



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**TAVUK PARÇALAMA HATTINDA *LISTERIA*
MONOCYTOGENES İLE KONTAMİNASYON
KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ VE
GENOTİPLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Kadir Emre GİRGIN

Samsun

Haziran - 2018



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**TAVUK PARÇALAMA HATTINDA *LISTERIA*
MONOCYTOGENES İLE KONTAMİNASYON
KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ VE
GENOTİPLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Kadir Emre GİRGİN

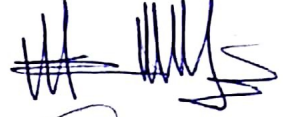
**Danışman
Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI**

**Samsun
Haziran - 2018**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kadir Emre GİRGİN tarafından Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI Danışmanlığında hazırlanan "Tavuk parçalama hattında *Listeria monocytogenes* ile kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi ve genotiplendirilmesi" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 27/06 /2018 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir

Başkan : Prof. Dr. Mehmet ELMALI, Mustafa Kemal Üniversitesi
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)



Üye : Prof. Dr. Timur GÜLHAN, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)



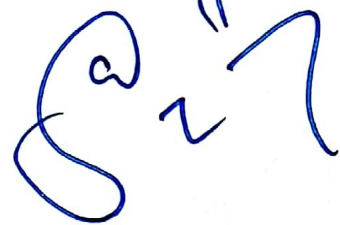
Üye : Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI (Danışman), Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)



Üye : Doç. Dr. Ali GÜCÜKOĞLU, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Elçin GÜNAYDIN, Hitit Üniversitesi
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)



ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde hiçbir zaman desteğini ve önerilerini esirgemeyen tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI'ya, tez izleme komitemde yer alan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Timur GÜLHAN ve Sayın Doç.Dr. Ali GÜCÜKOĞLU'na yardımlarını her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Göknur TERZİ GÜLEL'e şükranlarımı sunarım.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarım sırasında bana her zaman yardımcı olan Dr. Tolga UYANIK'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Son olarak maddi ve manevi desteğini hep yanımda hissettiğim ailem, beni bu günlere getiren, yakın zamanda kaybettiğim ve eksikliğini her gün fazlasıyla hissettiğim değerli babam Yakup GİRGİN'e ve annem Mevlüde GİRGİN'e, değerli eşim Zahide GİRGİN, kızım Cemre GİRGİN ve oğlum Yakup Asrın GİRGİN'e, saha çalışmalarım sırasında ve tez aşamasında yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, mesai arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Elif GÜNAYDIN ve Ziraat Mühendisi Ayşe Ersoy SALLABAŞ'a ayrıca sekiz yıldır görev yaptığım, Samsun İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şubesi personeline teşekkür ederim.

Bu çalışma, TÜBİTAK 3001 Hızlı Destek Programı tarafından 1140895 numara ve "Tavuk parçalama hattında *Listeria monocytogenes* ile kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi ve genotiplendirilmesi" konu başlığı ile desteklenmiştir. Genotiplendirme çalışmalarındaki yardımlarından dolayı İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve değerli personeli Uzman Evrim Paşık BALCI'ya teşekkür ederim.

ÖZET

TAVUK PARÇALAMA HATTINDA *LISTERIA MONOCYTOGENES* İLE KONTAMİNASYON KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ VE GENOTİPLENDİRİLMESİ

Amaç: Bu çalışma, Samsun bölgesinde faaliyet gösteren tavuk parçalama tesislerindeki alet-ekipman, personel ve ürünlerde *Listeria monocytogenes* varlığını belirlemek, PCR yöntemi ile serotiplendirmesi, PFGE analiziyle genotiplendirilmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metod: Samsun İlinde faaliyet gösteren 4 farklı tavuk parçalama tesisinde üretim hattından, kullanılan alet ekipmanlardan, bütün ve parça tavuklardan her ziyarette toplam 16 örnek alındı. 4 işletme 3'er kez ziyaret edilerek toplamda 192 örnek alındı. *L. monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonu için ISO 11290-1 ve Dynal tarafından önerilen İMS bazlı klasik kültür tekniği kullanıldı. *L. monocytogenes* izolatlarının PCR ile doğrulanması ve serotiplendirilmesi yapıldı. *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesinde EUCAST ve CLSI tarafından bildirilen disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Son aşamada PFGE tekniğiyle genotiplerin tespiti gerçekleştirildi.

Bulgular: İncelenen 192 örneğin 25'i (%13) *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlendi ve toplam 51 izolat elde edildi. Serotiplendirmede 51 izolatın 47'sinde (%92,2) 1/2a (3a), 4'ünde (%7,8) 1/2c (3c) olarak tespit edildi. Testler sonucunda 51 izolatın 26'sının (%51) en az bir antibiyotiğe, 13'ünün (%25,5) de birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği belirlendi. Ayrıca 25 izolatın (%49) herhangi bir antibiyotiğe karşı dirençli olmadığı saptandı. PFGE değerlendirilmesinde, en az %80 benzerlik esas alınarak yapılan dendrogramında ApaI enzimi ile yapılan restriksiyon işlemi neticesinde izolatların ilişkili 25 farklı küme ile 45 alt kümeye dağıldıkları, AscI enzimi ile yapılan restriksiyon işlemi neticesinde ise 29 farklı küme ile 36 alt kümeye dağıldıkları saptandı.

Sonuç: Parçalama tesislerine gelen tavuklardan *L. monocytogenes* izole edilmesi, yetiştiricilik ve kesim aşamalarında tavukların kontamine olabildiğini göstermektedir. Parçalama işlemi sırasında alet ekipmanlar, zemin, yüzeyler ve personel vasıtasıyla etken yayılabilmektedir. Hijyen kurallarına uyulması çapraz bulaşma riskini azaltabilecektir.

Anahtar kelimeler: *L. monocytogenes*; IMS; PCR; PFGE

Kadir Emre GİRGIN, Doktora Tezi,

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Mayıs-2018

ABSTRACT
**IDENTIFICATION AND GENOTYPING OF SOURCES OF
CONTAMINATION WITH *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN CHICKEN
CUTTING LINE**

Aim: In this study the chicken shredding facilities operating in the region of Samsun, equipment, staff and products to determine the presence of *L. monocytogenes*, serotyping by PCR method and genotyping by PFGE analysis.

Material and Method: In this study, a total of 16 samples were collected from the production line, used instrument equipments, carcasses and cut-up rawchicken at 4 different chicken shredding facilities operating in Samsun province. 4 facilities were visited 3 times and 192 samples taken in total were used as material. For the isolation and identification of *L. monocytogenes*, the IMS-based classical culture technique recommended by ISO 11290-1 and Dynal was used. After, *L. monocytogenes* isolates were confirmed by PCR and serotyped. Disk diffusion method reported by EUCAST and CLSI was used to determine the antibiotic resistance profiles of *L. monocytogenes* isolates. Finally, genotyping was performed by PFGE technique.

Results: Of the 192 samples tested, 25 (13%) were identified as *L. monocytogenes* positive and a total of 51 isolates were obtained. In serotyping, 47 isolates (92.2%) were identified as 1 / 2a (3a) and 4 isolates (7,8%) were identified as 1 / 2c (3c). Twenty-six of 51 isolates (51%) were resistant to at least one antibiotic, and 13 (25.5%) were resistant to more than one antibiotic. In addition, 25 isolates (49%) were found to be resistant to any antibiotic. In the evaluation of PFGE, at least 80% similarity was determined in the dendrogram of the isolates to 45 sub-clusters associated with 25 different clusters and 29 different clusters and 36 sub-clusters as a result of restricting with AscI enzyme.

Conclusion: Isolation of *L. monocytogenes* from chickens coming to shredding facilities shows that chickens may be contaminating during the breeding and cutting stages. During shredding, the tool can be spread by equipment, floor, surfaces and staff. Observing hygiene rules may reduce the risk of cross-contamination.

Keywords: *L. monocytogenes*; IMS; PCR; PFGE

**Kadir Emre GİRGİN, PhD Thes,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, May-2018**

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC	:Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
aw	:Su aktivitesi
bp	:Baz Çifti
CAMP	:Christe Atkins Munch Peterson
CDC	:Center of Official Analytical Chemists
CLSI	:Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
EDTA	:Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ELISA	:Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EUCAST	:European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	:Food and Drug Administration
g	:Gram
IMS	:Immuno Magnetic Separation
ISO	:International Standardization Organization
LSP	:Low Melt Agaroz-Sodyum Dodesil Sülfat-Proteinaz K
MAP	:Modifiye Atmosfer Paketleme
µl	:Mikrolitre
µg	:Mikrogram
µm	:Mikrometre
mM	:Milimolar
ml	:Mililitre
PBS	:Phosphate Buffered Saline
PCR	:Polymerase Chain Reaction
PFGE	:Pulsed Field Gel Electrophoresis
Rpm	:Rounds per minute
SDS	:Sodyum Dodesil Sülfat
SIM	:Sulfide Indole Motility
TBE	:Tris Borate EDTA
UPGMA	:Unweighted Pair Group Method
UV	:Ultra Viyole

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. <i>Listeria</i> Türlerinin Taksonomisi.....	4
2.3. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Genel ve Biyokimyasal Özellikleri.....	6
2.4. <i>L. monocytogenes</i> ' in Gıdalarda Gelişimini Etkileyen Faktörler.....	8
2.4.1. Sıcaklık.....	8
2.4.2. Sodyum Klorür (NaCl) Konsantrasyonu.....	9
2.4.3. Su Aktivitesi.....	9
2.4.4. pH.....	9
2.4.5. Gaz-Atmosfer.....	10
2.4.6. Mikrobiyel Rekabet.....	10
2.5. <i>L. monocytogenes</i> ' in Patojenitesi.....	11
2.6. <i>L. monocytogenes</i> ' in Virulans Faktörleri.....	12
2.7. PrfA'nın Aktivitesi ve Virülens Genlerine Etkisi.....	14
2.8. <i>L. monocytogenes</i> ' in Antibiyotik Dirençliliği.....	14
2.9. <i>L. monocytogenes</i> ' in Neden Olduğu Hastalıklar.....	16
2.9.1. Hayvanlarda Listeriozis.....	16
2.9.2. İnsanlarda Listeriozis.....	17
2.10. <i>L. monocytogenes</i> ' in Kontaminasyon Kaynakları.....	20
2.10.1. Gıda.....	20
2.10.2. Çevre.....	23
2.10.3. Alet-Ekipman.....	23
2.10.4. Personel.....	24
2.11. <i>L. monocytogenes</i> ' in Çeşitli Gıdalarda Varlığı.....	24
2.11.1. Kanatlı etlerinde <i>Listeria</i> spp. Varlığı.....	27

2.12. Gıda İşleme Tesislerinde <i>L. monocytogenes</i>	28
2.13. Korunma ve Kontrol.....	31
2.14. <i>L. monocytogenes</i> ' in Gıdalardan İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	33
2.14.1. Kültürel Olmayan İzolasyon Yöntemleri.....	33
2.14.2. Kültürel İzolasyon Yöntemleri.....	34
2.14.3. Hızlı Teknikler.....	38
2.15. <i>L. monocytogenes</i> 'in Genotiplendirme Yöntemleri.....	38
2.15.1. Geleneksel Fenotipik Yöntemler.....	39
2.15.2. Moleküler Genotipik Yöntemler.....	40
3. MATERYAL ve METOT	45
3.1. Materyal.....	45
3.2. Metot.....	48
3.2.1. Klasik Kültür Tekniği.....	48
3.2.2. İmmunomanyetik Separasyon (IMS) Tekniği.....	49
3.2.3. Katı Besi Yerine Ekim.....	50
3.2.4. <i>L. monocytogenes</i> 'in Biyokimyasal Testleri ve İdentifikasyonu.....	51
3.2.5. <i>L. monocytogenes</i> İzolatlarının PCR ile Doğrulanması.....	54
3.2.6. <i>L. monocytogenes</i> İzolatlarının Serotiplendirilmesi.....	55
3.2.7. Antibiyotik Dirençliliğin Belirlenmesi.....	57
3.2.8. <i>L. monocytogenes</i> İzolatlarının Genotiplendirilmesi.....	58
4. BULGULAR	63
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	92
KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	117

1.GİRİŞ

Dünyadaki hızlı nüfus artışına paralel olarak kaliteli protein ihtiyacı ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle proteinden zengin hayvansal gıdaların üretimini arttırmak zorunlu hale gelmiştir. Önemli bir protein kaynağı olan tavuk eti, bağ dokudan fakir olması dolayısıyla sindirilebilirlik özellikleri açısından kasaplık hayvan etlerine oranla daha fazla tercih edilmektedir. Diğer taraftan kolay ve kısa sürede üretilebilmesi ayrıca ekonomik olması sebebiyle hayvansal gıdalar içerisinde önemli bir paya sahiptir.

Ülkemiz tavuk üretimi açısından dünyada ilk 10 (Tablo 1), Avrupa Birliği ülkeleri arasında ise ilk sırada yer almaktadır (Tablo 2). Her geçen yıl da üretim miktarları artış göstermektedir. TÜİK verilerine göre 2002 yılında 696.187 ton olan tavuk eti üretimi 2016 yılında 1.900.000 ton, 2017 yılında ise 2.136.000 ton olarak gerçekleştirilmiştir (USDA 2016).

Tablo 1. Tavuk eti üretimi (1000 ton) (USDA, 2016)

Ülkeler	2012	2013	2014	2015	2016
Amerika	16.621	16.976	17.306	17.971	18.283
Brezilya	12.645	12.308	12.692	13.146	13.605
Çin	13.700	13.350	13.000	13.400	12.700
Avrupa Birliği	9.660	10.050	10.450	10.810	11.070
Hindistan	3.160	3.450	3.725	3.900	4.200
Rusya	2.830	3.010	3.260	3.600	3.750
Meksika	2.958	2.907	3.025	3.175	3.270
Arjantin	2.014	2.060	2.050	2.080	2.100
Türkiye	1.723	1.758	1.894	1.909	1.900
Tayland	1.550	1.500	1.570	1.700	1.780
Endonezya	1.540	1.550	1.565	1.625	1.640
Diğerleri	14.866	15.480	16.018	15.378	15.250
Dünya	83.267	84.399	86.555	88.694	89.548

Tablo 2. 2015 Yılı Avrupa Ülkeleri Tavuk eti üretim miktarları (TUİK, 2016)

Ülke	Tavuk eti üretimi 2015 (1000 ton)
Türkiye	1.909
Polonya	1.635
İngiltere	1.481
İspanya	1.185
Fransa	1.100
Hollanda	982
İtalya	969
Almanya	964
Belçika	445

Tavuk eti diğer hayvansal gıdalarla karşılaştırıldığında içerdiği zengin besin maddelerinden dolayı mikroorganizmaların daha kolay ve hızlı üreyebildiği bir gıdadır. Bu nedenle gıda kaynaklı pek çok enfeksiyon ve intoksikasyonun sebebi durumundadır. Kuluçka döneminden itibaren intansif olarak yetiştirilen tavuklar su, yem ve çevresel etkenlerden dolayı kesimhaneye belirli bir mikrobiyel yük ile getirilmektedir. Antemortem dönemde tavukta bulunan mikroorganizmalar, taşıma, kesim, iç organ çıkarma, tüy yolma ve işleme aşamalarında çapraz kontaminasyona sebep olabilmektedir. Özellikle iç organların çıkarılması esnasında bağırsakların parçalanması, mide bağırsak içeriğinin karkasa bulaşmasına neden olarak kontaminasyon riskini arttırmaktadır. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter* ve enterotoksijenik stafilocoklar tavuk etinde sıklıkla rastlanan patojen mikroorganizmalardır (Mullerat ve ark., 1994).

L. monocytogenes; Gram pozitif, farklı ortamlarda ve alanlarda yaygın olarak bulunan bir bakteri olup insanlarda listeriyozise neden olur. Listeriyozis, septisemi, meningoensefalit, düşük veya yenidoğan enfeksiyonu olarak çeşitli formlarda ortaya çıkabilir. Epidemiyolojik çalışmalar listeriyozis olgularının önemli bir bölümünün kontamine gıdalardan kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Yapılan araştırmalarda insan ve hayvan sağlığı yönünden listeriyozis'in oldukça önemli ve tehlikeli bir zoonoz hastalık olduğu belirlenmiştir. *Listeria* spp. insan ve hayvanların bağırsak floralarında, gaitalarında ve lağım sularında yaygın olarak yer almaktadır (Charlier ve ark., 2017).

L. monocytogenes'in et ve et ürünlerinde varlığı ve çoğalması, ürünün doğal mikroflorası, yapısı, pH ve kontaminasyon durumuna göre farklılık gösterebilmektedir. Çiğ ette *L. monocytogenes* bulunması insanlarda önemli bir sağlık riski oluşturmaktadır.

Isıl işlem yeterli miktarda uygulandığında risk ortadan kalkmakla birlikte, paketleme, nakliye, depolama gibi aşamalarda son üründe kontaminasyon olabilmektedir. Bu yüzden personel ve işletme hijyeni, gıda güvenliğinde belirleyici rol oynamaktadır (Carpentier ve Cerf, 2011).

Bu çalışmada, tavuk parçalama hattındaki araç gereçlerden, bütün ve parça tavuk örneklerinden elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarında PCR tekniğiyle *L. monocytogenes*'in en önemli virülens faktörü olan *hlyA* (LLO - listeriolizin O) geni ile serotiplerinin belirlenmesi, disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik dirençliliklerinin ortaya konması ve ardından izolatların Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) tekniğiyle genotiplendirilmesi yoluyla ortaya çıkan sonuçlar yorumlanarak Listeriozis'in halk sağlığı yönünden oluşturduğu risklerin ve öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

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 (Gray, 1958).

Listeria monocytogenes, ilk kez 1926 yılında laboratuvar ortamında Murray ve ark. (1926) tarafından rodentlerinden izole edilmiş ve mononükleer lökositoya neden olması sebebiyle etkene *Bacterium monocytogenes* adı verilmiştir. Bakteri daha sonra Pirie (1927) tarafından, Güney Afrika'da vahşi gerbillerden izole edilmiş ve *Listerella hepatolytica* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra 1940 yılında yapılan taksonomik çalışmalarda etkenin ismi *Listeria monocytogenes* olarak değiştirilmiştir (Pirie, 1940).

L. monocytogenes, Bergey's Manuel tarafından ilk önce *Corynebacteriaceae* familyası içerisinde gösterilmiş daha sonra *Lactobacillus*, *Brochotrix* ve spor oluşturmayan, Gram pozitif çubukçuklar ile birlikte sınıflandırılmıştır (Seeliger ve Jones, 1986). Günümüzde ise *Listeriaceae* familyası içerisinde yer almaktadır.

Listeriozis, ilk kez 1966 yılında Almanya'da, 1975 ve 1976 yıllarında Fransa'da tespit edilse de 1980 yılında gıda kaynaklı bir hastalık olduğunun anlaşılmasıyla daha da önemli hale gelmiştir (Schlech ve ark., 1983).

1980 yılında dünya genelinde artan listeriozis vakalarına salata ile süt, yumuşak peynir ve köfte gibi hayvansal gıdaların sebep olduğu belirlenmiştir. Ayrıca hastalığın tedavi masrafları ve gıda sektöründeki kayıplardan dolayı ciddi ekonomik zararlara yol açtığı görülmüştür (Fleming ve ark., 1985; Bille ve Glauser, 1988; Linnan ve ark., 1988; McLauchlin ve ark., 1991).

2.2. *Listeria* Türlerinin Taksonomisi

Gram pozitif, spor oluşturmayan, düzgün çubuk şeklinde olan *Listeria* türleri birçok özelliği ile *Brochotrix* ve *Laktobacillus*'la benzerlik göstermektedir. Spor oluşturmayan, gram pozitif, düzgün çubuk şeklinde olan ilk önceleri *Listerella* olarak sınıflandırılmış, cins ismi 1940 yılında *Listeria* olarak değiştirilmiş, birçok özelliği ile *Brochotrix* cinsine benzerlik gösteren bir bakteri olduğu bildirilmiştir. Her iki cinsinde

de katalaz pozitif olduğu ve laktobasillerle diğer özellikleri açısından benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Bu üç cinsin glikozdan ve diğer fermente olabilen karbohidratlardan laktik asit ürettikleri fakat listerialar ve brochothrixler'den farklı olarak laktobasillerin katalaz negatif olduğu belirtilmiştir. İlk zamanlar *Listeria*'nın *Coryneform bacteria* ile ilgili olduğuna inanılmış, Bergey's Manual'in 1957'deki yedinci baskısında *Listeria* cinsi, *Corynebacterium* ve diğer cinsleri içeren *Erysipelothrix* ile birlikte *Corynebacteriaceae* familyası içerisine alınmıştır. Fakat daha sonraları *Bacillus*, *Lactobacillus*, ve *Streptococcus* cinsleri ile daha çok yakınlık gösterdiği tespit edilmiştir (Jay ve ark., 2005).

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'nin 9. sayısındaki sınıflandırmada *Listeriaceae* familyasına ait *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. murrayi*, *L. grayi* ve olmak üzere 7 tür bulunduğu belirtilmiştir (Seeliger ve Jones, 1986). 2009 yılından sonra 11 yeni *Listeria* türü (*L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. riparia*, *L. booriae*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis* ve *L. cornellensis*) tanımlanmıştır (Bertsch ve ark., 2013; den Bakker ve ark., 2014; Graves ve ark., 2010; Lang Halter ve ark., 2013; Leclercq ve ark., 2010; Weller ve ark., 2015). Şu anda *Listeria* cinsi 2 klada ayrılmıştır. İlk klad *Listeria sensu stricto* (*L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. marthii*) olarak adlandırılmakta ve insan ile hayvanlar için patojen türleri içermektedir. İkinci klad *Listeria sensu lato* (*L. fleischmannii*, *L. rohouri*, *L. weihenstephanensis*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. cornellensis*, *L. riparia*, *L. grandensis*, *L. booriae*, *L. newyorkensis*) olarak adlandırılmakta ve daha çok çevre kaynaklı ve memelilerde patojen olmayan türleri içermektedir (Orsi ve Wiedmann, 2016).

