

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GEMLİK GARNİZONUNDA TÜKETİME SUNULAN
TAVUK ETLERİNDEN LİSTERİA SPP. İZOLASYONU**

**Tezi Hazırlayan
Gürsel ÖZMEN**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ**

**Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Mart 2006
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GEMLİK GARNİZONUNDA TÜKETİME SUNULAN
TAVUK ETLERİNDEN LİSTERİA SPP. İZOLASYONU**

**Tezi Hazırlayan
Gürsel ÖZMEN**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ**

**Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBY-04-25 nolu proje
ile desteklenmiştir.**

**Mart 2006
KAYSERİ**

Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ Danışmanlığında **Gürsel ÖZMEN** tarafından hazırlanan “**Gemlik Garnizonunda Tüketime Sunulan Kanatlı Etlerinden *Listeria spp. İzolasyonu***” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Mikrobiyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..../..../2006

JÜRİ

İmza

Üye : Prof. Dr. Fuat AYDIN

Üye : Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ (Danışman)

Üye : Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

..../..../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı geliştirmemde bana yol gösteren ve her konuda destek olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ'a, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fuat AYDIN'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY ve Arş. Gör. Sayın Seçil ABAY'a, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı personeline, ayrıca çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Sayın Vet. Hekim Yb. Sinan ZOR'a ve her konuda olduğu gibi çalışmamda da destek ve yardımlarını esirgemeyen eşim Şerife'ye, kızım Yüksel Bengü ile oğlum Şamil'e teşekkürlerimi sunarım.

GEMLİK GARNİZONUNDA TÜKETİME SUNULAN TAVUK ETLERİNDEN LİSTERİA SPP. İZOLASYONU

ÖZET

Bu çalışmada, Gemlik Garnizonundaki askeri birliklerde tüketime sunulan tavuk etlerinden ve kesimhanede kesilen tavuklardan alınan 100'er adet tavuk karkası ve bağırsak içeriğinde *Listeria* spp. izolasyon ve identifikasyonu amaçlandı.

Örneklerden *Listeria* spp. izolasyonu amacıyla, Buffered *Listeria* Selective Enrichment Broth ve PALCAM Agar Base kullanıldı. Elde edilen izolatların identifikasyonu amacıyla klasik biyokimyasal testler ve Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon test kiti kullanıldı.

Yapılan izolasyon çalışmalarında karkas örneklerinde 76 (% 76) adet *Listeria* spp. izole edildi. İdentifiye edilen *Listeria*'ların 24 (% 24)'ünün *L. monocytogenes*, 43 (% 43)'ünün *L. innocua*, 4 (% 4)'ünün *L. murrayi*, 3 (% 3)'ünün *L. grayi* ve 2 (% 2)'sinin *L. welshimeri* olduğu tespit edildi.

Bağırsak içeriğinden ise 12 (% 12) adet *Listeria* spp. izole edildi. Bunlardan 5 (% 5)'inin *L. monocytogenes*, 2 (% 2)'sinin *L. murrayi*, 2 (% 2)'sinin *L. welshimeri* 2 (% 2)'sinin *L. seeligeri* ve 1 (% 1)'inin *L. innocua* olduğu tespit edildi.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre kanatlı eti tüketiminin artması ve fast-food alışkanlığının yaygınlaşması nedeniyle; kanatlı hayvanların yetiştirme aşamasından kesimhanelere ve paketlenme-dondurma ünitelerinden tüketiminin yapıldığı yerlere kadar olan zincirde hijyenik koşulların yerine getirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler : *Listeria* spp., Tavuk eti, İzolasyon

ISOLATION OF LISTERIA SPP. FROM CHICKEN MEAT CONSUMED IN GEMLIK GARRISON

ABSTRACT

In this current study, *Listeria* spp. were isolated and identified from 100 samples taken from each of chicken carcasses (consumed in the garrison or slaughtered in abatoirs located in the region) and gastrointestinal contents.

Listeria Selective Enrichment Broth and PALCAM Agar Base were used for the isolation of *Listeria* spp. from samples. The isolates obtained were identified using biochemical tests and Microbact 12 L *Listeria* Identification test Kit.

Listeria spp. were isolated from 76 of 100 (76 %) carcass samples, identification of those indicated 24 (24%) isolates as *L. monocytogenes*, 43 (43 %) as *L. innocua*, 4 (4 %) *L. murrayi*, 3 (3 %) *L. Grayi* and 2 (2 %) *L. Welshimeri*.

Listeria spp. were isolated from 12 (12 %) samples taken from gastrointestinal tract. 5 (5 %) of those *L. monocytogenes*, 2 (2 %) *L. murrayi*, 2 (2 %) *L. welshimeri*, 2 (2 %) *L. seeligeri*, 1 (1 %) were *L. Innocua*.

Based on the findings of the current study, assurance of proper hygienic conditions along the food chain, from chicken house to slaughter-packaging plants, is essential because of increases seen in poultry meat and fast-food consumption.

Key words : *Listeria* spp., Chicken meat, Isolation

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Tarihçe.....	4
2.2 Taksonomi.....	4
2.3 Koloni Özellikleri.....	5
2.4 İzolasyon ve İdentifikasyon.....	8
2.5 Microbact 12 L İdentifikasyon Sistemi.....	12
2.6 Biyokimyasal Özellikler.....	15
2.7 Patojenite.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1 GEREÇ.....	22
3.1.1 Örneklerin Toplanması.....	22
3.1.1.1 Karkas Örneklerinin Alınması.....	22
3.1.1.2 Bağırsak İçeriklerinin Alınması.....	23
3.1.2 Besiyerleri.....	23
3.1.2.1 Buffered Listeria Selective Enrichment Broth.....	23
3.1.2.2 PALCAM Agar Base.....	23

	<u>Sayfa No</u>
3.1.2.3 Blood Agar Base.....	24
3.1.2.4 Triple Sugar Iron Agar.....	24
3.1.2.5 Urea Broth Base-Christensen Broth Base.....	24
3.1.2.6 Metil Red – Voges Proskauer Medium.....	24
3.1.2.7 Simmons Citrate Agar.....	24
3.1.2.8 Nitrate Broth.....	25
3.1.2.9 Tryptic Soya Broth + Yeast Extract.....	25
3.1.3 Ayıraçlar.....	25
3.1.3.1 Metil Red Ayıracı.....	25
3.1.3.2 Voges-Proskauer Ayıracı.....	25
3.1.3.3 KOH Çözeltisi.....	25
3.1.3.4 Kovaks Ayıracı.....	26
3.1.3.5 Katalaz Test Ayıracı.....	26
3.1.3.6 Griess-Ilosvay ayıracı.....	26
3.1.3.7 Oksidaz Touch Sticks.....	26
3.1.3.8 Referans Suşlar.....	26
3.2 YÖNTEM.....	26
3.2.1 İzolasyon Çalışmaları.....	26
3.2.1.1 Karkas Örneklerinden İzolasyon.....	26
3.2.1.2 Bağırsak İçeriklerinden İzolasyonu.....	27
3.2.2 İdentifikasyon Çalışmaları.....	29
3.2.2.1 Koloni Morfolojisi.....	29
3.2.2.2 Gram Boyama.....	29
3.2.2.3 Hareket Testi.....	29
3.2.2.4 Oksidaz Testi.....	30
3.2.2.5 Katalaz Testi.....	30

VIII

	<u>Sayfa No</u>
3.2.2.6 H ₂ S Testi.....	30
3.2.2.7 Nitrat Testi.....	30
3.2.2.8 Üre Testi.....	30
3.2.2.9 İndol Testi.....	31
3.2.2.10 Metil Red Testi.....	31
3.2.2.11 Voges Proskauer Testi.....	31
3.2.2.12 CAMP Testi.....	31
3.2.2.13 Karbonhidrat Fermentasyon Testleri.....	32
3.2.2.14 Microbact 12 L Listeria Identification Test Kiti.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1 Karkas Örneklerinden Elde Edilen Bulgular.....	33
4.2 Bağırsak İçeriklerinden Elde Edilen Bulgular.....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	44
6. KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

		<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1	<i>Listeria</i> türlerinin CAMP testine göre ayrımı.....	7
Tablo 2.2	<i>Listeria</i> türlerinin ayırıcı tanısı.....	10
Tablo 2.3	<i>Listeria</i> türlerinin identifikasyonunda kullanılan alternatif testler.....	11
Tablo 2.4	Microbact 12 L <i>Listeria</i> identifikasyon sistemi reaksiyon tablosu.....	13
Tablo 2.5	Microbact 12 L <i>Listeria</i> identifikasyon sistemi veri tablosu.....	14
Tablo 4.1	Microbact 12 L <i>Listeria</i> identifikasyon sistemi sonuçları.....	36
Tablo 4.2	Karkas örneklerinden yapılan izolasyon sayı ve oranları.....	37
Tablo 4.3	Karkas örneklerinden identifiye edilen izolatların biyokimyasal test sonuçları.....	38
Tablo 4.4	Bağırsak içeriği örneklerinden yapılan izolasyon sayı ve oranları.....	41
Tablo 4.5	Bağırsak içeriği örneklerinden identifiye edilen izolatların biyokimyasal test sonuçları.....	43
Şekil 2.1	CAMP testinde kolonilerin kanlı agara ekimi.....	7
Şekil 2.2	<i>Listeria</i> türlerinin PALCAM Agar'da üreyen kolonileri.....	22
Şekil 3.1	<i>Listeria</i> türlerinin izolasyon ve identifikasyon prosedürü.....	28
Şekil 4.1	<i>Listeria</i> türlerinin PALCAM Agar'da üreyen kolonileri.....	33
Şekil 4.2	<i>Listeria</i> türlerinin SIM Mediumda hareket muayenesi.....	34
Şekil 4.3	Microbact 12 l <i>Listeria</i> identifikasyon test kiti'nde reaksiyonların gözlenmesi.....	35
Şekil 4.4	Karkas örneklerinden izole ve identifiye edilen <i>Listeria</i> türlerinin grafiksel dağılımı.....	37
Şekil 4.5	Bağırsak içeriği örneklerinden izole ve identifiye edilen <i>Listeria</i> türlerinin grafiksel dağılımı.....	42

KISALTMALAR

BAB	: Blood Agar Base
BAM	: Bacteriological Analytical Manual
BLEB	: Buffered Listeria Selective Enrichment Broth
CAMP	: Christie Atkins ve Munch Peterson
DHHS	: Department of Health and Human Services
FDA	: Food and Drug Administration
FSIS	: Food Safety and Infection Service
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
H ₂ S	: Hidrojen Sülfür
IDF	: International Dairy Federation
ISO	: International Standards Organisation
LPM	: Lithium Chlorid Phenilethanol Moxolactam Agar
MOX	: Modifiye Oxford Agar
MRVP	: Metil Red Voges Proskauer
NB	: Nitrate Broth
SCA	: Simmons Citrate Agar
SIM	: Semisolid Indol Motility Medium
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB+YE	: Tryptic Soya Broth + Yeast Extract
TSIA	: Triple Sugar Iron Agar
USDA	: United States Department of Agriculture

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya nüfusunun ve buna paralel olarak da insanların besin kaynaklarına olan ihtiyacının artması özellikle hayvansal orijinli gıda maddelerinin üretiminde hijyen kurallarına azami önem verilmesini zorunlu hale getirmiştir.

Tavuklar her iklim koşulunda yetiştirilebilen, kısa zamanda istenilen ağırlığa ulaşabilen, et verimi bakımından çok ekonomik olan bir hayvandır. Bu özelliğinden dolayı dünya protein açığının kapatılmasında giderek önem kazanmaktadır.

Başta tavuk olmak üzere kanatlı etlerinin ekonomik olması ve kolay hazırlanması nedeniyle insanlar tarafından fazlaca tüketilmeye başlanması bazı sorunları da beraberinde getirmiştir. Sürekli artan talebi karşılamak için yeni tekniklerle büyük kapasitelere sahip kümeslerde üretilen; yetersiz hijyene sahip kesimhanelerde kesilerek çok çeşitli şekillerde tüketime sunulan kanatlı etleri ile Listeriozis olguları arasında ilişki olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.

Kanatlı etlerinin üretim aşamalarında hijyen kurallarına uyulmaması intoksikasyonlara, sporadik ölümlere, gebelerde abortuslara ve özellikle yaşlı, organ transplantasyonu,

lenfomalı, AIDS hastalığı taşıyan immün sistemi baskılanmış insanlarda encephalitis veya ölümlere neden olmaktadır. İmmün sistemi zayıflatan hastalıklara yakalanmış olanlar, yaşlılar, organ nakli yapılmış insanlar, hastalığa daha duyarlıdırlar.

Son yıllarda, kanatlı hayvan eti orijinli gıda maddelerinin tüketiminin artması ile insanlarda sporadik veya epidemik karakterde Listeriozis olgularının meydana gelmesi yanısıra hayvancılığın yoğun olduğu bölgelerde ekonomik kayıplara neden olması bakımından *Listeria* cinsinin yeni tekniklerle araştırılmasının önemi ortaya çıkmıştır.

Dünyada yapılan araştırmalar Listeriozis'in insan ve hayvan sağlığı açısından çok önemli bir zoonoz hastalık olduğunu ortaya çıkarmıştır. *Listeria* spp. insan ve hayvanların intestinal floralarında, gaitalarında ve lağım sularında yaygın olarak bulunmaktadır. Kanatlı etlerine kesim sonrası kontaminasyonun bulaşmada önemli rolü olduğu bilinmektedir.

Listeriozis etkeni; patojen, fakültatif intrasellüler, düşük pH'ya, soğuğa ve sığağa dayanıklı olması nedeniyle soğukta muhafaza edilen gıdalarda çoğalabilen, çoğu zaman sporadik olarak ortaya çıkan, abortus, septisemi, meningoensefalitis, konjunktivitis ile karakterize, artrit, menenjit, endokardit ve hepatit gibi hastalıklara neden olan bir mikroorganizmadır.

