



EREN GÖZÜTOK

**KARADENİZ KAYNAKLI BALIKLARIDAN İZOLE EDİLEN *LISTERIA*
MONOCYTOGENES SUSLARININ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**İSTANBUL
2019**



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZİ

KARADENİZ KAYNAKLI BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN *LISTERIA*
MONOCYTOGENES SUŞLARININ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

EREN GÖZÜTOK

DANIŞMAN
PROF. DR. ALI AYDIN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ PROGRAMI

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

Bu çalışma 13.05.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Doktora Programı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ



Prof. Dr. Ali AYDIN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi



Prof. Dr. Nuri TURAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi



Prof. Dr. Harun AKSU
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi



Prof. Dr. Kamil BOSTAN
İstanbul Aydın Üniversitesi
Güzel Sanatlar Fakültesi



Prof. Dr. Candan VARLIK
İstanbul Aydın Üniversitesi
Güzel Sanatlar Fakültesi

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Eren GÖZÜTOK



İTHAF

Her zaman yanımda olan annem Zennure GÖZÜTOK, babam Halim GÖZÜTOK ve kardeşim Binnur GÖZÜTOK RAYLAZ'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Benim danışmanlığımı kabul eden ve doktora sürecimde bana her zaman yardımcı olan hocam Prof. Dr. Ali AYDIN'a, bana destek olan hocam Uzman Mert SUDAĞIDAN'a, bu süreçte her sıkıntıya düştüğümde bana çözüm yolunu gösteren Dr. Ayşen ÇOBAN'a, doktora yaptığım süreç zarfında bana yardımcı olan Müdürüm Veteriner Hekim Sabri İrfan SOYSAL'a, Veteriner Hekim Celal CEBECİ'ye ve Balıkçılık ve Su Ürünleri Şubesi'nde çalışan arkadaşlarıma, ayrıca emeği geçen tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 56827

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Balık eti.....	3
2.2. Balık etinin halk sağlığı açısından önemi	3
2.3. Balık etinin özellikleri.....	4
2.4. <i>Listeria monocytogenes</i> 'in tarihçesi	5
2.5. <i>L. monocytogenes</i> 'in genel özellikleri	5
2.6. <i>L. monocytogenes</i> ' in genetik özellikleri	6
2.7. <i>L. monocytogenes</i> 'in serogruplandırılması.....	6
2.8. <i>L. monocytogenes</i> 'in virülens mekanizması	6
2.9. Listeriozis.....	10
2.10. Çevrede <i>L. monocytogenes</i> varlığı.....	11
2.11. Sularda <i>L. monocytogenes</i> varlığı.....	13
2.12. Balıklarda <i>L. monocytogenes</i> varlığı.....	14
2.13. Antibiyotik direnç sorunları	17
2.14. <i>L. monocytogenes</i> suşlarının filogenetik ilişkisinin PFGE ile tespiti	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Kullanılan Besiyerleri	21
3.1.1. Fraser Broth (Oxoid CM 895).....	21
3.1.2. Half Fraser (Oxoid CM 895, Oxoid SR 0166E)	21

3.1.2.1. Half Fraser Supplement (Oxoid SR 0166E).....	21
3.1.2.2. Fraser Supplement (Oxoid SR 0156)	22
3.1.3. ALOA Agar (Oxoid CM 1084).....	22
3.1.3.1. Brilliance™ <i>Listeria</i> Differential Supplement (Oxoid SR 0228E).....	23
3.1.3.2. OCLA (ISO) Selective Supplement (Oxoid SR 0226E)	23
3.1.4. Tryptone Soya Agar (Oxoid CM 131)	23
3.1.5. Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 129).....	24
3.1.6. Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM 0337).....	24
3.1.7. Brain Heart Infusion Agar (Sigma-Aldrich, 70138)	25
3.1.8. Moleküler analizlerde kullanılan solüsyonlar	25
3.1.9. Kullanılan alet ve ekipmanlar	26
3.2. GEREÇ	27
3.2.1. Numune alımı.....	27
3.2.2. Mikrobiyolojik ekim ve klasik kültürel izolasyon	27
3.2.3. Biyokimyasal testler.....	28
3.2.3.1. Gram boyama	29
3.2.3.2. Katalaz testi.....	30
3.2.3.3. Oksidaz testi	30
3.2.4. CAMP testi.....	30
3.2.5. Kültürel yöntemle <i>L. monocytogenes</i> olarak tanımlanan suşların PCR ile Doğrulanması	31
3.2.5.1. Genomik DNA ekstraksiyonu	31
3.2.5.2. PCR Analizleri	32
3.2.5.3. <i>L. monocytogenes</i> olarak tanımlanan suşların doğrulanması.....	32
3.2.5.4. <i>L. monocytogenes</i> suşlarının sero gruplandırılması	32
3.2.5.5. PCR analizleri ile virülens ve patojenite genlerinin tespiti	33
3.2.5.6. <i>L. monocytogenes</i> 'e özgü çeşitli virülens genlerin saptanması.....	33
3.2.5.7. <i>L. monocytogenes</i> 'in diğer patojenite genlerinin saptanması	34
3.2.6. Antibiyotik duyarlılık tespiti	36
3.2.7. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerlerinin saptanması	36
3.2.8. PFGE.....	37
4. BULGULAR.....	38

4.1. Klasik kültürel analiz sonuçlarına ait bulgular	38
4.2. <i>L. monocytogenes</i> olarak tanımlanan suşun PCR ile verifikasyonuna ait bulgular	38
4.2.1. <i>L. monocytogenes</i> suşunun PCR ile serotiplendirilmesine ait bulgular	39
4.2.2. <i>L. monocytogenes</i> 'e özgü çeşitli virülens genlerin PCR ile saptanmasına ait bulgular	42
4.2.3. <i>L. monocytogenes</i> 'in diğer patojenite genlerinin saptanmasına ait bulgular	46
4.3. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına ait bulgular	49
4.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerlerinin saptanmasına ait bulgular	50
4.5. PFGE sonuçlarına ait bulgular	50
5. TARTIŞMA	51
KAYNAKLAR	60
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	90
ÖZGEÇMİŞ	91

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Farklı balık türlerinde <i>L. monocytogenes</i> prevalansı	16
Tablo 3-1 : 2013 yılı Aralık ayında temin edilen numune listesi	19
Tablo 3-2 : 2014 yılı Ocak-Mayıs ayları arasında temin edilen numune listesi	19



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>L. monocytogenes</i> virülens gen dizisi (Chakraborty ve ark. 2000).....	7
Şekil 3-1 : Su ürünleri istatistik bölgeleri (BSGM 2013)	20
Şekil 3-2 : ALOA besiyerinde <i>L. monocytogenes</i> 'in görüntüsü.....	28
Şekil 4-1 : <i>monoA-B</i> (400 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	38
Şekil 4-2 : <i>prs</i> (370 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	39
Şekil 4-3 : <i>Imo0737</i> (691 bp) geni PCR jel görüntüsü	40
Şekil 4-4 : <i>Imo1118</i> (906 bp) geni PCR jel görüntüsü	40
Şekil 4-5 : <i>ORF2110</i> (597 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	41
Şekil 4-6 : <i>ORF2819</i> (471 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	41
Şekil 4-7 : <i>prfA</i> (600 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	42
Şekil 4-8 : <i>mpl</i> (1473 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	42
Şekil 4-9 : <i>plcA</i> (129 bp) geni PCR jel görüntüsü	43
Şekil 4-10 : <i>plcB</i> (261 bp) geni PCR jel görüntüsü	43
Şekil 4-11 : <i>hlyA</i> (234 bp) geni PCR jel görüntüsü	44
Şekil 4-12 : <i>actA</i> (268-385 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	44
Şekil 4-13 : <i>inlA</i> (800 bp) geni PCR jel görüntüsü	45
Şekil 4-14 : <i>inlC</i> (517 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	45
Şekil 4-15 : <i>inlJ</i> (238 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	46
Şekil 4-16 : <i>Lip1-2a</i> (274 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	46
Şekil 4-17 : <i>flaA</i> (864 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	47
Şekil 4-18 : <i>fri</i> (471 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	47
Şekil 4-19 : <i>iap</i> (453 bp) geni PCR jel görüntüsü.....	48
Şekil 4-20 : <i>gtcA</i> (251 bp) geni PCR jel görüntüsü	48
Şekil 4-21 : <i>dltA</i> (1 kb) geni PCR jel görüntüsü.....	49
Şekil 4-22 : %5 Defibrine at kanı bulunan Mueller-Hinton agarda yapılan antibiyotik disk difüzyon testi.....	49

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

µg: Mikrogram

µM: Mikromolar

ActA: Actin assembly-inducing protein

ALOA: Ottaviani ve Agosti Agar

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: Adenozin Triphosphate

Bp: Base pair

BSGM: Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü

CAMP: Christie, Atkins, and Munch-Peterson

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CFSPH: The Center for Food Security and Public Health

CFU : Colony Forming Unit

dATP: Deoxyadenosine Triphosphate

dCTP: Deoxycytidine Triphosphate

dGTP: Deoxyguanosine Triphosphate

dH₂O: Distilled Water

DltA: D-Alanine-Activating Enzyme

DNA: Deoxyribonucleic Acid

dNTP: Deoxynucleotide Triphosphates

dTTP: Deoxythymidine Triphosphate

EC: European Commission

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic

EFSA: European Food Safety Authority

Et-OH: Etanol

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FDA: U.S. Food & Drug Administration

flaA: Flagellar

fri: Ferritin like protein

Gr: Gram
GtcA: Glycosylation protein
hlyA: Hemolysin A
Hpt: Hexose Phosphate Transporter
iap: Invasion Associated Protein
ILSI: International Life Sciences Institute
inlA: Internalin A
inlB: Internalin B
inlC: Internalin C
inlJ: Internalin J
Kb: Kilo Base Pair
LIPI-1: Listeria pathogenity island 1
LLO: Listeriolysin O
M: Molar
Mb: Mega Base Pair
MIC: Minimum Inhibitory Concentration
Ml: Mililitre
Mm: Milimetre
mM: Milimolar
Mpl: Metalloprotease
NaCl: Sodyum Klorür
NPN: Nonprotein azot
OCLA: Oxoid Chromogenic Listeria Agar
ORF: Open Reading Frames
PC-PLC: Phosphatidylcholine-specific phospholipase C (PC-PLC)
PCR: Polymerase Chain Reaction
PFGE: Pulsed Field Gel Electrophoresis
pH: Power of Hidrogen
PI-PLC: Phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC)
prfA: Positive Regulatory Factor A
prs: Putative Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase
RPM: Revolution Per Minute
s: Saniye

SDS: Sodium dodesyl sulphate

SM: Size Marker

spp.: Subspecies

Taq: *Thermus aquaticus*

TE: Tris-EDTA

TMAO: Trimethylamine oxide

Tris: Tris (Hydroxymethyl) methylamine

TSA: Tryptone Soya Agar

TSB: Tryptone Soy Broth

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu

β -NAD: B-Nicotinamide Adenine Dinucleotide

ÖZET

Gözütok, E. (2019). Karadeniz Kaynaklı Balıklardan İzole Edilen *Listeria monocytogenes* Suşlarının Virülens Özelliklerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, Balık, PCR, Antibiyotik duyarlılık, Karadeniz

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 56827

Listeria monocytogenes, insanlarda yüksek mortalite oranı ile karakterize listeriozise neden olan bir bakteri olup, su ürünlerinde çeşitli düzeylerde bulunabilmektedir. Bu çalışmada, Karadeniz’den 2013-2014 yılları arasında avlanan toplam 500 adet Tekir (*Mullus surmuletus*) (n:257) ve Mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus*) (n:243) balığından izole edilen *L. monocytogenes* suşlarında prevalans, serogruplandırma, virülens faktör genler, antibiyotik duyarlılık ve genetik ilişkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kültürel yöntem (EN ISO 11290-1) ile izole edilen 1 adet (%0,2) *L. monocytogenes* suşu (Tekir balığı) PCR analizi ile doğrulanmıştır. Söz konusu, *L. monocytogenes* suşu 4b-4d-4e serogrubu olarak tespit edilmiştir. İlave olarak *L. monocytogenes* suşunda virülens genler araştırılarak, suşun *hlyA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *flaA*, *lip 1-2a*, *fri*, *gtcA*, *iap* genlerini içerdiği, fakat *dltA* genini içermediği belirlenmiştir. EUCAST yöntemi doğrultusunda *L. monocytogenes* suşuna ampicillin (2 µg), meropenem (10 µg), erythromycin (10 µg), trimetophrim/sulfamethoxazole (25 µg), penicillin G (1U)’e karşı antibiyotik duyarlılık testleri uygulanmış ve mevcut suş antibiyotiklerin hepsine duyarlı bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Karadeniz orjinli tekir ve mezgıt balıklarından izole edilen *L. monocytogenes* serogrubun çığ balığa özgü ve tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu saptanmıştır. İlave olarak, söz konusu araştırmanın farklı denizlerde ve değişik balık türleri ile gerçekleştirilmesinin *L. monocytogenes* prevalansı ve virülens özelliklerinin ortaya konulması açısından uygun olacağı değerlendirilmektedir.

ABSTRACT

Gozutok, E. (2019). Investigation of Virulence Factors of *Listeria monocytogenes* in Fishes Originated from Black Sea. Istanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Education, Food Hygiene and Technology Department. Dissertation Thesis. İstanbul. 2019.

Key Words: *Listeria monocytogenes*, Fish, PCR, Antibiotic susceptibility, Black Sea

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa. Project No. 56827

Listeria monocytogenes, is characterized by a high mortality rate in humans is a bacterium that causes listeriosis and can be found in various amounts of aquatic products. In this study, it was aimed to determine the prevalence, serotyping, virulence factor genes, antibiotic susceptibility and genetic relatedness in *L. monocytogenes* strains isolated from a total of 500 fish samples of whiting (*Merlangius merlangus euxinus*) (n:243) and striped red mullet (*Mullus surmuletus*) (n:257) hunted from the Black Sea between the years 2013-2014. Only one (0.2%) *L. monocytogenes* strain (striped red mullet) was isolated by cultural method (EN ISO 11290-1) and verified by PCR analysis. The *L. monocytogenes* strain was determined as 4b-4d-4e serogroup. In addition, the virulence genes in *L. monocytogenes* strain was investigated and found to contain the *hlyA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *flaA*, *lip 1-2a*, *fri*, *gtcA*, *iap* genes, except *dltA* gene. In accordance with EUCAST method, antibiotic susceptibility tests were applied to ampicillin (2 µg), meropenem (10 µg), erythromycin (10 µg), trimetophrim/sulfamethoxazole (25 µg), penicillin G (1U) and this strain was susceptible to all antibiotics. According to the results, *L. monocytogenes* serogroup, which was isolated from fishes (striped red mullet and whiting) originated from Black Sea, was found to be raw fish-specific and to be sensitive to all antibiotics. In addition, it is considered that this study should be performed in different seas and with different fish species to reveal the prevalence and virulence characteristics of *L. monocytogenes*.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Balık ve balık ürünleri, genellikle iyi bir protein kaynağı olarak bilinmektedir. Aynı zamanda sinir sistemimiz için gerekli olan uzun zincirli omega-3 yağ asitleri ile, vitamin ve mineralleri önemli miktarda içermektedir. Balık eti, içerdiği vitaminler, çoklu doymamış yağ asitleri ve esansiyel aminoasitlerce zengin olmasından dolayı birçok hastalığa karşı koruyucu etki gösteren sağlık açısından çok önemli bir gıdadır. Balık eti; deniz balıklarından, içsu balıklarından avlama ya da yetiştiricilik yoluyla elde edilmektedir. Ekonomik olarak bakıldığında, avcılık yoluyla elde edilen balığın yetiştiricilik yoluyla elde edilen balıktan farkı beslenme masrafının olmaması önemli bir avantajdır.

Yüksek besleyici değeri olan balık etleri, çabuk bozulan ve besin zehirlenmelerine sebep olabilecek gıda maddeleri arasında yer almaktadır. Balık eti; özellikle bağdoku oranının diğer etlere göre daha düşük olması, bozulmaya neden olan ve patojen mikroorganizmaların gelişmesi ve üremesi için oldukça uygun bir ortam oluşturmaktadır. Deniz balıkları sıklıkla *Vibrio* türleri, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Clostridium*, *Salmonella* gibi patojen mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir.

Balık eti ve ürünlerinin *L. monocytogenes* ve diğer birçok patojen mikroorganizma ile kontamine olduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur. Balık etlerinin kontaminasyon kaynakları arasında; yakalandığı deniz suyu veya içsu'daki patojen bakterilerin varlığı, çapraz kontaminasyonun meydana gelmesi ile balıkların muhafaza, işleme ve tüketime sunulması aşamalarında yapılan hijyen hataları yer almaktadır.

L. monocytogenes doğada geniş dağılım gösteren patojen bir mikroorganizmadır. Sağlıklı hayvanların ve insanların dışkılarından alınan örneklerden izole edilmektedir. Ayrıca kanalizasyon, toprak, silaj, gübre ve çoğu gıdada etken saptanmıştır. Hastalık belirtileri olmaksızın, insanların %6'sının bağırsaklarında bu mikroorganizmayı taşıdıkları tahmin edilmektedir. Bulaşma; uterus içinde anneden fetüse, doğumda infeksiyonla, bebekten bebeğe, hayvanlardan insanlara veya çoğunlukla gıdadan insanlara şeklinde gerçekleşmektedir.

L. monocytogenes, ciddi enfeksiyonlara septisemi ve meningitis hatta ölüme neden olmaktadır. Listeriozis’de en yüksek insidens grupları; yenidoğanlar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerdir. Gebe kadınlarda, mevcut olguların önemli bir oranında düşük, ölü doğum veya perinatal septisemi ile yenidoğanlarda meningitis şekillenebilmektedir. Sağlıklı insanlar ve gebe olmayan kadınlarda enfeksiyon oranı daha düşüktür. Müdahale edilmeyen enfeksiyonlarda mortalite oranı %25’i geçebilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’nin kuzeyinde yer alan Karadeniz’in çeşitli bölgelerinden avlanmış olan 500 adet tekir (n: 257) ve mezigit balığında (n: 243), kültürel yöntemle (EN ISO 11290-1) *L. monocytogenes*’in izole edilerek PCR analizi ile doğrulanması, suş/suşların prevalans, serogruplandırma, virülens faktör genleri, antibiyotik duyarlılık ve PFGE ile filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinin sağlanmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Balık eti

Balık; hızlı ve kolay tüketime hazırlanabilen, protein açığını kapatmada iyi bir alternatif hayvansal protein kaynağı ve omega-3 yağ asidi deposu olarak bilinen bir üründür. Ekonomik açıdan bakıldığında, “avcılık” yoluyla elde edilen balık, “yetiştiricilik” yoluyla elde edilen balığa göre %70 daha ucuz (beslenme masrafı olmadığı için) elde edilmektedir. Ayrıca “avcılık” yoluyla elde edilen balıkların, yetiştiricilik yapılan işletmelerde yem olarak da kullanımı söz konusudur (Sarıözkan 2016). Balıklar, içerdikleri aminoasitlerin kompozisyonu, doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineral ve iz elementler yönünden zengin olmasının yanında, yüksek biyolojik değere sahip ve bağ doku miktarının düşük olması ile kolay sindirilebilir olması gibi özellikleri, beslenme fizyolojisi yönünden büyük önem arz etmektedir (Erol 2007).

Dünyada, 2015 yılında iç sularda 11,4 milyon ton, denizlerde 81,2 milyon ton; 2016 yılında ise iç sularda 11,6 milyon ton, denizlerde 79,3 milyon ton avcılık yapılmıştır (FAO 2018). Türkiye’de ise 2016 yılında avcılıkla yapılan üretim 335 bin 320 ton olurken, yetiştiricilik üretimi ise 253 bin 395 ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkemizde denizlerde yapılan avcılıkta ilk sırayı %40,7’lik oran ile Doğu Karadeniz bölgesi almaktadır. Bu bölgeyi %33,3 ile Batı Karadeniz, %11,5 ile Ege, %10,6 ile Marmara ve %3,9 ile Akdeniz bölgesi izlemektedir (TÜİK 2017).

2.2. Balık etinin halk sağlığı açısından önemi

Balık etleri, esansiyel aminoasitleri içeren hayvansal proteinden zengin olması, ihtiva etmiş olduğu yağ, doymuş ve doymamış yağ asitleri; bağ doku oranının kırmızı ete göre daha az olması ve balık etinin içerdiği vitamin ve mineral maddeler gibi nedenlerle insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olmaktadır (Uğur ve ark. 2001).

Balıkların mikroflorası buldukları ortamdaki suyun sıcaklığına ve kirlilik düzeyine bağlı olarak değişmektedir. Balıklarda, suyun kirlilik durumuna ve özellikle fekal kaynaklı bir kirlenme olup olmamasına göre virüsler, bakteriler ve parazitler bulunabilmektedir (Erol 2007).

Mikroorganizmalar, özellikle canlı ve yeni yakalanan balığın bağırsaklarında, deri ve solungaçlarında yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda mikroorganizmaların toplam sayısı deri yüzeyinde 10^2 - 10^7 cfu/cm², bağırsaklar ve solungaçlarda ise 10^3 - 10^9 cfu/g olarak saptanmıştır (Shewan 1962; Liston 1980; Huss 1995).

Temiz, kirlenmemiş sularda avlanan balıkların mikroflorasında gram negatif bakterilerden olan *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella putrefaciens*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Vibrio*, *Photobacterium* ve *Aeromonas* bulunabilmektedir. Mikroflorada gram pozitif bakterilerden ise *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* ve *Corynebacterium* yer almaktadır. *Vibrio* ve *Photobacterium* genellikle deniz sularında avlanan balıklardan izole edilirken, *Aeromonas* ise sıklıkla tatlı sularda avlanan balıklardan izole edilmektedir (Huss 1995).

2.3. Balık etinin özellikleri

Genel olarak balık eti; %65-80 su, %15-23 protein, %1-14 lipid, %1 karbonhidrat ve ortalama %1 düzeyinde de kül içermektedir (Erol 2007). Vitamin ve mineral miktarları türe özgü olup, mevsime göre de değişim gösterebilmektedir. Balık eti, iyi bir B vitamini kaynağı olmasının yanında, yağlı türlerin ilave olarak A ve D vitamini yönünden zengin olduğu bildirilmektedir. Ayrıca balık eti, kalsiyum, fosfor, demir, bakır ve selenyum açısından değerli bir kaynak olarak görülmektedir. Diğer taraftan tuzlu su balıkları yüksek miktarda iyot içermektedir (Huss 1995).

Balık lipidleri, memeli lipidlerinden önemli düzeyde farklılık göstermektedir. Başlıca farklılık balık lipidlerinde %40'a varan miktarda doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin mevcudiyetidir. Balıklarda depo yağları beş veya altı çift bağlı birkaç yağ asidini içerirken, memeli yağlarının seyrek olarak her yağ asit molekülü iki çift bağdan daha fazlasını içermektedir. İnsan beslenmesinde linoleik ve linolenik asit gibi yağ asitleri, organizma tarafından sentezlenmediğinden, esansiyel olarak nitelendirilmektedir (Stansby ve Hall 1967; Huss 1995).

Balık proteinleri çok yüksek biyolojik değere sahip olan süt, yumurta ve memelilerin et proteinleri gibi bütün esansiyel aminoasitleri yeterli ve dengeli düzeyde içermektedir. Trimetilamin oksit (TMAO) deniz balıklarında Non-Protein Azot (NPN)'ların en önemli parçası olarak görülmektedir. Bu komponent, %1-5 düzeyine kadar bütün deniz balıklarının kas dokusunda (kuru ağırlığında) bulunmaktadır. Karasal

organizmalarda ve tatlı su balıklarında ise bu komponent hemen hemen hiç bulunmamaktadır (Anderson ve Fellers 1952; Hebard ve ark. 1982; Huss 1995).

2.4. *Listeria monocytogenes*'in tarihçesi

L. monocytogenes, geçmişte *Bacterium hepatis*, *Bacterium monocytogenes*, *Listerella hepatolytica*, *Listerella monocytogenes hominis*, *Corynebacterium parvulum*, *Listerella ovis*, *Erysipelothrix monocytogenes* olarak isimlendirilmiştir (Gray ve Killinger 1966). *L. monocytogenes* laboratuvar hayvanlarındaki bir salgında fark edilerek ilk kez 1926 yılında tanımlanmıştır (Murray ve ark. 1926). Bununla birlikte, 1940 yılında Pirie tarafından ilk kez *L. monocytogenes* ismi kullanılmıştır (Pirie 1940).

Listeria cinsi 17 tür olarak sınıflandırılmıştır: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. marthii*, *L. grayi*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis*, *L. cornellensis*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. riparia* ve *L. booriae*. Bu türlerden sadece *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* patojenik olarak bilinmektedir (Orsi ve Wiedmann 2016).

2.5. *L. monocytogenes*'in genel özellikleri

L. monocytogenes Gram-pozitif çubuk, 1-2 µm uzunluğunda, 0,5 µm genişliğinde, spor oluşturmeyen bir bakteridir (Liu 2008). *L. monocytogenes*'in, 20-25°C'de hareket etmesini sağlayan peritrik flagellaları bulunmaktadır. Fakat *L. monocytogenes*'in hareket etme kabiliyeti, insan vücut sıcaklığı (37°C) dahil daha yüksek sıcaklıklarda kaybolmaktadır. Mikroorganizmanın optimum gelişim sıcaklığı 30-37°C arasında değişmektedir. Yine de, gelişme 0°C'den 45°C'ye kadar olan sıcaklıklarda bildirilmiştir. Bakteri, %10'a kadar olan tuzluluk oranında canlı kalabilmekte ve su aktivitesi değeri 0,92'den yüksek olduğunda çoğalma yeteneğine sahip olabilmektedir (Nørrung 2000; Liu 2008). *L. monocytogenes* fakültatif anaerob bir bakteridir ve üremesi için optimal pH değeri hafif alkali olmakla birlikte, 4,3-9,6 gibi geniş bir pH aralığında üreyebilmektedir (Erol 2007).

L. monocytogenes doğada yaygın olarak (ubiquiter) bulunmaktadır. Patojen olan bu bakteri, hayvanların ve insanların dışkılarından, kanalizasyondan, silajdan, topraktan, gübreden, bitkisel ürünler ile süttten izole edilmektedir (Weis ve Seeliger 1975; McCarthy 1990).

