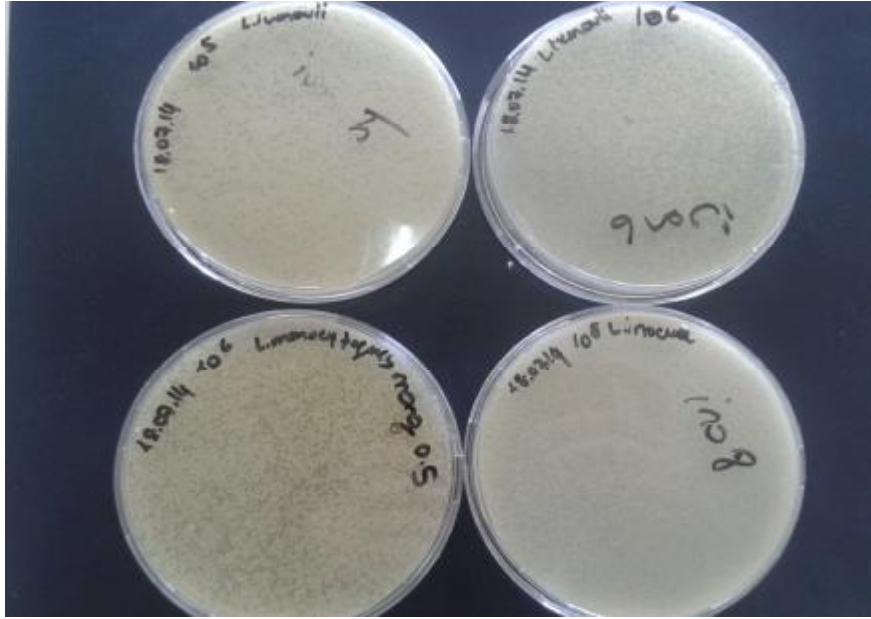
Bizim çalışmamızda *Listeria* spp. en çok göğüs etlerinden izole edilmişken, Arslan ve ark. çalışmalarında en çok but örneklerinden izolasyon gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir.

4.4. Çalışma Materyallerinden İzole Edilen *Listeria* spp. İzolatları Üzerine Listex™ P100'ün Etkisinin Değerlendirilmesi

4.4.1. Çift Tabaka Agar Metodu ile Hesaplanan Listex™ P100 Bakteriyofaj Titresi

Proje bütçesinin ve mevcut besiyerlerinin kısıtlı olması sebebiyle yalnızca 3 farklı *Listeria* spp. için çift tabaka agar metodu çalışılmıştır. Seçilen *Listeria* spp.'ler arasında *Listeria* cinsi içindeki en patojenik tür olan *Listeria monocytogenes*'in yanı sıra, *Listeria* türlerinin neden oldukları hastalıklarda seyrek de olsa varlığı saptanan *L. ivanovii* ve *L. innocua* bulunmaktadır. Yumuşak agarın kullanıldığı yöntemde, Soni ve Nannapaneni (2010)' nin çalışmalarında belirtilen %0.4 agar içeren TSB kullanıldığında agarın tam olarak donması sağlanamamıştır. Dolayısıyla daha iyi sonuç veren alt agar olarak TSA, üst agar olarak % 0.5 agar içeren TSB ile hazırlanmış yumuşak agar kullanılmıştır (Oliveira ve ark., 2012). Otoklav sonrası donmaması için yumuşak agar, 42 °C'ye ayarlı su banyosunda kullanım öncesinde bekletilmiştir. 4 ml hacimli yumuşak agara (% 0.5 agar içeren TSB) önce 150 µl *Listeria* spp.'ler ardından 100 µl 10⁵- 10¹⁰ aralığındaki farklı konsantrasyonlara seri olarak seyreltilen faj Listex™ P100'den 100 µl eklenerek vortekslenmiş ve faj ile bakterinin karışması sağlanmıştır. Bu işlem her bir *Listeria* türü için tekrarlanmıştır. Daha önceden hazırlanan ve içerisinde TSA bulunan petriler üzerine bu yumuşak agar dökülmüş ve petriler katılaşmaları için 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından petriler 30 °C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

İnkübasyonun ardından fajın tek tek düştüğü noktalarda bakterinin lize edilmesi sonucu oluşan çıplak gözle görülebilir sınırları belli, yuvarlak plaklar (şeffaf/berrak zonlar) oluşmuştur (Tunail, 2009; Soni ve Nannapaneni, 2010). Şekil 4.4'te çalışmamızda *Listeria* spp.lere ait faj plaklarının en iyi görülebildiği petriler gösterilmiştir.



Şekil 4.4. *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. innocua*'da oluşan faj plaklarının görüntüsü

Bu çalışma sonucunda, *L. monocytogenes* için 10^6 faj konsantrasyonlu petride belirgin plaklar görülmüş, 10^7 - 10^{10} aralığındaki tüm konsantrasyonlarda petriler tamamen şeffaflaşmıştır. *L. innocua*'da en belirgin plak oluşumunun ise 10^8 pob/ml faj konsantrasyonu muamelesinde gözlenmiştir. *L. ivanovii*'de ise en belirgin plak oluşumu 10^5 ve 10^6 pob/ml konsantrasyonu muamelesinde gözlenmiştir.

Al-Mola ve ark. (2010), dışkı atıklarından elde ettikleri *E.coli* fajının 10^{-1} - 10^{-9} şeklinde seri dilüsyonlarını hazırlayarak en iyi sayılabilir plakların 10^{-3} konsantrasyonunda olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmanın diğer aşamalarında denemeler bu konsantrasyon ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamız sırasında yüksek konsantrasyonda uygulanan bakteriyofajın etkili olduğunu gözlediğimiz petrinin tamamen şeffaflaştığı aynı zamanda petriler üzerinde

tipik *Listeria* kolonisinden daha büyük bazı kolonilerin var olduğu görülmüştür. Kolonilerin Gram boyama işlemine tabi tutulması sonucunda *Listeria* spp. olduğu doğrulanmıştır. Yüksek konsantrasyonda faj uygulanmasına rağmen *Listeria* spp. kolonilerine rastlanması çalışmamızda kullandığımız bu türlerin Listex™ P100 fajına dirençli olduğunu düşündürmüştür. Azizoglu ve Kathariou (2010) da çalışmalarında oluşan mutant *Listeria monocytogenes* F2365'in aerobik gelişmesinde sıcaklığa bağlı katalaz gelişimi inceledikleri çalışmalarında *Listeria* kolonilerinin daha büyük olduğunu gözlemişlerdir.