Listeria soyunda insan listeriozislerinden sadece *L. monocytogenes* sorumlu tutulsa da; nadiren *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* nin de sebep olduğu belirlenmiştir. *L. monocytogenes*'in somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerin faktör antiserumlarına göre 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 olmak üzere 13 serotipi olduğu tespit edilmiştir. İnsan listeriozisine genellikle, başta 4b, olmak üzere 1/2a ve 1/2b serotiplerinin neden olduğu bildirilmiştir (Wiedmann ve ark., 1993).

Genetik yakınlıkları ve evrimsel özellikleri açısından yapılan DNA/DNA hibridizasyon çalışmalarıyla, *L. monocytogenes* serotipleri üç grup olarak sınıflandırılmıştır. I. grupta 1/2a, 1/2c, 3a ve 3c, II. grupta 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e ve 7, III.

grupta ise, 4a ve 4c serotipleri bulunmaktadır. Ayrıca her bir grup da kendi içerisinde iki gruba ayrılmıştır. Grup Ia; 1/2a ve 3a, Grup Ib; 1/2c ve 3c, Grup IIa; 4b, 4d, ve 4e, Grup IIb; 1/2b, 3b ve 7, Grup IIIa; 4a, Grup IIIb; 4c serotiplerini kapsamaktadır (Tablo 3) (Rocourt ve Buchrieser, 2007).

Tablo 3. *Listeria monocytogenes* serotiplerine ait somatik (O) ve flagellar (H) antijenler (Rocourt ve Buchrieser, 2007)

Serotip	O Antijeni	H Antijeni
1/2a	I, II, (III)	A,B.
1/2b	I, II, (III)	A,B,C.
1/2c	I, II, (III)	B,D.
3a	II, (III), IV	A,B.
3b	II, (III), IV, (XII), (XIII)	A,B,C.
3c	II, (III), IV, (XII), (XIII)	B,D.
4a	(III), (V), VII, IX	A,B,C.
4ab	(III), V, VI, VII, IX, X	A,B,C.
4b	(III), V, VI	A,B,C.
4c	(III), V, VII	A,B,C.
4d	(III), V, VI, VIII	A,B,C.
4e	(III), V, VI, (VIII), IX	A,B,C.
7	(III), XII, XIII	A,B,C.

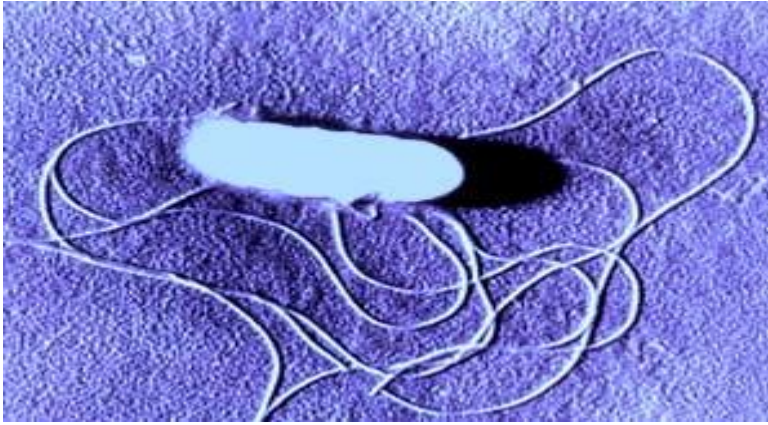
2.3. *Listeria monocytogenes*'in Genel ve Biyokimyasal Özellikleri

Listeriaceae soyundaki bütün türlerin ortak özelliği gram pozitif, 0,4 - 0,5 µm genişliğinde, 1 - 2 µm uzunluğunda kısa çubukçuklar olarak tanımlanmalarıdır (Şekil 1) (Medium, 2015). Bütün *Listeria* türlerinin peritrik flagellaları sayesinde hareketli olduğu belirtilmiştir. Ancak 37°C nin üzerinde hareket yeteneklerini kaybetmektedirler. Fakültatif anaerob veya aerob olan *Listeria*'lar pH 4 – 9,6 arasında, -1,5 – 45°C sıcaklıklarda ve yüksek tuz konsantrasyonlarında (%10) canlılıklarını sürdürebilmektedirler (Tablo 4).

Tablo 4. *Listeria* türü bakterilerin genel üreme koşulları Min. – Maks (Lado ve Yousef, 2007)

	Min-Max	Optimum
Sıcaklık (°C)	-1,5-45	30-37
pH	4,0-9,6	6,0-8,0
a_w	0,90	0,97

Listeria türlerinin şekerleri gaz oluşturmadan fermente edebilme özelliğinde oldukları tespit edilmiştir. Katalaz pozitif ve oksidaz negatif, buna ek olarak Metil-red ve Voges-Proskauer testlerinin de pozitif olduğu, indolün ise negatif olduğu belirtilmektedir. *Listeria*'ların üreyi hidrolize edememelerine karşın eskülini ve hippurati hidrolize ettiği belirlenmiştir (Seeliger ve Jones, 1986; Farber ve Peterkin, 1991) (Tablo 5).



Şekil 1. *L. monocytogenes* elektron mikroskobu görüntüsü (Medium, 2015'ten uyarlanmıştır)

Tablo 5. *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Wagner ve McLauchlin, 2008; Graves ve ark., 2010; Leclercq ve ark., 2010)

TESTLER	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. marthii</i>	<i>L. rocourtae</i>
Gram Boyama	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-
β -Hemoliz	+	+	-	-	±	-	-	-
Eskülin	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannitol	-	-	-	-	-	+	+	-
L-Ramnoz	+	-	±	±	-	±	+	-
D-Ksiloz	-	+	-	+	+	-	-	-
CAMP	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>	-	-	<i>S. aureus</i>	-	-	-

+: pozitif, -: negatif, ±: değişken

2.4. Gıdalarda *Listeria monocytogenes*'in Gelişimini Etkileyen Faktörler

Listerialar Brain Heart Infusion (BHI) ve Tryptone Soya Broth (TSB) besiyerlerinde üreyebilmesine karşın biotin, riboflavin, tiamin ve B vitaminlerine ihtiyaç duymaktadır. *L. monocytogenes*'in kontaminasyon yoğunluğu ve patojenitesi zorlu çevresel koşullardaki (sıcaklık, pH, a_w) üreme kabiliyeti üzerine doğrudan etki etmektedir.

2.4.1. Sıcaklık

L. monocytogenes geniş bir sıcaklık aralığında (0-45°C) üreyebilme özelliğine sahip olmasına karşın optimum üreme sıcaklığı 30-37°C arasındadır. Psikrotrofik bir bakteri olmasından dolayı yavaş da olsa buzdolabında muhafaza edilen gıdalarda da üreyebilmektedir (Erol, 2007). Listerialar'ın düşük sıcaklıklarda üreyebilmesini *ltrA*, *ltrB* ve *ltrC* genlerinin ekspresyonuyla oluşan proteinlerin sağladığı belirtilmiştir (Zheng ve Kathariou, 1997). Etken 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda uzun süre canlı kalabilmektedir. Ayrıca mikroorganizmanın 45°C'nin üzerinde de canlılığını sürdürebildiği tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiş sığır kıymasına 60 dakika boyunca 46°C'lik ısı işlemi uygulanmasından sonra ısı şoku uygulanmamış bakteriye göre D10 değerinde 1,4 kat artış görülmüştür (Novak ve Juneja

2003). Başka bir çalışmada *L. monocytogenes* suşlarına 48°C'de 120 dakika ısı şoku uygulanmış, ardından sosis hamuruna inokule edilerek 68°C ısı işlemi uygulanmış ve patojenin ısı direncinin arttığı tespit edilmiştir (Farber ve Brown 1990).

2.4.2. Sodyum Klorür (NaCl) Konsantrasyonu

L. monocytogenes halotolerant özellikte bir bakteri olduğundan sodyum klorürün üremeyi baskılayıcı etkisine dirençlidir. Etkenin çoğalması yüksek miktardaki tuz konsantrasyonunda engellenebilmektedir. McClure ve ark. (1989), *L. monocytogenes*'in %10 NaCl konsantrasyonunda 25°C'de 72 saat muhafaza edildiğinde üremeye devam ettiğini bildirmiştir.

Ayrıca, belli miktarda tuzun *L. monocytogenes*'in sıcak gibi bazı stres faktörlerinden korunmasında etkili olduğu saptanmıştır. Linton ve ark. (1995), tuz konsantrasyonunun %0'dan %4'e yükselmesiyle patojenin ısıya direncinde artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Faleiro ve ark. (2003) çalışmalarında, düşük konsantrasyondaki (%2-3) tuzun *L. monocytogenes*'i pH 3,5'de asit şokuna karşı direnç geliştirdiğini tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada düşük konsantrasyonlarda (%2-3,5) NaCl içeren ortamda ve düşük sıcaklıklarda *L. monocytogenes*'in nisine karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (De Martinis ve ark., 1997).

2.4.3. Su Aktivitesi

L. monocytogenes, en uygun 0,97 su aktivitesi (a_w) değerinde üremektedir. En düşük 0,90 a_w 'de üreyebilen suşlar olmakla birlikte 0,83 gibi çok düşük a_w değerinde uzun süre canlılığını sürdürebilmektedir (Shahamat ve ark., 1980). Petran ve Zottola (1989), *L. monocytogenes*'in %39,4 konsantrasyonundaki şeker solusyonunda 0,92 a_w değerinde üreyebildiğini bildirmişlerdir. Nolan ve ark. (1992), *L. monocytogenes*'in %0,6 yeast ekstraktlı TSB'de gliserol, NaCl ve şeker varlığında, 0,92 a_w değerinde üreyebildiğini bildirmişlerdir.

2.4.4. pH

L. monocytogenes, üremesi için optimum pH 6,0-8,0'dir. Ancak geniş bir pH aralığında (4,3-9,6) üreyebilmektedir (Jay ve ark., 2005). Düşük pH değerlerinde üreyebilmesi, sıcaklık, su aktivitesi, asidin türü, rutubet ve ürünün bileşimi gibi birçok etkene bağlıdır. Tripton broth içerisindeki %0,1 oranında asetik, sitrik ve laktik asidin *L. monocytogenes*'in üremesini baskıladığı, sıcaklığın düşmesiyle birlikte inhibisyonun

arttığı belirlenmiştir. Asetik asitin aynı pH değerinde laktik ve sitrik aside göre *L. monocytogenes* üzerine daha fazla yıkımlayıcı etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (Swaminathan ve ark., 2007). Yapılan bir çalışmada insan ve et kaynaklı 2 izolat 20 saat süre ile pH 2,5'e maruz bırakılmış, et kaynaklı izolatlarda önemli ölçüde azalma görülürken hastadan izole edilenlerde fazla bir etki görülmediği bildirilmiştir (Dykes ve Moorhead, 2000). Çoğu et ürününün pH değeri, hayvan türü ve uygulanan işleme göre 5,1-6,4 arasında değişmektedir. Bu nedenle etlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyonu gıda güvenliği açısından çok önemlidir.

2.4.5. Gaz-Atmosfer

L. monocytogenes, aerob, mikroaerofilik ve anaerob koşullarda üreyebilmektedir. Ancak modifiye atmosfer paketlemede (MAP) yüksek düzeyde CO₂ kullanıldığında düşük sıcaklıklarda *L. monocytogenes*'in üremesini baskıladığı tespit edilmiştir (Fernandez ve ark., 1997). Başka bir çalışmada vakumlu modifiye atmosferde %40 oranında bulunan CO₂'in *L. monocytogenes*'in gelişimine etki etmediği, hatta %5 oksijen bulunan ortamda %70 oranındaki CO₂'in bile, gelişimi baskılayamadığı tespit edilmiştir (Tunail, 2000).

2.4.6. Mikrobiyel Rekabet

Gıda maddeleri, ısı işlem uygulansa da daha sonra işleme veya paketleme aşamasında *L. monocytogenes* ile kontamine olabilmektedir. Ancak Listerialar'dan başka *Pseudomonas* gibi bozulma ve kokuşmaya neden olan bakterilerle de kontamine olabilmektedir. Rekabetçi özelliği olan bu mikroorganizmalar gıdanın raf ömrünü azaltabilmektedir (Lawlor, 1999).

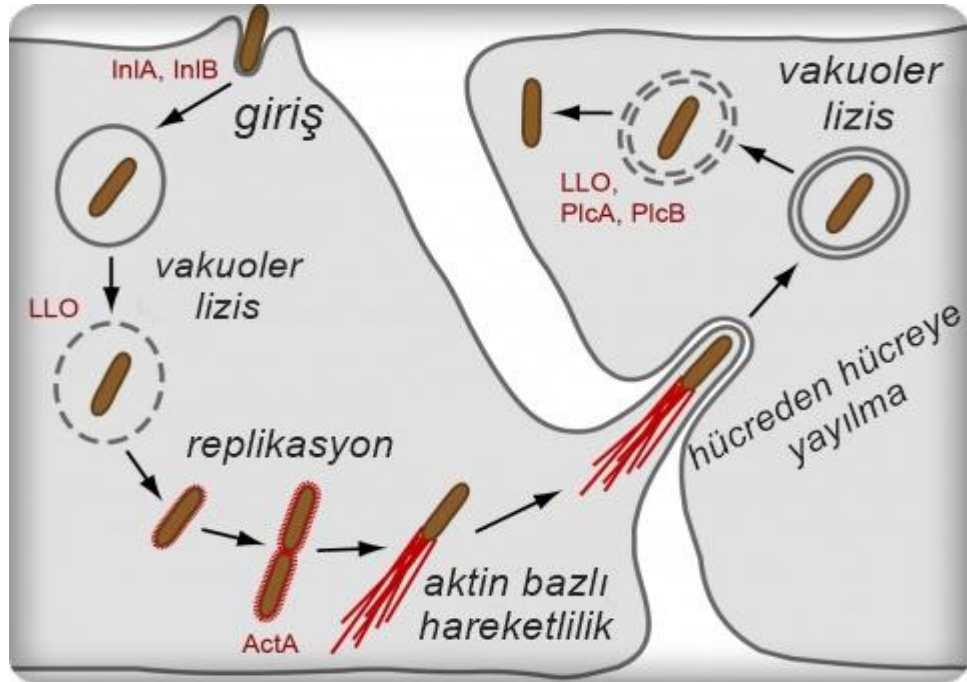
Raf ömrünü uzatmak için yapılan modifiye atmosfer paketleme, psikrotrof aerob bakterilerin üremesini engellerken, *L. monocytogenes* gıdada hiçbir bozulma belirtisi göstermeden infeksiyon oluşturabilecek seviyelere kadar üreyebilmektedir (Marshall ve ark. 1991). Laktobasiller, pediokoklar, leukonostoklar ve enterokokların içinde bulunduğu laktik asit bakterileri (LAB) oluşturdukları organik asitler ve bakteriosinlerle gıdalarda *L. monocytogenes*'e karşı rekabetçi etki göstermektedir. LAB'nin oluşturduğu laktik ve asetik asidin *Listeria* türleri üzerine inorganik asitlere göre daha fazla inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Farber ve ark., 1989a). Ayrıca, LAB'nin ve *Pediokok*

türlerinin ürettiği bakteriosinlerin *Listeria* spp.'nin üremesini baskıladığı bildirilmiştir (McCormick ve ark., 1998; Yousef ve ark., 1991; Degnan ve ark., 1992).

2.5. *Listeria monocytogenes*'in Patojenitesi

L. monocytogenes'in patojenitesinde konak hücrelerin makrofajlarında canlı kalabilmesi, bunu takiben hücre içerisinde çoğalması ve diğer hücelere yayılması etkili olmaktadır (Kum, 2009). *L. monocytogenes*'in sentezlediği internalin A (*InlA*) ve internalin B (*InlB*), epitel hücelere daha kolay girebilmesine yardımcı olurken, hücre içerisine girdikten sonra sentezlediği, listeriolizin O (LLO) ve fosfolipaz C vakuollerden korunmasına yardımcı olur. Ayrıca hücre içerisinde sentezlediği aktin transferaz protein (*ActA*) ve metalloproteaz (*Mpl*), etkenin hücre içi ve hücreler arası transferini sağlamaktadır (Şekil 2). Protein yapısındaki bu maddeler *L. monocytogenes*'in invazyon ve virulansına doğrudan etki etmektedir (Wagner ve McLauchlin, 2008).

L. monocytogenes'in patojenitesinde protein yapısında toksik bir hemolizin olan β -listeriolizin önemli rol oynamaktadır. β -listeriolizin, konak hücrelerinin sitoplazmik membranlarında porlar açarak geçirgenliklerini bozar ve parçalanmalarına sebep olur. Ayrıca kırmızı kan hücrelerini parçalayarak dokuların yapısını bozar (Çağlar ark., 2000; Kuhn ve Goebel, 2007).



Şekil 2. *L. monocytogenes*'in hücre içi döngüsü (Biolegend, 2017'den uyarlanmıştır)

Gıda ile alınan *L. monocytogenes*'lerin bağırsaktaki enterosit ve peyer plakları çevresinde bulunan fagositik hücreler tarafından alındıktan sonra bu hücreler içerisinde çoğaldıkları belirlenmiştir. Etken makrofajlar vasıtasıyla bağırsaktan kana veya lenf sistemine geçerek bu yolla karaciğer veya dalağa taşındıkları sırada çoğunluğu nötrofiller ve Kupffer hücreleri tarafından yok edilmekte, ancak konak bağışıklığının zayıf olduğu durumlarda *L. monocytogenes*'lerin hepatositler ve makrofajlar içinde çoğalarak kan yolu ile çeşitli organlara ulaştıkları bildirilmiştir. *L. monocytogenes*'in virülens faktörleri ile invazyonun şiddetini belirleyen kromozomlar üzerinde bulunduğu ve *prfA* (pleitropic transcriptional activator) geni ile doğrudan ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Renzoni ve ark., 1999).

2.6. *Listeria monocytogenes*'in Virülens Faktörleri

L. monocytogenes, insan ve hayvan hücrelerine invaze olabilen fakültatif hücre içi patojen bir bakteridir (Drevets, 1998). Etkenin sahip olduğu bazı genler, patojenitede rol oynamaktadır (Portnoy ve ark., 1992). Bunlar *prfA* geni tarafından regüle edilen *plcA* (fosfolipaz A), *plcB*, *hlyA* (hemolizin listeriolizin), *mpl* (metalloproteaz), *actA* ve invazyon genlerinden *inl*'(internalin) dir (Chakraborty ve ark., 1992).

L. monocytogenes konakçı hücrelere, sentezledikleri farklı proteinlerinle invaze olabilmektedir. InlA ve InlB ilk tanımlanan proteinler olup *L. monocytogenes*'in hücre yüzeyinde etki gösterirler (Peiris, 2005; Bhunia, 2008).

İnternalin A

800 amino asitten oluşan InlA, *L. monocytogenes*'in intestinal epitel hücrelerine invazyonunu sağlayarak intestinal bariyerin aşılmasında etkilidir (Peiris 2005). İntegral bir protein olan E-kaderin, intestinal epitel hücrelerinden salgılanır ve InlA'nın reseptörü olarak görev yapar (Güç, 2004). Bu iki protein arasındaki etkileşim, *L. monocytogenes*'in virulans kabiliyetinde doğrudan etkilidir (Peiris, 2005). Özellikle listeriozis olgularından izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarında InlA çoğunlukla tam uzunlukta sentezlenirken, gıdalardan elde edilen izolatlarda bu oran düşüktür. InlA, insan listeriozislerinin patojenitesini belirleyici etkenlerin başında gelmektedir (Schubert ve ark., 2002).

İnternalin B

630 aminoasitten oluşan ve etkenin birçok farklı hücre yüzeyine girerek hareket etmesini sağlayan bir proteindir. InlB'nin başlıca reseptörü hedef hücrelerde bulunan hepatosit büyüme faktörüdür (Jia ve ark., 2007).

Fibronektin bağlayıcı protein (Fbp)

L. monocytogenes'in beş farklı fibronektin bağlayıcı proteine (Fbp) sahip olduğu belirlenmiştir. Bu proteinlerden en önemlisi olan FbpA, diğer proteinlerden LLO ve InlB'nin seviyelerini düzenlerken, virülans proteinlerinin yıkılmasına da engel olur. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda karaciğer ve dalakta, insanların da epitel hücrelerinde bakterin kolonizasyonunda önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Peiris, 2005; Bhunia, 2008).

p60

Protein p60 *L. monocytogenes*'in en önemli hücre dışı proteindir. Hücre duvarı hidrolizisinde katalizör görevi gören p60 bütün patojen *Listeria* türlerinde bulunur (Peiris, 2005; Bhunia, 2008). Etkenin fagositik olmayan hücrelere girişine yardımcı olur (Kuhn ve Goebel, 2007).

Otolizin amidaz

L. monocytogenes'in hücre duvarından salınan Otolizin amidaz (Ami), hedef hücreye adhezyonu sağlar ve litik aktivitesi bakterinin hücre içerisine girişine yardımcı olur (Peiris, 2005; Bhunia, 2008).

Listeriolizin O

Listeriolizin O (LLO), vakuol membranını lize ederek *L. monocytogenes*'in sitoplazmaya geçişini kolaylaştıran, bakterinin por oluşturan toksini olarak bilinmektedir. Vakuol içerisinde pH'yı düşürerek yapısını bozmaktadır (Conlan ve North, 1992).

Aktin Transferaz Protein (ActA)

ActA, 639 amino asitten oluşan yüzey proteindir (Kuhn ve Goebel 2007). *L. monocytogenes*'in hücre içi evresi 4 aşamadan oluşur. Makrofajlarla hücre içerisine giriş (Gaillard ve ark., 1996), konak vakuolünden çıkış (Mounier ve ark., 1990), sitoplazma içerisinde çoğalma ve hücreden hücreye yayılma evreleridir (Marquis ve ark., 1995).

Hücreden hücreye yayılmada kullanılan konak hücrelerin aktin filamentlerinin polimerizasyonunda ActA önemli rol oynamaktadır (Mounier ve ark., 1990).

Sortases

Bakterinin hücre yüzey proteinlerini stabil hale getirerek, *L. monocytogenes*'in virülansını artırır (Peiris, 2005).

Auto

Otolitik aktivite gösteren auto, yüzey proteini olup, ökaryotik hücrelerin invazyonunda etkilidir. Enfeksiyonun başlangıç ve bitiş evrelerinde bulunmaktadır (Peiris, 2005).

