

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**BİR SU ÜRÜNLERİ İŞLETMESİNDE
GELENEKSEL VE HIZLI TEST YÖNTEMLER İLE
Listeria TÜRLERİNİN SAPTANMASI**

Sinem AKSOY

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 504.07.01

Sunuş Tarihi: 07.09.2009

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Duygu KIŞLA

Bornova-İZMİR

Sinem AKSOY tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “**Bir Su Ürünleri İşletmesinde Geleneksel ve Hızlı Test Yöntemler ile *Listeria Türlerinin Saptanması***” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **07.09.2009** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Duygu KIŞLA

Raportör Üye : Yrd. Doç. Dr. Berna KILINÇ

Üye : Doç. Dr. Yekta GÖKSUNGUR

ÖZET
BİR SU ÜRÜNLERİ İŞLETMESİNDE
GELENEKSEL VE HIZLI TEST YÖNTEMLER İLE
***Listeria* TÜRLERİNİN SAPTANMASI**

AKSOY, Sinem

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim

Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Duygu KIŞLA

Eylül 2009, 51sayfa

Bu çalışma bir su ürünleri işleme tesisinde *Listeria* türlerinin kontaminasyonunun belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla bir su ürünleri işleme tesisinden alınmış olan hem çevresel hem gıda örneklerinde geleneksel yöntem ve hızlı test yöntemi ile *Listeria* türleri aranmıştır. Aynı zamanda gıda ve çevresel örneklerde, çalışması immünolojik prensiplere dayanan TECRA Unique *Listeria* Test kullanılarak testin etkinliği tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında İzmir çevresindeki faaliyette olan bir su ürünleri işleme tesisine iki farklı zamanda gidilmiştir. Örnekleme döneminde işletmede üretilmiş olan su ürünleri (taze hamsi fileto, ahtapot salatası, hamsi salatası, taze karides, vb.) ile birlikte zemin, plastik kasalar, taşıma bantları, plastik eldivenler, önlükler, tezgahlar ve işletmede kullanılan su olmak üzere toplam 40 örnek (her örneklemede 20'şer örnek) analize alınmıştır.

Birinci örnekleme sonuçlarına göre geleneksel yöntem ile 20 örneğin 3'ünde (% 15) *Listeria* türleri izole edilirken, bu mikroorganizma türleri hızlı yöntem ile izole edilmemiştir. Bu 3 izolattan su örneğinden izole edileni *Listeria monocytogenes* olarak saptanmıştır. Diğer 2 izolat ise zemin ve taze mürekkep balığından izole edilerek bu izolatların diğer *Listeria* türlerine ait olduğu tespit edilmiştir.

İkinci örnekleme sonuçlarına göre geleneksel yöntem ile 20 örneğin sadece 1'inde (taze karides, % 5) *Listeria* türü izole edildiği halde hızlı yöntem ile bu mikroorganizma izole edilmemiştir.

Sonuç olarak geleneksel yöntem ile toplam 40 örneğin 4'ünde (% 10) *Listeria* türleri tespit edilirken hızlı test yöntemi *Listeria* türlerinin izole edilmesinde yetersiz kalmıştır. Ayrıca yapılan çalışma ile su ürünleri işletmesinin *Listeria* türleri ile kontaminasyonunun oldukça düşük olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Listeria* türleri, su ürünleri, su ürünleri işletmesi, geleneksel yöntem, hızlı yöntem

ABSTRACT

**DETECTION OF *Listeria* spp. IN A SEAFOOD PROCESSING
PLANT**

USING CONVENTIONAL AND RAPID TEST METHODS

AKSOY, Sinem

Thesis of MSc, Department of Fishing and Fish Processing Technology

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Duygu KIŞLA

September 2009, 51 pages

This study was carried out for the determination of *Listeria* species contamination in a seafood processing plant. For this purpose, *Listeria* species were searched in both environmental and food samples taken from a seafood processing plant using conventional method and rapid test methods. At the same time, effectiveness of TECRA Unique *Listeria* test, based on immunological principles, was determined in the food and environmental samples.

Under the scope of this study, a seafood processing plant in İzmir was visited two different times. Forty samples (20 samples in each sampling) in total, including seafood products (fresh anchovy fillets, octopus salad, anchovy salad, fresh shrimp, etc.) produced in the plant in the sampling period, together with the floor, plastic cases, conveyor belts,

plastic gloves, aprons, workbenches and the water used in the plant were analyzed.

According to the results of the first sampling, while *Listeria* species were isolated in 3 of 20 (15%) samples by conventional method, these microorganisms were not isolated by rapid test method. One of these 3 isolates, isolated from water sample, was identified as *Listeria monocytogenes*. The other 2 isolates isolated from the floor and the fresh cuttlefish were determined other *Listeria* species.

According to the results of the second sampling, although *Listeria* spp. was isolated in only 1 (fresh shrimp) of 20 samples (5%) by conventional method, this microorganism was not isolated by rapid test method.

In conclusion, while *Listeria* species were detected in 4 of 40 (10%) samples by conventional method, rapid test method failed to detect the isolation of *Listeria* species. Moreover, the contamination of *Listeria* species in the seafood processing plant was found to be quite low.

Keywords: *Listeria* spp., seafoods, seafood processing plant, conventional method, rapid test method

TEŞEKKÜR

Çalıőmamda konumun seçiminde, çalıőmamın yönlendirilmesinde ve örneklerimin temin elde edilmesinde değerli katkıları olan Danıőman Hocam Doç. Dr. Duygu KIŞLA'ya ve hayatımın her aőamasında bana maddi, manevi yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| ÖZET..... | V |
| ABSTRACT..... | VII |
| TEŞEKKÜR..... | IX |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. LİTERATÜR ÖZETLERİ..... | 4 |
| 2.1 <i>Listeria</i> Türleri ve Listeriosis..... | 4 |
| 2.2 <i>Listeria</i> Türlerinin Çeşitli Su Ürünlerinde Görülme Olasılığı | 5 |
| 2.3 Su Ürünlerinin <i>Listeria</i> Türleri ile Kontaminasyonunda İşleme Alanından Kaynaklanan Riskler..... | 8 |
| 2.4 <i>Listeria</i> Türlerinin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler | 10 |
| 2.4.1 Geleneksel yöntemler..... | 10 |
| 2.4.2 Hızlı test yöntemleri..... | 12 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 15 |
| 3.1 Örnek Toplama..... | 15 |
| 3.2 Su Ürünleri ve Su Örnekleri..... | 15 |
| 3.3 Çevresel Örnekler | 16 |
| 3.4 <i>Listeria</i> Türlerinin İzolasyonu..... | 17 |
| 3.4.1 Geleneksel yöntem | 17 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| 3.4.2 TECRA Unique <i>Listeria</i> Test yöntemi | 19 |
| 3.4.3 Biyokimyasal testler | 22 |
| 4 ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 25 |
| 4.1 Birinci Örneklem Bulguları | 25 |
| 4.1.1 Geleneksel yöntem ile elde edilen bulgular..... | 25 |
| 4.1.2 TECRA Unique <i>Listeria</i> Test yöntemi ile elde edilen bulgular .. | 28 |
| 4.2 İkinci Örneklem Bulguları | 30 |
| 4.2.1 Geleneksel yöntem ile elde edilen bulgular..... | 30 |
| 4.2.2 TECRA Unique <i>Listeria</i> Test yöntemi ile elde edilen bulgular .. | 32 |
| 5. SONUÇ VE TARTIŞMA..... | 35 |
| YARARLANILAN KAYNAKLAR | 43 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 51 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>ŞEKİL</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| 1.1 <i>Listeria</i> Türlerinin Kontaminasyon Döngüsü | 1 |
| 3.1 <i>Listeria</i> Türlerinin Geleneksel Yöntem İle İzolasyonu | 18 |
| 3.2 <i>Listeria</i> Türlerinin Hızlı Yöntem İle İzolasyonu | 21 |
| 3.3 SIM Agar'da <i>Listeria</i> varlığında gözlenen tipik şemsiye görünümü | 23 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Cizelge</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| 3.1 <i>Listeria</i> türlerinin tanımlanmasında kullanılan karbonhidrat (ksiloz, mannitol, ramnoz) fermantasyon testi | 24 |
| 4.1 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu) | 26 |
| 4.2 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu) ... | 27 |
| 4.3 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su örneğinde <i>Listeria</i> varlığı (1.örnekleme sonucu)..... | 27 |
| 4.4 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)..... | 28 |
| 4.5 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)..... | 29 |
| 4.6 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan su örneğinde <i>Listeria</i> varlığı (1.örnekleme sonucu)..... | 29 |
| 4.7 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu)..... | 30 |
| 4.8 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu) ... | 31 |
| 4.9 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su örneğinde <i>Listeria</i> varlığı (2.örnekleme sonucu)..... | 32 |
| 4.10 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu)..... | 33 |

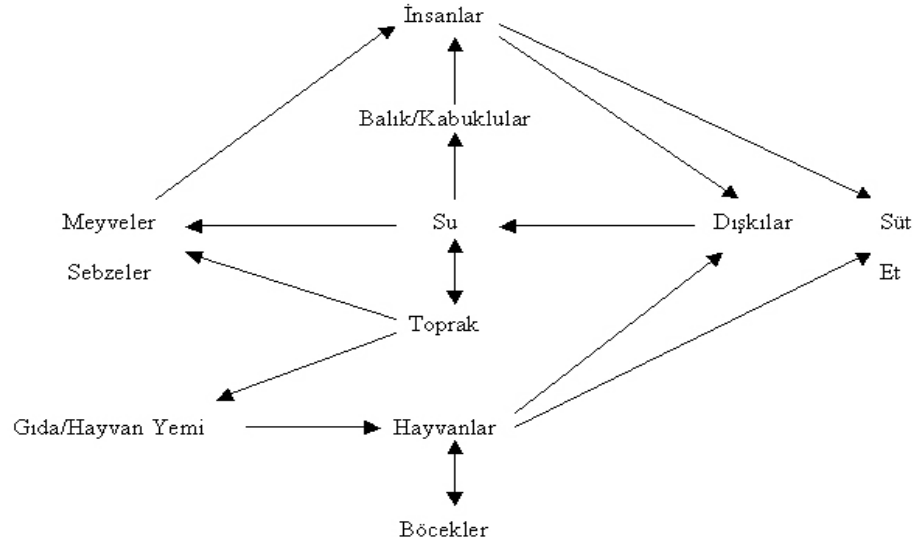
ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

| <u>Çizelge</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|---------------------|
| 4.11 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde <i>Listeria</i> türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu) | 33 |
| 4.12 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan, su örneğinde <i>Listeria</i> varlığı (2.örnekleme sonucu) | 34 |

1. GİRİŞ

Listeria monocytogenes 1980'li yıllardan beri gıda kaynaklı bir patojen olarak bilinmektedir. Listeriosis ise *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle oluşan ciddi bir enfeksiyonel hastalıktır. *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri çeşitli su ürünlerinden 1987 yılından beri düzenli olarak izole edilmektedir (Ben Embarek, 1994).