4.4.2. Farklı Sıcaklıklarda Listex™ P100'ün Farklı Konsantrasyonlarının *Listeria* spp. İzolatlarına Etkisinin Spektrofotometrik Yöntem ile Belirlenmesi

Çalışmada tavuk işletmelerinden izole edilen 5 farklı *Listeria* türüne (*L. monocytogenes*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*) farklı sıcaklıklarda farklı faj konsantrasyonlarının etkisi spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. Kullanılacak olan *Listeria* suşları 10 ml TSB (Tryptic Soy Broth) içinde 37 °C'de 18 saat süre inkübasyona bırakılmıştır. Yeniden üremeleri sağlanan suşlar, 10 000 xg'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve 2 kez % 0.9 NaCl içeren çözelti ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Yıkama işleminin ardından pellet % 0.9 NaCl solüsyonu ile orijinal hacime getirilmiştir. Her bir suş için % 0.9 NaCl çözeltisi ile dilüsyonları yapılarak yaklaşık 10⁷ kob/ml (Mcfarland 0.8)'lik hücre konsantrasyonu hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

Listex™ P100 bakteriyofajının 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹ ve 10¹⁰ pob/ml olacak şekilde % 0.9 NaCl solüsyonu ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Soni ve Nannapaneni, 2010).

Spektrofotometrik ölçüm için 10⁷ kob/ml olarak hazırlanan *Listeria* suşları süspansiyonundan her bir küvete 1.8 ml dağıtmıştır. Küvetler 30 °C'de 30 dakika inkübatörde ve 10 °C'de 1 saat buzdolabında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, 10⁵ - 10¹⁰ pob/ml aralığındaki Listex™ P100 fajı süspansiyonlarından bu

küvetlere 0.2 ml eklenmiştir. Kontrol örneği olarak hazırlanan her bir küvete ise Listex™ P100 yerine 0.2 ml % 0.9 NaCl içeren çözeltiden eklenmiştir.

10 °C’de 8 gün ve 30 °C’deki 2 günlük inkübasyonları takiben 600 nm’de ölçümler yapılmıştır. 10 °C’de inkübasyona bırakılan örneklere ait optik yoğunluk ölçüm sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. 10 °C’de inkübasyona bırakılan kontrol örnekleri ile faj muamelesinin gerçekleştirildiği *Listeria* spp.’lerin 600 nm’de optik yoğunluk ölçüm sonuçları

<i>Listeria</i> türü	Ölçüm aralığı (gün)	Kontrol	Faj Konsantrasyonları					
			10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
<i>L. monocytogenes</i>	0	0,0722	0,0724	0,0731	0,0735	0,0749	0,0756	0,0762
	2	0,0856	0,0724	0,0731	0,0735	0,0749	0,0756	0,0762
	4	0,4958	0,0747	0,0797	0,0804	0,0822	0,0875	0,0912
	8	0,5779	0,0765	0,0812	0,0835	0,0857	0,0913	0,1023
<i>L. welshimeri</i>	0	0,1233	0,1233	0,1235	0,1235	0,1236	0,1236	0,1237
	2	0,1239	0,1268	0,1262	0,1258	0,1255	0,1251	0,1248
	4	0,2308	0,1255	0,1257	0,1277	0,1269	0,1281	0,1357
	8	0,3866	0,1254	0,1262	0,1274	0,1283	0,1289	0,1398
<i>L. ivanovii</i>	0	0,1286	0,1233	0,1229	0,1254	0,1253	0,1265	0,1286
	2	0,1492	0,1321	0,1344	0,1366	0,1375	0,1387	0,1455
	4	0,3604	0,1511	0,1528	0,1543	0,1554	0,158	0,1692
	8	0,4612	0,1624	0,1642	0,1625	0,1655	0,1676	0,1786
<i>L. innocua</i>	0	0,1296	0,1228	0,1236	0,1247	0,1255	0,1269	0,1287 9
	2	0,1519	0,1325	0,1332	0,1356	0,1349	0,1365	0,1378
	4	0,1345	0,1345	0,1358	0,1375	0,1382	0,1398	0,1412
	8	0,1422	0,1422	0,1443	0,1459	0,1476	0,1482	0,1504
<i>L. seeligeri</i>	0	0,1448	0,1454	0,1453	0,1451	0,145	0,1449	0,1448
	2	0,1459	0,1542	0,1536	0,153	0,1524	0,1521	0,1516
	4	0,3428	0,1623	0,1621	0,1618	0,1614	0,1611	0,1608
	8	0,4591	0,1704	0,1725	0,1754	0,1772	0,1783	0,1792

Çizelge 4.6.'ya baktığımızda 10 °C'deki optik yoğunluk ölçümlerine göre *L. monocytogenes* hariç diğer tüm türlerde 0. günden itibaren *Listeria* gelişimi artmaya başlamıştır. 10 °C'de yapılan bu çalışmada en fazla etkinin *L.monocytogenes* üzerine olduğu belirlenmiştir. *L. monocytogenes* üzerine uygulanan en etkili faj konsantrasyonunun 10¹⁰ pob/ml olduğu gözlenmiştir. 10⁶ ve 10⁵ pob/ml konsantrasyonlarında fajın etkisinde az da olsa azalma olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.7'de 30 °C'de inkübasyona bırakılan kontrol örnekleri ile faj muamelesinin gerçekleştirildiği *Listeria* spp.'lerin 600 nm'de optik yoğunluk ölçüm sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.7. 30 °C'de inkübasyona bırakılan kontrol örnekleri ile faj muamelesinin gerçekleştirildiği *Listeria* spp.'lerin 600 nm'de optik yoğunluk ölçüm sonuçları

<i>Listeria</i> türü	Ölçüm aralığı (saat)	Kontrol	Faj Konsantrasyonları					
			10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
<i>L. monocytogenes</i>	0	0,1168	0,1216	0,1203	0,119	0,1183	0,117	0,1169
	12	0,2994	0,1216	0,1203	0,119	0,1183	0,117	0,1169
	24	0,4435	0,1216	0,1203	0,119	0,1183	0,117	0,1169
	48	0,6373	0,122	0,1212	0,1348	0,1426	0,165	0,171
<i>L.welshimeri</i>	0	0,1443	0,1455	0,1451	0,1449	0,1445	0,1445	0,1444
	12	0,1987	0,1582	0,1575	0,1569	0,1562	0,1556	0,1551
	24	0,2276	0,1601	0,1692	0,1685	0,1676	0,1668	0,1659
	48	0,3445	0,1745	0,1758	0,1765	0,1776	0,1787	0,1879
<i>L.ivanovii</i>	0	0,1427	0,1402	0,1435	0,1442	0,1472	0,1502	0,1557
	12	0,3743	0,152	0,1593	0,1593	0,1632	0,168	0,1722
	24	0,4981	0,1741	0,1765	0,1767	0,1788	0,1797	0,1934
	48	0,6753	0,1816	0,1832	0,1854	0,1886	0,1893	0,2086
<i>L.innocua</i>	0	0,1536	0,1537	0,1543	0,1556	0,158	0,1599	0,1567
	12	0,2949	0,1585	0,1592	0,1647	0,1664	0,1801	0,1825
	24	0,4306	0,1809	0,1822	0,1879	0,1882	0,1891	0,192
	48	0,5673	0,1824	0,1842	0,1885	0,189	0,1903	0,1932
<i>L.seeligeri</i>	0	0,1322	0,1322	0,1323	0,1324	0,1326	0,1327	0,1328
	12	0,2336	0,1438	0,1443	0,1452	0,1467	0,1488	0,1496
	24	0,3243	0,1521	0,1533	0,1543	0,1544	0,1565	0,1583
	48	0,3654	0,1718	0,1764	0,1787	0,1774	0,1787	0,1798