2.6. *L. monocytogenes*' in genetik özellikleri

Bütün Listerial genomların, 2,7 ve 3 milyon baz (mb) arasında değişen boyutlarda kromozomlara sahip olduğu saptanmıştır. Farklı *Listeria* genomlarının genom dizilimlerinin yaklaşık olarak %89'u kodlanmış ve bunların %62,5 kadarının belirlenmiş bir fonksiyonu olduğu tespit edilmiştir. *L. monocytogenes*'in 2.944.528 baz çifti büyüklüğünde, *L. innocua*'nın 3.011.209 baz çifti büyüklüğünde gene sahip olduğu tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* geninin G+C nükleotidlerinin oranı %39, *L. innocua*'nın %37 olduğu ve bu *Listeria* türlerinde çevreye adaptasyon sağlayan, yüzey, sekresyon, transport proteinlerini ve transkripsiyon düzenleyici proteinleri kodlayan genler bulunduğu belirlenmiştir (Glaser ve ark. 2001; Hain ve ark. 2007). *prs* geni, putative phosphoribosyl pyrophosphate synthetase proteinini kodlamakta olup, söz konusu gen tüm *Listeria* türlerinde tespit edilebilmektedir (Doumith ve ark. 2004a). İlave olarak, *monoA* ve *monoB* genleri *L. monocytogenes*'in tüm serotiplerinde spesifik tanımlamada kullanılabilmektedir (Bubert ve ark. 1999).

2.7. *L. monocytogenes*'in serogrublendirilmesi

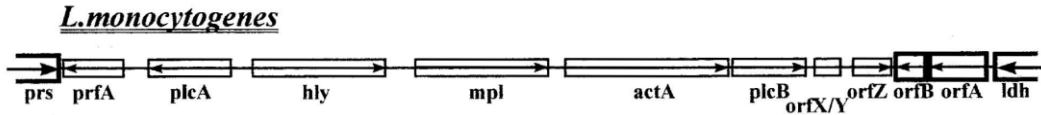
Serotiplendirme ile suşların ayırt edilmesi, tiplendirmenin en eski metodlarından biri olup, *L. monocytogenes* suşlarının arasındaki somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerin farklılığına dayandırılmaktadır (Liu ve ark. 2006). *L. monocytogenes*'in 13 serovarı olduğu ve bunların 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 olduğu tespit edilmiştir (Seeliger ve Jones 1986; Farber ve Peterkin 1991). Gıdalardan ve hastalardan izole edilen suşların en az %95'i 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b serotiplerinden oluşmaktadır. Listeriosis salgınlarında en yaygın 4b, 4e serotipi ile daha az oranda 1/2b serotipi görülürken; sporadik vakalarda çoğunlukla 4b, 4e, 1/2a, 1/2c serotipleri saptanmaktadır (Shen ve ark. 2013; Leong ve ark. 2014). *L. monocytogenes*, içerdiği gen kalıbının analizine dayanan serovarlarla ilişkili 5 gruba ayrılmaktadır: Bunlar; I.1 (1/2a ve 3a), I.2 (1/2c ve 3c), II.1 (4b, 4d ve 4e), II.2 (1/2b ,3b ve 7) ve III grup (4a ve 4c)'tur (Doumith ve ark. 2004b).

2.8. *L. monocytogenes*'in virülens mekanizması

Genelde çevresel bir saprofit olan *L. monocytogenes*, konak hücre ortamına giriş esnasında, konak hücre içinde canlı kalma ve replikasyon yapabilme özelliğine sahip patojen bir mikroorganizmaya dönüşmektedir (McMullen ve Freitag 2015). Virülens faktörler, *L. monocytogenes*'in fagositik olmayan hücrelere invazyonunu, fagositik

bölmelerin bozulmasını ve yırtılmasını, sitosol içerisinde replikasyonunu ve komşu hücrelere yayılmasını kolaylaştırmaktadır (Tilney ve Portnoy 1989).

L. monocytogenes için *prs* ve *Idh* genleri arasındaki bölge (8800 bp), bir patojenite adasını göstermektedir. Patojenite adasının sol tarafındaki *prs* genlerinin *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. monocytogenes*'te ortak olduğu görülmektedir. Virülens gen dizisinin sağ tarafındaki *plcB* geni 2,2 kb ile *Idh* geninden ayrılmaktadır. *orfA* ve *orfB* gen paraloglarının bakterilerin geniş bir dağılımında ortak olduğu görülmektedir. Virülens gen dizisi, *prs* ve *orfB* arasında 7500 bp ile bulunmaktadır (Chakraborty ve ark. 2000) (Şekil 2-1).



Şekil 2-1: *L. monocytogenes* virülens gen dizisi (Chakraborty ve ark. 2000).

Patojenik *Listeria* spp.'nin enfeksiyon döngüsünün farklı basamaklarında dahil olan virülens faktörlerin çoğu, LIPI-1 (*Listeria* pathogenicity island 1) veya *prfA* bağlı virülens gen dizisi olarak bilinen patojenite adasından kodlanmaktadır (Portnoy ve ark. 1992; Kreft ve ark. 1999; Vázquez-Boland ve ark. 2001b). *prfA*, *hly*, *mpl*, *plcA*, *plcB*, *actA* genleri intrasellüler replikasyonu ve hücreden hücreye yayılmayı kontrol etmektedir (Kreft ve ark. 1999; Chakraborty ve ark. 2000). *L. monocytogenes* gen ürünlerinin çoğunluğu *prfA* olarak bilinen bir merkezi virülens düzenleyici protein tarafından düzenlenmektedir (Xayarath ve ark. 2011a; Xayarath ve ark. 2011b).

Internalinler, patojenik *Listeria* spp.'de bulunan virülens ilişkili gen ailesinin protein ürünleridir. Bu ailenin ilk üyeleri *inlA* ve *inlB*, *inlAB* operonu tarafından kodlanmaktadır (Vázquez-Boland ve ark. 2001a). *InlA*, konak birleşme proteini, E-cadherin veya *Ecad*'a bağlanan invasin olarak tanımlanmaktadır (Bonazzi ve ark. 2008). Fonksiyonel *InlA*'nın bulunmasının, *L. monocytogenes*'in duyarlı konakların kan desteğine ulaşması için ince bağırsakların epitelyal bariyerinden transfer edilmesinde çok önemli olduğu görülmektedir. Diğer taraftan, *Ecad* ve *InlA* arasındaki etkileşim büyük ölçüde tür spesifiktir (Wollert ve ark. 2007; Bonazzi ve ark. 2008; Nikitas ve ark. 2011). *InlA*'nın choroid plexus'un epitelyal hücrelerine bağlanarak Merkezi Sinir Sisteminin içine bakterinin alınmasına aracılık ettiği belirlenmiştir. Böylece transcytosis

aracılığıyla kan-beyin bariyerine transfer edilmektedir. Aynı zamanda bakterinin plasentanın içine alınması ve yönlendirilmesine aracılık etmesiyle InIB ile birlikte çalıştığı gösterilmiştir (Lecuit ve ark. 2004). Başka bir hücrel invazyon proteini olan InIB, InIA'ya fonksiyonel ve yapısal olarak benzer olan bir lösinden zengin tekrarlama alanı içermektedir. InIA enterositler düzeyinde bakteriyel canlılık için çok kritik görülürken; InIB hepatositler, fibroblastlar gibi farklı hücre tiplerinin içine girmek için konak hücrenin Met'ine bağlanmaktadır (Braun ve ark. 1997; Vázquez-Boland ve ark. 2001a).

Diğer 3 bakteriyel faktör, Listeriolizin O (LLO), p60 ve ActA (*ActA* geni tarafından kodlanan protein), hücrelerin içine bakterinin girişine katkıda bulunmaktadır (Skoble ve ark. 2000; Dramsi ve Cossart 2003; Machata ve ark. 2005). p60, *iap* geni tarafından kodlanan hücre dışı ve invazyon ilişkili büyük bir protein olarak tanımlanmaktadır. Bunun nedeni, p60 üretiminde hata bulunan suşların invazyon açısından kusurlu olmasıdır (Pilgrim ve ark. 2003; Machata ve ark. 2005). ActA'nın, *L. monocytogenes*'in aktin esaslı intrasitoplazmik hareketinden sorumlu protein olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda heparan sülfat proteoglikanların bağlayıcılığı vasıtasıyla bakterinin hücreye girişine katkıda bulunmaktadır (Suárez ve ark. 2001). LLO (*hly* tarafından kodlanan sitolizin), listerial gözenek oluşturan hemolizin, *L. monocytogenes*'in konak hücrelerin içine girişini takiben endositik vesikülden kaçışına ve aynı zamanda bakteriyel invazyona aracılık etmektedir (Vadia ve ark. 2011). Hücre içine girişi takiben, *L. monocytogenes* fagolizozomal yıkım için konak hücre vakuollerinin içinde bulunmaktadır. LLO, vakuoler membranları yıkmak ve sitozolün içine bakterinin girişini sağlamak için bakteri tarafından üretilmektedir (Burrack ve ark. 2009).

Sitozolün içine girişinden sonra *L. monocytogenes* ActA olarak bilinen bir yüzey proteini salgılamaktadır. Böylece bakterinin hareketini sitosol aracılığıyla aktive etmekte ve bitişik hücrelerin içine kadar girebilmektedir (Skoble ve ark. 2000).

L. monocytogenes'in 2 farklı fosfolipazı PI-PLC, fosfaditilinositol-fosfolipaz C (*plcA* tarafından kodlanan protein) ve PC-PLC, fosfatidilkolin-fosfolipaz C (*plcB* tarafından kodlanan protein), sırasıyla bakterinin hücreye girişi ve hücreden hücreye yayılması sırasında şekillenen birincil ve ikincil vakuollerin her ikisinin de yıkımına katkıda bulunmaktadır (Camilli ve ark. 1991; Smith ve ark. 1995). PC-PLC aktivitesi bitişik hücrelerin içine bakterinin yayılmasıyla şekillenen ikincil vakuolün yıkımına

neden olurken, PI-PLC aktivitesi LLO ile birlikte birincil vakuolün yıkımında hizmet etmektedir (Marquis ve ark. 1995; Yeung ve ark. 2007). PC-PLC, proenzim olarak bakteri tarafından salgılanmaktadır. Sonrasında bu proenzim bir ekstrasellüler Metalloprotease (*mpl* geni tarafından kodlanır) tarafından çevresel uyaranlar ile, enzimatik olarak aktif bir forma dönüşmektedir (Marquis ve Hager 2000; Snyder ve Marquis 2003). Sekresyon, Metalloprotease tarafından yapılan proteolitik aktivasyondan önce şekillenmektedir. İnaktif PC-PLC havuzu, membran-hücre duvarı arayüzünde bakterilerle birlikte bulunmaktadır ve *L. monocytogenes* tarafından sitozolik girişten önce sentezlenmektedir (Snyder ve Marquis 2003).

PrfA tarafından düzenlenen *hpt* geni, fosforile heksozlar için bir taşıyıcıyı kodlamaktadır ve intrasellüler replikasyon esnasında fosforile glikoz *L. monocytogenes* için alternatif karbon kaynağı olabilmektedir (Chiko-Calero ve ark. 2002; Milohanic ve ark. 2003).

L. monocytogenes'in flagellin proteini (FlaA), *flaA* geni tarafından kodlanmaktadır. Düşük sıcaklıklarda bakterinin hareketindeki artışın ve flagella üretiminin *L. monocytogenes*'in gelişimiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Leifson ve Palen 1955; Dons ve ark. 1992; Liu ve ark. 2002). Diğer taraftan, *fri* (ferritin-like proteini kodlayan gen) geni'nin demir varlığı veya yokluğu, sıcak veya soğuk şoku gibi ortamlarda optimal üreme için gerekli olduğu gösterilmiştir (Dussurget ve ark. 2005). *gtcA* geni, *L. monocytogenes* serotip 4b'nin hücre duvarı teikoik asitinin glukoz ve galaktozla glikolizasyonu için gerekli olan bir gendir ve glikolize olan alanlar serotipe özel yüzey antijenleri olarak hizmet etmektedirler (Promadej ve ark. 1999).

Lipoteikoik asit'in gram-pozitif bakterilerin fizyolojisi ve gelişmesinde yaşamsal bir öneme sahip olduğu saptanmıştır. *dlt* operonu (*dltA*, *dltB*, *dltC*, *dltD*) Lipoteikoik asit'in D-alanizasyonu için gerekli olan dört proteini kodlamaktadır (Debabov ve ark. 2000). Lipoteikoik asit'in D-alanil esterleri, net anyonik yükü belirlemekte ve bu polimerin fonksiyonlarını düzenlemektedir (Neuhaus ve ark. 1974; Fischer ve ark. 1980). D-alanil Lipoteikoik asit'in biyosentezi için D-alanin-D-alanil taşıyıcı protein ligaz'a ve D-alanil taşıyıcı protein'e ihtiyaç duyulmaktadır. *dltA* geni, D-alanin-D-alanil taşıyıcı protein ligaz'ını ve *dltC* geni ise D-alanil taşıyıcı protein'ini kodlamaktadır (Neuhaus ve ark. 1996; Debabov ve ark. 2000).

2.9. Listeriozis

L. monocytogenes insanlarda gıda kaynaklı patojen olarak ilk defa 1980’li yıllarda tanımlanmıştır (Stavru ve ark. 2011). Listeriozis; nispeten seyrek, fakat sıklıkla ölümcüldür. Çoğu vaka sporadik olarak şekillenmektedir. *L. monocytogenes*, ubiquiter özellikte bir bakteri olduğundan, çevrede yaygın dağılım göstermektedir (McNeill ve ark. 2017).

L. monocytogenes'e maruz kalma genel bir vaka olmasına rağmen, rapor edilen *Listeria* ilişkili hastalık oranları düşük seyretmektedir. Bu durum organizmanın dokuları istila etme ve vücudun immun sisteminden kaçma yeteneğine, patojenin virülensine ve konak immun sisteminin güçlü olup olmamasına bağlı olarak değişmektedir (McNeill ve ark. 2017). Gebe kadınlar ve onların yeni doğan bebekleri, yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış olanlar listeriozis’e en duyarlı grup olarak değerlendirilmektedir (CDC 2013).

L. monocytogenes enfeksiyonu invaziv veya non-invaziv olarak şekillenebilmektedir. İnvaziv olan enfeksiyon menenjit, septisemi, bakteriyemi, endokarditis, non-meningitik sinir sistemi enfeksiyonu, konjunktivitis ve grip benzeri belirtiler gösterebilmektedir. Listeriozis’in non-invaziv formu ise febrile gastroenteritis ile invaziv formundan ayırt edilebilmektedir. Gebelikte listeriozis çoğunlukla gebeliğin üçüncü üç aylık döneminde gerçekleşmektedir ve üç şekilde sonuçlanabilmektedir: Asemptomatik annenin enfeksiyonu ve enfekte bebek, premature bebek doğumuna neden olan annenin enfeksiyonu ve ölü doğum veya hasta bebek, hastalıktan etkilenmeyen fetüs ve annenin ölümü. Ayrıca *L. monocytogenes*'le enfekte olan gebe kadınlarda sırt ağrısı, amnionitis ve grip benzeri belirtiler şekillenebilmektedir. Yenidoğanlarda ise enfeksiyon sepsis, granulomatosis infantiseptica veya menenjit’e neden olabilmektedir (Donnelly 2001).

L. monocytogenes enfeksiyonları 1-67 gün (ortalama 8 gün) arasında değişen uzun bir inkübasyon periyoduna sahiptir. Bu periyod gebe kadınlarda daha uzun seyredebilmektedir (17-67 gün) (Goulet ve ark. 2013). *L. monocytogenes*'in infektif dozu tam olarak belirlenememektedir. Çünkü bu durum konak organizmanın duyarlılığına ve suşun virülensine bağlı olarak değişebilmektedir. Diğer taraftan semptomların oluşabilmesi için 10^6 cfu/g’ın yeterli olduğu değerlendirilmektedir (Vázquez-Boland ve ark. 2001a). *L. monocytogenes* sağlıklı insanlarda seyrek olarak

hastalığa neden olurken, duyarlı gruptaki insanlarda çoğunlukla ciddi vakalar görülmektedir. Hastalık aynı zamanda %20-30'a varan yüksek bir mortalite oranına sahipken, tedavi edilmeyen nörolojik hastalarda bu oran %70'e çıkabilmektedir (CFSPH 2005).

L. monocytogenes; Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Asya, Afrika, Okyanusya dahil dünyanın her tarafında rapor edilmiştir ve insan listeriozis'ine neden olmaktadır (Ramdani-Bouguessa ve Rahal 2000; Hmaïed ve ark. 2014; Ariza-Miguel ve ark. 2015; Barbosa ve ark. 2015; Huang ve ark. 2015; Lomonaco ve ark. 2015; Najjar ve ark. 2015; Negi ve ark. 2015; Scallan ve ark. 2015a; Scallan ve ark. 2015b). Diğer taraftan kontrol önlemleri uygulanması, Listeriozis vakalarının trendinde herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır. Hatta artış bile görülmektedir (Heredia ve García 2018). Örneğin, Avrupa Birliği'nde 2012 yılında görülen vakalar 2013 yılıyla karşılaştırıldığında %8,6'lık bir artış tespit edilmiştir (EFSA/ECDC 2015; Buchanan ve ark. 2017). Ayrıca Avrupa Birliği'ndeki işleme tesislerinde bulunan balıkçılık ürünlerinde (Ağırlıklı olarak füme balık) *L. monocytogenes*'in prevalansında artış rapor edilmiştir (EFSA/ECDC 2015).

L. monocytogenes Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde gıda kaynaklı enfeksiyonlar arasında seyrek olarak görülmektedir. Buna rağmen, gıda kaynaklı hastalıklar arasında bulunan nontyphoidal *salmonella* (%28) ve *Toxoplasma gondii* (%24)'den sonra üçüncü sırada (%19) ölüme neden olmaktadır (Scallan ve ark. 2011; CDC 2016). ABD'de 2014 yılında rapor edilen diğer hastalıklara oranla (118 vaka) listeriozis insidensi düşükken, ölüm oranı %15,3 ve hastaneye yatma oranı %92 olarak tespit edilmiştir (Crim ve ark. 2015).

2.10. Çevrede *L. monocytogenes* varlığı

L. monocytogenes çevrede yaygın olarak bulunmaktadır ve topraktan, yüzey sularından, hayvan dışkılarından, kanalizasyondan, hayvan yemlerinden, çiftlik ortamlarından ve gıda işleme tesislerinden izole edilmiştir (Paillard ve ark. 2005; Lyautey ve ark. 2007a; Sauders ve Wiedmann 2007; Sauders ve ark. 2012; Vivant ve ark. 2013; Ferreira ve ark. 2014; Linke ve ark. 2014). Bu bakterinin patojenik suşları sığır, koyun, keçi, at ve kümes hayvanları gibi evcil hayvanlarda kolonize olabilmektedir. Aynı zamanda vahşi kuşlar, balıklar ve kabuklu deniz canlılarından da izole edilmiştir (Wesley 2007). Uzun inkübasyon periyodu, büyük oranda enfeksiyon

kaynağının açıkça belirlenmesini engellemesine rağmen, listeriozis vakalarının %99'unun kontamine gıdalarla ilgili olduğu kabul edilmektedir (Wiedmann 2003; Mena ve ark. 2004; ILSI 2005; Hofer ve ark. 2006; Gambarin ve ark. 2012; Mateus ve ark. 2013). Patojenik *L. monocytogenes* et (sığır eti, sosisli sandviç, pişmiş jambon, domuz eti,) (Graves ve ark. 2005; Hächler ve ark. 2013; Pichler ve ark. 2009; Smith ve ark. 2011); süt, sütçülük ürünleri (pastörize süttten yapılan: tereyağı, yumuşak peynir; taze süttten yapılan: çiftlikte üretilen taze peynir gibi) (Lyytikäinen ve ark. 2000; Danielsson-Tham ve ark. 2004; Lundén ve ark. 2004; Bille ve ark. 2006; Jackson ve ark. 2011), balık (tütsülenmiş, marine edilmiş, çiğ carpaccio) (Gambarin ve ark. 2012) ve diğer deniz ürünleri (yengeç, karides, füme midye) (Farber ve Peterkin 1991; Brett ve ark. 1998; Riedo ve ark. 1994) aynı zamanda dondurma (Mateus ve ark. 2013), taze sebzeler (mısır, kereviz, lahana) (Farber ve Peterkin 1991; Aureli ve ark. 2000; Cartwright ve ark. 2013; Gaul ve ark. 2013) ve meyveler (kavun ve benzeri) (McCollum ve ark. 2013) gibi direkt tüketilen gıda ürünlerinden izole edildiği bildirilmiştir (McIntyre ve ark. 2015).

L. monocytogenes vahşi ve evcil ruminantlarda, ayrıca monogastrik hayvanlarda enfeksiyona neden olmaktadır (Gray ve Killinger 1966). Patojenik bakterilerin hayvanlar arasında yayılması genellikle kalitesiz silajla beslemenin sonucu olarak oluşmaktadır (Gray ve Killinger 1966; Blenden ve ark. 1987; Vázquez-Boland ve ark. 1992b; Wesley ve ark. 2002). Ruminantlar, *L. monocytogenes*'in asemptomatik taşıyıcıları olabilmektedir. Fakat aynı zamanda bu patojenik bakterinin neden olduğu bulaşıcı hastalık vakaları da bulunmaktadır. Her iki durumda da, hayvanlar bakteriyi dışkılarıyla çevreye yaymaktadırlar. Bu durum, sürüdeki diğer hayvanların ve aynı otlığı kullanan diğer sürülerdeki hayvanların enfeksiyonunun sebebi olabilmektedir (Esteban ve ark. 2009; Hurtado ve ark. 2017). Sığır eti, çiğ süt ve süttten üretilmiş ürünlerin *L. monocytogenes*'in kaynağı olduğunu düşündüren kanıtlar olmasına ve hastalık zoonoz olarak tanımlanmasına rağmen, ruminant ve insan listeriozis'i arasında direkt bir bağlantı kurulamamıştır (Oevermann ve ark. 2010; Gebretsadik ve ark. 2011; Smith ve ark. 2011).

Domuzlar *L. monocytogenes*'in taşıyıcıları olabilmekte ve aynı zamanda enfeksiyon asemptomatik şekillenebilmektedir (Gray ve Killinger 1966; Esteban ve ark. 2009; Gliński ve Kostro 2012). *L. monocytogenes*, kümes hayvanlarında da kolonize

olabilmektedir. Yine de, enfekte kümes hayvanları etinin tüketiminin listeriozis'in yüksek insidensi ile ilişkili olmadığı görülmüştür (Rørvik ve ark. 2003; Esteban ve ark. 2008).

2.11. Sularda *L. monocytogenes* varlığı

Akarsuların, özellikle tarımsal alanlardan geçen sular olan göller, dereler ve ırmaklar gibi yüzey sularının *L. monocytogenes*'in ana rotasını oluşturduğu kabul edilmektedir (Gram 2001; Lyautey ve ark. 2007b). İlave olarak, hayvan dışkıları gibi diğer kontaminasyon kaynakları, akuatik sistemlerde patojenin miktarını arttırabilmektedir. Çünkü ruminantların, dışkılarıyla *L. monocytogenes*'i çevreye yaydıkları bildirilmektedir (Hutchison ve ark. 2004; Lyautey ve ark. 2007a; Lyautey ve ark. 2007b). Lyautey ve ark. (2007b) yüzey sularında artan *Listeria* prevalansı ve o bölgedeki süt çiftliklerinin sayısı arasında direkt bir bağlantının olduğunu tespit etmişlerdir. Bir süt işletmesinin yakınından geçen su akıntısını diğer bir risk faktörü olarak bildirmişlerdir. *L. monocytogenes* içeren su örneklerinin çoğunluğu, bir süt işletmesinin birkaç kilometre aşağısındaki suyun içinde bulunmuştur. İlave olarak, tarımsal faaliyetler nedeniyle hayvan gübresinin kullanımı sonucunda toprağın bozulmasının, yüzey sularında *Listeria*'nın prevalans oranını etkilediği araştırmacılar tarafından bulunmuştur (Lyautey ve ark. 2007a; Lyautey ve ark. 2007b). Bu çalışmadaki veriler, Danimarka'da balık çiftliklerini besleyen tatlı su derelerinde *Listeria* tespit etmeyen (González ve ark. 1999; Hansen ve ark. 2006) çalışmalarla çelişki oluşturmaktadır. Yine de bu veriler, tarımsal faaliyetlerin bu patojenle yüzey sularının kontaminasyonu için bir risk olduğu izlenimini uyandırmaktadır. Fakat artan riskin zorunlu olarak tarımla bağlantılı olmadığı değerlendirilmektedir (Jemmi ve Keusch 1994).

Hava koşullarının *Listeria* spp.'nin, özellikle *L. monocytogenes*'in prevalansında potansiyel bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Jami ve ark. 2014). Farklı hava koşulları arasında yağış miktarı, yüzey sularının bakteriyel kontaminasyonunun artışında büyük bir öneme sahiptir (Mallin ve ark. 2009; Reifel ve ark. 2009; Sinclair ve ark. 2009; Stumpf ve ark. 2010).

Balık çiftlikleri, *Listeria* kontaminasyonu için büyük bir riske sahiptir. Çünkü dere, ırmak ve diğer yüzey suları, yüksek yağış miktarı sonrasında bu sular çiftlik sularına karışmaktadır (Miettinen ve Wirtanen 2006). Hayvan gübresinde çoğunlukla

bulunan toprak kökenli *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* suşları, balık çiftliklerinin yakınındaki yüzey suları ve ırmaklarda bulunmaktadır. Bu durum, tarımsal faaliyetler ve yüzey sularının kontaminasyonu arasındaki bağlantıyı ortaya koymaktadır (Jami ve ark. 2014). Finlandiya’da deniz bölgelerinden ve göllerdeki balık çiftliklerinden elde edilen 510 gökkuşacağı alabalığı örneği, *L. monocytogenes* varlığı açısından incelenmiştir. Bu çalışmaya göre araştırmacılar akuatik çevrelerde, farklı mevsimlerde *L. monocytogenes*’in yok olma durumunu, sporadik ve hızlı ortaya çıkışını tespit etmişlerdir (Miettinen ve Wirtanen. 2005). Diğer bir çalışmada, deniz suyunda *L. monocytogenes* varlığı ve tatlı sularda üretilen balıklarda *L. monocytogenes* düzeyi araştırılmıştır. Araştırmada endüstriyel/turizm faaliyeti olan bölgeler ile yerel yaşam bölgelerinin daha yüksek kontaminasyon düzeyine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada denize arıtılmamış kanalizasyonun boşaltılmasının, balıkların *L. monocytogenes*’le kontaminasyonuna neden olabileceği ifade edilmiştir (El-Shenawy ve El-Shenawy 2006).