Listeria türlerinin kontamine olmuş sulardan balık ve kabuklulara bulaştığı ve bu su ürünlerinden de tüketim yoluyla insanlara geçtiği belirtilmiştir. Şekilde 1.1'de *Listeria* türlerinin kontaminasyon döngüsü görülmektedir.



Şekil 1.1 *Listeria* türlerinin kontaminasyon döngüsü (Dillon et al., 1992).

Genel olarak *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin deniz suyunda ve denizden avlanan su ürünlerindeki bulunma sıklığı, tatlı su ve bu sulardan avlanan su ürünlerine göre daha düşüktür (Ben Embarek, 1994; Soultos et al., 2007). Ayrıca *L.monocytogenes*'in soğuk tütsülenmiş balıklarda bulunma sıklığının, ısıtılmış ve kirlenmiş su ürünlerinde bulunma sıklığına göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (Jorgensen and Huss, 1998).

Gıda üretim zincirinde genel olarak *Listeria* türleri özellikle *Listeria monocytogenes* önemli bir hijyen indikatörüdür. Örneğin su ürünleri işletmelerinde *Listeria* türleri yüzeylerde ve kullanılan aletlerde çoğalabilmekte ve buralarda yerleşik flora haline gelebilmektedirler (Miettinen and Wirtanen, 2006; Kışla et al., 2007). Su ürünleri işleme sektöründe *Listeria* türleri ile sıklıkla kontamine olan problemliler arasında taşıma bantları ve diğer taşıma ekipmanları, tezgah, kesim aletleri, deri yüzme aletleri, zemin ve tahliye boruları gelmektedir (Johansson et al., 1999). Çalışan personelden bulaşma ise ayakkabı, önlük ve plastik eldiven aracılığıyla olabilmektedir.

L.monocytogenes ve diğer *Listeria* türleri saptanmasında geleneksel yöntemlerle birlikte hızlı yöntemler de kullanılmaktadır. Geleneksel yöntemlerle *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin saptanması, gıda stoklarının güvenli olarak piyasaya verilmesinde gecikmelere neden olmaktadır. Bundan dolayı gıda ve çevresel örneklerin izlenmesi için immünolojik ve genetik prensiplere dayanan hassas ve hızlı yöntemlerin gelişmesi sağlanmıştır. TECRA Unique *Listeria* Test (TECRA Int Pty

Ltd, Australia) immünoojik prensibe dayanan (immünoassay technology) hızlı yöntemlerdendir. Bu yöntemle gıdada ve çevresel örneklerdeki bütün *Listeria* türleri 32 saat içinde saptanabilmektedir.

Bu çalışma ile İzmir'de faaliyet gösteren bir su ürünleri işletmesinde *Listeria* türlerinin saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca analize alınan örneklerde hızlı test yönteminin etkinliği de değerlendirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1 *Listeria* Türleri ve Listeriosis

Listeria cinsi bakteriler gram pozitif, kısa, çubuk şeklinde ve sporsuz olup 6 tür içermektedir (ICMSF, 1996): *L.monocytogenes*, *L. innocua*, *L.seeligeri*, *L.welshimeri*, *L.ivanovii*, *L.grayi*. Bu türler içerisinde sadece patojenik olan hemolitik türler ise *L.monocytogenes*, *L.ivanovii* ve *L.seeligeri*'dir. *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri doğada yaygın olarak bulunmakta olup, toprak, su, silaj, kanalizasyon, süt ve süt ürünleri, meyve ve sebzeler, et ve et ürünlerinden izole edilmiştir. *L.monocytogenes* 1980'li yıllardan beri gıda kaynaklı bir patojen olarak bilinmektedir (ICMSF, 1996). *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri çeşitli su ürünlerinden 1987 yılından beri düzenli olarak izole edilmektedir (Ben Embarek, 1994).

Listeriosis, *L.monocytogenes* ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle oluşan ciddi bir enfeksiyonel hastalıktır ve bu hastalıktan kaynaklanan ölüm oranı % 30 olarak ifade edilmektedir (Rocourt et al., 2001). Genelde 1000 canlı hücreden daha az sayının hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (Bremer et al., 2003). Hamile kadınlar, çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıf olan kişiler (AIDS, kanser hastaları vb.) daha kolay etkilenmektedirler. Hamile kadınlarda ateş ve baş ağrısı ile seyretmekte ve düşüklere neden olmaktadır (WHO/FAO, 2004). Yapılmış olan bazı çalışmalarda su ürünlerinden kaynaklanan listeriosis salgınları rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada 1992 yılında Yeni

Zelanda’da listeriosis salgını görüldüğü ve salgında 17 kişinin tütülenmiş midyede bulunan *L.monocytogenes*’den dolayı listeriosis hastalığına yakalandıkları rapor edilmiştir (Brett et al., 1998). Yapılan diğer bir çalışmada İsveç’te görülen listeriosis salgınında 3’ü hamile toplam 9 kişide listeriosis vakası görülmüş ve 2 kişinin yaşamını yitirdiği rapor edilmiştir. Bu salgında görülen listeriosis vakalarının *L.monocytogenes* ile kontamine olmuş ‘gravad’ gökkuşağı alabalığı tüketiminden kaynaklanmış olduğu bildirilmiştir (Ericsson et al., 1997). Diğer bir çalışmada ise *L.monocytogenes* ile kontamine olmuş soğuk tütülenmiş gökkuşağı alabalığı tüketen 5 kişinin ateşli seyreden mide iltihabı geçirmiş olduğu rapor edilmiştir (Miettinen et al., 1999).

2.2 Listeria Türlerinin Çeşitli Su Ürünlerinde Görülme Olasılığı

L. monocytogenes ve diğer *Listeria* türleri başlıca tatlı sulardan, endüstriyel, insan ve hayvan kaynaklı kontaminasyona maruz kalmış sığ deniz sularından izole edilmektedir (Ben Embarek, 1994). Bu alanlarda avlanan balık ve diğer su ürünleri bu organizmayı içerebilmektedir.

L. monocytogenes ve diğer *Listeria* türlerinin su ürünlerinde bulunma yüzdeleri yapılan birçok çalışma ile verilmiştir (Kılınç, 2001). Fuchs and Surrendan (1989) yaptıkları çalışmada 35 tropikal balık ve balık ürünlerinden yaptıkları örneklemelerde 10 taze örnekten 3’ünü, 14 dondurulmuş örneğin 5’ini yaptıkları analizler sonucunda *Listeria* varlığı açısından pozitif bulmuşlardır. Yapılan çalışmada analize alınan taze su

ürünlerinin karides ve diğer tropikal balıklardan oluştuğunu belirtmişlerdir. Örnekleme tuzlanmış ve kurutulmuş balıkların hiçbirinden *Listeria* türü izole etmediklerini belirtmişler ve izole edilen tüm örneklerin *L.innocua* türüne ait olduğunu saptamışlardır. Diğer bazı araştırmacılar, deniz ürünleri salatalarında *L.monocytogenes* kontaminasyon oranlarını İzlanda'da %16 (Heisick et al., 1989) ve Belçika'da % 27 olarak saptamışlardır (Uyttendaele et al., 1999).

Hartemink and Georgsson (1991)'de su ürünlerinden toplam 128 örnekleme yapmış ve bu örnekleri *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin varlığı açısından incelemişlerdir. Örneklemede kullanılan ürün yelpazesinde taze balık, tütülenmiş ve kurutulmuş balık, dondurulmuş kabuklular ve karidesin yanı sıra çeşitli balık salatalarının olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda *Listeria* türlerini taze balıklardan yapılan örnekleme oranları % 59, tütülenmiş balıklardan yapılan örnekleme oranları % 29, karidesten % 9 ve salatalardan % 32 oranında saptamışlar bununla birlikte kabuklu deniz ürünlerinden ya da kurutulmuş balıklardan herhangi bir *Listeria* türü izole edemediklerini belirtmişlerdir. De Simon et al. (1992), İspanya'da yürüttükleri çalışmada 40 adet taze midye örneğinin % 22,5'inde *Listeria* türleri ve % 7,5'inde ise *L.monocytogenes* kontaminasyonu gözlemişlerdir.

Yapılan bir çalışmada deniz suyu ve tatlı sudan belli dönemlerde örnekleme yapılmış deniz suyunda *Listeria* türleri bir dönem hiç saptanmamış iken belirli dönemlerde ise % 52 oranında saptanmış olduğu ve aynı şekilde *L.monocytogenes* türü bir dönem hiç saptanmazken bazı

dönemlerde % 33 oranında izole edildiği bildirilmiştir (Ben Embarek, 1994). Bu durumu araştırmacı, deniz suyuna zaman zaman mikroorganizma içeren nehir sularının ve nehrin sediment tabakasının karıştığı şeklinde açıklamış ve deniz suyundan kimi zaman *Listeria* türleri izole edilirken kimi zaman izole edilmediğini belirtmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada tatlı sudan alınan örneklerde ise *Listeria* türleri % 8-100 ve *L.monocytogenes* % 37-62 oranlarında saptandığı bildirilmiştir. Tatlı suyun kontaminasyonunu ise nehre belli dönemlerde karışan suya çevrede yaşayan hayvan türlerinden gelen kontaminasyon sonucu kaynaklandığını belirterek *Listeria* türlerinin bulunma olasılığının değişiklik gösterdiğini açıklamıştır. Yapılan diğer bir çalışmada araştırmacılar soğuk tütsülenmiş, ısıtılmış ve kürlenmiş su ürünleri ile yaptıkları çalışmada şu oranları elde etmişlerdir; soğuk tütsülenmiş su ürünlerinde *L.monocytogenes* % 34-60, ısıtılmış su ürünlerinde *L.monocytogenes* % 4-12, kürlenmiş su ürünlerinde ise *L.monocytogenes* % 4 oranlarında verilmiştir (Jorgensen and Huss, 1998). Gombas et al. (2003), deniz ürünleri salataları ile yaptıkları çalışmada *L.monocytogenes* görülme olasılığını % 4,7 olarak belirlemişlerdir. Miettinen and Wirtanen (2006) tarafından tatlı sudan avlanmış olan taze balıklar ile yapılmış olan çalışmada *Listeria* türleri % 30 oranında saptanmış iken *L.monocytogenes* % 27 oranında saptanmıştır. Yapılan diğer bir çalışmanın sonuçlarına göre denizden avlanmış olan taze balıklarda *Listeria* türleri % 4 iken *L.monocytogenes* % 1'den az bulgulanmıştır (Soultos et al., 2007).

Buna göre, çalışmaların sonuçları deniz suyundan avlanan, ısıtılmış ve işlem görmüş ve kirlenmiş su ürünlerinin *Listeria* türleri ve *L.monocytogenes* görülme sıklıklarının daha az olduğunu göstermektedir.