Optik yoğunluk ölçüm sonuçlarına göre kontrol örneğine göre az olsa da 0. saati takiben *L. monocytogenes* dışında tüm *Listeria* spp.'lerde gelişme gözlenmiştir. Faj konsantrasyonlarının daha çok *L. monocytogenes* üzerine etkileri görülmüş ve en etkili konsantrasyonların 10^{10} ve 10^9 pob/ml olduğu gözlenmiştir.

30°C 'deki ölçüm sonuçlarının 10°C 'de inkübasyona bırakılan örneklerin optik ölçüm sonuçlarına kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, *Listeria* spp. gelişiminin sıcaklığa bağlı olduğu belirlenmiştir. 30°C 'deki inkübasyondan hemen sonra *Listeria* gelişimi gözlenmiştir. 10°C 'de inkübasyona bırakılan örnekler ise ikinci günden sonra üremeye başlamışlardır.

Rossi ve ark. (2011), 40 adet Brezilya usulü taze domuz ve tavuk sosislerinde *Listeria monocytogenes* varlığını araştırmışlar ve ListexTM P100 fajının etkinliğini değerlendirmişlerdir. Örneklerin 4°C 'de 10 gün saklandığı çalışmada, ilk gün ve 10. günde analize alınan örnekler kontrol örneğiyle karşılaştırıldığında, her iki güne ait örneklerde bakteriyofajın *L.monocytogenes* sayısında 2,5 log kadar azalma sağladığını tespit etmişlerdir. Bakteriyofajın düşük sıcaklıklarda daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

4.4.3. Tavuk Etine Aşılana *Listeria* spp.'ler Üzerine ListexTM P100 Bakteriyofajının Etkisi

Bu çalışmada uygulanan farklı faj konsantrasyonlarının model olarak seçilen göğüs etine inoküle edilen *Listeria* spp.'ler üzerine etkisi gözlenmiştir. 5 farklı tür (*L. monocytogenes*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*) için 6 farklı ListexTM P100 faj konsantrasyon denemesi (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10}) yapılmıştır. *Listeria* spp. türleri 37°C 'de 18 saat üremeye bırakılmış, ardından 10 000 xg'de 10 dakika santrifüj edilerek 2 kez % 0.9 NaCl solüsyonu ile yıkanmıştır. Pellet % 0.9 NaCl solüsyonu ile orijinal hacime getirilmiştir. İstenen konsantrasyona ulaşmak için NaCl çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır.

Çizelge 4.8.'de 5 farklı *Listeria* spp. (*L. monocytogenes*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*) üzerine farklı konsantrasyonlarda ListexTM P100

muamalesinin sonuçları ve logaritmik azalma değerleri gösterilmiştir. 10^9 ve 10^{10} konsantrasyonlarında belirlenen sonuçlar çizelgede verilmiş olup, 10^5 , 10^6 , 10^7 ve 10^8 pob/ml Listex™ P10 faj konsantrasyonlarında *Listeria* spp. sayımı yapılamadığından çizelgede gösterilmemiştir.

Çizelge 4.8 Farklı konsantrasyonlarda Listex™ P100 fajı muamalesi sonucunda hesaplanan *Listeria* spp. sayım sonuçları

<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria</i> spp. (\log_{10} cfu/g)			<i>Listeria</i> spp. (\log_{10} cfu/g)		
	$*10^{10}$			$*10^9$		
	Kontrol örneğinde <i>Listeria</i> spp. sayımı	24. saatte <i>Listeria</i> spp. sayımı	Logaritmik Azalma	Kontrol örneğinde <i>Listeria</i> spp. sayımı	24. saatte <i>Listeria</i> spp. sayımı	Logaritmik Azalma
<i>L. ivanovii</i>	7,0	4,92	2,08	7,0	5,12	1,88
<i>L. innocua</i>	7,0	5,62	1,38	7,0	5,66	1,34
<i>L. monocytogenes</i>	8,0	5,11	2,89	8,0	5,76	2,24
<i>L. seeligeri</i>	8,0	5,96	2,04	8,0	6,15	1,85
<i>L. welshimeri</i>	7,0	5,44	1,56	7,0	6,65	0,35

*Listex™ P100 Bakteriyofaj konsantrasyonu

Göğüs eti örneğine 10^7 kob/ml konsantrasyonunda *L. ivanovii* eklendiğinde 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml faj muamalesini takiben 2 saat inkübasyon periyodunun ardından, mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Listex™ P100 fajının 10^9 pob/ml konsantrasyonunda ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda sırasıyla 1.88 ve 2.08 log kob/g oranında azalma sağladığı görülmüştür. Faj konsantrasyonu artıkça mikroorganizma yükünde azalma olduğu görülmüştür.

10^7 kob/ml konsantrasyonunda *L. welshimeri* inoküle edilen göğüs eti örneğine 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml faj konsantrasyonu ile muamele işlemi sonucunda değerlendirmeler yapılmıştır. Listex™ P 100 fajının 10^9 pob/ml konsantrasyonunda ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda 0.35 ve 1.56 log kob/g oranında azalma sağladığı görülmüştür.

Göğüs etine 10^7 kob/ml konsantrasyonunda *L. innocua* inoküle edilmiş ardından 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml faj muamalesi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon ardından yapılan değerlendirmelere göre faj Listex™ P 100 fajının 10^9

ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda sırasıyla 1.34 ve 1.38 log kob/g azalma sağladığı görülmüştür.

Göğüs eti örneği üzerine 10^8 kob/ml konsantrasyonunda *L. seeligeri* inokülasyonunu takiben 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} pob/ml faj muamesi yapılmış ve inkübasyonun ardından mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Listex™ P 100'ün 10^9 pob/ml konsantrasyonunda ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda sırasıyla 1.85 ve 2.04 log kob/g azalma sağladığı görülmüştür.