2.12. Balıklarda *L. monocytogenes* varlığı

Listeria spp., ırmaklara bağlı diğer sular ile yüzey sularındaki yerel mikrofloranın bileşenlerinden birini oluşturmaktadır. Bu nedenle, bu mikroorganizma kontamine sularda bulunan balıkların dış yüzeylerinde bulunabilmektedir. *L. monocytogenes* balık yüzeyi, mide lümeni, solungaçlar ve bağırsaklardan izole edilmektedir. Fakat, genellikle diğer kaynaklardan kontamine olmadıkça balık etinde mikroorganizma bulunmamaktadır. (Jami ve ark. 2014). Çiğ balıkta *L. monocytogenes* kontaminasyon düzeyi genelde düşüktür. Ancak, bu durum değişiklik gösterebilmektedir (Thomas ve ark. 2012) (Tablo 2-1). Davies ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada, *L. monocytogenes*’in Avrupa balıklarının %3’ünde bulunduğunu tespit etmişlerdir. *Listeria* spp.’nin yaygınlığı Türkiye’de taze tatlı su balığı örneklerinde %30 ve deniz balığı örneklerinde %10,4 olarak bulunmuştur (Yucel ve Balci 2010). Diğer taraftan, Wang ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, balıklarda *L. monocytogenes*’in kontaminasyon oranını somon’da %4,8 ve Tilapia’da %4,3 olarak bulmuştur.

Jemmi ve Keusch (1994), gökkuşacağı alabalığı çiftliklerinin yönetim uygulamaları ve su kaynakları üzerine çalışmalar yapmıştır. *L. monocytogenes*, hijyenik yönetim uygulamaları ve beton duvarlı havuzlar kullanılan çiftlikten elde edilen 30 dışkı içeriği örneği ile 30 balık derisi örneğinde tespit edilememiştir. Bunun aksine, ırmak

suyu kullanılan ve toprak (doğal) duvarlı havuzların olduğu çiftliklerde, deri örneklerinin %33,33'ünün ve dışkı örneklerinin de %40'ının *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, Mędrala ve ark (2003), Norveç kıyı kafeslerinde yetiştirilen ve bir Polonya işleme tesisine getirilen 72 somon ve deniz alabalığı örneği üzerinde yaptıkları çalışmada, sadece 6 örnekte *L. monocytogenes* suşu bulunmuştur.

L. monocytogenes ile kontamine sularda bulunan balıklarda; suyun büyük oranda solungaçlardan filtre edilmesi nedeniyle, deri ve iç organlara göre ilk kontaminasyon kaynağının solungaçlar olacağına dair kanıtlar mevcuttur (Miettinen ve Wirtanen 2005). Balığın düşük sayıda *L. monocytogenes* ile kontamine olması veya kontaminasyonun balıklarda sporadik olması durumunda, balığın yüzeyinden örnekleme yapmaktan ziyade solungaçlara selektif örnekleme yapılması tespit oranını artıracaktır (Thomas ve ark. 2012). Miettinen ve Wirtanen (2005) yaptıkları çalışmada; 510 adet balık kaynaklı solungaç, deri ve iç organ örneğinde ,sırasıyla 43 adet solungaç örneği, 1 adet deri örneği ve 1 adet iç organ örneği, *L. monocytogenes* açısından pozitif bulunmuştur. Buna karşın, Türkiye'de çiğ tatlısu (n=30) ve deniz balıkları (n=48) üzerinde yapılan bir çalışmada, *L. monocytogenes*'in deri (%52) ve solungaç (%25) örneklerinin her ikisinden de sıklıkla izole edildiği bildirilmektedir (Yucel ve Balci 2010).

Perakendecilerde, toptancılarda ve ithalatçılarda bulunan taze ve paketlenen balık ürünleri, çoğunlukla *L. monocytogenes* kontaminasyonu açısından şüpheli olarak değerlendirilmektedir (Jami ve ark. 2014). Patojen, gıda ile temas eden yüzeylerden ve kullanılan ekipmanlardan sekonder kontaminasyon yolu ile gıdayı kontamine edebilmektedir. (Mena ve ark. 2004; Handa ve ark. 2005; Parihar ve ark. 2008). Japonya'da 2002 ve 2003 yılları arasında perakendecilerden elde edilen kıyma halindeki ton balıkları (n=21) ve diğer çiğ balıklar (n=104) üzerinde yapılan araştırmada; kıyma halindeki ton balıklarında *L. monocytogenes* düzeyi %14,3 oranında iken diğer çiğ balıklarda *L. monocytogenes*'in izole edilemediği bildirilmiştir (Handa ve ark. 2005).

Tablo 2-1: Farklı balık türlerinde *L. monocytogenes* prevalansı

Balık Türleri	Ülke/Yıl	Örnek Alınan Yerler	İncelenen /Pozitif Örnekler(%)	Kaynaklar
AVRUPA				
Çiftlik balıkları	Polonya/ 2013-2014	Balık çiftlikleri	139/447 (31,1)	Skowron ve ark. 2018
Tatlısu Balıkları	Yunanistan/ b.	Balık çiftlikleri ve göller	0/136 (0)	Papadopoulos ve ark. 2010
Deniz balıkları	Sırbistan/b.	b.	0/37 (0)	Kuzmanovic ve ark. 2011
Deniz balıkları	Yunanistan/b	Balık pazarları	1/120 (0,8)	Soultos ve ark. 2007
Çeşitli balık türleri	Polonya/ 1997-2001	Balık işleme tesisleri	8/633 (1,26)	Kwiatek 2004
ASYA				
Çeşitli balık türleri	İran/ 2012-2014	Açık hava balık pazarları	37/488 (7,6)	Jamali ve ark. 2015
Çeşitli deniz balıkları	İran/ 2011-2012	Deniz ürünü pazarları ve işleme tesisleri	3/167 (1,80)	Fallah ve ark. 2013
Çeşitli balık türleri	İran/ 2003-2005	Çeşitli yerlerden	0/61 (0)	Jalali ve Abedi 2008
Çeşitli balık türleri ve diğer su ürünleri	Japonya/ 2002-2003	Perakende satış yerleri	3/125 (2,4)	Handa ve ark. 2005
Hamsi	Türkiye/ 2006-2007	Perakende satış yerleri ve küçük ölçekli üreticiler	1/50 (2,0)	Siriken ve ark. 2013
Çeşitli balık türleri	Tayvan/b.	Perakende satış yerleri ve geleneksel satış yerleri	0/30 (0)	Wang ve ark. 2012
Çeşitli balık türleri	Tayland/b.	Perakende supermarketler	0/20 (0)	Stonsaovapak ve Boonyaratana kornkit 2010
AFRİKA				
Çeşitli balık türleri	Etiyopya/ 2003-2004	Perakende satış yerleri	1/43 (2,3)	Molla ve ark. 2004
Çeşitli balık türleri ve diğer su ürünleri	Mısır/b.	Ticari satış yerleri	7/40 (17,5)	El-Shenawy ve El-Shenawy 2006
AMERİKA				
Deniz balıkları	Arjantin/b.	Perakende satış yerleri	0/68 (0)	Laciar ve de Centorbi 2002
Balıkların bağırsakları ve derisi	ABD/b.	Balık işleme tesisleri	0/60 (0)	Chen ve ark. 2010
Tilapia (Taze ve dondurulmuş)	ABD/ 2009-2010	Perakende satış yerleri	3/70 (4,3)	Wang ve ark. 2011

b. belirtilmemiş

2.13. Antibiyotik direnç sorunları

Mikroorganizmalar, onları etkisiz hale getirmek için üretilen ilaçlara karşı canlı kalma yeteneği geliştirmesi durumunda antibiyotik dirençliliği şekillenmektedir. Antibiyotik dirençlilik geliştiren mikroorganizmaların, neden olduğu enfeksiyonların tedavi edilmesi oldukça zor ve hatta imkansız olabilmektedir. İlk ticari olarak üretilen antibiyotik olan penicillin, 1928 yılında Alexander Fleming tarafından keşfedilmiştir. O tarihten bu yana, yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi süreci devam ederken söz konusu antibiyotiklere karşı dirençlilik şekillenmeye devam etmektedir. Mikroorganizmalar, sürekli olarak yeni antibiyotiklere direnç geliştirmek ve canlı kalmak için yollar aramaktadır. Buna ek olarak, birbirleriyle dirençliliklerini de paylaşmaktadır (CDC 2018b).

Toprakta doğal olarak bulunan bakterilerdeki antimikrobiyaller (örneğin; β -lactam'lar, streptomycin'ler ve aminoglycoside'ler), akuatik çevre kontaminasyonunun potansiyel kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Diğer taraftan, antimikrobiyalleri içeren tortular ve kanalizasyon; denizde, yüzey sularında ve akuakültür'de kontaminasyonun olası kaynakları olarak gösterilmektedir (Kümmerer 2009).

Akuakültür, insan tüketimine uygun olan gıdaların, günden güne artan şekilde önemli bir kaynağını oluşturmaktadır. Akuakültür tesislerinin sayısı artarken, balık hastalıklarının tedavi etmek için etkili ve güvenli ilaçlar geliştirme ihtiyacı da artmaktadır (FDA 2018). Akuakültür'de, antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımı, bir akuatik popülasyonda zoonotik patojenlerin antibiyotik dirençliliğinin prevalansını artırabilmektedir (Angulo 2000; Cabello 2006). Diğer taraftan, kullanılmayan antimikrobiyallerin kalıntıları çökelmekte ve akuatik çevreyi kontamine ederek hayvan türleri ile mikrobiyota üzerinde zararlı bir etki meydana getirmektedir (Cabello 2006; Marshall ve Levy 2011).

Yapılan birçok çalışmada, *L. monocytogenes*'in antimikrobiyal dirençliliği ortaya konmuştur (Rodás-Suárez ve ark. 2006; Yan ve ark. 2010; Fallah ve ark. 2013). Fallah ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, işleme tesisleri ve perakendecilerden elde edilen deniz ürünlerinden, izole edilen *L. monocytogenes*'in penicillin, ampicillin, tetracycline ve vancomycin'e dirençli olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak, Yan ve ark. (2010) *L. monocytogenes*'in streptomycin, tetracycline ve ciprofloxacin'e antimikrobiyal dirençliliğini rapor etmiştir. Meksika'da yapılan diğer bir

çalışmada, istiridyelerden, balıklardan ve nehir suyundan izole edilen *L. monocytogenes*'in ampisillin (%60,3), erythromycin (%30,9), penicillin (%57,4), cefuroxime ve cephalothin (%13,2), ceftazidime (%67,6), tetracycline (%16,7), dicloxacilin (%9,7) ve trimethoprim-sulfamethoxazole (%37,4)'e multiantimikrobiyal dirençliliği rapor edilmiştir (Rodás-Suárez ve ark. 2006).

Türkiye'de 180 adet taze hindi etinde yapılan bir çalışmada, 32 örnekte 78 adet *L. monocytogenes* izolatu tespit edilmiş ve 63 (%80,8) izolatta penicillin G'ye, 53 (%67,9) izolatta ampisillin'e dirençlilik ortaya konmuştur. Ayrıca, 52 (%66,7) izolatta hem penicillin G'ye hem de ampisillin'e karşı dirençlilik saptanmıştır. Diğer taraftan, 32 (%41) izolatta erythromycin, 14 (%17,9) izolatta streptomycin, 8 (%10,3) izolatta cephalothin ve 6 (%7,7) izolatta kanamycin'e orta düzeyde dirençlilik belirlenmiştir (Ayaz ve Erol 2010).

2.14. *L. monocytogenes* suşlarının filogenetik ilişkisinin PFGE ile tespiti

Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE), bir bakteri izolatına bir DNA parmak izi üretmek için bilim adamları tarafından kullanılan laboratuvar tekniği olarak ifade edilmektedir. Bu bakteri izolatu, aynı tipte bir grup bakteriden oluşmaktadır. Pulsenet, gıdaların üretildiği yerlerde, kontamine gıdalarda ve hasta insanlarda bakteri izolatlarını araştırmaktadır (CDC 2018a). PFGE, bir organizmanın izolatlarının birbirleriyle ilişkilerinin belirlenmesinde altın standart olan bir metod olarak değerlendirilmektedir (Goering 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Karadeniz'deki çeşitli noktalardan avlanan bentopelajik (mezgit) ve demersal (tekir) balıklarda *L. monocytogenes*'in prevalansının araştırılması amaçlanmıştır. Karadeniz'in çeşitli noktalarından toplam 500 adet tekir (n:257) ve mezgit (n:243) balığı örneği temin edilmiştir.

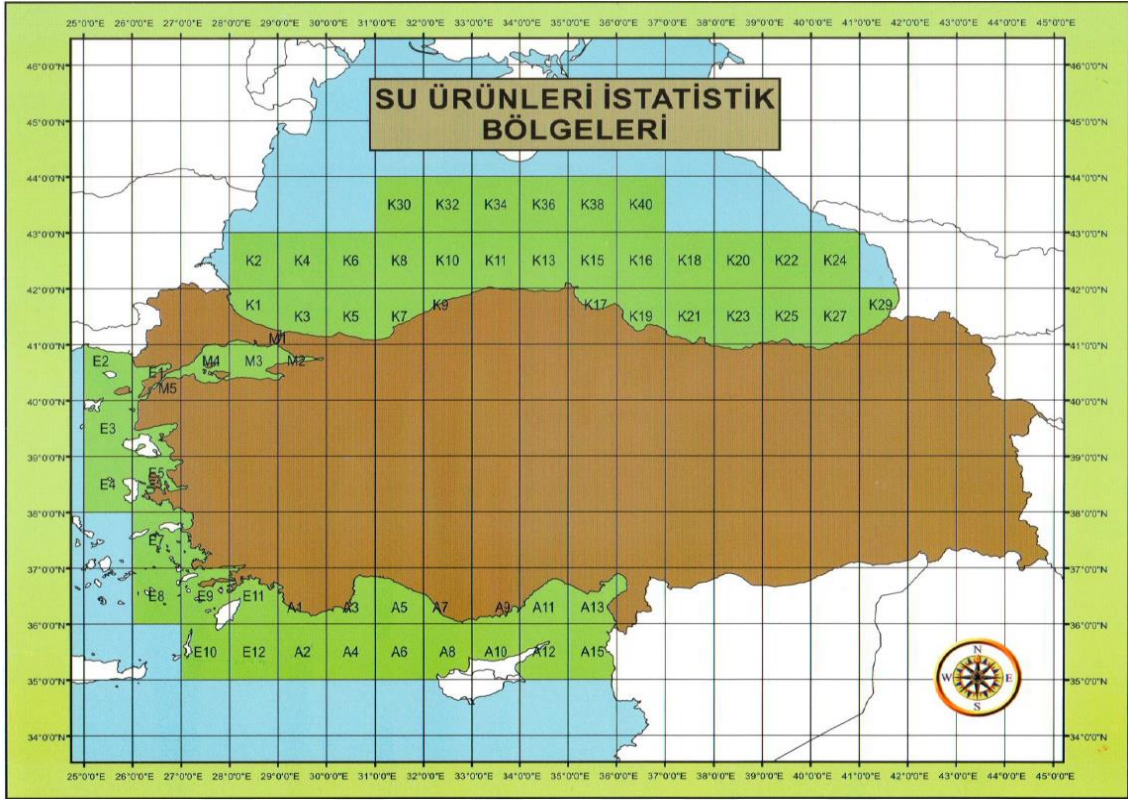
Tablo 3-1 : 2013 yılı Aralık ayında temin edilen numune listesi

ARALIK	
TEKİR	MEZGİT
K-1 (10)	K-1 (10)
K-3 (3)	K-3 (3)
K-5 (2)	K-5 (2)
K-9 (4)	K-11(1)
K-11(1)	
K-19 (4)	

Tablo 3-2 : 2014 yılı Ocak-Mayıs ayları arasında temin edilen numune listesi

OCAK		ŞUBAT		MART		NİSAN		MAYIS
TEKİR	MEZGİT	TEKİR	MEZGİT	TEKİR	MEZGİT	TEKİR	MEZGİT	TEKİR
K-1 (20)	K-1 (24)	K-1 (18)	K-1 (22)	K-1 (65)	K-1 (80)	K-1 (27)	K-1 (24)	K-3 (9)
K-3 (2)	K-3 (6)	K-3 (4)	K-3 (4)	K-3 (18)	K-3 (17)	K-3 (4)	K-3 (7)	K-11(9)
K-11(6)	K-11(10)	K-9(3)	K-9(3)	K-9 (8)	K-7 (4)	K-9 (8)	K-9 (4)	K-15(10)
K-15(2)		K-11 (10)	K-11(14)	K-11(4)		K-11(4)	K-11(8)	K-25(2)

Toplanan örneklerden, EN ISO 11290-1 (ISO, 2004) standardına göre selektif agarda tipik üreme gösteren kolonilere biyokimyasal testler uygulanmıştır. PCR tekniği ile genlerin doğrulanmasının yapılmasını müteakip, PCR sonucu pozitif olan suşlara EUCAST (2017)'a göre antibiyotik duyarlılık testleri uygulanmıştır.



Şekil 3-1 : Su ürünleri istatistik bölgeleri (BSGM 2013)

Bu çalışmada test için kullanılan *S. aureus* ATCC 25923 suşu, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Referans olarak kullanılan *Rhodococcus equi* ATCC 6939 suşu ise, Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan elde edilmiştir.

3.1. Kullanılan Besiyerleri

3.1.1. Fraser Broth (Oxoid CM 895)

Formülasyon	gr/L
Proteose peptone	5,0 gr/L
Tryptone	5,0 gr/L
'Lab-Lemco' powder	5,0 gr/L
Yeast extract	5,0 gr/L
Sodium chloride	20,0 gr/L
Di-sodium hydrogen phosphate	1,35 gr/L
Aesculin	1,0 gr/L
Lithium chloride	3,0 gr/L
pH 7,2±0,2 (25°C'de)	

500 ml Fraser Broth hazırlamak için 28,7 gr Fraser Broth (Oxoid CM 895) 500 ml distile suya karıştırılarak, homojenizasyon işlemi sonrası otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya) aracılığıyla 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemi yapılmıştır. Sterilizasyon sonrası 50°C'ye kadar soğutulup, içerisine aseptik bir şekilde 1 vial Oxoid SR 0156 supplementi ilave edilmiştir.

3.1.2. Half Fraser (Oxoid CM 895, Oxoid SR 0166E)

225 ml Half Fraser hazırlamak için 12,9 gr Fraser Broth (Oxoid CM 895) 225 ml distile suya karıştırılarak homojenizasyon işlemi sonrası, otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya) yardımıyla 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Sterilizasyon sonrası 50°C'ye kadar soğutulup, içerisine aseptik bir şekilde 1 vial Oxoid SR 0166E supplementi ilave edilmiştir.

3.1.2.1. Half Fraser Supplement (Oxoid SR 0166E)

Vial İçeriği (225 ml)	(Her bir vial için)	Litre
Ferric ammonium citrate	112,5 mg	500 mg
Nalidixic acid	2,25 mg	10,0 mg
Acriflavine hydrochloride	2,8125 mg	12,5 mg

1 vial supplement prospektüsüne uygun şekilde 1:1 oranında etanol:steril distile su ile miktarı 4 ml olarak ayarlanıp, Half Fraser içerisine ilave edilerek 225 ml Half Fraser hazırlanmıştır.

3.1.2.2. Fraser Supplement (Oxoid SR 0156)

<u>Vial İçeriği (500 ml)</u>	<u>(Her bir vial için)</u>	<u>Litre</u>
Ferric ammonium citrate	0,25 gr	0,5 gr
Nalidixic acid	10,0 mg	20,0 mg
Acriflavine hydrochloride	12,5 mg	25,0 mg

1 vial supplement prospektüsüne uygun olarak 1:1 oranında etanol:steril distile su ile miktar 5 ml olarak ayarlanıp, Fraser Broth içine ilave edilerek 500 ml Fraser Broth hazırlanmıştır.

3.1.3. ALOA Agar (Oxoid CM 1084)

<u>Formülasyon</u>	<u>gr/L</u>
Enzymatic digest of animal tissues	18,0 gr/L
Enzymatic digest of casein	6,0 gr/L
Sodium pyruvate	2,0 gr/L
Glucose	2,0 gr/L
Magnesium glycerophosphate	1,0 gr/L
Magnesium sulphate (anhydrous)	0,5 gr/L
Sodium chloride	5,0 gr/L
Yeast extract	10,0 gr/L
Lithium chloride	10,0 gr/L
Disodium hydrogen phosphate (anhydrous)	2,5 gr/L
X-glucoside chromogenic mix	0,05 gr/L
Agar	12,0 gr/L
pH 7,2±0,2 (25°C'de)	

480 ml distile suya 34,5 gr ALOA Agar (Oxoid CM 1084) ilave edilerek, homojenizasyon işlemi yapılmıştır. Otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya) ile 121°C'de 15 dakika sterilizasyon sonrasında, yaklaşık olarak 50°C'e kadar soğutulmuştur.

Takiben 1 vial Brilliance™ Listeria Differential Supplement (Oxoid SR 0228E) ve 1 vial OCLA (ISO) Selective Supplement (Oxoid SR 0226E) içerisine ilave edilmiştir.

3.1.3.1. Brilliance™ Listeria Differential Supplement (Oxoid SR 0228E)

Formülasyon	1 vial (500 ml için)
Lecithin solution	20,0 ml

3.1.3.2. OCLA (ISO) Selective Supplement (Oxoid SR 0226E)

Formülasyon	1 vial (500 ml için)
Nalidixic acid	10,0 mg
Polymyxin B	38,350 IU
Ceftazidime	10,0 mg
Amphotericin	5,0 mg

1 vial supplement prospektüsüne uygun olarak pipet aracılığıyla 2 ml distile su içerisinde çözündürülmesi sağlanıp, besiyerine ilave edilerek 500 ml ALOA Agar hazırlanmıştır.

3.1.4. Tryptone Soya Agar (Oxoid CM 131)

Formülasyon	gr/L
Tryptone	15,0 gr/L
Soya Peptone	5,0 gr/L
Sodium chloride	5,0 gr/L
Agar	15,0 gr/L
pH 7,3±0,2, 25°C'de,	

1000 ml distile edilmiş suyun içerisine 40 gr Tryptone Soya Agar (Oxoid CM 131) ilave edilerek, tamamen çözülünceye kadar homojenize edilmiş ve sonrasında 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemi uygulanmıştır.

Besiyerinin 50°C'ye kadar soğuması beklendikten sonra İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Suni Tohumlama Anabilim Dalı'nda uygun şartlarda yetiştirilen koyunlardan enjektörle (sitratl) elde edilen kan (steril olması sağlanarak), besiyerine ilave edilmiştir. Sonrasında ise petrilere eşit olarak aktarılmıştır. Bu besiyeri CAMP testi için kullanılmıştır.

3.1.5. Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 129)

<u>Formülasyon</u>	<u>gr/L</u>
Pancreatic digest of casein	17,0 gr/L
Enzymatic digest of soya bean	3,0 gr/L
Sodium chloride	5,0 gr/L
Dipotassium hydrogen phosphate	2,5 g/L
Glucose	2,5 gr/L
pH 7,3±0,2, 25°C'de,	

1000 ml distile suya 30 gr Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 129) ilave edilerek, homojenizasyon sonrası 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemi uygulanmıştır.

3.1.6. Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM 0337)

<u>Formülasyon</u>	<u>gr/L</u>
Beef, dehydrated infusion from	300,0 gr/L
Casein hydrolysate	17,5 gr/L
Starch	1,5 gr/L
Agar	17,0 gr/L
pH 7,3±0,1, 25°C'de,	

1000 ml distile suya 38 gr Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM 0337) ilave edilerek, homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. 121°C'de 15 dakika sterilizasyon sonrasında, antibiyotik duyarlılık testi için 50°C'ye kadar soğutulmuştur. Takiben içerisine İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda yetiştirilen atlardan elde edilen %5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β-NAD ilave edilmiş ve 25 ml olacak şekilde Biyogüvenlik kabininde petrilere aktarılmıştır.

3.1.7. Brain Heart Infusion Agar (Sigma-Aldrich, 70138)

<u>Formülasyon</u>	<u>gr/L</u>
Brain extract	7,8 gr/L
Heart extract	9,7 gr/L
Proteose peptone	10,0 gr/L
Sodium chloride	5,0 gr/L
D(+)- Glucose	2,0 gr/L
Disodium hydrogen phosphate	2,5 gr/L
Agar	15,0 gr/L
pH 7,4±0,2, 25°C'de,	

1000 ml distile suya 52 gr Brain Heart Infusion Agar (Sigma-Aldrich, 70138) ilave edildikten sonra homojenize edilmiş ve otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya) yardımıyla 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemi uygulanmıştır.