2.3 Su Ürünlerinin *Listeria* Türleri İle Kontaminasyonunda İşleme Alanından Kaynaklanan Riskler

Doğada yaygın bir şekilde bulunan *Listeria* türleri çevresel kontaminant olarak gıda işletmelerinde dikkate alınması gereken bir bakteri grubudur.

Yapılan bir çalışmada kirlenmemiş suların avlanan balıkların *L.monocytogenes* ile kontamine olmadığı halde taze balıkların işleme tesisine ulaşana kadar uzun süre geçtiği durumlarda *Listeria* kontaminasyonunun bu zaman zarfında taşıyıcı olarak kullanılan alet-ekipman ile meydana gelebileceği bildirilmiştir (Huss et al., 1995). Eklund et al. (1995) yaptıkları çalışmada işleme alanında ve işlemede kullanılan ekipmanlarda yeterli derecede temizlik ve sanitasyon işlemleri uygulandıktan sonra kontaminasyonun devam ettiğini ve *L.monocytogenes* kontaminasyonunun öncelikli kaynağının taze balık materyali olduğu ve işletmeye organizmanın bu şekilde bulaştığını saptamışlardır. *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri deniz suyu veya tatlı su ile bu suların avlanan su ürünleri ile su ürünleri işletmelerine girmekte ve personel, kullanılan alet-ekipmanlar ile işletme içine

taşınabilmektedir (Johansson et al., 1999). Bu durum işleme alanlarının ve son ürünün kontaminasyonuna neden olmaktadır.

Yapılan bir çalışmada somonu soğuk tütüleme ile işleyen 40 işleme tesisinde *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerini saptamak amacıyla tütülenmiş somon örnekleri ve drenajlardan örnekleme yapılmıştır. Kırk işleme tesisinden alınan örneklerin analiz sonuçlarına göre 25 tesisin drenaj örneklerinde (% 63) *L.monocytogenes* saptanmış iken drenajlardaki diğer *Listeria* türlerinin 30 tesisten (% 75) izole edildiği bildirilmiştir (Rorvik et al., 1997). İşletmedeki kanalizasyon kanallarında *L.monocytogenes*'in bulunması işletmede meydana gelebilecek birçok probleme neden olabileceği bildirilmiştir.

İşletmelerde kullanılan alet ve ekipmanların uygun şekilde temizlik ve dezenfeksiyonunun yapılmaması, çiğ ve pişmiş gıdalar için kullanılan alet ve ekipmanların aynı olması mikrobiyal kontaminasyon için risk oluşturmaktadır. İşleme ekipmanlarının (taşıma bantları, bıçaklar, vb.) özellikle taşıma bantları *L.monocytogenes*'in tutunmasını sağlayacak materyalden yapıldığı ve işletmede kontaminasyon açısından önemli kritik noktayı oluşturduğu bildirilmiştir (Rorvik, 2000). *Listeria* türleri su ürünleri işleme alanlarındaki ekipmanlara tutunup hızlıca üreyebilir (Bremer et al., 2003). Birçok mikrobiyal hücre gibi *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri de polisakkarit yapıda olan ve hücrelerin yüzeye tutunması sağlayan biyofilm oluşturarak alet-ekipman ve yüzeylerde gelişerek ürünleri kontamine edebilirler.

Watnick and Kolter (2000) biyofilmi canlı ya da cansız bir yüzeye tutunmuş birçok bakterinin salgıladıkları mukoz yapı içerisinde bir araya gelmesiyle oluşan “mikroplar şehri” olarak tanımlamışlardır. Biyofilm içerisindeki hücrelerin canlı kalma yetenekleri oldukça yüksektir. Biyofilmler temizleme ve sanitasyon araçları (dezenfektanlar, fırça vb.), sıcaklık değişimleri ve kurutma etkilerine karşı direnç göstermektedirler. *Listeria* türleri su ürünleri işleme alanlarındaki diğer bakterilerle kolay şekilde kolonize olabilmektedir. *L.monocytogenes* hücrelerinin işleme alanındaki yüzeylere tutunduğu durumlarda su ürünleri işleme alanındaki *Listeria* kontaminasyon kaynağının o alanda oluşan biyofilm olduğuna inanılmakta ve *L.monocytogenes* spesifik türünün gıdalarda sürekli görülebilirliğinin sebebini açıklamaktadır (Bremer et al., 2003). Yüzeye tutunan *L.monocytogenes* ve diğer bakteriler oluşturdukları biyofilm tabakası ile gıda güvenliğini ve kalitesini tehdit etmektedir (Bagge and Gram, 2000; Wong, 2003).

2.4 Listeria Türlerinin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

2.4.1 Geleneksel yöntemler

2.4.1.1 ISO (International Organization for Standardization) 11290-1 yöntemi (Anon, 1997)

Örnekler 225 ml Half Fraser Broth (CM 895) içerisine alınır ve 37 °C’de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyon bitiminde ikinci zenginleştirme sıvısı olan Half Fraser Broth’a (seçici ajanlar eklenmiş) ilk zenginleştirme ortamından aktarılır ve 37 °C’de 48 saat inkübe edilir.

İkinci zenginleştirme ortamından bir öze ile Palcam Agara (PA, Oxoid, CM 877) ve Oxford Agar'a (OA, Oxoid, CM 856) ekim yapılır. OA petrileri 30°C'de 24-48 saat, PA 37°C'de 24-48 saat inkübe edilir. Oluşacak olan tipik koloniler üzerinden biyokimyasal testlere geçilip tür düzeyinde tanımlamalar yapılır.

2.4.1.2 FDA/BAM (Food and Drug Administration/Bacteriological Analytical Manual) yöntemi (FDA/BAM, 2003)

Örnekler Buffered *Listeria* Enrichment (BLEB, Oxoid, CM 897) içerisine alınır 30°C'de 4 saat ön zenginleştirme sıvısında inkübe edilir. Dördüncü saatin sonunda seçici ajanlar inkübe edilmiş sıvıya eklenir. Seçici ajanların eklenmesiyle 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılır. Zenginleştirme kültürü ayırt edici ve seçici olan besiyerlerinden birine ya da bir kaçına [OA/ Modified Oxford Agar (MOX, Oxoid, CM 856) ve supplement (Modified Oxford Antimikrobiyal Supplement, Moxalactam-Colistin Sulfate (Difco, 211763), (35°C'de 48 saat)/ PA, (35°C'de 48 saat)] öze ile ekim yapılır ve belirtilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilir. Oluşacak olan tipik koloniler üzerinden biyokimyasal testlere geçilip tür düzeyinde tanımlamalar yapılır.

2.4.1.3 USDA/FSIS (United States Department of Agriculture/ Food Safety and Inspection Service) yöntemi (USDA/FSIS, 2002)

Örnekler ön zenginleştirme sıvısı olan University of Vermont Broth (UVM, Oxoid, CM 863) besiyerine tartılır ve 30°C'de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyon süresi sonunda ön zenginleştirme sıvısı ikinci zenginleştirme sıvısı olan Fraser Broth tüplerine inoküle edilir ve 35°C'de 48 saat inkübe edilir. İnkübasyon süresi sonunda Fraser Broth tüplerinden öze ile alınan örnek MOX agara ekilir ve 35°C'de 48 saat inkübe edilir. Oluşacak olan tipik koloniler üzerinden biyokimyasal testlere geçilip tür düzeyinde tanımlamalar yapılır.

2.4.1.4 HPB (Health Protection Branch) yöntemi (Pagotto et al., 2001)

HPB yöntemi yaygın olarak kullanılmakta olan geleneksel bir yöntem olup çalışmada temel alınan yöntemdir. Materyal ve Yöntem bölümünde 3.4.1 Geleneksel Yöntem başlığı altında analiz aşamaları anlatılmaktadır.

2.4.2 Hızlı test yöntemleri

L.monocytogenes ve diğer *Listeria* türleri saptanmasında geleneksel yöntemlerle birlikte hızlı yöntemleri de kullanılmaktadır. Gıda

ve çevresel örneklerin izlenmesi için immünolojik ve genetik prensiplere dayanan hassas ve hızlı yöntemler geliştirilmektedir.

2.4.2.1 İmmünolojik prensiplere dayanan hızlı test yöntemleri

İmmunolojik yöntemler gıda sanayinde özellikle et endüstrisinde kalite kontrolde ve çeşitli gıdalarda toksin, hormon, ilaç, pestisit ve antibiyotik kalıntıları gibi birçok maddenin saptanmasında kullanılmaktadır. Buna ilaveten bu yöntemler kolay, çabuk ve pratik yöntemler olmaları nedeniyle gıdalarda patojen mikroorganizmaların ve mikrobiyal toksinlerin saptanmasında da yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Antijen-antikor reaksiyonları bakterilerin tanımlanmasında içinde bulunduğumuz yüzyılın başından beri kullanıla gelmektedir.

İmmunolojik yöntemler, antijen-antikor reaksiyonlarının direkt olarak saptandığı primer reaksiyonlar ve antijen- antikor reaksiyonlarının indirekt olarak saptandığı sekonder reaksiyonlar olmak iki ana kısma ayrılabilir. Primer reaksiyonlarda antikorun antijene bağlanıp bağlanmadığı direkt olarak saptanırken, sekonder reaksiyonlarda ise antikor-antijen kompleksinin oluşturduğu özellikler belirlenir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Listeria türlerinin belirlenmesi immunolojik yöntemlere dayalı geliştirilen test kitleriyle de yapılmaktadır. Bütün yöntemler bir veya ardışık iki zenginleştirme evresine gereksinim duymaktadır ancak katı

besiyerinde koloni oluşumu için geçen süreden tasarruf edilmektedir. Bu kitler arasında; Oxoid *Listeria* Rapid Clearview Test, TECRA *Listeria* Visual Immunoassay, Transia Plate *Listeria*, VIDAS *Listeria* LIS (bioMeriéux), VIDAS *Listeria monocytogenes* LMO (bioMeriéux) sayılabilir.

2.4.2.2 Genetik prensiplere dayanan hızlı yöntemler

Genetik prensip yöntemlerinden olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu 1985 yılında geliştirilen DNA ve RNA moleküllerinin sayısal olarak çoğaltılmasına dayanan bir yöntem olup şu an dünyada en çok kullanılan genetik bazlı olan hızlı test yöntemidir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu, hedeflenen bir DNA segmentini hızla kopyalamak için kullanılan analitik bir araçtır. Bu yöntemle söz konusu mikroorganizmanın örnekte sadece bir tane bile olması durumunda bile saptanması mümkündür.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri gıda ve çevresel örneklerde saptanmasında kullanılan en hassas yöntemlerden bir tanesidir. Bu yöntemi kullanarak örneklerde *Listeria* türlerinin tespiti ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Makino et al., 1995; Norton and Batt, 1999; Norton, 2002).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Örnek Toplama

Çalışma kapsamında İzmir çevresindeki faaliyette olan bir su ürünleri işleme tesisine iki farklı zamanda gidilmiştir. Gidilen dönemlerde üretilmiş olan su ürünlerinden, çevresel örneklerden ve işletmede kullanılan sudan örnekleme yapılmıştır. Bütün örnekler aseptik tekniğe uygun olarak steril bıçak, kaşık, çatal, eldiven, pens, vs. kullanılarak steril polietilen torbalara veya cam şişelere konulmuştur. Örnekler en kısa zamanda mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılarak analize alınmıştır.