Safra tuzu hidrolazı

Bağlı safra tuzlarını parçalayarak *L. monocytogenes* üzerindeki toksik etkisini ortadan kaldıran bir enzimdir (Peiris 2005).

2.7. PrfA'nın Aktivitesi ve Virülens Genlerine Etkisi

PrfA geninin, virülens faktörlerini etkileyen genlerin transkripsiyonu ve koordinasyonu sağladığı belirtilmiştir. *L. monocytogenes*'in virülens genleri *hlyA*, *plcA*, *mpl*, *actA*, *inlA* ve *inlB* olarak belirtilmiştir. Bu genlerin aktivasyonu için çevre sıcaklığının 37°C olması gerektiği bildirilmiş olup, bütün bu virülens faktörlerin enfeksiyon oluşumunda ve bakterinin yayılmasında etkili olduğu tespit edilmiştir (Smith ark., 1995; Kuhn ve Goebel, 2007).

2.8 Listeria monocytogenes'in Antibiyotik Dirençliliği

Patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı dirençleri, günümüzde insan ve hayvan sağlığı açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bilinçsiz antibiyotik kullanımının yaygınlaşması sonucu oluşan direnç, uygulanan tedavilerin etkinliğini önemli ölçüde azaltmıştır. Yapılan araştırmalarda *Listeria* türlerinin birçok antimikrobiyel maddeye karşı doğal olarak duyarlı veya dirençli olduğu belirlenmiştir (Hof, 1991). Troxler ve ark. (2000), tarafından yapılan çalışmada *Listeria*'ların tetrasiklin, penisilin, sefotaim, sefoperazon, aminoglikozid, linkozamid, rifampisin, kloramfenikol ve makrolid grubu antibiyotiklere karşı doğal olarak duyarlı, sefalosporin, sulfometakzol, pipemidik asit ve aztreonam grubu antibiyotiklere karşı doğal olarak dirençli olduğu rapor edilmiştir.

Çoğu bakteride gelişen antibiyotik direnci; kromozomal genlerdeki mutasyona, konjüгатiv plazmidler ve transpozonlar aracılığıyla yeni genlerin oluşmasına, transformasyona ve transdüksiyona bağlanmaktadır (Walsh ve ark., 2001; Chen ve ark., 2010). Farklı saprofitlerin direnç genleri, gastrointestinal sistemde, plazmid ve transpozonlar gibi hareketli genetik yapılar ile *L. monocytogenes*'e transfer olabilir. *L. monocytogenes* için dirençli genlerin yaygın kaynağının enterococci ve streptococci olabileceği belirtilmektedir (Charpentier ve ark., 1995; Walsh ve ark., 2001).

Listeria türlerinde oluşan antibiyotik dirençliliklerine başka bakteriler tarafından taşınan plazmidlerin de etkili olduğu anlaşılmıştır. *Enterococcus*, *Streptococcus*, *E. coli* ve *Staphylococcus* türü bakterilerin sahip olduğu dirençlilik genlerinin *Listeria* türlerine, yapılan invitro çalışmalarla aktarıldığı bildirilmiştir (Biavasco ve ark., 1996; Charpentier ve Courvalin, 1999).

ABD'de yapılan araştırmada, bir süt çiftliğinden izole edilen 38 *L. monocytogenes* izolatında sefalosporin, streptomisin, trimetoprim, ampisilin, rifampisin, florfenicol, tetrasiklin, penisilin G ve kloramfenikol grubu antimikrobiyel ajanlara karşı belirli oranlarda direnç tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada *L. monocytogenes* izolatlarında birçok yeni antimikrobiyel dirençlilik ile ilgili gen bölgelerine rastlanılmıştır (Perreten ve ark., 1997; Srinivasan ve ark., 2005).

Çin'de yapılan bir çalışmada çeşitli gıdalardan izole edilen 70 *L. monocytogenes* izolatının 14'ünde tetrasikline, 2'sinde eritromisin ampisilin ve kloramfenikole, 1'inde ise penisilin ve vankomisine karşı direnç saptanmıştır (Yan ve ark., 2010).

Harakeh ve ark. (2009) tarafından Lübnan'da 164 yerel peynir çeşidinde yapılan çalışmada; örneklerin %70,6'sında *Listeria* spp. tespit edilmiş olup bunun %47,72'sinin *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir. Yapılan antibiyotik dirençlilik testleri sonucunda izolatların %93,33'ünün oksasiline ve %90'nının da penisilin G'ye direnç kazandığı belirlenmiştir.

Hansen ve ark (2005), 1958-2001 yılları arasında Danimarka'da insan listeriozislerinden izole edilen *L. monocytogenes* bakterileri üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında 106 izolatın gentamisin, eritromisin, ampisilin, penisilin G, tetrasiklin, meropenem, vankomisin, sülfametoksazol, trimetoprim, kloramfenikol ve linezolidde duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Conter ve ark. (2009), çalışmalarında 120 *L. monocytogenes* izolatının 14'ünde en az bir antibiyotiğe dirençlilik tespit etmişlerdir. Araştırmada, tek antibiyotiğe karşı dirençliliğin çoklu dirençliliğe göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. İzolatların %8,3'ünde bir antibiyotiğe, %2,5'inde iki antibiyotiğe, %0,8'inde ise beş antibiyotiğe karşı direnç saptanmıştır (Conter ve ark., 2009).

Srinivasan ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada 4 süt işletmesinden elde ettikleri 38 *L. monocytogenes* izolatının tamamının, streptomisin, trimethoprim ve sefalosporin C'ye dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca izolatların büyük çoğunluğunun florfenikol, ampisilin ve rifampisine, yaklaşık yarısının penisilin G, kloramfenikol ve tetrasikline dirençli, gentamisin, kanamisin, eritromisin, vankomisin ve amoksisiline duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

L. monocytogenes'in günümüze kadar sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesinden dolayı tedavi seçenekleri de değişmiştir (Hof, 1991). Önceleri listeriozis tedavisinde tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, penisilin ve ampisilin kullanılırken (Charpentier ve Courvalin, 1999), günümüzde listeriozis tedavisinde penisilin, ampisilin, gentamisin veya bunların kombinasyonlarının kullanılması önerilmektedir (Osman ve ark., 2016).

2.9. *Listeria monocytogenes*'in Neden Olduğu Hastalıklar

2.9.1. Hayvanlarda Listeriosis

L. monocytogenes insan ve hayvanlarda, *L. ivanovii* ise özellikle gebe koyunlar başta olmak üzere hayvanlarda patojen, diğer türler ise apatojendir (Allerberger, 2003). Tavuklarda ilk izolasyon 1932 yılında New Jersey'de yapılmıştır. Tavuklarda listeriozis klinik olarak genelde sporadik bazen ise epidemik seyretmekte olup mortalite %40'a kadar çıkabilmektedir. Gençler yaşlılara oranla hastalıktan daha fazla etkilenmektedirler (Gray, 1958; Gray ve Killinger, 1966).

Tavuklarda hastalığın septisemi ve ensefalitis olmak üzere iki formu görülmektedir. Septisemik olarak seyreden tabloda iç organlar ve beyinde lezyonlar görülür. Karacigerde fokal nekroz odakları, dalakta büyüme ve nekroz, kalpte miyokardiyal dejenerasyonlar, büyüme ve perikardial boşlukta sıvı toplanması gözlemlenir. Ayrıca pulmoner ödem, peritonitis enteritis, konjunktivitis görülebilmektedir. Ensefalik formda semptomlar merkezi sinir sistemi ile ilgili olmakla birlikte en önemli semptom olarak tortikollis gözlenmektedir (Gronstol, 1986).

2012 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde hayvanlarda yapılan listeriozis çalışmasında geçmiş yıllarla paralel olarak en yüksek oranın keçi ve koyunlarda olduğu bildirilmiştir. Özellikle Almanya'da koyunların %14,5'inde *L. monocytogenes* izole edilmiştir (EFSA, 2014).

Gebe hayvanlarda uterus enfeksiyonu nedeniyle abort, ölü doğum veya doğumdan sonra bir ay içerisinde yavru ölümleri görülebilmektedir. Yavrularda visceral veya septisemik enfeksiyonlar, ayrıca yürüyüş bozuklukları ve felç semptomlarının görüldüğü ensefalitis, koyun, keçi ve sığırlarda daha sık görülmektedir. Etken memelere yerleşirse mastitise neden olmakta ve sütle bakteri yayılabilmektedir (Kınık ve ark., 1998).

Kaşmir'deki koyun çiftliklerinde yapılan bir araştırmada 52 düşük ve ölü doğum vakası incelenmiş, *L. monocytogenes* kaynaklı listeriozis prevalansı %15,4 (8 örnek) olarak tespit edilmiştir (Sharif ve ark., 2011).

L. monocytogenes sağlıklı görünen hayvanların dışkılarından da izole edilmiştir. Bu nedenle etken dışkı ile çevreye bulaşabilmekte, dolayısıyla insan ve hayvanlara bulaşabilmektedir (Gray ve Killinger, 1966).

2.9.2. İnsanlarda Listeriozis

I. Dünya Savaşı sırasında bir askerde görülen menenjit olgusu insanlarda görülmüş ilk listeriozis vakası olarak kayda geçmiştir. Ancak etkenin patojenitesi, Almanya'da 1949 yılında bebeklerde görülen epidemik listeriozis vakalarında, bakterinin ekstraintestinal sistemlerde oluşturduğu bozuklukların tespit edilmesiyle kesinleşmiştir (Hof, 2003).

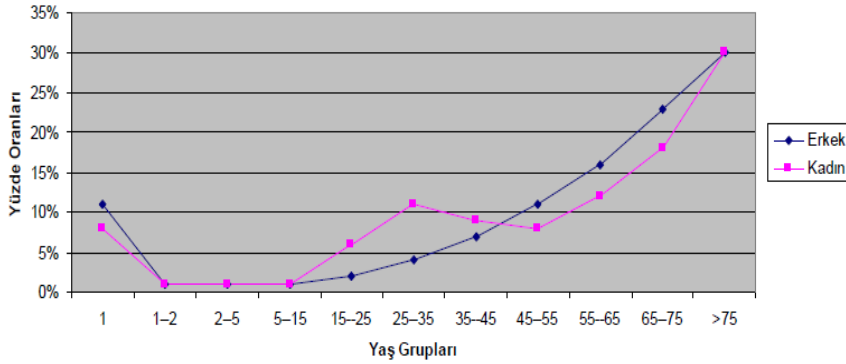
İnsanlarda oluşan listeriozis olgularının neredeyse tamamının gıda kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Mortalite oranının %30'a kadar çıkabilmesi nedeniyle gıda kaynaklı enfeksiyonlar içerisinde ayrı bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Adak ve ark., 2002; Mead ve ark., 1999).

L. monocytogenes olumsuz çevresel koşullarına karşı dirençli bir bakteridir. Asidik koşullara olan direnci, etkenin mideden bağırsaklara geçişine imkan sağlamaktadır. Bağırsaklardan da kan yoluyla vücudun diğer organlarına dağılmak suretiyle hastalık semptomlarını oluşturmaktadır. Hastalığın inkübasyon periyodu 3 - 70 gün arasındadır (Voetsch ve ark., 2007). Diyare, kusma, ateş gibi genel semptomlarla

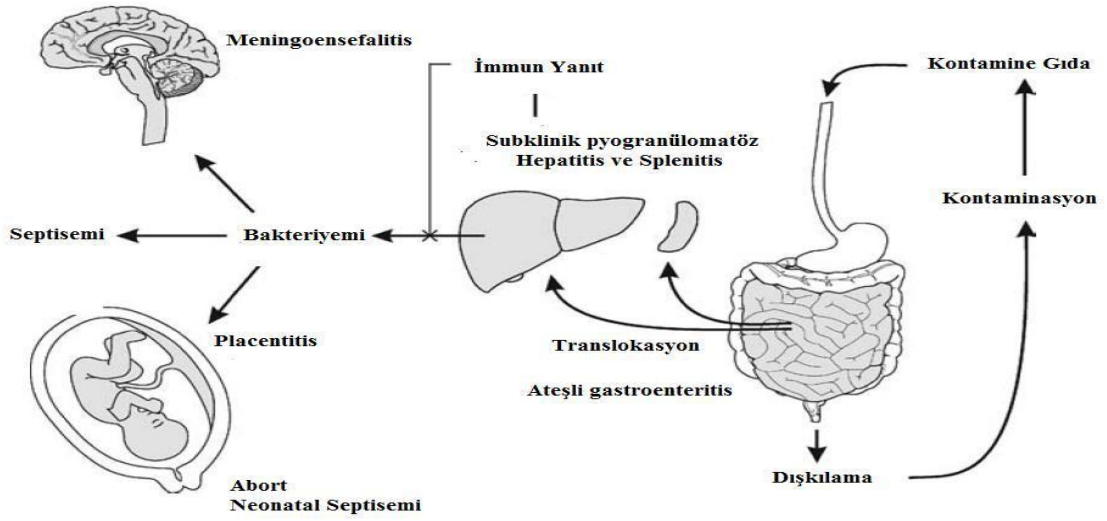
başlayan hastalık, ilerleyen evrede konjunktivit, hepatit, osteomyelit, menenjit, meningoensefalit gibi ciddi semptomlarla devam etmektedir (Şekil 3).

Enfektif doz kesin olarak bilinemesi de 1000'den az bakterinin bile enfeksiyon oluşturabileceği bildirilmiştir (Mead ve ark., 1999). Hastanın bağışıklık durumuna göre çocuklarda, yaşlılarda, HIV virüsü taşıyıcılarında ve hamile kadınlarda mortalite oranının %30'a kadar çıkabildiği bildirilmiştir. Sağlıklı yetişkinlerde *Listeria* kaynaklı enfeksiyonların oranı düşüktür. Her 100.000 kişide yaklaşık 0.7 vakayla karşılaşmıştır. Bununla birlikte, çocuklarda enfeksiyon, 100.000 kişi başına 10 vaka, yaşlılarda da 100.000 kişi başına 1.4 vaka ile daha sıktır (Tablo 6). Hamile kadınların sağlıklı yetişkinlere göre hastalığa yakalanma oranının da 17 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Gellin ve ark., 1991).

Tablo 6. ABD'de 2000-2004 yılları arasında bildirilen listeriozis vakaları (Painter ve Slutsker 2007)



L. monocytogenes'in hamilelerde abort, ölü doğum, premature doğumlar veya neonatal enfeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir. Bağışıklık sistemiyle doğrudan ilgili olsa da genellikle hamileliğin üçüncü döneminde hastalığın ortaya çıktığı bildirilmiş ve hastalık nedeniyle oluşan ölü doğum ve abort oranının %16 ile %45 arasında değiştiği bildirilmiştir (Siegman-Igra ve ark., 2002).



Şekil 3. İnsanlarda Listeriozis Komplikasyonları (Kuhn ve ark 2008'den uyarlanmıştır)

Genel olarak listeriozis, semptomlarına göre invazif ve invazif olmayan olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır (Tablo 7). İnvazif olmayan form gastrointestinal belirtilerle karakterizedir. İnvazif form ise etki ettiği organ veya dokuya göre; yeni doğan listeriozisi olarak da bilinen akut septik form; menenjit, ensefalit ve ensefalomiyelite neden olan merkezi sinir sistemi formu; lokal form (deri listeriozisi, konjunktivit); glandular form (lenfadenit) ve endokardit, apse olgularıyla karakterize kronik septik form olmak üzere 5 farklı formda şekillenebilir (Erol, 2007).

Tablo 7. Yetişkin listeriozis ile ilişkili İnvazif ve Non-İnvazif sendromların özellikleri (Donnelly, 2001)

LİSTERİOZİS		
İNVAZİF		NON-İNVAZİF
İnkübasyon süresi 20-30 gün		İnkübasyon Süresi 18-20 saat
Gebe olmayan	Gebelik	
Zatürre	Ateş	Ateşli mide iltihabı
Konjunktivit	Baş ağrısı	Ateş
Endokardit	Kas ağrısı	Yorgunluk
Menenjit	Sırt ağrısı	Halsizlik
Meningoensefalit	Erken doğum	Baş ağrısı
Nonmenenjitik	Amniyonit	Mide bulantısı
MSS Enfeksiyonu	Düşük	Kramp
Septisemi	Ölü doğum	Kusma
	Erken doğum	İshal
	Kan zehirlenmesi	
	Granüloamatöz	
	Menenjit	

2.10. *Listeria monocytogenes*'in Kontaminasyon Kaynakları

2.10.1. Gıda

L. monocytogenes'in gıdalara bulaşması, çiftlikten sofraya gıda zincirinin tüm basamaklarında gerçekleşebilir. Bulaşma miktarı, gıda üretim zincirindeki yerine ve besin türüne göre değişebilmektedir. Etken çiğ et, kümes hayvanları, deniz ürünleri ve bazı meyve ve sebzelerle taşınabilmekte ancak ısı veya kimyasal işlemler gibi yöntemlerle yıkımlanmaktadır. İşlenmiş gıdalar yetersiz termal proses veya çapraz bulaşmayla tekrar rekontamine olarak halk sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir (Swaminathan ve ark., 2007). Farklı ülkelerde sporadik ve epidemik listeriozis vakaları bildirilmiştir (Tablo 8)

Artan dünya nüfusu, toplu yaşam ve çevre kirliliği gibi nedenlerle son yıllarda artan gıda kaynaklı hastalık ve sosyo-ekonomik problemlerin çözümüne yönelik bir çok bilimsel araştırma yapılmış ve elde edilen verilerin uygulanmasıyla önemli mesafeler

katedilmiştir. Bunların sonucunda güvenilir ve sağlıklı gıda üretimi amacıyla, yönetim etkinliğini ön plana çıkarma konusunda kontrol sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemlerden bazıları, Uluslararası Standardizasyon Örgütü tarafından (International Standardisation for Organisation “ISO”) hazırlanan ISO 22000 Gıda Standardı ve sistemleri, Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları (Hazard Analysis and Critical Control Points “HACCP”) prensipleri, Güvenilir Kaliteli Gıda (Safe Quality Food “SQF”) Üretim Programı, İngiliz Perakende Şirketler Birliği (British Retail Consortium “BRC”) Teknik Standart ve Protokolü, Uluslararası Gıda Standardı (International Food Standart “IFS”) ile İyi Tarımsal Uygulamalar Küresel Ortaklık (The Global Partnership for Good Agricultural Practices “GLOBALGAP”) sistemleri olarak sayılabilir (Başoğlu, 2011; Artık ve ark., 2017).

Ancak bu sistemler gıda üretici, tedarikçi ve perakendecilerini kapsamaktadır. Ürün tüketiciye ulaştıktan sonra tüketime kadar uygun koşullarda muhafaza edilmesi gıda güvenliği açısından önemlidir. Uygun depolama ve yeterli ısıl işlem enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak için büyük önem taşımaktadır.

Tablo 8. Dünyada görülen bazı listeriozis vakaları

YIL	YER	VAKA SAYISI	ÖLÜM ORANI	HASTALIK KAYNAĞI	KAYNAK
1966	Almanya	279	39	Süt ürünleri	McLauchlin ve ark. 2004
1976	ABD	20	25	Çiğ salata	McLauchlin 1997
1980	Yeni Zelanda	22	32	Çiğ balık	Karunasagar 2000
1981	Kanada	41	34	Lahana salatası	Cjazka ve Batt 1994
1983	ABD	49	29	Pastörize süt	Fleming ve ark. 1985
1983-87	İsviçre	122	28	Yumuşak peynir	Lunden ve ark. 2004
1985	ABD	142	21	Meksika peyniri	Cjazka ve Batt 1994
1986-87	ABD	36	44	Dondurma, salam	Farber ve Peterkin 1991
1987-89	İngiltere	355	26	Çiğer ezmesi	Farber ve Peterkin 1991
1989	ABD	10	10	Karides	Farber ve Peterkin 1991
1990	Avustralya	9	0	Çiğer ezmesi	McLauchlin ve ark. 2004
1992	Fransa	279	32	Domuz eti	Valk ve ark. 2001
1992	Yeni Zelanda	4	25	Tütsülenmiş midye	Valk ve ark. 2001
1993	Fransa	279	0	Domuz dili	Valk ve ark. 2001
1993	Fransa	38	26	Domuz ezmesi	Valk ve ark. 2001
1994-95	İsveç	6	16	Tütsülenmiş alabalık	Loncarevic ve ark. 1998
1995	Fransa	17	24	Yumuşak peynir	McLauchlin 1997
1997	İtalya	1566	0	Mısır salatası	McLauchlin ve ark. 2004
1998	ABD	108	22	Hindi sosisi	Czuprynski ve ark.2003
1998-99	Finlandiya	25	24	Tereyağı	Lyytikainen ve ark. 2000
1999	Fransa	32	31	Jöleli domuz dili	Valk ve ark. 2001
2000	ABD	12	42	Meksika tipi peynir	MacDonald ve ark. 2005
2002	ABD	53	21	Tavuk ve hindi eti	Gottlieb ve ark. 2006
2006	Almanya	6	16	Harz peyniri	Efsa 2007
2009	Avusturya	25	20	Peynir	Efsa 2011
2011	ABD	146	21	Kavun	CDC 2011
2014	Danimarka	38	39	Salam, sosis	Foodsafetynews 2014

2.10.2. Çevre

L. monocytogenes, tabiatta yaygın olarak bulunması ve gıda işleme tesislerinde bir çevre bulaşanı olarak rol oynaması nedeniyle gıda endüstrisi için temel bir sorun oluşturmaktadır. Gıda üretim tesislerinin çevresindeki su, nem, organik besin maddeleri, uygun yüzeyler ve ideal sıcaklık bu patojenin üreyerek çoğalması için en elverişli şartları oluşturmaktadır. Bu şekilde çoğalan mikroorganizmalar çapraz kontaminasyonla gıda işleme ortamlarına taşınarak gıda işleme araçlarına yerleşebilmektedir. Bu şartlarda üretilen gıda ürünleri de kolaylıkla kontamine olabilmektedir (Saini, 2008).

Kanalizasyon, zemin, duvarlar, kemirgenler ve böceklerin girebileceği alanlar ile havalandırmalar kontaminasyona imkan sağlayan çevresel faktörlerdir (USDA, 2001).