3.1.8. Moleküler analizlerde kullanılan solüsyonlar

- ✓ Lysozyme 50000 U/mg (Merck, 05281)
- ✓ Glycerol (Sigma-Aldrich, G5516, Germany)
- ✓ B-Nicotinamide Adenine Dinucleotide (β -NAD) Biolab Inc. NAD10025
- ✓ Ethanol Absolute (Sigma-Aldrich, 32221)
- ✓ Boric Acid (PlosOne, 500g, 17-1322-01)
- ✓ MICE Evaluator Strip (Thermo Fisher Scientific, UK)
- ✓ dNTP Set (Thermo Fisher Scientific, R0182)
- ✓ 10 mM Tris-HCL, pH 8,0
- ✓ Safe View Classic (ABM, G108)
- ✓ Ethidium Bromide (E1510-10ml, Sigma-Aldrich)
- ✓ GeneRuler 100 bp DNA Ladder 0,5 μ g/ μ l, 50 μ g (Thermo Fisher Scientific, SM0241)
- ✓ Seakem® Gold Agarose (Lonza, 125 gr)
- ✓ 2- Propanol (Sigma-Aldrich, 24137)

- ✓ Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) (Thermo Fisher Scientific.60-00-4) (0.5 M Solution of Ph 8.0 (for DNA Work)
- ✓ Phenol/Chloroform/Isoamyl Alcohol (Amresco, K169)
- ✓ 25 mM MgCl₂ (Thermo Fisher Scientific)
- ✓ Tag DNA Polymerase 5 U/μL, 500 U (Thermo Fisher Scientific, EP0402)
- ✓ E-test (BioDisc, Sweden)
- ✓ Trizma® Base (Sigma-Aldrich, T1503, CAS no:77-86-1)
- ✓ SDS pure Ph. Eur. (AppliChem, A4259, 1000)
- ✓ 10X Tag Buffer with KCL (Thermo Fisher Scientific)

3.1.9. Kullanılan alet ve ekipmanlar

- ✓ +4°C ve -20°C'li çift kapılı buzdolabı (Samsung, RSA1STSL, Güney Kore)
- ✓ Mc Farland Densitometresi (Biosan, Litvanya)
- ✓ Faz-kontrast Mikroskop (10X, 40X ve 100X objektif, Olympus)
- ✓ Vorteks karıştırıcı 2500 devir/dakika (Velp Scientifica, İspanya)
- ✓ Pipet-steril pipet ucu (Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- ✓ Magnetik karıştırıcı (VWR Almanya)
- ✓ Etüv (Memmert, IN55, Almanya)
- ✓ Kuru Blok (Grant-Bio, PCH-2, İngiltere)
- ✓ Otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya)
- ✓ Pulsed-Field Jel Elektroforez Cihazı (CHEF-DR II, Biorad)
- ✓ Çalkalamalı su banyosu (Memmert, Almanya)
- ✓ Buzdolabı -20°C (Bosch)
- ✓ Stomacher (Interscience, Fransa)
- ✓ Mini santrifüj (Isolab, D1008, Almanya)

- ✓ Steril biogüvenlik kabini (Class II)
- ✓ Elektrikli pipet pompası (Isolab, Almanya)
- ✓ Terazi (RADWAG, WTB2000, Polonya)
- ✓ Santrifüj (Hettich, MICro 120, Almanya)
- ✓ Hassas terazi (Sartorius, CP224S, Almanya)
- ✓ Derin dondurucu -80°C (Hettich, Almanya)
- ✓ Jel görüntüleme sistemi (Viber Lourtmat, Almanya)
- ✓ Elektronik saat (Isolab, Türkiye)
- ✓ Thermal cycler PCR cihazı (Biorad, PTC0200, Meksika)
- ✓ Mikropipet (10-100-1000 Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- ✓ Güç kaynağı ve elektroforez sistemi (Thermo Fisher Scientific, Easycast-B1, Amerika Birleşik Devletleri)

3.2. GEREÇ

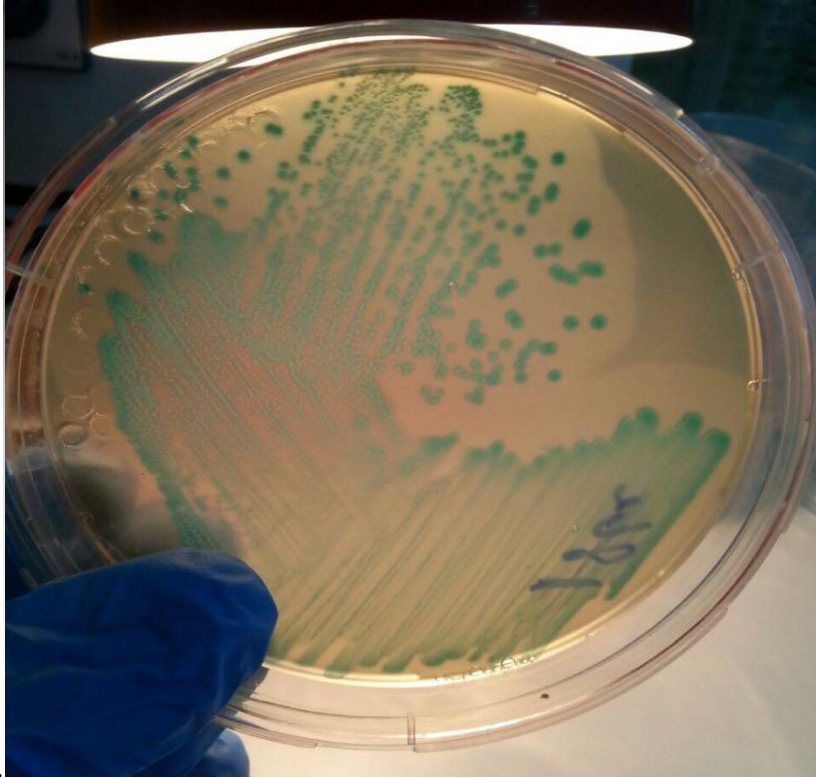
3.2.1. Numune alımı

Karadeniz'den avlanan ve İstanbul İli Kumkapı Balık Hal'inde satışa sunulan balıklar (Tekir ve Mezgit), Aralık 2013 ile Mayıs 2014 arasındaki farklı zamanlarda steril numune poşetlerine aseptik koşullarda alınıp termobox aracılığıyla (+4°C) İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı İleri Moleküler Analiz Laboratuvar'ına getirilmiştir. Elde edilen örnekler kısa süre analize alınmıştır.

3.2.2. Mikrobiyolojik ekim ve klasik kültürel izolasyon

EN ISO 11290-1 (ISO, 2004) tarafından bildirilen standarda göre temin edilen balık örneklerine *L. monocytogenes*'in izole edilmesi için rinse metod yöntemi kullanılarak 500 ml %0,9'luk Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) yardımıyla homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Takiben bek alevi yanında balıkların solungaç, deri, bağırsaklar ve kuyruk kısmından pens ve makas aracılığıyla toplam 25 gr balık örneği ve sıvı kısımdan alınıp steril stomacher poşetine yerleştirilmiştir. Sonrasında, içerisine 225 ml Half-

Fraser broth (Oxoid CM 895) eklenip, stomacherde (Interscience, Fransa) 3 dakika homojenizasyon işlemi yapılmış ve 30°C’de 24 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemi tamamlanmıştır. Ön zenginleştirme işleminin ardından elde edilen kültürden 0,1 ml, 10 ml Fraser Broth (Oxoid CM 895) içerisine ilave edilmiş ve 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonra inkübe edilen Fraser Broth’tan 10 µl alınmış ve ALOA Agara (Oxoid CM 1084) inoküle edilerek 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, ALOA Agarda tespit edilen mavi-yeşil turkuaz renkli opak haleli koloniler, tekrar ALOA Agara geçilerek doğrulaması yapılmış ve ardından biyokimyasal testler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3-2 : ALOA besiyerinde *L. monocytogenes*'in görüntüsü

3.2.3. Biyokimyasal testler

Biyokimyasal testlerin yapılması için, içerisinde Tryptone Soya Agar (TSA) (Oxoid CM 131) bulunan petrilere ekim yapılmış ve 37°C’de 24-48 saat inkübasyon işlemi uygulanmıştır. Petride üremiş olan kolonilere; Gram boyama, oksidaz, hemoliz ve katalaz testleri yapılmıştır (Aznar ve Alarcon, 2002).

3.2.3.1. Gram boyama

Bakterilerin gram-pozitif veya gram-negatif olduğunun tespiti için TSA'daki üremiş olan kolonilerden bek alevi yanında öze kullanılarak bir koloni alınmıştır. Steril lama bir damla %0,9'luk NaCl damlatılıp, elde edilen koloni lam üzerine yayılarak dağıtılmıştır. Bekletilerek havada veya bek alevinin üzerinden geçirilerek fiziksel tespit yapılmıştır.

Ticari Gram boyama seti (GBL®, 5026-100, Türkiye)'ndeki çözeltiler kullanılarak fiziksel tespit yapılan preparatlara;

- ✓ Kristal moru çözeltisi ile lamın üzeri kaplanarak, 1 dakika sonra çözelti dökülmüştür.
- ✓ Distile su yardımıyla 15 saniye yıkama işlemi yapılmıştır.
- ✓ Lügol çözeltisi ile lamın üzeri kaplanarak, 1 dakika sonra çözelti dökülmüştür.
- ✓ Distile su yardımıyla 15 dakika yıkama işlemi yapılmıştır.
- ✓ Denatüre alkol çözeltisi ile lamın üzeri kaplanarak, 15 saniye sonra çözelti dökülmüştür.
- ✓ Bu işlem bir kez daha tekrarlanmıştır.
- ✓ 15 saniye distile su yardımıyla yıkama işlemi yapılmıştır.
- ✓ Sulu fuksin çözeltisi ile lamın üzeri kaplanarak, 30 saniye sonra çözelti dökülmüştür.
- ✓ 15 saniye distile su yardımıyla yıkama işlemi yapılmıştır.

Yıkanan preparatlar kurutma kağıdı üzerine belirli aralıklarla konulmuştur. Havada bekletilerek preparatların kurumaları sağlanmıştır. Kurutulan preparatlar faz-contrast mikroskopunda (Olympus) 100X objektifi ile değerlendirilmiştir. Kullanım kılavuzuna göre mavimsi mor renkli bakteriler Gram-pozitif, kırmızı renkli bakteriler Gram-negatif olarak saptanmıştır. Küçük çubuk şeklinde ve Gram-pozitif bakteriler *L. monocytogenes* yönünden şüpheli olarak değerlendirilmiş ve analiz edilmeye devam edilmiştir.

3.2.3.2. Katalaz testi

TSA'da üremiş olan kolonilerden bek alevi yanında öze yardımıyla bir koloni alınmıştır. Alınan koloni bir lam üzerinde bir yada iki damla %3'lük H₂O₂ ile karıştırılmıştır. Lam üzerinde 15 saniye içerisinde gaz (O₂) oluşturan suşlar, katalaz pozitif olarak belirlenmiştir (Lancette ve Bennett 2001).

3.2.3.3. Oksidaz testi

Steril kurutma kağıdı steril bir petri içerisine konulmuştur. FDA-BAM'da belirtilen şekilde hazırlanan oksidaz solüsyonu, kağıdın üzerine damlatılmış ve TSA'da üremiş olan bir yada birkaç koloni öze yardımıyla alınarak kağıdın üzerindeki solüsyona batırılmıştır. Pembeden koyu mora kadar şekillenen renk değişimleri oksidaz pozitif olarak belirlenmiş, fakat herhangi bir renk değişimi olmaması durumu ise oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir (FDA 2013).

3.2.4. CAMP testi

β -hemoliz yapan *L. monocytogenes*'i tespit etmek için %5 koyun kanı içeren TSA'ya birbirine paralel olarak çizgi tarzında ekimi yapılan *S. aureus* ATCC®25923 ve *Rhodococcus equi* ATCC®6939 arasına *L. monocytogenes* şüpheli suşlar ekilmiştir. Ekim, *L. monocytogenes* şüpheli olan suşlar ile referans suşlar arasındaki uzaklık 2-4 mm olacak ve temas etmeyecek şekilde yapılmıştır (FDA 2013). Petriler 35±2°C'de 24±2 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'de belirtildiğine göre CAMP testinde; *L. monocytogenes* ile *L. seeligeri* için *S. aureus* referans suşunun bulunduğu tarafta, *L. ivanovii* için *R. equi* referans suşunun bulunduğu tarafta hemoliz alanı oluşmakta ve *L. innocua* ile *L. welshimeri* için her iki tarafta da hemoliz alanı şekillenmemektedir (Seeliger ve Jones 1986; Fernández-Garayzabal ve ark. 1996).

L. monocytogenes olarak tanımlanan suşlar, %20 gliserol içeren 1 ml Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid, CM 129) içerisinde -20°C'de bir gece bekletilerek, daha sonra kullanmak için -80°C'de (Nuare, Amerika) saklanmıştır.

3.2.5. Kültürel yöntemle *L. monocytogenes* olarak tanımlanan suşların PCR ile Doğrulanması

3.2.5.1. Genomik DNA ekstraksiyonu

–80°C’de saklanan *L. monocytogenes* suşları 3 ml TSB’de 24 saat 37°C’de çalkalamalı etüvde bekletilmiştir. Daha sonra TSB içerisinde 500-1000 µl alınarak eter kloroform yöntemi ile DNA ekstraksiyonu yapılmıştır (Liu ve ark. 2004).

3 ml TSB içinde 16 saat 37°C’de geliştirilen bakterilerden 1 ml, 15 dakika 14000 rpm’de santrifüj ile pellet haline getirilmiştir. Sonrasında 1xTE oluşturmak için; 0,1 ml 0,5 M EDTA pH 8,0 ve 0,5 ml 1 M Tris-HCL pH 8,0 elde edilerek 49,4 ml dH₂O içerisine eklenmiştir ve her suş için; 4 mg/ml lizozim (Sigma), 250 µl 1xTE içerisine ilave edilmiştir.

- ✓ Elde edilen 250 µl 1XTE ve 4 mg/ml lizozim karışımı, her izolat için pelletlere ilave edilerek 37°C’de 30 dakika su banyosu (Memmert, Almanya) içerisinde bekletilmiştir.
- ✓ Daha sonra, 50 µl %10 SDS (Applichem, ABD) ve 10 µl (10 mg/ml) proteinaz K (Sigma, Almanya) ilave edilmiştir.
- ✓ Su banyosu içerisinde 56°C’de 2 saat bekletilmiştir.
- ✓ Sonrasında 1:1 Phenol/chloroform/isoamyl alcohol (Amresco, Amerika Birleşik Devletleri) ilave edilmiştir.
- ✓ Santrifüj yapıldıktan sonra üst bölgedeki aquöz faz, orta bölgedeki interfaz bölümüne temas etmeden steril tüplere alınmıştır.
- ✓ 350 µl bir hacim isopropil alkol (Sigma, Almanya) ve 50 µl 5 M NaCl ilave edilerek 15 dakika 14000 rpm’de santrifüj işlemi uygulanmıştır.
- ✓ Bunların sonucunda şekillenen DNA’ya 1 ml %70 Et-OH ilave edilerek vortexlenmiştir.
- ✓ 10 dakika 14000 rpm’de santrifüj işlemi uygulanmış ve sonrasında 37°C’de kuru blok (Biosan) içerisinde kurutma işlemi yapılarak etanol’ün uçması sağlanmıştır.
- ✓ En sonunda 1XTE içerisine (100 µl) ilave edilmiş ve DNA hasar görmeyecek biçimde karıştırılacak –20°C’de saklanmıştır.

- ✓ Ekstraksiyon işlemi sonrasında gen varlığını tespit etmek amacıyla 5 µl genomik DNA, 1-2 µl loading dye içerisine konulmuştur. Karışım, oluşturulan %0,75'lik jel içerisinde güç kaynağı (Biorad) yardımıyla 40 dakika 120 volt akım ile koşturulmuştur.

3.2.5.2. PCR Analizleri

Her suş için 5 µl genomik DNA, 3 µl MgCl₂ (25 mM) (Thermo), 1 µl revers primer (10 µM), 5 µl dNTP mix (her bir dATP, dCTP, dGTP ve dTTP'den 2 mM) (Thermo), 5 µl 10X reaksiyon tamponu KCl (Thermo), 1 U (0,24 µl) Taq DNA polimeraz (Thermo), 1 µl forward primer (10 µM) hazırlanarak toplam 50 µl olması için geri kalan kısmına steril dH₂O ilave edilmiştir.

3.2.5.3. *L. monocytogenes* olarak tanımlanan suşların doğrulanması

Kültürel yöntemlerle *L. monocytogenes* olarak tespit edilen suşların doğrulamalarının yapılabilmesi için *mono A-B* (400 kb) geninin var olup olmadığı PCR analizleriyle araştırılmıştır.

monoA-B (400 bp) primerleri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 95°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 95°C'de 1 dakika, 53°C'de 45 saniye ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyler'a (Biorad, PTC0200, Meksika) bırakılmıştır (Bubert ve ark. 1999).

PCR ürünleri jele yüklenerek görüntü alınmıştır. Oluşan ampikonlar elektroforez sonucunda *monoA-B* geni içeriyorsa, suş *L. monocytogenes* olarak doğrulanmıştır.

3.2.5.4. *L. monocytogenes* suşlarının sero gruplandırılması

Sero gruplandırmada; 1/2a-3a, 1/2b-3b, 1/2c-3c ve 4b-4d-4e sero gruplarını belirlemek için gerekli olan primer dizilerinden yararlanılmıştır. *prs* (370 bp) 5'-GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG-3' ve 5'-CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG-3' için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 3 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 0,40 saniye; 53°C'de 1 dakika 15 saniye ve 72°C'de 1 dakika 15 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyler'a bırakılmıştır (Doumith ve ark. 2004a).

Imo0737 (691 bp) 5'-AGGGCTTCAAGGACTTACCC-3' ve 5'-ACGATTTCTGCTTGCCATTC-3' primer dizileri, *Imo1118* (906 bp) 5'-AGGGGTCTTAAATCCTGGAA-3' ve 5'-CGGCTTGTTCGGCATACTTA-3' primer dizileri, *ORF2819* (471 bp) 5'-AGCAAATGCCAAACTCGT-3' ve 5'-CATCACTAAAGCCTCCCATTG-3' primer dizileri, *ORF2110* (597 bp) 5'-AGTGGACAATTGATTGGTGAA-3' ve 5'-CATCCATCCCTTACTTTGGAC-3' primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 3 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 0,40 saniye, 53°C'de 1 dakika 15 saniye ve 72°C'de 1 dakika 15 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cycler'a bırakılmıştır (Doumith ve ark. 2004a).

PCR ürünleri jele yüklenerek görüntü alınmıştır. Oluşan ampliconlar elektroforez sonucunda bir suşta yalnızca *Imo0737* geni içerirse 1/2a veya 3a, *Imo0737* ve *Imo1118* genleri içerirse 1/2c veya 3c, *ORF2819* geni içerirse 1/2b, 3b veya 7, *ORF2819* ve *ORF2110* genleri içerirse 4b, 4e veya 4d serotipi olarak tanımlanmıştır (Doumith ve ark. 2004a).

3.2.5.5. PCR analizleri ile virülens ve patojenite genlerinin tespiti

L. monocytogenes suşlarında virülens genlerin mevcudiyetinin araştırılması için *lip1-2a* (274 bp), *prfA* (571 bp), *fri*(471 bp), *mpl*(1473 bp), *actA* (268 bp veya 385 bp), *plcA* (129 bp), *plcB*(261 bp), *dltA* (1 kb), *gtcA* (251 bp), *inlA* (800 bp), *inlC* (517 bp), *inlJ* (238 bp), *flaA* (864 bp), *iap* (453 bp) ve *hlyA* (234 bp) genlerine tanımlanmış primerler yardımıyla bu genlerin var olup olmadıkları PCR analizleri ile incelenmiştir.

3.2.5.6. *L. monocytogenes*'e özgü çeşitli virülens genlerin saptanması

prfA (571 bp) 5'-GGTATCACAAAGCTCACGAG-3' ve 5'-CCCAAGTAGCAGGACATGCTAA-3' primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cycler'a (Biorad, PTC0200, Meksika) bırakılmıştır. *mpl* (1473 bp) 5'-GGCTATTTCACTATGACGG-3' ve 5'-GCTTCCCAAGCTTCAGCAACT-3' primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 3 dakika; bağlanma 25 döngü 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cycler'a bırakılmıştır (Nishibori ve ark. 1995).

plcA (129 bp) 5'-CGAGCAAAACAGCAACGATA-3' ve 5'-CCGCGGACATCTTTTAATGT-3' primer dizileri (Leimeister-Wachter ve ark. 1991) ile *plcB* (261 bp) 5'-GGGAAATTTGACACAGCGTT-3' ve 5'-ATTTTCGGGTAGTCCGCTTT-3' primer dizileri (Vázquez-Boland ve ark. 1992a) başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 saniye, 53°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır.

hlyA (234 bp) 5'-CGGAGGTTCCGCAAAAGATG-3' ve 5'-CCTCCAGAGTGATCGATGTT-3' primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 40 döngü 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır (Mengaud ve ark. 1989; Furrer ve ark. 1991).

actA (268 bp ve 385 bp) 5'-GACGAAAATCCCGAAGTGAA-3' ve 5'-CTAGCGAAGGTGCTGTTTCC-3' primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 saniye, 51°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır (Jaradat ve ark. 2002).

inlA (800 bp) 5'-ACGAGTAACGGGACAAATGC-3' ve 5'-CCCGACAGTGGTGCTAGATT-3', *inlC* (517 bp) 5'-AATTCCCACAGGACACAACC-3' ve 5'-CGGGAATGCAATTTTTCACTA-3', *inlJ* (238 bp) 5'-TGTAACCCCGCTTACACAGTT-3' ve 5'-AGCGGCTTGGCAGTCTAATA-3' için primer dizileri PCR reaksiyonu başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır (Liu ve ark. 2007).

3.2.5.7. *L. monocytogenes*'in diğer patojenite genlerinin saptanması

Lip1-2a (274 bp), *Lip1*: 5'-GATACAGAAACATCGGTTGGC-3' ve *Lip2a*: 5'-GTGTAACCTTGATGCCATCAGG-3' primerleri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 saniye, 53°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır (D'agostino ve ark. 2004).

iap (453 bp) 5'-GGGCTTTATCCATAAAAATA-3' ve 5'-TTGGAAGAACCTTGATTA-3' için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 30 saniye, 46°C'de 1 dakika ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 5 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Thermal Cyclers'a bırakılmıştır (Slama ve ark. 2013).

Promadej ve ark. (1999) tarafından ifade edilen *gtcA* (251 bp) forward ve reverse primer dizileri için PCR reaksiyonu başlangıç denatürasyon 1 döngü 95°C'de 10 dakika; bağlanma 40 döngü 94°C'de 45 saniye, 52°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır. *dltA* (1000 bp), forward AAGTAGTGCAGTTTAGGAGAGGA ve reverse AGATTGTACCACCGGATGTC primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 30 saniye, 58°C'de 30 saniye ve 72°C'de 2 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır (Kyoui ve ark. 2014).

fri (471 bp) forward ATGAAAACAATCAACTCAGT ve reverse CTACTCTAATGGAGCTTTT primer dizileri ile *flaA* (864 bp) forward ATGAAAGTAAATACTAATATC ve reverse TTAGCTGTTAATTAATTGAGT primer dizileri için başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 saniye, 47°C'de 45 saniye, 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olarak Termal Cyclers'a bırakılmıştır (Slama ve ark. 2013).

PCR ile oluşan ürünler, DNA büyüklüklerine göre %1-1,5'lik agaroz jelin 50-55°C'ye kadar soğuması sonrasında mutajen olmayan 5 µl SafeView (G468, ABM, Canada) DNA boyası içerisine yerleştirilmiştir. Ardından su terazisi ile eğimsiz olacak şekilde yüzey gözden geçirilip, sabitlemek için bant veya başka bir materyal kullanılmış ve örnek sayısı ile kuyucuk genişliklerine bakılarak kuru jel tepsisine tarak konulmuştur. Jelin boşaltılmasını takiben jel yüzeyi ve kuyucukların önü incelenerek baloncuk kalmaması sağlanmıştır. Jel oda sıcaklığında 20-30 dakika bekletilip, buzlu cam şekline ulaşmasını müteakip tarak dikkatli bir şekilde jelden çıkarılarak Thermo Easycast B1 elektroforez tankına konulmuştur ve 1XTAE (0,04 M Tris-acetate ve 0,001 M EDTA) kuyucukları kaplayacak şekilde dökülmüştür. Oluşan PCR ürününden 10 µl, 1-2 µl loading dye'ya eklenerek kuyucuklara yerleştirilmiştir. Jele gen büyüklükleri göz önüne alınarak 100 bp (Thermo, Almanya) ve 1 kb (Thermo, Almanya)'lik 4 µl cetvel

ilk ve son kuyucuklara yerleştirilmiştir. Thermo EC 300 XL güç kaynağı (Amerika Birleşik Devletleri) 120 volt akımla yatay elektroforez sistemiyle anottan katoda koşturulması için kullanılmıştır. Elektroforezi takiben Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat, Almanya) ile araştırılan genlerin uygun band aralıklarında bulunup bulunmadığı kontrol edilmiştir.

3.2.6. Antibiyotik duyarlılık tespiti

L. monocytogenes olarak izole edilen suşlara, EUCAST standartları uyarınca antibiyotik duyarlılık testi uygulanmıştır (EUCAST 2017 Version 6.0).

%5 mekanik defibrine at kanı ve 20 mg/L beta Nikotinamid Adenin Dinükleotid (Biolab Inc., NAD10025) bulunan Mueller Hinton Agar (Oxoid 337) 25 ml steril mezura konulmuştur. Sonrasında petrilere eşit şekilde dağıtılarak disk diffüzyon yöntemi kullanılıp duyarlılıkları saptanmıştır. TSA'ya geçilerek üreyen koloniler 5 ml %0,85'lik Fizyolojik Tuzlu Su içeren steril tüplerde süspansiyon edilmiştir. Süspansiyon sonrası McFarland densitometre cihazı (Biosan, Litvanya) kullanılarak 0,50 McFarland (10^8 cfu/ml) turbidite olacak şekilde düzenlenmiştir. Bu karışım Mueller-Hinton agara swab aracılığıyla 90 derecelik açılarla üç taraflı olarak sürülerek ekim işlemi yapılmıştır. Petrilerin içine 3 antibiyotik diski eşit aralıklarla yerleştirilmiş ve $35\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi için antibiyotik disklerinden (Oxoid) ampicillin (CT0002B, 2 µg), penicillin G (CT0152B, IU), erythromycin (CT0020B, 15 µg), meropenem (CT0774B, 10 µg), trimethoprim-sulfamethoksazole (ko-trimoksazol) (CT0052B, 25 µg) antibiyotikleri *L. monocytogenes* suşlarının bulunduğu petrilere uygulanmıştır. Antibiyotik disklerinin çevresindeki inhibisyon zon sınırları ölçülerek, EUCAST standartları aracılığıyla suşların antibiyotiklere duyarlılığı ve dirençliliği belirlenmiştir (EUCAST 2018 Version 8.0).

3.2.7. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerlerinin saptanması

Antibiyotiklere dirençli olarak saptanan suşların MIC değerleri E-test (BioDisc, İsveç) ve MICE stripleri (Thermo, İngiltere) ile gerçekleştirilmiştir (EUCAST 2017 Versiyon 5.0). Sonuçlar EUCAST'daki MIC değerleri ile kıyaslanmıştır.