3.2 Su Ürünleri ve Su Örnekleri

İlk örnekleme yapılan dönemde işleme tesisinde üretilen taze hamsi fileto, hamsi salata, ahtapot salata, taze karides ve taze mürekkep balığı ve işletmede kullanılan sudan örnekler alınmıştır. İkinci örneklemede ise o dönemde işlenen taze hamsi fileto, haşlanmış ahtapot, taze karides, taze ahtapot, taze kalamar ve işletmede kullanılan sudan örnekler alınmıştır. Taze ahtapot, taze mürekkep balığı ve taze kalamardan örnekleme çalkalama (rinse) yöntemi kullanılarak yapıldığı halde diğer su ürünlerinin örneklemeinde 25'er gram porsiyonlar tartılmıştır.

Çalkalama yöntemi için 2'şer adet ahtapot, mürekkep balığı ve kalamar örnekleri kullanılmıştır.

İşletmede kullanılan su kaynak suyu olup, işletme içerisinde kullanılmadan önce suya ozon ve klor uygulaması yapılmaktadır. İşletme tarafından kaynak suyundan örnek alınmasına izin verilmediği için, ozon ve klor uygulaması yapılarak işletme içerisine verilen su örneklerinden örnekleme yapılmıştır. Bunun için işletme içerisinde yer alan hortumların birinden su belli bir süre akıtılarak 500 ml'lik steril cam şişelere doldurulmuştur. Su örnekleri 0,45 µm gözenek çapına sahip membran filtrasyondan (Millipore, type HA) geçirilmiştir.

3.3 Çevresel Örnekler

Çoğu yüzeyden (plastik kasalar, taşıma bantları, plastik eldivenler, önlükler, tezgahlar) örnek alımı, her bir örnek için 5 adet steril swab çubukları kullanılarak swab yöntemi ile yapılmıştır. Örnek alımında kuru swab çubuklarını nemlendirmek için % 0,1 peptonlu su içeren tüpler kullanılmıştır. Kullanılmış swab çubukları peptonlu su içeren tüplerde laboratuvara ulaştırılmıştır.

Her zemin örneği için 5 adet steril kaba filtre kağıdı (5x5 cm) kullanılmıştır. Filtre kağıtları yüzeydeki nemi absorbe etmek için rasgele zemine yerleştirilmiş ve steril petri kutularında laboratuvara ulaştırılmıştır.

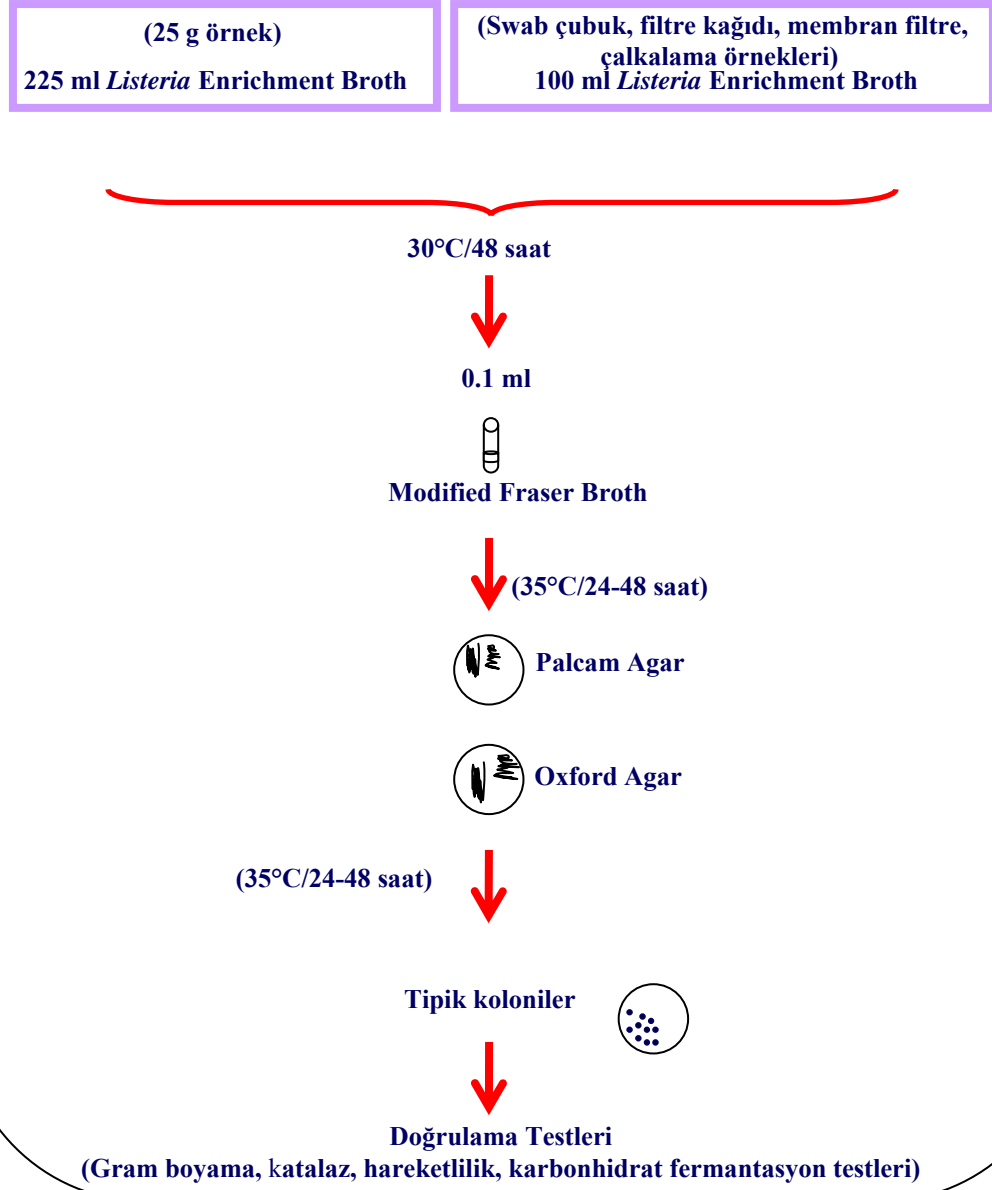
3.4 *Listeria* Türlerinin İzolasyonu

Su ürünleri işletmesinde *Listeria* türlerinin izolasyonunda örnekleme yapıldığı noktalarda geleneksel yöntemle (Pagotto et al., 2001) birlikte TECRA Unique *Listeria* Test (TECRA, LISUNQ20) kullanılmıştır.

3.4.1 Geleneksel yöntem

Yirmi beş gram olarak tartılan örnekler 225 ml *Listeria* Enrichment Broth'a (LEB, Oxoid, CM 863), swab çubukları, filtre kağıtları, membran filtre örnekleri 100 ml LEB'a aktarılmıştır. Çalkalama sıvısı olarak ise 100 ml'lik LEB kullanılmıştır. 30°C'de 48 saat inkübasyondan sonra 0,1 ml LEB kültürleri 10 ml ikinci zenginleştirme sıvısına (Modified Fraser Broth, MFB; Oxoid, CM 895) inoküle edilmiştir. 35°C'de 24-48 saat inkübasyon sonrası MFB tüpleri Palcam Agar (PA; Oxoid, CM 877) ve Oxford Agar (OA; Oxoid, CM 856) plaklarına çizilerek 35°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Petrilerde oluşan olası *Listeria* cinsine ait koloniler seçilerek tür düzeyinde tanımlama işlemi gram boyama, katalaz testleriyle birlikte hareketlilik ve karbonhidrat (ksiloz, mannitol, ramnoz) fermantasyon testleri yapılmıştır (Şekil 3.1).