Çalışmamızda *L. monocytogenes* için 10^8 kob/ml mikroorganizma inokülasyonunu takiben eklenen Listex™ P 100'ün 10^9 pob/ml konsantrasyonunda ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonunda sırasıyla 2.24 ve 2.89 log kob/g oranında azalma sağladığı görülmüştür. Faj konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma yükünde daha fazla bir azalmanın olduğu görülmüştür.

Carlton ve ark. (2005), peynirlere 1.5×10^8 pob/ml düzeyindeki faj konsantrasyonu muamesinde *Listeria* sayısında 2-3 log'uk azalma gözlemlenmiştir. 3×10^9 pob/ml düzeyindeki yüksek faj uygulanmasında ise *L.monocytogenes* gelişimi tamamen engellenmiştir.

Silva ve ark. (2014), yumuşak peynirlere inoküle edilen *L. monocytogenes* suşları üzerine bakteriyofaj Listex™ P100 etkisini belirlemişlerdir. Bu amaçla Minas Frescal ve Coalho peynirlerine *L. monocytogenes* 10^5 kob/g oranında 1/2a and Scott A *L.monocytogenes* suşları karışımını inoküle etmişlerdir. Ardından 8.3×10^7 pob/g oranında bakteriyofaj eklenmiştir. Kontrol örneği ile karşılaştırma yapıldığında bakteriyofaj Listex™ P100'ün Minas Frescal peynirinde 2.3 log birimlik, Coalho peynirinde ise 2.1 log birimlik azalma sağladığı tespit edilmiştir. Ancak, buzdolabında saklanan örneklerde bakteriyofaj Listex™ P100'ün daha zayıf bir antilisterial etki gösterdiği belirtilmiştir.

O'Flynn ve ark. (2004), daha önce elde etmiş oldukları ile *E.coli* O157:H7'den elde ettikleri e11/2 ve e4/1c olmak üzere bu 3 bakteriyofaj kokteyli ile etlerde *E. coli* O157:H7 kontaminasyonunu azaltmak için yaptıkları çalışmada, bu kokteylin 9 örneğin 7'sinde etkili olduğunu bulmuşlardır.

Bigot ve ark. (2011) çalışmalarında koyun gaitalarından *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*'yi etkileyen ancak *L. grayi* ve *L. innocua*'yı etkilemeyen, morfolojik olarak A511 fajına benzeyen bir faj izole etmişlerdir. Satın alınan tavuk göğsü etine 10^5 kob/cm² oranında *L. monocytogenes* eklenmesinin ardından 5.2×10^7 pob/ml konsantrasyonunda faj muamelesi gerçekleştirilmiştir. 30 °C'de dilimlenmiş tavuk göğsü yüzeyinde faj kullanımını takiben patojen miktarında 2.5 log kob/cm² azalma gözlenmiştir ve bu azalmanın fajın etkili olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmamızda kullanılan tüm *Listeria* spp.'lere farklı oranlarda olmak üzere Listex™ P100 bakteriyofajının etkili olduğu görülmüştür. Listex™ P 100 bakteriyofajının en etkili olduğu tür *L. monocytogenes* iken, *L. innocua* ve *L. welshimeri*'ye daha az etkili olduğu görülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 3 farklı tavuk işletmesinden alınan toplam 42 adet örnekte çeşitli *Listeria spp.* türleri tespit edilmiştir. Şüpheli olarak izole edilen toplam 32 izolatın 27'si *Listeria spp.* olarak belirlenmiştir. İncelenen örneklerden elde edilen *Listeria spp.* pozitif sonuçlar firmalara göre değerlendirildiğinde her 3 firmada da *Listeria spp.* türleri tespit edilmiştir. Çalışılan örneklere göre değerlendirildiğinde; 27 *Listeria spp.* izolatının 9'unun göğüsten, 4'ünün kanattan, 5'inin yıkama suyundan, 4'ünün tüm tavuk karkasından ve 5'inin but örneğinden izole edildiği görülmüştür. Haşlama sularında ve ciğer örneklerinde *Listeria spp.*'ye rastlanmamıştır.

Çalışmamızda yapılan tanımlamalar sonucunda izole edilen *Listeria* türlerinin işletmelere göre dağılımına bakıldığında, A işletmesinden izole edilen 9 *Listeria spp.*'nin 2'sinin *L. innocua*, 5'inin *L. welshimeri*, 1'inin *L. seeligeri* ve 1'inin *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir. B işletmesinden izole edilen 10 *Listeria spp.*'nin 5'inin *L. monocytogenes*, 2'sinin *L. welshimeri*, 2'sinin *L. innocua* ve 1'inin *L. seeligeri* olduğu tespit edilmiştir. C işletmesinden izole edilen 8 *Listeria* türünün ise 2'sinin *L. monocytogenes*, 4'ünün *L. innocua*, 1'inin *L. welshimeri* ve 1'inin de *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre *Listeria spp.* 'lerin B işletmesinden daha fazla izole edildiği görülmüştür.

Yaptığımız bu çalışma Çukurova bölgesinde üretilen tavuk etlerinin insan sağlığı için ciddi bir tehlike oluşturan *Listeria* türleri yönünden risk altında olduğunu ve üretimde istenilen hijyenik kaliteye henüz ulaşamamış olduğunu göstermektedir. İnsan patojeni olarak bilinen *Listeria monocytogenes* yalnızca B ve C firmalarında bulunmuştur. *Listeria monocytogenes* bu cins içindeki en patojenik tür olmakla birlikte, *Listeria* türlerinin neden oldukları hastalıklarda seyrek de olsa *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. welshimeri*'nin varlığı saptanmıştır. Buna göre bu türlerden A işletmesinde *L. welshimeri* ve *L. seeligeri*, B işletmesinde *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. welshimeri*, C işletmesinde *L. ivanovi* ve *L. seeligeri* varlığı belirlenmiştir.

İşletmelerden numune alınması sırasında görsel anlamda genel hijyen değerlendirildiğinde başlangıçta A işletmesinin en temiz, B işletmesinin ise en kirli olduğu düşünülmüştür. Analiz sonuçları *Listeria spp.* açısından değerlendirildiğinde;

B firmasının yapılan ziyaretlerde de görüldüğü üzere *Listeria* açısından en kirli firma olduğu en temiz firmanın ise A değil C firması olduğu görülmüştür. Bu durum işletmelerde genel anlamda temizliğin iyi durumda olduğu görülse bile *Listeria* spp.'lerin bu durumlarda dahi bulunabileceğini göstermektedir.