Ayrıca sanitasyon için kullanılan su, yeterli dezenfeksiyon sağlanamadığı durumlarda *L. monocytogenes*'in daha hızlı çoğalmasına neden olur. Bu nedenle özellikle suyun yoğun olarak kullanıldığı bölümlerde dezenfeksiyona daha fazla önem verilmelidir (MAF, 2011). Kontaminasyonu engellemek için ürün işleme prosesinde risk oluşturabilecek kritik kontrol noktaları belirlenerek, önleyici tedbirler titizlikle uygulanmalıdır.

2.10.3. Alet-Ekipman

L. monocytogenes, gıdaların taşınması, depolanması veya hazırlanması için kullanılan ekipmanlarda da bulunabilmektedir. Dilimleme makineleri, gıda taşıma araçlarının tekerlekleri, soğutulmuş depolama birimleri, parçalama, işleme masalarında çatlaklar ve soğutma odaları ile, gıda ile temas eden herhangi bir yüzey de (bıçaklar, kesme tahtaları, eldivenler veya bambu paspaslar) *L. monocytogenes*'in potansiyel bir bulaş kaynağı olabilmektedir (FDA, 2013).

Nem ve sıcaklığın uygun olduğu şartlarda birçok bakteri türü biyofilm olarak bilinen hücre dışı polimerik maddeler tarafından oluşturulan üç boyutlu jel benzeri matrixler ile, çeşitli yüzeylere tutunarak kolonize olabilmektedir (Zhou ve ark., 2011). Mikrobiyel topluluklar olan biyo-filmler; patojen ve sporlu bakteriler için rezervuar ve gıda kontaminasyonunun kaynağı olabilirler (Djordjevic ve ark., 2002; Lemon ve ark., 2007).

L. monocytogenes'in işletme çevresi ile alet ve ekipmanlardaki direnci; oluşturduğu biyofilmden kaynaklanmaktadır (Lourenço ve ark., 2013). Biyofilm, bir iç direnç mekanizması sonucu oluşur. Bu durum fizyolojik direnç olarak bilirse de aslında

bir fizyolojik (fenotipik) adaptasyondur. Bu yolla oluşan direncin, glikokaliks bileşimi, hücre dışı enzimler, sınırlı besin, dezenfektanın hücrelere ulaşamaması gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Doyuk, 2007).

İşletmelerde *L. monocytogenes* izole edilen yüzeyler; duvarlar, soğutma boruları, doldurma ve paketleme ekipmanları, zemin giderleri, konveyör, diziciler, eldivenler, derin donduruculardır. Listeriaların bu alanlarda canlılıklarını büyük ölçüde oluşturdukları biyofilmle koruyabildikleri belirlenmiştir (Djordjevic ve ark., 2002).

Pociecha ve ark. (1991), Yeni Zelenda’da yaptıkları çalışmada koyun karkası ve kesimhane çevresinden aldıkları 218 örnekte; etin temas ettiği yerlerden ve karkastan *L. monocytogenes* tespit edememişler ancak karkasın depolandığı 5°C’ye ayarlı soğuk odadan 7 izolat tespit etmişlerdir. Bu da etkenin çevresel şartlarına karşı dirençli olduğunu göstermektedir.

2.10.4. Personel

L. monocytogenes diğer patojenler gibi bazı insanların gastrointestinal kanalında bulunabilmektedir. Sağlıklı erişkinlerin %1-10'unun dışkısında *L. monocytogenes* bulunduğu belirlenmiştir. Yetersiz el yıkama veya kirli üniformalar gibi kişisel hijyen yetersizlikleri, gıda ve ekipmanın *L. monocytogenes* ile kontamine olmasına neden olmaktadır (Gahan ve ark., 2014).

Hastalık belirtisi göstermeyen insanlar ve hayvanlar etkeni dışkıları ile etrafa saçabilirler. Dışkı ile etken çevreye yayılarak toprak, su kaynakları, hayvansal gıdalar başta olmak üzere gıda maddelerini kontamine ederek, insan ve hayvan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır (Abay ve ark, 2012).

Yapılan bir araştırmada sağlıklı insanların fekal örneklerinin %2-6’sından *L. monocytogenes* izole edilmiştir (Montville ve Matthews, 2008).

2.11. *Listeria monocytogenes*'in Çeşitli Gıdalarda Varlığı

Yapılan araştırmalarda listeriozis vakalarının önemli bir bölümünün kontamine gıdalardan kaynaklandığı saptanmıştır. Etken süt ve süt ürünleri (peynir, dondurma) kırmızı et, kanatlı eti, su ürünleri, sebzeler ve gıda üretim işletmelerinden izole edilmiştir (Amagliani ark., 2007; Millet ark., 2006).

Gıdalarda *L. monocytogenes* bulunmasının en önemli nedeni çapraz kontaminasyondur. Üretim aşamasında hijyen kurallarına uyulmaması, yetersiz personel

hijyeni, işlenmiş ürünle ham maddelerin aynı yerde depolanması, çapraz kontaminasyonun en önemli nedenlerindedir. Ayrıca işletmelerdeki yetersiz temizlik ve dezenfeksiyon da diğer bütün patojenler gibi *L. monocytogenes*'in varlığını doğrudan etkilemektedir. *L. monocytogenes* çevresel faktörlere karşı dirençli olduğundan canlılığını uzun süre koruyabilmektedir. Bu nedenle de doğada yaygın olarak bulunabilmektedir (Çolak ark., 2008).

Yapılan çalışmalarda *L. monocytogenes*'in temiz deniz suyunda, yüzey ve kaynak sularında çok nadir görülebildiği bildirilmiştir. Fakat körfez, nehir ve kanalizasyon suları ile endüstriyel ve tarımsal atıkların bulaştığı sularda *Listeria* türleri yüksek oranda bulunabilmektedir (Liu ve ark., 2006).

Temiz sulardan elde edilen su ürünlerinde *L. monocytogenes* nadir olarak görülmüştür. Ancak insan yerleşimine yakın sulardan ve su ürünleri yetiştirme çiftliklerinden elde edilen ürünlerde kontaminasyon riskindeki artış nedeniyle *L. monocytogenes*'in daha yüksek oranda tespit edildiği belirtilmiştir (Hansen ve ark., 2006).

Yapılan bir araştırmada ABD'nin Misisipi eyaletinde satışa sunulan yayın balığı filetolarından *Listeria* türleri, özellikle *L. monocytogenes*'in izole edildiği bildirilmiştir (Chou ve ark., 2006).

Ülkemizde yapılan bir araştırmada ise Ankara ilinde satışa sunulan dumanlanmış vakum paketlenmiş balık örneklerinin %2,6'sında *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Avcıbaşı 2005).

Bitkilerde *L. monocytogenes* varlığı ilk kez 1968 yılında Welshimer tarafından bildirilmiştir. ABD'nin Virginia eyaletinde incelenen çeşitli bitki örneklerinden 8'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Welshimer, 1968).

L. monocytogenes'in kırmızı et ve et ürünlerinde bulunuşu ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. *L. monocytogenes* kasaplık hayvanların doğal floralarında bulunabildiğinden kesim işlemi ve ürün işleme esnasında hijyenik koşullar sağlanamadığı takdirde *L. monocytogenes*'in karkasa bulaşabileceği bildirilmiştir (Farber ve Peterkin, 1991).

İngiltere'de 1989 ve 1990 yıllarında meydana gelen 300 kişinin etkilendiği listeriozis vakasının köfteden kaynaklandığı bildirilmiştir (McLauchlin ve ark., 1991). Yine 1992 yılında Fransa'daki bir diğer listeriozis vakasında 279 kişinin *L.*

monocytogenes 4b'den etkilendiği ve zehirlenmelerin domuz dilinden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Jacquet ve ark., 1995).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, Ankara'da satışa sunulan et ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve antibiyotik dirençliliklerini belirlemek için 146 örnek incelenmiş, bu örneklerden %54,1'inin *Listeria* türleri ile bulaşık olduğu tespit edilmiş olup, elde edilen izolatların %6,16'sının *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir (Yücel ve ark., 2005).

L. monocytogenes'in süt ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunabildiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Sütte *L. monocytogenes*'in insidensinin %2,6 ile %28 arasında olduğu tespit edilmiştir (Navratilova ve ark., 2004; Oliver ve ark., 2005). Hatalı ve yetersiz pastörizasyon süt kaynaklı listeriozis vakalarının en önemli nedenidir (Waak ve ark., 2002).

Gıda endüstrisinin gelişmesi ve insanların yoğun çalışma koşulları sonucunda tüketime hazır gıdalar pratik olmaları nedeniyle çok daha önemli hale gelmiştir. Pişirilmiş ya da ön pişirme uygulanmış sebzeler, salatalar, et ve et ürünleri paketlenerek satışa sunulmaktadır. Bu tür ürünler soğuk ya da dondurulmuş olarak muhafaza edilmelerine rağmen listerialarında yer aldığı psikritrof organizmalar açısından riskli gıdalar arasında yer almaktadır (Rantsiou ark., 2008).

FDA ve Amerika Tarım Teşkilatı / Gıda Güvenliği ve İnceleme Birimi (USDA/FSIS), yaptıkları risk değerlendirme araştırmalarında, tüketime hazır gıdalar arasında şarküteri ürünlerinin, *L. monocytogenes* enfeksiyonları açısından en yüksek riske sahip gıdalar olduğunu bildirmiştir (Zhang ve ark., 2012).

Uyttendaele ve ark. (2009) tarafından Belçika'da yapılan bir araştırmada 1187 mayonezli salata, 639 et ürünü ve 90 füme balık *Listeria* varlığı yönünden incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre mayonezli salataların %6,7'sinin, et ürünlerinin %1,1'inin ve füme balıkların da %27,8'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde, Şireli ve Gücükoğlu (2008) tarafından yapılmış bir çalışmada Ankara ilinde satışa sunulan toplam 100 tüketime hazır gıda (rus salatası, kadınbudu köfte, arnavut ciğeri, midye dolma ve yeşil salata) örneği *Listeria* türleri yönünden incelenmiştir. Çalışma sonucunda, örneklerin %13'ünün *Listeria* türleri ile kontamine olduğu tespit edilmiş, 2 yeşil salata ile 1 rus salatasından da *L. monocytogenes* izole edildiği bildirilmiştir.

2.11.1. Kanatlı Etlerinde *Listeria* spp. Varlığı

Kanatlı eti üretiminin son yıllarda dünya genelinde artışı ve kanatlıların floralarında *Listeria* türlerinin bulunuşu, konuyla ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına zemin hazırlamıştır. Kanatlı kesimhane ve parçalama tesislerinde makine ve ekipmanlarda oluşabilecek hatalar ile personel ve işletme hijyenindeki eksiklikler çapraz kontaminasyon riskini arttırmaktadır (Roberts, 1990).

Genigeorgis ve ark. (1989) tarafından yapılan çalışmada incelenen 160 tavuk eti örneğinde %40,6 oranında *Listeria* spp. izole edilmiştir. İzolatların %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 etmişlerdir. Aynı örnekler + 4°C'de 4 gün bekletildikten sonra ise izolasyon oranının sırasıyla %40, %52 ve %72 olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Pakistan'da yapılan bir çalışmada kanatlı satış yerleri, süpermarketler ve alışveriş merkezlerinden alınan 320 kanatlı eti ve ürünleri ile kesim ekipmanları ve personel kıyafetleri olmak üzere (taze kanatlı eti, taze kemiksiz tavuk, dondurulmuş kanatlı eti, dondurulmuş tavuk nuggetları, dondurulmuş tavuk burgerleri, kesme tahtaları, dilimleme tahtaları ve çalışanların kıyafetleri) yapılan çalışmada, çalışılan tüm örneklerin 76'sında *Listeria* türleri izole edilmiştir. *L. monocytogenes* tespit edilen 31 örnekten 23'ü Tip 1'e ve 8'i Tip 4'e ait bulunmuştur. Araştırma sonucunda donmuş tavuk etlerinde taze tavuk etlerine göre daha yüksek oranda *L. monocytogenes* saptanmıştır (Mahmood ve ark., 2003).

Norveç'te yapılan bir çalışmada 7 tavuk kesimhanesi ve 2 işleme tesisinden alınan 385 çiğ ve işlenmiş tavuk örneği incelenmiş, ızgaralık hazırlanmış piliçlerde daha düşük oranda *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Yedi kesimhanenin 2'sinden alınan tavuk karkaslarında *L. monocytogenes* bulunamamış, diğer 5 kesimhaneden alınan tavuk karkaslarında ise %20 ile %100 arasında *L. monocytogenes* varlığı tespit edilmiştir. Çiğ tavuk ürünlerindeki mikroorganizma miktarı genelde 100 kob/g altında olsa da *L. monocytogenes* varlığı saptanan 123 örneğin 17'sinde 2-3 log kob/g *L. monocytogenes* ve 14'ünde de 3-4 log kob/g arasında *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* dışında *L. innocua* ve *L. welshimeri* de örneklerden izole edilmiştir (Rorvik ve ark., 2003).

Çiftçioglu ve ark. (1992) tarafından İstanbul'da yapılan bir çalışmada 100 tavuk eti örneği incelenmiş, LSA ve PALCAM Agar besiyerlerinin her ikisinde de %3 oranında *L. monocytogenes*, %14 oranında *L. innocua*, izole edildiği bildirilmiştir.

Rijpens ve ark. (1997), Polimer Zincir Reaksiyonu (Polimer Chain Reaction; PCR) metoduyla yaptıkları analizlerde tavuktan elde edilen gıda maddelerinde %35,5 oranında *Listeria* spp. pozitif bulmuşlar ve paketli ürünlerde kontaminasyon oranının (%11,1) paketlenmemiş ürünlere göre (%41,7) daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Kwantes ve Isaac (1975), yaptıkları bir araştırmada 64 donmuş tavuk örneğinden 41'inde , 38 taze tavuk örneğinden 19'unda *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.

Gitter (1976), 56 dondurulmuş, 6 taze toplam 62 tavuk eti örneğinden 60 *L. monocytogenes* izole etmiştir, bu izolatların suşlarının serotip 1\2, 3a, 3b, 3c, 4b, 4d grubu olduklarını bildirmiştir.

Soultos ve ark. (2003), Kuzey İrlanda'da yaptıkları bir araştırmada süpermarketlerde satışa sunulan paketlenmiş tavuk kanadı ve tavuk göğsü ürününden 80 paketinden 205 örnekte *Listeria* spp. izolasyonu yapmışlardır. Analiz edilen 80 paketin 38'inde *Listeria* spp. saptanmış ve bu 38 örneğin 14'ünde de *L. monocytogenes* varlığını tespit etmişlerdir.

Alsheikh ve ark. (2013), Sudan'da dondurulmuş olarak satışa sunulan 50 tavuk burger, 50 tavuk köfte, 50 tavuk sosisi, 50 tavuklu sandviç ve 50 İtalyan usulü tavuk sosisi olmak üzere toplam 250 hazır tavuk ürünüde ISO metodunu kullanarak *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. 250 örneğin 95'inde (%38) *Listeria* spp. tespit etmişlerdir. Örneklerden elde edilen izolatların %20,8'inin *L. ivanovi*, %13,6'sının *L. monocytogenes*, %1,6'sının *L. grayi*, %1,2'sinin *L. welshimeri* ve %0,8'inin *L. seeligeri* olduğunu bildirmişlerdir.

2.12. Gıda İşleme Tesislerinde *Listeria monocytogenes*

Doğada geniş bir yaşam alanına sahip olan *L. monocytogenes*, gıda işleme tesislerinde gerekli tebirlerin alınmaması durumunda gıda endüstrisi için önemli bir problem oluşturabilmektedir. Organik besin maddelerinin bulunduğu nemli ortamlar, ideal sıcaklıklarda mikroorganizmaların üremeleri için uygun yerlerdir. Çevrede çoğalan bu mikroorganizmalar çeşitli alet-ekipman, araç-gereç ve personeller aracılığıyla işleme tesislerine ulaşabilmektedir. Böylelikle gıda ürünlerinde kontaminasyon riski artmaktadır (Møretro ve Langsrud, 2004; Saini, 2008).

L. monocytogenes, gıdalardaki çoğu patojenin üreyemediği buzdolabı sıcaklıklarında (4°C'den 10°C'ye kadar) gelişebildiği için gıdalarda ayrı bir risk oluşturmaktadır. Pastörizasyon sıcaklığı *Listeria* 'ları yıkımlamak için yeterli olsa da gıdaların işlenmesinden sonra kontamine materyallerle temas etmesi bulaşmaya neden olabilmektedir. *Listeria*, kontamine eller, ekipman ve tezgah yüzeylerine temasla da yayılabilmektedir. *L. monocytogenes* hazır gıdaların üretilmesi, nakli ve depolanması sırasında çoğalarak enfeksiyon oluşturabilecek düzeye ulaşabilmektedir (Jemmi ve Stephan, 2006; Bortolussi, 2008).

Yapılan çalışmalarda *L. monocytogenes*'in gıda işleme tesislerinde alet-ekipmanlara, zemin ve yüzeylere tutunabildiği ve oluşturduğu biyofilm nedeniyle dezenfeksiyon uygulamalarına karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Blackman ve Frank, 1996).

Bonardi ve ark. (1997), İtalya'da yaptıkları çalışmada bir mezbahadan Eylül 1996 ve Mayıs 1997 tarihleri arasında 625 sığır deri, karkas ve dışkı ile ekipman ve çalışma yüzey numuneleri alarak *Listeria* spp. varlığını araştırmışlardır. 625 numunenin 32'sinden *Listeria* spp. izole edildiğini ve *Listeria* pozitif bulunan numunelerin 5'inin *L. monocytogenes* (Tüm *Listeria* izolatlarının %15,6'sı), 25'inin *L. innocua* ve birer tanesinin de ise *L. seeligeri* ve *L. welshimeri* olduğunu bildirmişlerdir.

Khen ve ark. (2009) tarafından İrlanda'da yapılan araştırmada bir ihracat mezbahasında kesilen 300 besi sığırının, deri ve karkasında sırasıyla %16 ve %2,5 oranlarında *L. monocytogenes* saptadıklarını belirtmişlerdir.

Kinga ve ark. (2009), Polonya'da kesilen 140 sığırdan 21'inin deri ve karkaslarından *L. monocytogenes* serotip 1/2a izole edildiğini bildirmişlerdir. Yine Polonya'da kesilen 276 sığırın deri ve karkaslarında *L. monocytogenes* varlığı araştırılmış, deriden alınmış 276 örneğin 28'inin (%10,1) pozitif bulunduğu ve pozitif bulunan 28 derinin ait olduğu karkaslardan ise 7'sinde bu patojenin bulunduğu belirtilmiştir (Edyta ve ark., 2009).

Chiarini ve ark. (2009a), Brezilya'da yaptıkları çalışmada bir mezbahada kesilen sığırların deri ve karkaslarından aldıkları örneklerde *L. monocytogenes* varlığını araştırmışlar, ancak tespit edememişlerdir.

İskandinav ülkelerinde yapılan çalışmalarda 6 kırmızı et, 2 kanatlı eti ve 5 deniz ürünleri işleme tesisinde üretim hatları, çevre, personel, ham maddeler ve üretilen çiğ ya

da yenmeye hazır ürünlerden alınan 2522 örnekte *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, *L. monocytogenes* saptanan örneklerin oranı kırmızı et işleme tesislerinde %0-15, kanatlı eti işleme tesislerinde %20,6-24,1 ve deniz ürünleri işleme tesislerinde %5,9-22,1 olarak belirlenmiştir. Çiğ ürünlerdeki ortalama insidens, kırmızı etlerde %5,4, kanatlı etlerinde %22,2 ve deniz ürünlerinde %39 olarak tespit edilmiştir. Yenmeye hazır ürünlere ise uygulanan ısı işlem, *L. monocytogenes* oranlarını kırmızı et ürünlerinde ortalama %2,3'e ve deniz ürünlerinde ise %4,8'e kadar düşürmüştür. *L. monocytogenes* kontaminasyonunda; personel, taşıma bantları ile diğer taşıma ekipmanları, zeminler ve drenaj sistemleri, çiğ etler, parçalama tezgahları ve pişirme ekipmanlarının en önemli kaynaklar olduğu bildirilmiştir (Gudbjörnsdottir, 2004).

Lawrence ve Gilmour (1994), bir kanatlı eti işleme tesisinde, çiğ ve pişirilmiş kanatlı eti ürünlerinde 6 aylık bir dönemde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* insidensini araştırmışlardır. Bu çalışma neticesinde, çiğ kanatlı ürünleri ve pişirilmiş kanatlı ürünleri işleme tesisleri çevresinden toplanan numunelerde sırasıyla %46 (79 numunenin 36'sı) ve %29 oranlarında (173 numunenin 51'i) *Listeria* spp. bulunurken bu numunelerdeki *L. monocytogenes* insidens oranları yine sırasıyla %26 (79 numunenin 21'i) ve %15 (173 numunenin 27'si) olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucundan çiğ kanatlı ürünleri işleme tesislerindeki çevre örneklerinde bulunan *L. monocytogenes* insidens oranının (%26), pişirilmiş kanatlı ürünleri işleme tesisleri çevresinde ise (%15) olduğu bildirilmiştir.

Barros ve ark. (2007) tarafından Brezilya'da yapılan bir araştırmada 10 et işleme tesisi ve bir mezbahada kullanılan alet-ekipman, donanım ve et ürünlerinden alınan 443 numunede *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, numunelerin %38,1'inde *Listeria* spp. tespit edilmiştir. İzole edilen *Listeria* türlerinden %12,6'sı *L. monocytogenes* serotip 1/2a ve 4b olarak tanımlanmıştır. *L. monocytogenes* prevalansı işletme zeminlerinde %20, mezbahadaki sığır karkaslarında %4,63, işleme tesislerindeki sığır etinde %1,92 ve sığır kıymalarında %16,66 olarak bulunmuştur. Et işleme tesisinin duvarlarında etkene rastlanmazken zeminde prevalans %33 olarak bildirilmiştir.

Portekiz'de yapılan bir çalışmada, peynir üretim tesisinin farklı noktalarından alınan 400 örneğin 213'ünde *Listeria* spp. izole edilmiş, bunların 85'inin *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir (Chambel ve ark., 2007).