3.2.8. PFGE

L. monocytogenes için altın standart metot olarak değerlendirilen "Pulsed Field Gel Electrophoresis" CDC tarafından tavsiye edilen PulseNet PFGE protokolü esas alınarak uygulanması amaçlanmıştır (Gerner-Smidt ve ark. 2006; CDC 2017).



4. BULGULAR

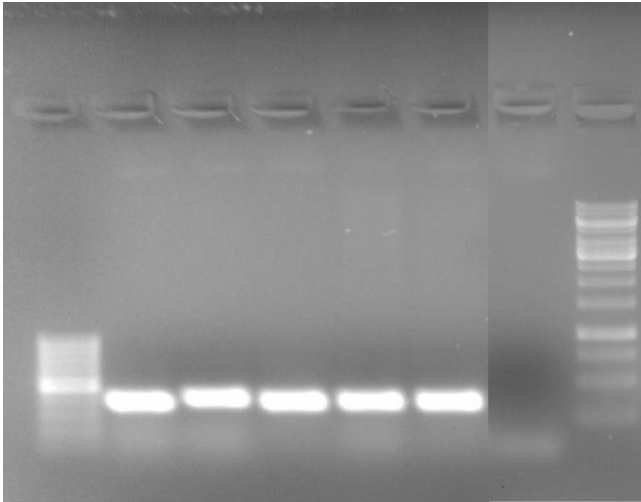
İstanbul İli Kumkapı Balık Hali'nde satışa sunulan ve Karadeniz'den avlanan 500 adet balık numunesi (Tekir ve mezigit) analize alınmıştır.

257 adet tekir (*Mullus surmuletus*) ve 243 adet mezigit (*Merlangius merlangus euxinus*) olmak üzere, toplam 500 adet balık örneği 2013 Aralık-2014 Mayıs tarihleri arasında temin edilmiştir.

4.1. Klasik kültürel analiz sonuçlarına ait bulgular

Kültürel ekimlerde şüpheli 1 adet *L. monocytogenes* suşu tespit edilmiştir. Elde edilen suşa kimyasal testler uygulanmıştır. İzole edilen suş gram boyama testinde gram-pozitif (+) çubukçuk olarak saptanmış, katalaz testinde pozitif (+) ve oksidaz testinde negatif (-) olarak bulunmuştur. CAMP testinde ise, sadece *R. equi* tarafında raket benzeri bir hemoliz alanı tespit edilmiştir.

4.2. *L. monocytogenes* olarak tanımlanan suşun PCR ile verifikasyonuna ait bulgular



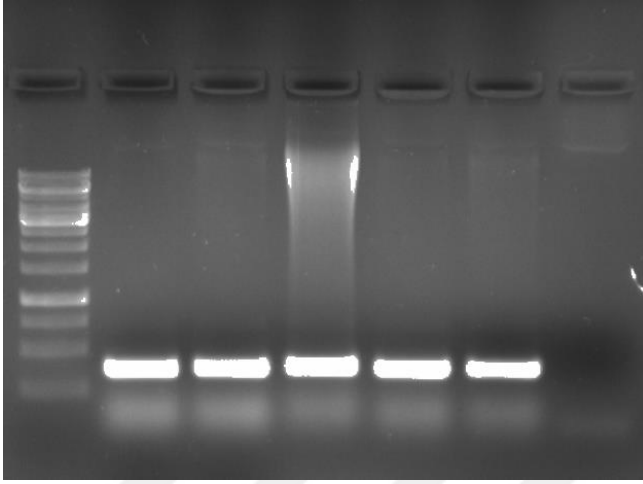
Şekil 4-1 : monoA-B (400 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

PCR analizinde *monoA-B* geninin *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir. PCR aracılığıyla *monoA-B* geninin belirlenmesi ile bulunan suşun *L. monocytogenes* olduğu doğrulanmıştır (Şekil 4-1).

4.2.1. *L. monocytogenes* suşunun PCR ile serotiplendirilmesine ait bulgular

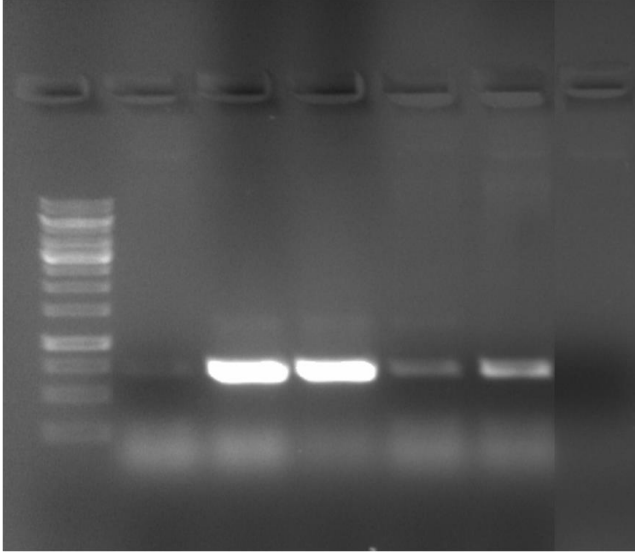
Çalışmamızda bulunan *L. monocytogenes* izolatının serogrubunu belirlemek için *prs*, *Imo0737*, *Imo1118*, *ORF2110* ve *ORF2819* genlerine bakılmıştır.



Şekil 4-2 : *prs* (370 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 1 kb DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su)

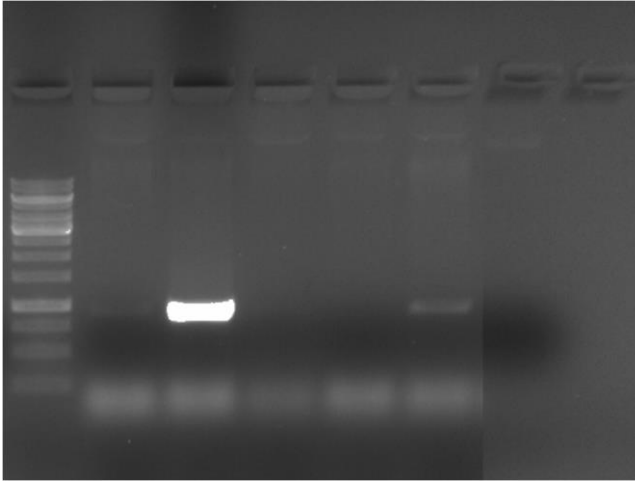
PCR analizinde *prs* geninin *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-2).



Şekil 4-3 : *Imo0737* (691 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 1 kb DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su)

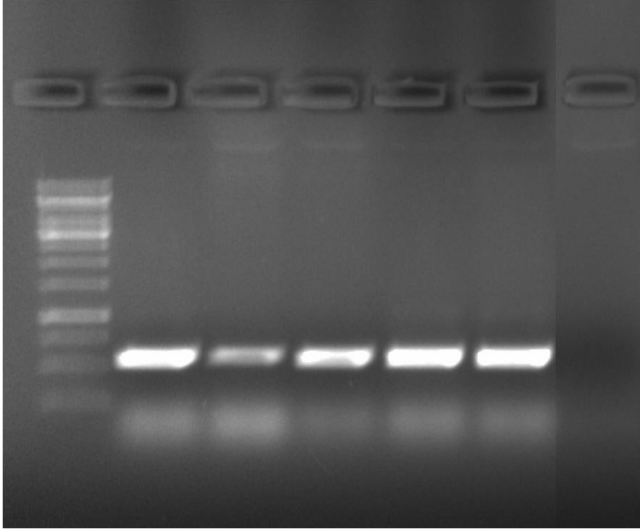
PCR analizinde *Imo0737* geninin *L. monocytogenes* izolatında var olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-3).



Şekil 4-4 : *Imo1118* (906 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 1 kb DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su)

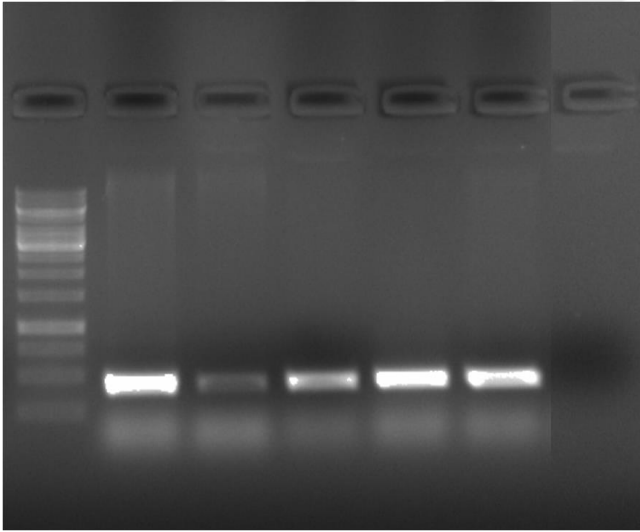
PCR analizinde *Imo1118* geninin *L. monocytogenes* izolatında var olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-4).



Şekil 4-5 : *ORF2110* (597 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 1 kb DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su)

PCR analizinde *L. monocytogenes* izolatında *ORF2110* geninin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-5).



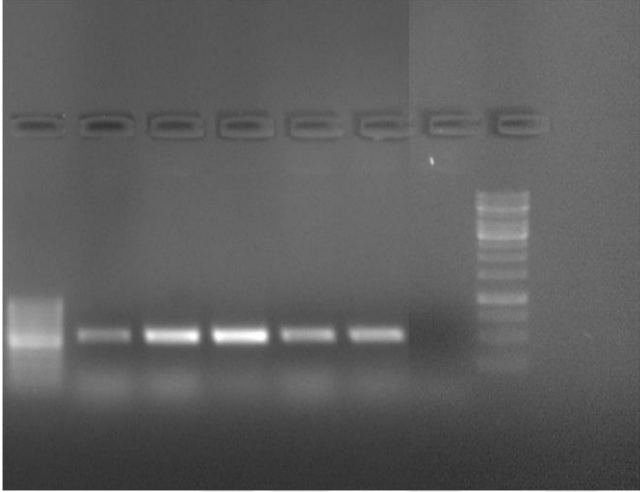
Şekil 4-6 : *ORF2819* (471 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 1 kb DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su)

L. monocytogenes izolatında *ORF2819* geninin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-6). *ORF2110* ve *ORF2819* genlerinin *L. monocytogenes* suşunda bulunması nedeniyle, izolatın serogrubu 4b-4d-4e olarak tanımlanmıştır.

4.2.2. *L. monocytogenes*'e özgü çeşitli virülens genlerin PCR ile saptanmasına ait bulgular

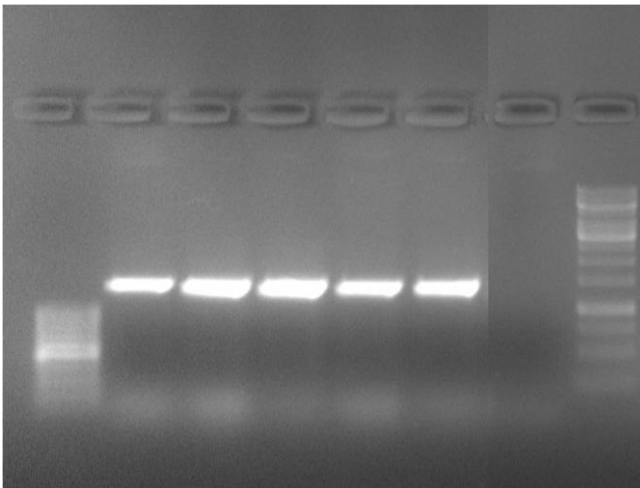
Tespit edilen *L. monocytogenes* suşuna ait genlerin PCR jel görüntüleri aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-7 : *prfA* (600 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

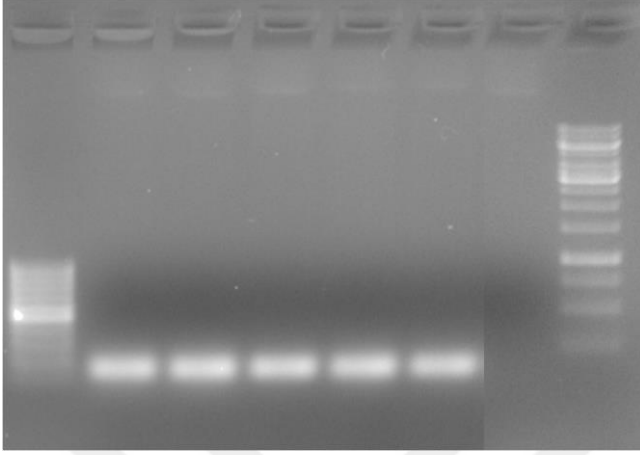
prfA geninin PCR analizinde *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-7).



Şekil 4-8 : *mpl* (1473 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

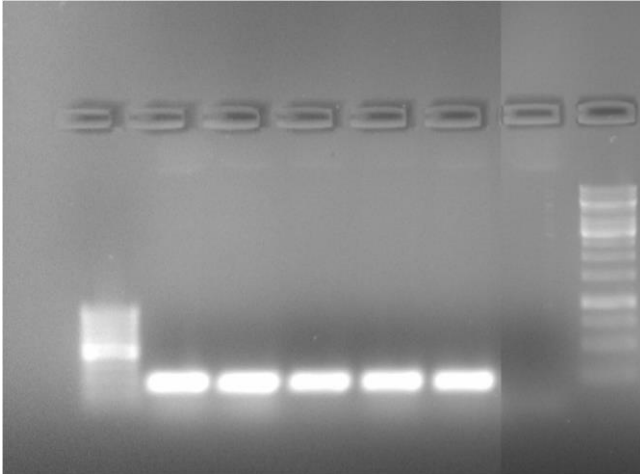
mpl geninin PCR analizinde *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-8).



Şekil 4-9 : *plcA* (129 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

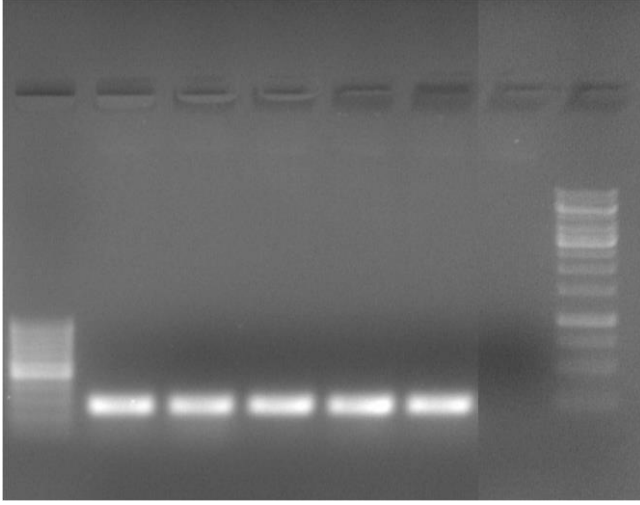
plcA geninin PCR analizinde *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-9).



Şekil 4-10 : *plcB* (261 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

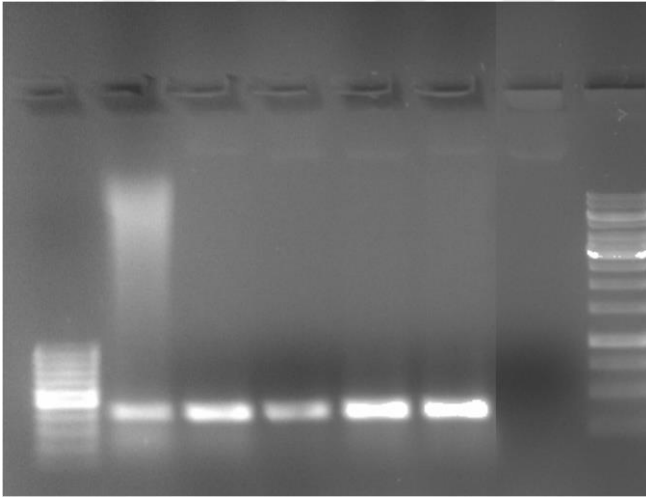
plcB geninin PCR analizinde *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-10).



Şekil 4-11 : *hlyA* (234 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

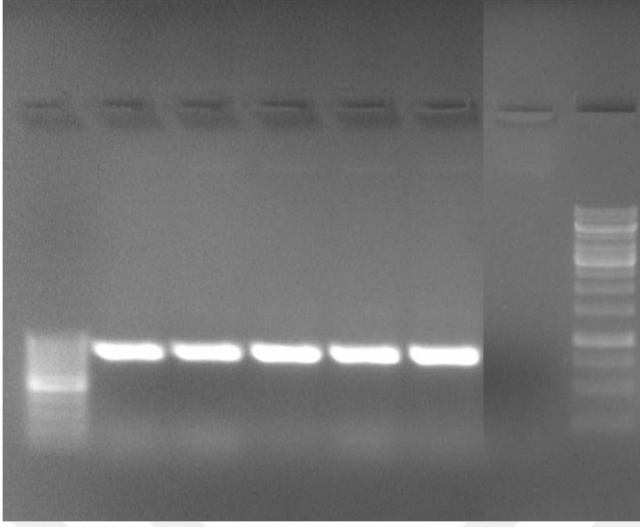
hlyA geninin PCR analizinde *L. monocytogenes* izolatında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-11).



Şekil 4-12 : *actA* (268-385 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

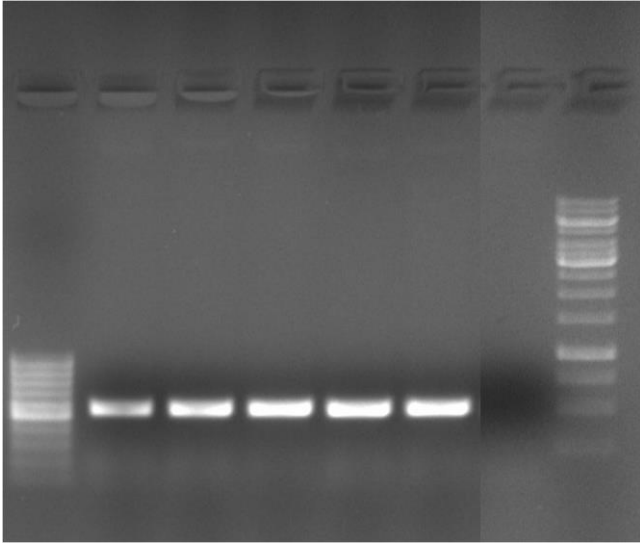
actA geninin PCR analizinde 268 bp ve 385 bp olarak iki bağlanma noktası bulunmaktadır. 385 bp'de bantların tespiti *L. monocytogenes* suşunda, *ActA* geni bulunduğunu göstermiştir (Şekil 4-12).



Şekil 4-13 : *inlA* (800 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

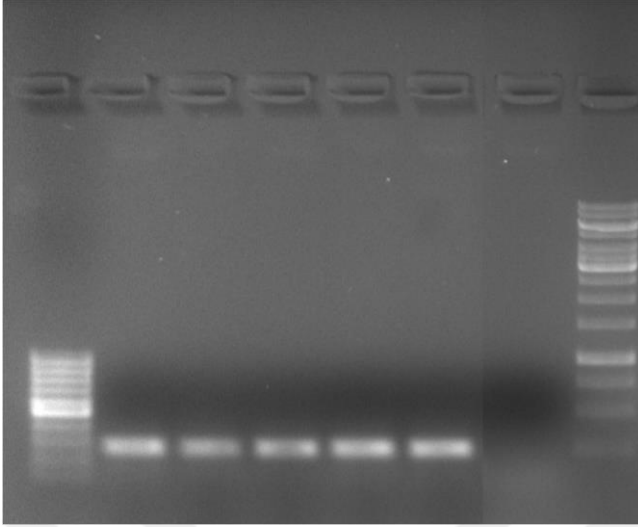
inlA geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-13).



Şekil 4-14 : *inlC* (517 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

inlC geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-14).

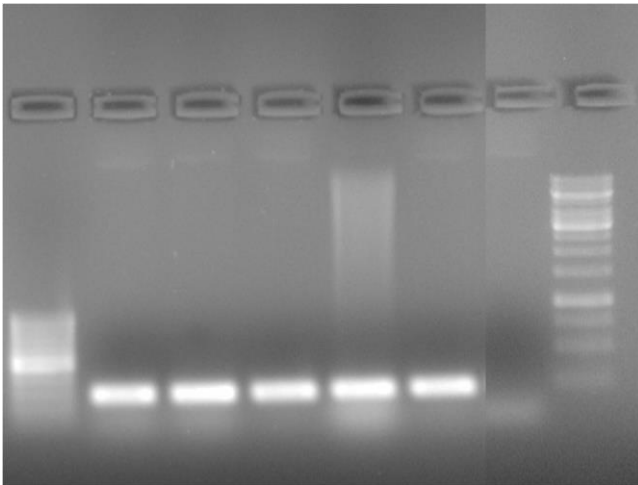


Şekil 4-15 : *inlJ* (238 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

inlJ geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-15).

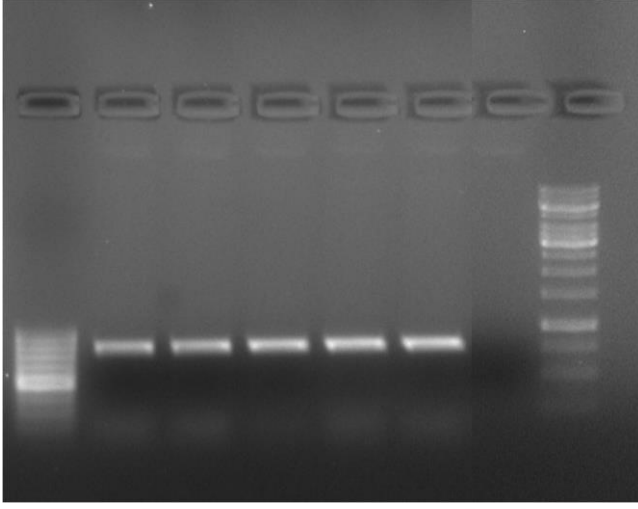
4.2.3. *L. monocytogenes*'in diğer patojenite genlerinin saptanmasına ait bulgular



Şekil 4-16 : *LipI-2a* (274 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

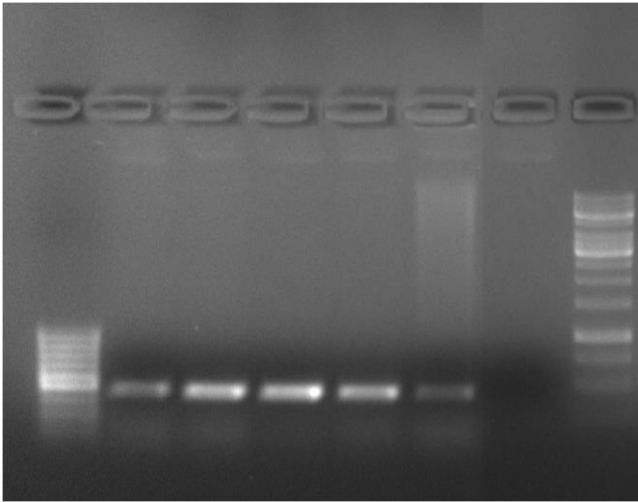
LipI-2a geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-16).



Şekil 4-17 : *flaA* (864 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

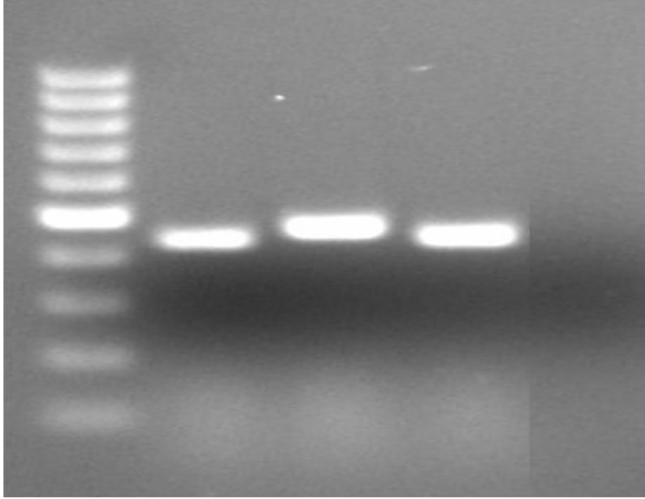
flaA geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin mevcut olduğu saptanmıştır (Şekil 4-17).



Şekil 4-18 : *fri* (471 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

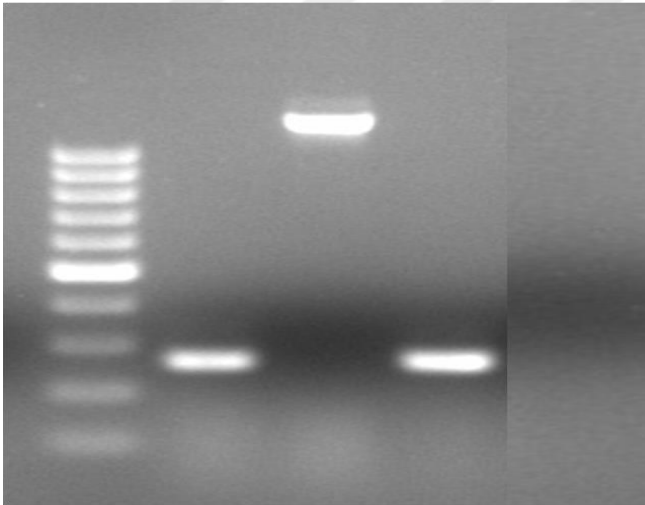
L. monocytogenes izolatının PCR analizinde, *fri* geninin ilgili izolatta bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-18).



Şekil 4-19 : *iap* (453 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19115 5. negatif kontrol (steril ultra pure su).

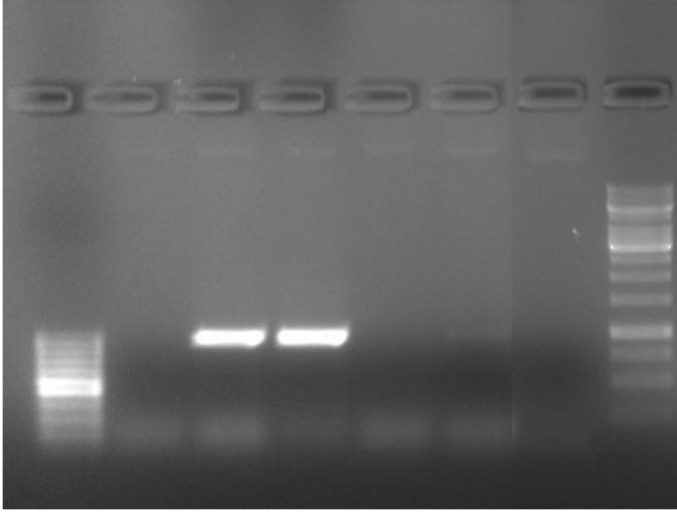
iap geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin mevcut olduğu saptanmıştır (Şekil 4-19).