Listeria Türlerinin Geleneksel Yöntem İle İzolasyonu

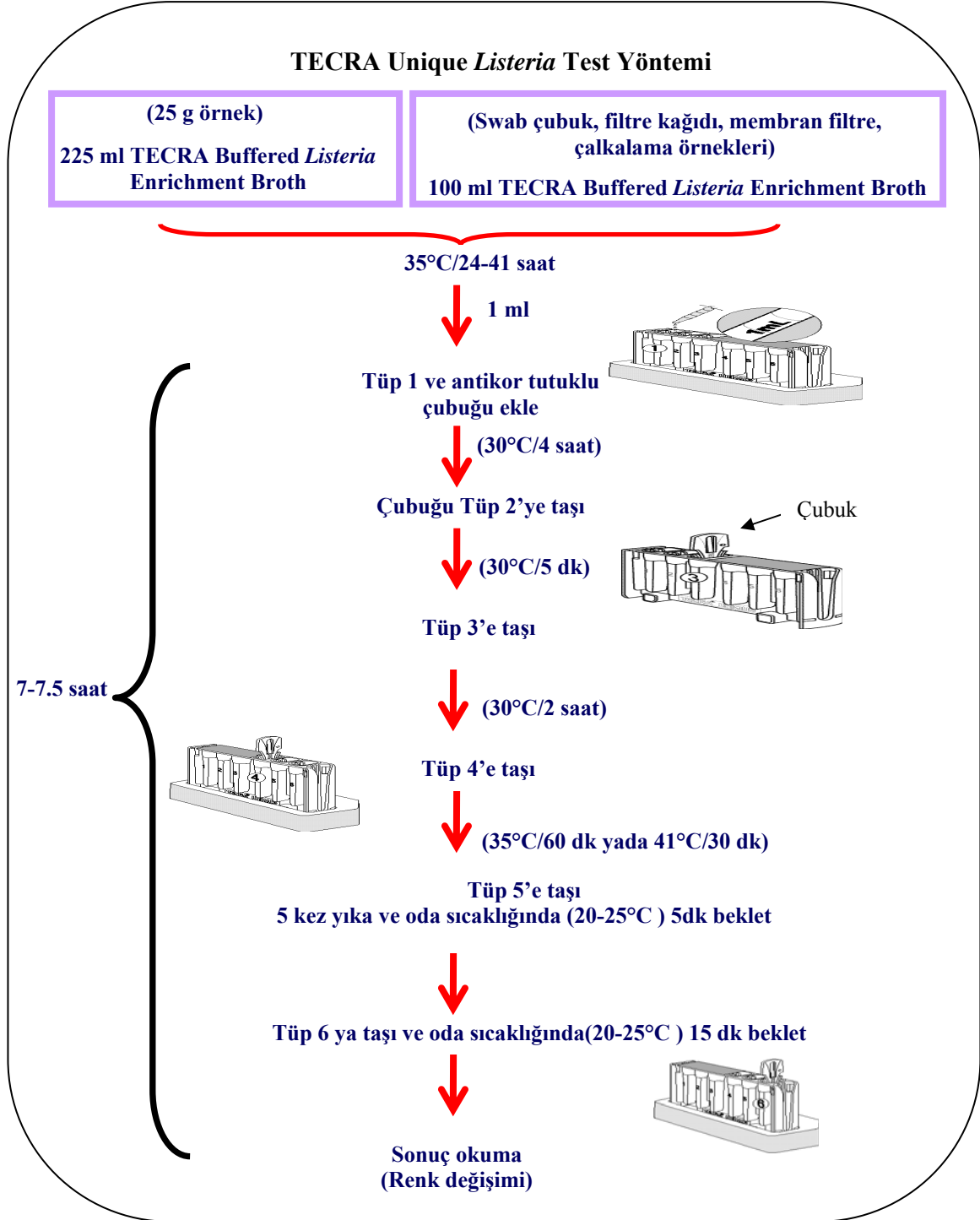


Şekil 3.1 *Listeria* Türlerinin Geleneksel Yöntem İle İzolasyonu

3.4.2 TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi (Anon, 2005)

Yirmi beş gram olarak tartılan örnekler 225 ml TECRA Buffered *Listeria* Enrichment Broth'a (TBLEB, TECRA, BLEMED500) swab çubukları, filtre kağıtları, membran filtre örnekleri 100 ml TBLEB'a aktarılmıştır. Çalkalama sıvısı olarak ise 100 ml'lik TBLEB kullanılmıştır. İnkübasyon sıcaklığı çevresel örnekler için 35°C'de 24 saat, taze ve işlenmiş su ürünleri için 35°C'de 41 saat olarak uygulanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda zenginleştirme sıvılarından 1'er ml alınarak kit içerisinde mevcut olan ve 1'den 6'ya kadar seri halde bulunan tüplerden (Şekil 3.2) 1 numaralı tüpe inoküle edilmiştir. Üzerine antikor tutuklanmış çubuklardan her biri 1 numaralı tüpe daldırılarak 30°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sona erdikten sonra çubuk 2 nolu tüpe daldırılarak tekrar 30°C'de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Beş dakika sonunda çubuklar 3 nolu tüpe daldırılarak 30°C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda çubuk 4 nolu tüpe geçirilmiştir. Dört nolu tüpte iki inkübasyon seçeneği bulunmaktadır. Birinci seçenek 35°C'de 60 dakika veya 41-43°C'de 30-40 dakika inkübasyon seçeneğidir. Bu inkübasyon sürelerinden birini seçip uyguladıktan sonra 4 no'lu tüpten 5 no'lu tüpe çubuğu geçirip 5 dakika boyunca 20-25°C oda sıcaklığında bekletilmiştir. Son olarak 6 nolu tüpe çubuğu transfer edip 20-25°C oda sıcaklığında 15 dakika daha bekletilmiştir. Sonuç okumak için çubuğu 6 nolu tüpten çıkartıp 1 saat içerisindeki renk değişimi gözlenmiştir. Çubuk üzerinde mor çizginin varlığı *Listeria* cinsinin var olduğunu göstermektedir. Pozitif sonuçların (*Listeria* cinsi pozitif) tür düzeyinde tanımlanması için kit içerisindeki 3

numaralı tüpteki kültürün OA ve PA plaklarına çizilmesi ve biyokimyasal testler yapılarak doğrulanması gerekmektedir.



Şekil 3.2 *Listeria* Türlerinin Hızlı Yöntem İle İzolasyonu

3.4.3 Biyokimyasal testler

3.4.3.1 Katalaz testi

% 0,6 oranında maya ekstraktı (YE, Oxoid, L21) ilave edilmiş Tryptone Soya Agar (TSA, Oxoid, CM0131) [TSA-YE] besiyerinde gelişen kolonilerden öze ile bir miktar kültür temiz bir lam üzerine transfer edilerek üzerine bir damla % 3'lük hidrojen peroksit damlatılmıştır. Hidrojen peroksit damlatıldığında gaz kabarcıklarının gözlenmesi kültürün katalaz pozitif olduğunun göstergesidir (Harrigan and McCance, 1976). *Listeria* türleri katalaz pozitifdir (Pagotto et al., 2001).

3.4.3.2 Hareketlilik testi

TSA-YE plaklarında gelişen kolonilerden Sulphate Indole Motility Agar'a (SIM agar, Merck 1.05470) iğne öze ile daldırma yöntemiyle inokülasyon yapılarak ve tüpler 25°C'de 2-5 gün inkübe edilmiştir (Pagotto et al., 2001). İnkübasyon süresi sonunda inokülasyon çizgisi boyunca tipik olarak agar yüzeyine doğru şemsiye şeklinde bir gelişme gözlenmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 SIM Agar'da *Listeria* varlığında gözlenen tipik şemsiye görünümü

3.4.3.3 Karbonhidrat fermantasyon testi

1. TSA-YE plaklarında geliştirilen *Listeria* kolonilerinden içerisinde % 0,5 oranında karbonhidrat (mannitol, L-ramnoz ve D-ksiloz) bulunan Carbonhydrate Fermentation Broth 2 [proteose peptone, 10g; beef extract; 1g; sodyum klorür, 5g; bromcresol purple (% 1'lik sulu çözeltisi) 2ml; destile su, 1lt; pH: 6,8] besiyerine öze ile inokülasyon yapılarak tüpler 35-37 °C'de 5 gün inkübasyona bırakılır (Pagotto et al., 2001).
2. Besiyerinin orijinal mor renginin karbonhidrat fermentasyonu sonucu üretilen asit nedeniyle sarıya dönüşmesi mikroorganizmanın fermantasyon pozitif olduğunu rengin değişmeden kalması ise fermantasyon negatif olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.1'de *Listeria* türlerinin tanımlanmasında kullanılan fermantasyon testinin sonuç değerlendirme tablosu verilmiştir.

Çizelge 3.1 *Listeria* türlerinin tanımlanmasında kullanılan karbonhidrat (ksiloz, mannitol, ramnoz) fermantasyon testi

| <i>Listeria</i> Türleri | Karbonhidrat fermantasyon | | |
|----------------------------|---------------------------|--------|--------|
| | Mannitol | ramnoz | Ksiloz |
| <i>L.monocytogenes</i> | - | + | - |
| <i>L.innocua</i> | - | +/- | - |
| <i>L.welshimeri</i> | - | +/- | + |
| <i>L.seeligeri</i> | - | - | + |
| <i>L.ivanovii</i> | - | - | + |
| <i>L.murrayi (L.grayi)</i> | + | +/- | - |

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışma kapsamında taze, dondurulmuş ve salata olarak işlenmiş özellikle deniz kaynaklı su ürünleri üreten bir su ürünleri işletmesinde var olabilecek *Listeria* türlerini saptamak amacıyla işleme tesisine iki farklı zamanda gidilerek üretilen su ürünleri, işletmede kullanılan su ve çevresel örneklerden olmak üzere toplam 40 örnek (her örneklemede 20'şer örnek) analize alınmıştır. Örneklerdeki *Listeria* türlerinin varlığı hem geleneksel hem de hızlı yöntemleri ile araştırılmıştır.

4.1 Birinci Örnekleme Bulguları

4.1.1 Geleneksel yöntem ile elde edilen bulgular

Çizelge 4.1'de birinci örneklemede geleneksel yöntem ile saptanan 13 çevresel örnekte *Listeria* türlerinin varlığı gösterilmiştir. İşletmede 3 farklı zeminden örnekleme yapılmıştır. Birinci zemin örneği taze su ürünlerinin temizlendiği alandan, ikinci zemin örneği paketleme alanından ve üçüncü zemin örneği ise su ürünleri salatalarının hazırlandığı alandan alınmıştır. Kasalara ait örneklemede ise hem kirli kasalardan (kullanılmış) hem de işletme tarafından temizliği yapılmış kasalardan örnekler alınmıştır. Temizlenmiş olan taşıma bandından 1 örnekleme yapılmıştır. İşçilerin balık işleme ve temizleme sırasında kullandıkları eldivenlerden, önlüklerden ve su ürünlerinin temizleme ve kesme işleminin yapıldığı tezgahlardan 2'şer örnekleme yapılmıştır.

Çizelge 4.1 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde *Listeria* türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)

| Çevresel örnekler | Örnek sayısı | Geleneksel Yöntem |
|-------------------------------|--------------|-------------------|
| Zemin | 3 | +* |
| Plastik kasalar (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik kasalar (kullanılmış) | 2 | - |
| Taşıma bantları (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik eldivenler | 2 | - |
| Önlükler | 2 | - |
| Tezgahlar | 2 | - |
| Toplam | 13 | |

*: Üç zemin örneğinden sadece 1'inden *Listeria* türü izole edilmiştir.

Buna göre 3 farklı zeminden alınan örneklerin sadece 1 tanesinde (taze su ürünlerinin temizlendiği alan) *Listeria* türleri izole edilmiştir. Yapılan biyokimyasal test sonuçlarına göre zeminden elde edilen izolatın *L.seeligeri*, *L.welshimeri*, *L.ivanovii* türlerinden birine ait olabileceği saptanmıştır. Diğer çevresel örneklerde *Listeria* türlerine rastlanmamıştır.

Birinci örneklemede işletmede üretilen su ürünlerinde geleneksel yöntem ile saptanan *Listeria* türlerinin varlığı Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. İşletmede üretilen hamsi salatayla birlikte hamsi salatının üretilmesinde kullanılan hamsi filetodan ve salamuradaki hamsiden de örnekleme yapılmıştır. Bunun yanında taze karides, taze mürekkepbalığı ve ahtapot salatasından 1'er örnekleme yapılmıştır.

Çizelge 4.2 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)

| Gıda örnekleri | Örnek sayısı | Geleneksel Yöntem |
|---------------------|--------------|-------------------|
| Hamsi fileto | 1 | - |
| Hamsi salata | 1 | - |
| Hamsi salamura | 1 | - |
| Ahtapot salatası | 1 | - |
| Taze karides | 1 | - |
| Taze mürekkepbalığı | 1 | + |
| Toplam | 6 | |

Buna göre analize alınan 6 su ürünleri örneğinden sadece taze mürekkep balığından *Listeria* türü izole edilmiştir. Yapılan biyokimyasal test sonuçlarına göre taze mürekkep balığından elde edilen izolatın *L.seeligeri*, *L.welshimeri*, *L.ivanovii* türlerinden birine ait olabileceği saptanmıştır.

Çizelge 4.3, geleneksel yöntem ile işletmede kullanılan sudan alınan örneğin *Listeria* türleri açısından varlığını göstermektedir.