Elazığ'da yapılan bir araştırmada mezbahalarda kesilen sığır, koyun ve tavuk dışkılarında insanlarda hastalığa neden olan *L. monocytogenes* serotip 1 ve serotip 4 bulunduğu ve bu dışkıların karkaslara bulaşması sonucunda insanlarda gıda kaynaklı listeriozis oluşabileceği bildirilmiştir (Kalender, 2003). Ayrıca Van'da yapılan bir çalışmada kremalı pastalarda hastalık oluşturabilecek düzeyde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Sancak ve ark., 2002).

Afyonkarahisar ili mezbahalarında *L. monocytogenes* varlığının araştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada 5 farklı mezbahanın herbirinin 19 farklı noktasından svap yöntemi ile örnek alınmıştır. Çalışma sonucunda çevreden alınan örneklerde *L. monocytogenes* %4,37, ekipmanlarda %15, çalışan personellerde %11,42 oranında tespit edilirken sulara bulunamamıştır (Akkaya ve ark., 2008).

İstanbul ilinde yapılan bir çalışmada, 8 et işleme tesisinde, kullanılan alet-ekipmanların yüzeylerinden ve çalışan personelin ellerinden toplam 580 örnek incelenmiştir. Bu örneklerin 130'u bıçak ve bileyicilerden, 100'ü kesim tahtalarından, 150'si personel elinden, 150'si personellerin iş elbiselerinden 50'si buzdolaplarından alınmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre kesici aletlerin %9,2'sinin, kesim tahtalarının %7'sinin, buzdolaplarının %4'ünün, personel iş elbiselerinin %6'sının *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu tespit edilirken personel ellerinden etkenin izole edilemediği bildirilmiştir (Kahraman ve ark., 2010).

2.13. Korunma ve Kontrol

Gıdalarda *L. monocytogenes* bulunmasına ilişkin ülkelere göre farklı uygulamalar mevcuttur. *L. monocytogenes* doğada ve çevrede yaygın olarak bulunduğundan dolayı birçok ülkede ilgili kurum ve kuruluşlar; *L. monocytogenes* içermeyen gıdaların üretiminin mümkün olmadığını ya da çok zor olduğunu belirtmekte ve izin verilen tolerans seviyeleri belirlemektedirler. Çoğu Avrupa Birliği ülkesinde, hassas grupların tüketime sunulan gıdalarda *L. monocytogenes* toleransı sıfır, tüketime hazır gıdalarda ise < 100 kob/g olarak bildirilmiştir. İngiltere ve ABD'inde aralarında bulunduğu bazı ülkelerde ise *L. monocytogenes*'in 25 g örnekte bulunmaması gerekmektedir. Mikrobiyel kontaminasyonunda bir değerin kabul edilebilmesi için, önce infektif dozun bilinmesi gerektiği savunulmaktadır. *L. monocytogenes*'de ise infektif dozun bilinmemesi, kişiye ve bağışıklık durumuna göre değişmesinden dolayı bazı ülkelerde sıfır tolerans uygulanmaktadır (Montville ve Matthews, 2008). Ülkemizde,

29.12.2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanan Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde çiğ etlerde *L. monocytogenes* ile ilgili bir kriter belirtilmemiştir. Ancak, işlenmiş veya tüketime hazır hayvansal gıdalarda 25 g örnekte *L. monocytogenes* bulunmaması gerekmektedir. Tespit edildiği durumlarda Mikrobiyolojik kriterler tebliğine aykırılıktan 5996 Sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu kapsamında sorumlular hakkında yasal işlem yapılmaktadır. 30 Mayıs 2007 tarih ve 26537 sayılı “Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği” çerçevesinde; listeriozis, ihbarı mecburi hastalıklar Grup D’de yer almaktadır (Anon, 2007; Anon, 2011).

Gelişmiş ülkelerde listeriozis en önemli zoonoz hastalıklar arasında sayılmakta ve bu nedenle görülen vakalarla ilgili kayıtlar, istatistikler değerlendirilerek çözüm önerileri üzerinde detaylı çalışmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte, hastalıkla ilgili rehber dökümanlar tüketici eğitim stratejileri mevcut olsa da, toplumda zoonoz hastalıklar hakkında bilinenler istenilen düzeyde değildir. Örneğin ABD’de 1996-1998’den 2005 yılına kadar, listeriozis’in insidens oranının 0,5’den 0,24’e indirilmesi amaçlanmıştır fakat bu hedefe ulaşılamamıştır (Goulet ve ark., 2008). 2013 yılındaki oran 0,26’dır (CDC, 2014). Gelişmekte olan ülkelerde ise surveyans programı nadiren vardır veya hiç yoktur (Goulet ve ark., 2008). Etkin bir koruma için dünya genelinde listeriozisin surveyansı güçlendirilmeli, risk değerlendirme çalışmaları artırılmalı, güvenilir ve hızlı mikrobiyolojik karakterizasyonu yapılmalıdır. *L. monocytogenes*’in doğada yaygın olarak bulunması, zorlu çevre koşullarında üreyebilmesi, geniş sıcaklık aralığına sahip olması ve biyofilm oluşturması, kontaminasyon riskini arttırmakta, bu da hastalıktan korunmak için alınacak önlemlerde daha dikkatli olunmasını zorunlu kılmaktadır (Montville ve Matthews, 2008; Mor-Mur ve Yuste, 2010).

L. monocytogenes enfeksiyonundan korunmada; gıdaların hazırlık aşaması, meyve ve sebzelerin tüketilmeden iyice yıkanması, el yıkama alışkanlığının yaygınlaştırılması, hayvansal gıdalarda yeterli ısıl işlem uygulanması ve işleme sonrası kontaminasyonun engellenmesi, yumuşak peynir üretiminde kontamine olmayan süt kullanılması, başta hayvansal kaynaklılar olmak üzere gıdaların pişirilmesi aşamasında iç sıcaklıklarının 72°C’ye ulaşmasına dikkat edilmesi, çiğ ve az pişmiş etlerin tüketiminden kaçınılması ve gıdaların raf ömrüne uyulması oldukça önemlidir. Hayvansal kaynaklı gıdaların güvenliği hayvan beslemede kullanılan yemlerin mikrobiyolojik kalitesiyle

doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle yemlerin kontaminasyonu engellenmeli, özellikle *L. monocytogenes* açısından potansiyel olarak riski bulunan silaj; hijyenik koşullarda yapılmalı ve pH'sı hızla 4,0'a düşürülmelidir. Hayvanların kesimi hijyenik ve teknolojik koşullarda yapılmalıdır. Meme ve sağıım hijyenine önem verilmelidir (Baran ve ark., 2008; Taşçı ve ark., 2010).

Listeriozis açısından en büyük risk grubunu oluşturan tüketime hazır gıdaların satın alma sürecine dikkat edilmelidir. Tüketime hazır gıdalarda, hazırlama, depolama, tüketim şekilleri bölgelere göre farklılık göstermektedir. Bu nedenle bölgesel çalışmalar çözüm için daha somut sonuçlar verecektir. Tüketime hazır etlerde *L. monocytogenes* kontrolü için; paketlenme sonrası ısıl işlem uygulanması ürün formülasyonuna laktat, diasetat gibi *Listeria*'nın gelişiminin inhibe edici maddelerin katılması gibi yöntemler uygulanabilmektedir (Zhang ve ark., 2012).

2.14. *Listeria monocytogenes*'in Gıdalardan İzolasyon ve İdentifikasyonu

İnsan ve hayvan sağlığı açısından *L. monocytogenes*'in oluşturduğu riskin her geçen gün daha iyi anlaşılmasıyla birlikte izolasyon ve identifikasyon konusunda yapılan çalışmalar da hız kazanmıştır (Entis ve Lerner, 2000). Klasik teknikler ve biyokimyasal testler, spesifik ve hassas olmasına karşın 4-5 gün gibi uzun sürede yapılabilmesi, konvansiyonel hızlı yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir (Gasnov ve ark., 2005).

2.14.1. Kültürel Olmayan İzolasyon Yöntemleri

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Tekniği

Tekniğin çalışma prensibi, bir enzimin belirlenen bir antijen veya antikora bağlanmasından sonra enzimle örnek tepkimeye sokulur. Ardından enzime spesifik bir substrat eklenip etkinliği nicel ve nitel şekilde belirlenir (Reid ve ark., 2006). Bu teknik, *L. monocytogenes*'in izolasyonunda, ayrıca gıdalardan, çevreden ve klinik vakalardan *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplendirmesinde kullanılabilir (Wagner ve Bubert, 1999; Palumbo ve ark., 2003).

Polymerase Chain Reaction (PCR) Tekniği

PCR, DNA parçaların, ısıya kararlı bir DNA polimeraz ve iki primer (belirli bir gene özđü kısa DNA dizileri) kullanılarak amplifiye edildiği bir tekniktir ve amplifiye edilmiş fragmanlar genellikle agaroz jel elektroforezi kullanılarak saptanır (Mullis, 1986). PCR reaksiyonu 3 temel aşamada şekillenir; uygulanan yüksek sıcaklıkta DNA'nın iki zincirinin birbirinden ayrılması (denatürasyon), primer adı verilen sentetik oligonükleotitlerin ayrılmış olan tek zincirli DNA'ya bağlanması (hibridizasyon) ve çift iplikçikli DNA'ların senteziyle zincirin uzaması (polimerizasyon) ve bu üç siklusun belirli sayıda tekrarlanması şeklinde gerçekleşir (Brehm-Stecher ve Johnson, 2007; Liu ve ark., 2008). PCR ile *L. monocytogenes*'in identifikasyonunda kullanılan birçok hedef gen bölgesi kullanılmaktadır (Tablo 9).

Tablo 9. PCR Tekniğinde Kullanılan *Listeria monocytogenes* Hedef Gen Bölgeleri (Liu ve ark 2008)

Hedef Gen Bölgesi	Protein
Hly	Listeriolizin (LLO)
PlcA	Fosfatidilinositol-fosfolipaz C (PI-PLC)
PlcB	Fosfatidilkolin-fosfolipaz C (PC-PLC)
ActA	ActA
Mpl	Metalloproteaz
PrfA	Transkripsiyonal regülatör PrfA
İnlA	İnternalin A
İnlB	İnternalin B
ClpE	Clp ATPase
LmaA/dth18	LmaA antijeni/gecikmiş tip hipersensitive proteini
Lmo0733	Transkripsiyonal regülatör
Lmo2234	Tanımlanmamış
PepC	Aminopeptidaz C

Fluorescence Antibody (FAT) Tekniği

Tekniğin amacı, fluorojenik ve kromojenik özellikteki bir boya ile (akridin orange, nötral red) boyanan hücrelerin, içerdiği deoksiribo nükleik asit (DNA) ve ribo nükleik asit (RNA) miktarlarına göre farklı renklerde ve yoğunlukta fluoresans vermesidir (Bruno ve ark., 2015).

2.14.2. Kültürel İzolasyon Yöntemleri

L. monocytogenes'in izolasyonunda etkenin saptanma oranını artırmak için zenginleştirme kültürleri kullanılmaktadır. Kültürel teknikler, zenginleştirme ve

izolasyon aşamalarından oluşmaktadır (Curtis, 1999). Selektif zenginleştirmede besiyerlerinin bileşimindeki supplementler *Listeria* spp. dışındaki mikroorganizmaların üremesine inhibitör etkide bulunur (Tablo 10). *Listeria* besiyerlerinin bileşiminde bulunan nalidiksik asit Gram negatif bakterilerin, akriflavin enterokokların, sikloheksimid maya ve küflerin gelişimini engellerken *Listeria* spp.'lerin üreme ve gelişmeleri için elverişli bir ortam oluşturur (Pichhardt, 2004; Donnelly ve Nyachuba, 2007). Ayrıca besiyerinin bileşimindeki eskulin, ferrik amonyum sitrat gibi maddeler *Listeria* bakterileri tarafından kullanılarak izolasyon aşamasında spesifik renk (siyah) ve şekillerde koloniler oluşmasında ve dolayısıyla selektif ayırmda etkilidirler (Jadhav ve ark., 2012).



Tablo 10. *Listeria* İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve İçerdikleri Selektif Maddeler (Curtis 1999, İşleyici ve Sancak, 2000)

Besiyeri Adı	Acriflavin	Glicine Anhydride	Phenylethanol	LICI	Esculin	K-Tellürite	Antibiyotik
Modify McBride's Agar (MMA)	-	+	+	+	-	-	Sikloheksimid
Lithium Chloride Phenylethanol Moxolactam Agar (LPM)	-	+	+	+	-	-	Moxalactam
Modify Vogel Johnson Agar (Mod. V.J.)	-	+	-	+	-	+	Moxalactam, Bacitracine
Acriflavin Phenylethanol Esculin Mannitol Egg Yolk Emulsion (RAPAMY)	+	-	+	-	+	-	Moxalactam, Nalidixic asit
Polymixin Acriflavin Lithium Chloride Ceftazidime Eskulin Mannitol Agar (PALCAM)	+	-	-	+	+	-	Ceftazidime, Polymyxin B
Acriflavin Ceftazidime Agar (ACA)	+	-	-	-	-	-	Ceftazidime
Oxford	+	-	-	+	+	-	Cefotetan, Fosfomycin Colistin
Modify Oxford Medium (M. Oxford)	-	-	-	+	+	-	Moxalactam, Colistin
Al-Zorecky Sandine Listeria Medium (ASLM)	+	-	+	+	+	-	Moxalactam, Ceftazidime

Food and Drug Administration (FDA) Tekniği

Bu teknikte, suplement eklenmeden önce, örnekler 4 saat inkübasyona bırakılarak hasar görmüş *Listeria* bakterilerinin onarılması amaçlanır. *Listeria* spp. aranacak numunelerden 25 g veya ml alınarak 225 ml *Listeria* Enrichment Broth ön zenginleştirme besiyerinde homojenize edilerek. 30 °C'de supplementsiz 4 saat, supplement eklendikten sonra da 44 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra zenginleştirme ortamından Oxford Agar, LPM Agar PALCAM Agar ya da McBride Agar, gibi selektif katı besiyerine ekim yapılır. LPM Agar'da 30 °C'de, diğer agarlarda 35 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılır. Selektif agarlarda gelişen tipik kolonilerden 5 tanesi, Tryptone

Soya Yeast Ekstract Agar'a (TSA-YE) ekilir ve identifikasyon aşamalarına geçilir (Curtis, 1999; Hitckins, 2003; Donnelly ve Nyachuba, 2007).

International Standardization Organisation (ISO) Tekniği

ISO tekniğinde, 25 g veya ml örnek, 225 ml ½ konsantrasyondaki Fraser Broth'da 30 °C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra PALCAM veya Oxford Agar'a ekim yapılır. Daha sonra içerisinde normal konsantrasyonda 10 ml Fraser Broth bulunan bir tüpe 0,1 ml zenginleştirme brothundan aktarılır. 35-37 °C'de 24 saat inkübasyonun ardından PALCAM veya Oxford Agar'a ekim yapılır 30 ya da 37 °C'deki inkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde tipik kolonilerden 5 tane, TSA-YE'a ekilerek identifikasyon aşamalarına geçilir (Kum ve ark., 2011).

International Dairy Federation (IDF) Tekniği

Bu teknikte, 25 g veya ml örnek alınarak 225 ml IDF Selective Enrichment Broth içerisinde homojenize edilir. Ön zenginleştirmede 30 °C'de 48 saatlik inkübe edilir. Ardından PALCAM veya Oxford Agar'a geçilir. 30 °C'de 24-48 saatlik inkübasyondan sonra Selektif agarda gelişen tipik kolonilerden 5 tanesi TSA-YE'a ekilir ve identifikasyon aşamalarına geçilir (Donnelly ve Nyachuba, 2007).

Soğukta Zenginleştirme Tekniği

Soğuk zenginleştirme tekniğinde *L. monocytogenes*'in psikrotrof özelliğinden faydalanılır. 4 °C'de *L. monocytogenes* üremeye devam ederken mikroflorada yer alan diğer mikroorganizmalarda kayda değer bir üreme gerçekleşmez (Donnelly ve Nyachuba, 2007).

Analiz için 50 g-ml örnek, 450 ml Nutrient Broth içerisinde homojenize edilerek 4 °C'de 8 hafta süreyle inkübe edilir. Birinci, dördüncü, ve sekizinci hafta sonunda besiyerinden 1 ml alınarak, içerisinde 9 ml selektif buyyon (örn. nutrient buyyon) bulunan tüplere aktarılır. 35 °C'de 24 saatlik inkübe edildikten sonra Gum-Based Nalidixic Acid Medium, LPM Agar ya da MMA gibi selektif bir besi yerine ekilir. Burada çoğalan spesifik koloniler belirlenerek identifikasyon aşamalarına geçilir (Bannerman ve Bille, 1988). Eld ve ark. (1993), tarafından yapılan bir araştırmada, listeriozisten ölen hayvanların kadvralarından soğukta zenginleştirme ve IDF tekniğiyle *L. monocytogenes* izole etmişler. İki yöntemi karşılaştırdıklarında IDF tekniğinin, soğukta zenginleştirme tekniğine göre daha hızlı ve spesifik sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir.

2.14.3. Hızlı Teknikler

Mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan klasik kültür tekniklerinin uzun zaman ve daha fazla iş yükü gerektirmesi nedeniyle yeni hızlı tekniklerin kullanımı artmıştır. Özellikle raf ömrü kısa olan gıdalarda *L. monocytogenes*'in araştırılması için, hızlı teknikler son derece önemlidir (Rijkelt ve Wilma, 2003).

Immuno Magnetic Separation (IMS) Tekniği

Metod, manyetik taşıyıcılara tutulmuş antikorların (lektin, aglütinin), hedef mikroorganizmaları tutabilme ilkesine dayanmaktadır. Öncelikle numuneye ön zenginleştirme yapılır. Daha sonra örnek, içerisinde antikor bulunan süspansiyon ile karıştırılır. Elde edilen karışıma manyetik işlem uygulanarak konsantrasyonun artırılması amaçlanır. Bu yöntem zenginleştirme işleminin ardından yarım saat içerisinde tamamlanabilmektedir (Hsih ve Tsen, 2001).

Antijen antikor reaksiyonlarıyla ilgili hızlı teknikler

Hedef mikroorganizmalardaki antijenlere göre reaksiyon oluşturacak antikorları içeren hızlı test kitleri bulunmaktadır. Bu kitlere örnek olarak; *Listeria* Tek Organon Technique, Transia *Listeria* Diffchamb, Vidas bioMerieux, VIP *Listeria* BiocontrolSystems, Clearview *Listeria* Oxoid, Assurance *Listeria* EIA Biocontrol Systems ve *Listeria* VIATecra, EIA Foss Electric kitleri sayılabilir (Wagner ve Bubert, 1999).

2.15. *Listeria monocytogenes*'in Genotiplendirme Yöntemleri

L. monocytogenes'in genotiplendirilmesi, epidemiyolojik olarak bulaşma kaynağının tespiti açısından önemlidir. Yapılan araştırmalarda gıdanın kendisinden elde edilen izolatlarla, kullanılan alet-ekipman ve diğer sekonder kontaminasyon kaynaklarından elde edilen izolatların genotipik olarak karşılaştırılması, bulaşma kaynağı hakkında bize bilgi vermektedir. Bu da ancak genotipik yöntemlerle yapılan analizler sonucu yapılabilmektedir (Fugett ve ark., 2007).

Geleneksel fenotipik yöntemler ve moleküler genotipik yöntemler, *L. monocytogenes*'in genotiplendirilmesinde kullanılan yöntemlerdir (Louie ve ark., 1996).

2.15.1. Geleneksel Fenotipik Yöntemler

Serotiplendirme

Serolojik yöntemlerle *L. monocytogenes*'in alt türlerinin tespiti yapılabilmektedir. Bakteri hücresinin sahip olduğu ekstraselüler organeller (flagella, fimbria), membran proteinleri ve lipoteikoik asitler gibi farklı yüzey yapılarının ürettiği bazı antijenik yapılar türler arasında farklılık göstermektedir. Serolojik yöntemlerle bu farklılıkları belirlemek mümkündür. Serotiplendirme, *L. monocytogenes*'in alt tiplerinin O ve H antijenlerinin faktör antiserumları ile tespit edilmesidir (Graves ve ark., 2007).

Bakterilerin ürettiği antijen türüne göre spesifik aglutininleri içeren antiserumlar serotiplendirmede kullanılmaktadır. Miittinen ve ark. (1999), dondurma üretim ve işleme tesisinde makine ekipman, çiğ süt, dondurma ile çevresel kaynaklardan elde ettiği izolatlarda, Chou ve ark., (2006), deniz ürünlerinden elde ettikleri izolatlarda, Lyytikäinen ve ark. (2000) ile Palumbo ve ark. (2003), gıda ürünleri, çevre ve listeriozis vakalarından elde ettiği izolatlarda, Dümen ve ark. (2011), süt ve ürünlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarında ticari olarak hazır satılan antiserumlarla serotiplendirme yapmışlardır.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

L. monocytogenes izolatlarının farklı alt türlerinde antibiyotiklere farklı duyarlılık ya da direnç gelişebilmektedir. İzolatların direnç farklılıkları tespit edilerek alt tiplendirmede kullanılabilir (Graves ve ark., 2007). Ancak bazı durumlarda aynı alt türe ait *L. monocytogenes* izolatları da belirli antibiyotiklere farklı şekilde direnç veya duyarlılık gösterebilmektedir. Bu nedenle antibiyotik testleri tür ayrımı açısından sadece fikir vermektedir.

Bakteriyofaj Tiplendirme (Faj Tiplendirme)

Konağa özel spesifik olan bakteriyofajlar bakteri türleri ve serovar kimliklerinden bağımsız olarak *Listeria* bakterilerini lize etme kapasitesine sahiptir. Bakteriyofaj kaynaklı incelemelerle, *Listeria* bakterilerinin agar plakalarında konağa özgü lizizi, farklı alt türlerin ayrı fajlara ayrılmasına neden olabilir. Bu durum listeriozis salgınlığının seyri açısından önemlidir (Klump ve Loessner, 2013).

Bakteriyosin Tiplendirme

Bakteriyosinler sentezlendikleri bakteriye genetik yakınlığı olan bakterilere karşı antimikrobiyel etki gösterirler. Bu nedenle alt türlerin tiplendirmelerinde bakteriyosinler kullanılabilirler (Deegan ve ark., 2006).