Sağlıklı hayvanların etlerinin iç kısımları steril olarak kabul edilse de etler; kesim, yüzme, parçalama ve depolama sırasında kontaminasyona maruz kalmaktadır. Tavuk eti de kesimhanelerde gerek proses gerekse muhafaza sırasında; alet, ekipman, hava, yıkama suyu, ambalaj malzemesi, uygun olmayan şartlarda taşıma, depolama ve personel kaynaklı çapraz ve direkt kontaminasyonlara uğramaktadır. Tavukçuluk işletmelerinde genel hijyen ve personel hijyeni kurallarına çok dikkat edilmiyor olması, çapraz bulaşmaları engelleyici önlemlerin yeteri kadar alınmamış olması, etkenin işletmedeki varlığını koruyabilmesi ve kuvvetli dezenfektanlar kullanılarak da giderilemiyor olması nedenlerinden dolayı tavuk eti *Listeria* spp. türleri bakımından temel enfeksiyon kaynağı olma özelliğini korumaktadır. Tavuk işletmelerinde ortam sıcaklığının diğer gıda işletmelerine nazaran daha düşük sıcaklıklarda olması psikrofil özellikte olan *Listeria* spp.'lerin daha çok var olmasını sağlamaktadır.

Özellikle *L. monocytogenes*, gıda işletmelerinde yüzeylerin ve ekipmanların çoğunda kolonize olabilen bir bakteri türüdür. Üretim tesislerinde başlangıçta küçük koloniler oluşturan *Listeria monocytogenes* gelişimi engellenemediğinde her türlü dış etkene karşı kendini daha iyi koruyan biyofilm olarak adlandırılan daha büyük ve düzenli olarak kolonileşme meydana getirir. Dolayısıyla üretim prosesinde uzun süre boyunca gelişimlerini sürdürebilir. *L.monocytogenes* biyo filmleri yapısal olarak daha basit olup 24 saat içinde gelişebilir. Oluşumu tamamlayan bu bakteriler antimikrobiyal ajanlara, UV ışığa ve sanitasyon işlemlerine karşı çok daha dayanıklı olup mücadele işlemlerini güçleştirmektedirler.

L. monocytogenes'in paslanmaz çelik, polimer, plastik conta gibi pek çok yüzeye tutunup bu yüzeylerde biyofilm oluşturabildiği pek çok çalışma ile bildirilmiştir. Ayrıca, bu patojenin çiğ ve işlenmiş materyallere direk ya da farklı yollar aracılığıyla bulaşması gıda işletmelerinde aylarca hatta yıllarca varlıklarını sürdürebilmelerine sebep olmaktadır.

Tavuk işletmelerinde görülen *Listeria* problemine karşı çeşitli hijyen uygulamaları mevcut olup, bunlar içerisinde son yıllarda çalışmamızda da kullanmış olduğumuz bakteriyofajlar ön plana çıkmaktadır. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz Listex™ P100 fajının, incelenen 3 işletmeden izole etmiş olduğumuz çeşitli *Listeria* spp.ler (*Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri*, *Listeria seeligeri* ve *Listeria ivanovii*) üzerine etkileri farklı şekillerde görülmüştür.

Göğüs etini model olarak kullandığımız bu çalışmamızda, örneğimize 10^7 kob/ml konsantrasyonlarında *L.ivanovii*, *L. welshimeri* ve *L. innocua* inokülasyonlarını takiben eklenen Listex™ P100 fajı, 10^9 pob/ml ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonlarında sırasıyla *L.ivanovii* için 1.88 ve 2.08 log kob/g; *L. welshimeri* için 0.35 ve 1.56 log kob/g *L. innocua* için 1,34 ve 1,38 log kob/g azalma sağladığı görülmüştür.

10^8 kob/ml konsantrasyonlarında inoküle edilen *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri*'nin inoküle edildiği göğüs eti örneği üzerine eklenen Listex™ P 100'ün 10^9 pob/ml ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonlarının sırasıyla *L. monocytogenes* yükünde 2,24 ve 2,89 log kob/g ve *L. seeligeri* yükünde ise 1,85 ve 2,04 log kob/g azalma sağladığı tespit edilmiştir.

10^5 , 10^6 , 10^7 ve 10^8 kob/ml konsantrasyonlarında faj ilavesinin yapıldığı örneklerde yoğun *Listeria* spp. üremesine bağlı olarak sayım yapılamadığından bu konsantrasyonlarda etkisiz olduğu düşünülmüştür. Faj konsantrasyonu artıkça mikroorganizma yükünde azalma olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda izole edilen tüm *Listeria* spp.'lere Listex™ P100 bakteriyofajının etkisi 10^9 pob/ml ve 10^{10} pob/ml konsantrasyonlarında etkili olduğu görülmüştür. Listex™ P100 bakteriyofajının en etkili olduğu tür *L. monocytogenes* iken, *L. innocua* ve *L. welshimeri*'ye daha az etkili olduğu belirlenmiştir.

Carlton ve ark. (2005), peynirlere 1.5×10^8 pob/ml düzeyindeki faj konsantrasyonu muamalesinde *Listeria* sayısında 2-3 log'uk azalma gözlemlenmişlerdir. 3×10^9 pob/ml düzeyindeki yüksek faj uygulanmasında ise *L.monocytogenes* varlığı tamamen engellenmiştir.

Bakteriyofajların yüksek spesifikliği, sadece hedef mikroorganizma üzerinde etkili olması, insanda yüksek oranda alımının bile zararlı etkisinin bulunmaması

bakteriyofajların gıda kaynaklı patojenlerin gelişimini minimuma indirme sürecinde antimikrobiyal olarak kullanımını önemli hale getirmektedir.

Bu çalışma, tavuk işletmelerinden ve o işletmelerdeki tavuk etlerinden izole edilmiş olan *Listeria* spp.'ler üzerine Listex™ P100 fajının belli oranda etkisi olduğunu göstermiştir. İzole edilen *Listeria* türlerinin serotiplendirme çalışmaları ile ileri tetkiklerinin yapılması ve Listex™ P100 fajının en etkili olduğu serotipin belirlenmesi daha sonraki yapılacak çalışmalarla araştırılması *Listeria* spp. ile mücadeleyi daha etkili kılacaktır.

Bunun yanı sıra, *Listeria* türlerinin biyofilm yapabilme özellikleri nedeniyle bu işletmelerden biyofilm izolasyonlarının yapılıp Listex™ P100 fajının bu biyofilmler üzerine etkilerinin de incelenmesi faj Listex™ P100'ün biyofilmlerle mücadelede etkili olup olmayacağını gösterecektir.