Şekil 4-20 : *gtcA* (251 bp) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19115 5. negatif kontrol (steril ultra pure su).

gtcA geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4-20).



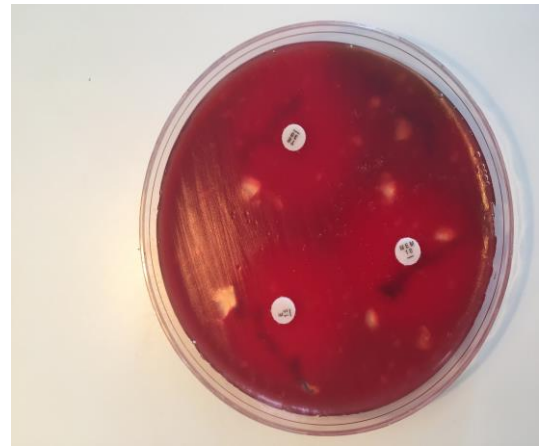
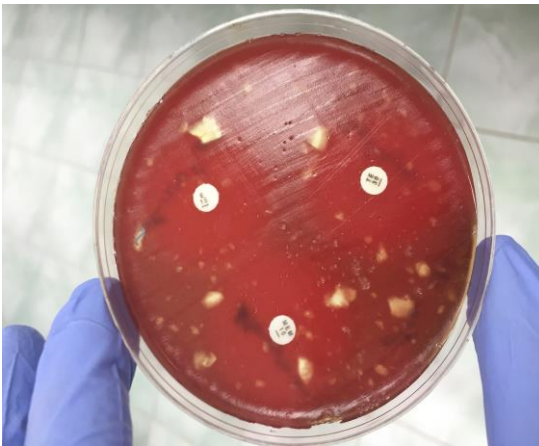
Şekil 4-21 : *dltA* (1 kb) geni PCR jel görüntüsü

Soldan sağa: 1. 100 bp DNA Marker 2. 186 3. ATCC 7644 4. ATCC 19111 5. ATCC 19115 6. ATCC 13932 7. negatif kontrol (steril ultra pure su) 8. 1 kb DNA Marker

dltA geninin PCR analizinde, *L. monocytogenes* izolatında, söz konusu genin var olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4-21).

4.3. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına ait bulgular

L. monocytogenes suşunun antibiyotik duyarlılığı ampicillin, meropenem, erythromycin, trimethoprim-sulfamethoksazole ve penicillin G antibiyotikleri ile araştırılmıştır (Şekil 4-22). Antibiyotiklerin duyarlı ve dirençli olarak sınıflandırılmasında EUCAST 2018’de ifade edilen zonların çapları ölçüt olarak alınmıştır.



Şekil 4-22 : %5 Defibrine at kanı bulunan Mueller-Hinton agarda yapılan antibiyotik disk difüzyon testi

L. monocytogenes suşu, EUCAST (2017) standartları doğrultusunda yapılan antibiyotik disk difüzyon testinde ampicillin, meropenem, erythromycin, trimethoprim-sulfamethoksazole ve penicillin G antibiyotiklerine duyarlı bulunmuştur.

4.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerlerinin saptanmasına ait bulgular

Antibiyotik disk difüzyon testinde, izole edilen *L. monocytogenes* suşu antibiyotiklere dirençli olmadığından E-Test ve MICE Testi yapılmamıştır.

4.5. PFGE sonuçlarına ait bulgular

Çalışmamızda sadece bir *L. monocytogenes* suşu izole edildiğinden PFGE analizi yapılmamıştır.

5. TARTIŞMA

L. monocytogenes, tatlı sular ile kıyı sularından sıklıkla izole edilebilen ubiquiter bir mikroorganizmadır. Buna karşın, etken nadiren derin deniz sularından da izole edilmektedir. Yağış miktarı ve gelgit hareketi gibi çevresel şartlar, sulardaki *Listeria* sayısını etkileyebilmekte ve bunun sonucu olarak doğal ortamda bulunan balıkların ve kültür balıklarının her ikisinin de deri yüzeyinde *Listeria* bulunabilmektedir (Thomas ve ark. 2012).

Bu araştırmada Karadeniz'den avlanan tekir (*Mullus surmuletus*) ve mezgit (*Merlangius merlangus euxinus*) balıklarının oluşturduğu toplam 500 adet numunenin incelenmesi sonrasında 1 (%0,2) adet numunede *L. monocytogenes* saptanmıştır. Söz konusu *L. monocytogenes* suşu, Karadeniz'in K-9 bölgesi kaynaklı olup, 2014 yılının Şubat ayında avlanan tekir balığından izole edilmiştir.

Balıklardaki *L. monocytogenes*'in düzeyini, büyük ölçüde yaşadıkları sular belirlemekte olup, bu amaçla deniz suyu ve tatlı sularda yapılan çok sayıda araştırma bulunmaktadır. El Marrakchi ve ark. (2005) Fas'ın Atlantik sahillerinden temin edilen 161 deniz suyu örneğinin 5 tanesinde (%3,1) *L. monocytogenes* izole etmiştir. Beleneva (2011) ise Güney Çin Denizi'nden temin ettiği 24 deniz suyu örneğinde *L. monocytogenes* suşuna rastlamamış iken, 10 adet balık örneğinde 1 (%10) adet *L. monocytogenes* suşu belirlemiştir. Ayrıca Japon Denizi'nden (Rusya) temin ettiği 18 deniz suyu örneğinde *L. monocytogenes* suşu izole edememesine rağmen, 44 deniz balığı örneğinde ise 5 adet (%11,4) *L. monocytogenes* suşu izole etmiştir. Diğer bir çalışmada ise, Rodás-Suárez ve ark. (2006) Meksika'da 144 deniz suyu numunesinden 12 adedinde (%8,3) ve 66 balık numunesinden 3 adedinde (%4,5) *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Tatlı sularda yapılan bir çalışmada ise, Colburn ve ark. (1990) Kaliforniya (Amerika)'da 37 tatlı su örneğinin %62'sinden *L. monocytogenes* izole etmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgulardan farklı olarak tatlı su ve deniz balıklarında daha yüksek düzeyde *L. monocytogenes* prevalansının bildirildiği araştırmalar bulunmaktadır. Davies ve ark. (2001) tarafından Fransa, Portekiz ve İngiltere'deki ticari satış yerlerinden toplanan balıklarda yapılan çalışma sonucunda; Fransa'da 26 adet

deniz balığında ve Portekiz’de ise 20 adet farklı türdeki balıkta *L. monocytogenes* bulunamamış, fakat İngiltere’den toplanan 20 adet Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda 2 adet (%10) örnekte *L. monocytogenes* saptanmıştır. Mena ve ark. (2004) Portekizli üreticiler ve perakendecilerden aldıkları 25 çiğ balık numunesinin 3 (%12)’ünde; Markkula ve ark. (2005) Finlandiya’da açık deniz çiftlikleri kaynaklı toplam 140 taze Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) numunesinin 7 (%5) adedinde *L. monocytogenes* suşu tespit etmiştir. Diğer bir çalışmada Kramarenko ve ark. (2013) tarafından Estonya’da işleme tesisleri ve perakendecilerden toplanan 317 taze ve dondurulmuş balıkta yapılan çalışmada 28 adet (%8,8); Polonya’da Kwiatek (2004) tarafından balık işleme tesislerinden toplanan 633 adet çeşitli türdeki balıkta yapılan araştırmada 8 (%1,3) adet örnekte; İtalya’da Busani ve ark. (2005) tarafından işleme tesislerinden ve perakendecilerden toplanan 3160 adet balık ve balık ürünüde yapılan çalışmada 204 adet (%6,4) numunede *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Ayrıca Yunanistan’da Filioussis ve ark. (2009) tarafından açıkta satış yapılan marketlerden toplanan 20 balık örneğinin 6 (%30)’sında *L. monocytogenes* tespit edilmiştir.

Jallewar ve ark. (2007) Hindistan’da 200 adet tatlı su balığının kaslarından ve iç organlarından aldıkları numunelerden, 26 adet (%13) *L. monocytogenes* izolatu elde etmiştir. Jamali ve ark. (2015) İran’da açıkta satış yapılan marketlerden temin ettiği toplam 488 çiğ balık numunesinin 37 (%7,6) adedinde *L. monocytogenes* izolatu elde etmiştir. İran’da yapılan diğer bir çalışmada ise, Rahimi ve ark. (2012) tarafından süpermarketlerden ve perakendecilerden toplanan 80 taze balık örneğinde 2 adet (%2,5) *L. monocytogenes* izolatu saptanmıştır. Basti ve ark. (2006) (İran) tarafından yapılan çalışmada balık çiftliğinden temin edilen 39 adet Gümüş Sazanı örneğinin (*Hypophthalmichthys molitrix*) 4 (%10,2) adedinde *L. monocytogenes*’e rastlanmış olmasına rağmen, Hazar denizinde kıyıya yakın avlanmış 68 adet balıkta *L. monocytogenes* tespit edilememiştir. Diğer taraftan, Japonya’da Handa ve ark. (2005) tarafından perakende satış yerlerinden temin edilen toplam 125 balık ve diğer su ürünleri üzerinde yapılan çalışmada sadece 3 (%2,4) örnekte *L. monocytogenes* saptanmıştır.

Ülkemizde su ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda, Ertaş ve Şeker (2005) Keban Baraj gölünde 150 adet tatlı su balığının

bağırsaklarından alınan numuneler ile yaptıkları çalışmada 10 adet numunede (%6,6); Akkaya ve ark. (2011) ise perakende balık marketlerinden alınan 100 adet balık numunesi (Hamsi, Sazan, Kefal ve Alabalık) ile yaptıkları çalışmada 4 adet numunede (%4) *L. monocytogenes* izole etmiştir.

Çalışmamız bulgularına benzer şekilde; Yamazaki ve ark. (2000) tarafından Japonya'daki süpermarketlerden elde edilen 22 adet farklı türdeki çığ balıktan 1 (%4,5)'inde *L. monocytogenes* pozitif olarak bulunmuştur. Etiyopya'da Molla ve ark. (2004) tarafından perakende satış yerlerinden toplanan 43 adet çeşitli türdeki balıkta yapılan çalışmada 1 (%2,3) adet balık örneğinde; Hindistan'da Dhanashree ve ark. (2003) tarafından perakende satış yerlerinden toplanan 87 adet deniz balığında yapılan çalışmada 1 (%1,2) adet örnekte *L. monocytogenes* belirlenmiştir. Yunanistan'da Soultos ve ark. (2007) tarafından balık pazarlarından toplanan 120 deniz balığında yapılan çalışmada 1 (%0,8) adet numunede *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Bu çalışmada incelenen deniz balıklarından 30 tanesi mezzit (*Merlangius merlangus euxinus*) balığıdır ve incelenen mezzit balığı örneklerinde *L. monocytogenes* saptanamamıştır. Benzer şekilde, çalışmamızda incelenen mezzit örneklerinin hiçbirinde *L. monocytogenes* bulunamamıştır.

Türkiye'de Siriken ve ark. (2013) tarafından perakende satış yerleri ve küçük ölçekli üreticilerden temin edilen toplam 50 adet çığ hamsi üzerinde yapılan çalışmada, bulgularımıza benzer şekilde, sadece 1 (%2) numunede *L. monocytogenes* tespit edilmiştir.

Su ürünlerinde *L. monocytogenes*'in varlığı ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda etkenin izole edilemediği bildirilmektedir (Chen ve ark. 2010; Latorre ve ark. 2007; Marian ve ark. 2012). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmada, 30 adet balık bağırsağı ve 30 adet balık derisi örneğinde *L. monocytogenes* suşu tespit edilememiştir (Chen ve ark. 2010). Benzer şekilde, Arjantin'de Laciari ve De Centorbi (2002) tarafından Atlantik sahillerinden kaynağını alan ve perakende satış yerlerinden toplanan 68 adet deniz balığında yapılan çalışmada *L. monocytogenes* bulunamamıştır.

Papadopoulos ve ark. (2010) tarafından Yunanistan'da 136 adet tatlı su balığının derisinden ve etinden örnekler alınarak yapılan incelemede *L. monocytogenes* varlığı tespit edilememiştir. Aynı şekilde İtalya'da Latorre ve ark. (2007) tarafından üretim tesislerinden ve perakendecilerden toplanan 154 adet deniz ürünüde (Balıklar ve

kabuklulardan); Sırbistan’da ise Kuzmanovic ve ark. (2011) tarafından 37 adet deniz balığında *L. monocytogenes* saptanamamıştır. Benzer şekilde, Hindistan’da Kakatkar ve ark. (2010)’nın bölgesel balık satış yerlerinden temin ettiği 42 adet tatlı su balığı örneğinde; Tayvan’da Wang ve ark. (2012) tarafından perakende satış yerlerinden ve geleneksel satış yerlerinden toplanan 30 adet farklı türdeki balık numunesinde; Tayland’ta Stonsaovapak ve Boonyaratanakornkit (2010) tarafından perakende süpermarketlerden toplanan 20 adet çeşitli türdeki balıkta; Marian ve ark. (2012)’nin Malezya’da 24 adet balık numunesi üzerinde yaptıkları çalışmada; Baek ve ark. (2000) tarafından Kore’de süpermarketlerden ve karantina istasyonlarından toplanan 45 adet çiğ balıkta; Jalali ve Abedi (2008) tarafından İran’da süpermarketlerden, perakendecilerden, bölgesel kasaplardan ve restoranlardan toplanan 61 adet çeşitli türdeki taze balıkta yapılan çalışmada *L. monocytogenes* tespit edilememiştir. Diğer taraftan, Türkiye’de yapılan bir çalışmada da Yucel ve Balci (2010), balık pazarlarından temin edilen 48 adet deniz balığının derisinden ve solungaçlarından örnekler almışlar ancak etkeni saptayamamışlardır.

Kızıldeniz, Süveyş Körfezi ve Agba’da şehirler veya endüstriyel/turizm aktivitelerinin olduğu yerlerde *L. monocytogenes*’le suyun kontaminasyonunun ifade edildiği bir çalışmada ise, El-Shenawy ve El-Shenawy (2006) (Mısır) Kızıldeniz, Akabe Körfezi ve Süveyş körfezinden temin edilen 200 su örneğinin 26 (%13)’sında, ticari satış noktalarından temin edilen 40 adet çeşitli türdeki balık ve diğer su ürünlerinin 7 (%17,5)’sinde *L. monocytogenes* pozitif olarak bulunmuştur. Elde edilen bulgular doğrultusunda, deniz suyunun içine arıtılmamış kanalizasyonun boşaltılması nedeniyle *L. monocytogenes*’le balığın kontaminasyonu için olası bir ortam oluşabileceği değerlendirilmektedir. Diğer taraftan, ruminantlar, dışkılarıyla *L. monocytogenes*’i yaymaktadırlar (Hutchison ve ark. 2004). Ayrıca, ruminant dışkılarının gübre olarak kullanıldığı tarımsal alanlardan geçen yüzey sularının *L. monocytogenes* içerdiği bildirilmektedir (Lyautey ve ark. 2007b). Buna ek olarak, yağışı müteakip toprağın üzerinden akan sular; göller, dere ve ırmaklar gibi yüzey sularına *Listeria*’nın girişini kolaylaştırmaktadır. (Thomas ve ark. 2012). Bu bağlamda, çalışmamızda izole edilen *L. monocytogenes* suşunun avlandığı balık K-9 bölgesi kaynaklı olup, bu nokta Bartın Limanı ve Bartın çayının Karadeniz’e döküldüğü yerdir. Söz konusu *L. monocytogenes*

suşunun bu bölgeden avlanan balıkta saptanması, bölgedeki suyun kontaminasyon seviyesi hakkında bilgi verebilir.

Elde edilen *L. monocytogenes* suşunda *hlyA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *flaA*, *Lip1-2a*, *fri*, *gtcA* ve *iap* genleri bulunmuş olup, *dltA* genine rastlanmamıştır. Su ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada tüm incelenen *L. monocytogenes* suşlarında *hlyA*, *inlA*, *inlB*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *actA* genleri bulunmuştur. Yine aynı şekilde Wieczorek ve Osek (2017) ve Skowron ve ark. (2018) yaptıkları çalışmalarda balık örneklerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* suşlarında virülens genlerini tespit etmişlerdir. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, balıklardan izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının, potansiyel olarak tüketiciler için patojenik olabileceğini göstermektedir (Wieczorek ve Osek 2017; Skowron ve ark. 2018).

L. monocytogenes kaynaklı çoğu enfeksiyon, 1/2a, 4b, 1/2b serotiplerinin suşları nedeniyle şekillenmektedir. Buna karşılık, serotip 1/2c suşları klinik vakalarda daha seyrek olarak görülmektedir (EFSA/ECDC 2015; Lomonaco ve ark. 2015). Diğer taraftan, çalışmamızda temin edilen balık numunelerinden elde edilen *L. monocytogenes* suşunun sero grubu, PCR analizi ile 4b-4d-4e olarak belirlenmiştir.

Çalışmamız bulgularından farklı olarak; Estonya'da 2008 ve 2010 yılları arasında balık ve tüketime hazır balık ürünlerinden toplanan numunelerde, *L. monocytogenes* 1/2a serotipi baskın serotip olarak bulunmuştur (Kramarenko ve ark. 2013). Benzer şekilde, İsveç'te tüketime hazır 558 adet balık ürünüde yapılan çalışmada 66 (%12) adet numunede *L. monocytogenes* suşuna rastlanmıştır (Lambertz ve ark. 2012); mevcut *L. monocytogenes* suşlarının 64'ü 1/2a (%97), 2'si de 3a (%3) serotipi olarak tespit edilmiştir (Lambertz ve ark. 2013). Japonya'da ise tüketime hazır 526 adet ton balığı kıyması ve balık yumurtalarında yapılan çalışmada 39 adet *L. monocytogenes* suşu elde edilmiş olup, elde edilen suşlardan %53,8'i 1/2a serotipi, %18'i 1/2b serotipi, %18'i 3a serotipi, %7,7'si 4b serotipi ve %2,5'i 3b serotipi olarak bulunmuştur (Miya ve ark. 2010). Letonya'da Nisan 2014'den Aralık 2014'e kadar göllerden yakalanan ve perakendecilerden toplanan 235 adet balık örneği incelenmiştir. İncelenen tatlı su balıklarında 30 (%13) örnekte *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Bu çalışmada 1/2a-3a (%65), 1/2c-3c (%25), 1/2b-3b (%5) ve 4b-4d-4e (%5) sero grupları belirlenmiştir (Terentjeva ve ark. 2015). Polonya'da taze ve tütsülenmiş 301 balık örneğinde yapılan çalışmada 57 *L. monocytogenes* izolatu saptanmıştır. Saptanan *L.*

monocytogenes suşlarındaki baskın serogrup 1/2a-3a (40 izolat; %70,2) olarak belirlenmiştir (Wieczorek ve Osek 2017). Balık işleme tesislerinden toplanan 447 balık ve 109 swab örneği üzerinde yapılan çalışmada ise; balıklarda 139 (%31,1) örnekte, swaplarda ise 28 (%25,7) örnekte *L. monocytogenes* suşuna rastlanmıştır. *L. monocytogenes* suşları arasında baskın olan serogrup 1/2a-3a olarak tespit edilmiştir (Skowron ve ark. 2018).

Ülkemizde ise Samsun ilinden perakendecilerden ve üreticilerden toplanan 50 taze midye, 50 taze hamsi ve 50 tuzlanmış hamsi'de yapılan çalışmada; 8 numunede *L. monocytogenes* izole edilmiştir. İzole edilen numunelerden 6 tuzlanmış hamsi ve bir taze balık örneğinde *L. monocytogenes* 1/2b (3b) serotipi bulunmuştur. Bir taze midye örneğinde ise hem 1/2b (3b) hem de 4b (4d veya 4e) serotipi tespit edilmiştir (Siriken ve ark. 2013). Söz konusu bulgu, bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Jamali ve ark. (2015) tarafından 488 adet çiğ balık ve 374 adet açık hava balık marketlerinden alınan swab örneklerinde yapılan çalışmada 43 *L. monocytogenes* izolatı bulunmuştur. 31 (%72,1) izolatta 1/2a serotipi bulunduğu baskın serotip 1/2a olarak belirlenmiştir. 10 (%23,3) izolat 4b ve 2 (%4,7) izolat da 1/2b serotipi olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada 4b serotipi sadece çiğ balıklarda bulunmuştur. Benzer şekilde çiğ balık (n=500) ile gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda, elde edilen serogrup 4b-4d-4e serogrubu olarak saptanmıştır.

İran'da Nisan 2011 ve Mart 2012 tarihleri arasında 652 adet çiğ ve tüketime hazır deniz ürünü, ayrıca işleme tesisi ve deniz ürünü satış yerlerinden alınan 873 adet swab örneği üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada; *L. monocytogenes* 1/2a (%45,7), 4b (%40,3), 1/2c (%5,39), 1/2b (%4,68) ve 4c (%3,96) serotipleri bulunmuştur. Aynı çalışmada ılık mevsimlerde baskın olan serotip 1/2a olmasına rağmen, soğuk mevsimlerde baskın olan serotipin 4b olduğu görülmüştür (Fallah ve ark. 2013). Serotip 1/2a'ya göre soğuk şartlar altında serotip 4b'nin üreme yeteneğinin daha iyi olması nedeniyle bu durumun olabileceği değerlendirilmektedir (Buncic ve ark. 2001; Fallah ve ark. 2013). Benzer şekilde, çalışmamızda izole edilen 4b-4d-4e serogrubuna ait *L. monocytogenes* suşu kışın (Şubat 2014) avlanan tekir balığı kaynaklıdır.

Çalışmamız sonuçlarına benzer şekilde, Momtaz ve Yadollahi (2013) tarafından 220 deniz balığı üzerinde yapılan çalışmada; 17 *L. monocytogenes* izolatı elde edilmiş

olup, *L. monocytogenes* serotip 4b (%64,70) en sık izole edilen serotip olarak tanımlanmıştır. Aynı çalışmada elde edilen diğer *L. monocytogenes* serotipleri 1/2a ve 1/2b sırasıyla bakteriyel izolatlardan %5,88 ve %29,41 oranında tespit edilmiştir. Vasilev ve ark. (2010) tarafından İsrail’de 1998-2007 yılları arasında yapılan çalışmada ise, balıklarda baskın serotip olarak 4b serotipi bulunmuştur. Wang ve ark. (2013) tarafından 109 deniz ürünüde yapılan çalışmada 15 (%13,8) *L. monocytogenes* suşu tespit edilmiş olup, bu suşlardan baskın olan serogrup 4b-4d-4e serogrubu olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda bulunan *L. monocytogenes* suşu EUCAST (2017) standartları doğrultusunda incelenmiş ve penicillin G, ampicillin, erythromycin, meropenem ve trimetoprim/sulfamethoxazole antibiyotiklerine duyarlı olarak bulunmuştur. Skowron ve ark. (2018) tarafından balık ve swap örnekleri üzerinde yapılan çalışmada; 70 adet genetik olarak farklı *L. monocytogenes* suşu arasında en yüksek oranda penicillin’e dirençli serogrup 1/2a-3a (%44,4), ampicillin’e dirençli serogrup 1/2c-3c (%30), erythromycin’e dirençli serogrup 1/2c-3c (%60), trimetoprim/sulfamethoxazole’e dirençli serogrup 1/2b-3b (%52,2), meropenem’e dirençli serogrup 1/2c-3c (%40) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen serogruplar içerisinde antibiyotiklere en duyarlı serogrup 4b-4d-4e olarak bildirilmiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda tespit edilen serogrup 4b-4d-4e *L. monocytogenes* suşu tüm incelenen antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

Çalışmamız sonuçlarından farklı olarak; Jamali ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada 43 *L. monocytogenes* suşunda, 15 (%34,9) suş sadece bir antibiyotik dirençliliğine sahipken, 20 (%46,5) suş iki antibiyotik dirençliliğine ve 6 (%6,4) suş ise ikiden fazla antibiyotik dirençliliğine sahip olarak bulunmuştur. En yüksek dirençlilik ampicillin (%20,9), penicillin G (%16,3), tetracycline (%27,9), cephalothin (%16,3) ve streptomycin (%16,3) antibiyotiklerinde tespit edilmiştir. Ayrıca erythromycin (%14) ve trimetoprim/sulfamethoxazole (%11,6) antibiyotiklerinde de dirençlilik bulunmuştur.

Çalışmamızda incelenen antibiyotiklere, yapılan çalışmalarda farklı oranlarda duyarlılık tespit edilmiştir. Conter ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada balıklarda bulunan *L. monocytogenes* suşlarında; erythromycin, benzylpenicillin, ampicillin/sulbactam, imipenem, gentamicin, rifampicin ve teicoplanin’e duyarlılık tespit edilmiştir. Fakat bu suşlarda farklı oranlarda ampicillin,

trimetophrim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, clindamycin, vancomycin ve tetracycline'e dirençlilik saptanmıştır. Pagadala ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, *L. monocytogenes* izolatlarının %87'sinin erythromycin, %60'ının ciprofloxacin ve %56'sının tetracycline'e dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca izolatların %93'ünün gentamicin, %91'inin trimetoprim/sulfametoxazole ve %81'inin kanamycin'e duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Doménech ve ark. (2015) tarafından yapılan araştırmada 803 tütsülenmiş somon balığında elde edilen 69 *L. monocytogenes* izolatında ampicillin ve cephalothin'e dirençlilik, vancomycin'e orta düzeyde duyarlılık ve erythromycin, trimetoprim-sulfamethoksazole, amikacin, amoxicillin-clavulanate, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, tetracycline'e duyarlılık bulunmuştur. Türkiye'de Terzi ve ark. (2015) tarafından 100 adet tüketime hazır gıdada yapılan çalışmada 4 *L. monocytogenes* izolatı tespit edilmiştir. Bu izolatlardan 2'si 4b-4d-4e; diğer 2'si ise 1/2a-3a serogrubu olarak belirlenmiştir. Bulunan 4 izolattan 1'i vancomycin'e, 1'i de oxytetracycline'e dirençli bulunmuştur. Ayrıca elde edilen izolatların tümünde penicillin G ve tetracycline antibiyotiklerine duyarlılık, ampicillin ve erythromycin antibiyotiklerine orta düzeyde dirençlilik tespit edilmiştir.