Çizelge 4.3 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su örneğinde *Listeria* türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)

| Örnekler | Örnek sayısı | Geleneksel Yöntem |
|----------|--------------|-------------------|
| Su | 1 | + |
| Toplam | 1 | |

Buna göre geleneksel yöntemle analiz edilen su örneğinde *Listeria* türleri izole edilmiş olup yapılan biyokimyasal testler sonucunda bu izolatan *L.monocytogenes* olduğu saptanmıştır.

4.1.2 TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi ile elde edilen bulgular

Bölüm 4.1.1’de anlatıldığı üzere geleneksel yöntemde örnekleme yapıldığı yerlerden aynı zamanda TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi ile de örnekler analize alınmıştır.

Çizelge 4.4’de birinci örneklemede TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi kullanılarak analize alınan 13 çevresel örnekte *Listeria* türlerinin varlığı gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde *Listeria* türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)

| Çevresel örnekler | Örnek sayısı | TECRA Unique <i>Listeria</i> Test |
|-------------------------------|--------------|-----------------------------------|
| Zemin | 3 | |
| Plastik kasalar (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik kasalar (kullanılmış) | 2 | - |
| Taşıma bantları (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik eldivenler | 2 | - |
| Önlükler | 2 | - |
| Tezgahlar | 2 | - |
| Toplam | 13 | - |

Buna göre TECRA Unique *Listeria* Test ile analize alınan çevresel örneklerde hiçbir *Listeria* türü izole edilmemiştir.

Çizelge 4.5 TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi kullanılarak analizi yapılan 6 su ürünleri örneğinde *Listeria* türlerinin varlığını göstermektedir.

Çizelge 4.5 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)

| Gıda örnekleri | Örnek sayısı | TECRA Unique <i>Listeria</i> Test |
|---------------------|--------------|-----------------------------------|
| Hamsi fileto | 1 | - |
| Hamsi salata | 1 | - |
| Hamsi salamura | 1 | - |
| Ahtapot salatası | 1 | - |
| Taze karides | 1 | - |
| Taze mürekkepbalığı | 1 | - |
| Toplam | 6 | - |

Buna göre TECRA Unique *Listeria* Test ile analiz edilen su ürünleri örneklerinde *Listeria* türleri izole edilmemiştir.

Çizelge 4.6 TECRA Unique *Listeria* Test ile işletmede kullanılan sudan alınan örneğin *Listeria* türleri açısından varlığını göstermektedir.

Çizelge 4.6 Hızlı Yöntemi kullanılarak analizi yapılan su örneğinde *Listeria* türlerinin varlığı (1.örnekleme sonucu)

| Örnekler | Örnek sayısı | TECRA Unique <i>Listeria</i> Test |
|----------|--------------|-----------------------------------|
| Su | 1 | - |
| Toplam | 1 | - |

Buna göre TECRA Unique *Listeria* Test ile analiz edilen su örneğinde *Listeria* türleri izole edilmemiştir.

4.2 İkinci Örnekleme Bulguları

Bölüm 4.1’de 1.örneklemede çevresel örneklerin alındığı yerlerden 2. örnekleme döneminde de örnekleme yapılmıştır. Su ürünlerine ait örnekleme ise, 1. örneklemeden farklı olarak o dönemde işletmede üretilen ürünlerden yapılmıştır.

4.2.1 Geleneksel yöntem ile elde edilen bulgular

Çizelge 4.7 ikinci örneklemede geleneksel yöntem ile 13 çevresel örnekte *Listeria* türlerinin varlığı gösterilmiştir.

Çizelge 4.7 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde *Listeria* türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu)

| Çevresel örnekler | Örnek sayısı | Geleneksel Yöntem |
|-------------------------------|--------------|-------------------|
| Zemin | 3 | - |
| Plastik kasalar (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik kasalar | 2 | - |
| Taşıma bantları (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik eldivenler | 2 | - |
| Önlükler | 2 | - |
| Tezgahlar | 2 | - |
| Toplam | 13 | |

Buna göre geleneksel yöntem ile analiz edilen çevresel örneklerde *Listeria* türleri izole edilmemiştir.

İkinci örneklemede işletmede üretilen su ürünlerinde geleneksel yöntem ile saptanan *Listeria* türlerinin varlığı Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. İşletmede taze hamsi fileto, hamsi salamura, haşlanmış ve taze ahtapot, taze karides ve taze kalamardan 1’er örnekleme yapılmıştır.

Çizelge 4.8 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu)

| Gıda örnekleri | Örnek sayısı | Geleneksel Yöntem |
|---------------------|--------------|-------------------|
| Hamsi fileto (taze) | 1 | - |
| Hamsi salamura | 1 | - |
| Haşlanmış ahtapot | 1 | - |
| Taze karides | 1 | + |
| Taze ahtapot | 1 | - |
| Taze Kalamar | 1 | - |
| Toplam | 6 | |

Buna göre analize alınan 6 su ürünleri örneğinden sadece taze karidesten *Listeria* türleri izole edilmiştir. Biyokimyasal test sonuçlarına göre taze mürekkep balığından elde edilen izolatin *L.innocua* türüne ait olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.9, geleneksel yöntem ile işletmede kullanılan sudan alınan örneğin *Listeria* türleri açısından varlığını göstermektedir

Çizelge 4.9 Geleneksel Yöntem kullanılarak analizi yapılan su örneğinde *Listeria* türlerinin varlığı (2.örnekleme)

| Örnekler | Örnek sayısı | Geleneksel Yöntem |
|----------|--------------|-------------------|
| Su | 1 | - |
| Toplam | 1 | |

Buna göre geleneksel yöntemle analiz edilen su örneğinde *Listeria* türleri izole edilmemiştir.

4.2.2 TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi ile elde edilen bulgular

Bölüm 4.2.1’de anlatıldığı üzere geleneksel yöntemde örnekleme yapıldığı yerlerden aynı zamanda TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi ile de örnekler analize alınmıştır.

Çizelge 4.10’da ikinci örneklemede TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi kullanılarak 13 çevresel örnekte *Listeria* türlerinin varlığı gösterilmiştir.

Çizelge 4.10 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan çevresel örneklerde *Listeria* türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu)

| Çevresel örnekler | Örnek sayısı | TECRA Unique <i>Listeria</i> Test |
|-------------------------------|--------------|-----------------------------------|
| Zemin | 3 | - |
| Plastik kasalar (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik kasalar (kullanılmış) | 2 | - |
| Taşıma bantları (temizlenmiş) | 1 | - |
| Plastik eldivenler | 2 | - |
| Önlükler | 2 | - |
| Tezgahlar | 2 | - |
| Toplam | 13 | |

Buna göre TECRA Unique *Listeria* Test ile analize alınan çevresel örneklerde hiçbir *Listeria* türü izole edilmemiştir.

Çizelge 4.11’de TECRA Unique *Listeria* kullanılarak analizi yapılan 6 su ürünleri örneğinde *Listeria* türlerinin varlığını göstermektedir.

Çizelge 4.11 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan su ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığı (2.örnekleme sonucu)

| Gıda örnekleri | Örnek sayısı | TECRA Unique <i>Listeria</i> Test |
|---------------------|--------------|-----------------------------------|
| Hamsi fileto (taze) | 1 | - |
| Hamsi salamura | 1 | - |
| Haşlanmış ahtapot | 1 | - |
| Taze karides | 1 | - |
| Taze ahtapot | 1 | - |
| Taze Kalamar | 1 | - |
| Toplam | 6 | - |

Buna göre Tecra Rapid Test yöntemi ile analize alınan 6 su ürünleri örneğinden *Listeria* türleri izole edilmemiştir.

Çizelge 4.12’de TECRA Unique *Listeria* Test ile işletmede kullanılan sudan alınan örneğin *Listeria* türleri açısından varlığını göstermektedir.

Çizelge 4.12 Hızlı Yöntem kullanılarak analizi yapılan su örneğinde *Listeria* varlığı (2.örnekleme sonucu)

| Örnekler | Örnek sayısı | TECRA Unique <i>Listeria</i> Test |
|----------|--------------|-----------------------------------|
| Su | 1 | - |
| Toplam | 1 | - |

Buna göre TECRA Unique *Listeria* Test ile analiz edilen su örneğinde *Listeria* türleri izole edilmemiştir.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma bir su ürünleri işleme tesisinde *Listeria* türlerinin varlığının saptanması amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla örnekler hem geleneksel yöntem ile hem de hızlı test yöntemi kullanılarak analize alınmıştır. Toplam 40 örnekte *Listeria* türleri TECRA Unique *Listeria* Test ile izole edilmediği halde geleneksel yöntem ile 40 örnekten 4'ünde (% 10) *Listeria* türleri saptanmıştır. TECRA Unique *Listeria* Test yöntemi ile *Listeria* türlerinin saptanamamasının nedeni, zayıf bakteri gelişimine neden olacak yetersiz zenginleştirme işleminden kaynaklanmış olabileceği şeklinde açıklanabilir. TECRA Unique *Listeria* Test kullanım kılavuzunda yöntemde pozitif sonuç elde etmek için zenginleştirme aşamasından sonra örneğin mililitresinde en az 10^4 *Listeria* hücrenin olması gerektiği bildirilmiştir (Anon, 2005). Çeşitli gıda ve çevresel örneklerde hızlı test yöntemi kullanılarak yetersiz bakteri gelişimine bağlı *Listeria* türlerinin izole edilemediği durumlar, Pelisser et al. (2001) ve Kışla et al. (2007) tarafından da bildirilmiştir. Araştırmacılar geleneksel yöntemde *Listeria* pozitif çıkan örnekleri Oxoid *Listeria* Rapid Test yöntemi kullandıklarında negatif olarak tespit etmişlerdir. Roberts (1994), bu durumu (yanlış-negatif) engellemek için zenginleştirme aşamasından sonra hücre sayımının fotometrik ya da plak sayım yöntemi ile alınması gerektiğini önermişlerdir.

Yapılan bu çalışma sadece kalitatif bir analiz olup referans yöntem olarak Pagotto et al. (2001) tarafından belirtilen geleneksel yöntem kullanılmıştır. Hızlı yöntem ile her ne kadar yanlış-negatif sonuçlar

alınrsa bile, analiz için geçen süre göz önüne alındığında, geleneksel yöntem ile karşılaştırıldığında hızlı test yönteminin daha hızlı sonuç verdiği bilinmektedir. Bundan dolayı hızlı test yöntemi eğer kullanılacaksa, sonuç çıkmasını beklemeden kit içerisindeki 3 numaralı tüpten PA ve OA plaklarına çizim yapılarak doğrulama aşamasının yapılması ya da Roberts et al. (1994) belirttiği üzere zenginleştirme aşamasında optik yoğunluk ölçerek minimum gelişme seviyesine ulaşıldığının belirlenmesi gereklidir.