Bu çalışmadan elde etmiş olduğumuz sonuçların çalışılan işletmelerle birlikte Çukurova bölgesinde faaliyet gösteren diğer tavukçuluk işletmeleriyle de paylaşılması ve gerekli uyarıların yapılması yetersiz hijyen koşulları sebebiyle sıklıkla bulunabilecek *Listeria* spp. probleminin çözülmesi veya sorunun hafifletilmesi açısından önem arz etmektedir.

Şu anda kullanılmakta olan sanitasyon yöntemlerinin yanı sıra bakteriyofaj Listex™ P100'ün de bu amaçla kullanılabilmesinin bilgisi işletmelerle paylaşılacaktır.

KAYNAKLAR

- ACKERMANN, H.W., 2011. Bacteriophage taxonomy. Microbiology Australia, Mayıs 2011, s.90-94.
- ALKIN, E., BAŞOĞLU, F., 2005. Kanatlı etlerin iyonize radyasyonla muhafazası. GIDA, 30 (5): 323-328.
- ALLERBERGER F., 2003. *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. FEMS Immunology and Medical Microbiology 35: 183-189.
- AL-MOLA G.A., YASSARI I.H., 2010. Characterization of E.coli phage isolated from sewage. AL-Qadisiya Journal of Vet. Med. Sci. Vol:9, No:2.
- ALSHEIKH A.D.I., G. E. MOHAMMED G.E., M. A. ABDALLA M.A., A. O. BAKHIET A.O., 2014. First Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* Isolated from Frozen and Shock Frozen Dressed Broiler Chicken in Sudan. British Microbiology Research Journal, 4(1): 28-38.
- ALSHEIKH, A.D.I., MOHAMMED G.E., ABDALLA M.A., 2013. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Retail Broiler Chicken Ready to Eat Meat Products in Sudan. International Journal of Animal and Veterinary Advances 5(1): 9-14.
- ANONYMOUS, 2014-a. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Listeriosis>
- ANONYMOUS, 2014-c. <http://www.micreosfoodsafety.com/en/listex-meat.aspx>.
- ANONYMOUS,2014-b.<http://www.ozonoks.com.tr/et-ve-balikta-ozon-uygulamalari>.
- ANONYMUS, 2014-d. <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210013601.pdf>
- ANONYMUS, 2014-e. <http://www.nfia.com/fft/200912/article4.php>
- ANONYMUS, 2014-f. http://www.intralytix.com/Intral_Products_ListShield.htm
- ANONYMUS, 2014-g. Product information, Iodine-Potassium iodide - Solution. https://www.applichem.com/fileadmin/produktinfo/a3505_de.pdf
- ANONYMUS, 2014-h. <http://www.mikrobiyoloji.org>

- ARSLAN, A., GÖNÜLALAN, Z., DİNÇOĞLU, A. H., KÖK, F., 1999. Tavuk karkas kısımları ve karkas yıkama sularında *Listeria* türlerinin incelenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23 (2):305-308.
- AZIZOĞLU R.A., KATHARIOU S., 2010. Temperature-Dependent Requirement for Catalase in Aerobic Growth of *Listeria monocytogenes* F2365. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 76, No. 21, p. 6998–7003.
- BARBALHO T.C.F., ALMEIDA P.F., ALMEIDA R.C.C., HOFER E., 2005. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. Food Control 16: 211-216.
- BEVERLY, R.L., 2004. The Control, Survival, and Growth of *Listeria monocytogenes* on Food Products. Doktora Tezi, Louisiana State Üniversitesi, Gıda Bilimi Fakültesi, USA, 126s.
- BIGOT, B., LEE, W.-J., MCINTYRE L., WILSON T., HUDSON J.A., BILLIGTON C., HEINEMANN J.A., 2011. Control of *Listeria monocytogenes* growth in a ready-to-eat poultry product using a bacteriophage. Food Microbiology 28: 1448-1452.
- BROWN, T.A., 1997. Gene cloning: an introduction. Published by Chapman&Hall, London, UK, 334s.
- CAPITA, R., ALONSO-CALLEJA, C., MEREGHETTI, L., DEL CAMINO GARCIA FERNANDEZ, M., 2002. Evaluation of the international phage typing set and some experimental phages for typing of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2002.01503.x/full> (Erişim tarihi: 28 Mart 2011).
- CARLTON, R.M., NOORDMAN W.H., B. BISWAS, DE MEESTER E.D., LOESSNER M.J., 2005. Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. Regulatory Toxicology and Pharmacology 43 (2005) 301–312.
- CHHIBBER, S., KUMARI S., 2012. Bacteriophages: Application of Therapeutic Phages in Medicine, Bacteriophages, Dr. Ipek Kurtboke (Ed.), s.139-158.

- CHIARINI E., TYLER K., FARBER J.M., PAGOTTO F., DESTRO M.T., 2009. *Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities: Manual and automatic evisceration. *Poultry Science*, 88 :791–797.
- CHIBEU A., 2013. Bacteriophages in food safety. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* (A. Méndez-Vilas, Ed.), Formatex Araştırma Merkezi, İspanya, s: 1041-1052.
- CHIBEU A., AGIUS L., SABOUR P.M., KROPINSKI A.M., S. BALAMURUGAN S., 2013. Efficacy of bacteriophage LISTEX™P100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked turkey and roast beef. *International Journal of Food Microbiology*, 167: 208–214.
- CRAPO, C., HIMELBLOOM, B., VITT, S., PEDERSEN, L., 2004. Ozone efficacy as a bactericide in seafood processing. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13 (1):111-123.
- DONNELLY, C.W., 2001. *Listeria monocytogenes*. In: *Guide to Foodborne Pathogens*, R. G. Labbé and S. Garcia (edt). John Wiley & Sons Şirketi, New York, s: 99-132.
- DURUPINAR, B., 2005. Bakteriyofajlar antibiyotiklerin yerine kullanılabilir mi?. *Klinik Dergisi*, 18 (Özel sayı): 80-81.
- DUTTA V., 2007. The Effects of Stress on Respiratory Disease and Resulting Colonization of Turkeys with *Listeria monocytogenes* Scott A. Arkansas Üniversitesi, University of Arkansas, ProQuest, 82s.
- EKİCİ, K., İŞLEYİCİ, Ö., SAĞUN, E., 2004. Süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15 (1-2): 97-101.
- EL-MALEK, A. M. A., ALİ, S. F. H., HASSANEIN, R., MOEMEN, A. M. , ELSAYH, K. I., 2010. Occurrence of *Listeria* species in meat, chicken products and human stools in Assiut city, Egypt with PCR use for rapid identification of *Listeria monocytogenes*. *Veterinary World*, 3 (8): 353-359.
- ENDERSEN L., O'MAHONY J., HILL C., ROSS R.P., MCAULIFFE O., COFFEY A., 2014. Phage Therapy in the Food Industry. *Annual Review of Food Science and Technology*, Volume 5(2014): 327-349.