Çalışmamız sonuçlarına benzer olarak; Wieczorek ve Osek (2017) tarafından taze ve tütsülenmiş balık örneklerinde yapılan çalışmada elde edilen 57 izolatta ampicillin, erythromycin, penicillin, trimetophrim/sulfamethoxazole, gatifloxacin, gentamicin, levofloxacin, Quinupristin/dalfopristin, rifampicin, streptomycin, tetracycline, ve vancomycin antibiyotiklerine duyarlılık tespit edilmiştir. Fakat birkaç *L. monocytogenes* suşunda oxacillin, ceftriaxone ve clindamycin'e dirençlilik; yine bazı suşlarda ceftriaxone, clindamycin, ciprofloxacin ve linezolid antibiyotiklerine orta düzeyde dirençlilik bulunmuştur.

Türkiye'de çalışmamıza benzer olarak; farklı gıdalarda yapılan araştırmadan elde edilen 14 *L. monocytogenes* suşunda yapılan incelemede; penicillin G, erythromycin, vancomycin, tetracycline, chloramphenicol, rifampicin, gentamicin ve trimetophrim antibiyotiklerine duyarlılık saptanmıştır. Ayrıca fosfomycin'e %92,9 ve streptomycin'e %7,1 oranında dirençlilik bulunmuştur (Altuntas ve ark. 2012).

Tez çalışması kapsamında gelecek çalışmalara altyapı oluşturacak bir çok bulgu elde edilmiştir. Sonuç olarak, Karadeniz orijinli ve Karadenizin parsellenmiş farklı koordinatlara sahip bölgelerinden değişik zamanlarda avlanan balık örneklerinde

oldukça düşük düzeyde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında, bulunan bir adet *L. monocytogenes* suşu Karadenizin K-9 bölgesi kaynaklı olup, bu bölgede Bartın Limanı ve Bartın Çayının Karadenize döküldüğü yer bulunmaktadır. Söz konusu bölgede *L. monocytogenes* suşunun tespit edilmesi bölgedeki suyun mikrobiyolojik kalitesinin düşük olabileceğini göstermektedir. Diğer taraftan, izole edilen 4b-4d-4e serogrubunda *L. monocytogenes* izolatu olup, bu serogrubun çoğunlukla çiğ balık etleri ile soğuk mevsimde temin edilen balık kaynaklı olduğuna dair bulgular ile bizim bulgularımız örtüşmektedir. Ancak, balıklarda *L. monocytogenes* prevalansı ile antibiyotik duyarlılığının güvenilir şekilde tespiti doğrultusunda, gelecekte farklı denizlerimizde yetişen değişik balık türlerinde ilgili çalışmaların gerçekleştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Akkaya, L., Atabay, H.I., Gok, V. ve Kara, R. (2011). Detection of *Listeria* species in fresh fish and fish market environment by IMS technique in Turkey. *Journal of Food Safety and Food Quality*, 62, 1-32.
- Altuntas, E.G., Kocan, D., Cosansu, S., Ayhan, K., Juneja, V.K. ve Materon, L. (2012). Antibiotic and Bacteriocin Sensitivity of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Different Foods. *Food and Nutrition Sciences*, 3, 363-368.
- Anderson, D.W.Jr. ve Fellers, C.R. (1952). The occurrence of trimethylamine and trimethylamine oxide in fresh water fishes. *Journal of Food Research*, 17, 472-474.
- Angulo, F. (2000). Agentes antimicrobianos en acuicultura: impacto potencial en la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 20, 217-219.
- Ariza-Miguel, J., Fernández-Natal, M.I., Soriano, F., Hernández, M., Stessl, B., Rodríguez-Lázaro, D. (2015). Molecular Epidemiology of Invasive Listeriosis due to *Listeria monocytogenes* in a Spanish Hospital over a Nine-Year Study Period, 2006–2014. *Biomed Research International*, 2015, 1-10.
- Aureli, P., Fiorucci, G.C., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, O., Leone, L. ve ark. (2000). An Outbreak of Febrile Gastroenteritis Associated with Corn Contaminated by *Listeria monocytogenes*. *The New England Journal of Medicine*, 342, 1236–1241.
- Ayaz, N.D. ve Erol, I. (2010). Relation between Serotype Distribution and Antibiotic Resistance Profiles of *Listeria monocytogenes* Isolated from Ground Turkey. *Journal of Food Protection*, 73, 967-972.
- Aznar, R. ve Alarcon, B. (2002). On the Specificity of PCR Detection of *Listeria monocytogenes* in Food: a Comparison of Published Primers. *Systematic and Applied Microbiology*, 25, 109-119.

- Baek, S., Lim, S., Lee, D., Min, K. ve Kim, C. (2000). Incidence and Characterization of *Listeria monocytogenes* from Domestic and Imported Foods in Korea. *Journal of Food Protection*, 63, 186-189.
- BSGM-Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü (2013). Su Ürünleri İstatistik Bölgeleri.
- Barbosa, A.V., Cerqueira, A.de.M.F., Rusak, L.A., Dos Reis, C.M.F., Leal, N.C., Hofer, E. ve ark. (2015) Characterization of epidemic clones of *Listeria monocytogenes* serotype 4b isolated from humans and meat products in Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9, 962–969.
- Basti, A.A., Mishagi, A., Salehi, T.Z. ve Kamkar, A. (2006). Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food Control*, 17, 183-188.
- Beleneva, I.A. (2011). Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 382-387.
- Bille, J., Blanc, D. S., Schmid, H., Boubaker, K., Baumgartner, A., Siegrist, H.H. ve ark. (2006). Outbreak of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland, 2005, *Euro Surveillance*, 11, 91–93.
- Blenden, D.C., Kampelmacher, E.H., ve Torres-Angel, M.J. (1987). Listeriosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191, 1546–1551.
- Bonazzi, M., Veiga, E., Pizarro-Cerdá, J., Cossart, P. (2008). Successive post-translational modifications of E-cadherin are required for InIA-mediated internalization of *Listeria monocytogenes*. *Cell microbiology*, 10, 2208-2222.

- Braun, L., Dramsi, S., Dehoux, P., Bierne, H., Lindahl, G. ve Cossart, P. (1997). InIB: an invasion protein of *Listeria monocytogenes* with a novel type of surface association. *Molecular Microbiology*, 25, 285-294.
- Brett, M.S.Y., Short, P. ve McLauchlin, J. (1998). A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 223–229.
- Bubert, A., Hein, I., Rauch, M., Lehner, A., Yoon, B. Goebel, W. ve ark. (1999). Detection and Differentiation of *Listeria* spp. by a Single Reaction Based on Multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4688-4692.
- Buchanan, R.L., Gorris, L.G.M., Hayman, M.M., Jackson, T.C. ve Whiting, R.C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-responce, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, 1-13.
- Buncic, S., Avery, S.M., Rocourt, J. ve Dimitrijevic, M. (2001). Can food-related environmental factors induce differen behaviour in two key serovars, 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*? *International Journal of Food Microbiology*, 65, 201-212.
- Burrack, L.S., Harper, J.W. ve Higgins, D.E. (2009). Perturbation of vacuolar maturation promotes listeriolysin O-independent vacuolar escape during *Listeria monocytogenes* infection of human cells. *Cell Microbiology*, 11, 1382-1398.
- Busani, L., Cigliano, A., Taioli, E., Caligiuri, V., Chiavacci, L., Di Bella, C. ve ark. (2005). Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* Contamination in Foods of Animal Origin in Italy. *Journal of Food Protection*, 68, 1729-1733.
- Cabello, F.C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8, 1137-1144.

- Camilli, A., Goldfine, H. ve Portnoy, D.A. (1991). *Listeria monocytogenes* Mutants Lacking Phosphatidylinositol-specific Phospholipase C Are Avirulent. *Journal of Experimental Medicine*, 173, 751-754.
- Cartwright, E.J., Jackson, K.A., Johnson, S.D., Graves, L.M., Silk, B.J. ve Mahon, B.E. (2013). Listeriosis Outbreaks and Associated Food Vehicles, United States, 1998–2008. *Emerging Infectious Diseases*, 19, 1–9.
- CDC (2013, 7 Haziran). Vital signs: *Listeria* Illnesses, Deaths, and Outbreaks-United States, 2009-2011. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 62(22), 448-452. Erişim 02.06.2018, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6222a4.htm>
- CDC (2016, 15 Temmuz). Burden of Foodborne Illness: Findings. Erişim 03.06.2018, <https://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html/>
- CDC (2017, Temmuz). Standart Operating Procedure for Pulsenet PFGE of *Listeria monocytogenes*. Erişim 24.09.2018, <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/listeria-pfge-protocol-508c.pdf>
- CDC (2018a, 8 Mart). Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE). Erişim 23.09.2018, <https://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens/pfge.html>
- CDC (2018b, Temmuz). Antibiotic / Antimicrobial Resistance (AR / AMR): About Antimicrobial Resistance. Erişim 22.09.2018, <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>
- CFSPH-The Center Food Security and Public Health (2005, Mayıs). Listeriosis. Erişim 22.02.2018, <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/listeriosis.pdf>
- Chakraborty, T., Hain, T. ve Domann, E. (2000). Genome organization and the evolution of the virulence gene locus in *Listeria* species. *International Journal of Medical Microbiology*, 290, 167-174.

- Chen, B.Y., Pyla, R., Kim, T.J., Silva, J.L. ve Jung, Y.S. (2010). Prevalence and contamination patterns of *Listeria monocytogenes* in catfish processing environment and fresh fillets. *Food Microbiology*, 27, 645-652.
- Chiko-Calero, I., Suárez, M., González-Zorn, B., Scotti, M., Slaghuis, J., Goebel, W. ve ark. (2002). Hpt, a bacterial homolog of the microsomal glucose-6-phosphate translocase, mediates rapid intracellular proliferation in *Listeria*. *Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 431-436.
- Colburn, K.G., Kaysner, C.A., Abeyta, C. ve Wekell, M.M. (1990). *Listeria* Species in a California Coast Estuarine Environment. *Applied and Environment Microbiology*, 56, 2007-2011.
- Conter, M., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergana, A. ve Lanieri, A. (2009). Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 497-500.
- Crim, S.M., Griffin, P.M., Tauxe, R., Marder, E.P., Gilliss, D., Cronquist, A.B. ve ark. (2015). Preliminary Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006-2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 64, 495-499. Erişim 03.06.2018, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6418a4.htm>
- D'agostino, M., Wagner, M., Vazquez-Boland, J.A., Kuchta, T., Karpiskova, R., Hoorfar, J. ve ark. (2004). A Validated PCR-Based Method to Detect *Listeria monocytogenes* Using Raw Milk as a Food Model-Towards an International Standart. *Journal of Food Protection*, 67, 1646-1655.
- Danielsson-Tham, M.-L., Eriksson, E., Helmersson, S., Leffler, M., Lüdtkke, L., Steen, M. ve ark. (2004). Causes Behind a Human Cheese-Borne Outbreak of Gastrointestinal Listeriosis. *Foodborne Pathogens and Disease*, 1, 153-159.

- Davies, A.R. Capell, C., Jehanno, D., Nychas, G.J.E. ve Kirby, R.M. (2001). Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control*, 12, 67-71.
- Debabov, D.V., Kiriukhin, M.Y. ve Neuhaus, F.C. (2000). Biosynthesis of Lipoteichoic Acid in *Lactobacillus rhamnosus*: Role of DltD in D-Alanylation. *Journal of Bacteriology*, 182, 2855-2864.
- Dhanashree, B., Ota, S.K., Karunasagar, I., Goebel, W. ve Karunasagar, I. (2003). Incidence of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore, India. *Food Microbiology*, 20, 447-453.
- Doménech, E., Jimenez-Belenguer, A., Amoros, J.A., Ferrus, M.A. ve Escriche, I. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. *Food Control*, 47, 120-125.
- Dons, L., Rasmussen, O.F. ve Olsen, J.E. (1992). Cloning and characterization of a gene encoding flagellin of *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 6, 2919–2929.
- Donnelly, C.W. (2001). *Listeria monocytogenes*: A Continuing Challenge. *Nutrition Reviews*, 59, 183-194.
- Doumith, M., Buchrieser C., Glaser, P., Jacquet, C. ve Martin, P. (2004a). Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 3819-3822.
- Doumith, M., Cazalet, C., Simoes, N., Frangeul, L., Jacquet, C., Kunst, F. ve ark. (2004b). New Aspects Regarding Evolution and Virulence of *Listeria monocytogenes* Revealed by Comparative Genomics and DNA Arrays. *Infection and Immunity*, 72, 1072-1083.

- Dramsi, S. ve Cossart, P. (2003). Listeriolysin O-Mediated Calcium Influx Potentiates Entry of *Listeria monocytogenes* into the Human Hep-2 Epithelial Cell Line. *Infection and Immunity*, 71, 3614-3618.
- Dussurget, O., Dumas, E., Archambaud, C., Chafsey, I., Chambon, C., Hébraud, M. ve ark. (2005). *Listeria monocytogenes* ferritin protects against multiple stresses and is required for virulence. *FEMS Microbiology Letters*, 250, 253-261.
- EFSA/ECDC-European Food Safety Authority/European Centre for Disease Control (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. Erişim 22.02.2018, <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3991>
- El Marrakchi, A., Boum'handi, N. ve Hamama, A. (2005). Performance of a new chromogenic plating medium for the isolation of *Listeria monocytogenes* from marine environments. *Letters in Applied Microbiology*, 40, 87-91.
- El-Shenawy, M.A. ve El-Shenawy, M.A. (2006). *Listeria* spp. in the coastal environment of the Aqaba Gulf, Suez Gulf and the Red Sea. *Epidemiology and Infection*, 134, 752-757.
- Erol I. (2007). *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. Ankara, Türkiye: Pozitif Matbaacılık Ltd Şti.
- Ertaş, H.B. ve Şeker, E. (2005). Isolation of *Listeria monocytogenes* from Fish Intestines and RAPD Analysis. *Turkish Journal Veterinary Animal Science*, 29, 1007-1011.
- Esteban, J.I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R.A. ve Hurtado, A. (2008). A survey of food-born pathogens in free-range poultry farms. *International Journal of Food Microbiology*, 123, 177-182.

Esteban, J.I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R.A. ve Hurtado, A. (2009). Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain. *BMC Veterinary Research*, 5, 1-10.

EUCAST (2017). EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing Version 6.0 (January 2017). Erişim 18.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Version_5/Manual_v_6.0_EUCAST_Disk_Test_final.pdf

EUCAST (2017). Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. Erişim 18.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Version_5/Media_preparation_v_5.0_EUCAST_AST.pdf

EUCAST (2018). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 8.0, valid from 2018-01-01. Erişim 21.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf.

Fallah, A.A., Saei-Dehkordia, S.S. ve Mahzounieh, M. (2013). Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. *Food Control*, 34, 630-636.

FAO (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Erişim 08.09.2018, <http://www.fao.org/3/I9540EN/i9540en.pdf>

Farber, J.M. ve Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen. *Microbiological Reviews*, 55, 476-511.

- FDA-US Food and Drug Administration (2013). Bacteriological Analytical Manual. Erişim 26.12.2016, <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.html>,
- FDA-U.S. Food and Drug Administration (2018). Aquaculture. Erişim 22.09.2018, <https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/Aquaculture/default.htm>
- Fernández-Garayzábal, J.F., Suárez, G., Blanco, M.M., Gibello, A. ve Domínguez, L. (1996). Taxonomic Note: a Proposal for Reviewing the Interpretation of the CAMP Reaction between *Listeria monocytogenes* and *Rhodococcus equi*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46, 832-834.
- Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P. ve Stasiewicz. M.J. (2014). *Listeria monocytogenes* Persistence in Food-Associated Environments: Epidemiology, Strain Characteristics, and Implications for Public Health. *Journal of Food Protection*, 77, 150-170.
- Filioussis, G., Johansson, A., Frey, J. ve Perreten, V. (2009). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control*. 20, 314-317.
- Fischer, W., Koch, H.U. ve Rösel, P. (1980). Alanin Ester-containing Native Lipoteichoic Acids Do Not Act as Lipoteichoic Acid Carrier. *The Journal of Biological Chemistry*, 255, 4555-4562.
- Furrer, B., Candrian, U., Hoefelein, C. ve Luethy, J. (1991). Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by in vitro amplification of haemolysin gene fragments. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 372-379.

- Gambarin, P., Magnabosco, C., Losio, M.N., Pavoni, E., Gattuso, A., Arcangeli, G. ve ark. (2012). *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Seafood and Potential Hazards for the Consumers. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1-10.
- Gaul, L.K., Farag, N.H., Shim, T., Kingsley, M.A., Silk, B. J. ve Hyytiä-Trees, E. (2013). Hospital-Acquired Listeriosis Outbreak Caused by Contaminated Diced Celery-Texas, 2010. *Clinical Infectious Diseases*, 56, 20–26.
- Gebretsadik, S., Kassa, T., Alemayehu, H., Huruy, K. ve Kebede, N. (2011). Isolation ve characterization of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in foods of animal origin in Addis Ababa, Ethiopia. *Journal of Infection and Public Health*, 4, 22-29.
- Gerner-Smidt, P., Hise, K., Kincaid, J., Hunter, S., Rolando, S., Hyytiä-Trees, E. ve ark. (2006). PulseNet USA: A Five-Year Update. *Foodborne Pathogens and Diseases*, 3, 9-19.
- Glaser, P., Frangeul, L., Buchreiser, C., Rusniok, C., Amend, A., Baquero, F., ve ark. (2001). Comparative Genomics of *Listeria* Species. *Science*, 294, 849-582.
- Gliński, Z. ve Kostro, K. (2012). Listerioza współczesnym zagrożeniem. *Życie Weterynaryjne*, 87, 577-581.
- Goering, R.V. (2010). Pulsed field gel electrophoresis: A review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 10, 866-75.
- González, C.J., López-Díaz, T.M., García-López, M.L., Prieto, M. ve Otero, A. (1999). Bacterial Microflora of Wild Brown Trout (*Salmo trutta*), Wild Pike (*Esox lucius*), and Aquacultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Protection*, 62, 1270-1277.

- Goulet, V., King, L.A., Vaillant, V. ve de Valk, H. (2013). What is the incubation period for listeriosis? *BMC Infectious Diseases*, 13, 1-7.
- Gram, L. (2001) Potential Hazards in Cold-Smoked Fish: *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Science*, 66, 1072-1081.
- Graves, L.M., Hunter, S.B., Ong, A.R., Schoonmaker-Bopp, D., Hise, K. Kornstein, L. ve ark. (2005). Microbiological Aspects of the Investigation That Traced the 1998 Outbreak of Listeriosis in the United States to Contaminated Hot Dogs and Establishment of Molecular Subtyping-Based Surveillance for *Listeria monocytogenes* in the PulseNet Network. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 2350–2355.
- Gray, M.L. ve Killinger, A.H. (1966). *Listeria monocytogenes* and Listeric Infections. *Bacteriological Reviews*, 30, 309-371.
- Hächler, H., Marti, G., Giannini, P., Lehner, A., Jost, M., Beck, J. ve ark. (2013). Outbreak of listeriosis due to imported cooked ham, Switzerland 2011. *Euro Surveillance*, 18, 1-7.
- Hain, T., Chatterjee, S.S., Ghai, R., Kuenne, C.T., Billion, A., Steinweg, C. ve ark. (2007). Pathogenomics of *Listeria* spp. *International Journal of Medical Microbiology*, 297, 541-557.
- Handa, S., Kimura, B., Takahasbi, H., Koda, T., Hisa, K. ve Fujii, T., (2005). Incidence of *Listeria monocytogenes* in Raw Seafood Products in Japanese Retail Stores. *Journal of Food Protection*, 68, 411-415.
- Hansen, C.H., Vogel, B.F. ve Gram L. (2006). Prevalence and Survival of *Listeria monocytogenes* in Danish Aquatic and Fish-Processing Environments. *Journal of Food Protection*, 69, 2113-2122.

- Hebard, C.E., Flick, G.J. ve Martin R.E. (1982). Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. İçinde R.E. Martin, G.J.J. Flick ve C.E. Hebard (Ed.), *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. AVI Publishing: Westport: Connecticut; 149-304.
- Heredía, N. ve García, S. (2018). Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Animal Nutrition Journal*, 4, 250-255.
- Hmaïed, F., Helel, S., Le Berre, V., Francois, J.M., Leclercq, A., Lecuit, M. ve ark. (2014). Prevalence, identification by a DNA microarray-based assay of human and food isolates *Listeria* spp. from Tunisia. *Pathologie Biologie*, 62, 24–29.
- Hofer, E., Reis, C.M.F. ve Hofer, C.B. (2006). Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas, isoladas de material clínico humano. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39, 32–37.
- Huang, Y.T., Ko, W.C., Chan, Y.J., Lu, J.J., Tsai, H.Y., Liao, C.H. ve ark. (2015). Disease Burden of Invasive Listeriosis and Molecular Characterization of Clinical Isolates in Taiwan, 2000–2013. *PLoS One*, 10, 1-12.
- Hurtado, A., Ocejo, M. ve Oporto, B. (2017). *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* shedding in domestic ruminants and characterization of potentially pathogenic strains. *Veterinary Microbiology*, 210, 71-76.
- Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper No:348, FAO. Erişim 22.02.2018, <http://www.fao.org/3/V7180E/V7180E00.htm>
- Hutchison, M.L., Walters, L.D., Avery, S.M., Synge, B.A. ve Moore, A. (2004). Levels of zoonotic agents in British livestock manures. *Letters in Applied Microbiology*, 39, 207-214.

- ILSI-International Life Sciences Institute (2005). Achieving Continuous Improvement in Reductions in Foodborne Listeriosis—A Risk-Based Approach. *Journal of Food Protection*, 68, 1932-1994.
- ISO, 2004. Microbiology of food animal feeding stuffs: Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 1: Detection method Amendment 1: Modification of isolation media and haemolysis test, and inclusion of precision data. ISO 11290-1/A1, Geneva, Switzerland.
- Jackson, K.A., Biggerstaff, M., Tobin-D'Angelo, M., Sweat, D., Klos, R., Nosari, J. ve ark. (2011). Multistate Outbreak of *listeria monocytogenes* Associated with Mexican-Style Cheese Made from Pasteurized Milk among Pregnant, Hispanic Women. *Journal of Food Protection*, 74, 949–953.
- Jalali, M. ve Abedi, D. (2008). Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *International Journal Food Microbiology*, 122, 336-340.
- Jallewar, P.K., Kalorey, D.R., Kurkure, N.V., Pande, V.V. ve Barbuddhe, S.B. (2007). Genotypic characterization of *Listeria* spp. Isolated from fresh water fish. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 120-123.
- Jamali, H., Paydar, M., Ismail, S., Looi, C.Y., Wong, W.F., Radmehr, B. ve ark. (2015). Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulotyping of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolated from open-air fish markets. *BMC Microbiology*, 15, 1-7.
- Jami, M., Ghanbari, M., Zunabovic, M., Domig, K.J. ve Kneifel, W. (2014). *Listeria monocytogenes* in Aquatic Food Products-A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 798-810.
- Jaradat, Z.W., Schutze, G.E. ve Bhunia, A.K. (2002). Genetic homogeneity among *Listeria monocytogenes* strains from infected patients and meat products from two

geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*, 76, 1-10.

Jemmi, T. ve Keusch, A. (1994). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in freshwater fish farms and fish-smoking plants. *Food Microbiology*, 11, 309-316.

Kakatkar, A.S., Guatam, R.K., Nagar, V., Karani, M. ve Bandekar, J.R. (2010). Incidence of Food-Borne Pathogens in Freshwater Fish from Domestic Markets of Mumbai. *Fishery Technology*, 47, 195-200.

Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P. ve Elias, T. (2013). *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. *Food Control*, 30, 24-29.

Kreft, J., Vázquez-Boland, J.A., Ng, E., Goebel, W. (1999). Chapter 12: Virulence Gene Clusters and Putative Pathogenicity Islands in *Listeriae*. İçinde J.B. Kaper, J. Hacker (Ed.), *Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements*. ASM Press: Washington; 219-232.

Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment - A review-Part I. *Chemosphere*, 75, 417-434.

Kuzmanovic, J. Ašanin, R., Baltić, M., Mišić, D. ve Dimitrijević, M., Stojanović, M. ve ark. (2011). Presence of *Listeria* spp. in fish samples, fish products and sea products. *Acta Veterinaria*, 61, 193-203.

Kwiatek, K. (2004). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in selected food of animal origin. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 48, 269-272.

Kyoui, D., Takahashi, H., Miya, S., Kuda, T. ve Kimura, B. (2014). Comparison of the major virulence-related genes of *Listeria monocytogenes* in Internalin A truncated strain 36-25-1 and a clinical wild-type strain. *BMC Microbiology*, 14, 1-7.

- Laciar, A.L. ve de Centorbi, O.N.P. (2002). *Listeria* species in seafood: isolation and characterization of *Listeria* spp. from seafood in San Luiz, Argentina. *Food Microbiology*, 19, 645-651.
- Lambertz, S.T., Nilsson, C., Brådenmark, A, Sylvén, S., Johansson, A., Jansson, L. ve ark. (2012). Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Sweden 2010. *International Journal of Food Microbiology*, 160, 24-31.
- Lambertz, S.T., Ivarsson, S., Lopez-Valladares, G., Sidstedt, M. ve Lindqvist, R. (2013). Subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from retail ready-to-eat foods, processing plants and listeriosis patients in Sweden 2010. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 186-192.
- Lancette, G.A. ve Bennett, R.W. (2001). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. İçinde F.P. Downes, K. Ito (4th Ed.). *Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association: Washington DC; 387-404.
- Latorre, L., Parisi, A., Fraccalvieri, R., Normanno, G., Nardella La Porta, M.C., Goffredo, E. ve ark. (2007). Low Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Foods from Italy. *Journal of Food Protection*, 70, 1507-1512.
- Lecuit, M., Nelson, D.M., Smith, S.D., Khun, H., Huerre, M., Vacher-Lavenu, M.C. ve ark. (2004). Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: Role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 6152-6157.
- Leifson, E. ve Palen., M.I. (1955). Variations and spontaneous mutations in the genus *Listeria* in respect to flagellation and motility. *Journal of Bacteriology*, 70, 233–240.
- Leimeister-Wächter, M., Domann, E. ve Chakraborty, T. (1991). Detection of a gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C that is co-ordinately

expressed with listeriolysin in *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 5, 361-366.