2.15.2. Moleküler Genotipik Yöntemler

Moleküler genotipik yöntemler *L. monocytogenes*'in belirlenmesinde gün geçtikçe daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu metotlarda amaç, restriksiyon enzimleri kullanılarak bakteri DNA'sının fragmentlerinde bant görüntüsü oluşturarak, farklı bant yapılarının karşılaştırılması suretiyle alt türlerin tespit edilmesidir (Sauders ve Wiedmann, 2007).

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Bu metotta bakteri DNA'sı restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra agaroz jel elektroforezi uygulanır. Daha sonra jelde oluşan DNA bantlarının yeri ve sayısı izolatlar arasında karşılaştırılır. Görülen farklılıkların yorumlanmasıyla genetik yakınlık saptanır (Swaminathan ve Matar, 1993).

Analiz 4 aşamada gerçekleşir. Bu aşamalar; bakteriden DNA izolasyonu, restriksiyon enzimi ile elde edilen DNA'nın kesilmesi, daha sonra kesilmiş DNA'nın elektroforezi ve jele gömülen DNA bantlarının görüntülenmesidir. Bu yöntemde, PCR ile amplifikasyonu yapılmış referans suşlara ait hedef sekanslarla, restriksiyon fragmentlerinin oluşturduğu bantlar karşılaştırılır (Swaminathan ve Matar, 1993).

Ribotyping

Ribotiplendirme, uygun restriksiyon enzimi ile kesilmiş DNA'nın bant görüntüsünü saptamak için ribozomal DNA probunun kullanıldığı bir yöntemdir. RFLP yönteminin bir türevidir (Manfreda ve ark., 2005).

Ribotiplendirme PFGE'ye göre daha az bant üretmekle birlikte ticari olarak hazır ribotiplendirme testlerinin bulunması uygulamayı pratik hale getirmiştir. Bu nedenle, epidemiyolojik ve filogenetik çalışmalar için sıklıkla kullanılmaktadır (Pavlic ve Griffiths, 2009).

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

AFLP'de bakteri DNA'sının tamamının parçalanmasıyla oluşan restriksiyon fragmentlerine selektif PCR ile amplifikasyon işlemi uygulanır. AFLP işlemi sırasıyla; DNA'nın restriksiyonu, oligonükleotidlerin bağlanması, restriksiyon fragmentlerinin selektif amplifikasyonu ve ardından jel analizi aşamalarını içermektedir. Bu yöntemde herhangi bir sekans bilgisine gerek olmadan elde edilen bir DNA'dan parmak izi üretmek mümkün olabilmektedir (Graves ve ark., 2007).

Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)

RAPD yöntemi; çalışma yapılan türe ait genomik DNA üzerinde 9-10 base pair (bp) oligonükleotid fragmentinin rastgele seçilerek düşük sıcaklıkta rastgele bağlanıp PCR yöntemiyle çoğaltılması esasına dayanır (Graves ve ark., 2007). Bu teknikte primerlerin RAPD'in yapışma fazı esnasında tamamlayıcısı olan bölgelere bağlanması için PCR sırasında rastgele dizilimdeki primerler kullanılır. Aynı PCR döngüsünde RAPD primerleri farklı lokuslardan farklı sayılarda DNA fragmentlerini çoğaltabilmektedirler. Daha sonra çoğaltılan bu fragmentler radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülerek oluşan bantlar incelenir. Bütün örneklerde görülen RAPD bantları monomorfik, diğer örneklerde görülmeyen ya da farklı hareketlilik gösteren bantlar polimorfik olarak adlandırılır. Örnekler arasındaki genetik yakınlığın belirlenmesinde polimorfik bantlar rol oynamaktadır (Waugh ve Howell, 1991). Lawrence ve ark. (1993) ile Byun ve ark. (2001), *L. monocytogenes*'in tiplendirilmesinde RAPD yöntemini kullanmışlardır.

Multilocus Enzyme Electrophoresis (MEE)

MEE, protein bazlı izoenzim tiplendirme yöntemidir (Graves ve ark 1994). Enzimlerin amino asit sekanslarındaki farklılıklarından dolayı, proteinlerin farklı bir elektrostatik yüküne sahip olmaları, farklı bir elektroforetik mobiliteye yol açar. Hareketlilikteki bu değişiklikler, doğrudan bu enzimleri kodlayan genlerin alellik varyasyonlarıyla ilişkilidir. Elektroforetik hareketliliğine dayanarak, izolatlar elektroforetik tiplere ayrılabilir (Selander ve ark., 1986). Çeşitli çalışmalarda, insan, hayvan ve çevresel kaynaklar ile gıdalardan elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının tiplendirmesinde MEE yöntemi kullanılmıştır (Harvey ve Gilmour, 1996; Steve ve ark., 1996; Harvey ve ark., 2004).

Chromosomal DNA Restriction Endonuclease Analysis (REA)

Bu teknik kromozomal DNA molekülleri içindeki belli dizileri tanıyan restriksiyon endonükleaz enzimleri ile DNA'nın belli kısımlarından kesilmesi esasına dayanır. Agaroz jel elektroforezinin ardından alt türlere göre farklı ebatlarda bant modellerinin oluşumu genetik yakınlık hakkında bilgi vermektedir. Bu metodun uygulanmasında çok sayıda benzer DNA profillerinin karşılaştırılması problem oluşturabilmektedir. Kromozomal bakteri DNA'sının REA'sı makro restriksiyon analizi olarak adlandırılır ve tekniğin performansı, PFGE ile kombinasyon halinde önemli ölçüde artırılır (Maule, 1998).

Repetitive Element Based Subtyping (REB)

Bu yöntemde tekrarlayan dizilerin oluşturduğu kısa ekstrasjenik veya genel interjenik aralayıcı oligonükleotid özelliğindeki primerler kullanılır. PCR'ın tekrarlayan element temelli alt tiplendirme yöntemidir (Graves ve ark., 2007). Çeşitli çalışmalarda, gıda örneklerinden elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmesinde tekrarlayan element temelli alt tiplendirme metodunu kullanılmıştır (Van Kessel ve ark., 2005; Zunabovic ve ark., 2012; Roussel ve ark., 2010).

Selective Restriction Fragment Amplification (SRFA)

SRFA yönteminde genomik DNA restriksiyon enzimiyle kesildikten sonra oluşan DNA fragmentlerinden bir kısmına selektif amplifikasyon uygulanır. Bu yöntem 2 şekilde uygulanır. Tek restriksiyon enzimi ve tek primer kullanılabileceği gibi 2 farklı enzim ve 2 primer kullanılarak da yapılmaktadır. Daha çok ikinci yöntem tercih edilmektedir. Ekstrakte edilen bakteri DNA'sı saflaştırılarak iki farklı enzimle kesilir. Elde edilen fragmentler kesildiği enzim için hazırlanan adaptörlere bağlanmaktadır. Amplifikasyonun ardından amplifikasyon ürünü jel elektroforezinde yürütülür (Paun ve Schönswetter, 2012; Yağcı, 2011). *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmesinde SRFA yönteminin kullanıldığı çeşitli araştırmalar mevcuttur (Paillard ve ark., 2003; Harvey ve Gilmour, 1994).

Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Pulsed Field Gel Electrophoresis, 1984 yılında Schwartz ve Cantor tarafından maya kromozomlarını ayırmak için geliştirilen bir genotiplendirme yöntemidir. Başka bir tanımla, bakteri hücrelerinin enzimlerle parçalanıp hücre proteinlerinin sindirilmesiyle kromozomal DNA içeren materyalin jelle gömülmesi ve elektroforez uygulamasına tabi tutularak DNA fragmentlerinin ayrılması işlemidir (Graves ve ark., 2007).

PFGE analizi ile, 50 kb'den daha büyük DNA fragmentleri tespit edilebilmektedir (Lai ve ark., 1989). Genellikle 1 mb'den daha büyük doğrusal çift iplikli DNA molekülleri, agaroz jelin por büyüklüğünün, doğrusal DNA'nın jelle geç edebilmesi için yeterli olmamasından dolayı, aynı hızla geç ederler. Bu yüzden, DNA fragmentleri neredeyse aynı bant profilleri oluşturmakta, dolayısıyla farklı uzunluktaki fragmentlerin görüntülenememesine sebep olmaktadır. Jelin por büyüklüğünü arttırmak için konsantrasyonu azaltmak işe yarasa da jelin dayanıklılığını azalttığından jelle kırılma ve kopmalara sebep olabilmektedir. PFGE tekniği ile bu problem ortadan kalkmıştır (Graves ve ark., 2007; Arı, 2008).

PFGE, analizlerinde kullanılan agaroz jel elektroforezinde uygulanan elektrik akımının yönü değiştirilmektedir. Uygulamada, DNA molekülleri için belli aralıklarla farklı açıdan iki elektriksel alan oluşturulur. Standart jel elektroforeziyle karşılaştırıldığında elektrik alanının değişken olması, yönünün ve şiddetinin tekrarlanan biçimde değiştirilebilmesi en belirgin farkıdır. Bu yöntemde DNA molekülleri mevcut elektriksel akıma göre hareket ederken, farklı yön ve şiddette uygulanan başka akıma göre hareket etmeye zorlanırlar. Küçük moleküller, oluşturulan elektriksel alan ile değişime çabuk adapte olarak daha hızlı hareket ederler (Graves ve ark 2007; Arı, 2008).

PFGE analizi sonuçları PulseNet adı verilen ulusal bir moleküler alt tiplendirme ağında değerlendirilmektedir. PulseNet, Gıda Kaynaklı Hastalık Gözetimi Ulusal Moleküler Alt Tip Ağları (www.cdc.gov/pulsnet), ABD'de halk sağlığı ve gıda kontrol laboratuvarlarının ulusal bir ağından oluşur. Bu laboratuvarlar, bakteri türlerini tanımlamak için standardize edilmiş PFGE protokollerini kullanmaktadır. Gıda kaynaklı bir salgınlarla ilgili olarak Hastalık Kontrolü Merkezleri (CDC) ile işbirliği içinde olan bu laboratuvar ağı, bulaşma kaynağını belirlemek için ABD genelindeki hastalardan gelen PFGE kalıplarını ve hastalardan alınan örnekleri hızla karşılaştırmak için bilgisayar sistemlerini kullanmaktadırlar. PulseNet ağı, halk sağlığı açısından bir enfeksiyonun

epidemiyojisini süratli bir şekilde belirlemek ve yayılmasını önlemek için hızlı ve standartlaştırılmış bir ortam sağlar (Gautom, 1997). *Listeria* bakterilerinin alt tiplendirmeleri için 2001'de CDC araştırmacıları tarafından 30 saatlik bir prosedür geliştirilmiştir. Genel olarak bu protokol kullanılmaktadır (Graves ve Swaminathan 2001).

Multilocus sequence typing (MLST)

Rekombinant DNA tekniklerinin ilerlemesine paralel olarak DNA dizi analizi yöntemleri de gelişme göstermiştir. DNA Dizi Analizinde Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi (Maxam ve ark., 1977) ile Sanger-Coulson'un zincir sonlanma yöntemi (Sanger ve ark., 1977) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında günümüzde en çok kullanılan Fred Sanger ve arkadaşlarının geliştirdiği zincir sonlanma tekniğidir (Sanger ve ark., 1977). Bu teknik enzimatik DNA sentezi esasına dayanır. Dizisi saptanacak olan DNA zinciri yeni sentezlenecek DNA zinciri için saptanması amaçlanan DNA zinciri kalıp olarak kullanılır. Elektroforez yöntemiyle elde edilen DNA parçaları jelde yanyana yürütülür. DNA parçaları elektiriksel alanın etkisi ile kısıdan uzuna doğru jel üzerinde bir merdiven görüntüsü oluşturur. Reaksiyon karışımına konulan ddNTP'nin tipine göre jel üzerinde tespit edilen parçacıklar okunur (Klug ve ark., 2000).

3. MATERYAL VE METOT

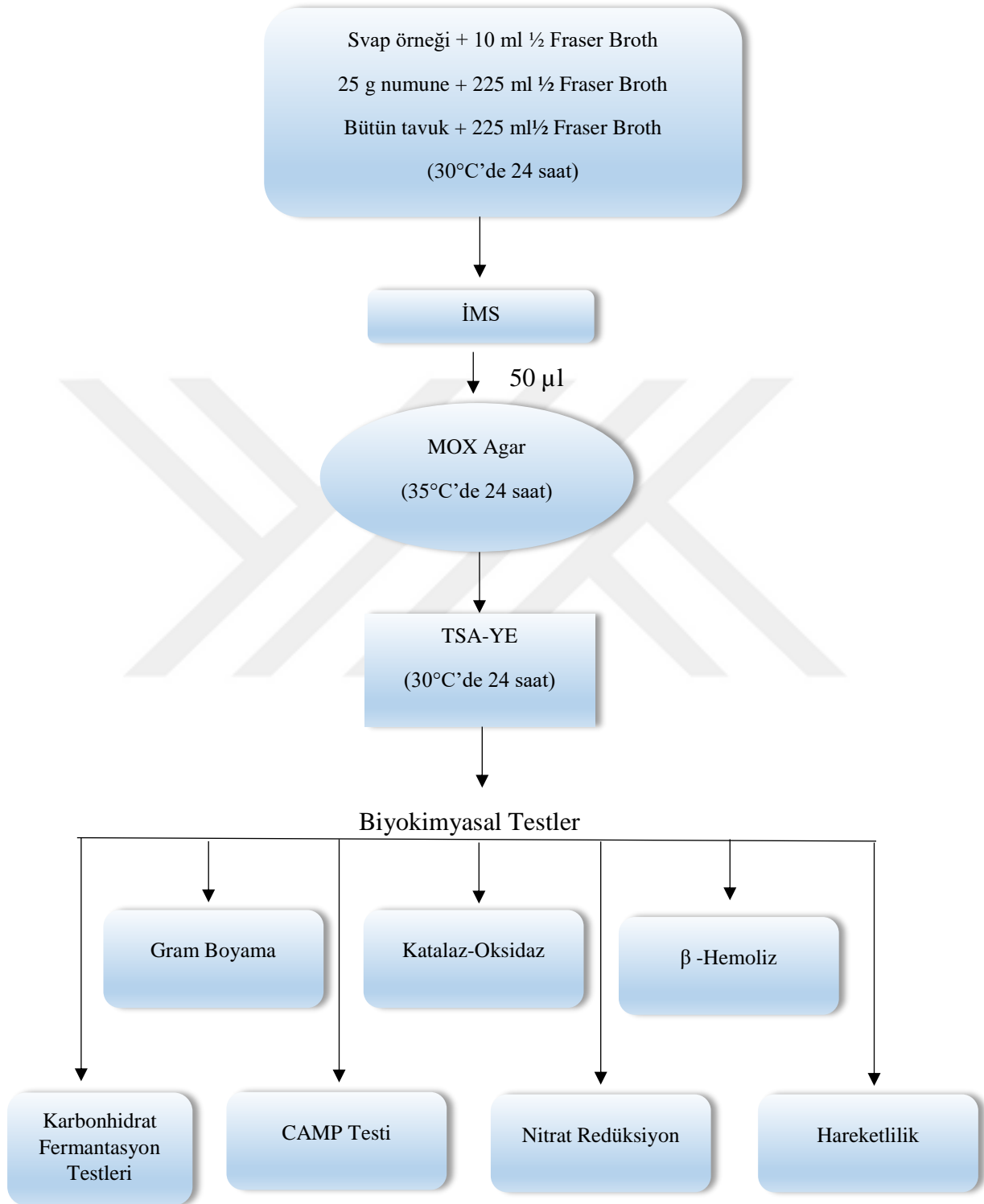
3.1. Materyal

Bu çalışmada Samsun ilinde faaliyet gösteren 4 farklı tavuk işleme tesisi üç ayrı zamanda ziyaret edilerek numuneler toplandı. Bu amaçla her bir işletmenin üretim hattından, soğutucu zemin, soğutucu kapı kolu, duvar, zemin, tezgahlar (2), bıçaklar (2), bıçak bileyicileri (2) olmak üzere 7 farklı noktadan olmak üzere 10 örnek alındı. 4 farklı işletme üç kez ziyaret edilerek toplamda 120 yüzey örneği incelendi. Duvar ve zemininden en az 100 cm² lik alanlardan, soğutucu kapı kolu, tezgahlar, bıçaklar, bıçak bileyicilerinden 2,5 x 5 = 12,5 cm²'lik alandan svap tekniği ile alınan örnekler steril bir şekilde tüplere yerleştirildi (Anon, 2004; Kanarat ve ark., 2011). İşletmede çalışan personel ellerinden (2) toplamda 24 örnek alındı. Her işletmeden iki personelin ellerinden (eldivenlerden) 2,5 x 5 = 12,5 cm²'lik alandan svap tekniği ile alınan örnekler steril bir şekilde tüplere yerleştirildi (Anon, 2004; Kanarat ark., 2011). Ayrıca işletmelere gelen 2 bütün tavuk ve 2 parça tavuk olarak toplamda 24 bütün tavuk ve 24 parça tavuk örneği alındı (Şekil 4).



Şekil 4. Numune toplama aşaması

Toplamda 192 örnek *L. monocytogenes* varlığı bakımından incelendi. İlk aşamada *L. monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonu için ISO 11290-1 (The International Standards Organization – Uluslararası Standartlar Organizasyonu) ve Dynal (Dynal, 1996) tarafından önerilen İMS bazlı klasik kültür tekniği kullanıldı. İkinci aşamada biyokimyasal testlerle identifikasyonu tamamlanan *L. monocytogenes* izolatlarının PCR ile doğrulanması ve serotiplendirilmesi yapıldı (Şekil 5). Üçüncü aşamada *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi amacıyla EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ve CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute - Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi) tarafından bildirilen disk difüzyon yöntemi kullanıldı (CLSI, 2010; EUCAST, 2017). Son aşamada PFGE tekniğiyle genotiplerin tespiti gerçekleştirildi (CDC 2004).



Şekil 5. *Listeria monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyon aşamaları

3.2. Metot

3.2.1. Klasik Kültür Tekniği

Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarına getirilerek aynı gün analizlere başlandı. Örnekler, analizler sonuçlanıncaya kadar 4°C’de muhafaza edildi. *L. monocytogenes*’in izolasyonu, ISO 11290-1 (The International Standards Organization - Uluslararası Standartlar Organizasyonu) ve Dynal tarafından nerilen IMS (immuno manyetik separasyon) bazlı kültür tekniği kullanılarak yapıldı (Dynal, 1996).

Bütün tavuk örnekleri orijinal ambalajlarında poşetli olarak alındı. Parça tavuklar işletmede steril poşetlere konuldu, svap örnekleri de içerisinde 10 ml Half Fraser Broth (Oxoid, CM0895; SR0176) bulunan steril tüplere konularak laboratuvara getirildi (şekil 6). Bütün tavuk örnekleri yıkama tekniğine (rinse metodu) göre 225 ml Half Fraser Broth bulunan steril poşetler içine alınarak iyice çalkalanıp yıkandıktan sonra örnekler poşetten çıkarıldı ve yıkama suyu n zenginleştirme için 30°C’de 24 saat inkube edildi. Parça tavuk örneklerinden ise 25 gr alınıp 225 ml Half Fraser Broth bulunan steril poşetlere konularak 30°C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı.



şekil 6. Svap rnekleri

3.2.2. İmmunomanyetik Separasyon (IMS) Tekniği

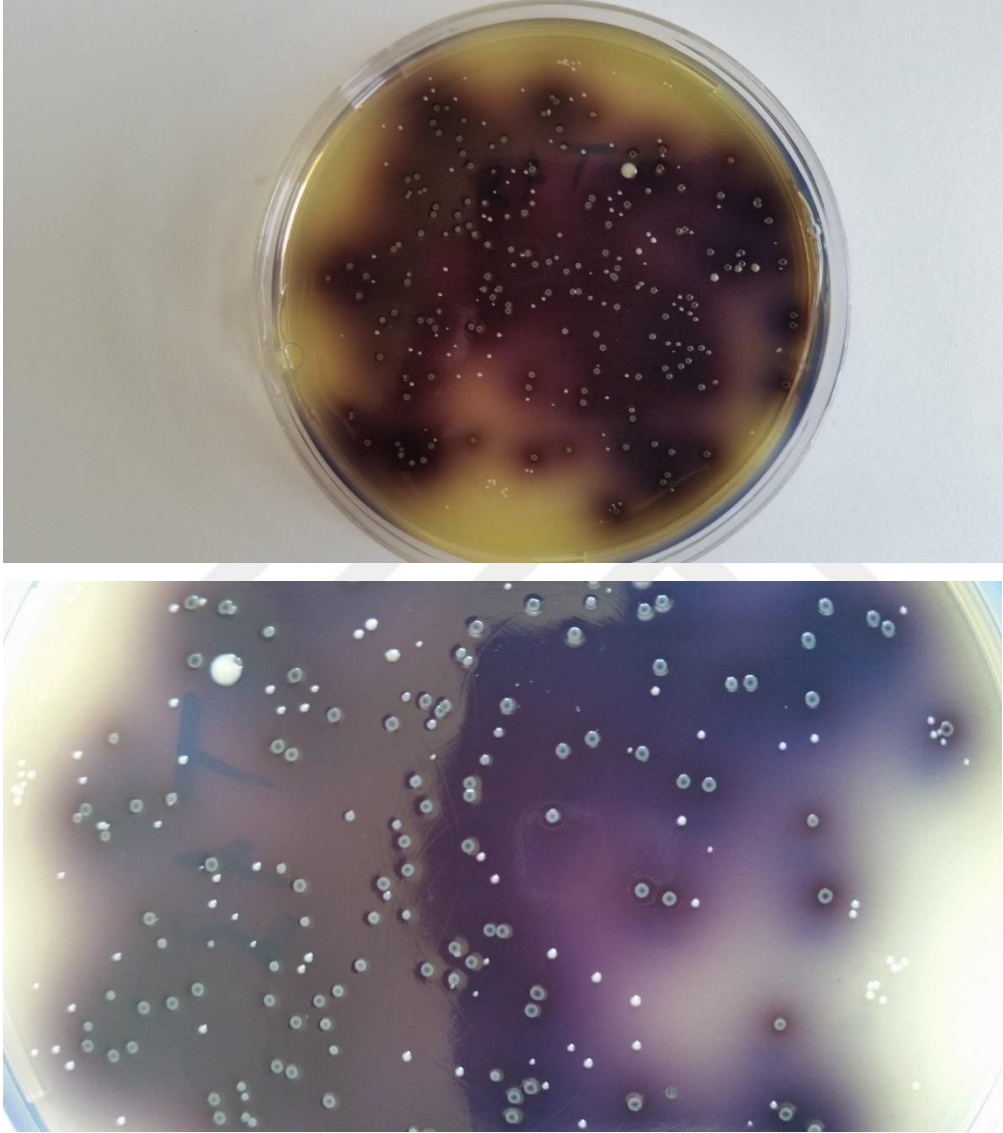
Ön zenginleştirme işleminden sonra, immunomanyetik mikropartikül solüsyonu (Dynabeads anti-*Listeria* 710.06) vorteks ile homojenize edilerek 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine 20'şer µl konuldu ve tüpler manyetik çubuğu çıkartılmış Dynal manyetik parçacık portüpüne (MPC-S) yerleştirildi. Daha sonra üzerine Half Fraser Broth'da ön zenginleştirmesi yapılan homojenattan 1 ml ilave edilerek tüplerin ağzı kapatıldı. Karışım 5-6 defa alt üst edildikten sonra oda sıcaklığında Dynal MX sample mixer ile 10 dakika orta hızda karıştırılarak inkübe edildi (şekil 7). Bu işlemlerle örneklerde bulunabilecek *Listeria*'ların spesifik antijen-antikor reaksiyonu ile dynabeadslere bağlanması amaçlanmıştır. 10 dakikalık karıştırmanın sonunda Dynal manyetik parçacık portüpünün arka kısmına manyetik çubuk yerleştirildi ve oluşan manyetik alanın etkisiyle, *Listeria*'lar ile bağlanan dynabeadslerin mikrosantrifüj tüplerinin iç arka yüzüne yapışması sağlandı. Üç dakika bekledikten sonra tüpün duvarına yapışan kısım haricindeki sıvı mikropipet yardımıyla dikkatlice uzaklaştırıldı. Ardından manyetik plak portüpten ayrıldı. Daha sonra tüplere 1 ml steril PBS-Tween 20 yıkama sıvısı eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika Dynal MX sample mixer ile orta hızda sürekli karıştırılarak karışım yıkandı. Bu işlemin ardından Dynal manyetik parçacık portübünün arkasına manyetik plak tekrar takıldı ve 3 dakika daha beklendi. Süre sonunda bağlı kısım haricindeki sıvı mikropipet yardımıyla dikkatlice uzaklaştırıldı. Son olarak dynabeads-*Listeria* karışımı 100 µl steril PBS- %0,005 Tween 20 (pH 7,4) içinde süspanse edildi ve bu dynabeads-*Listeria* karışımından 50 µl selektif katı agara (Modified Oxford Agar) drigalski çubuğu ile ekildi (Dynal, 1996).