Yapılan bu çalışmada analize alınan su ürünleri örneklerinden olan taze mrekkap balığı ve taze karideste *Listeria* türleri saptanmıştır. Çalışma kapsamında analize alınan toplam 40 örneğin 12 tanesi su ürünlerine ait olup, 12 su ürünleri örneğinden 2 tanesi (taze mrekkap balığı ve taze karides) (% 16,7) *Listeria* türleri pozitif olarak saptanmıştır.

Su rnlerinde *Listeria* türlerinin varlığına ait bir çok çalışma bulunmaktadır. Yapılmış olan bir çalışmada araştırmacılar, ıştakoş kuyruğu, karides, pane karides, bütün ve donmuş balık filetoları ve işlenmiş su ürünlerinden *Listeria* türlerini izole etmişlerdir (Noah et al., 1991). Araştırmacılar su ürünlerinden yaptıkları toplam 211 örneklemenin 60'ını (% 28) *Listeria* türleri açısından pozitif olarak saptamışlardır. Elde edilen izolatların yaklaşık olarak % 49'unu taze su ürünlerinden pozitif olarak saptamışlar ve sadece % 20'lik kısmının işlenmiş su ürünlerinden bulunduğunu rapor etmişlerdir. Manoj et al. (1991) yaptıkları çalışmada balık ve karides örneklerinin % 10,5'inde

Listeria türleri belirlemelerine rağmen, örneklerin hiçbirinden *L.monocytogenes* izole edilmediğini bildirmişlerdir. Bazı literatürlerde su ürünlerinden en sık izole edilen *Listeria* türünün *L.innocua* olduğu bildirilmiştir (Weagant et al., 1988; Dillon et al., 1992; Masuda et al.,1992; Ryu et al., 1992; De Simon et al., 1992). Dhanashree et al.(1999) *L.monocytogenes*'i balıklarda % 1,5, kabuklu deniz ürünlerinde % 3,3 olarak düşük düzeyde saptamışlardır.

Vaz-Velho et al. (2001) yaptıkları çalışmada 201 balık ve 42 çevresel örneği analize almışlardır. Araştırmacılar taze kılıç balığı, taze alabalık, soğuk tütsülenmiş vakum paketli alabalık, taze somon balığı, soğuk tütsülenmiş vakum paketli somon ve alabalığının yetiştirildiği göl suyundan örneklemeler yapmışlardır. Analiz sonuçlarına göre *Listeria* türlerini % 17 (42/243) oranında saptamışlardır. Araştırmacılar *L.monocytogenes*'i 12 örnekten, *L.innocua*'yı 22 örnekten, *L.seeligeri*'yi 11 örnekten, *L.grayi*'yi 2 ve *L.welshimeri*'yi 1 örnekten izole ettiklerini ve bu izolatlardan 21 suşun (% 37) işlenmiş balıklardan, 36 suşun ise (% 63) taze somon etinden izole edildiğini rapor etmişlerdir. Laciari and De Centorbi (2002), Arjantin Atlantik kıyılarından avlanan 100 adet deniz ürününde (balık, mürekkep balığı ve midye) *Listeria* türlerini araştırdıkları bir çalışmada, *Listeria* türlerinin izolasyon oranını % 12 olarak belirlerken, farklı mürekkepbalığı örneklerinden izole edilen 2 suşu *L.monocytogenes*, balık, midye ve mürekkep balıklarından alınan 9 suşu *L.innocua* olarak tanımlamışlardır. Yapılan bir çalışmada balıklar, personel ve çevresel örneklerden yapılan örneklemelerde *Listeria* türleri saptanmış ve *L.seeligeri* ile *L.innocua* türlerinin baskın türler olduğunu

rapor edilmiştir (Soultoş et al., 2007). Parihar et al. (2008) tropikal su ürünleri ile yaptıkları 115 örnekleme için 28'ini (% 24) *Listeria* türleri açısından pozitif sonuç verdiğini rapor etmişlerdir. Bu 28 izolatın 10'u *L.monocytogenes*'e aitken kalan 18 izolatın *L.innocua* türüne ait olduğunu saptamışlardır.

Yukarıda belirtildiği üzere yapılan bu çalışmada işletmede üretilen su ürünlerinde *Listeria* türlerinin bulunma yüzdesi % 16,7 olarak bulgulanmıştır. Su ürünlerinde *Listeria* türlerinin görülme oranlarına ait yukarıda verilen literatürlerin bazıları ile çalışmamızda saptanan oranlar benzerlik göstermektedir.

Su ürünleri ve bunlardan elde edilen ürünler, listeriosis potansiyel riski açısından değerlendirildiğinde, yüksek risk içeren ve düşük risk içeren su ürünleri olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır (Rocourt et al., 2000). Bu gruplandırmada yüksek risk içeren su ürünleri (düşük oranda asit, tuz vs. ile muamele edilmiş) içerisinde; tüketime hazır çiğ kabuklular (midye, deniz tarağı ve istiridye), tüketime hazır çiğ balık ve bazı balık ürünleri (tuzlanmış, marine edilmiş, fermente edilmiş, soğuk tütülenmiş ve gravad), az ısı işlem görmüş balık ürünleri (pastörize edilmiş, pişirilmiş ve sıcak tütülenmiş) ve kabuklular (önceden pişirilmiş, pane filetolar) olarak belirtmişlerdir. İkinci grupta yer alan ve listeriosis açısından düşük risk içeren su ürünleri (yüksek oranda asit, tuz vs. ile muamele edilmiş) ise bazı balık ürünleri (tuzlanmış, marine edilmiş balıklar, havyar ve fermente ürünler), ısı işlem uygulanmış balıklar (konserve ürünler), kurutulmuş, kuru tuzlanmış, tütülenerek

kurutulmuş balık, taze/dondurulmuş balık ve kabuklular olarak gruplandırılmıştır. Deniz kaynaklı su ürünleri ve bunlarla üretilen ürünler (örneğin salatalar) düşük pH ($\text{pH} < 4,5$) ve içerdiği tuz konsantrasyonundan ($> \% 3,5$) dolayı *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri ile kontamine olma açısından düşük riskli ürünlerdir (Jørgensen and Huss, 1998; Huss et al., 2000). Bu durum yapılmış olan bu çalışmada su ürünlerinden *Listeria* türlerinin düşük oranda saptanmasını açıklamaktadır.

Yapılan bu çalışmada işletmede *Listeria* kontaminasyonu gıda örneklerinin yanında çevresel örneklerle de değerlendirilmiş olup analiz sonuçlarına göre çevresel örneklerden sadece zemin örneğinden *Listeria* türleri izole edilmiştir. Çalışma kapsamında analize alınan toplam 40 örneğin 26 tanesi çevresel örneklere ait olup, 1 tanesi (zemin) ($\% 3,8$) *Listeria* türleri açısından pozitif olarak bulunmuştur.

Jemmi and Keusch (1994) yaptıkları çalışmada balık çiftliği ve balık tütsüleme alanlarından yüksek tuz oranına sahip salamuraların *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir. Balık çiftliği ile işletme içerisinde kullanılan alet-ekipman, önlükler ve çalışanların ellerinden *L.monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Miettinen (2006) yaptığı çalışmada su ürünleri işleme tesisinde aldığı çevresel örneklerden (salamura küveti, salamura cihazı, paketleme tezgahı, soğuk tütsüleme şişi vb.) *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin bulunma oranlarını sırasıyla $\% 30$ ve $\% 65$ olarak bulgulamıştır. Araştırmacı balık işleme tesisinden alınan tüm yüzey örneklerinin $\% 7,2$ 'sinde *Listeria*

türlerini saptamış ve pozitif örneklerin 1/3'nün *L.monocytogenes* türüne ait olduğunu baskın türün ise *L.innocua* türüne ait olduğunu analizler sonucu bildirmiştir. Kışla et al. (2007) yaptıkları çalışmada alabalığı sıcak tütüleme ile işleyen işletmeden 30 farklı noktadan (kesimhane, tütüleme alanı, fileto çıkarma ve paketlenme alanı) 60 örnekleme yapmışlardır. Analiz sonuçlarına göre tüm çevresel örneklerden (taşımabantları, bıçaklar, önlük, eldiven, zemin, plastik kasa, tezgahlar ve şişler) *L. monocytogenes* izole edilmiştir.

Literatürlerde bildirilen çalışmalarda çevresel örneklerde *Listeria* bulunma oranlarına ait farklı bildirimler yapılmıştır. Genellikle *Listeria* türleri tatlı su ürünleri işleyen işletmelerde yüksek oranlarda saptanmıştır. Bu çalışmada gidilen su ürünleri işleme tesisi taze ve işlenmiş deniz kaynaklı ürünleri (marinat, salata vb.) işlemektedir. Sonuç olarak çevresel örneklerde *Listeria* türlerinin düşük oranda saptanmasının nedeni işletmede işlenen ürünlerin deniz kaynaklı su ürünleri olması ve iyi bir temizlik prosedürünün uygulanmış olabileceği şeklinde açıklanabilir.

Yapılan çalışmada şaşırtıcı durum işletmedeki suyun ozonlanmış ve klorlanmış olmasına rağmen su örneğindeki *L. monocytogenes* varlığıdır. İşletmede kullanılan ve örnekleme yapılan su örneğinin alındığı plastik su borusunun zeminle temas halinde olduğu gözlenmiştir. Su örneğindeki *L. monocytogenes* kaynağının suyun kendi bünyesinden olmayıp muhtemelen plastik su borusu ile kontamine olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmada plastik su borusunun temas ettiği zemin yüzeyinde

biyofilm tabakası oluştuğu ve kontaminasyonun zemindeki bu biyofilm tabakasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Biyofilm birçok yüzeyde özellikle ıslak zeminlerde kolaylıkla oluşabilmekte ve *Listeria* türlerinin biyofilm oluşturabilen mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Gıda işletmelerinde, gelişme faktörleri her yerde benzer olduğu için, mikroorganizmaların gelişme alanları herhangi bir yer olabilir. Gıda işletmelerinde su giderleri, üretim teknelerindeki çatlaklar ve çizikler, sisteme bağlı borular, tezgah yüzeyleri, pastörizatörler, sulu ya da glikol ile çalışan soğutma sistemleri, fayans duvarlar, taşıma hattı, musluk yüzeyleri, lavabo, tuvalet yüzeyi, salamura tankları soğutma odalarının tavanları, soğutma ve haşlama tankları gibi sıvı ile kaplı yüzeylerin biyofilm gelişimi için uygun olduğu bildirilmiştir (Zottola, 2001). Yapılan bu çalışmada zeminde oluştuğu ve plastik su borusunu kontamine ettiği düşünülen biyofilm tabakasının işletmedeki diğer alanlar içinde problem yaratabileceği düşüncesine varılmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma, bir su ürünleri işleme tesisinde işlenen su ürünleri ve işletmede kullanılan su ile birlikte işletme içerisindeki *Listeria* türlerinin varlığını saptamak amacıyla yapılmıştır. İşletmede *Listeria* türlerinin varlığını saptamak amacıyla bu mikroorganizma türlerini izole etmek için geleneksel yöntem ile TECRA Unique *Listeria* Test kullanılmıştır. Geleneksel yöntemle kıyasla TECRA Unique *Listeria* Test hızlı bir yöntem olmasına rağmen bu çalışmada olduğu gibi *Listeria* türlerinin saptanmasında yetersiz kalmıştır. Bu durumda geleneksel yöntemin güvenilirliğinin daha fazla olduğu söylenebilir.