- ERGELDİ, S., 2010. Tavuk Etinde Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, 85s.
- EROL, İ., ŞİRELİ, U. T., GÜNDEŞ, B., 1999. Piliç parça et ve iç organlarında *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 46:179-188.
- FARBER J.M., PETERKIN P.I., 1991. *Listeria monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen. Microbiological Reviews, Sept. 1991, p. 476-511.
- FDA, 1998. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A. (Erişim tarihi: 12.07.2014).
- FDA, 2005. Intralytix GRAS Notice Review. Department Of Health & Human Services. (Erişim tarihi: 12.07.2014).
- GAMBARIN P., MAGNABOSCO C., LOSIO M.N., PAVONI E., GATTUSO A., ARCANGELI G., FAVRETTI M. 2012. *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Seafood and Potential Hazards for the Consumers, research Article. International Journal of Microbiology, Vol. 2012: 10.
- GOODE, D., ALLEN V.M., BARROW P.A., 2003. Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophages. Appl Environ Microbiol 69, 5032-5036
- GOODRIDGE, L.D., BISHA B., 2011. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods. Bacteriophage, 1 (3): 130-137
- GREER, G. G., 2005. Bacteriophage control of foodborn bacteria. Journal of Food Protection, 68 (5): 1102-1111.
- GUENTHER, S., HUWYLER, D., RICHARD, S., LOESSNER, M. J., 2009. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Applied And Environmental Microbiology, 75 (1): 93-100.
- GUTTMAN, B., RAYA R., KUTTER, E., 2005. Basic Phage Biology. Bacteriophages: Biology and Applications. Elizabeth Kutter, Alexander Sulakvelidze (Edt). CRC Press, ABD, s.28-66.

- HAGENS, S., LOESSNER, M. J., 2010. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11: 58-68.
- HERNANDEZ D.R., LAZARO M., 2014. Detection by Classical Cultural Techniques. (Edt. Carl A.Batt, Mary-Lou Tortorello). *Encyclopedia of Food Microbiology*, Academic Press, Second Edition, İngiltere, s.470-476.
- HIGGINS, J. P., HIGGINS, S. E., GUENTHER, K. L., HUFF, W., DONOGHUE, A. M., DONOGHUE, D. J., HARGIS, B. M., 2005. Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products. *Poultry Science*, 84: 1141–1145.
- HOLCK A., BERG J., 2009. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Cooked Ham by Virulent Bacteriophages and Protective Cultures. *Applied and environmental Microbiology*, 75 (21): 6944-6946.
- HUNGARO, H.M., MENDONÇA R.C.S., GOUVÊA D.M., VANETTI M.C.D., PINTO C.L.O., 2013. Use of bacteriophages to reduce *Salmonella* in chicken skin in comparison with chemical agents. *Food Research International* 52: 75–81.
- INDRAWATTANA N., NIBADDHASOBON T., SOOKRUNG N., CHONGSANGUAN M., TUNGTRONGCHITR A., MAKINO S., TUNGYONG W. , CHAICUMPA W., 2011. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Raw Meats Marketed in Bangkok and Characterization Isolates by Phenotypic and Molecular Methods. *J Health Popul. Nutr.*, 29 (1): 26-38.
- IZQUIERDO V.Y.M., VÁZQUEZ D.I.S., JEREZ J.J.R., 2012. Use of epifluorescence microscopy to assess the effectiveness of phage P100 in controlling *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel surfaces. *Food Control* 23: 470-477.
- KEARY, R., MCAULIFFE O., ROSS R.P., HILL C., O'MAHONY J., A. COFFEY A., 2013. Bacteriophages and their endolysins for control of pathogenic bacteria. (A. Méndez-Vilas, Ed.). *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, Formatex Araştırma Merkezi, İspanya, s.1028-1040.

- KIM J.W., 2008. Temperature-Dependent Phage Resistance in *Listeria monocytogenes* Epidemic Clone II Strains. Kuzey Karolina Devlet Üniversitesi, Gıda Bilimi Fakültesi, Doktora Tezi, 175 s.
- KOÇAN, D., 2007. *Listeria monocytogenes*' in belirlenmesinde minimum inhibisyon konsantrasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı-Doktora Tezi., 177s.
- LAKICEVIC B., STJEPANOVIC A., MLIJASEVIC A., VIDOJEVIC A.T., GLOIC N., TOPISIROVIC L., 2010. The presence of *Listeria* spp. *Listeria monocytogenes* in a chosen food processing establishment in Serbia. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 62 (4): 881-887.
- LEVERENTZ B., CONWAY W.S., JANISIEWICZ W., CAMP M.J., 2004. Optimizing Concentration and Timing of a Phage Spray Application To Reduce *Listeria monocytogenes* on Honeydew Melon Tissue. Journal of Food Protection, Vol. 67, No. 8, 2004, s.1682–1686.
- LIU D., 2006. Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. Journal of Medical Microbiology, 55, s.645–659.
- MAHMOOD M.S., AHMED, A.N., HUSSEIN, I., 2003. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Poultry Meat Products and Other Related Inanimates at Faisalabad. Pakistan Journal of Nutrition 2, (6): 346-349.
- McNERNEY R., 1999. TB: the return of the phage. A review of fifty years of mycobacteriophage research. International Journal of Tuberculosis Lung Disease, 3(3): 179–184.
- MILIOS K., DROSINOS E.H., ZOIPOULOS P.E., 2014. Carcass Decontamination Methods in Slaughterhouses: A Review. J HELLENIC VET MED SOC 2014, 65(2): 65-78.
- O'FLYNN, G., ROSS, R.P., FITZGERALD G.F., COFFEY A., 2004. Evaluation of a Cocktail of Three Bacteriophages for Biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. Applied and Environmental Microbiology, June 2004, s. 3417–3424.