şekil 7. İmmunomanyetik separasyon cihazı

3.2.3.Katı Besi Yerine Ekim

İMS işleminden sonra elde edilen 100 µl Dynabeads-*Listeria* karışımından 50 µl alınarak MOX Agara (Oxoid, CM0856; Listeria Selective Supplement Oxoid, SR0140) ekim yapıldı ve plaklar 35°C’de 24 - 48 saat süreyle inkübe edildi (Şekil 8).



Şekil 8. Mox agarda *Listeria monocytogenes* kolonileri

İnkübasyon sonrası plaklarda üreyen yaklaşık 1-2 mm çaplı, yuvarlak, koyu kahverengi etrafı siyah haleli olan tipik kolonilerden 5 adet seçilerek biyokimyasal testler yapılmak üzere, TSA-YE’ye (Tryptic Soy Agar - Yeast Extract, Fluka, 22091, Oxoid LP0021) steril plastik özeyle ekildi ve plaklar 30°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

3.2.4. *L. monocytogenes* 'in Biyokimyasal Testleri ve İdentifikasyonu

TSA-YE'de üreyen kolonilere sırasıyla non-spesifik ve spesifik biyokimyasal testler yapıldı. Non-spesifik testleri Gram boyama, katalaz, oksidaz, hareket ve indol testleri oluşturdu. Bunların sonucunda Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, 25°C'de SIM (Merck, 105470) besiyerinde şemsiye tarzında hareketli ve indol negatif koloniler *Listeria* spp. olarak belirlendi ve tür ayrımı için spesifik testlere geçildi. Spesifik testleri CAMP, β-hemoliz ve karbonhidrat fermentasyon testleri oluşturdu. Spesifik testlerin sonucunda CAMP testinde *S. aureus*'a doğru üreyen, kanlı agarda β-hemoliz oluşturan ve şekerlerden ramnozu fermente eden, ksiloz ve mannitolu fermente etmeyen koloniler *L. monocytogenes* olarak identifiye edildi (Tablo 4).

Gram Boyama

TSA-YE besiyerinde üreyen kolonilerden 1-2 tane alkolle temizlenmiş bir lam üzerine koyuldu, ardından steril fizyolojik tuzlu su ile homojenize edilerek lam üzerine yayıldı. Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra üç defa alevden geçirilerek tespit edildi. Preperatlar sırasıyla 90 sn Kristal Viyole, 45 sn Lugol İyot, 45 sn Alkol-Aseton karışımı ve 30 sn Sulu Fuksin boya ile boyanıp yıkandı tekrar kurutuldu. Hazırlanan preperatlar Olympus (CX 21) mikroskop ile 100X büyütmede immersiyon yağı damlatılarak incelendi. Mikroskopik bakı neticesinde mavi-mor renkli, kısa çubukçuk formunda olan bakteriler *Listeria* spp. şüpheli olarak değerlendirildi.

Katalaz ve Oksidaz Testleri

TSA-YE'de üreyen kolonilerden 1-2 tane temiz bir lam üzerine alındı ve üzerlerine 2-3 damla %3'lük H₂O₂ damlatıldı. 2-3 sn içinde oluşan köpürme ve gaz çıkışı oluşan koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

Oksidaz testi için kurutma kağıtları 1 cm eninde uzun şeritler halinde kesildi. Üzerine Remel Bactidrop™ Oxydase Test (R21540) solüsyonu damlatıldı. Daha sonra TSA-YE'de üreyen kolonilerden 1-2 adet öze ile alınarak kurutma kağıtlarına sürüldü. En fazla 1 dakika içinde mor-menekşe rengi oluşmadığında negatif reaksiyon olarak değerlendirildi.

SIM (Sulphate Indol Motility) Hareketlilik Testi

Hareketlilik testi için TSA-YE’de üreyen kolonilerden 1-2 tanesi iğne uçlu öze ile alındı ve daha önceden hazırlanarak tüplerde koyulan SIM Medium (Merck, 105470) besiyerine dik bir şekilde batırılıp çıkartıldı. Besiyerleri 25°C’de 5-6 gün kadar inkübe edildi. Bu süre içerisinde şemsiye tarzında üreme gösteren koloniler hareketli olarak değerlendirildi.

Aynı besiyerinde indol testi de yapıldı. Kovacs ayırıcının (Merck, 109293) damlatılması sonucu indol testi de yapıldı. Ayıracın damlatılmasından sonra renk değişimi görülmemesi indol negatif olarak değerlendirildi.

CAMP (Christie Atkins Munch Petersen) Testi

Tür ayrımı için yapılan bu testte %5’lik koyun kanlı agara birbirlerine paralel olacak şekilde *R. equi* ve *S. aureus* suşları ekildi. Daha sonra bu referans suşların arasına dik olarak şüpheli *L. monocytogenes* izolatları ekildi. Besiyeri 35°C’de 24 saatlik inkübe edildi. İnkubasyon sonunda *S. aureus*’a doğru hafif genişleyen bir hemoliz bandının oluşumu pozitif olarak değerlendirildi ve *L. monocytogenes* şüpheli olarak nitelendirildi (Tablo 11). Ayrıca kanlı agarda oluşan β -hemoliz alanları da incelendi (Şekil 9).

Tablo 11. *L. monocytogenes* ’in türlere göre CAMP testi sonuçları

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

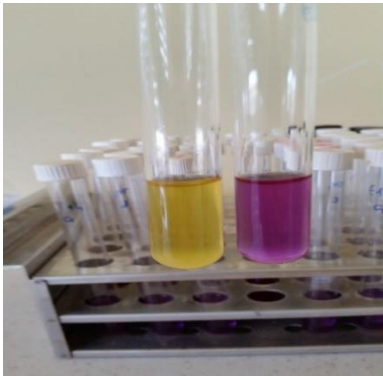


Şekli 9. CAMP testi

Karbonhidrat Fermentasyon Testleri

Karbonhidrat fermentasyon testleri için ilk önce Purple Broth Base (PB) hazırlanarak cam tüplere 9'ar ml paylaştırıldı. %5 konsantrasyonda hazırlanmış karbonhidrat solüsyonları; L- Rhamnose (Sigma, R3875) , D- Xylose (Sigma, X1500) , Mannitol (Merck, 5980), 0,45 µm por çapındaki filtrelerden geçirilerek steril edildi. Daha sonra cam tüplerde bulunan PB'ler içine 1'er ml aktarıldı.

TSA-YE'de üreyen şüpheli koloniler hazırlanan PB'lere inokule edildi ve 37°C'de 5 gün kadar inkübe edildi. PB'lerin mordan sarıya dönen örnekler pozitif olarak değerlendirildi. İnkubasyonun sonunda ramnoz (+), ksiloz ve mannitol (-) örnekler *L. monocytogenes* şüpheli olarak değerlendirildi (Şekil 10).



Şekil 10. Karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

Nitrat Redüksyon Testi

TSA-YE besiyerinde üreyen kolonilerden bir kısmı öze ile alınarak Nitrate Broth (Fluka, 72548) besiyerine aktarıldı ve 37°C’de 5 gün inkübe edildi. Daha sonra içerisine 0,2’şer ml Griess Ilosvay A ve B reaktifleri eklendi. Besiyeri ile ayıracın temas ettiği noktada renk değişimi olup olmamasına bakıldı. Renk değişimi olmayanlar negatif olarak değerlendirildi. Test daha ileri düzeydeki indirgenmelerin kontrolü amacıyla çinko tozu ile de doğrulandı. *Listeria* türleri arasında yalnızca *L. grayi* spp. *murayi*’nin nitratı nitrite indirgeme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir.

3.2.5. *L. monocytogenes* İzolatlarının PCR ile Doğrulanması

Biyokimyasal testler sonucunda *L. monocytogenes* pozitif veya şüpheli olarak tespit edilen izolatların PCR ile doğrulanması yapıldı. Çalışmada Bohnert ve ark. (1992) tarafından dizayn edilen *hlyA* primer çiftleri kullanıldı (Tablo 12).

Tablo 12: *hlyA* (listeriolizin O) gen primer dizileri (Bohnert ve ark. 1992)

Hedef gen	Primer	PCR ürünü (bp)
<i>hlyA</i> gene (listeriolysin O)	LMA-5’-GAATGTAAACTTCGGCGCAATCAG-3’ LMB-5’-GCCGTCGATGATTTGAACTTCATC-3’	388 bp

Genomik DNA Ekstraksiyonu

-20°C’de kriyotüplerde muhafaza edilen *L. monocytogenes* izolatları BHI broth (Oxoid CM 0225) içerisinde 37°C’de 24 saat inkübe edildi ve buradan 1 ml alınarak ‘Qiagen DNA Extraction Kiti’ prosedürüne göre genomik DNA ekstraksiyonu yapıldı. Supernatant templete DNA PCR işlemi yapılana kadar -20 °C’de muhafaza edildi.

PCR Amplifikasyonu ve Elektroforez

hlyA geni için PCR karışımı, toplam 50 µl hacimde 10X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTP, 0,5 U Taq-Polymerase (Sigma D4545), her primerden 1 µM ve 5 µl DNA olacak şekilde hazırlandı. *hlyA* geni amplifikasyonu Thermal Cycler’da (Bio-Rad MJ mini Gradient CA - USA) yapıldı (Şekil 11). 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyon ve 35 siklüs, 94°C’de 30 saniye denatürasyon, 65°C’de 45 saniye primer bağlanması, 72°C’de 45 saniye primer uzaması ve 72°C’de 5 dakika son uzama olarak gerçekleştirildi (Bohnert ve ark., 1992).



Şekil 11. Thermal cycler cihazı

Elde edilen amplikonların elektroforez işlemiyle %2'lik agaroz içinde 80 volt akımda yürütüldü. Elektroforez işlemi Bio-Rad PowerPac Basic Power Supply (CA - USA) güç kaynağı ve Bio-Rad Wide Mini Sub-Cell GT Cell (CA - USA) elektroforez tankında gerçekleştirildi. Elektroforez işleminden sonra *hlyA* geni UV transilluminatörde 388 bp'de görüntülendi.

3.2.6. *L. monocytogenes*'in Serotiplendirilmesi

L. monocytogenes izolatlarının serotiplendirilmesi amacıyla Doumith ve ark. (2004), tarafından dizayn edilen 1/2a (3a), 1/2b (3b), 1/2c (3c) ve 4b (4d, 4e) serotiplerine ait primer dizileri kullanıldı (Tablo 13).

Tablo 13. *L. monocytogenes* 'in serotiplendirilmesinde kullanılan primer dizileri

Gen	Primer dizisi (5'-3')	PCR ürünü (bp)	Serotip
<i>lmo0737</i>	For: AGGGCTTCAAGGACTTACCC Rev: ACGATTTCTGCTTGCCATTC	691	1/2a, 1/2c, 3a, 3c
<i>lmo1118</i>	For: AGGGGTCTTAAATCCTGGAA Rev: CGGCTTGTTTCGGCATACTTA	906	1/2c, 3c
<i>ORF2819</i>	For: AGCAAAATGCCAAAACCTCGT Rev: CATCACTAAAGCCTCCCATTG	471	1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e
<i>ORF2110</i>	For: AGTGGACAATTGATTGGTGAA Rev: CATCCATCCCTTACTTTGGAC	597	4b, 4d, ve 4e

Serotiplendirme için toplam 50 µl hacimde 1X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTP, 0,5 U Taq-Polymerase, her primerden 1 µM ve 5 µl DNA olacak şekilde PCR karışımı hazırlandı. Serotiplendirme de kullanılacak genler için amplifikasyon koşulları Thermal Cyclers'da 94°C'de 5 dakika, 94°C'de 30 saniye, primer bağlanması 72°C'de 45 saniye toplam 35 siklus ve 72°C'de 5 dakika son uzama olacak şekilde programlandı. Primer dizilimlerinin farklı bağlanma ısılarına göre program yeniden düzenlendi ve optimize edildi. Primer bağlanma dereceleri *ORF2819* için 55°C, *ORF2110* için 57°C, *lmo0737* için 57°C, *lmo1118* için 55°C olarak ayarlandı. Amplifikasyon işlemi her gen için tek tek yapıldı. Elde edilen ampikonlar elektroforez işlemi için %2'lik agaroz içinde 80 volt akımda yürütüldü. UV-transilluminatörde *ORF2819* geni 471 bp, *ORF2110* geni 597 bp, *lmo0737* geni 691 bp ve *lmo1118* geni 906 bp'de görüntüledi.

Elektroforez sonucunda bir izolat yalnızca *Imo0737* pozitif ise 1/2a veya (3a), hem *Imo0737* hem de *Imo1118* pozitif ise 1/2c veya (3c), olarak değerlendirildi. Yalnızca *ORF2819* pozitif ise 1/2b veya (3b), hem *ORF2819* hem de *ORF2110* pozitif ise 4b veya (4e, 4d) olarak değerlendirildi (Tablo 14).

Tablo 14. PCR sonuçlarına göre *L. monocytogenes* serotiplerinin belirlenmesi

Hedef Gen		1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	3c	4b	4e	4d
<i>Imo0737</i>	(691 bp)	+		+	+		+			
<i>Imo1118</i>	(901 bp)			+			+			
<i>ORF2819</i>	(471 bp)		+			+		+	+	+
<i>ORF2110</i>	(597 bp)							+	+	+

3.2.7. Antibiyotik Dirençliliğin Belirlenmesi

Elde edilen izolatların antibiyotik dirençlilikleri CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute/M45-A2) ve EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing/2017) tarafından belirlenen yöntemlerle MH-F agarda (mekanik yöntemlerle defibrine edilmiş %5 at kanı ve 20 mg/L β -NAD içeren Mueller-Hinton Agar), disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Yapılan testte 10 farklı antibiyotik diski kullanıldı (CLSI, 2010; EUCAST, 2017) (Tablo 15). Bunun için önce – 20°C’de saklanan izolatlar 37°C’de 24 saat TSB-YE’de aktive edildi ve daha sonra TSA-YE’e çizilerek 37°C’de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda izolatların bulunduğu TSA-YE’deki taze kültürlerden öze ile birkaç tane alındı ve içinde 5 ml %0,09’luk Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) bulunan steril tüplerde suspanse edildi. McFarland dansitometre cihazında (Biosan) 0,5 McFarland (10^8 kob/ml) turbitideye ayarlandı. Daha sonra bu süspansiyon MH-F Agar (Oxoid CM337, Hampshire - İngiltere) üzerine steril bir eküvyon çubuğu ile sürülerek ekildi. Ekimden sonra petriyer oda ısısında 10 dakika kurutuldu ve her bir petriye birbirlerine eşit mesafede olacak şekilde 4 antibiyotik diski yerleştirilerek 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından disklerin etrafındaki inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü (Şekil 12). Ölçülen değerler, EUCAST ve CLSI’deki standart değerler ile karşılaştırılarak izolatların antibiyotiklere karşı duyarlı, orta dirençli veya dirençli olarak sınıflandırılması sağlandı.



Şekil 12. İnkübasyon sonunda antibiyotik disklerinin etrafındaki inhibisyon zonlarının çapları ölçümü

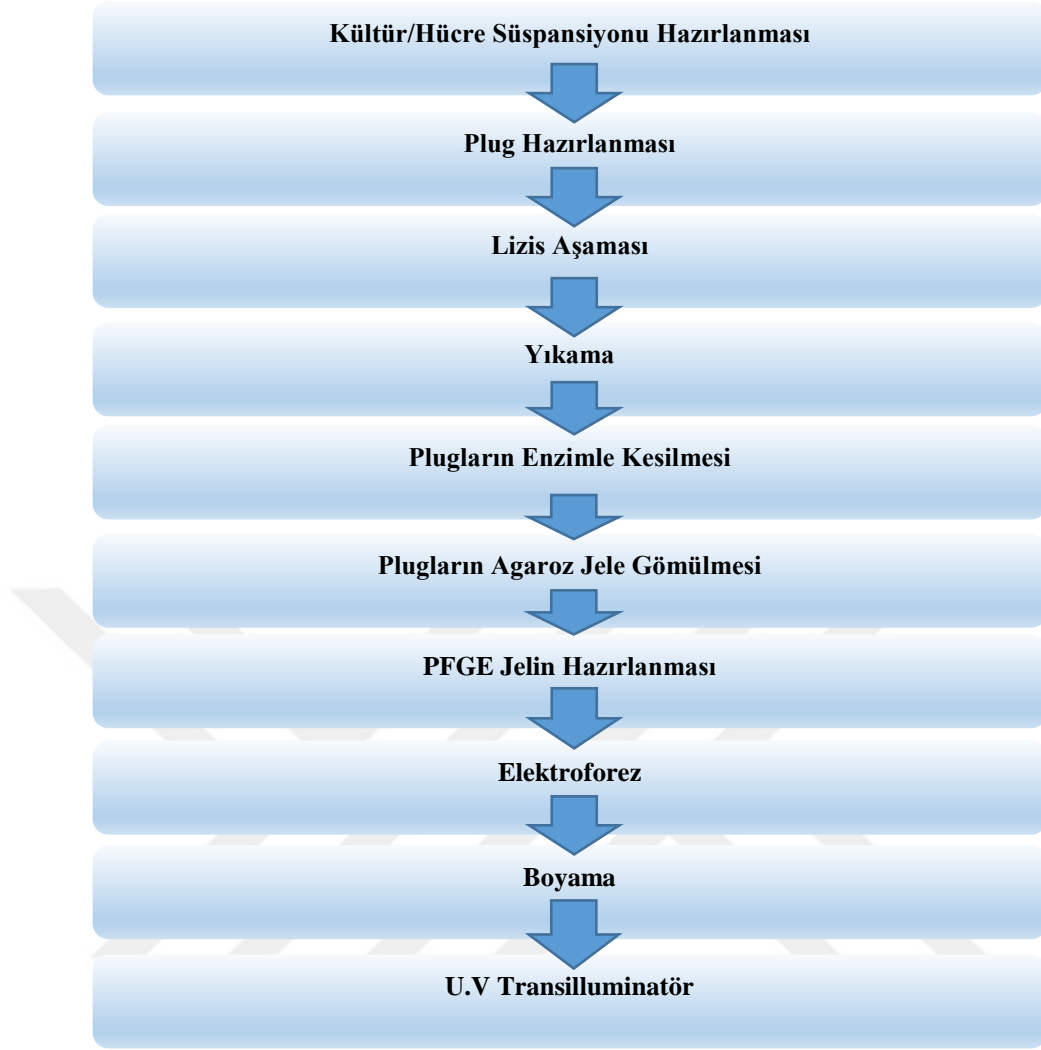
Tablo 15. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ve dozları

Antibiyotik Diski	Sembolü	Dozu
Tetrasiklin	TE	30 µg
*Penisilin G	PG	1 U
*Ampisilin	AMP	2 µg
Kloramfenikol	C	30 µg
*Eritromisin	E	15µg
Amoksisilin/Klavulanik asit	AMC	30 µg
Oksitetrasiklin	OT	30 µg
Vankomisin	VA	30 µg
*Meropenem	MEM	10 µg
*Trimethoprim-sulfamethoxazole	SXT	1.25/23.75 µg

*: EUCAST standartlarına göre

3.2.8. *L. monocytogenes* İzolatlarının Genotiplendirmesi

L. monocytogenes izolatlarının genotiplendirmesinde CDC PulseNet tarafından standardize edilmiş PFGE yöntemi uygulandı (Şekil 13). PFGE analizleri İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı.