Listeria monocytogenes ve *Listeria ivanovii*, insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan patojen türlerdir. *Listeria* spp. gebelerde abortusa neden olmaktadır. *L. monocytogenes* merkezi sinir sistemine yerleştiğinde % 50'ye kadar varabilen oranlarda mortaliteye sebep olabilmektedir.

Bu çalışmada, Gemlik Garnizonunda tüketime sunulan tavuk karkaslarından ve kesimhanelerden bağırsak içeriği alınarak *Listeria* spp. izolasyon ve identifikasyonunun yapılması, gerek tüketime sunulan tavuk karkaslarından ve gerekse kesimhanelerdeki tavuk bağırsak içeriklerinden *Listeria* spp.'nin varlığının ortaya konulması ve elde edilecek bulgularla tavuk hastalıkları arasında Listeriozis'in yerini belirleyerek sonuçları halk sağlığı açısından yorumlayarak Listeriozis'in öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Gıda maddeleri ve özellikle etler çeşitli faktörler nedeniyle farklı sayı ve türde mikroorganizma içermektedirler. Kanatlı etlerinde en önemli kontaminasyon nedeni kesim sırasında gerçekleşen kontaminasyondur. Mikroorganizmaların aktivasyonu ile insanlarda kanatlı etlerinden kaynaklanan enfeksiyonlar görülmekte, ekonomik kayıplar artmaktadır.

Son yıllarda kanatlı hayvan sektöründe hızlı gelişmeler yaşanmaktadır. Bunun nedeni tavuk etinin diğer etlere nispeten daha ucuz olması ve diyetlerde sıkça kullanılmasıdır. Tavuk eti kırmızı etlerle kıyaslandığında daha çok protein daha az yağ içermektedir. Karbonhidrat bakımından da kırmızı etden daha fakirdir. Bu özelliğinden dolayı, özel beslenme rejimlerinde aranan bir besin maddesidir (1).

Tavuk eti sağlıklı ve ekonomik olmasına karşılık, üretim teknolojisindeki çapraz kontaminasyon ile pişirme ve muhafaza hatalarına bağlı olarak çoğu patojen mikroorganizmaların da önemli bir kaynağı durumundadır (2).

Gerek tavuk etlerinden kaynaklanan enfeksiyonlarda, gerekse tavuk yetiştiriciliğinde yol açtığı ekonomik kayıplarla *Listeria* spp. önemli rol oynamaktadır.

2.1 TARİHÇE

Fransa’da 1891 yılında Hayem, 1893 yılında ise Almanya’da Henle isimli araştırmacılar Listeriozise benzer belirtiler gösteren bir hastalıktan ölen insanların dokularında *Listeria* benzeri bakterilere rastlamışlardır. İsveç’te 1911 yılında Hülpers bir tavşanın karaciğerinde bulunan nekrotik odaklardan izole ettiği ve *Listeria monocytogenes*’e çok benzeyen bakteriye *Bacillus hepatitis* adını vermiştir (3).

Dumont ve Cotoni 1921 yılında meningitis benzeri hastalık semptomları gösteren insanlardan izole ettikleri suş Paterson tarafından *Listeria monocytogenes* olarak adlandırılmış, 1926 yılında İngiltere’de Muray laboratuvar tavşanlarında görülen ve monositozla karakterize olan bir enfeksiyonda hayvanların karaciğerlerinden izole edilen bakteriye *Bacterium monocytogenes* adını vermiştir (4).

Pirie 1927 yılında Güney Afrika’da Tiger River bölgesinde “*Tatera lobengulae*” isimli bir gerbilin karaciğerinden izole ettiği bakteriyi *Listerella hepatolytica* olarak adlandırmış, bir yıl sonra ise izole ettiği bakterinin daha önce 1926 yılında Murray’ın izole ettiği *Bacterium monocytogenes*’e çok benzemesi nedeniyle Güney Afrika Araştırma Enstitüsü Başkanı olan Dr. Spencer Lister’in onuruna “*Listerella*” olarak adlandırmıştır (3, 4 - 8).

Gill (9), 1937 yılında Yeni Zelenda’da koyunlarda ensefalitis ile seyreden ve “*Circling Disease*” olarak adlandırılan hastalıkta infekte hayvanlardan izole ettiği etkeni *Listerella ovis* olarak adlandırmıştır. Etken 1949 yılında yapılan taksonomi çalışmaları ile “*Listeria*” olarak adlandırılmıştır (6, 9, 10).

2.2 TAKSONOMİ

Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology’nin 1986 baskısında *Listeria* cinsine *Lactobacillus*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Brochothrix*, *Renibacterium*, *Kurthia*, *Caryophanon* ile birlikte “Düzenli, Sporsuz, Gram Pozitif Çomaklar” bölümünde yer verilmiştir (11 - 14). *L. monocytogenes*, 1961 yılına kadar *Listeria* cinsi içerisinde bilinen tek tür olması yanında, uzun süre taksonomik çalışmalarda *Listeria* cinsinin

yerinin belirlenmesi problem olmuştur (6). *L. Denitrificans* 1961 yılında, *L.grayi* 1966'da, *L. Murrayi* 1971'de, *L.innocua* 1979'da, *L. welshimeri* ve *L. Seeligeri* 1983'de, *L. ivanovii* 1984'de *Listeria* cinsine dahil edilmiştir (12, 15).

L. denitrificans 1987 yılında biyokimyasal, fenotipik ve DNA yapısı yönünden *Listeria* cinsinden farklılıklar göstermesi nedeniyle (*Listeria* cinsi içerisindeki türlerde Guanin-Sitozin % mol oranı 36.8-39.9 iken, *L. denitrificans*'da bu oran 58-59'dur) *Jonesia* cinsi içerisinde *J.denitrificans* olarak adlandırılmıştır (12, 13, 16, 17).

DNA-DNA hibridizasyon, multilokus enzim analizi ve 16 S rRNA sekansı katologlama, biyokimyasal analizler, DNA homolojileri ve diğer fenotipik, fizyolojik özelliklerine göre *Listeria*'lar iki gruba ayrılmaktadır: İlk grup *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri* ve *L. seeligeri*; ikinci grup ise *L. grayi*, *L. grayi* subsp. *murrayi*, *L. grayi* subsp. *grayi* türlerinden oluşmaktadır. *L. murrayi*, *L. grayi* türü içerisinde değerlendirilmektedir (6, 13 - 15).

2.3 KOLONİ ÖZELLİKLERİ

Listeria cinsi içerisinde bulunan türler gram pozitif, düzgün, tek tek veya çok kısa zincirler halinde, 0.4 - 0.5 µm eninde, 0.7 - 2.0 µm boyunda küçük çomak biçiminde uçları yuvarlak bakterilerdir. Buyyon kültürlerinden veya katı besiyerlerinden hazırlanan preparatlarda V, Y şeklinde yada kısa zincirler halinde görülmektedirler (11). Bu nedenle Streptokok ve Diplokoklarla karıştırılırlar.

Listeria'lar 1 - 45 °C'ler arasında geniş bir aralıkta üreme özelliğine sahip olmalarına karşın, optimal üreme ısısı genellikle 30 - 37 °C'ler arasındadır. Üreme ısısı flagella formasyonunu etkilemektedir. 20-28 °C'ler arasında inkube edilmeleri halinde 1 - 5 adet peritrik flagella yardımı ile hareket ederler. Fakat 37 °C'de inkube edildiklerinde flagella oluşumunun zayıf olması nedeniyle genellikle hareketsiz veya nadiren hareketli olabilirler (10, 11, 13, 17). *Listeria* türlerinin 18-24 saatlik buyyon kültürlerinden hazırlanan asılı damla preparatlarında tipik sıçrama hareketi "tumbling motility" gözlenir (10).

Listeria türleri Semisolid Motility Medium'a (SIM Medium) batırma tarzında ekilir ve 20-25 °C'de inkubasyona bırakılırsa ekim hattından çevreye doğru radial tarzda bir bulanık oluşturur ve yüzeyin 3-5 mm altında "şemsiye veya tersine çam ağacı görüntüsü" şeklinde bir üreme bölgesi gözlenir. Bu şekilde yüzeyin 3 - 5 mm altından

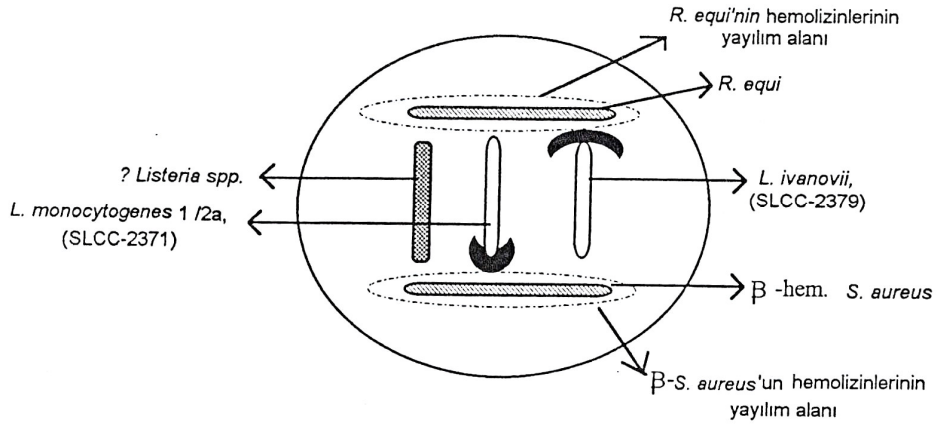
içe doğru üreme göstermeleri bu bakterilerin mikroaerofilik olmalarından kaynaklanmaktadır.

Kanlı agarda 24-48 saatlik inkubasyon sonucunda 0.5-1 mm çapında, yuvarlak, çiğ damlası şeklinde, şeffaf, etrafı belirgin ve hafif kabarık koloniler oluştururlar (11, 17). Tryptic Soy Agar'da (TSA) üreyen *Listeria*'lar 18-24 saatlik inkubasyon sonunda koloni mikroskopunda 45°'lik açı ile gelen ışıkla alttan aydınlatıldığında (Henry İlluminasyon Tekniği), smooth (S) koloniler ve yüzeyde çok ince gözenekli bir yapı ile birlikte karakteristik mavi-yeşil röfle verirler. Normal ışıkla incelendiğinde mavimsi-gri renkte görünürler (6, 11).

Genel besiyerlerine % 0.5 oranında glikoz katıldığında üreme hızlanır Ayrıca glukozu gaz oluşturmadan laktik aside kadar parçalayarak karakteristik "taze ayran kokusu"na benzer bir koku meydana getirirler. Glukozun yanısıra sorbitol, trehaloz, amigdalin, selobioz, fruktoz, mannoz, maltoz ve salisin'i de fermente ederler. Eskülin ve sodyum hippurat'ı hidrolize ederler (10).

Taze kültürlerden alınan koloniler yapışkanlık gösterirken, fizyolojik tuzlu su içerisinde kolay emülsifiye olurlar. Metil Red (MR) ve Voges-Proskauer (VP) testleri pozitifdir.

Üre, jelatin, kazein ve sütü hidrolize etmezler. *L. monocytogenes* suşları penisilin veya glisin içeren ortamlarda üretilirse L-formları meydana gelmektedir (11). *L. monocytogenes*, *L. İvanovii* ve *L. seeligeri* kanlı agarda beta-hemoliz oluştururlar. Hemolitik aktivitenin araştırılmasında CAMP (Christie Atkins ve Munch-Peterson) testi kullanılır. CAMP testi *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* için *Staphylococcus aureus* ile *L. ivanovii* için *Rhodococcus equi* ile yapılır. *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* suşları β - hemolitik *Staphylococcus aureus* ile sinerjik hemoliz alanı olarak yuvarlak "ok başı" şeklini oluşturur iken (pozitif CAMP testi), *L. ivanovii*'nin *R. equi* ile oluşturduğu hemoliz alanı daha yayvan şekildedir (negatif CAMP testi) (11, 13, 18). CAMP testinde kolonilerinin kanlı agara ekimi Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 CAMP testinde kolonilerinin kanlı agara ekimi (18).

CAMP testi ile aynı zamanda hemoliz aktivitesi güçlendirilmektedir. Bazı koyun kanları *L. monocytogenes*'e karşı antikor içerebileceğinden CAMP testinde yıkanmış koyun kanı kullanılması önerilmektedir (11, 17). *Listeria* türlerinin CAMP testine göre ayrımı Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1 *Listeria* türlerinin CAMP testine göre ayrımı (18).

<i>Listeria</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Rhodococcus equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	-
<i>L. ivanovii</i>	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-

2.4 İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON

Hayvansal gıdalardan köken alan sporadik ve epidemik olgularda *L. monocytogenes*'in sıkça izole edilmesi daha hızlı ve seçici izolasyon yöntemlerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır.

Son yıllarda *Listeria* türlerinin dirençli olduğu diğer bakterilerin ise gelişmesini sınırlayan antibiyotikleri içeren besiyerleri geliştirilmiştir. Bu besiyerlerinin başlıcaları; *Listeria* Enrichment Broth (LEB), Fraser Broth (FB), *Listeria* Test Broth (LTB), University Of Vermont Medium (UVM), FDA Broth, Triptaflavin-Nalidik Asit-Serum Agar, Lityum Klorür-Feniletanol Moksalaktam Agar (LPM), Oxford Agar (OXA), Modifiye Oxford Agar (MOX), Akriflavin Seftazidim Agar (ASA), Lityum Klorür Seftazidim Agar (LSA), Polimiksin - Akriflavin - Lityumklorid - Seftazidim, Eskülin - Mannitol Agar (PALCAM), L - PALCAM, Al-Zoreky - Sandin *Listeria* Medium, CHROMagar *Listeria*'dır. Selektif zenginleştirme besiyerlerinde genellikle gram negatif bakterilerin inhibisyonu amacıyla nalidiksik asit ve akriflavin kullanılmaktadır (12).

Listeriozis olgularının artmasıyla pek çok ülkede resmi kuruluşlar konu ile ilgilenmeye başlamıştır. Food Safety and Infection Service (FSIS), United States Department of Agriculture (USDA), Food and Drug Administration (FDA), Department of Health and Human Services (DHHS), International Dairy Federation (IDF) isimli kurumlar *Listeria* spp. izolasyonuna yönelik yöntemler geliştirmişlerdir (19, 20).

Bazı çalışmalarda USDA yönteminin (21, 22); klinik materyallerden *L. monocytogenes* izolasyonunda IDF yönteminin; son yıllarda yapılan çalışmalarda ise ön zenginleştirme ve akabinde selektif besiyerlerinden izolasyonun önerildiği FDA yönteminin daha etkin ve seçici olduğu belirtilmektedir (23).

Jensen (24), insan dışkılarında *L. monocytogenes* izolasyonu için içerisinde 50 mg/l ceftazidime ve 0.05 g/l eskülin bulunan sıvı L-PALCAM besiyerinde 35 °C'de 24 saat inkubasyon ardından ise PALCAM besiyerine geçilmesinin izolasyon şansını artırdığını bildirmektedir.

Listeria spp. izolasyonu amacıyla, steril bölgelerden alınan örneklerden % 5 koyun, at yada tavşan kanı içeren agara doğrudan ekim yapılabilirken steril olmayan klinik örnekler, kontamine gıda ve çevreden alınan örneklerden *Listeria* spp. izolasyonunda önce selektif zenginleştirme yapılmalıdır. Steril olmayan örneklerden yapılan *Listeria*

spp. izolasyonu, nonselektif bir buyyonda 2 ay yada daha fazla süreyle soğukta zenginleştirme (+4 °C) işlemi uygulandıktan sonra selektif bir agara ekimi şeklinde yapılmaktadır (12).

Listeria kolonileri eskülin içeren besiyerlerinde siyah haleli olarak üremektedirler. Triptoz Agar, McBride Agar, Triflavin - Nalidik Asit - Serum Agar besiyerlerinde Henry İlluminasyon Tekniği ile yapılan incelemede koloniler alttan aydınlatıldığında parlak mavi-yeşil renkte; Akriflavin Seftazidim Agar'da şeffaf sarı renkte; Lityumklorür - Feniletanol Moksalaktam Agar'da kırılmış cam görüntüsünde beyaz kümeler halinde; Oxford Agar'da siyah haleli siyah koloniler halinde; Modifiye Oxford Agar'da siyah zeminde beyaz; PALCAM Agar'da pembe zemin üzerinde siyah haleli yeşil; Al-Zoreky-Sandin *Listeria* Medium'da siyah zeminde koyu yeşil renkli koloniler *Listeria* spp. şüpheli olarak değerlendirilir (10).

Şüpheli olarak belirlenen kolonilere Gram boyama yapılır. Boyama sonucunda Gram pozitif, düzgün, yuvarlak uçlu, sporsuz, çomak şekilli bakterilere katalaz testi uygulanır (10).

Hareket muayenesi için SIM Medium'a yapılan ekim sonucu bulanıklık ve yüzeyin 3-5 mm altında tipik şemsiye tarzında (tersine çam ağacı görüntüsü) üreme görülmesi pozitif değerlendirilir (10).

Nitrat, D-ksiloz, mannitol, β - hemoliz, eskülin, Metil Red, Voges Proskauer ve CAMP testleri uygulanarak identifikasyon yapılır (25). *Listeria* türlerinin ayırıcı tanısı Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2 *Listeria* türlerinin ayırıcı tanısı (11).

Ayırıcı Tam Kriterleri		<i>Listeria</i> spp.						
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivnovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayii</i>	<i>L. murrayi</i>
Hidroлизasyon	Eskülin	+	+	+	+	+	+	+
	Hippurat	+	+	+			-	-
	Jelatin	-	-	-	-	-	-	-
	Kazein	-	-	-	-	-	-	-
	Niřasta	d	-	d			-	-
	Selüloz	-	-	-			-	-
Asit Oluşumu	Arabinoz	-	-	-	?	?	-	-
	Dekstrin	d	-	-			+	+
	D-xylose	-	+	-	+	+	-	-
	Galaktoz	d	d	-	?	?	+	+
	Glukoz	+	+	+	+	+	+	+
	Laktoz	d	+	+	?	?	+	+
	D – Liksoz	-	-	-			-	-
	Mannitol	-	-	-	-	-	+	+
	Melezitoz	d	d	d			-	-
	Melebioz	-	-	-			-	+
	α – Methyl - D - Glukozid	+	+	+			+	+
	α – Methyl - D - Mannosidasid	+	-	+	+	-	-	-
	Ramnoz	+	-	d	d	-	-	d
	Salisin	+	+	+	+	+	+	+
	Sorbitol	d	-	-	?	?	-	-
Sükroz	-	d	d			-	-	
B – hemoliz oluřturma		+	+	-	-	+	-	-
CAMP testi (<i>Staphylococcus aureus</i>)		+	-	-	-	+	-	-
Metil Red		+	+	+	+	+	+	+
Voges Proskauer		+	+	+	+	+	+	+
Nitrat redüksiyonu		-	-	-	-	-	-	+
Fosfataz		+	+	+			+	+
Katalaz		+	+	+	+	+	+	+
Lesitinaz		d	+	d			-	-
Üre		-	-	-	-	-	-	-
Mol % G + C		37 - 39	37 - 38	36 - 38	36	36	41 - 42	41 - 42
Virulans (Fare testi)		+	+	-	-	-	-	-

Listeria türlerinin identifikasyonu amacıyla klasik biyokimyasal yöntemlerin yanı sıra geliştirilen yeni testler tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Tablo 2.3 *Listeria* türlerinin identifikasyonunda kullanılan alternatif testler (26 - 30).

Test Adı	Çalışma Tekniği	Test Süresi (saat)	Üretici Firma
AccuProbe™	Nükleik Asid Hibridizasyonu	18-48	Gen-Probe
API Test	Biyokimyasal Reaksiyonlar	18-24	BioMerieux
Assurance Listeria EIA	Enzim İmmunoassay	50	BioControl
BAX	Polimeraz Zincir Reaksiyonu	45	Qualicon
Chromogenic Listeria	Kültür	42-66	Biomedix
Dynabeads anti- <i>Listeria</i>	İmmunomanyetik Separasyon	48	Dynal
EIAFoss <i>Listeria</i>	ELISA ve IA Kombinasyonu	48	Foss North America
GeneTrak	Nükleik Asid Hibridizasyonu	48	Neogen Corp.
ISO-GRID	Membran Filtrasyon	24	Neogen Corp.
Listeria Rapid Test	Enzim İmmunoassay	42	Oxoid
Listeria-Tek™	ELISA	48	Organon Teknika
Lister Test™	İmmunomanyetik Separasyon	24	Vicam
Mikrobact 12 L	Biyokimyasal Reaksiyonlar	4-24	BioControl Systems
MICRO-ID Listeria	Lateks Aglutinasyon	24	Remel
Probelia PCR System	Polimeraz Zincir Reaksiyonu	30	BioControl Systems
Reveal® for <i>Listeria</i>	ELISA (Sandwich)	48	Neogen Corp.
TECRA VIA	ELISA	48	Inter. BioProducts
Transia Plate	ELISA	48	Diffchamb
VIDAS LIS	Enzim Linked Floresan Assay	48	BioMerieux
VIP for Listeria	Visual Immunopresipitasyon	48	BioControl Systems
Pathalert	ELISA	48	Merck
Listeria ID	Biyokimyasal Reaksiyonlar	48	Microgen

2.5 MICROBACT 12 L İDENTİFİKASYON SİSTEMİ

Bu test; 11 farklı şeker ve bir hemoliz test kuyucuğundan oluşan mikro-substrat sistemi ile *Listeria* spp. identifikasyonunu gerçekleştirir. Test kiti ile tek bir koloni 18-24 saat inkübe edilerek kullanılabilceği gibi, inokulum 0.5 MacFarland'a ayarlandığında 4 saatlik hızlı test kiti olarak da kullanılabilir.

İnkübasyon sonrası kuyucuklarda oluşan renk değişimi kontrol kartına işlenerek elde edilen dört basamaklı kod özel bilgisayar programına girilir ve testi yapılan koloninin *Listeria* spp.'den hangisine ait olduğu program tarafından yüzde olarak verilir (28).

Testin güvenilirliği 4 saatlik inkübasyon sonrası % 92 iken 24 saatlik inkübasyon sonrası ise % 100 olduğu belirtilmektedir (28).

Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi reaksiyon tablosu Tablo 2.4'de Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi veri tablosu Tablo 2.5'de gösterilmiştir.

API *Listeria* Test Kiti'nde ise bir strip üzerinde aynı anda 10 adet biyokimyasal test yapılmakta ve 18-24 saat içerisinde *Listeria* spp. ayrımı gerçekleştirilmektedir. Testte hemoliz gibi ek testlere ihtiyaç duyulmamaktadır (31).

Tablo 2.4 Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi reaksiyon tablosu (28).

Kuyucuk No	Substrat	Reaksiyon	Reaksiyon sonucu		Yorum
			Negatif	Pozitif	
1	Esculin	Esculin hidrolizi	Sarı	Siyah	
2	Mannitol	Spesifik şekerlerin kullanımı asit özelliği taşıyan son ürünlerin oluşmasına neden olur.	Mor	Sarı	Bromcreosol purple indikatörü asitli ortamda renk değiştirir. ÖNEMLİ : 4 saatlik inkübasyonun ardından pozitif reaksiyon pozitif sarıya geçiş gösteren kahverengi/saman sarısı renk sergileyebilir.
3	Xylose		Mor	Sarı	
4	Arabitol		Mor	Sarı	
5	Ribose		Mor	Sarı	
6	Rhamnose		Mor	Sarı	
7	Trehalose		Mor	Sarı	
8	Tagatose		Mor	Sarı	
9	Glucose-1-Phosphate		Mor	Sarı	
10	Methyl-D-Glucose		Mor	Sarı	
11	Methyl-D-Mannose		Mor	Sarı	
12	Hemoliz	Kırmızı kan hücrelerinin hemolizi	Kırmızı hücre	Kahverengi	Hemoliz varsa, kahverengi renk değişimi ile sonuçlanan kırmızı hücre hemolizi gerçekleşir. Hemoliz yoksa kırmızı hücreler kuyucuğun dibine çökerek kırmızı bir tortu oluşturur.

Tablo 2.5 Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi veri tablosu (28).

	Esculin	Mannitol	Xylose	Arabitol	Ribose	Rhamnose	Trehalose	Tagatose	Glucose-1-Phosphate	Methyl-D-Glucose	Methyl-D-Mannose	Haemolysis
<i>L. monocytogenes</i>	100	0.1	0.1	97	0.1	98	98	0.1	3	99.9	98	95
<i>L. innocua</i>	100	0.1	1	99.9	0.1	70	70	0.1	0.1	99.9	99.9	0.1
<i>L. ivanovii</i>	100	0.1	95	99.9	40	5	5	0.1	91	95	0.1	90
<i>L. seeligeri</i>	100	0.1	99.9	99	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	99.9	5	93
<i>L. welshimeri</i>	100	0.1	91	99.9	0.1	85	85	91	0.1	98	95	0.1
<i>L. grayi</i>	100	97	0.1	99.9	99.9	0.1	0.1	0.1	0.1	30	94	0.1

2.6 BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER

Listeria türleri glukoz, sorbitol, trehaloz, selobioz, amigdalin, fruktoz, mannoz, maltoz ve salisini gaz oluşturmada fermente ederler. Katalaz, Metil Red, Voges-Proskauer reaksiyonları ile eskulin ve hippurat hidrolizasyon testleri pozitif, oksidaz, üre, jelatin, kazein ve süt hidrolizasyon testleri negatiftir. Jelatini hidrolize etmezler. Ancak bu biyokimyasal özellikler, tam bir standardizasyon göstermemekte ve suşlar arasında değişiklikler görülmektedir (11, 17).

Arginin, histidin, metiyonin, ve triptofan gibi aminoasitler *Listeria* türlerinin üremesini stimüle ederler. *Listeria*'lar üremek için başta glukoz olmak üzere bazı karbohidratlara ihtiyaç duyarlar. *L. monocytogenes* üreme sırasında karbon kaynağı olarak glukoz, ksiloz, arabinoz, riboz'u kullanmamasına karşın *L. innocua*, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* ksilozu fermente ederek asit oluşturmakta ve karbon kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Besiyerlerinde uygun konsantrasyonlarda bulunan demirin, *Listeria*'lar üzerinde üremeyi stimüle edici etkisi bulunmaktadır (11, 18).

Listeria'lar flagellaya sahip olduklarından hem flagellar (H) antijeni ve hem de somatik (O) antijenine göre gruplara ayrılmışlardır (32).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin son baskısındaki antijenik şemada 16 serovar tanımlanmıştır (11). Seeliger, Jones ve Rocourt'a göre *L. grayi* ve *L. murrayi*'nin serolojik açıdan *Listeria* cinsinden farklı olarak kendi aralarında birbirleri ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (8, 15, 17).

Yapılan araştırmalarda *Listeria*'larda plazmid varlığı da saptanmıştır. Kolstad ve ark. (33) tavuk eti, peynir, sosis ve insanlardan yaptıkları çalışmada 139 *Listeria* spp. izole etmişler; 107 suşta ekstrakromozomal DNA ve 51 adet plazmid izole etmişlerdir

Listeria spp. için litik özellik gösteren fajlar göz önünde bulundurularak faj tiplendirme sistemi geliştirilmiştir. *Listeria* spp. "listeriozin veya monosin" adlı maddeler salgılayabilirler. Monosin kolisin benzeri olup antibiyotik etkilidir ve tripsine dayanıklıdır. *Listeria*'lar Gram (+) mikroorganizmalarda bulunan Ranz Antijenine de sahiptirler ve bir çok mikroorganizma ile antijenik ilişkileri nedeni ile çarpaz reaksiyonlar şekillenmektedir (34).

2.7 PATOJENİTE

Listeria monocytogenes insan ve hayvanlarda, *L. ivanovii* ise özellikle gebe koyunlar başta olmak üzere hayvanlarda patojen, diğer türler ise apatojendir (6, 11 - 13).

Listeria spp. patojen olan türleri bağırsak mukozasına yerleşerek listeriolizin isimli bir hemolizin salgılayarak karaciğer ve dalak makrofajlarında çoğalırlar. Virülent suşları avirülent suşlardan ayıran en önemli özelliklerden biri intraselüler olarak makrofajlar ve lökositler içerisinde yerleşebilmeleri ve canlı kalabilmeleridir (18).

Listeria spp. patojenitesini etkileyen virülens faktörler; demir konsantrasyonu, intraselüler üreme kapasitesi, süperoksit dismutaz enzim aktivitesi, katalaz, yüzey bileşikleri ve hemolizinlerdir (35).

Hemolizinler *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* için virülens etki bakımından önem taşıyor ve α ile β listeriosin olmak üzere ikiye ayrılır. Hemolizinler bağırsak mukozasına yerleşme aşamasında bağırsak hareketlerini yavaşlatarak olumlu etkide bulunması yanı sıra gebelikte uterus kasına etki ederek premature doğumlara neden olur. Listeriosinler eritrosit ve lizozimleri parçalarlar (36).

Demir konsantrasyonunda *Listeria*'ların virülensini etkilemektedir. Düşük demir konsantrasyonu listeriosin sentezini artırmaktadır. Demir içeren preparatlar verilen farelere yapılan *L. monocytogenes* inokülasyonlarında yapılan incelemeler sonucu deneme fareleri dokularında kontrol grubuna göre daha fazla bakteri bulunduğu belirlenmiştir (37).

İnsan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturan *Listeria* spp. klinik materyallerin yanı sıra dışkılarından da izole edilmiştir. İnsan ve hayvanlar sağlıklı görünseler dahi etkeni dışkı ile çevreye saçmakta ve portör görevi görmektedirler (3).

Epidemiyolojik araştırmalar ile *Listeria* spp.'nin neden olduğu salgınlarda et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, tavuk eti ve piyasada gıda talebine göre satılan farklı türlerde gıda maddesinde değişen oranlarda izole edilmiştir. Son yıllarda hayvansal kökenli gıda maddelerinde ve gıda kaynaklı Listeriozis olgularında et ve et ürünlerinde % 0 - 92, süt ve süt ürünlerinde % 0 - 87, tavuk eti ve ürünlerinde ise % 15 - 80 arasında değişen oranlarda *L. monocytogenes* izole edilmiştir (38 - 40).

Tavuklarda ilk izolasyon 1932 yılında New Jersey’de yapılmıştır (41). Tavuklarda Listeriozis tablosu genelde sporadik bazen ise epidemik seyretmekte olup mortalite % 0.5 ile % 40 arasındadır. Gençler hastalara oranla hastalığa daha duyarlıdır (3, 41).

Tavuklarda hastalık visseral organları tutan septisemi ve merkezi sinir sistemini tutan ensefalitis olmak üzere iki şekilde seyretmektedir. Septisemik olarak seyreden tabloda lezyonlar karaciğer, dalak, kalp, akciğer ve beyinde gözlenir. Karaciğerde fokal nekroz odakları, dalakta büyüme ve nekroz, kalpte miyokardiyal dejenerasyonlar, büyüme, gri renkte nekrozlar ve perikardial boşlukta sıvı toplanması, splenomegali, nefritis, peritonitis, pulmoner ödem, enteritis, konjunktivitis gözlenmektedir. Ensefalik olarak seyreden tabloda ise merkezi sinir sistemi hasarları izlenmekte ve en önemli semptom olarak tortikollis gözlenmektedir (42).

Etken tavuklara kontamine toprak, dışkı, ölü hayvanların atıkları ile kirlenmiş gıdaların yenmesi ile bulaşır. Etken Newcastle, Tavuk Vebası gibi viral, koksidiyozis, nematod enfestasyonları, ektoparaziter invazyonlar gibi paraziter, salmonellozis ve İnfeksiyöz Koriza gibi bazı bakteriyel hastalıklarda sekonder patojen olarak rol almaktadır. Ayrıca marek, IBD gibi immunsupresif hastalıklarda da sekonder olarak gözlenmektedir (3, 42).

Tavuklarda *Listeria* spp. normal olarak bağırsak florasında bulunmaktadır. Bu nedenle tavuklar portör olarak etkeni dışkıları ile çevreye saçmaktadırlar. Son yıllardaki verilere göre *Listeria* spp.’nin tavuk eti ve ürünlerinde fazlaca rastlanması bu konuda araştırmaların yapılmasını gündeme getirmiştir.

Cooper ve ark. (43), 4-6 haftalık broiler sürüsünden yaptıkları izolasyon ve identifikasyonda *L. monocytogenes* serotip 4b izole etmişlerdir.

Kwantes ve Isaac (44), 64 adet donmuş tavuk örneğinden 41 adet, 38 adet taze tavuk örneğinden ise 19 adet *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.

Gitter (45), toplam 62 adet tavuk (56 dondurulmuş, 6 taze) örneğinden 60 adet *L. monocytogenes*, 28 adet *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. innocua* izole etmiş, *L. monocytogenes* suşlarının serotip 1\2, 3a, 3b, 3c, 4b, 4d grubu olduklarını bildirmiştir.

Burrow ve ark. (46), yumurtalarda % 68, kümes hayvanları gaitalarında % 82 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Kerr ve ark. (47), dondurulmuş tavuk ürünlerinden 27 adet *L. monocytogenes*, 29 adet *L. seeligeri* ve *L. innocua* izole etmişlerdir.

Eld ve ark. (23), iki yıl süre ile Listeriozis'ten şüpheli ölen 68 adet hayvanın otopsi materyallerinden sıcak zenginleştirme yöntemi ile % 27.5, soğuk zenginleştirme yöntemi ile % 4.3 oranında *L. monocytogenes* izole ederek sıcak zenginleştirmenin daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

Bailey ve ark. (48), taze tavuk karkaslarından % 42.5 oranında *Listeria* spp. izole etmişler, aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında ise, % 38 oranında *Listeria* spp. izole ettiklerini ve izolatların % 23'ünün *L. monocytogenes* serotip 1\2b ve serotip 1\2c olduğunu bildirmişlerdir.

Genigeorgis ve ark. (49), 160 adet tavuk eti örneğinde % 40.6 oranında *Listeria* spp. izole etmişler bunların ise % 13.1'inin *L. monocytogenes*, % 26.3'ünün *L. innocua*, % 1.3'ünün ise *L. welshimeri* olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar tavuk karaciğerinden % 33.3, but derisinden % 36.7, kanat derisinden % 70 oranında *L. monocytogenes* izole etmişler, örneklerin + 4 °C'de 4 gün bekletilmesi sonucu yapılan taramada ise izolasyon oranının sırasıyla % 40, % 52 ve % 72 olduğunu bildirmişlerdir.

Skovgaard ve Morgen (50), tavuk gaita örneklerinden % 33, boyun derisinden % 47 oranında *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.

Japonya'da Iida ve ark. (51), tavuk bağırsak içeriklerinden *L. monocytogenes* izole edemediklerini, 6 adet *L. innocua*, 1 adet *L. welshimeri* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Wong ve ark. (52), Tayvan'da tavuk etlerinden % 28.9 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini ve suşların % 28'inin serotip 1\2a grubu olduğunu bildirmişlerdir.

Ojeniye ve ark. (53), brolier kesimhanesinden aldıkları 236 adet sekal örnekten % 4.7 oranında *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.

Schönberg ve ark. (54), Almanya'da 100 adet tavuk karkas örneğinden % 85 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini ve serotip dağılımının 66 adet 1\2a, 3 adet 1\2b, 7 adet 1\2c, 3 adet 3a, 1 adet 4a, 3 adet 4b, 4 adet 4d olduğunu bildirmişlerdir.

Varabiof (55), Avustralya'da 80 adet dondurulmuş tavuk karkasından % 15 oranında *L. monocytogenes* izole etmiş, izolatların serotip dağılımının ise 9 adet serotip-1, 3 adet serotip-4 olduğunu bildirmiştir.

Rijpens ve ark. (56), Polimer Chain Reaction (PCR) metodunu kullanarak yaptıkları araştırmada tavuk eti ürünlerinden hazırlanan gıda maddelerinde % 35.5 oranında *Listeria* spp. pozitif bulmuşlar ve paketlenmiş ürünlerde kontaminasyon oranının (% 11.1) paketlenmemiş ürünlerden (% 41.7) daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Capita ve ark. (57), tavuk etlerinde *Listeria* spp. izolasyonu amacıyla iki zenginleştirme buyyonu (UVM II, Fraser Broth) ile iki selektif agarı (PALCAM, Modifiye Oxford Agar) kullanmışlar ve bu besiyerlerinin karşılaştırmasını yapmışlardır. Buna göre: PALCAM besiyerinin Modifiye Oxford Agar'a oranla çiğ kanatlı etlerinde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* izolasyonu amacıyla daha uygun ve etkili olduğu, zenginleştirme buyyonlarının (UVM II ve Fraser Broth) her ikisinin de bu amaçla eşit derecede etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Art ve ark. (58), 391 adet farklı gıda örneğinde *L. monocytogenes* izolasyonu amacıyla üç adet selektif besiyerini (nalidiksik asit ilave edilmiş kanlı agar, PALCAM agar, *Listeria* selektif agar) karşılaştırmışlar; *L. monocytogenes*'i sırasıyla % 8.43, % 8.43, % 8.18 oranında izole etmişler ve gıda örneklerinden *Listeria* izolasyonu için Oxford agar ve PALCAM agarın kanlı agara göre daha selektif olduğunu bildirmişlerdir.

Dijkstra (59), süt ineği işletmesinde meydana gelen ensefalitis olgusunda izole ettiği *L. monocytogenes* serotip-4b'nin broiler kümes artıklarında % 4.1 oranında bulunduğunu yaptığı araştırmalar ile ortaya çıkartmış ve kümes altlıklarının sığırlar için altlık olarak kullanılmasının tehlikeli olduğunu bildirmiştir.

Dünyada *Listeria* spp.'nin izolasyonuna yönelik araştırmaların artmasına paralel olarak ülkemizde de pek çok araştırmacı konu üzerine eğilmeye başlamıştır.

Taştan (18), 50 adet tavuk bağırsak içeriği, 54 adet tavuk iç organı, 50 adet kümes altlığı örneğinde yaptığı araştırmada 14 adet (% 9.09) *L. monocytogenes*, 8 adet (% 5.19) oranında *L. murrayi*, 6 adet (% 3.89) oranında *L. innocua*, 5 adet (% 3.24) *L. welshimeri*, 2 adet (% 1.29) *L. grayi* olmak üzere 35 adet (% 22.72) *Listeria* spp. tanımlenmiş, *L. monocytogenes*'in 9 adetinin (% 64.28) serotip-1, 5 adetinin (%35.71) ise serotip-4 olduğunu bildirmiştir.

Şireli ve ark. (26), Ankara'da tavuk kıyma, köfte ve burger örneklerinin sırasıyla % 85, % 83.3, % 40 oranında *Listeria* spp. ile kontamine olduğunu örneklerdeki *L. monocytogenes* oranının ise sırasıyla % 35, % 20, % 26.6 olduğunu bildirmişlerdir.

Çiftçioğlu ve Uğur (60), İstanbul'da 100 adet tavuk eti örneğinden LSA besiyerinde % 3 oranında *L. monocytogenes*, % 14 oranında *L. innocua*, PALCAM Agar besiyerinde % 3 oranında *L. monocytogenes*, % 14 oranında *L. innocua* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Erol ve ark. (61), 30'ar adet taze piliç parça etleri ve yenilebilir iç organlarından oluşan 120 örnekte yaptıkları çalışmada taze piliç parça etlerinin % 90 oranında yenilebilir iç organ örneklerinin ise % 46.6 oranında *Listeria* spp. ile kontamine olduğunu saptamışlardır.

Arslan (62), Elazığ'da tavuk karkaslarından % 8 oranında *L. monocytogenes* izole ettiğini bildirmiştir.

Güven ve ark. (63), Elazığ ilinde tüketime sunulan kıyma, sucuk, tavuk eti ve parça et örneklerinde *Listeria* türlerini araştırmışlar ve sırasıyla % 35, % 16.3, % 3.5, % 28.6 oranında *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu saptamışlardır.

Erol ve ark. (64), 50 adet donmuş broiler karkas örneğinin % 94'ünün *Listeria* spp. ile kontamine olduğunu saptamışlardır. İdentifiye edilen türler arasında % 90 ile *L. innocua* predominant olarak bulunurken, bunu sırasıyla % 30 ile *L. monocytogenes*, %8 *L. welshimeri*, %2 *L. grayi*, %2 *L. murrayi*'nin izlediğini saptamışlardır.

Akman (65), 160 adet kanatlı serumunda yaptığı aglütinasyon testi sonucu 1 adetinin (%0.62) *L. monocytogenes* yönünden pozitif sonuç verdiğini bildirmiştir.

Listeria spp. identifikasyonu amacıyla geliştirilen kitler içerisinde API ve Mikrobact 12 L isimli kitler fiyat, kullanım kolaylığı ve güvenilirliği açısından öne çıkmaktadır.

Bille ve ark. (31), 646 adet *Listeria* spp. izolatının API Listeria Kiti kullanarak % 85'inin tür ayrımını gerçekleştirmişler ve 258 adet *L. monocytogenes* suşunun 252'sini (% 97.7) ve 176 adet *L. innocua* suşunun 175'ini (% 99.4) doğru olarak identifiye ettiklerini bildirmişlerdir.

Sorin ve ark. (66), API ve Mikrobact Kitlerini kullanarak yaptıkları karşılaştırmalı çalışmada API kitinin % 94, Mikrobact kitinin ise % 99 doğrulukla sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Cantoni ve ark. (67), Mikrobact Listeria Test Kitini kullanıldığı çalışmasında kitin kullanımı basit ve güvenilir bulunmuştur. Bonardi ve ark. (68), İtalya'da mezbahalarda *Listeria* spp. yaygınlığını araştırmışlar ve identifikasyon

amacıyla Mikrobact 12 L İdentifikasyon Sistemini kullandıklarını ve güvenilir sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 GEREÇ

3.1.1 Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada, Gemlik Garnizonundaki askeri birliklerde tüketime sunulan -18 °C'de dondurulmuş-poşetlenmiş tavuk karkasları ve bu karkasların hazırlanması sırasında kesimhanelerden alınan bağırsak içerikleri araştırma materyali olarak kullanıldı.

Çalışma kapsamında 01 Ekim 2004 - 30 Mart 2005 tarihleri arasında 100 adet tavuk karkası ve kesimhanedeki tavuklardan 100 adet bağırsak içeriği alındı.

3.1.1.1 Karkas Örneklerinin Alınması

Soğuk hava depolarında (- 18 °C) muhafaza edilen tavuk karkasları, içerisinde buz aküleri bulunan termoslu kaplarla alınarak aseptik koşullarda laboratuvara getirildi. Karkas, ambalajı açılmadan çözündürme dolabına (+ 4 °C) alındı ve 18 saat çözünmeye bırakıldı. Çözünme sonrası steril ekim odasında karkasın orijinal plastik ambalajı çift

bek alevi arasında alkole batırılan pamukla silinerek steril pens, makas ve bistüri yardımı ile steril poşetlere 25 g miktarında alındı (18, 70, 71).

3.1.1.2 Bağırsak İçeriklerinin Alınması

Kesimhanede kesim bandına alınan tavukların karın boşluklarının boşaltılması aşamasında bağırsak içerikleri alınarak steril, ağzı kapaklı cam şişelere konuldu. Bağırsak içeriklerinin bulunduğu cam şişeler içerisinde buz aküleri bulunan termoslu kaplara alınarak aseptik koşullarda laboratuvara getirildi. Steril ekim odasında çift bek alevi arasında numune şişeleri açılarak steril pens, makas ve bistüri yardımı ile steril poşetlere 1 g miktarında alındı (18, 70, 71).

3.1.2 Besiyerleri

3.1.2.1 Buffered Listeria Selective Enrichment Broth (BLEB) (Oxoid-CM 897)

Besiyerinden 25 g alınarak 500 ml distile suda çözündürüldü ve pH 7.3 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk sterilize edildi. Bir vial Listeria Selective Enrichment Supplement (Oxoid-SR141) üzerine steril enjektör ile 2 ml steril distile su ilave edildi ve iyice çözünmesi sağlandı. Besiyeri $50-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğuduktan sonra üzerine hazırlanan supplement ilave edildi (72).

3.1.2.2 PALCAM Agar Base (Oxoid-CM 877)

Besiyerinden 34.5 g alınarak 500 ml distile suda çözündürüldü ve pH 7.0 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika sterilize edildi. Bir vial PALCAM Selective Supplement (Oxoid-SR150 E) üzerine steril enjektör ile 2 ml steril distile su ilave edildi ve iyice çözünmesi sağlandı. Besiyeri $50-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğuduktan sonra üzerine hazırlanan supplement ilave edildi. Daha sonra bir vial PALCAM Selective Supplement (Oxoid-SR150 B) üzerine steril enjektör ile 10 ml steril distile su ilave edildi ve iyice çözünmesi sağlandıktan sonra 0.2 vial besiyerine ilave edildi (72).

3.1.2.3 Blood Agar Base (BAB) (Oxoid-CM 854)

Besiyerinden 400 g alınarak 1000 ml distile suda çözüldürüldü ve pH 7.3 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 15 dk sterilize edildi. Besiyeri $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulduktan sonra 50 ml % 5 steril defibrine koyun kanı (Oxoid-SR 0051) ilave edilerek iyice karışması sağlandı (72).

3.1.2.4 Triple Sugar Iron Agar (TSIA) (Oxoid-CM 277)

Besiyerinden 65 g alınarak 1000 ml distile suda çözüldürüldü ve pH 7.4 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra steril tüplere 5 ml miktarında dağıtıldı. Otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk sterilize edildi. $50\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğuduktan sonra yatık agar şeklinde hazırlandı (72).

3.1.2.5 Urea Broth Base-Christensen Broth Base (Oxoid -CM 71)

Besiyerinden 0.9 g alınarak 95 ml distile suda çözüldürüldü ve pH 6.8 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra otoklavda $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dk sterilize edildi. Besiyeri $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğuduktan sonra 5 ml steril % 40 lık steril üre solüsyonu (Oxoid SR 20) besiyerine ilave edilerek iyice karışması sağlandı. Daha sonra steril tüplere 10 ml miktarında dağıtıldı (72).

3.1.2.6 Metil Red – Voges Proskauer Medium (MRVP) (Oxoid -CM 43)

Besiyerinden 15 g alınarak 1000 ml distile suda çözüldürüldü ve pH 7.5 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra steril tüplere 5 ml miktarında dağıtıldı. Otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk sterilize edildi (72).

3.1.2.7 Simmons Citrate Agar (SCA) (Oxoid -CM 155)

Besiyerinden 23 g alınarak 1000 ml distile suda çözüldürüldü ve pH 7.0 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra tüplere 5 ml miktarında dağıtıldı. Otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk

sterilize edildi. Besiyeri 50 °C'ye kadar soğuduktan sonra yatık agar şeklinde hazırlandı (72).

3.1.2.8 Nitrate Broth (NB) (Acumedia - 7321)

Besiyerinden 23 g alınarak 1000 ml distile suda çözündürüldü ve pH 7.0 ± 0.2 olarak ayarlandı. Daha sonra tüplere 9 ml miktarında dağıtıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildi (72).

3.1.2.9 Tryptic Soya Broth + Yeast Extract (TSB+YE) (Oxoid - CM 0129)

Besiyerinden 30 g alınarak 1000 ml distile suda çözündürüldü. Daha sonra 6 g Yeast Extract (Oxoid-L 0021) ilave edildi ve pH 7.3 ± 0.2 olarak ayarlandıktan sonra tüplere 9 ml miktarında dağıtıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildi. Besiyeri 50 °C'ye kadar soğuduktan sonra yatık agar şeklinde hazırlandı (69).

3.1.3 Ayıraçlar

3.1.3.1 Metil Red Ayıracı

Metil Red indikatöründen 0.1 g alınarak 300 ml % 95'lik etil alkol içerisinde çözündürüldü. Üzerine 200 ml distile su ilave edilerek iyice karışması sağlandı (69).

3.1.3.2 Voges-Proskauer Ayıracı

α -naphtol'dan 5 g alınarak 100 ml etil alkol içerisinde çözündürüldü (69).

3.1.3.3 KOH Çözeltisi

KOH'den 40 g alınarak 100 ml distile su içerisinde çözündürüldü (69).

3.1.3.4 Kovaks Ayıracı

Paradimetil aminobenzaldehit'den 5 g alınarak 70 ml isoamil alkolde çözüldürüldü. Daha sonra üzerine 25 ml HCl ilave edilerek iyice karışması sağlandı (69).

3.1.3.5 Katalaz Test Ayıracı

Hidrojen peroksit (H_2O_2) (% 30'luk)'den 3 ml alınarak 97 ml distile su ile iyice karıştırıldı (69).

3.1.3.6 Griess-Ilosvay ayıracı

Eşit miktarda % 0.5'lik α - naftilamin, % 0.5'lik asetik asit ve % 0.8'lik sülfanilik asit karıştırıldı (69).

3.1.3.7 Oksidaz Touch Sticks (Oxoid - BR 64)

3.1.3.8 Referens Suşlar

İzolasyon ve identifikasyon çalışmalarının her aşamasında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Rhodococcus equi* kürsü suşlarından yararlanıldı.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 İzolasyon Çalışmaları

3.2.1.1 Karkas Örneklerinden İzolasyon

Karkaslar ambalajı açılmadan çözündürme dolabında (+ 4 °C'de) kendi halinde 24 saat çözünmeye bırakıldı. Her bir örnek için ayrı steril eldiven kullanılarak karkasın orijinal

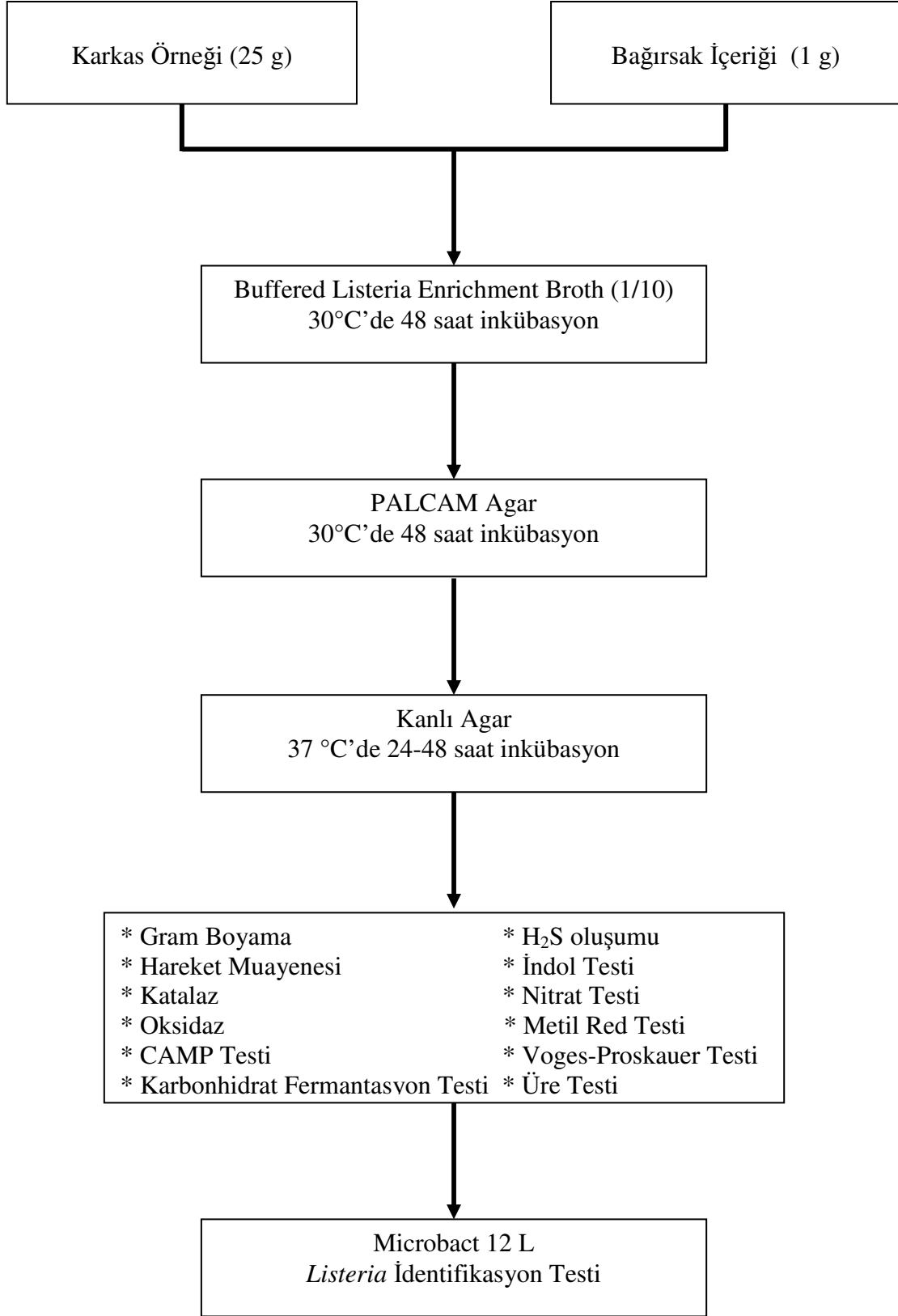
ambalajı alkole batırılan pamukla silindi ve steril pens, makas ve bistüri yardımı ile çift bek alevi altında stomacher torbasına 25 g miktarında alındı. Stomacher torbası içerisine 225 ml Buffered Listeria Selective Enrichment Broth ilave edildi ve stomachere yerleştirilerek orta hızda 5 dk karıştırıldı.

Stomacher torbası içerisindeki karışım 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kültürden tek kullanımlık öze ile çift bek alevi altında PALCAM Agar'a ekim yapıldı ve 35 °C'de 48 saat aerobik ortamda inkübasyona bırakıldı. PALCAM Agarda üreyen siyah haleli, küçük, kahverengi-siyah, kabarık, S-formlu koloniler şüpheli *Listeria* spp. olarak değerlendirildi (69). İzolasyon prosedürü Şekil 3.1'de gösterildi.

3.2.1.2 Bağırsak İçeriklerinden İzolasyon

Bağırsaklar aseptik koşullarda açılarak 1 gr miktarında içerik stomacher torbasına alındıktan sonra üzerine 10 ml Buffered Listeria Selective Enrichment Broth ilave edildi ve stomachere yerleştirilerek orta hızda 5 dk karıştırıldı.

Stomacher torbası içerisindeki karışım 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kültürden tek kullanımlık öze ile çift bek alevi altında PALCAM Agar'a ekim yapıldı ve 35 °C'de 48 saat aerobik ortamda inkübasyona bırakıldı. PALCAM Agarda üreyen siyah haleli, küçük, kahverengi-siyah, kabarık, S-formlu koloniler şüpheli *Listeria* spp. olarak değerlendirildi (69). İzolasyon prosedürü Şekil 3.1'de gösterildi.



Şekil 3.1 *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyon prosedürü (18)

3.2.2 İdentifikasyon Çalışmaları

PALCAM Agarda izole edilen *Listeria* spp. şüpheli kolonilerden kanlı agara tek koloni düşecek şekilde pasaj yapılarak petriyer 37 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı.

Bu aşamadan sonra kanlı agarda üreyen *Listeria* spp. yönünden şüpheli kolonilere Gram boyama, hareket muayenesi, katalaz, oksidaz, CAMP, karbonhidrat fermantasyon, H₂S oluşumu, indol, nitrat, Metil Red, Voges-Proskauer, üre testleri uygulanarak kolonilerin identifikasyonu yapıldı. Ayrıca Kanlı Agar’da üreyen şüpheli *Listeria* spp. kolonileri Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon test kiti ile değerlendirildi.

3.2.2.1 Koloni Morfolojisi

Kanlı agarda nonhemolitik veya dar bir hemoliz oluşturan S-formlu gri-beyaz koloniler şüpheli *Listeria* spp. olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.2 Gram Boyama

Kanlı Agarda üreyen şüpheli *Listeria* spp. kolonilerinden klasik yöntemlere göre Gram boyama yapılarak mavi-mor renkteki Gram (+) çomaklar pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.3 Hareket Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonileri TSB+YE ekildikten sonra 30 °C’de 18 saatlik kültürden bir öze dolusu lamele alınarak üzerine çukur lam kapatılıp mikroskopta tipik “takla atma hareketi” (tumbling motility) bulunup bulunmadığı incelendi. Yine TSB+YE’da üreyen kültürden iğne uçlu öze ile SIM Mediuma dik daldırma yöntemi ile ekim yapıldı, ekim hattından çevreye doğru homojen bir yayılma, opaklaşma ve yüzeyin altında “ters çam ağacı veya şemsiye” tarzı üremenin olup olmadığı incelendi. *Listeria* türlerinin SIM Medium’da üremesi Şekil 3.3’ de gösterilmiştir. (69).

3.2.2.4 Oksidaz Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinden öze ile alınıp Oksidaz Test Çubuğuna dokunduruldu. Mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.5 Katalaz Testi

Lam üzerine bir damla % 3'lük H₂O₂ çözeltisinden konularak şüpheli *Listeria* spp. kolonisi öze ile değdirildi. Kabarcık oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.6 H₂S Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültüründen bir öze dolusu alınarak TSIA besiyerine ekildi ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Gaz ve H₂S oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.7 Nitrat Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültüründen 0.1 ml alınarak Nitrat buyyona ilave edildi ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Kültür üzerine Griess-Ilosvay ayırıcı damlatıldı. Tüpün üst kısımda kırmızı renkte halka oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.8 Üre Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültüründen 1 ml alınarak üre broth'a ilave edildi ve 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Pembe renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.9 İndol Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültürü üzerine 0.5 ml Kovaks Ayracı ilave edildikten sonra tüpün üst kısmında kırmızı renkte halka oluşumu pozitif, sarı renkte halka oluşumu negatif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.10 Metil Red Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültüründen 0.1 ml MRVP medium'a ilave edildi ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 4 damla Metil Red ayırıcı damlatıldıktan sonra tüpte kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.11 Voges-Proskauer Testi

Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültüründen 0.1 ml MRVP medium'a ekildi ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 0.6 ml Voges-Proskauer ayırıcı ve 0.2 ml KOH solusyonu ilave edildikten sonra kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.12 CAMP Testi

Staphylococcus aureus ve *Rhodococcus equi* suşları % 5 lik koyun kanlı agar besiyerlerine karşılıklı olarak vertikal çizim şeklinde ekimleri yapıldı. Şüpheli kolonilerden bu ekim çizgilerine horizontal olarak ekim yapıldıktan sonra 37 °C'de 24 saat inkube edildi. *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* için *S. aureus* ile "ok başı" şeklinde sinerjistik hemoliz alanı oluşumu pozitif, *Rhodococcus equi* ile ise negatif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.13 Karbonhidrat Fermentasyon Testleri

Fenol red indikatörünün peptonlu su ile hazırlanan solüsyonu ile glukoz, laktoz, mannitol, ramnoz, ksiloz, salisin % 1'lik çözeltileri hazırlandı. Şüpheli *Listeria* spp. kolonisinin TSB+YE kültüründen bu çözeltilere 0.1 ml ilave edildikten sonra 37 °C'de 1-10 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonucu sarı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (69).

3.2.2.14 Microbact 12 L *Listeria* İdentifikasyon Test Kiti

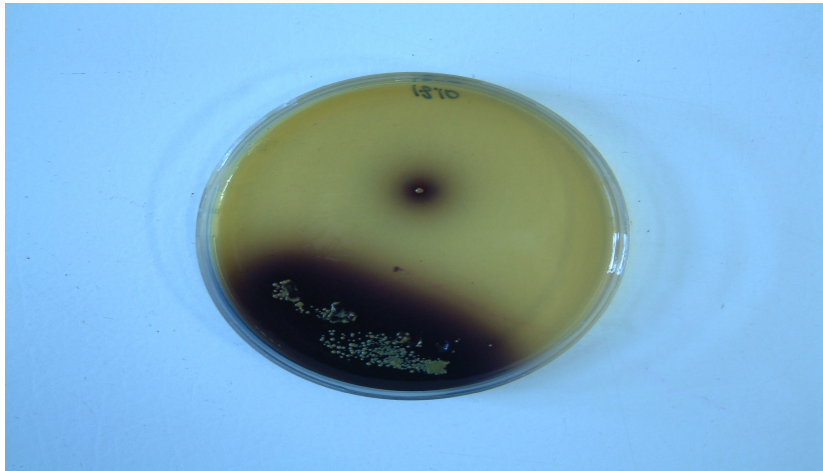
Kanlı Agar'da üreyen şüpheli kolonilere Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi uygulandı. Üreyen şüpheli kolonilerden yavaş test için (18-24 saat) tek bir koloni alındı ve sulandırma sıvısı ile karıştırıldı (28). Test stripi özel taşıma tepsisine kondu ve stripin üzerindeki koruyucu film sıyrılarak steril bir pipet ile her kuyucuğa hazırlanmış olan süspansiyondan 100 µl ve 12 nolu kuyucuğa 1 damla hemoliz reaktifi ilave edildi (28).

Stripler, 24 saat 35 ± 1 °C'de inbübe edildi. İnkübasyon sonucu kuyucuklarda oluşan renk değişimleri gözle okunarak kayıt formuna işlendikten sonra bilgisayar identifikasyon programına veri tablosundan elde edilen kod sayı girildi ve programdan izolatın hangi *Listeria* türüne ait olduğu okundu (28).

4. BULGULAR

4.1 Karkas Örneklerinden Elde Edilen Bulgular

Karkas örneklerinden PALCAM Agar'a yapılan ekimlerin inkübasyonu sonrası yapılan incelemede siyah haleli, küçük, kahverengi-siyah, kabarık, S-formlu 76 (% 76) adet koloni şüpheli *Listeria* spp. olarak değerlendirildi. *Listeria* türlerinin PALCAM Agar'da üreyen kolonileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 *Listeria* türlerinin PALCAM Agar'da üreyen kolonileri.

PALCAM Agarda izole edilen *Listeria* spp. şüpheli kolonilerden kanlı agara ekimi sonrası üreyen kolonilere Gram boyama, hareket muayenesi, katalaz, oksidaz, CAMP, karbonhidrat fermantasyon, H₂S oluşumu, indol, nitrat, Metil Red, Voges-Proskauer, üre testleri uygulanması ile yapılan identifikasyon sonucu identifiye edilen *Listeria*'ların 24 (% 24)'ünün *L. monocytogenes*, 4 (% 4)'ünün *L. murrayi*, 2 (% 2)'ünün *L. welshimeri*, 43 (% 43)'ünün *L. innocua*, 3 (% 3)'ünün *L. grayi* olduğu tespit edildi. Hareket muayenesi amacıyla SIM Mediuma yapılan ekim sonrası görülen üreme şekil 4.2'de, karkas örneklerinden yapılan izolasyon sayı ve oranları tablo 4.2'de, karkas örneklerinden izole ve identifiye edilen *Listeria* türlerinin grafiksel dağılımı şekil 4.3'de, karkas örneklerinden identifiye edilen izolatların biyokimyasal test sonuçları tablo 4.4'de gösterilmiştir.

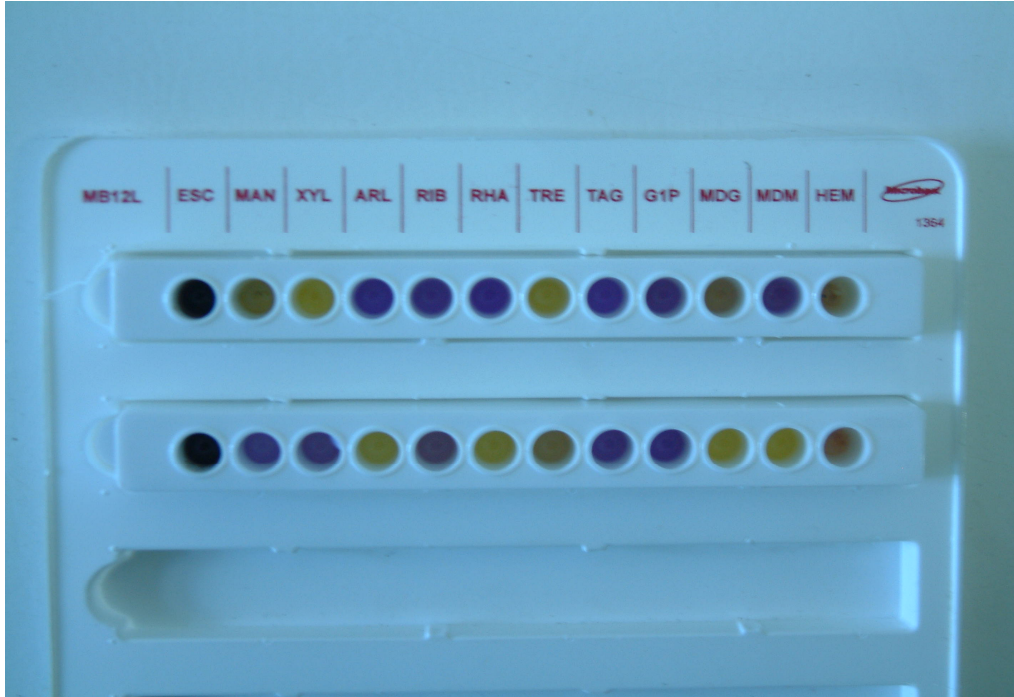


Şekil 4.2 *Listeria* türlerinin SIM Mediumda hareket muayenesi.

Kanlı Agar'da üreyen şüpheli kolonilere uygulanan Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi sonucu 24 adet *Listeria* spp. tespit edildi. Bu *Listeria* türlerinin

13 (% 13)'ünün *L. innocua*, 8 (% 8)'inin *L. monocytogenes*, 1 (% 1)'inin *L. murrayi*, 1 (% 1)'inin *L. welshimeri*, 1 (% 1)'inin *L. grayi* olduğu tespit edildi.

Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi sonuçları tablo 4.1'de, Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon test kiti'nde reaksiyonların gözlenmesi şekil 4.3'de gösterilmiştir.



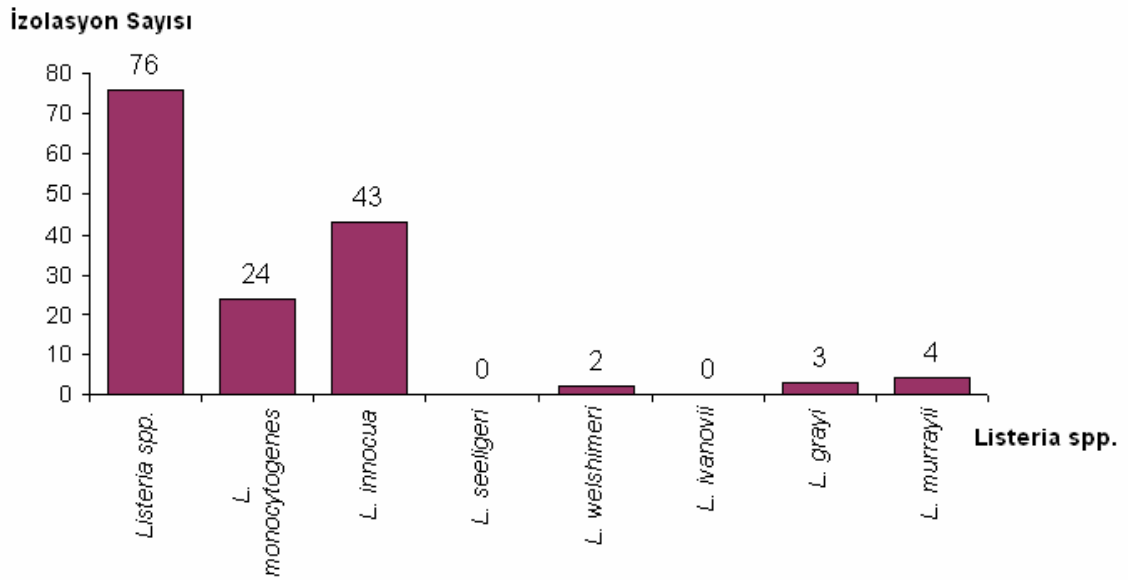
Şekil 4.3 Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon test kiti'nde reaksiyonların gözlenmesi

Tablo 4.1 Microbact 12 L *Listeria* identifikasyon sistemi sonuçları

Örnek Numarası	Kuyucuk No / Substrat Adı / Pozitif Renk												Identifiye Edilen Tür
	1- Eskulin – Siyah	2-Mannitol – Sarı	3-Ksitoz – Sarı	4-Arabitol – Sarı	5-Riboz – Sarı	6-Ramnoz – Sarı	7-Trelaloz – Sarı	8-Tagatoz – Sarı	9-Glukoz-1-fosfat - Sarı	10-Metil-D-Glukoz – Sarı	11-Metil-D-Mannoz – Sarı	12-Hemoliz – Kahverengi	
2	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
3	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
5	Si	S	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	<i>L. grayi</i>
6	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
7	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
9	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
10	Si	M	S	S	M	S	S	S	M	S	S	K	<i>L. welshimeri</i>
11	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
13	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
14	Si	M	M	M	S	S	S	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
15	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
17	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
18	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
20	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
21	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
23	Si	M	S	M	M	M	M	M	M	S	S	Kh	<i>L. murrayi</i>
24	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
25	Si	M	M	M	M	M	M	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
27	Si	M	M	M	M	M	M	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
28	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>
30	Si	M	M	M	M	M	M	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
31	Si	M	M	M	M	M	M	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
32	Si	M	M	M	M	M	S	M	M	S	S	K	<i>L. innocua</i>
34	Si	M	M	M	M	S	M	S	S	S	S	Kh	<i>L. monocytogenes</i>

Tablo 4.2 Karkas örneklerinden yapılan izolasyon sayı ve oranları.

Örnek sayısı	<i>Listeria</i> spp. pozitif numune sayısı ve yüzdeleri					
	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. murrayi</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. grayi</i>
100	76 (% 76)	24 (% 24)	4 (% 4)	2 (% 2)	43 (% 43)	3 (% 3)

**Şekil 4.4** Karkas örneklerinden izole ve tanımlenilen *Listeria* türlerinin grafiksel dağılımı.

Tablo 4.3 Karkas örneklerinden identifiye edilen izolatların biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal Testler	Numuneler																								
	2	3	5	6	7	9	10	11	13	14	15	17	18	20	21	23	24	25	27	28	29	30	31	32	34
PALCAM Agarda üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Üre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMP	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
Mannitol	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz				+		+		+	+		+	+	+	+				+	+			+	+	+	
Ramnoz	+	+	-		+					+					+		+			+					+
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İdentifiye Edilen Tür	Lm	Lm	Lg	Li	Lm	Li	Lw	Li	Li	Lm	Li	Li	Li	Li	Lm	Lmr	Lm	Li	Li	Lm	Lmr	Li	Li	Li	Lm

Lm : *Listeria monocytogenes*, Lg : : *Listeria grayi*, Li : : *Listeria ivanovi*, Lw : *Listeria welshimeri*, Lmr : *Listeria murrayi*

Biyokimyasal Testler	Numuneler																								
	35	37	38	39	40	43	44	45	46	47	48	49	51	53	54	55	56	57	58	60	62	63	65	66	68
PALCAM Agarda üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Üre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMP	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz				+	+	+	+		+	+	+	+	+	+						+					
Ramnoz	+	+	+					+							-	+	+	-	+		+		+	+	+
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İdentifiye Edilen Tür	Lm	Lm	Lm	Li	Li	Li	Li	Lm	Li	Li	Li	Li	Li	Li	Lg	Lm	Lm	Lg	Lm	Li	Lm	Lmr	Lm	Lm	Lm

Biyokimyasal Testler	Numuneler																									
	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	82	83	85	87	88	89	90	91	92	94	95	96	97	98	99
PALCAM Agarda üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Üre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMP	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz		+		+	+	+	+		+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	
Ramnoz	+		+					+			+						+									
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İdentifiye Edilen Tür	L. m	L. i	L. m	L. i	L. i	L. i	L. i	L. m	L. i	L. i	L. m	L. i	L. i	L. i	L. i	L. i	L. m	L. i	L. i	L. i	L. İ	L. mr	L. i	L. i	L. i	L. w

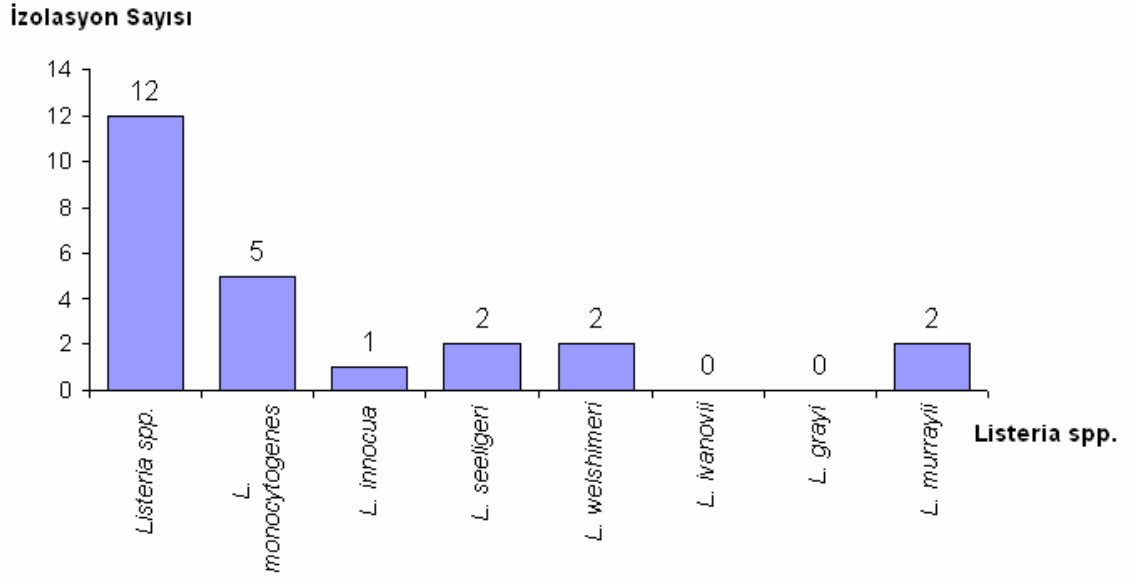
4.2 Bağırsak İçeriklerinden Elde Edilen Bulgular

Bağırsak içeriklerinden PALCAM Agar'a yapılan ekimlerin inkübasyonu sonrası yapılan incelemede siyah haleli, küçük, kahverengi-siyah, kabarık 12 (% 12) adet koloni şüpheli *Listeria* spp. olarak değerlendirildi.

PALCAM Agarda izole edilen *Listeria* spp. şüpheli kolonilerden kanlı agara ekimi sonrası üreyen kolonilere Gram boyama, hareket muayenesi, katalaz, oksidaz, CAMP, karbonhidrat fermantasyon, H₂S oluşumu, indol, nitrat, Metil Red, Voges-Proskauer, üre testleri uygulanması ile yapılan identifikasyon sonucu identifiye edilen *Listeria*'ların 5 (% 5)'inin *L. monocytogenes*, 2 (% 2)'sinin *L. murrayi*, 2 (% 2)'sinin *L. welshimeri*, 1 (% 1)'inin *L. innocua*, 2 (% 2)'sinin *L. seeligeri* olduğu tespit edildi. Bağırsak içeriklerinden yapılan izolasyon sayısı ve oranları tablo 4.4'de, izole ve identifiye edilen *Listeria* türlerinin grafiksel dağılımı şekil 4.5'de, identifiye edilen izolatların biyokimyasal test sonuçları tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo-4.4 Bağırsak içeriği örneklerinden yapılan izolasyon sayısı ve oranları.

Örnek sayısı	<i>Listeria</i> spp. pozitif numune sayısı ve yüzdeleri					
	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. murrayi</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. seeligeri</i>
100	12 (% 12)	5 (% 5)	2 (% 2)	2 (% 2)	1 (% 1)	2 (% 2)



Şekil 4.5 Bağırsak içeriği örneklerinden izole ve identifiye edilen *Listeria* türlerinin grafiksel dağılımı.

Tablo 4.5 Bağırsak içeriği örneklerinden tanımlanmış izolatların biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal Testler	Örnek Numarası											
	1	26	29	33	42	50	54	66	70	85	91	97
PALCAM Agarda üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Üre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMP	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
Mannitol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Ramnoz	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İ tanımlanmış Tür	Lmr	Lm	Lw	Ls	Lm	Lw	Li	Ls	Lm	Lm	Lmr	Lm

Lmr : *Listeria murrayi*, Lm : *Listeria monocytogenes*, Lw : *Listeria welshimeri*, Lw : *Listeria seligeri*

TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda hazır dondurulmuş tavuk etinden üretilmiş gıda maddelerinin tüketime sunulması ile birlikte insanlarda sporadik ve epidemik listeriozis olgularına rastlanılmaya başlanması araştırmacıların dikkatini *Listeria* spp. üzerine yoğunlaştırmasına neden olmuştur (73).

Listeria türlerinin olumsuz çevre koşullarına dayanıklılığı, düşük ısılarda üreme özelliğinde olması yanı sıra normal bağırsak florasında da bulunması gibi nedenlerle insan ve hayvanlar için tehlike oluşturmaktadır (59).

Kanatlı türü hayvanların pek çoğunda patojenik özellik gösteren *L. monocytogenes* tavuklarda özellikle genç sürülerde akut seyreden Listeriozise neden olmaktadır. Tavuklarda septisemi, tortikollis ve opistotonus gibi semptomlarla seyreden Listeriozis olgularında iç organlar, bağırsak içeriği, kümes altlığı, dışkı, yem, kesimhane yıkama suları, dondurulmuş ürünlerden *Listeria* spp. izole edilmiştir (18, 26, 43, 48, 59).

Listeria türleri tavukların bağırsak florasında saprofitik olarak bulunurlar ve tavuklar etkeni dışkıları ile çevreye saçarlar. Erginler gençlere oranla daha aktif olarak portör

işlevi görürler. Tavukların dışkıları ile etkeni çevreye saçarak enfeksiyonlara neden olduklarına dair pek çok araştırma yapılmış ve bu hususun gerek insan gerekse hayvan sağlığı açısından potansiyel tehlike olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (59).

Skovgaard ve Morgen (50), yaptıkları çalışmada normal görünümlü broiler dışkılarından % 23.7, bağırsak içeriklerinden % 33.3 oranında *L monocytogenes* izole etmişlerdir (50).

Kemenes ve ark. (74), toprakta % 30, hayvan altlık ve dışkılarında % 22 oranında *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Bu durum kümes altlıklarının portör kuşlar ve dışkıları ile kontamine olduğunu ve sağlıklı tavukların altlığı gagaları ile karıştırmaları ile reenfeksiyona yakalandıklarını göstermektedir.

Kalender ve ark. (75), tavuk, koyun ve sığır dışkılarında sırasıyla % 4.3, % 0.5, % 1.5 oranında *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Araştırmacılar Oxford ve PALCAM besiyerlerinin birlikte kullanılması ile daha yüksek oranda *Listeria* spp. izolasyonu gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir.

Taştan (18), bağırsak içeriği, iç organ ve kümes altlıklarından *Listeria* spp. izolasyonunda MOX ve PALCAM besiyerlerini kullanmış bu besiyerlerinde üreyen *Listeria* spp.nin Gram boyamaları sonucu daha uzun ve eğri olarak gözlenmiştir. Bu besiyerlerinde koloni ayırımının gözle kolaylıkla yapılabildiğinden Henry tekniği gibi zaman alan uğraşlara gerek duyulmadığını belirtmiştir.

Bu çalışmada *Listeria* spp. izolasyonu amacıyla FDA tarafından önerilen metod uygulanmıştır. *Listeria* spp. identifikasyonu amacıyla Nitrat redüksiyonu, Mannitol, D-ksiloz, L-ramnoz, α -metil-D-mannozid, α -D-melezitoz, D-glukoz, salisin gibi fermentasyon testlerinin yanında Metil Red testi, Voges-Proskauer testi, hippurat hidrolizi gibi biyokimyasal testlerinde yapılması zorunludur (10).

McLauchlin (76), 350 adet *Listeria* izolatının identifikasyonu için DL-alanine β -naphtylamide hidrolizi, karbonhidrat fermentasyon ve hemoliz testleri ile API Listeria test kiti kullanarak yaptığı karşılaştırma çalışmasında karbonhidrat fermentasyon testleri ve hemoliz testini kullanarak % 99 oranında, DL-alanine β -naphtylamide hidrolizi ile % 98 oranında, API Listeria test kiti ile % 97 oranında doğru olarak identifiye ettiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada izolasyon için kullanılan PALCAM Agar'ın selectivitesinin yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca zaman kazandırması ve hata oranını düşürmesi bakımından Mikrobact 12 L *Listeria* identifikasyon sisteminin kullanışlı ve güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmada 100 adet karkas örneğinden 24 adet (% 24) *L. monocytogenes*, 4 adet (% 4) *L. murrayi*, 2 adet (% 2) *L. welshimeri*, 43 adet (% 43) *L. innocua*, 3 adet (% 3) *L. grayi* olmak üzere 76 (% 76) adet *Listeria* spp., 100 adet bağırsak içeriği örneğinden de 5 adet (% 5) *L. monocytogenes*, 2 adet (% 2) *L. murrayi*, 2 adet (% 2) *L. welshimeri*, 1 adet (% 1) *L. innocua*, 2 adet (% 2) *L. seeligeri*, olmak üzere 12 adet (% 12) *Listeria* spp. izole edilmiştir.

Sonuç olarak, yapılan çalışmada bağırsak içeriklerinden izole edilen *Listeria* spp. oranının incelenen literatürlerle paralellik göstermesine rağmen; karkaslardan izole edilen *Listeria* spp. oranının (% 76) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, kesimhanelerin hijyen kalitesinin düşük oluşuna, etlerin çözündürülme aşamasındaki sürenin (24 saat) uzun olmasına ve *Listeria* spp.'nin psikrofilik özelliğinden dolayı soğuk ortamlarda da üreme yeteneğinin bulunmasından kaynaklanabileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca askeri birliklere yapılan tavuk eti alımlarında *Listeria* spp. yönünden de muayenelerin yapılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Kanatlı hayvanların yetiştirme aşamasından kesimhanelere, paketlenme-dondurma ünitelerinden askeri birlikler, okullar, yurtlar, lokantalar gibi toplu gıda tüketiminin yapıldığı yerlere kadar olan tüketim zincirinde hijyenik koşulların yerine getirilmesi büyük önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Gökalp HY, Yetim H, Kaya M. Ticari kuruluşlarda dondurularak muhafaza edilen tavuk etlerinin kokuşma düzeyleri ve bakteriyolojik durumları üzerine bir araştırma. Et ve Balık Endüst Derg 1987; 51(8):13-22
2. Öztan A. Et Bilimi ve Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, Yayın No:19 XIII. Bölüm, Ankara, 1995:1-263
3. Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and Listeria infections. Bacteriol Rev 1966; 30:309-382
4. Murray EGD, Webb RE, Swann MBR. A diseases of rabbits characterised by a large mononuclear leucocytosis. Caused by a Hitherto undiscrined bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp). J Pathol Bacteriol 1926; 29:407-439
5. El-Shenawy MA, Marh EH. *Listeria monocytogenes* and food history characteristics implications isolation methods and control a review. Egypt J Sci 1989; 17:1-18
6. McLauchlln J. *Listeria monocytogenes* recent advances in the taxonomy and epidemiology of listeriosis in humans. (A review) J Appl Bacteriol 1987; 63:1- 11

7. Seeliger HPR, Langer B. Methods of *Listeria monocytogenes* and related species from clinical samples food and environmental source. J Infect 1988; 2:607-616
8. Seeliger HPR. Listeriosis history and actual developments. J Infect 1988; 2:80-84
9. Rodriguez JL, Gaya P, Medina M, Nunez M. incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in ewes milk. J Food Prot 1994; 57 (7):571-575
10. Arda M, Aydın N, Ilgaz A ve ark. Özel Mikrobiyoloji (4. Baskı) Medisan Yayınları, Ankara, 1997: 147-155
11. Seeliger HPR, Jones D. *Listeria* In: Sneath PHA, Mair N, Sharpe ME, Holt JG (eds), Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, London 1986; 1235-1245
12. Swaminathan B, Rocourt J, Bille J. *Listeria* In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), Manual of Clinical Microbiology 6th ed ASM Press Washington Dc 1995; 341-348
13. Allerberger F. *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 35:183-189
14. Bille J, Rocourt J, Swaminathan B. *Listeriae Erysipelotrix and Kurthia*. Manual of clinical microbiology. 7th edition American Society For Microbiology Washington Dc. 1999; 295-314
15. Jones D. Taxonomy of *Listeria*. J Infect 1988; 2(4):461-469
16. Rocourt J, Wehmeyer U, Stackebrandt E. Transfer of *Listeria denitrificans* to a new genus *Jonesia* gen. novo as *Jonesia denitrificans* com. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:266-270
17. Rocourt J. The recognition and identification of *Listeria* species by classical methods. J Infect 1988; 2(4):471-485
18. Taştan R. Tavuklarda *Listeria* spp. izolasyon ve identifikasyonu üzerine çalışmalar, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
19. Erdoğan HM. An epidemiological study of Listeriosis in dairy cattle. PhD Thesis, Bristol University, Bristol UK, 1988
20. Loncarevic S. *Listeria monocytogenes* with special reference to food products and human Listeriosis. Swedish University Of Agricultural Sciences Department Of Food Hygiene, 1998
21. Warburton DW et all. A comparative study of the "FDA" And "USDA" methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. Int J Food Microbiol 1991; 13:105-118

22. Warburton DW et al. P. and read, s. a canadian comparative study of modified versions of the "FDA" and "USDA" methods for the detection of *Listeria monocytogenes*. J Food Protect 1991; 54:669-676
23. Eld K, Danielsson-Tham ML, Gunnarsson A, Tham W. Comparison of a cold enrichment method and the IDF method for isolation of *Listeria monocytogenes* from animal autopsy material. Vet Microbiol 1993; 36(1-2):185-189
24. Jensen A. *Listeria monocytogenes* isolation from human faecal specimens: experiments with the selective media, PALCAM and PALCAMY. Lett Appl Microbiol 1993; 16(1):32-35
25. Kerr KG, Lacey RW. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes*. J Clin Pathol 1991; 44:624-627
26. Şireli UT, Erol İ, Şahin S, Terzi G, Gürbüz OA. Tavuk kıyma köfte ve burgerlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci 2002; 26:1271-1276
27. Anon. *Listeria* Rapid Test Incorporation Clearview™ Kullanma Klavuzu. FT0401M. Oxoid İngiltere, 2005
28. Anon. Mikrobact 12 L *Listeria* İdentifikasyon Sistemi Kullanma Klavuzu. MB1128A. Oxoid İngiltere, 2005
29. Anon. Pathalert Rapid Test Kullanma Klavuzu. 1.08843.001. Merck KGaA. Almanya, 2005
30. Alden MJ, Marconi L, Hogan J, Rosen IG, Johnson R. A chemiluminescent DNA Probe assay for the identification of *Listeria monocytogenes* from culture plates. Abstr. Icaac 1990; 109
31. Bille J, Catimel B, Bannerman E, et al. API *Listeria*, a New and Promising One-Day System To Identify *Listeria* Isolates. Appl Environ Microbiol 1992; 58(6):1857-1860
32. Seeliger HPR. Serovar of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species. In: Woodbine. M (Ed). Problems Of Listeriosis. Leicester Universty Press Surrey 1975; 27-29
33. Kolstad J, Rorvik LM, Granum PE. Characterisation of plasmids from *Listeria* spp. Int J Food Microbiol. 1990; 12: 123-132
34. Mc Laughlin J, Audurier A, Taylor AG. Aspects of the epidemiology of human *Listeria monocytogenes* infection in the Britain 1967-1984 the use of serotyping and phage typing J Gen Microbiol 1986; 22:367-377

35. Geoffroy C, Gaillard JL, Alouf JE, Berche P. Purification characterization and toxicity of the sulfhydryl-activated hemolysin Listeriosin-O from *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun* 1987; 55: 1641-1646
36. Christie R, Atkins NE, Munch-Paterson E. A note on lytic phenomenon shown by group b streptococci. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1944; 22:197- 200
37. Hof H. Virulence of different strains of *Listeria monocytogenes* serovar 1/2a. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1984; 173:207-218
38. Anon. World Health Organisation Informal Working Group. Foodborne Listeriosis report. Geneva. 1988; 15-19
39. Kampelmacher EH. Foodborne Listeriosis-facts and fiction. *J Infect* 1988; 2(4):527-532
40. Terplan G. Listerialar-gıda maddelerinde bulunuşu ve sağlık yönünden önemi. Seminer. İ.Ü. Veteriner Fak. İstanbul, 1989
41. Gray ML. Listeriosis in fowls. (a review). *Avian Dis* 1958; 2:296-311
42. Gronstol H. *Listeria*. Thoen (Eds), Pathogenesis Of Bacterial Infections In Animals. Iowa State Uhiversity Pres, Ames. 1986; 48- 55
43. Cooper GL, Charlton B, Bickford A, et al. Listeriosis in California broiler chickens. *J Vet Invest* 1992; 4(3):343-345
44. Kwantes W, Isaac M. Listeria infection in West Glamorgan. Woobine M. (Ed). Problems of Listeriosis. Leicester University Pres, Surrey. 1975; 112- 114
45. Gitter M. *Listeria monocytogenes* in oven-ready poultry. *Vet Rec* 1976; 99:336
46. Burrow H, Weber-Potel J. Presence of *Listeria* in faeces from farm animals and in foods of animal origin. *Fleischwirtschaft* 1996; 76(7):745-748
47. Kerr KG, Rotowa NA, Hawkey PM, Lacey RW. Incidence of *Listeria* spp. in pre-cooked chilled chicken products as determined by culture and enzyme-linked immunoassay (ELISA). *J Food Protect* 1990; 53:606-607
48. Bailey JS, Fletcher DL. The carcasses the incidence of *Listeria monocytogenes* on fresh broiler carcasses. (Abst) *Poult Sci* 66 (Supp.1) 1987; 59
49. Genigeorgis CA, Garayzabal JF, Utulescu D. Prevalence of *Listeria* spp. in poultry meat at the supermarket and slaughterhouse level. *J Food Protect* 1989; 52:618-624

50. Skovgaard N, Morgen CA. Detection of *Listeria* spp. faeces from animals, in feeds and in raw food of animal origin. *Int Food Microbiol* 1988; 6:229-242
51. Iida T, Kanzaki M, Maruyama T, Inoue S, Kaneuchi C. Prevalance of *Listeria monocytogenes* in intestinal contents of healthy animals in Japan. *J Vet Med Sci* 1991; 53(5): 873-875
52. Wong HC, Chao WL, Lee SJ. Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56: 3101-3104
53. Ojeniyi B, Wegener HC, Jensen NE, Bagaard M. *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products epidemiological investigations in seven Danish abattoirs. *Appl Bacteriol* 1996; 80 (4):395-401
54. Schönberg A, Teufel P, Weise E. Serovar of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from foods. *Acta Microbiol Hung* 1989; 36:249-253
55. Varabiof Y. Incidence and recovery of *Listeria* from chicken with a pre-enrichment technique. *J Food Protect* 1990; 53:555-557
56. Rijpens N, Jannes G, Herman LMF. Incidence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready to eat chicken and turkey products determined by polymerase chain reaction and line probe assay hybridization. *J Food Protect* 1997; 60:548-550
57. Capita R, Calleja CA, Pirierto M, Garcia MC, Moreno FB. Comparison of PALCAM and modified Oxford plating media for isolation of *Listeria* species in poultry meat foollowing UVM II or Fraser secondary enrichment broths. *Int J Food Microbiol* 2001; 18:555-563
58. Art D, Andre P. Comparison of three selective isolation media for the detection of *L. monocytogenes* in foods. *Zentralbl Bacteriol* 1991; 275(1):79-84
59. Dijkstra, RG. *Listeria monocytogenes* in intestinal contents and feces from healthy broiler of different age in the litter and its potential danger for other animals including cattle. In: Ivanov, I. (Ed), Proc. 7th Inter Symp on Problems of Listeriosis. National Agroindustrial Union. Center For Scientific Information.1979; 289-294
60. Çiftçioğlu G, Uğur M. Kıyma sucuk ve tavuk etlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonu. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 1992; 16:33-44
61. Erol İ, Şireli UT. Donmuş broiler karkaslarında *Listeria monocytogenes*'in varlığı ve serotip dağılımı. *Turk J Vet Anim Sci* 1999; 23(4):765-770
62. Arslan N. Elazığ bölgesinde tavuklardan *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Elazığ, 2000

63. Güven A, Patır B. Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve bazı et ürünlerinde *Listeria* türlerinin araştırılması. Turk J Vet Anim Sci 1998; 22(4):205-212
64. Erol İ, Şireli UT, Gündeş B. Piliç parça et ve iç organlarında *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg Cilt:46 Sayı:2-3 1999; 179-188
65. Akman A. Tavuk serumlarında *Listeria monocytogenes*'e karşı antikor aranması. Etlik Vet Mikrobiyol Enst Derg 1984; 5:72-83
66. Sorin ML, Rougier S, Arbault P. A Comparison of the microbact system with the conventional ISO method and the API gallery for identification of *Listeria* isolates. J Food Protect 2000;65: 50-150
67. Cantoni C, Romagnoni S, D'Aubert S. Identificazione di *Listeria* spp. con Microbact 12L API Listeria System. Industrie Alimentari. 1997; 36(2)139-140
68. Bonardi S, Bottarelli A, Fusaro S, et al. Epidemiological investigation on *Listeria* spp. in a bovine slaughterhouse. Istituto di Ispezione degli Alimenti di origine animale - Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma. Parma, 1997
69. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji (9. Baskı), Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 1996:425-504
70. Harrigan WF. Laboratory Methods in Food Microbiolgy 3rd Edition. Academic Press, San Diego, 1998:236-532
71. Al-Ghazali MR. Isolation procedure of *Listeria* species. J Infect 1988; 2(4):541-551
72. Bridson E.Y. The Oxoid Manual 8th edition, Oxoid Limited Hampshire, England, 1998
73. Seneviratna P, Robertson J, Robertson I D, Ampson D J. *Listeria* species in foods of animal origine. Aust J Vet. 1990;67:384
74. Kemenes F, Glavitis R, Ivanics E, Kovacs G Y, Vanyi A. Listeriosis of roe-deer in Hungary. Zbl Vet Med B 1983;30:258-265
75. Kalender H. Detection of *Listeria monocytogenes* in faeces from chickens sheep and cattle in Elazığ province. Turk J Vet Anim Sci 2003;27:449-451
76. McLauchlin J. The identification of *Listeria* species. Int J Food Microbiol 1997;38:77-81

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Kayseri’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimin Kayseri’de tamamladı. 1989 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ne girdi. 1994 yılında mezun oldu. 1995-1996 yıllarında askerlik hizmetini yedek subay olarak Ankara’da yaptı. 1996 yılında Kara Kuvvetleri Komutanlığı’nda Veteriner Hekim Teğmen olarak göreve başladı. 1996-2002 yılları arasında Şırnak’ta Türk Silahlı Kuvvetleri’ne ait Gıda Kontrol Laboratuvarlar’ında görev yaptı. 2003 yılında E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nde Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Bursa ilinin Gemlik ilçesinde Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezi Başkanlığı’nda görev yapan Gürsel ÖZMEN evli ve 2 çocuk babasıdır.

Adres: As. Vet. Ok. K. Lığı Gemlik-BURSA

Telefon: 0 505 515 23 83 – 0 224 519 02 01

E-mail: gurselozmen10@hotmail.com