Leong, D., Alvarez-Ordóñez, A., Jordan, K. (2014). Monitoring occurrence and persistence of *Listeria monocytogenes* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1-8.

Linke, K., Ruckerl, I., Brugger, K., Karpiskova, R., Walland, J., Muri-Klinger, S. ve ark. (2014). Reservoirs of *Listeria* species in three environmental ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 5583-5592.

Liston, J. (1980). Microbiology in fishery science. İçinde J.J. Connell (Ed.) *Advances in fishery science an technology*. Fishing News Books Ltd.: Farnham: England; 138-157.

Liu, S., Graham, J.E., Bigelow, L., Morse II, P.D. ve Wilkinson, B.J. (2002). Identification of *Listeria monocytogenes* Genes Expressed in Response to Growth at Low Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1697-1705.

Liu, D., Ainsworth, A.J., Austin, F.W. ve Lawrence, M.L. (2004). Use of PCR primers derived from a putative transcriptional regulator gene for species-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 91, 297-304.

Liu, D., Lawrence M.L., Wiedmann, M., Gorski, L., Mandrell, R.E., Ainsworth, A.J. ve ark. (2006). *Listeria monocytogenes* Subgroups IIIA, IIIB and IIIC Delineate Genetically Distinct Populations with Varied Pathogenic Potential. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 4229-4233.

Liu, D., Lawrence, M.L., Austin, F.W. ve Ainsworth, A.J. (2007). A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods*, 71, 133-140.

- Liu, D. (2008). *Handbook of Listeria monocytogenes*. Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Lomonaco, S., Nucera, D. ve Filipello, V. (2015). The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infection, Genetics and Evolution*, 35, 172-183.
- Lundén, J., Tolvanen, R. ve Korkeala, H. (2004). Human Listeriosis Outbreaks Linked to Dairy Products in Europe. *Journal of Dairy Science*, 87, 6–12.
- Lyautey, E., Hartmann, A., Pagotto, F., Tyler, K., Lapen, D.R., Wilkes, G. ve ark. (2007a). Characteristics and frequency of the detection of fecal *Listeria monocytogenes* shed by livestock, wildlife, and humans. *Canadian Journal of Microbiology*, 53, 1158-1167.
- Lyautey, E., Lapen, D.R., Wilkes, G., McCleary, K., Pagotto, F., Tyler, K. ve ark. (2007b). Distribution and Characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolates from Surface Waters of the South Nation River Watershed, Ontario, Canada, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 5401-5410.
- Lyytikäinen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P., Honkanen-Buzalski, T., Miettinen, M. ve ark. (2000). An Outbreak of *Listeria monocytogenes* Serotype 3a Infections from Butter in Finland. *Journal of Infectious Diseases*, 181, 1838–1841.
- Machata, S., Hain, T., Rohde, M. ve Chakraborty, T. (2005). Simultaneous Deficiency of both MurA and p60 Proteins Generates a Rough Phenotype in *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, 187, 8385-8394.
- Mallin, M.A., Johnson, V.L. ve Ensign, S.H. (2009). Comparative impacts of stormwater runoff on water quality of an urban, a suburban, and a rural stream. *Environmental Monitoring and Assessment*, 159, 475-491.

- Marian, M.N., Sharifah Aminah, S.M., Zuraini, M.I., Son, R., Maimunah, M., Lee, H.Y. ve ark. (2012). MPN-PCR detection and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from raw and ready-to-eat foods in Malaysia. *Food Control*, 28, 309-314.
- Markkula, A., Autio, T., Lundén, J. ve Korkeala, H. (2005). Raw and Processed Fish Show Identical *Listeria monocytogenes* Genotypes with Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Journal of Food Protection*, 68, 1228-1231.
- Marquis, H., Doshi, V. ve Portnoy, D.A. (1995). The Broad-Range Phospholipase C and a Metalloprotease Mediate Listeriolysin O-Independent Escape of *Listeria monocytogenes* from a Primary Vacuole in Human Epithelial Cells. *Infection and Immunity*, 63, 4531-4534.
- Marquis, H. ve Hager, E.J. (2000). pH-regulated activation and release of a bacteria-associated phospholipase C during intracellular infection by *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 35, 289-298.
- Marshall, B.M. ve Levy, S.B. (2011). Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24, 718-733.
- Mateus, T., Silva, J., Maia, R.L. ve Teixeira, P. (2013). Listeriosis during Pregnancy: A Public Health Concern. *ISRN Obstetrics and Gynecology*, 2013, 1-6.
- McCarthy, S. A. (1990). *Listeria* in the Environment. İçinde A. J. Miller, J. L. Smith ve G. A. Somkuti (ed.). *Foodborne Listeriosis. Society for Industrial Microbiology*. New York: Elsevier; 25-29.
- McCollum, J.T., Cronquist, A.B., Silk, B.J., Jackson, K.A., O'Connor, K.A., Cosgrove, S. ve ark. (2013). Multistate Outbreak of Listeriosis Associated with Cantaloupe. *The New England Journal of Medicine*, 369, 944-953.

- McIntyre, L., Witcott, L. ve Naus, M. (2015). Listeriosis Outbreaks in British Columbia, Canada, Caused by Soft Ripened Cheese Contaminated from Environment Sources, *BioMed Research International*, 2015, 1-12.
- McMullen, P.D. ve Freitag, N.E. (2015). *Listeria monocytogenes*. İçinde Y. Tang, D. Liu, J. Schwartzman, M. Sussman, I. Poxton (2nd ed.) *Molecular Medical Microbiology*. San Diego, CA; Academic Press; 1345-1361.
- McNeill, C., Sisson, W. ve Jarrett, A. (2017). Listeriosis: A Resurfacing Menace. *The Journal of Nurse Practitioners*, 13, 647-654.
- Mędrala, D., Dąmbrowski, W., Czekajło-Kołodziej, U., Daczowska-Kozon, E., Koronkiewicz, A., Augustynowicz, E. ve ark. (2003). Persistence of *Listeria monocytogenes* strains isolated from products in a polish fish-processing plant over a 1-year period. *Food Microbiol*, 20, 715-724.
- Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T. ve Gibbs, P.A. (2004). Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiol*, 21, 213-216.
- Mengaud, J., Vicente, M.F. ve Cossart, P. (1989). Transcriptional Mapping and Nucleotide Sequence of the *Listeria monocytogenes* hlyA Region Reveal Structural Features That May Be Involved in Regulation. *Infection and Immunity*, 57, 3695-3701.
- Miettinen, H. ve Wirtanen, G. (2005). Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. *International Journal of Food Microbiology*, 104, 135-143.
- Miettinen, H. ve Wirtanen, G. (2006). Ecology of *Listeria* spp. in a fish farm and molecular typing of *Listeria monocytogenes* from fish farming and processing companies, *International Journal of Food Microbiology*, 112, 138-146.

- Milohanic, E., Glaser, P., Coppée, J.Y., Frangeul, L., Vega, Y., Vázquez-Boland, J.A. ve ark. (2003). Transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* identifies three groups of genes differently regulated by *PrfA*. *Molecular Microbiology*, 47, 1613-1625.
- Miya, S., Takahashi, H., Ishikawa, T., Fujii, T. ve Kimura, B. (2010). Risk of *Listeria monocytogenes* Contamination of Raw Ready-To-Eat Seafood Products Available at Retail Outlets in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 3383-3386.
- Molla, B., Yilma, R. ve Alemayehu, D. (2004). *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail meat and milk products in Addis Adaba, Ethiopia. *Ethiopian Journal of Health Development*, 18, 208-212.
- Momtaz, H. ve Yadollahi, S. (2013). Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh seafood samples in Iran, *Diagnostic Pathology*, 8, 1-6.
- Murray, E.G.D., Webb, R.A. ve Swann, M.B.R. (1926). A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). *Journal of Pathology and Bacteriology*, 29, 407– 439.
- Najjar, Z., Gupta, L., Sintchenko, V., Shadbolt, C., Wang, Q. ve Bansal, N. (2015). Listeriosis cluster in Sydney linked to hospital food. *Medical Journal of Australia*, 202, 448–449.
- Negi, M., Vergis, J., Vijay, D., Dhaka, P., Malik, S.V.S., Kumar, A. ve ark. (2015). Genetic diversity, virulence potential and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* recovered from different sources in India. *FEMS Pathogens and Disease*, 73, 1-8.

- Neuhaus, F.C., Heaton, M.P., Debabov, D.V. ve Zhang, Q. (1996). The *dlt* Operon in the Biosynthesis of d-Alanyl-Lipoteichoic Acid in *Lactobacillus casei*. *Microbial Drug Resistance*, 2, 77-84.
- Neuhaus, F.C., Linzer, R. ve Reusch, V.M.Jr. (1974). Biosynthesis of Membrane Teichoic Acid: Role of the D-alanine Activating Enzyme and D-alanine; Membrane Acceptor Ligase. *Annals of The New York Academy Sciences*, 235, 502-518.
- Nikitas, G., Deschamps, C., Disson, O., Niault, T., Cossart, P. ve Lecuit, M. (2011). Transcytosis of *Listeria monocytogenes* across the intestinal barrier upon specific targeting of goblet cell accesible E-cadherin. *Journal of Experimental Medicine*, 208, 2263-2277.
- Nishibori, T., Cooray, K., Xiong, H., Kawamuro, I., Fujita, M. ve Mitsuyama, M. (1995). Correlation between the Presence of Virulence-Associated Genes as Determined by PCR and Actual Virulence to Mice in Various Strains of *Listeria* Spp. *Microbiology and Immunology*, 39, 343-349.
- Nørrung, B. (2000). Microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in foods under special consideration of risk assessment approaches. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 217–221.
- Oevermann, A., Zurbriggen, A. ve Vandevælde, M. (2010). Rhombencephalitis Caused by *Listeria monocytogenes* in Humans and Ruminants: A Zoonosis on the Rise? *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2010, 1-22.
- Orsi, R.H. ve Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 5273-5287.
- Pagadala, S., Parveen, S., Rippen, T., Luchansky, J.B., Call, J.E., Tamplin, M.L. ve ark. (2012). Prevalence, characterization and sources of *Listeria monocytogenes* in blue

crab (*Callinectes sapidus*) meat and blue crab processing plants. *Food Microbiology*, 31, 263-270.

Paillard, D., Dubois, V., Thiebaut, R., Nathier, F., Hoogland, E., Caumette, P. ve ark. (2005). Occurrence of *Listeria* spp. in Effluents of French Urban Wastewater Treatment Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 7562–7566.

Papadopoulos, T., Abraham, A., Sergelidis, D., Kirkoudis, I. ve Bitchava, K. (2010). Prevalance of *Listeria* spp. in freshwater fish(*oncorhynchus mykiss* and *Carassius gibelio*) and the environment of fish markets in Northern Greece. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61, 15-22.

Parihar, V.S., Lopes-Valladares, G., Danielsson-Tham, M.L., Peiris, I., Helmersson, S. Unemo, M. ve ark. (2008). Characterization of Human Invasive Isolates of *Listeria monocytogenes* in Sweden 1986-2007. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5, 755-761.

Pichler, J., Much, P., Kasper, S., Fretz, R., Auer, B., Kathan, J. ve ark. (2009). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with jellied pork contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Wiener klinische Wochenschrift*, 121, 149–156.

Pilgrim, S., Kolb-Mäurer, A., Gentshev, I., Goebel, W. ve Kuhn, M. (2003). Deleting of Gene Encoding p60 in *Listeria monocytogenes* Leads to Abnormal Cell Division and Loss of Actin-Based Motility. *Infection and Immunity*, 71, 3473-3484.

Pirie, J.H.H. (1940). *Listeria*: Change of name for a genus of bacteria. *Nature*, 145, 264.

Portnoy, D.A., Chakraborty, T., Goebel, W. ve Cossart, P. (1992). Molecular Determinants of *Listeria monocytogenes* Pathogenesis. *Infection and Immunity*, 60, 1263-1267.

- Promadej, N., Fielder, F., Cossart, P., Dramsi, S. ve Kathariou, S. (1999). Cell Wall Teichoic Acid Glycosylation in *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Requires *gtcA*, a novel, Serogrup-Specific Gene. *Journal of Bacteriology*, 181, 418-425.
- Rahimi, E., Shakerian, A. ve Raissy, M. (2012). Prevalence of *Listeria* species in fresh and frozen fish and shrimp in Iran. *Annals of Microbiology*, 62, 37-40.
- Ramdani-Bouguessa, N. ve Rahal, K. (2000). Neonatal listeriosis in Algeria: the first two cases. *Clinical Microbiology and Infection*, 6, 108–111.
- Reifel, K.M., Johnson, S.C., DiGiacomo, P.M., Mengel, M.J., Nezlin, N.P., Warrick, J.A ve ark. (2009). Impacts of stormwater runoff in the Southern California bight: relationships among plume constituents. *Continental Shelf Research*, 29, 1821-1835.
- Riedo, F.X., Pinner, R.W., Tosca, M.D.L., Cartter, L., Graves, L.M., Reeves, M.W. ve ark. (1994). A point-source foodborne listeriosis outbreak: documented incubation period and possible mild illness. *Journal of Infectious Diseases*, 170, 693–696.
- Rodás-Suárez, O.R., Flores-Pedroche, J.F., Betancourt-Rule, J.M., Quiñones-Ramirez, E.I. ve Vázquez-Salinas, C. (2006). Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from oysters, fish, and estuarine water. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 7410-7412.
- Rørvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T. ve Caugant, D.A. (2003). Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 633–640.
- Sarıözkan S. (2016). Türkiyede Balıkçılık Sektörü ve Ekonomisi. *Turkish Journal of Aquatic Sciences*. 31, 15-22.
- Sauders, B.D., Overdeest, J., Fortes, E., Schukken, Y., Lembo, A., Windham, K. ve ark. (2012). Diversity of *Listeria* species in urban and natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 4420-4433.

- Sauders, B.D. ve Wiedmann, M. (2007). Ecology of *Listeria* species and *L. monocytogenes* in the natural environment. İçinde E.T. Ryser ve E.H. Marth (3th Ed.) *Listeria, Listeriosis & Food Safety*. Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group; 21-44.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L. ve ark. (2011). Foodborne Illness Acquired in the United States-Major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 7-15.
- Scallan, E., Crim, S.M., Runkle, A., Henao, O.L., Mahon, B.E., Hoekstra, R.M. ve ark. (2015a). Bacterial Enteric Infections Among Older Adults in the United States: Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 1996-2012. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12, 492-499.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Mahon, B.E., Jones, T.F. ve Griffin, P.M. (2015b). An assessment of the human health impact of seven leading foodborne pathogens in the United States using disability adjusted life years. *Epidemiology & Infection*, 143, 2795-2804.
- Seeliger, H.P.R. ve Jones, D. (1986). Genus *Listeria*. Pirie 1940, 383^{AL}. İçinde P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G.Holt (Ed.) *Berger's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams ve Wilkins; 1235-1245.
- Shen, J., Rump, L., Zhang, Y., Chen, Y., Wang, X. ve Meng, J. (2013). Molecular subtyping and virulence gene analysis of *Listeria monocytogenes* isolates from food. *Food Microbiology*, 35, 58-64.
- Shewan, J.M. (1962). The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. İçinde: J. Hawthorn & J. Muil Leitch (Ed.) *Recent advances in food science*. London: Butterworths; 167-193.

- Sinclair, A., Hebb, D., Jamieson, R., Gordon, R., Benedict, K., Fuller, K. ve ark. (2009). Growing season surface water loading of fecal indicator organisms within a rural watershed. *Water Research*, 43, 1199-1206.
- Siriken, B., Ayaz, N.D. ve Erol, I. (2013). Prevalence and Serotype Distribution of *Listeria monocytogenes* in Salted Anchovy, Raw Anchovy, and Raw Mussel Using IMS-Based Cultivation Technique and PCR. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22, 77-82.
- Skoble, J., Portnoy, D.A. ve Welch, M.D. (2000). Three Regions within ActA Promote Arp2/3 Complex-mediated Actin Nucleation and *Listeria monocytogenes* Motility. *Journal of Cell Biology*, 150, 527-537.
- Skowron, K., Kwiecińska-Piróg, J., Grudlewska, K., Świeca, A., Paluszak, Z., Bauza-Kaszewska, J. ve ark. (2018). The occurrence, transmission, virulence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in fish processing plant. *International Journal of Food Microbiology*, 282, 71-83.
- Slama, R.B., Miladi, H., Chaieb, K. ve Bakhrouf, A. (2013). Survival of *Listeria monocytogenes* Cells and the Effects of Extended Frozen Storage (-20°C) on the Expression of Its Virulence Gene. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170, 1174-1183.
- Smith, B., Larsson, J.T., Lisby, M., Müller, L., Madsen, S.B., Engberg, J. ve ark. (2011). Outbreak of listeriosis caused by infected beef meat from a meals-on-wheels delivery in Denmark 2009. *Clinical Microbiology and Infection*, 17, 50-52.
- Smith, G.A., Marquis, H., Jones, S., Johnston, N.C., Portnoy, D.A. ve Goldfine, H. (1995). The Two Distinct Phospholipases C of *Listeria monocytogenes* Have Overlapping Roles in Escapes from a Vacuole and Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity*, 63, 4231-4237.

- Snyder, A. ve Marquis, H. (2003). Restricted Translocation across the Cell Wall Regulates Secretion of the Broad-Range Phospholipase C of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, 185, 5953-5958.
- Soultos, N., Abraham, A., Papageorgiou, K. ve Steris, V. (2007). Incidence of *Listeria* spp. in fish and environment of fish markets in northern Greece. *Food Control*, 18, 554-557.
- Stansby, M.E. ve Hall, A.S. (1967). Chemical composition of commercially important fish of the USA. *United State Fish and Wildlife Service*, 3, 29-34.
- Stavru, F., Archambaud, C. ve Cossart, P. (2011). Cell biology and immunology of *Listeria monocytogenes* infections: novel insights. *Immunological Reviews*, 240, 160-184.
- Stonsaovapak, S. ve Boonyaratanakornkit, M. (2010). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Listeria* Species in Food Products in Bangkok. Thailand. *Journal of Food Safety*, 30, 154-161.
- Stumpf, C.H., Piehler, M.F., Thompson, S. ve Noble, R.T. (2010). Loading of fecal indicator bacteria in North Carolina tidal creek headwaters: Hydrographic patterns and terrestrial runoff relationships. *Water Research*, 44, 4704-4715.
- Su, X., Zhang, J., Shi, W., Yang, X., Li, Y., Pan, H. ve ark. (2016). Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from foods and humans. *Food Control*, 70, 96-102.
- Suárez, M., Gonzáles-Zorn, B., Vega, Y., Chiko-Calero, I. ve Vázquez-Boland, J.A. (2001). A role for ActA in epithelial cell invasion by *Listeria monocytogenes*. *Cellular Microbiology*, 3, 853-864.

- Terentjeva, M., Eizenberga, I. Valciņa, O., Novoslavskij, A., Strazdiņa, V. ve Bêrziņš, A. (2015). Prevalence of Foodborne Pathogens in Freshwater Fish in Latvia. *Journal of Food Protection*. 78, 2093-2098.
- Terzi, G., Gücükoğlu, A., Çadırcı, Ö., Uyanık, T. ve Alişarlı, M. (2015). Serotyping and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Samsun, Turkey. *Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences*, 39, 211-217.
- Thomas, D.J.I., Strachan, N., Goodburn, K., Rotariu, O. ve Hutchison, M.L. (2012). A review of the published literature and current production and processing practices in smoked fish processing plants with emphasis on contamination by *Listeria monocytogenes*. Final FSA report. Erişim 06.06.2018, http://www.foodstandards.gov.scot/downloads/Final_Report_%285%29.pdf
- Tilney, L.G. ve Portnoy, D.A. (1989). Actin Filaments and the Growth, Movement, and Spread of the Intracellular Bacterial Parasite, *Listeria monocytogenes*. *The Journal of Cell Biology*, 109, 1597-1608.
- TÜİK (2017, 23 Haziran). Su Ürünleri, 2016. Ankara: Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim 06.03.2018, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24657>
- Uğur, M., Bostan, K., Nazlı, B. (2001). *Gıda Hijyeni*, İstanbul, Türkiye. Teknik Yayınevi.
- Vadia, S., Arnett, E., Haghghat, A.C., Wilson-Kubalek, E.M., Tweten, R.K. ve Seveau, S. (2011). The Pore-Forming Toxin Listeriolysin O Mediates a Novel Entry Pathway of *Listeria monocytogenes* into Human Hepatocytes. *PLoS Pathogens*, 7, 1-19.
- Vasilev, V., Japheth, R., Breuer, R., Andorn, N., Ben Abraham, R., Yoni, Y. ve ark. (2010). A survey of *Listeria monocytogenes* strains, isolated from ready-to-eat foods in Israel over a period of 10 years,1998-2007. *Food Control*, 21, 1179-1181.

- Vázquez-Boland, J.A., Kocks, C., Dramsi, S., Ohayon, H., Geoffroy, C., Mengaud, J. ve ark. (1992a). Nucleotide Sequence of the Lecithinase Operon of *Listeria monocytogenes* and Possible Role of Lecithinase in Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity*, 60, 219-230.
- Vázquez-Boland, J.A., Dominguez, L., Blanco, M., Rocourt, J., Fernández-Garayzábal, J.F., Gutiérrez, C.B. ve ark. (1992b). Epidemiologic investigation of a silage-associated epizootic of ovine listeric encephalitis, using a new *Listeria* selective enumeration medium and phage typing. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 368–371.
- Vázquez-Boland, J.A, Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., Goebel, W. ve ark. (2001a). *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbiology Reviews*, 14, 584-640.
- Vázquez-Boland, J.A., Domínguez-Bernal, G., González-Zorn, B., Kreft, J. ve Goebel, W. (2001b). Pathogenicity islands and virulence evolution in *Listeria*. *Microbes and Infection*, 3, 571-584.
- Vivant. A-L., Garmyn, D. ve Piveteau P. (2013). *Listeria monocytogenes*, a down-to-earth pathogen. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3, 1-10.
- Wang, F., Jiang, L., Yang, Q.R., Han, F.F., Chen, S.Y., Pu, S.H. ve ark. (2011). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Major Foodborne Pathogens in Imported Seafood. *Journal of Food Protection*, 74, 1451-61.
- Wang, X., Lü, X., Yin, L., Liu, H., Zhang, W., Si, W. ve ark. (2013). Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolates from retail raw foods. *Food Control*, 32, 153-158.
- Wang. D.I., Chern, M.K., Li, C.W., Yan, M. ve Hsieh, Y.H. (2012). Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in food products in Taipei. Taiwan. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 4702-4706.

- Weis, J. ve Seeliger, P.R (1975). Incidence of *Listeria monocytogenes* in Nature. *Applied Microbiology*, 30, 29-32.
- Wesley, I.V. (2007). Listeriosis in animals. İçinde E. T. Ryser and E. H. Marth (Ed.) *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group; 55–84.
- Wesley, I.V., Larson, D.J., Harmon, K.M., Luchansky, J.B. ve Schwartz, A.R. (2002) A case report of sporadic ovine listerial meningoencephalitis in Iowa with an overview of livestock and human cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14, 314-321.
- Wieczorek, K., Osek, J. (2017). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology*, 64, 164-171.
- Wiedmann, M. (2003). An Integrated Science-Based Approach to Dairy Food Safety: *Listeria monocytogenes* as a Model System. *Journal of Dairy Science*, 86, 1865–1875.
- Wollert, T., Pasche, B., Rochon, M., Deppenmeier, S., Van der Heuvel, J., Gruber, A.D. ve ark. (2007). Extending the Host Range of *Listeria monocytogenes* by Rational Protein Design. *Cell*, 129, 891-902.
- Xayarath, B., Volz, K.W., Smart, J.I. ve Freitag, N.E. (2011a). Probing the role of protein surface charge in the activation of *PrfA*, the central regulator of *Listeria monocytogenes* pathogenesis. *PLoS One*, 6, 1-13.
- Xayarath, B., Smart, J.I., Mueller, K.J. ve Freitag, N.E. (2011b). A novel C-terminal mutation resulting in constitutive activation of the *Listeria monocytogenes* central virulence regulatory factor PrfA. *Microbiology*, 157, 3138-3149.

- Yamazaki, K., Tateyama, T., Kawai, Y. ve Inoue, N. (2000). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in retail fish and processed seafood products in Japan. *Fisheries Science*, 66, 1191-1193.
- Yan, H. Neogi, S.B., Mo, Z., Guan, W., Shen, Z., Zhang, S. ve ark. (2010). Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebel Province of Northern China, 2005-2007. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 310-316.
- Yeung, P.S.M., Na, Y., Kreuder, A.J. ve Marquis, H. (2007). Compartmentalization of the Broad-Range Phospholipase C Activity to the Spreading Vacuole Is Critical for *Listeria monocytogenes* Virulence. *Infection and Immunity*, 75, 44-51.
- Yucel, N. ve Balci, S. (2010). Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* Species in Fish Used for Human Consumption in Turkey. *Journal of Food Protection*, 73, 380-384.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KARADENİZ KAYNAKLI BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN LİSTERİA MONOCYTOGENES SUŞLARININ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%2	%2	%1	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
2	www.tuik.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
3	fishfarmeurope.eu İnternet Kaynağı	<%1
4	aves.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	www.dunyagida.com.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1
7	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	Aziz A. Fallah, S. Siavash Saei-Dehkordi, Mohammadreza Mahzounieh. "Occurrence and	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Eren	Soyadı	Gözütok
Doğ.Yeri	Kırıkkale	Doğ.Tar.	15.12.1982
Uyruğu	TC	TC Kim No	36452272382
Email	eren575@mynet.com	Tel	0 506 665 05 38

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	-	-
Yük.Lis.	-	-
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2006
Lise	İlgaz Sağlık Meslek Lisesi	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Subay	Türk Silahlı Kuvvetleri	4 yıl (2007-2011)
2.	Veteriner Hekim	İstanbul İl Tarım ve Orman Müdürlüğü	7 yıl (2011-2018)
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	63,75	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):