Su ürünleri işleme tesisinde *Listeria* türlerinin kontaminasyonu düşük düzeyde bulunmuştur. Bu durum işletmede deniz kaynaklı su ürünleri işlendiği ve üretim alanlarında düzenli olarak temizleme prosedürü uygulandığı şeklinde açıklanabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Anon,** 1997, EN ISO 11290-1 Microbiology of food and animal-feedingstuffs -horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* -Part 1: Detection, land; Dr K. Friedrich, MUVA Kempten, Qualitats- International Organisation for Standardisation, Geneva.
- Anon,** 2005, TECRA Unique *Listeria* Test. Instructions. TECRA International Pty Ltd, Australia.
- Bagge, D. and Gram, L.,** 2000, Adhesion and biofilm formation of *Shewanella putrefaciens* to food processing surfaces, <http://dfu.min.dk> (erişim tarihi:19.03.2003).
- Ben Embarek, P. K.,** 1994, Presence, Detection, And Growth Of *Listeria monocytogenes* in Seafoods: A Review International Journal of Food Microbiology, 23:17-34.
- Bremer, P.J., Fletcher, G.C. and Osborne, C.,** 2003, *Listeria monocytogenes* in seafood, New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, Christchurch, New Zealand, 13p.
- Brett, M.S.Y., Short, B. and McLauchlin, J.,** 1998, A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels, International Journal of Food Microbiology, 43:223-229.
- De Simon, M., Tarrago, C. and Ferrer, M.** 1992, Incidence of *Listeria monocytogenes* in fresh foods in Barcelona (Spain), International Journal of Food Microbiology, 16: 153-156.

KAYNAKLAR (devam)

- Dhanashree, B., Karunasagar, I. and Karunasagar, I.,** 1999, Incidence of *Listeria* spp. in fish and shellfish around Mangalore, International Journal of Food Science & Technology, submitted for publication.
- Dillon R., Patel T. and Ratnam, S.,** 1992, Prevalence of *Listeria* in Smoked Fish, Journal of Food Protection, 55:866-870.
- Eklund, M.W., Poysky, F.R., Paranjpye, R.N., Lashbrook, L.C., Peterson, M.E. and Pelroy, G.A.,** 1995, Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked fishery products and processing plants, Journal of Food Protection, 58:502-508.
- Ericsson, H., Eklöw, A., Danielsson-Tham, M.L., Loncarevic, S., Mentzing, L.O., Persson, I., Unnerstad, H. and Tham, W.,** 1997, An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout, Journal of Clinical Microbiology, 35:2904-2907.
- FDA/BAM, Hitchins, A. D.,** 1998, Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods, Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 2003, Chapter 10.
- Fuchs, R. and Surrendran, P.,** 1989, Incidence of *Listeria* in tropical fish and fishery products, Letters in Applied Microbiology, 9:49-51.
- Gombas, D.E., Chen, Y., Clavero, R.S. and Scott, V.N.** 2003, Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Journal of Food Protection, 66:559-569.

KAYNAKLAR (devam)

Harrigan, F.W. and McCance, M.E., 1976, Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, Academic Press, London.

Hartemink, R. and Georgsson, F., 1991, Incidence of *Listeria* species in Seafood and Seafood Salads, International Journal of Food Microbiology, 12: 189-196.

Heisick, J.E., Wagner, D.E., Nierman, M.L. and Peeler, J.T., 1989, *Listeria* spp. found on fresh market produce, Applied and Environmental Microbiology, 55:1925-1927.

Huss H.H., Ben Embarek P.K. and Jeppesen V.F., 1995, Control of biological hazards in cold smoked salmon production, Food Control, 6:335-340.

Huss, H.H., Jørgensen, L.V. and Vogel, B. F., 2000, Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods, International Journal of Food Microbiology, 62(3):267-274.

ICMSF (International Commission on Microbial Specifications for Foods), 1996, Microorganisms in Foods 5, Characteristics of Microbial Pathogens, London: Blackie Academic and Professional, 141-182.

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

Johansson, T., Rantala, L., Palmu, L. and Honkanen-Buzalski, T., 1999, Occurrence and typing of *Listeria monocytogenes* strains in retail vacuum-packed fish products and in a production plant, International Journal of Food Microbiology, 47:111-119.

KAYNAKLAR (devam)

- Jørgensen, L.V. and Huss, H.H.**, 1998, Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood, International Journal of Food Microbiology, 42:127-131.
- Kılınç, B.**, 2001, Su Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 18: 565-574.
- Kışla, D., Üzgün, Y. and Demirhisar, M., A.**, 2007, Incidence and sources of *listeria monocytogenes* in a traditional hot-smoked rainbow trout processing plant in Turkey, International Journal of Food Science and Technology, 42:1376-1381.
- Laciar A.L. and De Centorbi O.N.P.**, 2002, *Listeria* species in seafood: Isolation and characterization of *Listeria spp.* from seafood in San Luis, Argentina, Journal of Food Microbiology, 19:645-651.
- Makino, S.-I., Okada, Y., and Maruyama, T.**, 1995, A new method for direct detection of *Listeria monocytogenes* from foods by PCR, Applied and Environmental Microbiology, 61:3745-3747.
- Manoj, Y.B., Rosalind, G.M., Karunasagar, I. and Karunasagar, I.**, 1991, *Listeria* in fish and fish handling areas, Mangalore, India, Asian Fisheries Science, 4:119–122.
- Masuda, T., Iwaya, M., Miura, H., Kokubo, Y. and Marumaya, T.**, 1992, Occurrence of *Listeria* species in fresh seafoods, Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 33:599-602.
- Miettinen, M., Bjorkroth, K.J. and Korkeala, H.J.**, 1999, Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis, International Journal of Food Microbiology, 46: 187-292.

KAYNAKLAR (devam)

- Miettinen, H.**, 2006, *Listeria monocytogenes* in fish farming and processing, Department of Food and Environmental Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki University Printing House, University of Helsinki, Finland, ISBN 952-92-1078-7 (Paperback), 70p.
- Miettinen, H. and 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.
- Noah, C.W., Perez, J.C., Ramos, N.C., Mckee, C.R. and Gipson, M.V.**, 1991, Detection of *Listeria* spp. in naturally contaminated seafoods using four enrichment procedures, Journal of Food Protection, 54:174-177.
- Norton, D.M. and Batt, C.A.**, 1999, Detection of viable *Listeria monocytogenes* with a 5-nuclease PCR assay. Applied and Environmental Microbiology, 65: 2122-2127.
- Norton, D.M.**, 2002, Polymerase chain reaction-based methods for detection of *Listeria monocytogenes*: toward real-time screening for food and enviromental samples, The Journal of AOAC International, 85:505-515.
- Pagotto, F., Daley, E., Farber, J. and Warburton, D.**, 2001, Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and enviromental samples, Summary of Methods in This Compendium that Detect the Presence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*, Health Products and Food Branch Ottawa.

KAYNAKLAR (devam)

- Parihar, V.S., Barbuddhe, S.B., Danielsson-Tham, M.L. and Tham, W.,** 2008, Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods Food Control, 19(6):566-569.
- Pelisser, M.R., Mendes, S.D.C, Sutherland, A.D. and Batista, C.R.V.,** 2001, Detection of *Listeria* species in refrigerated chicken carcasses using clearviewtm and a modified conventional cultural method, 32:113-116.
- Roberts, P.,** 1994, An improved cultural/immunoassay for the detection of *Listeria* species in foods and environmental samples, 2:18-21.
- Rocourt, J., Jacquet, Ch. and Reilly, A.,** 2000, Epidemiology of human listeriosis and seafoods, International Journal of Food Microbiology, 62: 197-209.
- Rocourt, J., Hogue, A., Toyofuku, H., Jacquet, C. and Schlundt, J.,** 2001, *Listeria* and listeriosis: risk assessment as a new tool to unravel a multifaceted problem, American Journal of Infection Control, 29:225-227.
- Rørvik, L.M., Skjerve, E., Knudsen, B.R. and Yndestad, M.,** 1997, Risk factors for contamination of smoked salmon with *Listeria monocytogenes* during processing, International Journal of Food Microbiology, 37:215-219.
- Rørvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T. and Caugant, D.A.** 2000. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in seafoods and seafood-processing plants, Applied and Environmental Microbiology, 66, 4779-4784.

KAYNAKLAR (devam)

- Ryu, C.H., Igimi, S., Inoue S. and Kumagai, S.,** 1992, The incidence of *Listeria* species in retail foods in Japan, *International Journal of Food Microbiology*, 16:157-160.
- Soultos, N., Abraham, A., Papageorgiou, K. and Steris V.,** 2007, Incidence of *Listeria* spp. in fish and environment of fish markets in Northern Greece, *Food Control*, 18:554–557.
- USDA/FSIS.** 2002, Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from red meat, poultry, egg and environmental samples, In *Microbiology laboratory guidebook*, 3rd ed., revision 3, chapter 8.
- Uyttendaele, M., De Troy, P. and Debevere, J.,** 1999, Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market, *International Journal of Food Microbiology*, 53:75-80.
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F.,** 1998, Gıda Mikrobiyolojisi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları 1. Baskı. Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İZMİR
- Vaz-Velho, M., Duarte, G. and Gibbs, P.** 2001, Comparison of two pre-enrichments broths for recovering *Listeria* spp. from salmon (*Salmo salar*) and salmon-trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Food Control* 12:357-359.
- Watnick, P. and Kolter, R.,** 2000, Biofilm city of microbes, *The Journal of Bacteriology*, 182:2675-2679.

KAYNAKLAR (devam)

- Weagant, S.D., Sado, P.N., Colburn, K.G., Torkelson, J.D., Stanley, F.A., Krane, M.H., Shields, S.C. and Thayer, C.F.,** 1988, The incidence of *Listeria* species in frozen seafood products, Journal of Food Protection, 51:655-657.
- WHO/FAO,** 2004, Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Technical Report, Microbiological Risk Assessment Series, No. 5. 265p.
- Wong, A.L.,** 2003, Bacterial adhesion and biofilm formation in food processing environments, <http://www.wisc.edu> (erişim tarihi:08.01.2003)
- Zottola, E.A.,** 2001, Reflections on *Salmonella* and other “wee beasties” in foods, Food technology, 55(9):60-67.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında izmir'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir'de tamamladı. 2002 yılında girdiği Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümünden 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı.