

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

79381

ELAZIĞ BÖLGESİNDE KOYUN VE KEÇİ SÜTLERİNDEN LİSTERİA TÜRLERİNİN İZOLASYONU

DOKTORA TEZİ
Hasan Basri ERTAŞ

F.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

79381

DANIŞMAN
Doç. Dr. H. Basri GÜLCÜ

ELAZIĞ - 1997

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. ÖNSÖZ.....	I
2. GİRİŞ.....	1
3. MATERYAL VE METOT.....	25
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	44
6. ÖZET.....	52
7. SUMMARY.....	53
8. KAYNAKLAR.....	54
9. ÖZGEÇMİŞ.....	63
10. TEŞEKKÜR.....	64

1. ÖNSÖZ

Listeriosis uzun süredir bilinen bir hastalıktır ve insan dahil pekçok hayvan türünü etkilediği bildirilmiştir. İnsan ve hayvanlarda ölüm ya da abortuslarla sonuçlanan enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Son yıllarda bütün dünyada dikkatleri oldukça fazla üzerine çekmiş olan *Listeria monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin salgınlara yol açması, enfeksiyonun nereden kaynaklanabileceği konusunda araştırmacıları çalışmaya teşvik etmiştir. Pekçok ülkede meydana gelen Listeriosis salgınlarının gıdalardan kaynaklandığı hakkındaki bilgiler Listeriaların gıdalar yoluyla taşınmasını açıkça destekleyici mahiyettedirler.

İnsanlardaki bazı Listeriosis salgınları çiftlik hayvanlarındaki klinik Listeriosis vakalarıyla birlikte meydana gelmekte ve sağlıklı olan taşıyıcı hayvanlar bakterinin önemli bir kaynağı olmaktadır. Fakat günümüzde sağlıklı taşıyıcıları tespit etmek için etkili bir teşhis metodu mevcut değildir. Bakteriyel izolasyon metotları rutin uygulamalar için pratik değildir ve serolojik testlerin sonuçları yanıltıcı olabilir.

Ülkemizde son yıllarda hayvanlarda ve hayvansal kaynaklı gıdalarda geniş araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. Listeriosis başlıca endüstrileşmiş ülkelerde bilinmektedir ve buralarda daha kapsamlı olarak araştırılmıştır. Güney Amerika, Afrika ve Asya'da hastalığın prevalansının düşük olduğu bildirilmiştir. Bu durumun tüketim maddelerinin ve beslenme alışkanlıklarının farklı olmasının ya da hastalık vakalarını ilgili kuruluşlara bildirmedeki yetersizliğin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Bununla birlikte Listeriosis dünya çapında bir problem olarak kalmakta, şehirleşmenin artması, beslenme alışkanlıklarının değişmesi ve sosyal gelişmenin hastalığın ortaya çıkmasında büyük önemi olduğu tahmin edilmektedir.

Sağlıklı ve Listeriosisli hayvanların sütleriyle Listeriaları saçmaları nedeniyle süt ve süt ürünlerinin bakterinin taşınmasında ve bulaşmasındaki rolleri büyüktür.

Yurdumuzda ve dünyada yapılan birçok çalışmada çiğ sütlerin ve peynirlerin önemli oranda Listerialar ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Fakat bu çalışmalar daha çok sığır sütleriyle yapılmış, koyun ve keçi sütlerinde Listeriaların varlığı ile ilgili olarak fazla araştırma yapılmamıştır. Koyun, keçi ve inek sütlerinin büyük bir kısmı peynir ve diğer süt mamüllerinin üretiminde kullanılmaktadırlar ve bundan dolayı sütlerde Listeriaların varlığının araştırılması önem arz etmektedir.

Bu çalışmada insan ve hayvan sağlığını yakından ilgilendiren *Listeria* türlerinin koyun ve keçi sütlerindeki varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bilindiği gibi yöremizde koyun ve keçi çiğ sütlerinden yapılan peynirler oldukça yaygın olarak tüketilmektedir. Ayrıca yöremizdeki koyun ve keçi sürülerinde görülen atıkların çoğunluğunda atık nedeni tespit edilememektedir. Listerialar, özellikle *L. monocytogenes* hayvanlarda atıklara sebep olmakta ve bu bakteriler infekte hayvanların sütleriyle saçılmak suretiyle bu sütlerden üretilen süt ürünlerini de kontamine etmektedir. Listerialar bu süt ürünlerinin saklanma ve olgunlaşma aşamasındaki düşük sıcaklıklarda kolaylıkla üreyebilmektedir.

Yukarıdaki bilgilerin doğrultusunda bu çalışma řu amaçlarla yapılmıştır.

Sağlıklı koyun-keçi çiğ sütlerinden *Listeria* türlerini izole etmek ve bu suretle koyun ve keçi sütlerinden imal edilen süt ürünlerinde tespit edilen *Listeria* türlerinin kaynağının çiğ sütler olup olmadığını belirlemek.

Atık yapan hayvanların sütlerinden *Listeria* türlerini izole etmek. Böylece rutin izolasyon metotlarıyla izole edilemeyen, fakat ruminantlarda atıklara neden olan, aynı zamanda süte de geçebilen bu bakterinin sütlerden izole edilmesiyle yöredeki Listeriosis'e bağlı abortusları tespit etmek.

2. GİRİŞ

2.1. Listeriaların Tarihçesi ve Özellikleri

Listeria bakterisi yeni bir bakteri değildir. İlk defa 1911 yılında tavşanlardan izole edilmiş, daha sonra 1917 yılında Güney Afrikadaki bir endemi esnasında tanımlanmış ve "*Tiger River Virus*" olarak isimlendirilmiştir. Tavşanlarda karaciğer hastalıklarıyla birlikte görüldüğünden ilk olarak *Bacillus hepatitis* ismi verilmiştir. Daha sonra Murray ve ark. 1926 yılında laboratuvar tavşanlarında meydana gelen bir salgında izole ettikleri ve "*Bacterium monocytogenes*" ismini verdikleri bu bakterinin spontan epidemik bir enfeksiyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Bundan bir yıl sonra 1927'de Pirie, infekte bir gerbilin karaciğerinden benzer bir basil izole etmiş ve "*Listerella hepatolytica*" olarak isimlendirmiştir (25,27,57,78,91,93). Cerrah Lord Lister'in anısına seçilen "*Listerella*" ismi 1949'da yapılan sınıflandırmada "*Listeria*" olarak değiştirilmiştir (78,93). *L. monocytogenes* bakterisine tür ismi infekte laboratuvar hayvanlarında kan dolaşımında monositozis'e sebep olmasından esinlenerek verilmiştir (9).

Listeria cinsi bir monotip olarak tanımlanmış ve *L. monocytogenes* uzun süre bilinen tek tür olarak kalmıştır. Fakat daha sonra *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. murrayi*, *L. grayi* ve *L. dentrificans* olmak üzere 7 tür daha bulunmuş ve 1986'da Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de yayınlanmıştır. Bunlardan ilk 5 tanesi kesinleşmiş türlerdir. Bu türlerden *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* ve *L. welshimeri* daha önce *L. monocytogenes* içerisinde sınıflandırılıyordu. Ancak bu 5 türün dışında *L. dentrificans*, *L. grayi* ve *L. murrayi* olmak üzere 3 tane de kesinleşmemiş tür vardır. Bunlar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de "*incertae sedis*" Listerialar olarak isimlendirilmişlerdir (57,78,91,101). Tüm Listeria türleri içinde *L. monocytogenes* en önemli patojendir (78,124).

Bergey's Manual'in 1957'deki yedinci baskısında Listeria cinsi, Corynebacterium ve diğer cinsleri içeren Erysipelothrix ile birlikte Corynebacteriaceae familyası içerisine konulmuştur (56). Yapılan hücre duvarı analizlerinden sonra *L. monocytogenes*, *L. grayi* ve *L. murrayi*'nin bulunduğu Listeria cinsi Corynebacteriaceae familyasından ayrılarak Bergey's Manual'in 1974'teki baskısında Erysipelothrix, Caryophanon ve Lactobacillus ile birlikte "*Genera of Uncertain Affiliation*" (soyu kesin olmayan cinsler) adı altında biraraya getirilmiştir (56,57). Bergey's Manual

of Systematic Bacteriology'nin 1986'daki baskısında ise *Listeria* cinsi, *Lactobacillus*, *Erysipelothrix*, *Brochothrix*, *Renibacterium*, *Kurthia* ve *Caryophanon* cinsleri ile birlikte "*Düzenli, Spor Oluşturmayan Gram Pozitif Çomaklar*" adı altındaki bölümde yer almıştır (101).

Listeria bakterisi küçük (0.4-0.5 X 0.5-2 μm), düzgün kenarlı, 24-36 saatlik kültürlerde Gram pozitif, eskimiş kültürlerde bazen Gram negatif görünen, spor ve kapsül oluşturmayan, yuvarlak kenarlı çomak şeklinde, tek tek, kısa zincirler ya da V şeklinde, bazen kokoid görünümünde aerobik ve fakültatif anaerobik bir mikroorganizmadır. *Listeria* 1-45 °C'de üreyebilir ve optimal üreme ısısı 30-37 °C'dir, 20-25 °C'de ürediği zaman oluşturduğu peritrik falgellaları yardımıyla hareketlidir. Yarı katı hareket besi yerinde tipik şemsiye ya da çam ağacı şeklinde bir görüntü oluşturur ve 37 °C'de flagella gelişimi çok zayıf olduğundan hareketsiz gibi görülebilir. pH 5-9 'da üreyebilen bir bakteridir. Triptoz agar gibi besi yerlerinde üretilen kolonileri yansımış ışığa tutulduğunda tipik bir mavi-yeşil parlama gösterir (78,88,91,101).

Nutrient agarda 24-48 saatte 0.5-1.5 mm çapında düzgün kenarlı koloniler oluşturur. 5-10 günlük inkubasyondan sonra koloniler 3-5 mm çapına ulaşabilirler (91,101). Generasyon süresi 4 °C'de 1.2-1.7 gün, 13 °C'de 7.2 saat ve 35 °C'de 0.96 saattir (24).

L. monocytogenes ve *L. seeligeri* kanlı agarda dar zonlu bir β hemoliz oluşturur. *L. ivanovi*'nin oluşturduğu hemoliz daha geniş ya da multiple zonlu'dur. *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi* ve *L. murrayi* eğer üredikleri vasat karbonhidrat ihtiva etmiyorsa hemolitik değildirler. Eğer vasat karbonhidrat ihtiva ediyorsa asit hemolizi meydana getirebilirler (25,91,101).

Staphylococcus aureus ile yapılan CAMP testinde *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* pozitif, *L. ivanovi* negatif, *Rhodococcus equi* ile *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* negatif, *L. ivanovi* pozitifdir (101,120).

Listeriaların identifikasyonu amacıyla kullanılan kriterler şunlardır: Gram pozitif düzgün çomak, oda ısısında hareketli, Üreaz, H₂S, İndol, Oksidaz negatif, Methyl Red/Voges Proskauer (MR/VP), Eskulin hidrolizi, Katalaz pozitif, glikoz ve salisin'den gaz oluşturmadan asit oluşturan bir bakteridir (Tablo 1) (27,78,91,101).

Tablo 1: Listeria Türlerinin Ayrılmasında Kullanılan Kriterler (70)

Türler	β hemoliz	VP	Hareket	Nitrat	Mannitol	Xylose	Rhamnose
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	-	-	-	+
<i>L. innocua</i>	-	+	+	-	-	-	V
<i>L. ivanovii</i>	+	+	+	-	-	+	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	+	-	-	+	-
<i>L. welshimeri</i>	-	+	+	-	-	+	V
<i>L. dentrificans</i>	-	-	+	+	-	+	-
<i>L. grayi</i>	-	+	+	-	+	-	-
<i>L. murrayi</i>	-	+	+	+	+	-	V

L. monocytogenes'in antijenik analizi sonucu bakterinin hem ısıya dayanıksız flagellar antijen, hem de ısıya dayanıklı karbonhidrat ihtiva eden somatik antijenlere sahip olduğu tespit edilmiştir (25). 1960'ların başında Seeliger ve Donker-Voet, Paterson'un çalışmalarını geliştirerek tavşan serumuna yüksek oranda absorbe olan Listeriaların aglutinasyon reaksiyonuna dayalı bir serotiplendirme sistemi geliştirmişlerdir. Bu araştırmacılar bir seri O ve H antijeni tanımlamışlar ve *L. monocytogenes*'i 13 farklı serovaryant ya da serovar'a ayırmışlardır. Bunlar 1/2, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 'dir (7,78,91,100).

Seeliger ve Donker-Voet tarafından yeniden iyileştirilip, genişletilen ve primer olarak H ve sekonder olarak O antijenlerine dayanarak oluşturulan, Bergey's Manual 1986 da yayınlanan ve bugün için kabul edilen şemada Listeria cinsi 16 serovara ayrılmıştır. *L. grayi*, *L. murrayi* ve *L. dentrificans* serolojik olarak diğer Listeria türlerinden farklı olduğu için bu 16 serovaryant içinde yer almadığı fakat serolojik olarak diğerlerine yakın olduğu görülmektedir (Tablo 2). Ancak bunlardan *L. dentrificans*'ın serolojik olarak diğer Listerialardan tamamen farklı olduğu görülmüştür (101).

Bir seri fajın litik özelliklerine dayalı olarak Listerialar için bir faj tiplendirme sistemi geliştirilmiştir. Faj tiplendirme sistemi ilk olarak 1945 yılında uygulanmaya başlanmış ve o zamandan beri *L. monocytogenes* ve diğer türler ile alakalı 220'den fazla fajın varlığı bildirilmiştir (25,78).

Listeria türlerinin sadece 4 tanesinin insan ve hayvanlarda hastalık oluşturduğu bildirilmiştir. Bunlar *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua* ve *L. seeligeri*'dir. Diğer türler (*L. dentrificans*, *L. murrayi*, *L. grayi* ve *L. welshimeri*) doğal olarak meydana gelen enfeksiyonlara dahil edilmemişlerdir (27,78,101,124).

Kobay, fare, hücre kültürü ve tavuk embriyosu ile yapılan patojenite testlerinde sadece *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*'nin pozitif sonuç verdiği görülmüştür (91).

L. monocytogenes Mikobakteriler ve Brucellalar gibi intraselüler bir bakteridir. Fagositik makrofajlar ve lökositler içinde canlı kalabilir, hatta bunların içinde çoğalabilir (9,54).

Tablo 2: *Listeria* Serotipleri (101)

Paterson	Seeliger Donker-Voet	O antijenleri						H antijenleri		
1	1/2a	I	II	(III)						AB
	1/2b	I	II	(III)						ABC
2	1/2c	I	II	(III)						B D
3	3a		II	(III)	IV					AB
	3b		II	(III)	IV			(XII XIII)		ABC
	3c		II	(III)	IV			(XII XIII)		B D
4	4a		(III)		(V)	VII		IX		ABC
	4ab		(III)		V	VI	VII	IX	X	ABC
	4b		(III)		V	VI				ABC
	4c		(III)		V		VII			ABC
	4d		(III)		(V)	VI		VIII		ABC
	4e		(III)		V	VI		(VIII)	IX	ABC
	5		(III)		(V)	VI		(VIII)	IX	ABC
	7		(III)						XII XIII	ABC
	6a (4f)		(III)		V	(VI)	(VII)	(IX)		XV
	6b (4g)		(III)		(V)	(VI)	(VII)	IX	X XI	ABC
<i>L. grayi</i>			(III)						XII XIV	E
<i>L. murrayi</i>			(III)						XII XIV	E

(), daima bulunmazlar

2.2. Tabiatı Listeriaların Bulunuşu

L. monocytogenes tabiatı oldukça yaygındır. Toprak, bitki ve sularda bulunurlar. Bu yüzden insan ve hayvanlar tarafından sıklıkla taşınırlar (9,47,48,69,78,79,124). Diğer gıda kaynaklı patojenlerden farklı olarak *L. monocytogenes* buzdolabı ısısında (4-6 °C'de) çoğalabilir (9,12,24,73,124). Nitrit ve tuza dirençlidir. 4 °C'de %30.5 tuz konsantrasyonuna 100 gün dayanabilir. Listeriaların kendilerine has üreme özellikleri ve doğadaki yaygınlığı gıdalarla taşınması riskini artırmaktadır (69,79).

Listeriaların saprofitik varlığı uzun süredir bilinen bir gerçektir. *L. monocytogenes* nemli ve kuru çevre şartlarında, toprak ve bitkilerde haftalarca hatta aylarca canlı kalabilmektedir (31,69,78). Listerialar lağım sularından, çamurlardan, toprak, bitki ve diğer çevresel kaynaklardan,

sağlıklı ve iyileşme dönemindeki hayvanlardan izole edilmiştir. Bu materyallerde uzun süre canlı kalabilirler ve çevreye yayılabilirler. Atık suların işlenmesi sırasında oluşan oksidasyon, lağımlardaki Listeriaların üremesinin lehinde olmaktadır (31,48,69,78,123).

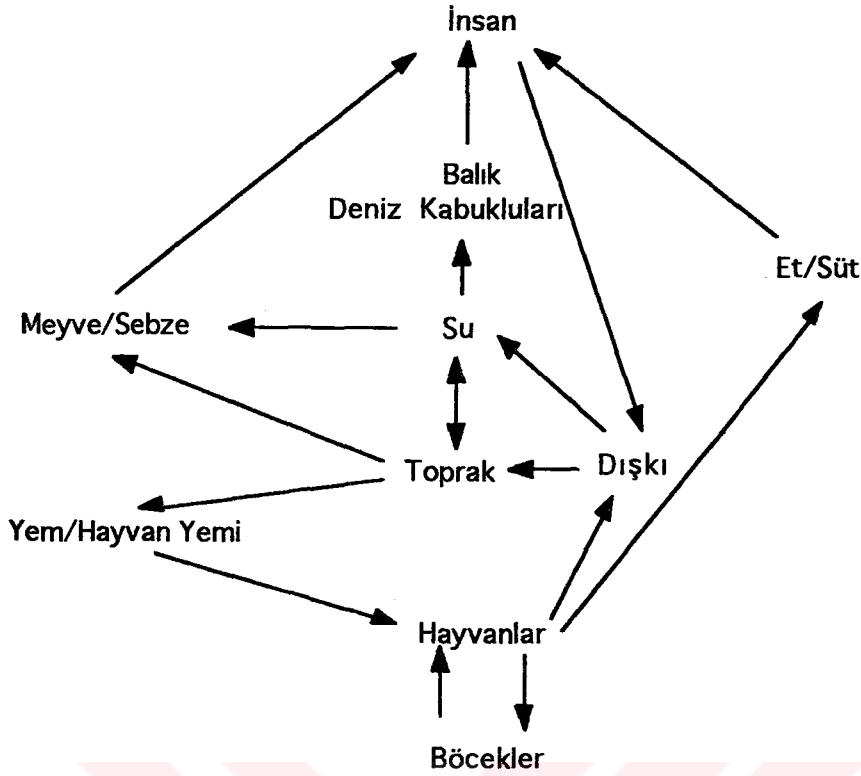
Listeriosis'in epidemiyolojisinde belki de en önemli faktör *L. monocytogenes*'in toprak, su ve hatta koyun ağıllarındaki gübrelerde uzun süre canlı kalabilme ve çoğalabilme yeteneğidir. Toprak bu mikroorganizmanın başlıca kaynağı olmakla birlikte Listeriaların insanlara bulaşması başlıca çevredeki hayvanlar yoluyla olmakta ve *L. monocytogenes* genellikle üretim ve işleme esnasında kontamine olan gıdalar yoluyla insanlara taşınmaktadır (50,124).

Sebze üretiminde işlenmemiş (ham) gübrelerin kullanılması kontaminasyonu artıran bir faktördür. Sebzeler, gübreleme için kullanılan hayvan dışkılarıyla kontamine olabilirler. Listeria bulunan hayvan dışkılarının gübrelemede kullanılması kereviz, lahana gibi pişirilmeden tüketilen ve soğuk depolama şartları altında tutulan sebzelerin kontaminasyonunda rol oynayabilir. Bu depolama şartları bakterinin üremesi ve canlı kalmasını önleyemez (47,124).

Birçok çalışmada düşük kaliteli silajlardan *L. monocytogenes*'in izole edildiği bildirilmiştir (31,32,48,51,59). *L. monocytogenes*'in silajlardaki kaynağı kesin olarak bilinmemektedir, fakat hasat sırasında ve silolara yerleştirme esnasında bitkilerde mevcut olabileceği tahmin edilmektedir (48). Bir araştırmada yabancı kuşların Listeriaların silajlara bulaşmasından sorumlu vektörler olabileceği öne sürülmüştür (31).

Aerobik bozulmaya karşı etkili şekilde korunmuş iyi kaliteli bir silaj aktif şekilde fermente olarak laktik asit üretir ve pH'yı 4.2'ye düşürür ki, bu pH Listeriaların üremesini önler. Ancak şartlar optimal değilse silonun tepesinde ya da kenarlarında pH 5.9-8.9 arasındaki yüksek bir değere ulaşır. Bu şartlar altında *L. monocytogenes*'in çoğalması kolaylaşır. Uygun olmayan fermentasyon ve bunun sonucu oluşan yüksek pH etkenin soğuk havalarda bile üremesine imkan vermektedir (31,48,50).

Büyük balyalı silajlarda ve etkili şekilde hava koruması sağlanmamış silajların iç kısımlarında yeterli fermentasyon olsa bile genellikle balyalarda kalan hava kenar kısımlardaki fermentasyona mani olmakta, sonuçta silajın pH'sı yükselmekte ve Listerialar üreyebilmektedir. Karşılaştırıldığı zaman yüksek pH'lı silajlarda düşük pH'lı olanlara göre Listeriaların çok daha fazla bulunduğu görülmüştür (31).



Şema 1: Listeriaların Tabiattaki Yaşam Siklusunu (12).

2.3. Gıdalarda Listeriaların Bulunuşu

Dünya çapındaki araştırmalar insan Listeriosis vakalarının çoğunluğunun ya primer olarak ya da sekonder olarak patojenik Listerialarla kontamine olan gıdaların yenilmesi sonucunda meydana geldiği hakkında hiçbir şüphe bırakmamıştır (102)

Çiğ ve yemeye hazır et ürünlerinin %30'dan fazlasının *L. monocytogenes* ihtiva ettiği rapor edilmiştir. Bakterinin, işlenmiş ve listerisidal işleminden geçirildikten sonra işlenerek paketlenmiş gıdalardaki varlığı bu gıdaların işlenme sonrası çevreden kaynaklanan kontaminasyona maruz kaldığını göstermektedir. *L. monocytogenes*'in gıdalarda canlı kalması ve çoğalması pH, su aktivitesi ve tuz konsantrasyonu gibi gıda substratları tarafından belirlenmektedir (124).

Memeli ve kuşların birçoğu tarafından *L. monocytogenes*'in fekal taşınması ve mezbahadaki kontaminasyon ihtimalleri göz önüne alındığında çiğ et ve piliçlerden *L. monocytogenes*'in izole edildiğine dair çok sayıda raporun bulunması sürpriz değildir. Sınırlı sayıda olmasına

rağmen deniz ürünlerinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (34,36,55,62,84, 113,124).

Uzun zamandır bir hayvan patojeni olarak bilinen *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin doğadaki geniş dağılımı ve evcil çiftlik hayvanlarında bulunuşu bu bakterinin zaman zaman çiğ etlerde de bulunmasının kaçınılmaz olmasına neden olmaktadır. İsviçrede kırmızı etin neden olduğu dört *Listeriosis* vakası bildirilmiştir. Doğal olarak meydana gelen *Listeria* enfeksiyonlardan ölen hayvanların beyin, dalak, böbrek, karaciğer ve lenf yumrularından *L. monocytogenes* izole edilmiş fakat kaslarından hiç izolasyon yapılamamıştır (55).

Yurdumuzda (46,84,106) ve dünyada (34,36,62,66,80,85), yapılan çalışmalarda çeşitli et ve et ürünlerinden değişik oranlarda *Listeria* türleri izole edilmiştir .

1981 yılında Kanada Maritime'de meydana gelen bir *Listeriosis* salgınının kontamine lahanaya salatası tüketimi sonucu oluştuğu tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalar neticesinde lahanaların temin edildiği çiftlikte sebzelerin ham koyun gübresi ile gübrelendiği ve bu çiftlikte daha önce iki koyunun *Listeriosis*ten öldüğü bildirilmiştir (96).

2.4. Süt ve Süt Ürünlerinde Listeriaların Bulunuşu

Enfeksiyonların birçoğu sütle taşınmaktadır. Süt, *Listeria* bakterilerini mide asitinin etkilerinden koruduğu için bu hastalığın bulaşmasında ve yayılmasında oldukça özel bir etkisi vardır (9).

Listeriaların sütü üç yolla kontamine ederler. Birinci ihtimal bakterinin süt ile çıkarılmasıdır. Bu, *L. monocytogenes*, *Brucella* ve *Mycobacterium* gibi bütün fakültatif intraselüler bakterilerin ortak bir özelliğidir. Bu özellikteki bakteriler lökositlerin içinde çoğalabilir ve yine bu hücrelerle birlikte süttten salgılanabilirler. İkinci ihtimal olarak kontaminasyon meme üzerindeki lezyonlardan kaynaklanabilir ve genellikle sağımçıların elleriyle bulaşır. Buna benzer bulaşma *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Corynebacteria*'larla da meydana gelebilir. Üçüncü ihtimal ise kontaminasyonun süt sağıldıktan sonra meydana gelmesidir. Bu tarz bulaşma *Salmonellaların* süte bulaşmasında meydana gelmektedir (9,27,47,48). Sütlerin kontaminasyonu-nun muhtemelen bir kaynağı da dışkıdır (47,51,124).

L. monocytogenes sütte serbest olarak ya da süt içinde yaygın olarak bulunan lökositlerin içinde bulunur. İnsan ve ineklerin sütleri, özellikle kolostrumları yoğun monosit ihtiva etmektedir ve süt içerisinde çıkarılan

bakterilerin hemen hepsi fakültatif intraselüler mikroorganizmalardır (9,27). *Listeria* bakterisinin intraselüler olması onu sütte bulunan immunglobulin, lizozim, peroksidaz ve laktoferrin gibi birçok antiinfektif substansa karşı koruyabilir. Sütte bulunan *L. monocytogenes* bakterileri lökositler içinde bulunmasından dolayı etkili olarak uygulanmayan pastörizasyon işleminde canlı kalabilir, buzdolabı ısısında üreyebilir ve gıdalarla birlikte alınabilirler (9,23,33,75,77).

Yapılan birçok çalışmada çiğ sütlerden bakterinin kış aylarında yaz aylarına göre daha çok izole edildiği görülmüştür. Bunun sebebinin kış aylarında hayvanların daha çok silajla beslenmesi, uzun süre kapalı mekanlarda tutulmaları, aynı zamanlara rastlayan hastalıklar gibi kış aylarında *Listeria* insidensinin artmasına neden olan faktörler olduğu bildirilmiştir (35,51,63,67,75). Ancak bir çalışmada kış aylarında çiğ sütlerden *Listeria* izolasyonunun yaz aylarına göre daha düşük olduğu (29), diğer birkaç çalışmada da etkenin izolasyonunda mevsimsel bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (72,92,108).

Listerial mastitisli ve klinik olarak normal görünüşlü ineklerin sütleriyle *L. monocytogenes* çıkardıkları bildirilmektedir (9,27,30,58, 83,107,124). Listerial mastitisli ineklerin sütleriyle her ml'de yaklaşık 10^3 *L. monocytogenes* saçıkları rapor edilmesine rağmen bu tip raporlar az sayıdadır (124).

Listerik meningitisli ve Listerial abortus yapan süt sığırları sütleriyle yıllarca *L. monocytogenes* çıkarabilirler (25,48,58,89). Silajla beslenen hayvanların sütleriyle diğer gıdalarla beslenen hayvanlardan daha fazla oranda bakteriyi çıkardıkları tespit edilmiştir (35,51,59).

Yurdumuzda (45,53,105,118,127) ve dünyada (26,51,59,77,92) çiğ sütlerde Listeriaların varlığını araştırmak amacıyla yapılan birçok çalışmada değişik oranlarda patojen ve apatojen türler izole edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3: *L. monocytogenes*'in Çiğ Sütlerde Bulunuşu (45,77).

Ülke	İncelenen örnek sayısı	Pozitif sayısı (%)	Araştırmacılar
Fransa	337	14 (4.2)	Gledel
Hollanda	137	6 (4.4)	Beckers ve ark.
Batı Almanya	635	2 (0.3)	Gasparovic
Amerika (Tri-state)	350	13 (3.7)	Lovett ve ark.
Amerika(California)	100	0	Lovett ve ark.
Amerika(Massachusetts)	200	14 (7)	Lovett ve ark
Amerika(Nebraska)	200	8 (4)	Liewen ve Plautz
Türkiye	100	4(4)	Gün

Elazığ'da çiğ süt ve beyaz peynirlerde *L. monocytogenes*'in varlığını tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada Elazığ Süt Fabrikasına gelen sütlerden alınan 72 çiğ süt numunesi sıcak selektif zenginleştirme yöntemine göre incelenmiş ve %28'i *Listeria spp.* yönünden pozitif olarak belirlenmiş, incelenen 35 beyaz peynir örneğinin %11'inde *L. monocytogenes* bulunduğu tespit edilmiştir (53).

İzmir ve çevresindenki mandıra ve çiftliklerden toplanan çiğ süt örneklerinde yapılan bir çalışmada eskulin ihtiva eden Fraser Broth zenginleştirme besi yeri ve *Listeria Selective Agar (LSA)* kullanılarak numunelerden 4 inek sütünde *Listeria spp.* izole edilmiş ve bunların 2'sinin *L. monocytogenes*, 1'inin *L. murrayi* ve 1'inin *L. dentrificans* olduğu bildirilmiştir. Koyun ve keçi sütlerinden etken izole edilememiştir (127).

Sivas yöresinden toplanan koyun, keçi ve inek sütlerinden oluşan 100 çiğ süt numunesi üzerinde yapılan bir çalışmada sütlerin %6'sından *Listeria spp.* izole edilmiş, bunların %4'ünün *L. monocytogenes*, %2'sinin ise *L. innocua* olduğu tespit edilmiş, koyun ve keçi sütlerinden *Listeria* izolasyonu yapılamamıştır (118).

Gün (45), İstanbul ve çevresindeki çiftliklerin süt toplama tanklarından aldığı 100 adet çiğ süt örneğini FDA (Food and Drug Administration)'nın önerdiği 24, 48 saat ve 7 günlük sıcak zenginleştirme yöntemiyle incelemesi sonucunda 4 *L. monocytogenes*, 9 *L. innocua* ve 2 *L. welshimeri* izole ve identifiye etmiştir. Çalışmada LSA ve PALCAM agar kullanılmış ve en yüksek *Listeria* izolasyonu 48 saat zenginleştirmeden

sonra LSA ile elde edilmiş ve 7 günlük zenginleştirmede izolasyon oranının düştüğü gözlenmiştir.

Şahin ve ark. (112), Elazığ bölgesinde kuru ot ve mısır silajıyla beslenen süt ineklerinin yemlerinde ve sütlerinde Listeriaların varlığını araştırmışlar, 48 saatlik selektif zenginleştirme ve LSA kullanılarak yapılan izolasyon çalışmasında kuru ot örneklerinden ve kuru ot ile beslenen inek sütlerinden bakteriyi izole edememişler, mısır silajı örneklerinden ve bu silajla beslenen ineklerin sütlerinden ise *L. welshimeri* ve *L. grayi* izole etmişlerdir. En yüksek Listeria izolasyonunu silaj yedirilmesinin 7. ve 8. haftalarında %57.14 olarak tespit etmişlerdir.

Anadolunun çeşitli yörelerinden (105), toplanan 77 çiğ süt örneği ve Ankara'dan toplanan 22 pastörize süt örneği Listeria izolasyonu amacıyla incelenmiştir. Çalışmada uzun süreli soğuk zenginleştirme ve kısa süreli sıcak zenginleştirme (FDA yöntemi) ile birlikte dört farklı izolasyon metodu kullanılmıştır. Tüm izolasyon metodlarında %1.3-18 oranında değişen oranlarda *L. monocytogenes* izole edilmiş. En iyi izolasyon soğuk zenginleştirme yöntemi ile elde edilmesine rağmen FDA yönteminin daha kısa sürede sonuç alınması nedeniyle diğer yöntemlere göre üstün olduğu görülmüştür. Çiğ süt örneklerinden *L. monocytogenes* izole edilmesine rağmen pastörize sütlerin hiçbirinden etken izolasyonu yapılamamıştır.

Bir çalışmada (15), 30 sığira meme kanalı yoluyla *L. monocytogenes* vermek suretiyle hayvanlarda deneysel kronik Listerial mastitis oluşturulmuş, bu hayvanların 8 hafta boyunca 10^3-10^5 Listeria/ml miktarında sütleriyle bakteri çıkardığı tespit edilmiş, nekroskopide 11 hayvanın 9 tanesinin supramammary lenf yumrusu ve meme dokusundan *L. monocytogenes* izole edilmiştir.

Polonya'da yapılan bir çalışmada (62), süt toplama tanklarından alınan 16 , süt ineklerinin herbirinden ayrı ayrı alınan 81 çiğ süt örneği IDF (International Dairy Federation)'nin önerdiği izolasyon metoduna göre incelenmiş. İncelenen tank sütlerinden 9 (%56.2) *L. monocytogenes*, 2 (%12.5) *Listeria spp.*, bireysel süt örneklerinden 6 (%7.4) *L. monocytogenes* ve 1 (%1.2) *Listeria spp* izole edilmiştir.

80 ayrı çiftlikte 2 yıl boyunca süt sığırlarının dışkılarında ve tank sütlerinde yapılan bir araştırmada soğuk zenginleştirme yöntemi kullanılarak 314 süt örneğinden 13 (%4.1) *Listeria spp.* ve 7 (%2.2) *L. monocytogenes* izole edilmiştir. On çiftlikte *L.monocytogenes*'in hem süt hem de dışkıdan, 3 çiftlikte de süt, silaj ve dışkıdan izole edilmesi, hayvanlara silaj yedirilmesi ile Listeria türlerinin hayvanların dışkılarında ve tank sütlerinde bulunmasının birbiriyle ilişkili olduğunu göstermiştir.

Dışkıdan *Listeria* izole edilen çiftliklerde, tank sütlerindeki izolasyon oranı dışkıdan izolasyon yapılamayan çiftliklere göre önemli oranda daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma (51), belirli sezonlarda yapılmış ve izolasyon oranının kış aylarında yaz aylarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Husu ve ark. (52), tarafından 4 farklı çiftlikteki çiğ sütlerin muhtemel *Listerial* kontaminasyon kaynağını tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada hem direkt ekim metodu ile, hem de *Listeria* Enrichment Broth'da 30 °C'de 48 saatlik zenginleştirmeden sonra Oxford Agara ekilerek incelenen 59 süt numunesinden 1'i *L. monocytogenes* olmak üzere 2 adet *Listeria spp.* izole edilmiş, çiftliklerin yem maddeleri, yemlikler, su kapları, duvarlar ve zemininden alınan örneklerden de değişik oranlarda *Listeria* türleri izole edilmiştir. Direkt ekim metoduyla hiç etken izolasyonu yapılamamıştır. Çalışmada kötü hayvan barınaklarının ve uygun olmayan sağım şartlarının sütlerin kontaminasyon riskini artırdığı ve bu şartların hem patojenik hem de patojen olmayan *Listeriaların* yaygın bir kaynağı olduğu tespit edilmiştir.

California'da donmuş süt ürünleri fabrikalarında yapılan bir araştırmada fabrikaların değişik bölümlerinden alınan 922 örnekten 111 (%12.04)'inden *Listeria* türleri izole edilmiş, incelenen 39 fabrikanın 5'inden sadece *L. monocytogenes*, 13'ünden sadece *L. innocua* ve 9'undan her iki tür birlikte izole edilmiş, 12 fabrikadan hiç izolasyon yapılamamıştır (122).

Nijerya'da süt çiftliklerinden toplanan 150 çiğ süt numunesiyle yapılan bir çalışmada soğuk zenginleştirme tekniği kullanılarak *L. monocytogenes* izolasyonu amaçlanmış ve çalışmanın sonucunda 1 (%0.7) numuneden *L. monocytogenes* izole edilmiştir (86).

Marth (77), Fransa, Hollanda, Batı Almanya ve Amerikadaki 4 bölgede yapılan çalışmaların sonuçlarını toplamış ve bu çalışmalarda incelenen toplam 1957 süt numunesinden 57 (%2.91) *L. monocytogenes* izole edildiğini bildirmiştir.

Slade ve Collins (108) tarafından yapılan bir çalışmada bir yıllık bir sürede toplanan 315 çiğ süt numunesinin 36(%11.4)'sından *Listeria spp.* izole edilmiştir. İzolatların 17 (%5.4)'si *L. monocytogenes*, 26 (%8.2)'si *L. innocua* ve 1 (%0.3)'i *L. welshimeri* olarak identifiye edilmiştir. Sekiz (%2.5) numuneden ise *L. monocytogenes* ve *L. innocua* birlikte izole edilmiştir. En yüksek *Listeria* insidensi Kasım ayında (%16), en düşük insidens ise Haziran ayında (%4) saptanmıştır.

Slade ve ark. (109), yaptıkları bir araştırmada Ontario'dan toplanan 34 tank sütü numunesinde direkt selektif zenginleştirme ve iki aşamalı zenginleştirme metodlarını kullanarak *Listeriaların* varlığını araştırmışlar,

inceledikleri süt örneklerinden 19'unda en az bir izolasyon metoduyla izolasyon yapıldığını, izolatların sadece *L. monocytogenes* ve *L. innocua* olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar selektif zenginleştirmede en yüksek izolasyonun 24 ve 48 saatlik zenginleştirmede yapıldığını, ancak 7 günlük zenginleştirmede izolasyon sayısının çok azaldığını bildirmişlerdir. Bunun, kontamine floranın uzun süre içinde meydana getireceği baskılayıcı etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Çalışmada KOH ile muamele ettikten sonra ve muamele etmeden selektif agara ekim yapma yöntemiyle yapılan izolasyon sayısının benzer olduğunu ve KOH muamelesinin izolasyonu artırmadığını tespit etmişlerdir.

Lund ve ark. (72), 12 farklı çiftlikten topladıkları çiğ süt numunelerini üç değişik zenginleştirme vasatı ; Listeria Enrichment Broth (LEB), University of Vermont Modified Listeria Enrichment Broth (UVM-LEB) ile ikinci zenginleştirme için Fraser Broth, ve L-PALCAMY Selektif Enrichment Broth ve dört farklı selektif izolasyon vasatı; Lithium chloride-Phenylethanol-Moxalactam Agar (LPM), Listeria Selective Agar (LSA), Modified McBride Listeria Agar (MMLA) ve PALCAM agar kullanarak incelemişler. İnceledikleri 300 iğ süt numunesinden 9 (%3) *L. monocytogenes* olmak üzere toplam 84 (%28) numuneden *Listeria spp.* izole etmişlerdir. Araştırmada en yüksek izolasyon LSA ve PALCAM agar ile elde edilmiştir. En düşük Listeria insidensi Aralık - şubat ve en yüksek insidens Nisan - Haziran ayları arasında bulunmuştur. *L. monocytogenes* izolasyonunda mevsimsel bir farklılık görülmediği belirlenmiştir.

Mısır'da El-Behera ve Alexandria Governorates'deki çiftliklerin süt varilleri ve tanklarından alınan 236 çiğ süt numunesi üzerinde yapılan çalışmada (26), FDA'nın önerdiği zenginleştirme metoduna göre incelenen 27(%11.4) numuneden Listeria izole edilmiş. Bunlardan 7 (%3)'si *L. monocytogenes*, 20 (%8.5)'si *L. innocua* olarak identifiye edilmiştir. En yüksek izolasyon 21 (%8.9) izolat ile 48 saatlik zenginleştirme sonrası elde edilmiş, 7 günlük zenginleştirmede izolasyon oranınının 6 (%2.5)'ya düşüğü gözlenmiş, 10 günlük zenginleştirmede hiç izolasyon yapılamamıştır.

California'da süt ürünleri imal eden fabrikalarda yapılan bir çalışmada 6 aylık bir periyotta 156 fabrikadan alınan 597 örnek incelenmiş, incelenen çiğ süt örneklerinden %19.7, donmuş süt ürünlerinden %14.2 ve peynirlerden %3 oranında *Listeria spp.* izole edilmiştir. İncelenen tüm numunelerin %12.6'sından *Listeria spp.* ve %6.4'nden *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Çalışmada %42.9 *Listeria spp.* ve %30.2 *L. monocytogenes* olmak üzere en fazla süt imal eden fabrikalardan izolasyon yapıldığı bildirilmiştir (18).

Amerikada üç farklı bölgede toplam 650 çiğ süt numunesi ile yapılan bir araştırmada (67), tüm örneklerin %12.6'sından *Listeria* izolasyonu yapılmıştır. California'daki 100 süt numunesinden %31, Tri-State bölgesindeki 350 süt numunesinden %31.1 ve Massachusetts'deki 200 süt numunesinden %15 oranında *Listeria* türleri izole edilmiştir. İzole edilen türlerden 27 tanesinin *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada soğuk aylardaki insidensin sıcak aylara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmada selektif zenginleştirme besi yerinde 30 °C'de 24 ve 48 saat zenginleştirme sonrası KOH ile muamele edilerek ve direkt olarak McBride Agara ekimler yapılmış, KOH muamelesinin 24 saatlik zenginleştirmede izolasyon oranını artırdığı, fakat 48 saatlik zenginleştirmede artırmadığı rapor edilmiştir.

Şubat-Haziran 1986 tarihleri arasında Nebraska'da 100 farklı çiftlikte süt tanklarından toplanan çiğ süt örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada alınan 200 süt numunesinden 18'inde *Listeria* tespit edilmiştir. Sütlerden *L. monocytogenes* %4 ve *L. innocua* %5 oranında izole edilmiş, başka tür izole edilememiştir. Bu çalışmada da kış aylarındaki izolasyonun (%6) yaz aylarındaki izolasyondan (%2) daha fazla olduğu saptanmıştır (63).

Garayzabal ve ark. (35), 1 yıllık periyot boyunca topladıkları 67 süt numunesinde yaptıkları bir araştırmada numunelerin 30'undan *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Çiğ sütlerden en yüksek izolasyonun yapıldığı aylar Şubat ve Aralık olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada *Listeria* izolasyonuna paralel olarak total mezofilik aerobik mikroorganizma sayımı da yapılmıştır. Total mezofilik aereobik mikroorganizma sayısının yüksek olduğu süt numunelerinde *L. monocytogenes* izolasyon oranının düşük olduğu görülmüştür. Araştırmacılar bu durumun aşırı derecede kontamine olmuş sütlerdeki *Listeriaların* üremesinin, kontaminant mikroorganizmalar tarafından baskılanmasından kaynaklanabileceğini açıklamışlardır. Kış aylarında izolasyon oranının yüksek olmasına ise hayvanların bu mevsimlerde kapalı yerlerde bulunması ve *Listeria* enfeksiyonlarının önemli bir sebebi olan silajlarla beslenmesinin neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Farber ve ark. (29), Kanada'da dört farklı mevsimde farklı coğrafi bölgelerden topladıkları sütlerden *Listeria* izolasyonu amacıyla yaptıkları bir çalışmada toplam 445 tank sütü numunesi incelemişlerdir. Modifiye edilmiş FDA kısa zenginleştirme yöntemi ve soğuk zenginleştirme yöntemiyle birlikte 9 farklı izolasyon yöntemini kullanarak inceledikleri çiğ sütlerin %12.4'ünden *Listeria spp.* izole etmişlerdir. *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* %1.3 oranında izole edilirken *L. innocua* %9.7 oranında izole

edilmiştir. Çalışmada kış aylarındaki izolasyon oranının diğer mevsimlerdeki izolasyon oranlarına göre düşük olduğu tespit edilmiştir. FDA'nın kısa zenginleştirme metodunun soğuk zenginleştirme metodundan daha etkili olduğu görülmüştür.

Amerika'da Massachusetts'de 49 kişinin Listeriosis'e yakalandığı bir salgından sonra yapılan vaka kontrol çalışmalarında salgının belirli bir marka pastörize sütün içilmesiyle başladığı ortaya çıkarılmıştır. Bu sütlerin getirildiği çiftlikte salgınla aynı zamanda süt ineklerinde de Listeriosis salgını tespit edilmiş ve aynı serotiplerin bu çiftlikteki çiğ sütlerden de izole edilmesi suretiyle çiftliklerdeki sütlerin salgına sebep olduğu ispatlanmıştır. Yapılan incelemede sütlerin işlendiği fabrikada da pastörizasyon işleminin uygun şekilde yapılmadığı belirlenmiştir (33).

Sağlıklı ve Listeriosis'li koyun ve keçiler sütleriyle *L. monocytogenes* çıkarırlar (43,44,47,48,59,65,77,83). Süt ile etkenin çıkarılması infekte koyunlarda 2,5 yıl süreyle devam edebilir (50).

Coşkun ve ark. (20), İzmir ve Manisa yörelerinde koyunlardan tek tek el ile sağmak suretiyle topladıkları 308 çiğ süt örneğini FDA'nın 30 °C'de 48 saatlik selektif zenginleştirme ve ELISA yöntemini kullanarak incelemişler. Çalışmada hiç *L. monocytogenes* izole edilememiş, yalnızca 1 *L. ivanovii* ve 1 *L. grayi* olmak üzere 2 (%0.6) numuneden izolasyon yapılmıştır. Çalışmada kültür yöntemiyle ELISA yönteminin aynı etkinliğe sahip olduğu görülmüştür.

İspanya'da 287 çiftlikteki süt toplama tankından ve 17 taşıma kamyonundan alınan, koyunlara ait çiğ süt örnekleri Listeriaların varlığı yönünden incelenmiştir. Çalışmada izolasyon amacıyla 30 °C'de 24 saatlik selektif zenginleştirme sonrası ve direkt olarak LSA'a ekim yöntemi kullanılmış, isolatların hepsi zenginleştirme sonrası yapılmış, direkt ekimlerde hiç izolasyon yapılamamıştır. Süt toplama tanklarından alınan 1052 süt örneğinden %2.19 *L. monocytogenes* ve %2 *L. innocua*, 136 kamyon sütünden %18.38 *L. monocytogenes* ve %11.76 *L. innocua* izole edilmiştir. *L. grayi*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. welshimeri* tank sütlerinde %4, kamyonlardan alınan sütlerde %1'den daha az oranda izole edilmiştir. Aynı araştırmada koyun ve ineklerin birlikte yetiştirildiği sürülerdeki *L. monocytogenes* ve diğer Listerial kontaminasyon oranının, sadece koyunların yetiştirildiği çiftliklerdekine göre önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada koyun sütlerinden Listeria izolasyonunda mevsimsel bir farklılığın olmadığı da tespit edilmiştir (92).

Yugoslavya'da yapılan bir araştırmada 7 çiftlikteki silaj ve saman yedirilen koyun ve keçilerin sütleri *L. monocytogenes*'in varlığı yönünden

incelenmiştir. Toplanan sütler Listeria Enrichment Broth'da 30 °C'de 48 saatlik iki aşamalı zenginleştirmeden sonra LPM (Lithiumchloride Phenylethanol Moxalactam) agara ekimleri yapılmış, silajla beslenen 77 keçi sütünden 6 (%7.78), 152 koyun sütünden 3 (%1.9) ve silajların tümünden *L. monocytogenes* izole edilirken, samanla beslenen koyun ve keçilerin sütünden ve saman örneklerinden *L. monocytogenes* izole edilememiştir (59).

Greenwood ve ark. (42), 1 yılı aşkın bir dönemde toplam 4172 süt numunesi, peynir ve diğer süt ürünlerini Listeriaların varlığı yönünden incelemişler. Çalışmada Listeria Enrichment Broth ile 30 °C'de 24-48 saatlik zenginleştirme sonucunda LSA ve MMLA'a ekimler yapılmak suretiyle incelenen süt ve süt ürünlerinden toplam 129 (%3.1) *L. monocytogenes* izolasyonu yapmışlardır. İnceledikleri pastörize edilmemiş 361 inek sütünden 13 (%3.6), 480 keçi sütünden 4 (%0.8) ve 56 koyun sütünden 1 (%1.8) *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Çalışmada inek sütlerindeki izolasyon oranının koyun ve keçi sütlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. İncelenen süt ürünlerinden 48 pastörize edilmemiş kremanın 2 (%4.2)'sinden, 150 dondurmanın 3 (%2)'ünden *Listeria spp.* izole edilirken, 180 yoğurt örneğinden *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamamıştır.

Listeria ile infekte keçilerin Listeria çıkarmalarını saptamak amacıyla yapılan deneysel bir çalışmada *L. monocytogenes* 1/2a suşunun oral inokulasyonu ile infekte edilen keçilerin sistemik Listeriosis'e yakalandığı, inokulasyondan 24 saat sonra sütleriyle *L. monocytogenes* çıkardıkları ve bu durumun 2 gün devam ettiği bildirilmiştir (82).

Listeriosise bağlı abortuslardan sonra *L. monocytogenes*, etkilenmiş hayvanların sütlerinde ve uterus akıntılarında abortustan sonraki 13. güne kadar bulunabilir. Listeriosise bağlı abort yapan ineklerin sütlerinin %16'sının abortustan sonra sütleriyle bu bakteriyi çıkardıkları, aynı durumdaki 938 hayvana ait sütlerin 72 (%7.7)'inden *L. monocytogenes* izole edildiği bildirilmiştir (47,48).

Sağlıklı ve Listeriosisli çiftlik hayvanları sütleriyle Listeriaları çıkardıkları için mandıra ürünleri diğer gıda maddelerine göre Listerial kontaminasyona daha duyarlıdır. Kontamine sütler bakterinin süt fabrikalarına ya da çiğ süttten yapılan ürünlere girmesinde önemli rol oynar (12,25,44,89).

L. monocytogenes mandıra ürünlerinde uzun süre canlı kalabilir ve bu ürünlerin saklandığı ya da olgunlaştırıldığı buzdolabı ısısında (2-8 °C) kolaylıkla üreyebilir. Yapılan çalışmalarda kontamine sütlerin mandıra

ürünleri için potansiyel bir tehlike oluşturabileceği bildirilmiştir (61,73,95,114).

Diğer mandıra ürünleriyle karşılaştırıldığında *L. monocytogenes*'in daha çok peynirlerde bulunmasının sebebi peynir üretiminde kullanılan sütlerin ya pastörize edilmemesi, ya da düşük sıcaklıklarda pastörize edilmesi ve peynirlerin diğer ürünlere göre daha fazla işlemlerden geçirilmesidir (42,73). Peynirlerde Listeriaların kontaminasyonu daha çok olgunlaşma esnasında meydana gelmektedir. Etkenin bazı tür peynirlerde bol miktarda bulunmasının nedeni bu peynirlerin ilk olgunlaşmaya başladığı dönemde pH'larının yüksek olmasına bağlanabilir (13,124).

İnce (53), Elazığ'da satılan değişik tiplerdeki 35 beyaz peynir örneğini incelemiş ve %11 oranında *L. monocytogenes* izole etmiştir. Tümbay ve ark. (116), Anadolu'nun çeşitli şehirlerinden toplanan, evde imal edilmiş 323 peynir örneğinden 19 (%5.8) *Listeria* izole etmişlerdir. İzole edilen türlerin 7 (%2.1)'sinin *L. monocytogenes*, 11 (%3.4)'inin *L. innocua*, ve 1 (%0.3)'inin *L. seeligeri* olduğu tespit edilmiştir. İncelenen 246 koyun sütü peynirinden 16 (%6.5), 65 inek sütü peynirinden 1 (%0.7) ve 7 inek-koyun sütü karışımından yapılan peynirden 2 (%1.4) *Listeria spp.* izole edilmiştir. Keçi sütünden yapılan 5 peynir örneğinin hiçbirinden izolasyon yapılamamıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre en fazla *Listeria* izolasyonu koyun sütünden yapılan peynirlerde bulunmuştur.

Bir çalışmada keçi sütünden yapılan 476 peynirin 22 (%4.6)'sinde ve koyun sütüyle yapılan 141 peynirin 1 (%0.7)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (42). Almanya'dan toplanan 66 ve diğer Avrupa ülkelerinden toplanan 23 peynir örneğinden 8 (%9) *L. monocytogenes* ve 17 (%18) *L. innocua* izole edilmiştir (99). Los Angeles'de 142 insan Listeriosis vakasının tespit edildiği bir salgından sonra yapılan vaka kontrol çalışmasında salgına, belirli bir marka Meksika stili yumuşak peynir tüketiminin sebep olduğu bildirilmiştir. Salgına sebep olan *L. monocytogenes* 4b suşunun hem hastalardan hem de şüpheli peynirlerden izole edilmesi bu durumu doğrulamıştır. Kontaminasyonun süt ineklerinden kaynaklanabileceği şüphesiyle bu fabrikaya süt temin eden 27 çiftlikteki ineklerin sütleri incelenmiş ancak hiçbirinden etken izole edilememiştir. Peynir fabrikasında yapılan bir araştırmada peynirlerin genellikle pastörize edilmemiş sütlerden imal edildiği görülerek kontaminasyonun sebebinin bu olduğuna karar verilmiş ve fabrika daha sonra kapatılmıştır (64).

McLauchlin ve Gilbert (80), Listeriaların varlığı yönünden incelenen 331 pastörize olmamış sığır sütünde 23 (%57), 469 pastörize sığır sütünde 3 (%0.6), 1130 yumuşak peynirde 114 (%10), 448 sert peynirde 14 (%3) ve

274 dondurmada 23 (%8) *Listeria spp.* tespit edildiğini bildirmişlerdir. En fazla *L. monocytogenes* (%6) yumuşak peynir ve dondurmadan izole edilirken, 209 yoğurt numunesinden hiç izolasyon yapılamamıştır.

Diğer bir çalışmada da incelenen yoğurtlardan %2.2 ve dondurmalarından %2 oranında *Listeria* izole edilmiştir (42). Charlton ve ark. (18), Kaliforniya'daki 41 farklı süt ürünleri fabrikasından aldıkları peynir örneklerini incelemiş ve 4 (%9.8) numuneden izolasyon yapmışlardır. İzole edilen *Listeriaların* 2 (%4.9)'sinin *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir.

İnsan sütünde *L. monocytogenes* bulunduğuna ilişkin bugüne kadar sadece bir vaka rapor edilmiştir. Bu vakada yeni doğan bir bebeğin annesinin sütünde bulunan *L. monocytogenes* ile *Listeriosis'e* yakalandığı bildirilmiştir (110).

2.5. *Listeriaların* Hastalık Oluşturma Mekanizması

L. monocytogenes ve *L. ivanovii* hem barsakta, hem de çeşitli iç organlarda bulunabilirler, ancak koruyucu bir immün yanıt oluşmaz. Bunun sebebi mikroorganizmanın intraselüler pozisyonu olabilir. *Listeriaların* gıda maddelerinde üremesi sonucu çok miktarda bakteri vücuda alınmakta, barsaktaki spesifik ve nonspesifik bariyerlerin bakteriye doymasına, daha sonra da hastalığın şekillenmesine neden olmaktadır. Etken vücuda başlıca ağız yolu ile girmektedir (83,98).

Retikülo Endotelial Hücreleri kendi içlerinde bulunan *Listeria* mikroorganizmalarını öldüremezler ve bu bakteriler ne doğal öldürücü maddelere ne de verilen antibiyotiklere karşı duyarlı değildir. Bu durum immün sistemi baskılanmış olanlarda daha kötüdür (103). Böylece gebelik, lenfoma, lösemi, ileri yaş, alkolik siroz, diyabet, kronik hemodiyaliz hastalıkları, AIDS ya da immunsupresif tedavi esnasında bakterinin bu hastaları infekte etme eğilimi daha fazla olmaktadır (9,119).

Deneysel çalışmalarda bakterinin barsaklardaki ileal villilerin ucundaki absorptiv epitel hücreler tarafından endositozla tutulduğu, daha sonra villus stromadan geçerek makrofajlar tarafından fagosite edildiği anlaşılmıştır. İnsanlarda vücuda giren bakteri tarafından makrofajların istila edilmesi, grip gibi enfeksiyonlarla kendini belli etmektedir. Gıdalarla alınan bakteri barsaklardan karaciğere, sonra kan dolaşımıyla uterus, fötüs ve fetal membranlara ulaşır (9,14,69,89).

Listeria bakterilerinin virülensini sağlayan çeşitli faktörler vardır. Bakterinin bir seri toksin ürettiği bilinmektedir. Bu toksinler hemolitik

(hemolizin) ve lipolitik toksinlerdir (76). Bunlardan hemolizinler *L. monocytogenes*'in en önemli virülens faktörüdür (91,98). Hemolizin, bir yandan barsak hareketlerini yavaşlatarak bakterinin mukozayla ilişki kurmasını artırmakta, diğer yandan uterus kasını etkileyerek prematür doğuma neden olmaktadır (98).

2.6. Hayvanlarda Listeriosis

İnsanlardaki ilk Listeriosis vakasından daha önce hastalık hayvanlarda tespit edilmiştir. Bugüne kadar *L. monocytogenes* insan, sığır, buffalo, mouflon, koyun, keçi, domuz, at, kedi, köpek, geyik, rakun, tavşan, tarla faresi, kobay, yaban sığıanı, gerbil, çinçila gibi memeliler, kurbağalar, balıklar, eklembacaklılar, kene, kanarya, ördek, kartal, kaz, şahin, papağan, keklik, karga, martı, hindi gibi 50'den fazla vahşi ve evcil hayvan türünden izole edilmiştir (12,48,83).

Hayvanlarda patojen olarak iki *Listeria* türü bilinir. Bunlar *L. monocytogenes* ve eskiden *L. monocytogenes* serotip 5 olarak bilinen *L. ivanovi*'dir. Koyunlarda uygun olmayan beslenme koşulları yüzünden hayvanların direncinin düşmesi, çok soğuk ve nemli hava dönemleri, özellikle kötü kaliteli silaj yedirilmesi gibi faktörler hayvanları *Listeria* enfeksiyonlarına karşı predispoze duruma getirirler (83,101,104).

Ruminantların silaj yemeleri ile Listeriosis arasında bir ilişki olduğu uzun yıllardır bilinen bir gerçektir. Hastalık genellikle silaj yedirilmesiyle birlikte görülmektedir ve hastalığın insidensinin artması bütün vakalarda olmasa bile genellikle silaj yedirilmesiyle birlikte tespit edilmiştir. Hastalığın silaj yedirilmesiyle hayvanlara bulaşması Listeriosisin hayvanlarda da gıda kaynaklı bir hastalık olduğunu göstermektedir (31,48,78,71,102,121).

Hastalık ile silaj yedirilmesi arasındaki bu ilişkiden ve ensefalitik formundaki tipik klinik tablodan dolayı Listeriosis "*Silaj Hastalığı*" ya da "*Dönme Hastalığı*" olarak bilinir (8,37,58,89).

Hastalık genellikle havaların nemli olduğu mevsimlerde özellikle de rutubetli yemlerin yedirilmesi ile hayvanlara bulaşır. Zira bu ortamlarda etkenlerin üremesi kolaylaşır. Koyunlar dışkıdan kaynaklanan *Listeria* ile kontamine olmuş otlaklarda otlarken infekte olabilirler. Ancak bununla birlikte enfeksiyonun pekçok değişik kaynağı vardır ve hastalık Brezilya, Irak gibi subtropikal ülkelerde de problem olmaktadır (6,14,83).

Hayvanların kış aylarında kapalı kalmaları Listeriosis riskini artıran bir faktördür. Bu nedenle koyunlarda en yüksek insidens Şubat, Mart ve

Nisan ayları olan kış sonunda ve ilkbahar başlangıcında tespit edilmiştir. Listeriosis'in bu mevsimsel farklılığı hava koşulları, beslenme ve bakım yetersizlikleri ile diğer stres faktörlerinden kaynaklanmaktadır (8,83,89,90,125).

Listeriosis, koyun, keçi ve sığırlarda septisemi, abortus, meningo ensefalitis, seyrek de olsa konjunktivitisle seyreder. Genellikle sığırlarda mastitis, ayrıca ishal, pneumonia, endokarditis ve myokarditis'e neden olur (1,30,40,47, 69,71,77,83,89,96,107).

Listeriosis'in koyun ve keçilerdeki klinik tablosu sığırlarinkine çok benzemektedir. Sığırlarda Listeriosis genellikle sporadiktir ve insidensi düşüktür. Ruminantlarda meydana gelen Listeriosis vakalarında monositozis görülmez. Periferal monositozis genellikle tek mideli hayvanlarda görülür. Yetişkin ruminantlarda en fazla meningoensefalitik form görülür (4,19,39,48,83,89). Koyun ve keçilerde hastalığın ensefalitik formu sığırlarinkine göre çok şiddetli olma eğilimindedir. Bu hayvanlarda hastalık akut bir seyir izler ve ölüm, semptomların başladığı birkaç saat içinde meydana gelir (39,48,89). Ruminantlarda Listeriosisten dolayı ölüm oranı % 8-10'u geçmez (83).

Listeriosis'in meningoensefalitik formu ilk kez 50 yıl önce tanımlanmış ve bu form "*Dönme hastalığı*" olarak isimlendirilmiştir. Fascial ve vestibulocochlear nuclei genellikle tutulmuştur, hayvanların başları bir yana doğru bükülür ve başı dönük halde etkilendiği tarafa doğru dairesel dönme hareketi yaparlar ya da düşerler (4,14,37,48,71,83,89,90,121). Ancak dönme semptomu her zaman görülmez (83).

Abortus vakaları ruminantlarda gebeliğin herhangi bir döneminde olabilir, fakat genellikle gebeliğin son aylarında meydana gelir. Erken dönemde meydana gelen abortuslarda fötüsler ölü doğar ya da birkaç gün sonra ölürlür. İleri gebe hayvanların yavruları canlı doğabilir, fakat bu yavrular kısa süre içinde septisemiden ölürlür (4,14,19,48,71). Abort yapan koyunlar genellikle ne abortustan önce ne de sonra hiçbir hastalık belirtisi göstermezler ve gelecek yıl tekrar gebe kalabilirler. Ancak fötal membranlar tamamen atılmamışsa uterus enfeksiyon şekillenebilir (14,19,39,40,89).

Bu hastalık Türkiye'de ilk önce Özcebe ve Doğuer tarafından 1945 yılında Bandırma Merinos çiftliğinin koyunlarında tespit edilmiştir. Daha sonra Bursa Yöresinde 14, İnanlı İnehanesinde 2, Sungurlu kazasında 1 vakadan *L. monocytogenes* izoasyonu yapılmıştır. Doğuer (21), bu duruma göre Türkiye'de bu hastalığın yaygın olmayıp daha çok endemik bulgularla seyrettiğini bildirmiştir. Yılmaz (126), yudumuzda ilk defa Sungurlu

kazasındaki bir koyun atık olgusunda atık yavrudan *L. monocytogenes* izole etmeyi başarmıştır.

Aslan ve ark. (6), Konya ili merkez ve ilçelerindeki bir salgında toplam 8 sığırdaki Listeriosis vakası tespit etmişlerdir. Hayvanların hepsinde klinik olarak Listeriosis meydana geldiği bildirilmiş, etken, hasta hayvanların serebrospinal sıvı, idrar ve gaita örneklerinden izole edilmiştir. Özer ve ark. (87), tarafından Doğu Anadoludaki bazı illerde koyun abortusları üzerinde yapılan bir araştırmada incelenen toplam 30 atık fötüsten 1 (%3.3) *L. monocytogenes* izole ve tanımlenmiştir.

Toyoda (115), 1978 yılında İbaragi Prefecture'de çıkan bir salgında 50 keçi, 12 sığır ve 2 insanın Listeriosis'e yakalandığını klinik, bakteriyolojik ve patolojik olarak tespit etmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmaların sonunda salgına Japonya dışından getirilen hayvanların sebep olduğu ortaya çıkarılmıştır.

İngiltere'de New South Wales'de 840 koyunluk bir sürüde *L. ivanovii*'ye bağlı abortus vakaları tespit edilmiştir. Salgın sırasında koyunların % 12'si abort ve ölü doğum yapmış ya da yaşama şansı zayıf kuzular doğurmuşlardır. Yapılan laboratuvar incelemesinde *L. ivanovii* kuzuların akciğer, karaciğer ve mide içeriklerinden bol miktarda saf kültürler halinde izole edilmiştir. Salgın çıkan sürünün beslenmesinde kullanılan otların çok yağışlı bir mevsimde biçildikten sonra balya yapılmadan bir süre bekletilerek çürümeye terk edildiği görülmüştür. Selektif zenginleştirme metodu ile incelenen bu ot numunelerinden de *L. ivanovii* izole edilmek suretiyle salgına, biçildikten sonra padoklarda yağmur altında bırakılan ve çürüyen ot kalıntılarının sebep olduğu ispatlanmıştır (104).

İspanya'da bir koyun sürüsünde silaj yedirilmesiyle birlikte ortaya çıkan meningoensefalitik Listeriosis salgınında silaj yedirmenin rolü araştırılmış, etkilenen toplam 53 koyun içerisinde tipik merkezi sinir sistemi semptomları gösteren 3 koyunun beyninden yapılan bakteriyolojik incelemede hepsinden *L. monocytogenes* saf kültür halinde izole edilmiş, aynı *L. monocytogenes* suşları silajdan da izole edilmek suretiyle salgına *L. monocytogenes* ile kontamine silaj yedirmenin sebep olduğu doğrulanmıştır.

bildirilmiştir. Böylece Ensefalitik Listeriosis vakalarının çoğunlukla silaj yedirilmesiyle birlikte ortaya çıktığı tespit edilmiştir (125).

1982-1985 yılları arasında İskoçya'da meydana gelen 58 Listerial ensefalitis vakasında hasta koyunların 34 tanesinin beyninden *L. monocytogenes* izole edilmiştir (74). Avusturalya Alabania'da sonbahar ve kış başlangıcında yağmur altında ıslanmış samanların 2 hafta üzeri örtüldükten sonra koyunlara yedirilmeye başlanmış ve 10 gün içinde 2 koyun sürüsünde Listerial ensefalitis sonucu hayvanlarda ölümler meydana gelmiştir. Meningoensefalitis meydana gelen koyunların beyinlerinden *L. monocytogenes* izole edilmiştir (90).

2.7. İnsanlarda Listeriosis ve Zoonotik Yönü

Listeriosis 60 yıldan beri bilinmesine rağmen 1980'lere kadar daha çok veterinerlik ile ilgili bir hastalıktı. Ancak şimdilerde çok sayıdaki hayvan türünden başka insanları da etkilediği bildirilmektedir (69,78).

İnsanlarda ilk Listeriosis vakası 1929'da Nyfeld tarafından rapor edilmiştir. Hastalık mononükleozlu bir hastanın kanından *L. monocytogenes* izole edilmek suretiyle teşhis edilmiştir. Daha sonra Burn 1936'da, *L. monocytogenes*'in insanlarda gebelik döneminde enfeksiyonlara ve yetişkinlerde meningitise sebep olduğunu bildirmiştir (9,78,89,119).

Hemolitik Listerialardan olan *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri*'den sadece *L. monocytogenes* daimi bir patojendir. *L. ivanovii* ve *L. seeligeri*'nin insanlarda hastalık oluşturduğuna dair bilgiler çok azdır (69). İnsanlarda *L. ivanovii*'den ileri gelen 3, *L. seeligeri*'den ileri gelen 1 hastalık vakası bildirilmiştir (78).

Listeriosis'in morbiditesi düşüktür, fakat yüksek bir mortaliteye sahiptir (25,78,124). Listeriosise karşı en büyük risk altında olanlar hamile kadınlar, yeni doğanlar, doğmamış bebekler, alkolikler, ilaç bağımlıları, kanser tedavisi görenler, karaciğer sirozu olanlar, AIDS hastaları ve herhangi bir nedenle immun sistemi zayıflamış kişilerdir (9,58,69,78,89,94,102,124). Ancak hastalık predispoze durumda olmayan bireylerde de meydana gelmektedir (78,119,124).

Listeriosis insanlarda klinik olarak 5 kategoriye ayrılabilir. Bunlar; Hamile kadınların enfeksiyonu (Septik abortus), Neonatal Listeriosis (Neonatal septisemi), Yetişkinlerde septisemi, Merkezi sinir sistemi ile ilgili bozukluklar (Meningitis, Meningoensefalitis), Fokal ve diğer nadir formlar (papuler ve pustuler kutan lezyonlar, pneumoni, konjunktivitis, urethritis, nadiren sepsis, endokarditis, peritonitis, lokalize iç ve dış apseler,

endoftalmitis, arthritis, spinal ve beyin apseleri, cholecystitis, osteomyelitis ile deri, dalak, safra kesesi ve lenf yumrularının tutulması) (9,69,76,89,94,96,119,124). Ancak farklı risk gruplarında farklı semptomlar görülebilir (124).

Dünya çapında yapılan araştırmalar insan Listeriosis vakalarının büyük çoğunluğunda *L. monocytogenes*'in süt, süt ürünleri, et, kanatlı eti, sebze, salatalar ve deniz ürünleri gibi primer ya da sekonder olarak patojen Listerialarla kontamine gıdaların tüketilmesiyle bulaştığını göstermiştir (47,76,97,103,102,124). Listeriosis vakalarının coğrafik dağılım göstermesi enfeksiyonun en yaygın kaynağının gıda kaynaklı olabileceğini akla getirmektedir (79) (Tablo 4).

Tablo 4: 20 ve Daha Fazla Vakanın Meydana Geldiği İnsan Listeriosis Salgınları (78).

Yer	Vaka sayısı	Muhtemel kaynağı
Halle/Almanya 1966	279	Bilinmiyor
Anjou/Fransa 1976	162	Bilinmiyor
Boston/USA 1979	20	Çiğ sebze ya da süt
Auckland/Yeni Zelanda 1980	21	Deniz ürünleri
Nova Scotia/Canada 1981	41	Lahana salatası
Massachusetts/USA 1983	49	Süt
Lausanne/İsviçre 1983-84	25	Bilinmiyor
Kaliforniya/USA 1985	86	Yumuşak peynir

Anneden sütü ile çocuğuna enfeksiyonun geçtiği bildirilen bir vaka (110) dışında insandan insana hastalığın bulaşması oldukça nadirdir (9,119).

Listeriosis zoonoz bir hastalık olarak bilinir. Çünkü hastalık doğal şartlarda omurgalı hayvanlardan insanlara bulaşabilmektedir. Gıdaların, özellikle süt, süt ürünleri, et, çiğ et ürünleri, lağımla ve fekal materyallerle bulaşık sebzeler ve salataların Listeriosis'in taşınmasının en önemli vasıtaları olduğu bildirilmiştir (5,47,102,103,119).

Hayvanlara temas eden araştırmacılar, çiftlik çalışanları gibi insanlar Listeriosis'e yakalanma bakımından diğer insanlardan daha büyük bir risk altındadırlar (47,102). Sığırların abortus ve ölü doğum vakalarına müdahale eden veteriner hekimlerde Kutan Listeriosis vakaları, ayrıca

kanatlı işçilerinde *L. monocytogenes*'e bağlı konjunktivitis gözlenmiştir (47,81). İnsanlarda en yüksek fekal taşıma hayvan ürünlerini işleyenlerde, hamile kadınlarda ve böbrek nakli yapılan hastalarda tespit edilmiştir. Bu tip raporlar hastalığın zoonotik taşınmasının tipik bir örneğidir (48,119).

Ancak insanlardaki Listeriosis vakalarının hayvanlardan kaynaklandığına dair vakalar azdır. Bu durum hastalığın zoonotik olarak taşındığı görüşünü zayıflatmaktadır. Hastalığın insanlardaki epidemiyolojisi hayvansal enfeksiyonlara paralel değildir ve hayvan-insan Listeriosis'i arasında direkt bir ilişki genellikle yoktur. Direkt (gıda kaynaklı olmayan) hayvan-insan taşınması görünüşte çok enderdir (47,48,119).

Çoğu tropikal ülkede Listeriosis insidensi düşüktür ya da bu durum vakaların çok azının bildirilmesinden kaynaklanmaktadır. Ancak son yıllarda hastalığın insidensinde bir artış görülmektedir, fakat halen çok yaygın değildir. Listeriosis insidensindeki bu artış, büyük ölçüde duyarlı uzmanların, gelişen izolasyon ve identifikasyon metotlarının, düzenli rapor etmenin bir yansıması olabilir. Ancak Listeriosis insidensindeki artış gerçektir. Bu artış, tüketim, beslenme alışkanlıklarının değişmesi, immüno-supresif ajanların yaygın kullanımı ve AIDS hastalığındaki yayılma ile açıklanmaktadır (78,119).

2.8. Listerialar Üzerine Isının Etkisi

Geçmişte pastörize süt tüketimine bağlı olarak meydana gelen Listeria salgınları dikkatleri etkenin pastörizasyon işleminde canlı kalabilme yeteneğinin olup olmadığı sorusuna çekmiştir. Birçok çalışma *L. monocytogenes*'in sütü pastörize etmek için gerekli minimum sıcaklıkta hatta 80 °C'de canlı kalabildiğini bildirmektedir. Ancak pastörizasyonun *L. monocytogenes*'e etkisi üzerine yapılan çalışmalarda görünüşte bir çelişki mevcuttur. Bazı araştırmacılar Listeriaların Yüksek Sıcaklıkta, Kısa Süreli (High-Temperature, Short-Time-HTST) pastörizasyonda tamamen tahrip olduklarını iddia ederken bazıları da canlı kalabilecekleri kanısındadırlar (27,47,73,124).

İlk zamanlarda bakterinin intraselüler pozisyonunun onu pastörizasyondan koruduğu düşünülmekteydi. Fakat yapılan pek çok araştırmada *L. monocytogenes*'in HTST pastörizasyon işleminden sonra (71.7 °C'de 15 sn) canlı kalamadığı ve intraselüler olmasının bakteriyi pastörizasyondaki termal inaktivasyondan koruyamadığı görülmüştür. Araştırmalarda Listeriaların pastörizasyon işleminden sonra canlı

kalabilmelerinin büyük ihtimalle pastörizasyon işleminin tam olarak uygulanmamasından kaynaklandığı bildirilmektedir (16,22,24,27,73).

WHO'nun raporuna göre mandıra ürünleri ve diğer çoğu gıdalar pastörizasyondan sonra çevresel kaynaklardan gelen *L. monocytogenes* ile yeniden kontamine olabilmekte ve pastörizasyon sonrası meydana gelebilecek kontaminasyonun, ısı uygulanması sırasında bakterinin canlı kalmasından daha büyük tehdit oluşturmaktadır (17,124).

Bu çalışma ile yöremizdeki koyun ve keçilerin sütlerinden *Listeria* türlerinin izolasyonu ve bu sayede süt ürünlerindeki *Listerial* kontaminasyonun kaynağının belirlenmesi amaçlanmıştır.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Süt Numunelerinin Toplanması

Koyun ve keçi süt örnekleri 6.4.1995 ve 26.9.1995 tarihleri arasındaki dönemde Elazığ merkez ve ilçelerine bağlı köylerdeki sağlıklı ve atık yapmış sürülerden temin edildi.

Koyun sütleri 10 farklı yerleşim yerinde, sağlıklı veya daha önce atık yapmış 14 koyun sürüsünden, sürülerin ortalama %10'undan alındı. Keçi sütleri ise 9 farklı yerleşim yerinde, 12 sürüdeki keçilerden alındı. Atık vakası tespit edilen keçi sürüsü bulunamadığından keçi sütlerinin tümü sağlıklı sürülerden temin edildi. Çevrede keçi popülasyonunun koyunlara göre çok az olmasından dolayı keçi sürülerinden süt alırken herhangi bir oran gözetilmedi, fakat 100 baş ve üzerindeki sürülerden 20, daha küçük sürülerden ise 10 ve daha az süt numunesi toplandı.

Çalışmada 150 koyun ve 150 keçi sütü olmak üzere toplam 300 çiğ süt numunesi incelendi. Sütlerin 50 tanesi atık yapmış koyunlardan alındı.

Süt örnekleri alınırken hayvanların memeleri alkol ile ıslatılmış pamukla temizlenip kurulandı. Daha sonra aseptik şartlarda 200 ml'lik steril cam şişelere el ile sağıldılar.

Alınan süt numuneleri, içerisinde buz kutuları bulunan termosaya konulduktan sonra vakit geçirmeden laboratuvara getirilerek izolasyon işlemlerine başlandı.

3.1.2. Referens Suşlar

İdentifikasyon çalışmalarında izole edilen şüpheli kolonilere uygulanan testlerin değerlendirilmesinde herhangi bir yanılığın önlemek amacıyla bu izolatlara paralel olarak referans *Listeria* suşları da test edildiler. Referans suş olarak Fransa Pastör Enstitüsünden temin edilen *L. monocytogenes* serovar 1/2a: CLIP-12498/SLCC 2371/ATCC-35152, *L. ivanovii* serovar 5: CLIP-12510/SLCC-2379/ATCC-19119, *L. innocua* serovar 6a: CLIP-12511/SLCC-3397/ATCC-33090, *L. seeligeri* serovar 1/2ba: CLIP-12513/SLCC-3954/ATCC-35967, *L. welshimeri* serovar 6b: CLIP-12514/SLCC 5334/ATCC-35897 suşları kullanıldı. CAMP testi için kullanılan β -hemolitik *Staphylococcus aureus* suşu Anabilim Dalı'mız kültür koleksiyonundan ve

Rhodococcus (Corynebacterium) equi suşu A.Ü. Besin Hijyeni Anabilim Dalı Laboratuvarından temin edildi.

3.1.3. Listeria İzolasyonunda Kullanılan Vasatlar

Modified Listeria Enrichment Broth (Difco 0205-17-4)

Tryptone	17	g
Soytone	3	g
Dextroz	2.5	g
Sodium Chloride	5	g
Poassium Phosphate, Dibasic	2.5	g
Yeast Extract	6	g
Cycloheximide	0.05	g
Acridine	0.01	g
Nalidixic Acid	0.04	g
Distile Su	1000	ml

pH:7.3

Hazırlanışı: Bir litre distile su içerisinde 36.1 g besi yeri suspanse edildikten sonra 500 ml'lik erlenmayerlere 225 ml miktarlarında taksim edildi. 121 °C'de 15 dakika otoklav edildiler ve kullanılıncaya kadar buzdolabında muhafaza edildiler (2).

Listeria Selective Agar Base (Oxoid CM856, Oxford Formulation)

Columbia Blood Agar Base	39	g
Aesculin	1	g
Ferric Ammonium Citrate	0.5	g
Lithium Chloride	15	g
Distile Su	1000	ml

pH:7

Listeria Selective Supplement (Oxoid SR140, Oxford Formulation)

Cycloheximide	200 mg
Colistin Sulphate	100 mg
Acriflavine	2.5 mg
Cefotetan	1 mg
Fosfomicin	5 mg

(Bir flakondaki miktarlar)

Hazırlanışı: 500 ml distile su için 27.75 g Listeria Selective Agar Base (LSA) tartılıp eritildi. Otoklavda 121 °C'de 1 atmosfer basınç altında steril edildi. Listeria Selective Supplement'in bir flakonu 5 ml etanol-steril distile su (1/1) karışımı ile çözdürüldü. Hazırlanan supplement LSA besi yerine 50 °C'ye kadar soğuduktan sonra ilave edildi ve iyice karıştırılarak petri kutularına döküldü.

Tryptic Soy - Yeast Extract Agar (TSYE Agar)

Tryptic Soy Agar (Difco 0369-02-3)	40 g
Yeast Extract (Oxoid L21)	6 g
Distile Su	1000 ml
pH:7.3	

Hazırlanışı: Dehidre besi yerinden 40 g ve 6 g Yeast Extract distile suya ilave edildi ve eriyinceye kadar su banyosunda ısıtıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi ve 47-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra petri kutularına döküldü.

Tryptic Soy-Yeast Extract Broth (TSYE Broth)

Tryptone Soya Broth (Oxoid CM129)	30 g
Yeast Extract (Oxoid L21)	6 g
Distile Su	1000 ml
pH:7.3	

Hazırlanışı: 30 g Tryptone Soy Broth ve 6 g Yeast Extract 1 litre distile su içinde eritilerek 6 ml miktarında tüplere taksim edildikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi.

3.1.4. İdentifikasyonda Kullanılan Besi Yerleri ve Ayıraçlar

Selektif zenginleştirme sonrası TSYE agarda saf olarak izole edilen *Listeria* kolonileri identifiye edilirken, çeşitli karbonhidratlardan asit oluşumunun incelenmesinde Purple Broth Base ve çeşitli karbonhidrat solüsyonları, Methyl Red/Voges Proskauer testi için Clark Lubs (MR-VP Broth) besi yeri ve ayıraçları, Nitrat redüksiyon testi için Nitrat buyyon ve A,B ayıraçları, Üreaz testi için Üre agar, İndol testi için Tryptone Water ve Kovaks ayıracağı, H₂S testi için Triple Sugar Iron (TSI) Agar, Sitrat testi için Simmons sitrat agar, hemoliz özelliklerini incelemek amacıyla %7 koyun kanlı agar, hareket muayenesi için SIM medium yarı katı besi yeri, Oksidaz testi için oksidaz test ayıracağı (%1 lik N,N,N'-tetramethyl-*p*-phenylendiamine dihydrochloride), katalaz testi için %3 H₂O₂ kullanıldı (3,10).

Koyun Eritrositleri

Antikoagulan olarak sodyum sitrat solüsyonuyla alınan koyun kanı 1500 devirde santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra steril fizyolojik tuzlu su ile sulandırıldı ve bu işlem 3 defa tekrarlandı. Son defasında steril fizyolojik tuzlu su ile sulandırılarak ilk hacmine tamamlandı (117).

CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson) Test Vasatı

Blood Agar Base No. 2 ile hazırlanan otoklavda steril edilmiş besi yerinin bir kısmı kan ilave etmeden önce ayrıldı ve kan ilave edilmemiş besi yeri petri kutularına 10 ml miktarında dökülerek donmaya bırakıldı.

Besi yeri donduktan sonra petriler 37 °C'de bir süre ısıtıldı ve kansız besi yeri tabakasının üzerine daha önce hazırladığımız %7 kan ilave edilmiş agar besi yerinden petriyi kaplayıncaya kadar döküldü ve donmaya bırakıldı. Kullanmadan önce vasatın yüzeyi 37 °C'de kurutuldu. Bu vasat izolatların ve referens suşların CAMP testinde kullanıldı (117).

Karbonhidrat Solüsyonları

Aşağıdaki karbonhidratların %10 luk solüsyonları hazırlandı. Karbonhidratları steril etmek için solüsyolar üç gün arka arkaya yarım saat kaynar su banyosu içinde tutuldular. Steril karbonhidrat solüsyonları karbonhidrat kullanma besi yerlerine son konsantrasyonları %1 olacak şekilde katıldılar (3,10).

Nitrat Redüksiyon Testi Besiyeri

Nutrient broth	8 g
Potassium nitrate	1 g
Distile su	1000 ml
pH:7	

Formüle göre hazırlanan besi yeri 6 ml miktarında tüplere dağıtıldı ve 121 °C de 15 dakika steril edildildi.

Test solüsyonları olarak Griess-Ilosavy A ve B solüsyonları kullanıldı

Fermentasyon ve Hidrolizasyon Testlerinde Kullanılan Maddeler

Glucose (Merck 8337)
 Maltose (Merck 5910)
 Xylose (Merck 8689)
 Mannitol (Riedel De Haen A.G. 157 19)
 Rhamnose (Merck 4736)
 Fructose (Difco 0167-13)
 Salicin (Merck 7665)
 Esculin (Merck 842)
 Cellobiose (Difco 9160-13-1)
 Sorbitol (Merck 7758)
 Sorbose (Merck 7760)
 Raffinose (Merck 7549)

3.2. METOT

3.2.1. İzolasyon Yöntemi

İzolasyon işleminde daha önce Food and Drug Administration (FDA) tarafından Bacteriological Analytical Manual'de tanımlanan Lovett ve Hitchins'in (68) önerdiği, sonradan The International Dairy Federation (IDF) tarafından süt ve süt ürünleri için modifiye edilen izolasyon metodu kullanıldı. 24 ve 48 saatlik selektif zenginleştirmeden sonra selektif agara ekimler yapılmak suretiyle *Listeria* izolasyonu yapıldı (Şema 2). Çalışmada kullanılan bu metodun çiğ sütlerde 25 ml sütte 12 Colony Forming Unit (CFU) *L. monocytogenes* bulunduğu zaman sensitivite oranı %88, spesifite

oranı %100, 120 CFU *L. monocytogenes* bulunduğu zaman sensitivite oranı %97.5, spesifite oranı %100 olarak bildirilmiştir (117).

3.2.2. Deneme İzolasyonu ve Vasatların Kontrolü

Çiğ sütlerden *Listeria* izole etmek amacıyla kullanacağımız vasatların kontrolünü yapmak, yaklaşık 10 ve daha yüksek CFU bakteriyi izole edip edemeyeceğini tespit etmek amacıyla deneme izolasyonları yapıldı.

TSYE agarda 37 °C'de 24 saat inkube edilmiş kültürden saf üremiş tek bir koloni alınarak 5 ml Tryptose Phosphate Broth (TPB) içerisine inokule edildi ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Bu besi yerinden alınan kültürün steril Posphate Buffer Solusyonu (PBS) içerisinde seri dilusyonları yapıldı. Sulandırılmış kültürlerdeki gerçek bakteri sayısı (Colony Form Unit) TSYE agara ekim yapmak suretiyle tespit edildi. Hazırlanan sulandırılmış bakteri süspansiyonları, yaklaşık 10^3 , 10^2 ve 10^1 CFU miktarında bakteri olacak şekilde selektif zenginleştirme besi yerlerine ilave edildiler (49).

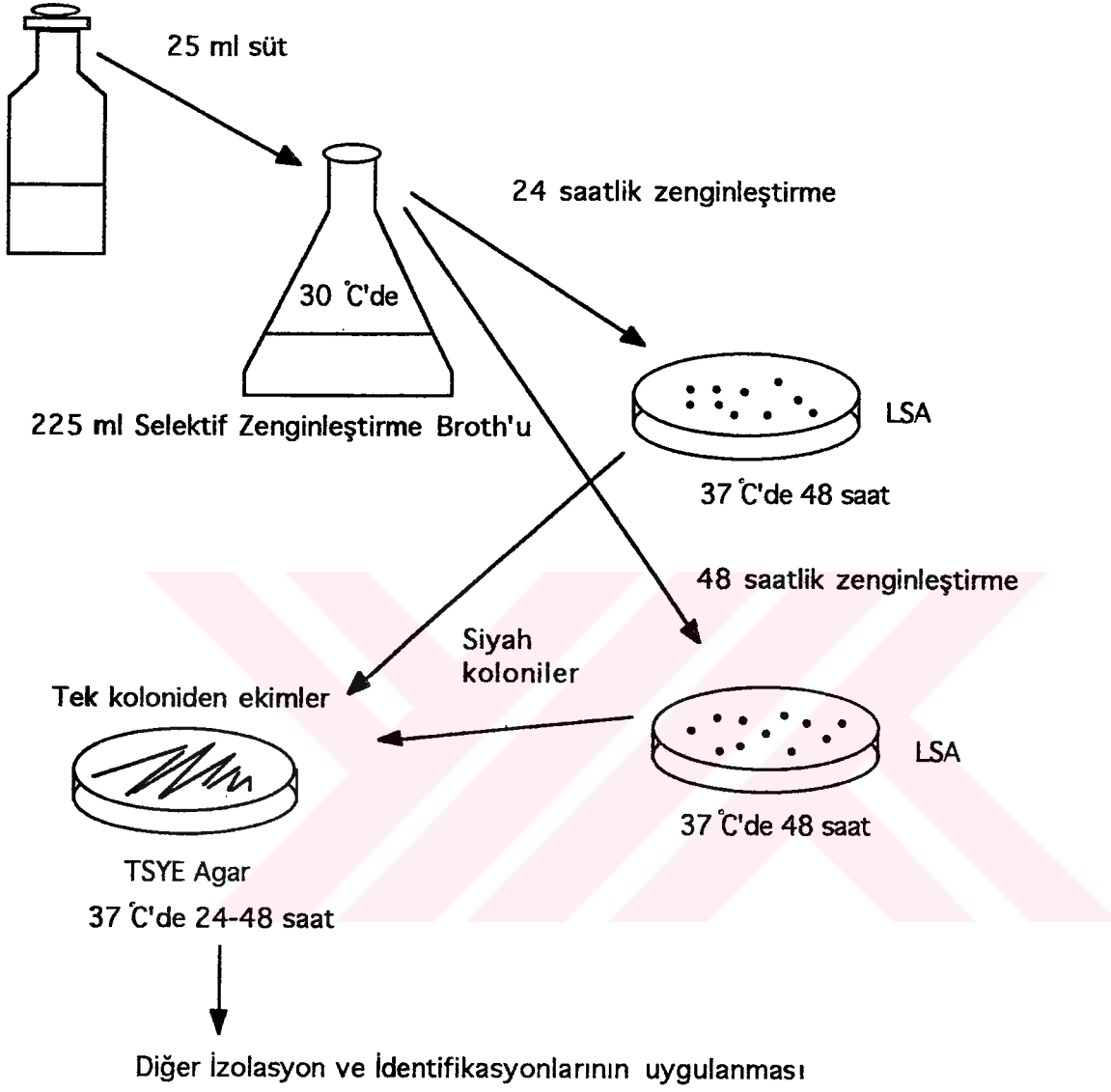
Kontaminasyon kültürü olarak daha önce mastitisli inek sütlerinden izole ettiğimiz *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* kullanıldı. Bu bakteriler 1 ml PBS içerisinde kesif süspansiyonları yapıldı ve zenginleştirme besi yerlerine *L. monocytogenes* ile birlikte inokule edildiler.

Sütün *Listeria* izolasyonuna etkisini tespit etmek amacıyla deneme izolasyonları hem süt katılmamış, hem de 25 ml otoklavda steril edilmiş koyun sütü katılmış vasatlarda yapıldı.

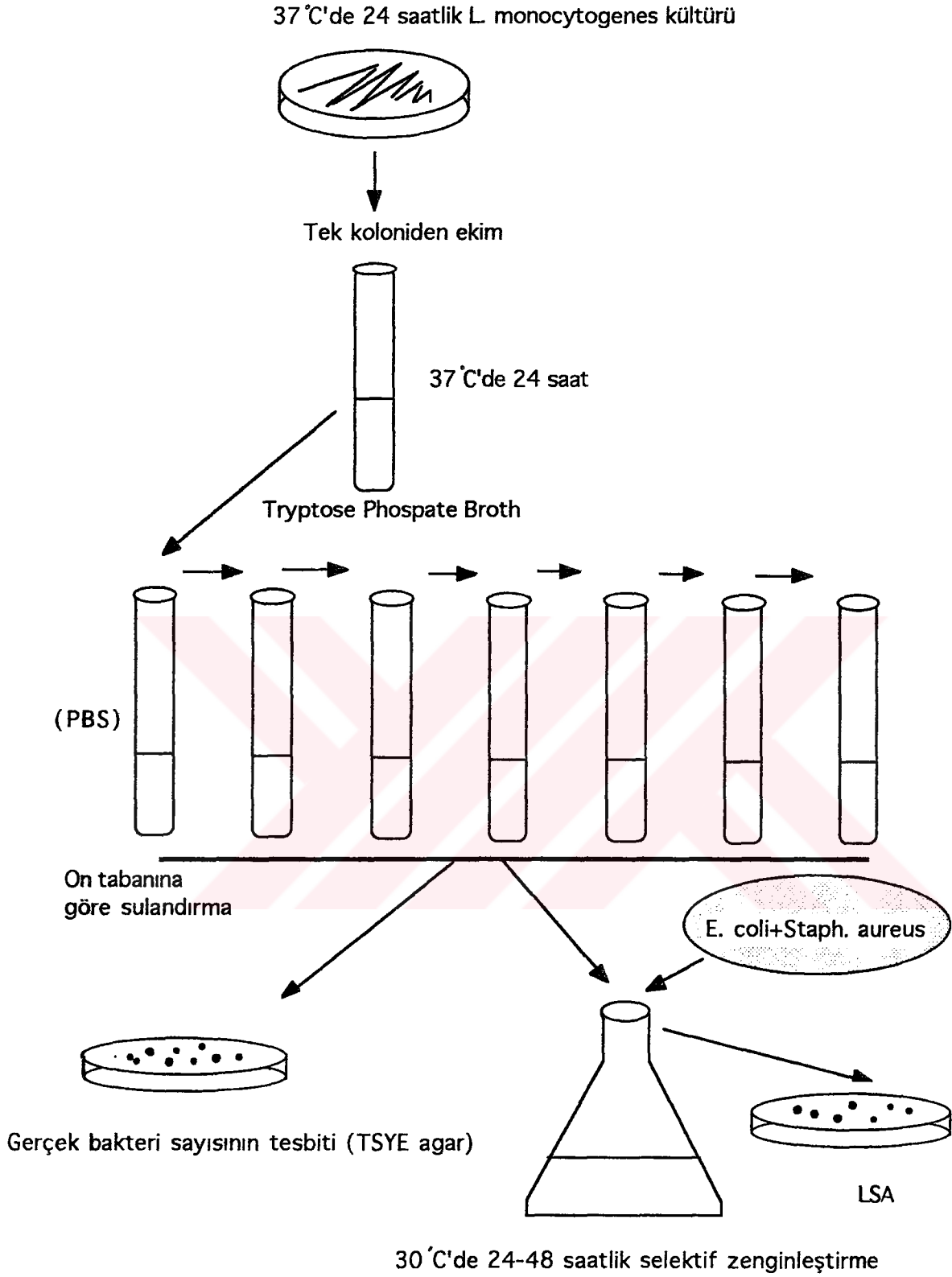
Deneme inokulasyonları yapılan ve içinde Modified *Listeria* Selective Enrichment Broth bulunan erlenmayerler etüvde 30 °C'de 24-48 saatlik zenginleştirmeye bırakıldı. Sonra bir öze dolusu zenginleştirme besi yeri LSA'a ekim yapılarak 37 °C'de 48 saat inkube edildiler ve bu süre sonunda besi yerlerindeki üremeler değerlendirildi (Şema 3).

3.2.3. Selektif Zenginleştirme İşlemi

Alınan süt numuneleri önce köpürtmeden iyice çalkalanarak karıştırıldı. Daha önce hazırlanmış olan ve buzdolabında muhafaza edilen 225 ml Modified *Listeria* Enrichment Broth bulunan erlenmayerlere her süt numunesinden steril pipetler yardımıyla 25 ml süt ilave edildi. Bu işlemden sonra vasat ile sütün iyice karışması için 1-3 dakika çalkalandı. Ekim yapılan zenginleştirme besi yerleri 30 °C'lik etüvde 24 ve 48 saat aerobik koşullarda inkube edildiler.



şema 2: Sütlerden Listeria İzolasyonunda Kullanılan Yöntem



Şema 3: Deneme İzolasyonunda Kullanılan Yöntem

3.2.4. Selektif İzolasyon

Yirmidört ve 48 saatlik zenginleştirme işlemi sonrasında erlenmayerler iyice karıştırıldı ve steril pipetler yardımıyla zenginleştirme besi yerlerinden alınan 10 µl miktarındaki sıvı besi yeri Listeria Selektif Agar'a seyreltme yöntemi ile ekildi. LSA besi yerleri 37 °C'de aerobik koşullarda etüvde 48 saat inkube edildiler.

3.2.5. Kesin İzolasyon İçin Kolonilerin Saflaştırılması

Yirmidört ve 48 saatlik sürelerin sonunda LSA'da küçük, siyah, etrafı siyahımsı bir halka ile çevrili olan kolonilerin 5 tanesi, eğer 5 taneden daha az ise hepsi Listeria şüphesiyle identifikasyon için seçildi. LSA'da seçilen tipik Listeria kolonileri ayrı ayrı TSYE agar besi yerlerine ekilerek 37 °C'de 24 saat inkube edildiler. Saf olarak üreyen kolonilere izolasyon ve identifikasyon testleri uygulandı. Test sonuçları Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'deki bilgilerle karşılaştırıldı ve izolatların test sonuçlarına göre tür isimleri konuldu (101) (Şema 4).

3.3. İZOLASYON TEKNİKLERİ

Saf İzolatların İncelenmesi

TSYE agara ekilen saf Listeria kolonileri petri kutusuna alttan gelen ve aynadan 45° açı ile yansıyan kuvvetli ışığa tutularak Henry Iluminasyon (yansıma) tekniği ile muayene edildiler. Yansıma sonucu tipik mavi yeşil parlama gösteren şeffaf koloniler Listeria şüphesiyle seçilerek aşağıdaki izolasyon yöntemleriyle incelendiler (70).

Gram Boyama

Şüpheli koloni bir damla fizyolojik tuzlu su içinde ezilerek bir lam üzerine yayıldı. Havada kurutulduktan sonra lam alevden birkaç defa geçirilmek suretiyle tespit edildi. Daha sonra üzerine jansiana moru boyası lamın tamamını kaplayacak şekilde dökülerek 2.5 dakika, lugol solüsyonuyla 1 dakika beklenildikten sonra alkol ile dekolorize edildi ve sulu fuksin boyası ile 15 sn boyandı. Mikroskopta immersiyon objektifinde incelenen preparatlarda Gram pozitif, kısa, düzgün, çomak şeklinde görülen koloniler Listeria şüphesiyle seçilerek diğer tesleri yapıldı.

Katalaz Testi

Şüpheli *Listeria* kolonileri 1 damla %3'lük Hidrojen Peroksit içerisinde süspanse edildiler. Birkaç saniye sonra gaz kabarcıklarının oluşması pozitif bir reaksiyon olarak kabul edildi.

Hareket Muayenesi

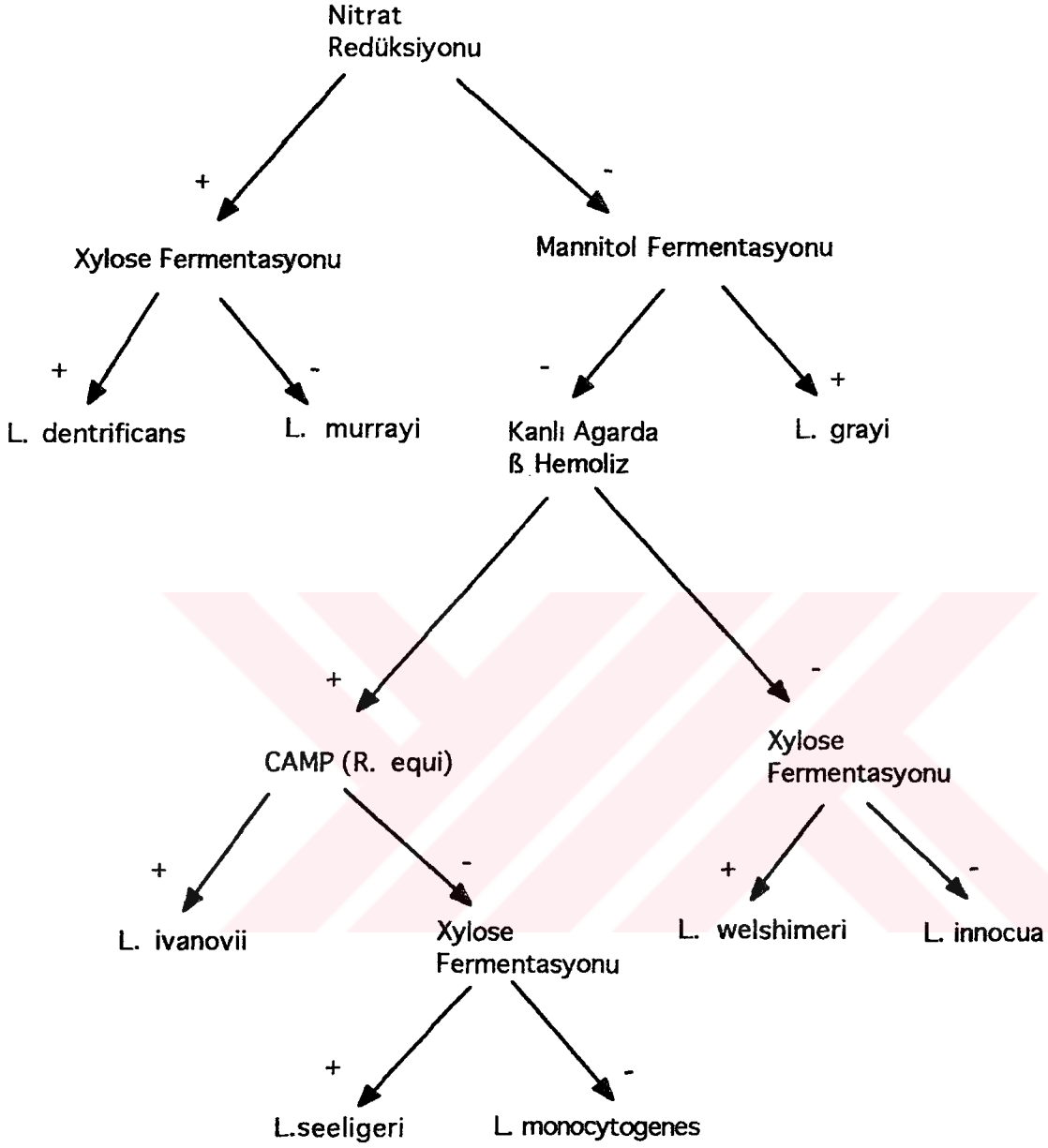
TSYE agar besi yerindeki tipik şüpheli bir koloni alınarak TSYE broth besi yerine geçildi ve 25 °C'de yeterince üreyene kadar inkube edildiler. Bu besi yerinden alınan bir damla kültür lam-lamel arası yöntemle Faz kontrast mikroskopunda incelendi. Mikroskopta aktif hareket görülen bakteriler hareketli olarak kabul edildiler. Ancak herhangi bir yanılığın gidermek amacıyla aynı izolatlar SIM medium yarı katı hareket besi yerine iğne ile dik olarak ekildi ve 25 °C'de 2-7 gün inkubasyona bırakıldı. İlk ekim yerinden kenarlara doğru yaygın bir üreme gösteren ve şemsiye veya ters çam ağacı şeklinde bir görünüm hareket pozitif olarak değerlendirildi (70,117).

Hemoliz Oluşumu

Daha önce yıkanmış %7 koyun kanı ile hazırlanan kanlı agar besi yerlerine ekilen suşlar 37 °C'de 48 saat inkube edildiler. Bu süre sonunda etrafında açık bir zon oluşan koloniler hemolizli olarak kabul edildiler.

Karbonhidrat Fermentasyon Tesleri

Saf kolonilerden TSYE broth'a inokulasyondan sonra besi yerleri 37 °C'de 24 saat inkube edildiler ve hazırlanan karbonhidrat fermentasyon besi yerlerine bir öze dolusu ekildiler. Karbonhidrat (%1) ihtiva eden Purple Broth Base besi yerleri 37 °C'de 7 gün inkube edilerek asit oluşumuna bağlı olarak meydana gelen renk değişimi ve gaz oluşumu gözlemlendi. Gaz oluşmadan besi yerinin doğal mor-menekşe renginin sarıya dönüştüğü tüplerdeki karbonhidratların fermentasyonunun pozitif olduğu kabul edildi.



Şema 4: Listeria Türlerinin Ayrımında Kullanılan Yöntem (70,91).

Nitrat Redüksiyon Testi

Hazırlanan nitrat buyyon içerisinde 37 °C'de 2-7 gün inkube edilen kültürlere bu süre sonunda 1 ml Griess-Ilosavy A ve B ayıraçları damlatıldı. Kırmızı renk oluşması nitritin varlığını gösterdi. Kontrol olarak kırmızı renk oluşmayan tüplere çinko tozu ilave edildi ve kırmızı rengin oluşması gözlemlendi.

CAMP Testi

Daha önce hazırlanan CAMP test vasatına *Staph. aureus* ve *R. equi* aralıklı şekilde birbirine paralel olarak ekildiler. Daha sonra bu bakterilerin ekim hattına dik olacak şekilde ikisinin arasına *Listeriaların* ekimleri yapıldı. İncelenen bakterinin ekim hatlarının CAMP kültürlerine 1-2 mm'den daha fazla yakın olmamasına dikkat edildi. Besi yerleri 37 °C'de 18-24 saat inkube edildiler. Test suşlarının ya *Staph. aureus* ya da *R. equi* ile kesişme noktalarında genişlemiş β -hemoliz zonları görülmesi pozitif olarak kabul edildi (117).

Diğer İzolasyon ve İdentifikasyon Testleri

İzolatların kesin identifikasyonlarını yapmak amacıyla yukarıdaki testlerin dışında, oksidaz, TSI agarda üreme, indol, sitrat kullanımı, MR/VP, H₂S (TSI agar'da) ve üreaz tesleri yapıldı (70).

4. BULGULAR

4.1. Deneme İzolasyonları Bulguları

On CFU ve daha fazla *L. monocytogenes* bakterisi ihtiva eden sulandırılmış *L. monocytogenes* süspansiyonu ile kontaminant kültürlerin birlikte inokule edildiği zenginleştirme besi yerlerinin 30 °C'de 24 ve 48 saatlik zenginleştirme sonrası LSA'a ekimleri neticesinde hepsinden *L. monocytogenes* saf olarak izole edildi. Vasata katılan *Staph. aureus* ve *E. coli* kültürlerinin üremesinin, selektif zenginleştirme vasatı tarafından inhibe edildiği ve *L. monocytogenes* bakterisinden başka bakterinin LSA'da üremediği gözlemlendi.

Süt ilave edilmeden ve süt ilave edilerek yapılan denemelerin tümünden izolasyon yapıldı ve vasat içerisinde süt bulunmasının izolasyonu etkilemediği tespit edildi.

4.2. Sütlerden İzolasyon Bulguları

Çalışmada *Listeria* türlerinin izolasyonu için Elazığ ve çevresindeki atık yapmış ve sağlıklı koyun sürüleriyle, sağlıklı keçi sürülerindeki hayvanlardan alınan toplam 300 adet çiğ süt numunesinin selektif zenginleştirme broth'unda 30 °C'de 24-48 saatlik zenginleştirilmesinden sonra selektif supplement ilaveli LSA'a ekimleri yapıldı. Selektif agarda üreyen tipik *Listeria* kolonileri seçilerek diğer identifikasyon testlerinin yapılması amacıyla saf kültürleri hazırlandı.

İncelenen süt numunelerinden LSA'da üreyen *Listeria* şüpheli kolonilerin saf kültürleriyle yapılan testler neticesinde 4 *L. welshimeri* ve 1 *L. dentrificans* olmak üzere 5 numuneden *Listeria spp.* izole edildi. Keçi sütlerinden 1 *Listeria spp.* izole edilirken, koyun sütlerinden 4 *Listeria spp.* izolasyonu yapıldı. İzolatların hepsi sağlıklı koyun ve keçi sütlerinden izole edildiler. Atık yapan koyunların sütlerinin hiçbirinden *Listeria spp.* izolasyonu yapılamadı (Grafik 1, Tablo 5).

Sağlıklı koyunlardan alınan 100 süt numunesinden 3 (%3) *L. welshimeri* ve 1 (%1) *L. dentrificans* olmak üzere 4 (%4) *Listeria spp.*, sağlıklı keçilerden alınan 150 süt numunesinden 1 (%0.66) *L. welshimeri* izole edildi. Atık yapmış koyunlardan alınan 50 süt numunesinden ise izolasyon yapılamadı. İncelenen sütlerin tümünden 4 (%1.33) *L. welshimeri* ve 1 (%0.33) *L. dentrificans* olmak üzere 5 (%1.66) *Listeria spp.* tespit edildi (Tablo 6).

Koyunlardan alınan 93, 123, ve 130 numaralı, keçilerden alınan 138 numaralı süt numunelerinden *L. welshimeri*, koyunlardan alınan 134 numaralı numuneden ise *L. dentrificans* izole edildi.

Çalışmada patojen olarak bilinen Listeria türlerinin hiçbiri izole edilemedi. İzole edilen türlerin hepsi apatojen ve hemoliz oluşturmeyan Listeria türleri idi.

Bu çalışmada sütlerden Listeria izolasyonunda mevsimler arasında belirgin bir fark tespit edilemedi.

Tablo 5: İzole Edilen Listeria Türlerinin Dağılımı

İzole Edilen Türler	Sağlıklı Koyun Sütü	Atık Yapmış Koyun sütü	Sağlıklı Keçi sütü	Toplam
<i>L. welshimeri</i>	3	-	1	4
<i>L. dentrificans</i>	1	-	-	1
Toplam <i>Listeria spp.</i>	4	-	1	5

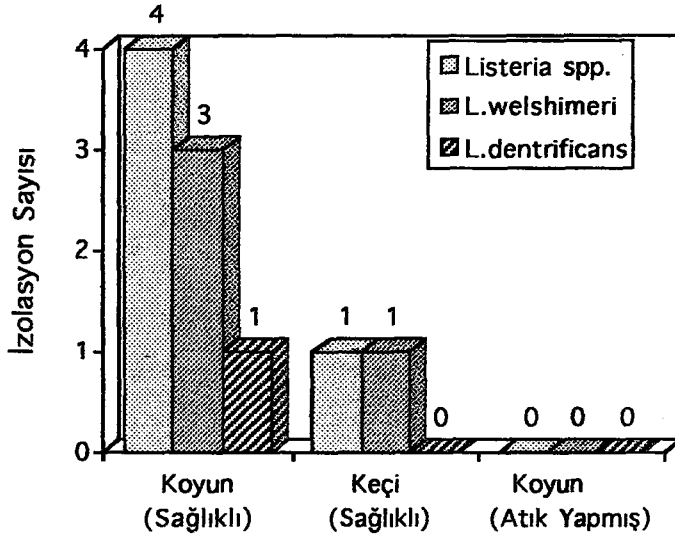
Tablo 6: İncelenen Süt Numunelerine Göre İzolatların Dağılımı.

İncelenen Numune	Numune Sayısı	<i>L. welshimeri</i> (%)	<i>L. dentrificans</i> (%)	Toplam (%)
Sağlıklı Koyun Sütü	100	3(3)	1(1)	4(4)
Atık Yapmış Koyun Sütü	50	0(0)	0(0)	0(0)
Sağlıklı Keçi Sütü	150	1(0.66)	0(0)	1(0.66)
Toplam	300	4(1.33)	1(0.33)	5(1.66)

Tablo 7: 24 ve 48 Saatlik Zenginleştirme Bulguları.

İncelenen Numune	24 saatlik zenginleştirme bulguları	48 saatlik zenginleştirme bulguları
Sağlıklı Koyun Sütü	-	3 <i>L. welshimeri</i> -1 <i>L. dentrificans</i>
Atık Yapmış Koyun Sütü	-	-
Sağlıklı Keçi Sütü	-	1 <i>L. welshimeri</i>
Toplam	-	5 <i>Listeria spp.</i>

Grafik 1: Sütlerden İzole edilen Listeria Türleri



4.3. 24 ve 48 Saatlik Zenginleştirme Bulguları

Yirmidört saatlik zenginleştirme sonrası LSA'da Listeria izolasyonu yapılamadı. Yapılan izolasyonların tümü 48 saatlik zenginleştirme sonrası LSA'da 48 saatlik inkubasyon'da yapıldı (Tablo 7). Koyun sütlerinden 4, keçi sütlerinden 1 olmak üzere toplam 5 nununede LSA'da üreyen kolonilerin Listeria benzeri küçük, düzgün kenarlı, etrafı siyah bir halka ile çevrilmiş olduğu tespit edildi (Şekil 1).

4.4. İdentifikasyon Testleri Bulguları

Henry Iluminasyon (Yansıma) Tekniği

TSYE agarda saf olarak üretilen koloniler petri kutularına alttan 45° açı ile bir aynadan yansıyarak gelen ışıkta incelendiler. Referens suşların ve izolatların ışığın yansıması neticesinde düzgün kenarlı, mavi-yeşilimsi renkte, şeffaf koloniler şeklinde olduğu görüldü.

Gram Boyama Özellikleri

TSYE agardan alınan şüpheli kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram boyama yöntemi ile boyanmasından sonra immersiyon objektifi ile mikroskopta incelendiğinde izolatların Gram pozitif, düzgün, kısa çomaklar şeklinde olduğu görüldü.

Hareket Muayenesi

TSYE broth besi yerine inokulasyondan sonra 25 °C'de 2 gün inkube edilen kültürden bir damla alınarak lam lamel arası yöntemle Faz Kontras mikroskopta hareket muayenesi yapıldı. İzolatların ve referens suşların tümünün aktif hareket ettikleri tespit edildi.

Yarı katı SIM medium hareket besi yerine ekilen kültürlerin ise 25 °C'de 2-7 günlük inkubasyonu sonrasında hareketli olanların besi yerinde ekim çizgisinden başlamak suretiyle gaz ve kararma oluşturmeyen yaygın bir üreme, şemsiye veya ters çam ağacı şeklinde bir görüntü meydana getirdiği izlendi (Şekil 2).

Hemoliz Testi Bulguları

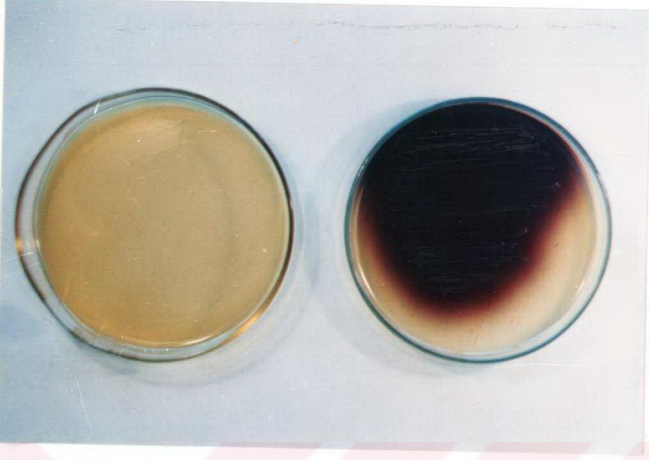
Koyun kanı ile hazırlanan %7 kanlı agarda yapılan hemoliz testinde izolatların hiçbirinin hemoliz oluşturmadığı gözlemlendi. Referens suşlarla yapılan hemoliz testinde ise *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* dar zonlu bir hemoliz oluştururken, *L. ivanovii*'nin daha geniş zonlu bir β hemoliz alanı oluşturduğu tespit edildi.

CAMP Testi Bulguları

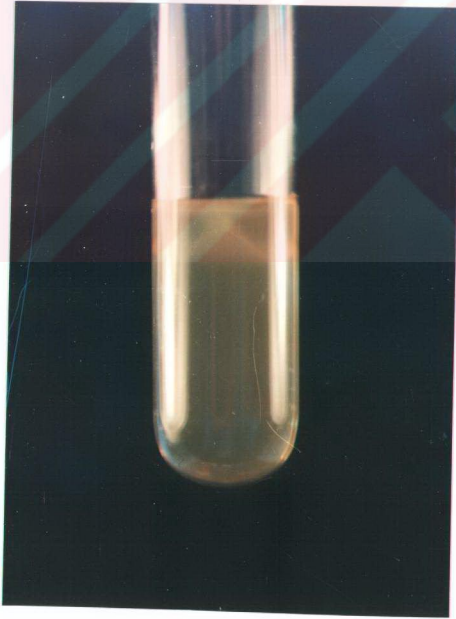
Staph. aureus ve *R. equi* ile yapılan CAMP testinde *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* *Staph. aureus* ile pozitif, *R. equi* ile negatif, *L. ivanovii*'nin *Staph. aureus* ile negatif, *R. equi* ile pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi. Diğer suşların tümü CAMP testinde negatif sonuç verdi.

Karbonhidrat Fermentasyon Testi Bulguları

Karbonhidrat fermentasyon testleri sonucunda izolatların ve referens suşların tümünün eskulini hidrolize ettiği, glikoz, maltoz, fruktoz, salisin, selobioz'u fermente ederek gaz oluşturmaksızın asit oluşturduğu ve Purple Broth Base besi yerinin normal menekşe rengini sarıya dönüştürdü gözlemlendi. Mannitol, rafinoz, sorbose, sorbitol'den asit oluşturmadığı tespit edildi. *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. dentrificans* ve *L. welshimeri*'nin ksilozu'u fermente ettiği gözlemlendi (Tablo 8).



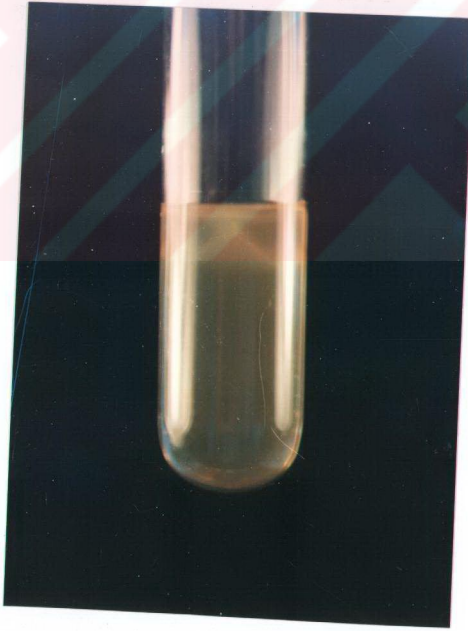
Şekil 1: Ekim Yapılmamış ve Listeria Ekilmiş LSA Besi Yerlerinin Görünümü



Şekil 2: Yarı Katı Hareket Besi Yerinde Listeriaların Tipik Hareket Görünümü



Şekil 1: Ekim Yapılmamış ve Listeria Ekilmiş LSA Besi Yerlerinin Görünümü



Şekil 2: Yarı Katı Hareket Besi Yerinde Listeriaların Tipik Hareket Görünümü

Nitrat Redüksiyon Testi Bulguları

Yapılan test sonucunda Griess-Ilosavy A ve B ayıraçlarının katılması neticesinde sadece *L. dentrificans*'ın nitrati nitrite indirgediği tespit edildi. Bu türün dışındaki diğer *Listeria* türlerinin nitrati nitrite indirgediği görüldü (Tablo 8).

4.5. Diğer İdentifikasyon Testlerinin Bulguları

Listeria şüphesiyle incelenen kolonilerin tümünün ve referens suşların katalaz, MR/VP pozitif (*L. dentrificans*'da VP negatif), oksidaz, H₂S, üreaz, sitrat, indol negatif olduğu, TSI agarda dipte ve yüzeyde asit oluşturduğu tespit edildi (Tablo 9).

Tablo 8: Referens Suşların ve İzolatların Karbonhidrat Fermentasyon Test Sonuçları

Karbonhidratlar	<i>L.m.</i>	<i>L.iv.</i>	<i>L.in.</i>	<i>L.se.</i>	<i>L.wel.</i>	Koyun 93	Koyun 123	Koyun 130	Koyun 134	Keçi 138
Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoç	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnoz	+	-	d	-	d	d	d	d	d	d
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Fructoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Selobioz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorboz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

d: Değişken

L.m. : *L. monocytogenes*

L.iv. : *L. ivanovii*

L.in. : *L. innocua*

L.se. : *L. seeligeri*

L.wel. : *L. welshimeri*

Tablo 9: Referens Suşların ve İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Testler	<i>L.m.</i>	<i>L.iv.</i>	<i>L.in.</i>	<i>L.se.</i>	<i>L.we.</i>	Koyun 93	Koyun 123	Koyun 130	Koyun 134	Keçi 138
Gram (+) Çomak	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LSA'da Tipik Koloni	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket (25 °C'de)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β hemoliz	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-
CAMP (<i>Staph.aureus</i>)	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-
CAMP (<i>R.equi</i>)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
TSI (A/A)*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S (TSI'de)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat Redüksiyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Sitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(*): Dipte ve Yüzeyde Asit Oluşumu , (+): Zayıf Reaksiyon

L.m. : *L. monocytogenes*

L.iv. : *L. ivanovii*

L.in. : *L. innocua*

L.se. : *L. seeligeri*

L.wel. : *L. welshimeri*

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Listerialar doğada çok yaygın olarak bulunurlar (9,47,48,69,78,79,124). Bakterinin bu yaygınlığı insan ve hayvan gıdalarında bulunması riskini artırmaktadır. Yurdumuzda ve dünyada yapılan pek çok çalışmada insanlar tarafından tüketilen süt (26,33,35,45,51,59,63,86,92,105,109,118, 127), değişik süt ürünleri (18,42,64,80,99,116), et ve et ürünleri (36,46,62,84,85,106,124), deniz ürünleri (34), sebzeler ve dondurulmuş hazır yiyecekler (38,80,96) gibi değişik birçok gıdadan *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri izole edilmiştir.

Listeria bakterisinin intraselüler bir parazit olması (9,54), olumsuz çevre şartlarına karşı dayanıklı olması (69,78) ve düşük ısılarda üreyebilmesi (9,12,24,73,124) insan ve hayvan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. *L. monocytogenes* ile bulaşık pastörize süt ve çiğ sütlerden yapılan peynirlerin tüketimine bağlı olarak dünyanın pekçok yerinde ölümlerle sonuçlanan Listeriosis salgınları meydana gelmiştir (33,64,78).

Hayvanların sindirim sisteminde Listeriaların herhangi bir hastalığa neden olmaksızın yaşadığı birçok çalışmada tespit edilmiştir (47,83,111). Sütlerin *Listeria* ile kontaminasyonu ya hayvanların sütleriyle süt lökositleri içinde bakteriyi çıkarması suretiyle bizzat sütün kendisinden kaynaklanmakta veya hijyenik kurallara dikkat edilmemesinden dolayı sağım esnasında ya da sağımdan sonra meydana gelmektedir (9,27,47,48).

Listerialar insan ve hayvanlarda ölümlere varabilen ciddi enfeksiyonlara yol açarlar (33,39,64,69,71,76,78). İnsanlarda ve hayvanlarda hastalığa çoğunlukla bu etken ile kontamine olmuş gıda maddelerinin ve yemlerin tüketilmesi neden olmaktadır (47,76,97,103,102,124).

Sistemik Listeriosisli, Listerial mastitisli ve Listerial abortus yapan ruminantların uzun süre sütleriyle bu bakteriyi çıkardığı doğal ve deneysel enfeksiyonlarla gösterilmiştir. Ancak bu hayvanların dışındaki sağlıklı hayvanlar da bakteriyi sütleriyle çıkarabilmektedir (25,27,30,43,47, 78,83,89,107,). *Listeria* ile kontamine sütlerle yapılan gıdalarda bu bakteri çok uzun süre canlı kalabilmekte hatta çoğalabilmektedir (61,73).

Dünyada ve Türkiye'de çiğ sütlerde Listeriaların varlığını tespit etmek amacıyla pekçok araştırma yapılmıştır. Toplama tanklarından alınan süt numunelerinde yapılan çalışmaların çoğunluğunun (26,29,45,51,52,53,63, 62,67,72,109) sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları farklılık göstermektedir. Tank sütü numuneleriyle yapılan çalışmalarda bu çalışmadan farklı olarak daha yüksek oranda *Listeria spp.* izolasyonu yapılmış, ayrıca incelenen

sütlerden apatojen *Listeria* türlerinden başka *L. monocytogenes* de değişik oranlarda izole edilmiştir.

Gün (45), incelediği tank süt örneklerinden %4 *L. monocytogenes* olmak üzere %15 *Listeria* spp, İnce (53), %28 *Listeria* spp. izole ederken, çiğ inek sütlerinden Yüce (127) %6, Ünü (118) %4 *Listeria* spp. izole etmiştir.

Tank sütlerinden *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin yüksek oranda izole edilmesine sütlerin sağım ve depolama şartlarının hijyenik olmaması nedeniyle çevresel kontaminasyona maruz kalması neden olabilir. Bir çalışmada süt çiftliklerinde kötü hayvan barınaklarının ve uygun olmayan sağım şartlarının sütlerin kontaminasyon riskini artırdığı ve hem patojenik, hem de patojenik olmayan *Listeriaların* yaygın bir kaynağı olduğu bildirilmiştir (52). Kviatek ve ark. (62), tank sütlerinden %56.2 *L. monocytogenes* izole ederken, bireysel olarak ineklerden alınan sütlerden %12.5 *L. monocytogenes* izole etmesi bu bakterinin hayvanların sütleriyle çıkarılmasından çok, sütlerin sağımdan sonra kontamine oldukları görüşünü desteklemektedir. Rodiriguez ve ark. (92), toplama tanklarından aldıkları koyun sütlerinden %2.19 *L. monocytogenes* ve %6 oranında diğer *Listeria* türlerini izole ederken taşıma tankerlerinden aldıkları örneklerden %18.38 *L. monocytogenes* ve %11.76 *L. innocua* izole etmişlerdir.

Bu çalışmada incelenen süt numuneleri ise toplama kaplarından değil doğrudan doğruya hayvanların kendilerinden sağılmak suretiyle toplanmış ve sağım sonrası çevresel kontaminasyon ihtimali minimuma indirgenmiştir. Çalışmada *Listeria* spp. izolasyon oranının tank sütlerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına göre düşük olmasında çevresel kontaminasyon riskinin büyük ölçüde ortadan kaldırılmasının rolü olabilir.

Yugoslavya'da saman ve silajla beslenen sağlıklı koyun ve keçilerin sütlerinde yapılan bir çalışmanın bulguları ile bu çalışmanın bulguları birbirine benzerlik göstermektedir. Araştırmada silajla beslenen koyunların sütlerinden %1.9 ve keçi sütlerinden %7.78 *L. monocytogenes* izole edilirken saman ile beslenen koyun ve keçi sütlerinin hiçbirinden *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamamıştır (59). Bu çalışmada da sütleri incelenen koyun ve keçiler silaj ile beslenmemekteydi ve yemlerinin büyük bir çoğunluğunu saman gibi kaba yemler oluşturmaktaydı. Yugoslavya'da yapılan çalışmaya benzer şekilde incelenen sütlerin hiçbirinden *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamadı. Ancak Katic ve Stojanovic (59)'in çalışmalarında silaj yedirilen hayvanların sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilmesi bu çalışmanın bulgularından farklılık arz etmektedir. Bunun nedeni hayvanların *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş silajlarla

beslenmelerine bağlanabilir. Bilindiği gibi düşük kaliteli silajlarda Listerialar bol miktarda bulunabilmekte (31,32,48,51,59,112), bu silajlarla beslenen hayvanlarda Listeriosis meydana gelmekte (25,32,41,48,58,71,121,125) ve sütleriyle bu bakteriyi çıkarabilmektedirler (35,51,59,112).

Şahin ve ark. (112), yöremizde yaptıkları bir araştırmada silajla beslenen ineklerin sütlerinde ve silaj numunelerinde aynı *Listeria* türlerini saptamışlar, Husu ve ark. (51), çalışmalarında etkeni süt, silaj ve dışkılarından değişik oranlarda izole etmişlerdir. Bu çalışmalarda hayvanlara silaj yedirilmesi ile Listeriaların hayvanların dışkılarında ve sütlerinde bulunmasının birbiriyle ilişkili olduğu görülmüştür. Dolayısıyla çiğ sütlerden bu bakterinin izole edilmesi pekçok çalışmada hayvanların silajlarla beslenmesine bağlanmıştır (35,51,59,112).

Dünyada yapılan çalışmalarla kıyaslandığında yurdumuzda yapılan birçok çalışmada koyun ve keçi sütlerinde *Listeria* insidensinin çok düşük olması büyük ölçüde ülkemizin iklim, bakım ve beslenme şartlarının farklılığından kaynaklanabilir.

İklim ve coğrafi şartlar göz önüne alındığında Listeriosis nemli ve bol yağışlı iklim koşullarının hüküm sürdüğü ve hayvanların çoğunlukla silajla beslendiği ülkelerde bir hayvancılık sorunu olduğu görülmektedir (41,78,83,104,125). Bunun tabii bir sonucu olarak bu ülkelerde yapılan araştırmalarda sağlıklı hayvanların sütlerinde Türkiye'de yapılan araştırmalardan daha fazla *Listeria* izolasyonu yapılmıştır.

Dünyada ve yurdumuzda yapılan çalışmalarda çiğ sütlerden *L. monocytogenes* izolasyon oranı, araştırmanın yapıldığı bölgelere göre de farklılık göstermektedir. Bunun sebebi de aynı şekilde bölgeler arasındaki iklim, bakım beslenme ve hijyenik farklılıklar olabilir.

Bu çalışmada *L. monocytogenes* izole edilememesi ve *Listeria spp.* izolasyon oranının çok düşük olması, incelenen hayvanların beslenmesinde Listeriosis'te önemli bir risk faktörü olan silaj kullanılmamasına ve buna karşın büyük ölçüde listeriaların yaşaması için uygun bir ortam oluşturmayan kuru ot, saman gibi yem maddelerinin kullanılmasına bağlanabilir. Nitekim yöremizde yapılan bir araştırmada (112), hayvan yetiştiricilerinden toplanan kuru ot örneklerinin incelenmesinde gerek kuru ot numunelerinden ve gerekse bu otlarla beslenen ineklerin sütlerinden *Listeria spp.* izole edilememiş olması bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Fakat bu konuda kesin bir yargıya varmak için hayvanların yemlerinin Listeriaların varlığı yönünden daha kapsamlı bir şekilde incelenmesine gerekir.

Yüce (127), incelediği koyun ve keçi sütlerinin hiçbirinden *Listeria* izolasyonu yapamamıştır. Coşkun ve ark. (20), çalışmalarında koyunlardan tek tek sağmak suretiyle topladıkları süt numunelerinde %0.6 *Listeria spp.* izole etmişler, fakat hiç *L. monocytogenes* izole edememişlerdir. Yurdumuzda yapılan bu çalışmalarda *Listeria* izolasyon oranının düşük olması bizim bölgemiz için de geçerli olan bakım, beslenme ve iklim şartlarından kaynaklanabilir.

Şahin ve ark. (112)'nin çalışmasında silajla beslenen ineklerin sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilemezken *L. welshimeri* yüksek oranda izole edilmiştir. Bu sonuç hem bizim bulgularımızı desteklemekte, hem de *L. welshimeri* türünün yöremizde çiğ sütlerde diğer *Listeria* türlerine göre daha yaygın olduğunu göstermektedir.

Yurdumuzda koyun ve keçi sütlerinin *Listeria* insidensi yönünden incelendiği çalışmaların bulguları ile bu çalışmanın sonuçlarının farklı olduğu görülmektedir (20,118,127). Koyun ve keçi sütlerinden *Listeria* izole etmek amacıyla yapılan bu çalışmalara genel olarak bakıldığında *Listeria* insidensinin bu çalışmanın sonuçlarından düşük olduğu görülmektedir.

Hayvanların silajla beslenmeleri, özellikle kış mevsiminde uzun süre kapalı mekanlarda tutulmaları ve içinde buldukları kötü bakım ve beslenme koşullarının hayvanların sütlerinden *Listeria* izolasyon oranını artıran faktörler olduğu bildirilmiştir (51). Bu çalışmanın sonuçlarının yurdumuzda yapılan bazı çalışmaların sonuçlarından yüksek çıkmasının nedeni bölgede incelenen hayvanların çoğunun oldukça kötü hijyenik koşullarda ve çadırlarda yaşamalarına bağlanabilir. Fakat yurdumuzda yapılan benzer çalışmalarda ve aynı şekilde bu çalışmada da koyun ve keçi sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilmemiş olması birbiri ile uygunluk göstermektedir.

Yurdumuzda çiğ sütlerde yapılan çalışmalarda *Listeria* izolasyon oranı düşük bulunmasına rağmen Türkiye'nin çeşitli yörelerinde süt ürünlerinde yapılan çalışmalarda oldukça yüksek oranda *L. monocytogenes* izole edilmiştir (53,116). İnce (53), çalışmasında Elazığ piyasasından topladığı değişik tipteki beyaz peynir örneklerinden %11 oranında *L. monocytogenes* izole etmiştir. Tümbay ve ark. (116), farklı hayvanlara ait sütlerden yapılan peynir örneklerinden çeşitli oranlarda *Listeria spp.* izole etmiş ve en yüksek izolasyon oranını %6.5 ile koyun sütünden yapılan peynirlerde tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın bulguları ise koyun ve keçi sütlerinde *Listeria* insidensinin çok düşük olduğunu *L. monocytogenes*'in ise bulunmadığını göstermektedir. Peynirlerde sütlerden daha fazla *Listeria* tespit edilmesi, özellikle *L. monocytogenes*'in daha yüksek oranda tespit

edilmesine peynirlerin üretimi ve depolaması aşamasında meydana gelen çevresel kontaminasyonların neden olması kuvvetle olasıdır.

Yurdumuzun değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarda incelenen çiğ sütlerden *L. monocytogenes* izole edilememesi, buna karşın peynir gibi süt ürünlerinde yüksek oranda tespit edilmesi, etkenin bu ürünlere süttten ziyade çevresel faktörlerden, sağımdan sonra, ya da bu ürünlerin üretimi aşamasında bulaştığı görüşünü desteklemektedir.

Birçok çalışmada Listerialar daha çok sistemik Listeriosisli ve Listerial abortus yapan hayvanların sütlerinden izole edilmiştir (47,48). Bu çalışmada listerik abort yapan ve klinik semptom göstermeyen koyunların sütleriyle etkeni çıkarıp çıkarmadıklarını tespit etmek amacıyla atık yapmış koyunların sütleri de incelendi, fakat atık yapmış hiçbir hayvanın sütünden *Listeria* izole edilemedi.

Yurdumuzda atık yapmış koyun sütlerini Listeriaların varlığı yönünden inceleyen çalışma olmadığından bu sonuçların kıyaslanması yapılamadı. Çalışmada atık yapan hayvanların sütlerinden etken izole edilememesi Listeriosis'in bölgemizdeki hayvanlar için henüz ciddi bir atık sorunu olmadığı ihtimalini akla getirebilir. Ancak sadece hayvanların sütlerini incelemek suretiyle böyle bir yargıya varmak yanıltıcı olabilir. Çünkü Listeriosisli hayvanların hepsi sütleriyle etkeni çıkartmayabilirler. Bazen hayvanların sütlerinden izolasyon yapılamamasına rağmen bakterinin hayvanların barsaklarında bulunduğu bildirilmiştir (48). Bu nedenle bölgede Listeriaların gerçekten bir sorun olup olmadığını tespit etmek amacıyla daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Çalışmada sütlerden *Listeria* izolasyonu yapmak amacıyla FDA tarafından süt, süt ürünleri, sebzeler, deniz ürünleri ve hazır yiyecekler gibi pekçok gıda maddesinin incelenmesi için geliştirilen ve IDF tarafından süt ve süt ürünleri için yeniden düzenlenen metot kullanıldı (68,117).

Önceki yıllarda Listeriaları gıda maddelerindeki diğer mikroorganizmalardan ayırarak izole etmek oldukça sorun olmaktadır. İlk olarak, kontaminantların içinden selektif olarak bakteriyi izole etmek için bakterinin buzdolabı ısısında üreyebilme yeteneğinden faydalanarak diğer kontaminantların üremesinin düşük sıcaklıkta yavaşlatıldığı *soğuk zenginleştirme metodu* geliştirilmiştir. Ancak bu metot ile izolasyon haftalar, hatta aylarca sürebilmekteydi (27,60). Fakat FDA'nın geliştirdiği kısa ve sıcak zenginleştirme metodunda kontaminantların üremesi vasatlarla katılan çeşitli kimyasal maddelerle önlenmiştir ve çok daha kısa sürede izolasyon yapılabilir. Ancak buna rağmen tek başına bütün gıda maddeleri için tavsiye edilebilecek etkin bir metot yoktur (68).

Birçok laboratuvarlar tarafından koordineli olarak yapılan bir çalışmada sensitivitesi ve spesifitesi oldukça yüksek olarak tespit edilen bu metotta diğerlerinden farklı olarak sıvı zenginleştirme besi yerine katılan acriflavin maddesinin litredeki miktarı 15 mg'dan 10 mg'a düşürülerek Listeriaların daha kolay çoğalması amaçlanmıştır (2,117). Yapılan araştırmalar bu metodun süt ve süt ürünlerinden *Listeria* izolasyonunda oldukça başarılı olduğunu ve az sayıdaki (12 Colony Forming Unit/25 ml) bakteriyi izole edebildiğini göstermektedir (117). Ancak bakterinin izole edilebilmesi muhtemelen başlangıçtaki etken sayısına, kontamine mikrofloranın tipine ve miktarına bağlı olabilir.

Soğuk zenginleştirme ve sıcak kısa zenginleştirme metotlarının izolasyondaki etkinliğini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalarda sıcak kısa zenginleştirme metodu ile buzdolabında uzun süreli soğuk zenginleştirme metoduna göre daha fazla izolasyon yapıldığı görülmüştür (28,29). Oni ve ark. (86), soğuk zenginleştirme yöntemiyle inceledikleri 150 çiğ süt numunesinden 1 *L. monocytogenes* izole edebilmişlerdir. Ancak bazı gıda maddelerinde soğuk zenginleştirme metodu, FDA yöntemine göre daha etkin bulunmasına rağmen araştırmacılar FDA yönteminin daha kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle standart metot olarak kullanılması görüşünü benimsemişlerdir (105).

Food and Drug Administration (FDA) tarafından önerilen metotta zenginleştirmeden sonra izolasyon amacıyla çeşitli selektif vasatlar kullanılmıştır. Birçok çalışmada bu vasatların karşılaştırmalı olarak izolasyondaki etkinlikleri araştırılmış, bu araştırmalarda *Listeria* kolonilerinin eskulini hidrolize etmesi nedeniyle etrafında siyah bir halka oluşturarak ürediği LSA'nın sıcak zenginleştirmeden sonra en fazla izolasyon yapılan vasat olduğu tespit edilmiştir (11,26,45,72,92). Bu çalışmada da izolasyon etkinliğinin yüksek olduğu bildirilen ve IDF'nin metodunda da tavsiye edilen *Listeria* Selektif Agar kullanıldı. Ancak FDA tarafından sütlerden *Listeria* izolasyonu için önerilen selektif zenginleştirme birçok araştırmacı tarafından farklı şekillerde uygulanmıştır. Araştırmacıların bazıları 24 saat, bazıları 24-48 saat , bazıları ise 24, 48 saat ve 7 günlük zenginleştirme uygulamışlardır (29,67,72). Çalışmaların bir kısmında (67,92), 24 saatlik, diğer bir kısmında ise (26,42,45,52,59), 48 saatlik zenginleştirmeden en iyi sonuç alınmıştır. Çalışmaların birçoğunda 24 ve 48 saatlik zenginleştirmenin yeterli olduğu, 7 günlük zenginleştirmenin izolasyon oranını artırmadığı, hatta azalttığı bildirilmiştir (18,26,45). Buna sütteki kontamine floranın uzun süren zenginleştirme esnasında çoğalarak baskılayıcı bir etki oluşturmasının neden olabileceği düşünülmüştür (109).

Bu çalışmada izolatların tümü 48 saatlik zenginleştirmeden sonra tespit edildi. Numunelerin 24 saatlik zenginleştirmesinde hiç izolasyon yapılamadı. Bu sonuç 24 saatlik zenginleştirmede çoğunlukla *L. monocytogenes* izolasyonu yapan birçok araştırmacının sonuçlarına uymamaktadır. Bu durum bu çalışmadaki izolatların büyük ölçüde *L. monocytogenes* dışındaki apatojen türler olmasından kaynaklanabilir. Çünkü selektif zenginleştirme ve selektif izolasyon vasatlarında kullanılan supplement maddelerinin bazı *Listeria* türlerinin üremeleri üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir (2,60). Çalışmada kullanılan selektif besi yerleri, apatojen *Listeria* türlerinin üremelerini 24 saatlik zenginleştirmede inhibe etmiş olabilir. Ayrıca incelenen süt örnekleri içerisinde başlangıçta çok az sayıda *Listeria* bakterisi bulunabilir ve 24 saatlik zenginleştirme az sayıdaki *Listeria* bakterisinin üremesi için yeterli olmayabilir. Birçok araştırmada (26,42,45,52,59), en yüksek izolasyonun 48 saatlik zenginleştirmeden sonra elde edilmesi bu bulguları desteklemektedir.

Selektif agarlara direkt ekim yöntemiyle yapılan çalışmaların hiçbirinde süt numunelerinden *Listeria* izolasyonu yapılamamıştır (52,92). Bu nedenle çalışmada direkt ekim metodu kullanılmadı.

Kısa süreli sıcak zenginleştirme sonrası zenginleştirme besi yerinin KOH ile muamele edilerek selektif agara ekilmesi yöntemi geçmişte birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda KOH ile muamelelenin izolasyonun artmasında etkin bir rolünün olmadığı görülmüştür (67,109). Bu nedenle IDF'nin süt ve süt ürünleri için eski FDA metodundan uyarladığı yeni izolasyon metodunda KOH ile muamele tavsiye edilmemektedir. Bu çalışmada da uygulanan yöntemle göre selektif zenginleştirme broth'undan selektif agara ekimlerden önce KOH ile muamele yapılmadı.

Sonuç olarak bölgemizde yetiştirilen koyun ve keçilerin sütlerinde az sayıda apatojen *Listeria* türleri bulunduğu görülmüştür. Bu durum yörede *Listeriosis*'in ciddi bir hayvancılık sorunu olmamasından kaynaklanabilir. Ancak koyun ve keçi sütleri büyük ölçüde peynir imalatında kullanılmaktadır. Gerek bölgemizde gerekse yurdumuzdaki diğer bölgelerde yapılan çalışmalarda bu peynirlerin önemli ölçüde patojen ve apatojen *Listeria* türleri ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Bu ve diğer çalışmaların bulguları bu kontaminasyonun hayvanların sütlerinden kaynaklanmadığı görüşünü desteklemektedir. Birçok ülkede insanlarda ölümlerle sonuçlanan ciddi salgınlara, hayvan ölümlerine ve abortuslara sebep olan bu bakterinin koyun ve keçi sütünden yapılan gıdalardaki gerçek kaynağının tespit

edilmesi için daha kapsamlı araştırmaların yapılması ve daha hijyenik şarlarda gıdaların üretilmesi için kontaminasyona neden olan faktörlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir.



6. ÖZET

Bu çalışmada *Listeria* türlerinin varlığı yönünden incelemek amacıyla Nisan ve Eylül 1995 tarihleri arasında Elazığ ili merkez ve çevre köylerinde 14 koyun ve 12 keçi sürüsündeki sağlıklı ve atık yapmış hayvanlardan ayrı ayrı çiğ süt örnekleri toplandı.

Toplam 300 süt numunesi alındı. Bunlardan 100 tanesi sağlıklı koyunlardan, 50 tanesi atık yapmış koyunlardan ve 150 tanesi sağlıklı keçilerden alındı.

Listeria izolasyonu amacıyla International Dairy Federation (IDF) tarafından önerilen metot kullanıldı. Bu metoda göre süt numuneleri Modified *Listeria* Enrichment Broth'da 30 °C'de 24 ve 48 saat inkube edildi. 24 ve 48 saatlik zenginleştirme sonrası LSA'a sürme ekimler yapıldı.

İncelenen tüm süt örneklerinden %1.66 oranında (5/300) *Listeria spp.* izole edildi. Bunların 4'ü (%4) sağlıklı koyun sütünden, 1'i (%0.66) sağlıklı keçi sütünden izole edildi. Koyun izolatlarının 3 tanesi *L. welshimeri*, bir tanesi *L. dentrificans*, keçi izolatu ise *L. welshimeri* olarak tanımlandı. Atık yapmış koyun sütlerinden hiç izolasyon yapılamadı. Tüm izolatlar 48 saat zenginleştirme yapılan örneklerden elde edildi. 24 saatlik zenginleştirmede izolasyon yapılamadı.

Bu çalışmada hiç patojen *Listeria spp.* izole edilemedi.

Sonuç olarak çiğ sütlerden *L. monocytogenes* izole edilememiş olması, diğer çalışmalarda süt ürünlerinden (ör. peynir) izole edilen bu bakterinin sütlerin kendisinden değil, daha çok çevresel kontaminasyonlardan kaynaklanabileceğini göstermiştir. Ayrıca çalışmanın bulguları listerik abortusların bu bölgede ciddi bir hayvancılık sorunu olmadığı kanısını güçlendirmektedir.

7. SUMMARY

In this study, raw milk samples were collected from healthy and aborted individuals on 14 sheep and 12 goat flocks in Elazığ province and its central villages between April and September 1995, to investigate the presence of *Listeria* species.

The total number of samples collected was 300. Of these, 100 were collected from healthy sheep and 50 from aborted sheep. The remaining 150 samples were from healthy goats. The method described by International Dairy Federation (IDF) was used for the isolation of *Listeria* spp. According to this procedure, milk samples in modified *Listeria* selective enrichment broths were incubated at 30 °C for 24 and 48 h and streaked on LSA at 24 and 48 h.

The overall proportion of *Listeria* spp. isolated from raw milk samples was 1.66% (5/300). Four of these (4%) were obtained from healthy sheep and only one (0.66%) was from a healthy goat. Three of the sheep isolates were identified as *L. welshimeri* and one was *L. dentrificans*. The *Listeria* spp. isolated from the goat was determined to be *L. welshimeri*. No isolation was made from the milk samples of aborted sheep. All isolates were obtained from enriched 48 h samples. No isolation was made at 24 h.

No pathogen *Listeria* spp. were isolated from raw milk samples in this study.

In conclusion, the absence of *L. monocytogenes* in raw milk samples suggests that the isolation of this species in milk products (e.g. cheese) in other studies might have been a consequence of environmental contamination rather than infected milk. The findings of this study also suggest that listeric abortion is not a serious problem in animal population of this region.

8. KAYNAKLAR

1. Anonim (1983). *Listeria Infections in Farm Animals*. Vet.Rec., 4(2), 314.
2. Anonim (1993) . Technical Information, Difco Bacto, Modified *Listeria Enrichment Broth*.
3. Arda, M. (1985). Genel Bakteriyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 402, Ankara.
4. Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N. ve Akay, Ö.(1992). Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. Kars Vet.Fak. Yay.No.1, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum.
5. Art, D. and Andre, P. (1991). Clinical and Epidemiological Aspects of Listeriosis in Belgium, 1985-1990. Zb.Bakt., 275, 549-556.
6. Aslan, V., Turgut, K., Kaya, O. ve Sevinç, M. (1991). Sığırlarda Listeriosis Olgusu. Hay.Araş.Derg., 1(1),37-39.
7. Audurier, A., Taylor, A.G., Carbonnelle, B. and McLauchlin, J. (1984). A Phage Typing System for *Listeria monocytogenes* and Its Use in Epidemiological Studies. Clin.Invest.Med., 7(4),229-232.
8. Barlow, R.M. and McGorum, B. (1985). Ovine Listerial Encephalitis: Analysis, Hypotesis and Syntesis. Vet.Rec., 116,233-136.
9. Barza, M. (1985). Listeriosis and Milk. New England J. Medicine, 312(7),438-440.
10. Bilgehan, H. (1992). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yay., İzmir.
11. Blanco, M., Garayzabal, J.F.F., Dominguez, L., Briones, V., Vazquez-Boland, J.A., Blanco, J.L., Garcia, J.A. and Suarez, G. (1989). A Technique for the Direct Identification of Haemolytic-pathogenic *Listeria* on Selective Plating Media. Lett.Appl.Mic., 9, 125-128.
12. Brackett, R.E. (1988). Presence and Persistence of *Listeria monocytogenes* in Food and Water. Food Technology. 4, 162-164.
13. Breer, C. and Schopfer, K. (1988). *Listeria* and Food. The Lancet, 10(29),1022.
14. Brightling, A. (1988). Sheep Disease. Inkata Press, Melbourne, Sdney.
15. Bryner, J., Wesley, I., Maaten, M. (1989). Research on Listeriosis in Milk Cows With Intramammary Inoculation of *Listeria monocytogenes*. Acta Microbiol. Hungarica, 36(2-3),137-140.
16. Bunning, V.K., Crawford, R.G., Bradshaw, J.G., Peeler, J.T., Tierney, J.T. and Twedt, R.M. (1986). Thermal Resistance of Intracellular *Listeria monocytogenes* Cells Suspended in Raw Bovine Milk. Appl.Environ.Micr., 52(6),1398-1402.

17. Bunning, V.K., Donnelly, C.W., Peeler, J.T., Briggs, E.H., Bradshaw, J.G., Crawford, R.G., Beliveau, C.M. and Tierney, J.T. (1988). Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* Within Bovine Milk Phagocytes. *Appl. Environ. Micro.*, 54(2), 364-370.
18. Charlton, B.R., Kinde, H. and Jensen, L.H. (1990). Environmental Survey for *Listeria* Species in California Milk Processing Plants. *J. Food Protec.*, 53(3), 198-201.
19. Clegg, F.G. (1975). Listeric Infection and The Genital System, Problems of Listeriosis. Proceedings of Sixth Int. Symp. September 1974, Nottingham, Leichestet Univ. Press., 1975.
20. Coşkun, Ş., Önal, O., Keskin, M., Okyay, T., Yüce, A. ve Erel, B. (1993). Çiğ Süt Örneklerinde *Listeria* Araştırması ve ELISA ile Kültür Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Tur. J. Inf.*, 7(3-4), 329-332.
21. Doğer, M. (1961). Türkiyede Listeriosis. *Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg.*, 1(4), 345-346.
22. Donnelly, C.W., Briggs, E.H. and Donnel, L.S. (1987). Comparison of Heat Resistance of *Listeria monocytogenes* in Milk as Determined by Two Methods. *J. Food Protec.*, 50(1), 14-17.
23. Doyle, M.P., Glass, K.A., Berry, J.T., Garcia, G.A., Pollard, D.J. and Schultz, R.D. (1987). Survival of *Listeria monocytogenes* in Milk During High-Temperature, Short-Time Pasteurization. *App. Environ. Micro.*, 53(7), 1433-1438.
24. Doyle, M.P. (1988). Effect of Environmental and Processing Conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food Tech.*, 4, 169-171.
25. El-Gazzar, F.E. and Marth, E.H. (1991). *Listeria monocytogenes* and Listeriosis Related to Milk, Milk Products and Dairy Ingredients: A Review I. *Listeria monocytogenes*, Listeriosis and responses of the Pathogen to Environmental Conditions. *Milchwissenschaft*, 46(1), 14-19.
26. El-Leboudy, A.A. and Fayed, M.A. (1992). Incidence of *Listeria* in Raw Milk. *Assiut Vet. Med. J.*, 27(53), 134-146.
27. El-Shenawy, M.A. and Marth, E.H. (1989). *Listeria monocytogenes* and Food: History, Characteristics, Implications, Isolation Methods and Control: A Review. *Egyptian J. Dairy. Sci.*, 17, 1-18.
28. Eld, K., Danielson-Tham, M.L., Gunnarsson, A. and Tham, W. (1993). Comparison of a Cold Enrichment Method and The IDF Method for Isolation of *Listeria monocytogenes* From Animal Autopsy Material. *Vet. Micro.*, 36, 185-189.
29. Farber, J.M., Sanders, G.W. and Malcom, S.A. (1988). The Presence of *Listeria spp.* in Raw Milk in Ontario. *Can. J. Microbiol.*, 34, 95-100.

30.Fedio, W.M., Schoonderwoerd, M., Shute, R.H. and Jackson, H. (1990). A Case of Bovine Mastitis Caused by *Listeria monocytogenes*. *Can.Vet.J.*, 31,773-775.

31.Fenlon, D.R. (1985). Wild Birds and Silage as a Reservoirs of *Listeria* in The Agricultural Environment. *J.Appl.Bac.*, 59,537-543.

32.Fenlon, D.R. (1986). Rapid Quantitative Assessment of Distribution of *Listeria* in Silage Implicated in a Suspected Outbreak of Listeriosis in Calves. *Vet.Rec.*, 118,240-242.

33.Fleming, D.W., Cochi, S.L., Mac Donald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L. (1985). Pasteurized Milk As a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *N.Engl.J.Med.*, 312(7),404-407.

34.Fuchs, R.S. and Surendran, P.K. (1989). Incidence of *Listeria* in Tropical Fish and Fishery Products. *Lett.Appl.Micr.*, 9,49-51.

35.Garayzabal, J.F.F., Dominguez, L., Vasquez, J.A., Gomez-Lucia, E., Ferr, E.R.R. and Suarez, G. (1987). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Raw Milk. *Vet.Rec.*, 120,258-259.

36.Genigeorgis, C.A., Dutulescu, D. and Garayzabal, J.F. (1989). Prevalence of *Listeria spp.* in Poultry Meat at the Supermarket and Slaughterhouse Level. *J.Food Protec.*, 52(9),618-624.

37.George, L.W. (1990). Disease of Nervous System. p. 969-971., Smith, B.P. Large Animal, Internal Medicine, The C.V. Mosby Company, St.Louis, Baltimore, Philadelphia.

38.Gilbert, R.J. (1992). Public Health Aspects and Policies Towards *Listeria monocytogenes* in Foods. The Eleventh Int Symp. on Problems of Listeriosis. p. 13-14. 11-14 May, Copenhagen.

39.Gitter, M. (1985). Listeriosis in Farm Animals in Great Britain, p.191-200, in Collins, C.H. and Grange, J.M. Isolation and Identification of Micro-organisms of Medical and Veterinary Importance, Harcourt Brace Javanovich, Academic Press Inc. Orlando, Florida.

40.Gitter, M., Richardson, C. and Boughton, E. (1986). Experimental Infection of Pregnant Ewes With *Listeria monocytogenes*. *Vet.Rec.*, 118,275-278.

41.Gitter, M., Stebbings, St.J., Morris, J.A., Hannam, D. and Harris, C. (1986). Relationship Between ovine Listeriosis and Silage Feeding. *Vet.Rec.*, 118,207-208.

42.Greenwood, M.H., Roberts, D. and Burden, P. (1991). The Occurrence of *Listeria* Species in Milk and Dairy Products: A National Survey in England and Wales. *Int.J.Food Mic.*, 12,197-206.

43.Gronstol, H. (1979). Listeriosis in Sheep. *Listeria monocytogenes* excretion and Immunological State in Healty Sheep. *Acta Vet.Scand.*, 20(2),168-179.

44.Gronstol, H. (1980). Listeriosis in Sheep, Isolation of *Listeria monocytogenes* From Organs of Slaughtered Animals and Dead Animals Submitted for Post-Mortem Examination. *Acta Vet.Scand.*, 21,11-17.

45.Gün, H. (1994). İstanbul ve Yöresindeki Sağlıklı İneklerin Sütlerinde *Listeria* Türlerinin İzolasyon, İdentifikasyon ve Patojenitesi Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

46.Güven, M. (1994). Elazığ İlinde Tüketime Sunulan Et ve Bazı Et Ürünlerinde *Listeria* Türlerinin Araştırılması. Doktora Tezi, F.Ü. Sağlık Bil. Enst., Elazığ.

47.Hird, D.W. (1987). Review of Evidence for Zoonotic Listeriosis. *J. Food Protect.*, 50(5),429-433.

48.Hird, D.W. and Genigeorgis, C. (1990). Listeriosis in Food Animals: Clinical Signs and Livestock as a Potential Source of Direct (Nonfoodborne) Infection for Humans, 31-39, In A.J.Miller, J.L. Smith and Somkuti, G.A. (eds). *Foodborne Listeriosis*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

49.Hitchins, A.D. and Tran, T. (1990). Initial Cell Concentration and Selective Media Effects on the Isolation of *Listeria monocytogenes* from Enrichment Cultures of Inoculated Foods. *J.Food Protec.*, 53(6),502-504.

50.Hughes, K.L. (1975). *Listeria* as a Cause of Abortion and Neonatal Mortality in Sheep. *Aust. Vet.J.*, 51(2),97-99.

51.Husu, J.R.(1990). Epidemiologic Studies on the Occurrence of *Listeria monocytogenes* in the Feces of Dairy Cattle. *J.Vet.Med.*, 27,276-282.

52.Husu, J.R., Seppanen, J.T., Sivela, S.K. and Rauramaa, A.L. (1990). Contamination of Raw Milk by *Listeria monocytogenes* on Dariry Farms. *J.Vet.Med.*, 37,268-275.

53.İnce, F.K. (1993). Elazığ İlinde Üretilen Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes*'in Bulunuşu ve Laboratuvarda Üretilen Beyaz Peynirlerde Canlı Kalma Süresinin Araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

54.Jacobs, J.L. and Murray, H.W. (1986). Why is *Listeria monocytogenes* Not a Pathogen in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Arch. Intern. Med.*, 146(7),1299-1300.

55.Johnson, J.L., Doyle, M.P. and Cassens, R.G. (1990). *Listeria monocytogenes* and Other *Listeria spp.* in Meat and Meat Products A Review. *J.Food Protec.*, 53(1),81-91.

56. Jones, D. (1975). The Taxonomic Position of *Listeria*. Problems of Listeriosis, Proceedings of Sixth Int. Symp. September 1974, Nottingham, Leichest. Univ. Press. p. 4-17.

57. Jones, D. (1988). Taxonomy of *Listeria*. Turk.J.Infec., 2(4),461-469.

58. Kampelmacher, E.H. (1988). Foodborne Listeriosis-Facts and Fictions. Turk.J.Inf., 2(4),527-532.

59. Katic, V. and Stojanovic, L. (1992). The Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Goat and Sheep Milk. Acta Veterinaria (Beograd), 42(4),215-220.

60. Kerr, K.G., Lacey, R.W. (1991). Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes*. J.Clin.Pathol., 44,624-627.

61. Khattab, A.A., El-Leboudy, A.M. and Ahmad, H.M. (1993). Survival of *Listeria monocytogenes* in Yoghurt and Acidified Milk During Storage At 4-5 °C. Egypt.J.Food Sci., 21(1),41-48.

62. Kviattek, K., Wojton, B. and Rola, J. (1992). The Occurrence of *L. monocytogenes* in Meat of Slaughter Animals, Poultry and Raw Milk in Poland. 3rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications, 1084-1088, Berlin.

63. Liewen, M.B. and Plautz, M. (1988). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Raw Milk in Nebraska. J.Food Protec., 51(11),840-841.

64. Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A. and Broome, C.V. (1988). Epidemic Listeriosis Associated With Mexican-Style Cheese. N.Engl.J.Med., 319(13),823-828.

65. Loken, T., Aspoy, E. and Gronstol, H. (1982). *Listeria monocytogenes* Excretion and Humoral Immunity in Goats in a Herd With Outbreaks of Listeriosis and in a Healthy Herd. Acta Vet.Scand., 23 (3),392-399.

66. Loncarevic, S., Milanovic, F., Caklovica, F., Tham, W. and Danielsson-Tham, M.L. (1994). Occurrence of *Listeria* Species in an Abattoir for Cattle and Pigs in Bosnia and Hercegovina. Acta Vet.Scand., 35,11-15.

67. Lovett, J., Francis, D.W. and Hunt, J.M. (1987). *Listeria monocytogenes* in Raw Milk: Detection, Incidence, and Pathogenicity. J.Food Protec., 50(3),188-192.

68. Lovett, J. and Hitchins, A.D. (1988). *Listeria* Isolation. FDA Bacteriological Analytical Manual, Federal Register, 53,44148-44153.

69. Lovett, J. and Twedt, R.M. (1988). *Listeria*. Food Technol., 4,188-191.

70. Lovett, J. (1988). Isolation and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Food Tech., 4,172-175.

71.Low, C. and Linklater, K. (1985). Listeriosis in Sheep. Vet.Rec., Suppl. In Practice, 7:66

72.Lund, A.M., Zottola, E.A. and Pusch, D.J. (1991). Comparison of Methods for Isolation of Listeria From Raw Milk. J.Food Protec., 54(8),602-606.

73.MacDonald, F. and Sutherland, A.D. (1993). Effect of Heat Treatment on Listeria monocytogenes and Gram-negative Bacteria in Sheep, Cow and Goat Milks. J. Appl. Bact., 75,336-343.

74.Macleod, N.S.M. and Wells, R. (1986). Isolation *L. monocytogenes* From Ovine Brain. Vet.Rec., March, 309-310.

75.Mann, E.J. (1988). Listeria monocytogenes in Milk and Milk Products. Dairy Industries Int., 53(11),10-11.

76.Marsh, E.H. (1988). Disease Characteristics of Listeria monocytogenes. Food Tech.,42(4),165-168.

77.Marsh, E.H. and Ryser, E.T. (1990). Occurrence of Listeria in foods: Milk and Dairy Foods, p.152-163., In A.J.Miller, J.L. Smith and Somkuti, G.A. (eds). Foodborne Listeriosis. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

78.McLauchlin, J. (1987). Listeria monocytogenes, Recent Advances in the Taxonomy and Epidemiology of Listeriosis in Humans. J. Appl. Bact., 63,1-11.

79.McLauchlin, J., Saunders, N.A., Ridley, A.M. and Taylor, A.G. (1988). Listeriosis and Food-Borne Transmission. The Lancet, 1(23),177-178.

80.McLauchlin, J. and Gilbert, R.J. (1990). Listeria in Food. PHLS Microbiology Digest., 7(3),54-55.

81.McLauchlin, J. and Low, J.C. (1994). Primary Cutaneous Listeriosis in Adults: An Occupational Disease of Veterinarians and Farmers. Vet.Rec., 135,615-617.

82.Miettinen, A., Husu, J. and Tuomi, J. (1990). Serum Antibody Response to Listeria monocytogenes, Listerial Excretion, and Clinical Characteristics in Experimentally Infected Goats. J.Clin.Microbiol., 28(2),340-343.

83.Müller, H.E. (1988). Listeriosis in Animals. Turk.J.Inf., 2(4),505-519.

84.Nazlı, B., Çiftçioğlu, G. ve Ülgen, M.T. (1992). Hazır Kıymalarda Listeria monocytogenes ile Koliform Grubu Mikroorganizmaların İlişkisinin Araştırılması. Pendik Vet.Mik.Derg., 23(2),133-145.

85.Nitcheva, L., Yonkova, V., Popov, V. and Manev, C. (1990). Listeria Isolation From Foods of Animal Origin. Acta Mic.Hun., 37(2),223-225.

86. Oni, O.O., Adesiyun, A.A., Adekeye, J.O. and Saidu, S.N.A. (1989). Prevalence and Some characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolated From Cattle and Milk in Kaduna State, Nigeria. *Isr.J.Vet.Med.*, 45(1),12-17

87. Özer, H., Gülcü, H.B., Dumanlı, N., Bostancıoğlu, H. ve Akış, C. (1990). Doğu Anadolu'da Bazı İllerde Koyun Abortusları Üzerinde Patolojik ve Bakteriyolojik İncelemeler. *F.Ü. Derg.*, (Sağl.Bil.) 4(1),33-39.

88. Petran, R.L. and Zottola, E.A. (1989). A Study of Factors Affecting Growth and Recovery of *Listeria monocytogenes* Scott A. *J.Food Sci.*, 54(2),452-460.

89. Prentice, G.A. and Neaves, P. (1987). *Listeria monocytogenes* in Food: Its Significance and Methods for Its Detection. *Bulletin of IDF*, 223,3-12.

90. Reuter, R. (1989). Ovine Listeriosis in South Coastal Western Australia. *Aust.Vet.J.*, 66(7),223-224.

91. Rocourt, J. (1988). The Recognition and Identification of *Listeria* Species by Classical Methods. *Turk.J.Inf.*, 2(4),417-485.

92. Rodriguez, J.L., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M. (1994). Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* in Ewes' Milk. *J.Food Protec.*, 57(7),571-575.

93. Ronald, A.R. (1984). *Listeria monocytogenes*. *Clinic.Invest.Med.*, 7(4),211.

94. Ryser, E.T. and Marth, E.H. (1989). "New" Food-borne Pathogens of Public Health Significance. *J.Am.Diet.Assoc.*, 89(7),948-954

95. Schaack, M.M. and Marth, E.H. (1988). Survival of *Listeria monocytogenes* in Refrigerated Milks and Yogurt. *J.Food.Protec.*, 51(11),848-852.

96. Schlech, W.F., Pierre, M.L., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C. (1983). Epidemic Listeriosis. Evidence For Transmission by Food. *N.Eng.J.Med.*, 308(4),203-206.

97. Schlech, W.F. (1984). New Perspectives on The Gastrointestinal Mode of Transmission in Invasive *Listeria monocytogenes* Infection. *Clin.Invest.Med.*, 7(4),321-324.

98. Schlech, W.F. (1988). Virulence Characteristics of *Listeria monocytogenes*. *Food Tech.*, 4,176-178.

99. Schönberg, A., Teufel, P. and Weise, E. (1989). Serovars of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* From Food. *Acta Mic.Hung.*, 36(2-3),249-253.

100. Seeliger, H.P.R. (1984). Modern Taxonomy of The *Listeria* Group Relationship to Its Pathogenicity. *Clin.Invest.Med.*, 7(4),217-221.

101.Seeliger, H.P.R. and Jones, D. (1986). Genus *Listeria* Pirie. pp. 1235-1245, In.P.H.A. Sneath, N.S.Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol.2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.

102.Seeliger, H.P.R. (1988). Why Listeriosis. *Turk.J.Inf.*, 2(4),455-460.

103.Seeliger, H.P.R. (1988). Epidemiology of Listeriosis. *Turk.J.Inf.*, 2(4),521-526.

104.Sergeant, E.S.G., Love, S.C.J. and McInnes, A. (1991). Abortions in Sheep Due to *Listeria ivanovii*. *Aust. Vet.J.*, 68,1,39.

105.Sharif, A. and Tunail, N. (1991). *Listeria monocytogenes* Contamination of Raw Milk From Different Regions of Anatolia and Pasterized Milk Sold in Ankara. *Mikrobiyol.Bult.*, 25(1),15-20.

106.Sharif, A. and Tunail, N. (1995). Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods of Animal Origin. *Tr.J.Vet.Anim.Sci.*, 19(5),329-332.

107.Sharp, M.W. (1989). Bovine Mastitis and *Listeria monocytogenes*. *Vet.Rec.*, 11(11),512-513.

108.Slade, P.J. and Collins-Thompson, D.L. (1988). Incidence of *Listeria* Species in Ontario Raw Milk. *Can.Inst.Food.Technol.J.*, 21(4),425-429.

109.Slade, P.J. and Collins-Thompson, D.L. (1988). Comparison of Two-Stage and Direct Selective Enrichment Techniques for Isolating *Listeria spp.* From Raw Milk. *J.Food Sci.*, 53(6),1694-1695.

110.Svabic-Vlahovic, M., Pantic, D. and Pavicic, M. (1988). Transmission of *Listeria monocytogenes* From Mother's Milk to Her Baby and to Puppies. *Lancet*, 11(19),1201.

111.Szemeredi, G.Y. (1990). New Method for the Isolation of *Listeria monocytogenes* From Contaminated Samples. *Acta Mic. Hun.*, 37(2),165-169.

112.Şahin, K., Çerçi, İ.H., Güler, T., Özcan, C. ve Şahin, N. (1995). Silaj ve Kuru Ot Katılan Rasyonlarla Beslenen Süt İneklerinin Kaba Yem ve Sütlerinde *Listeria* Türlerinin Araştırılması. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 10(2),245-249.

113.Taştan, R. (1995). Tavuklardan *Listeria spp.* İzolasyonu ve İdentifikasyonu Üzerinde Çalışmalar. Doktora Tezi A.Ü. Sağlık Bil. Enst., Ankara.

114.Tham, W. (1988). Survival of *Listeria Monocytogenes* in Cheese Made of Unpasteurized Goat Milk. *Acta Vet. Scand.*, 29,165-172.

115.Toyoda, M. (1978). Studies on The Listeriosis of Domestic Animals and Human Beings With a Special Preference to The Epidemiological Observations Made in İbaragi Prefecture. *Int.J.Zoon.*, 5,111-115.

116.Tümbay, E., Seeliger, H.P.R., İnci, R., Coşar, G. and Langer, B. (1988). Isolation of *Listeria* From Cheese in Turkey. *Turk.J.Inf.*, 2(4),593-598.

117.Twedt, R.M. and Hitchins, A.D. (1994). Determination of the Presence of *Listeria monocytogenes* in Milk and Dairy Products: IDF Collaborative Study. *J.AOAC Int.*, 77(2),395-402.

118.Ünlü, G. (1990). Sivas Yöresindeki Çiğ Sütlerde *Listeria monocytogenes* ve Diğer Türlerin Aranması. Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas.

119.Vandepitte, J. and Ruelens R. (1988). Clinical Aspects of Human Listeriosis. *Turk.J.Inf.*, 2(4),487-496.

120.Vazquez-Boland, J.A., Fernandez, D.J.F., Rodriguez-Ferri, E.F., Briones, V., Blanco, M. and Suarez, G. (1990). Revision of The Validity of CAMP Tests for *Listeria* Identification. Proposal of an Alternative Method for The Determination of Haemolytic Activity by *Listeria* Strains. *Acta Mic.Hun.*, 37(2),201-206.

121.Vazquez-Boland, J.A., Dominguez, L., Blanco, M., Rocourt, J., Fernandez-Garayzabal, J.F., Gutierrez, C.B., Tascon, R.I. and Rodriguez-Ferri, E.F. (1992). Epidemiologic Investigation of a Silage-Associated Epizootic of Ovine Listeric Encephalitis, Using a Nev *Listeria*-Selective Enumeration Medium and Phage Typing. *Am.J.Vet.Res.*, 53(3),368-371.

122.Walker, R.L., Jensen, L.H., Kinde, H., Alexander, A.V. and Owens, L.S. (1991). Environmental Survey for *Listeria* Species in Frozen Milk Product Plants in California. *J.Food Protec.*, 54(3),178-182.

123.Weis, J. and Seeliger, H.P.R. (1975). Incidence of *Listeria monocytogenes* in Nature. *Appl.Mic.*, 30(1),29-32.

124.WHO Working Group. (1988). Foodborne Listeriosis. *Bull. World Health Organization*, 66(4),421-428.

125.Wilesmith, J.W. and Gitter, M. (1986). Epidemiology of Ovine Listeriosis in Great Britain. *Vet.Rec.*, 119,467-470.

126.Yılmaz, S. (1960). Yurdumuzda Yavru Atan Koyunlardan İzole Edilen *Listeria monocytogenes*. *Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg.*, 1(2),136-143.

127.Yüce, A. (1992). İzmir Yöresindeki Mandıralardan Alınan Çiğ Sütlerde *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* Aranması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniv. Gıda Müh. Anabilim Dalı, İzmir.

10. ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Elazığ'ın Ağın ilçesinde doğdum. İlkokul, ortaokul ve liseyi Elazığ'da bitirdikten sonra F.Ü. Veteriner Fakültesine girdim ve 1991 yılında mezun oldum. 1992 Şubat ayında F.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında doktora sınavını kazandım. 1993 yılında araştırma görevlisi kadrosuna atandım. Halen aynı Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım. Evliyim ve bir çocuk babasıyım.

Arş.Gör.Hasan Basri ERTAŞ

11. TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, ve çalışmalarımıla yakından ilgilenen danışman hocam Doç.Dr.H.Basri GÜLCÜ'ye, ayrıca çeşitli konularda yardımlarını gördüğüm Anabilim Dalındaki diğer hocalarıma, mesai arkadaşlarıma ve Referens suşların temininide yardımcı olan Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden Dr.Vet.Hek.Rüştü TAŞTAN'a teşekkürü bir borç bilirim.