- OLIVEIRA I.C.; ALMEIDA, R.C.C.; HOFER, E.; ALMEIDA, P.F., 2012. Bacteriophage Amplification Assay For Detection Of *Listeria* spp. Using Virucidal Laser Treatment. *Brazilian Journal of Microbiology* (2012): 1128-1136.
- OOVERMANN A., ZURBRIGGEN A., VANDEVELDE M., 2010. Rhombencephalitis Caused by *Listeria monocytogenes* in Humans and Ruminants: A Zoonosis on the Rise? *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, Volume 2010, 22s.
- ORAL, N., GÜLMEZ, M., 2006. Gıda kaynaklı patojenler için kesim öncesi dekontaminasyon uygulamaları. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 12 (1): 77-84.
- ÖZMEN, G., KILIÇ, H., 2006. Gemlik Garnizonunda tüketime sunulan kanatlı etlerinde *Listeria* spp. izolasyonu. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*, 15 (3): 194-197.
- PAOLI G.C., BHUNIA A.K., BAYLES D.O., 2005. *Listeria monocytogenes*. p.295-325. Kitap editörleri: Pina M. Fratamico, Arun K. Bhunia, James L. Smith, 2005. *Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology*, Horizon Scientific Press, 453s.
- PECCIO, A.,AUTIO, T., KORKEALA, H., ROSMINI, R., TREVISANI, M., 2003. *Listeria monocytogenes* occurrence and characterization in meat-producing plants. *Letters in Applied Microbiology*, 37: 234-238.
- PEIRIS, W.I.P., 2005. *Listeria monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen. *İsveç Tarım Bilimleri Üniversitesi, Veteriner ve Hayvan Bilimleri Fakültesi, Gıda Kaynaklı patojenler Bölümü*, 46s.
- RAHMAT, G. R., IBRAHIM, A., ABU BAKAR, F., 1991. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Retail Beef and Poultry. *PERTANIKA*, 14 (3): 249-255.
- ROCOURT, J., BUCHRIESER C., 2007. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic Position, Taxonomy and Identification. Edt: Elliot T. Ryser, Elmer H. Marth. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, 3.Edisyon, CRC Press, ABD, 874s.

- RORVIK L.M., AASE B., ALVESTAD T., CAUGANT D.D., 2003. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 633-640.
- ROSSI, L.P.R., ALMEIDA R.C.C., LOPES L.S., FIGUEIREDO A.C.L., RAMOS M.P.P., ALMEIDA P.F., 2011. Occurrence of *Listeria* spp. in Brazilian fresh sausage and control of *Listeria monocytogenes* using bacteriophage P100. *Food Control*, 22: 954-958.
- SAKARIDIS I., SOULTOS N., BATZIOS C, AMBROSIADIS I., KOIDIS P., 2014. Lactic Acid Bacteria Isolated from Chicken Carcasses with Inhibitory Activity Against *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. *Czech J. Food Sci.* Vol.32, 2014, No.1: 61-68.
- SANTOS S.B., CARVALHO C.M., SILLANKORVA S., NICOLAU A., FERREIRA E.C., AZEREDO J., 2009. The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double-layer agar technique. *BMC Microbiology*, Inglaterra, 10s.
- SILLANKORVA S.M., OLIVEIRA H., AZEREDO J., 2012. Bacteriophages and Their Role in Food Safety. *International Journal of Microbiology* Volume 2012, 13s.
- SILVA, E.N.G., FIGUEIREDO A.C.L., MIRANDA F.A., ALMEIDA, R.C.C., 2014. Control of *Listeria monocytogenes* growth in soft cheeses by bacteriophage P100. *Brazilian Journal of Microbiology* 45, 1, s.11-16.
- SONI, K. A., NANNAPANENI, R., 2010. Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillet tissue. *Journal of Food Protection*, Vol. 73 (1) : 32–38.
- SONI, K. A., NANNAPANENI, R., HAGENS, S., 2009. Reduction of *Listeria monocytogenes* on the surface of fresh channel catfish fillets by bacteriophage LISTEX™ P100. *Foodborne Pathogens and Disease*, Volume 00, Number 00, 2009.
- SOULTOS N., KOIDIS P., MADDER R.H., 2003. Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. *Letters in Applied Microbiology*, 37: 421-423.

- TARHAN, H., YİĞİT, A., YÜKSEL, Y., ERYALÇIN, Y., 2007. Bakteriyofajlar ve Kullanım Alanları (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Işıl VAR). Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mezuniyet Çalışması, Adana, 19s.
- TEKİN, A., 2010. Dondurmalardan *Listeria* spp.' lerin İzolasyonu ve Tanımlaması Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 57s.
- TEMİZ, A., Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yayınları, 3. edisyon, Ankara, 291s.
- TUNAİL, N. 2009. Mikrobiyoloji. Pelin Ofset, Ankara, 448s.
- TUNAİL, N., 2000. "*Listeria monocytogenes*", <http://www.orlab.net/mikrobiyoloji/210010306.pdf> (Erişim tarihi: 21 Haziran 2014).
- VAR, I., ZORLUGENÇ, B., BAKIR, Y., BEKMEZ, M., DEMİREL, H., URLU, E., ÜZER, M., 2012. Adana'da Satışa Sunulan Tavuk Etlerinde *Listeria* spp. Varlığının Araştırılması. 7.Gıda Mühendisliği Kongresi, Konya.
- VIAZIS S., AKHTAR M., FEIRTAG J., GONZALEZ FD., 2011. Reduction of *Escherichia coli* O157H:7 viability on hard surfaces by treatment with a bacteriophage mixture. International Journal of Food Microbiology, 145: 37–42.
- VIPRA, A., DESAI S.N., JUNJAPPA, R.P., ROY P., POONACHA, N., RAVINDER, P., SRIRAM, B., PADMANABHAN S., 2013. Determining the Minimum Inhibitory Concentration of Bacteriophages: Potential Advantages. Advances in Microbiology, 2013, 3, s.181-190.
- WALKER K., 2006. Use of Bacteriophages as Novel Food Additives. Food Regulation in the United States, Federal Register, 71: 10 .
- WARTBURTON, D., BOVILLE, A., PAGOTTO, F., DALEY, E. and CHOW, C., 2003. The detection of *Listeria* spp. In foods and environmental samples using PALCAM Broth. Government of Canada health products and food branch Ottawa. HPB Method. 11s.

- YAVUZ M., KORUKLUOĞLU M., 2010. *Listeria monocytogenes*'in Gıdalardaki Önemi ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 2010, Cilt 24, Sayı 1, s.1-10.
- ZHOU X., JIAO X., 2006. Prevalence and lineages of *Listeria monocytogenes* in Chinese food products. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254.

ÖZGEÇMİŞ

27/02/1988 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2007 yılında başladığı Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2011 yılında mezun oldu ve aynı yıl Gıda Mühendisliği Anabilimdalı'nda yüksek lisansa başladı. 2012 yılında TCERT Uluslararası Serifikasyon Şirketi'nde Kalite Yönetim Sistemleri Denetçisi olarak başladığı pozisyonda yaklaşık 1.5 yıl çalıştı. 2013 yılından beri Alltech Biotechnology isimli Amerika merkezli bir yem fabrikasında Kalite Güvence Mühendisi olarak çalışmaktadır.