Şekil 13. PFGE aşamaları

Kültür/Hücre Süspansiyonu Hazırlanması

L. monocytogenes izolatları ve referans suş BHI Agar'a ekildi. 37 °C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra koloniler, içerisine 3 ml TE buffer eklenmiş olan tüplere aktarılarak homojenize edildi. Mc Farland 7.0 olacak şekilde bakteriyel süspansiyonun yoğunluğu ayarlandı. Hazırlanan süspansiyonlardan 240'ar µl alınarak 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine aktarıldı. Daha sonra örnekler 60 µl lizozim solüsyonu eklendi. Pipetaj yapıldıktan sonra 10 dakika 37 °C'de su banyosunda bekletildi.

Plug Hazırlanması

10 dakika su banyosundan sonra, PulseNet metodunda bildirilen formülasyona göre numune sayıları ve bileşen miktarları doğrultusunda hazırlanan LSP solüsyonundan 300 µl alınarak içerisinde 300 µl hücre ve lizozim süspansiyonu bulunan tüplere eklendi

ve karışması sağlandı. Daha sonra bu karışımdan, önceden numaralandırılmış plaklara hava kabarcığı kalmayacak şekilde dikkatlice dolduruldu. Ardından donması için 15 dakika buzdolabında bekletildi.

Lizis Aşaması

Daha önce hazırlanan lizis solüsyonundan 4'er ml alınarak, numaralandırılmış 50 ml'lik falkon tüplerine paylaştırıldı. Pluglar lizis solüsyonuna aktarılıp çalkalayıcı su banyosunda 200 rpm ve 54 °C'de 2 saat bekletildi

Yıkama

İnkübasyondan alınan tüplerdeki solüsyon plaklara zarar vermeden uzaklaştırıldı. Tüplere 15'er ml 54°C'deki steril distile su eklendi. Bu işlem 2 kere yapıldı. Daha sonra yıkama işlemi steril distile su yerine TE buffer kullanılarak 4 kere daha yapıldı. Ardından plaklar restriksiyon işlemine kadar içerisinde 5 ml TE buffer bulunan falkon tüplerde +4°C'de muhafaza edildi.

Plugların Hazırlanması ve Enzimle Kesilmesi

Buzdolabından çıkarılan örnekler lam üzerinde ¼ oranında yaklaşık 2 mm kalınlığında kesildi. 100 µl %10 luk buffer içerisinde 37°C'de 10 dakika bekletildikten sonra buffer çekildi. Her örnek için 3 µl enzim + 10 µl buffer + 87 µl distile su toplam 100 µl'lik karışım hazırlanarak örneklerin bulunduğu 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine dağıtıldı. Tüpler 37°C'de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda buz içerisine bırakıldı.

PFGE Jelin Hazırlanması

250 ml 0,5 X TBE içerisine 2,5 g ultra pure DNA grade agaroz eklendi. Mikrodalga fırında çözdürülerek, kullanılabildiği kadar 53 °C'deki su banyosunda bekletildi.

Pulsed Field Elektrofez Sisteminin Hazırlanması

Hazırlanan 0,5 X TBE solüsyonundan yaklaşık 2 litre elektroforez tankında koyuldu. Cihazın açılarak soğutma modülü sıcaklığı 14 °C'ye, pompası 70'e ayarlandı.

Plugların Agaroz Jele Gömülmesi

Enzim solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra TBE ile son yıkama yapıldı. Daha sonra spatül yardımıyla alınan plaklar jelin içerisinde kalmasını sağlayacak tarağa teker teker yerleştirildi (Şekil 14). Jel döküm ünitesine döküldükten sonra tarak, plakların düşmemesine dikkat edilerek jel haline dönüşecek karışımın içine yerleştirildi. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Jel donduktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çıkartıldı

ve kuyucuklar daha önceden ayrılıp kuru blok ısıtıcıda bekletilen donmamış jel ile hava kabarcığı oluşmayacak şekilde kapatıldı.



Şekil 14. Plakların jele gömülmesi

Elektroforez Aşaması

Elektroforez işlemi için cihaz, düşük mW için 30 kb, yüksek mW için 700 kb olacak şekilde ayarlandı ve örnekler 19-21 saat yürütüldü (Şekil 15).



Şekil 15. Elektroforez cihazı

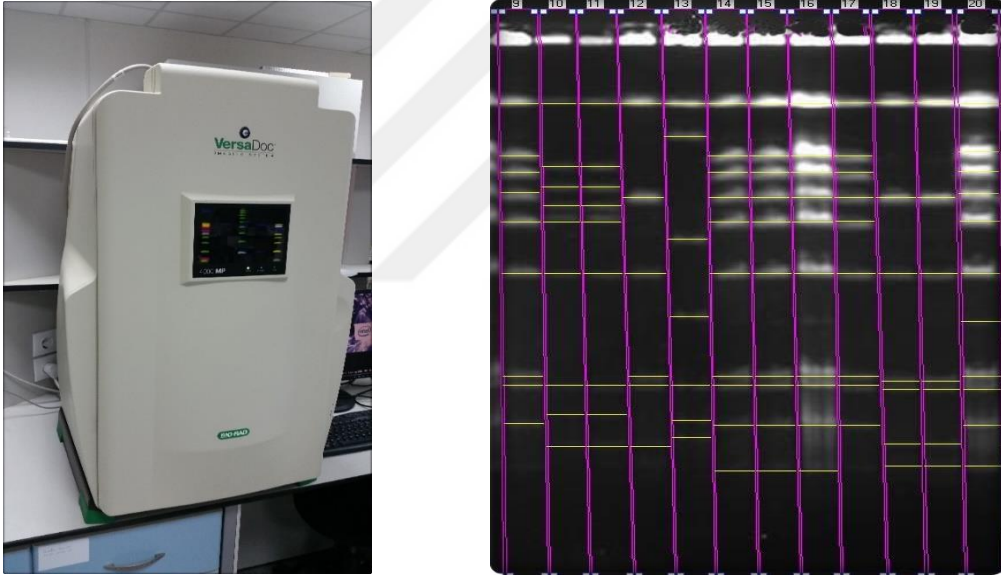
Boyama Aşaması

Boyama işlemi için 40 µl etidyum bromid solüsyonu, 400 ml distile suyla sulandırıldı. Elektroforez işlemi bittiğinde jel içerisinde 0,5 X TBE solüsyonu bulunan ayrı bir kaba aktarıldı. 10 µl etidyum bromid eklenerek 30 dk. boyandı. Jel daha sonra distile suyla (30 dk. da bir değiştirilerek) üç kez yıkandı.

U.V Transilluminatör

Boyamanın ardından, içerisinde enzimlerle kesilmiş *L. monocytogenes* DNA'sı bulunan plugların elektroforez işlemiyle elde edilen DNA bantları, jel görüntüleme sisteminde incelendi (Şekil 16).

Dendogram analizlerinde enzimlerin her ikisi için de eşdeğer coefficient yüzde değeri (%0,5) kullanıldı. İzolatlar klonal ilişkileri açısından incelendi.



Şekil 16. U.V Transilluminatör ve bilgisayarda alınan görüntü

Çalışmada Kullanılan Bakteri Suşları

Anabilim Dalımız laboratuvar koleksiyonunda aşağıdaki suşlar bulunmaktadır.

L. monocytogenes RSKK 472 (serotip 1/2b)

L. monocytogenes RSKK 471 (serotip 1/2a)

L. monocytogenes RSKK 475 (serotip 4b)

L. monocytogenes ATCC 7644 (serotip 1/2c)

S. aureus ATCC 26923

R. equi ATCC 33701

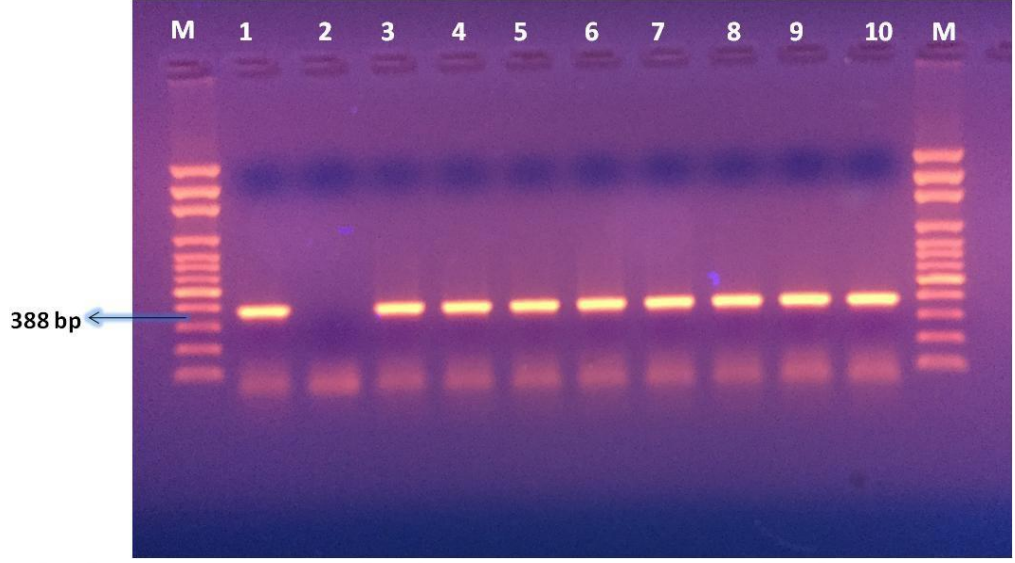
4.BULGULAR

Toplam 192 örneğin 56'sından 232 *L. monocytogenes* şüpheli izolat toplandı. Biyokimyasal testlerde 25 (%13) örnekten 51 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak tespit edildi ve PCR ile doğrulandı.

Oniki soğutucu zemin örneğinin 4'ünden 20 şüpheli izolat toplandı. İzolatların tamamı *L. monocytogenes* negatif olarak belirlendi. Oniki soğutucu kapı kolu ve 12 duvar örneğinin hiçbirinde izolat elde edilemedi.

Oniki zemin örneğinin 4'ünden 18 şüpheli izolat toplandı. Bir zemin örneğinden 1 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlendi. Yirmidört tezgah örneğinin 13'ünden 64 şüpheli izolat toplandı. 3 tezgah örneğinden 8 izolat *L.monocytogenes* pozitif olarak belirlendi. 24 personel eli örneğinin 8'inden 37 şüpheli izolat toplandı. 3 personel elinden 8 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlendi. 24 bıçak örneğinin 6'sından 23 şüpheli izolat toplandı. 3 bıçak örneğinden 5 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlendi. 24 bileyici örneğinin 9'undan 43 şüpheli izolat toplandı. 4 bileyici örneğinden 9 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlendi. 24 parça tavuk örneğinin 7'sinden 13 şüpheli izolat toplandı. 3 parça tavuk örneğinden 8 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak tespit edildi. 24 bütün tavuk örneğinin 12'sinden 21 izolat toplandı. 8 bütün tavuk örneğinden 12 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak tespit edildi. İşletmelerden alınan 11 yüzey ve 3 personel eli ile 11 tavuk örneklerinden toplam 51 izolat *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlendi (Tablo 16).

L. monocytogenes izolatlarında, *hlyA* geninin araştırılması amacıyla PCR yöntemi uygulandı.Yapılan analizlerde izolatların tamamında *hlyA* geninin bulunduğu saptandı (Şekil 17).



Şekil 17. *L. monocytogenes* izolatlarında *hlyA* (388 bp) geninin elektroforez görüntüsü M: 100 bp'lik DNA ladder, 1: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* ATCC 7644), 2: Negatif kontrol, (distile su) 3 – 10: *hlyA* geni pozitif *L. monocytogenes* izolatları

Tablo 16. Elde edilen *L. monocytogenes* izolatları ve işletmelere göre dağılımı

No	Numune	A işletmesi izolat sayısı			B işletmesi izolat sayısı			C işletmesi izolat sayısı			D işletmesi izolat sayısı		
		Tekrar			Tekrar			Tekrar			Tekrar		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip
1	Soğutucu kapı k												
2	Soğutucu zemin (SZ)												
3	Duvar (D)												
4	Zemin (Z)							ZC2e 1/2a					
5	Tezgah 1 (T1)	T1A1a 1/2c T1A1b 1/2a T1A1c 1/2a T1A1d 1/2a									T1D1a 1/2a		
6	Tezgah 2 (T2)										T2D2b 1/2a T2D2c 1/2a T2D2d 1/2a		

Tablo 16. Elde edilen *L. monocytogenes* izolatları ve işletmelere göre dağılımı (devamı)

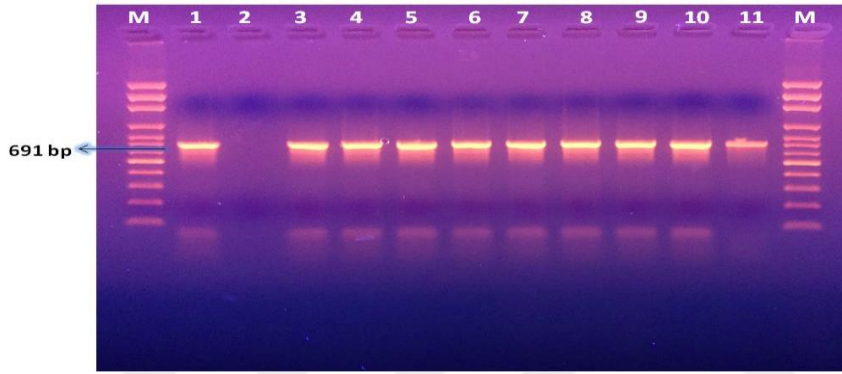
No	Numune	A işletmesi izolat sayısı			B i işletmesi izolat sayısı			C işletmesi izolat sayısı			D işletmesi izolat sayısı		
		Tekrar			Tekrar			Tekrar			Tekrar		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip
7	Personel eli 1 (P1)		P1A2a 1/2a P1A2b 1/2a P1A2c 1/2a P1A2e 1/2a		P1B1d 1/2a								P1D3a 1/2a P1D3b 1/2a P1D3c 1/2a
8	Personel eli 2 (P2)												
9	Bıçak 1 (B1)	B1A1d 1/2a B1A1e 1/2a											
10	Bıçak 2 (B2)	B2A1e 1/2a	B2A2a 1/2c B2A2b 1/2c										
11	Bileyici 1 (BL1)											BL1D2a 1/2a BL1D2d 1/2a BL1De 1/2a	BL1D3b 1/2a BL1D3e 1/2a

Tablo 16. Elde edilen *L. monocytogenes* izolatları ve işletmelere göre dağılımı (devamı)

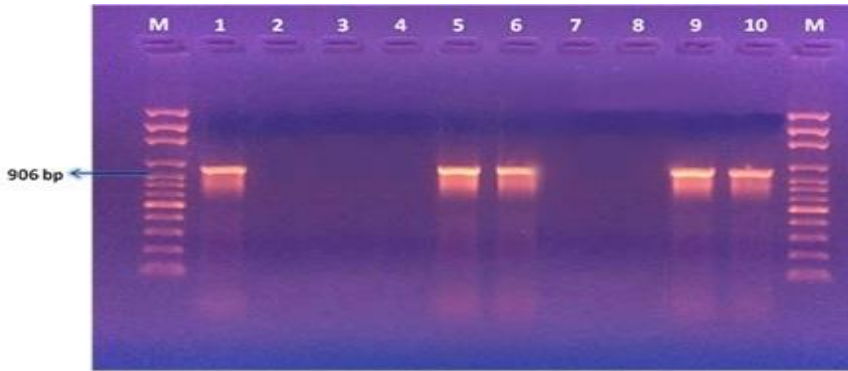
No	Numune	A işletmesi izolat sayısı			B i işletmesi izolat sayısı			C işletmesi izolat sayısı			D işletmesi izolat sayısı		
		Tekrar			Tekrar			Tekrar			Tekrar		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	Kod/ Serotip	
12	Bileyici 2 (BL2)											BL2D2a 1/2a BL2Db 1/2a BL2D2d 1/2a	BL2D3a 1/2a
13	Parça tavuk 1 (PT1)												PT1D3a 1/2a PT1D3b 1/2a PT1D3c 1/2a
14	Parça tavuk 2 (PT2)		PT2A2a 1/2a PT2A2b 1/2a										PT2D3c 1/2a PT2D3d 1/2a PT2D3e 1/2a
15	Bütün tavuk 1 (BT1)		BT1A2b 1/2a BT1A2c 1/2a BT1A2d 1/2a BT1A2e 1/2c		BT1B1e 1/2a				BT1C2C 1/2a			BT1D2e 1/2a	
16	Bütün tavuk 2 (BT2)		BT2A2c 1/2a		BT2B1a 1/2a				BT2C2c 1/2a BT2C2e 1/2a				BT2D3e 1/2a

L. monocytogenes izolatlarının serotiplendirilmesinde Doumith ve ark. (2004) tarafından bildirilen yöntemle göre yapılan analizlerde Şekil 18, 19, 20 ve 21’de görüldüğü gibi 691 bp’de bant veren izolatlar 1/2a (veya 3a), 471 bp’de bant veren izolatlar 1/2b (veya 3b), 691 ve 906 bp’de bant veren izolatlar 1/2c (veya 3c), 471 ve 597 bp’de bant veren izolatlar 4b (veya 4d, 4e) olarak değerlendirildi.

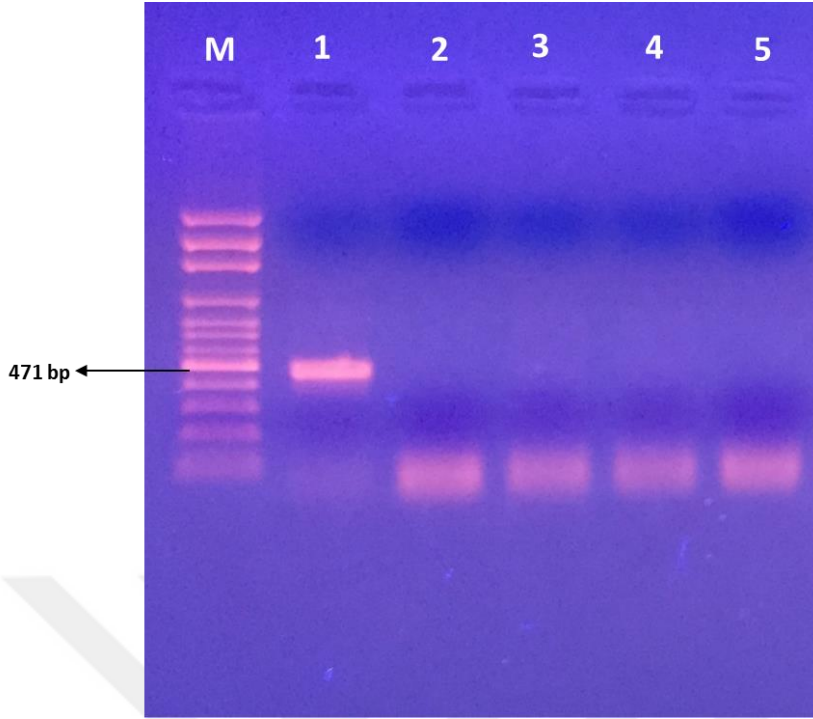
Değerlendirmeler sonucunda 51 örneğin 47’si (%92,2) 1/2a (3a), 4’ü (%7,8) 1/2c (3c) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen 5 bıçak izolatından 2’si, 8 tezgah izolatından 1’i ve 12 bütün tavuk izolatından 1’i 1/2c (3c) diğer bütün izolatlar 1/2a (2a) olarak belirlenmiştir.



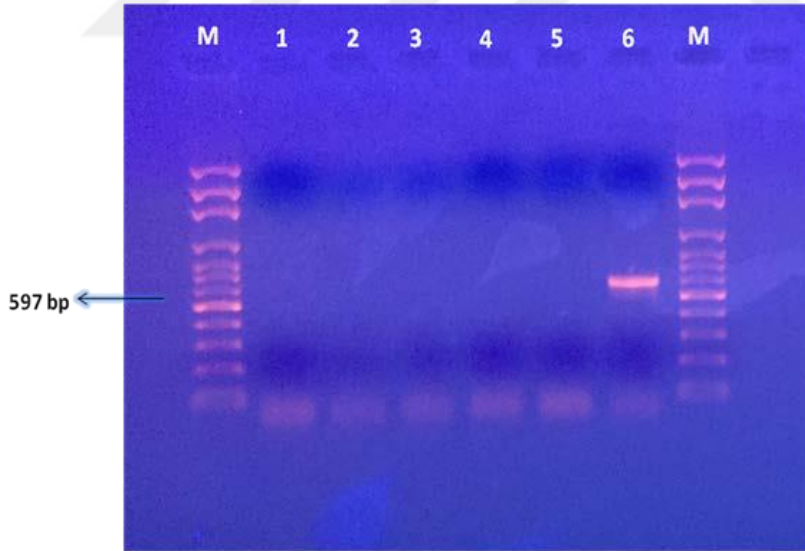
Şekil 18. IMO0737 gen bölgesi (691 bp) elektroforez sonuçları M: 100 bp DNA ladder, 1: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* RSKK 471, serotip 1/2a), 2: Negatif kontrol (distile su), 3 – 11: IMO0737 pozitif *L. monocytogenes* izolatları



Şekil 19. IMO1118 gen bölgesi (906 bp) elektroforez sonuçları M: 100 bp DNA ladder, 1: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes*, ATCC 7644, serotip 1/2c) 2: Negatif kontrol (distile su), 5, 6, 9 ve 10: IMO1118 pozitif *L. monocytogenes* izolatları, 3, 4, 7 ve 8: IMO1118 negatif *L. monocytogenes* izolatları



Şekil 20. *ORF2819* gen bölgesi (471 bp) elektroforez sonuçları **M**:100 bp DNA ladder, **1**: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* RSKK 472, serotip 1/2b), **2**: Negatif kontrol (distile su), **3-5**: *ORF2819* negatif *L. monocytogenes* izolatları



Şekil 21. *ORF2110* gen bölgesi (597 bp) elektroforez sonuçları **M**:100 bp DNA ladder, **6**: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* RSKK 475, serotip 4b), **1**: Negatif kontrol (distile su), **2 – 5**: *ORF2110* negatif *L. monocytogenes* izolatları

Yapılan çalışmada PCR ile doğrulanmış izolatların antibiyotik dirençlilik testleri EUCAST ve CLSI'da belirtildiği şekilde yapıldı (Şekil 22). Testler sonucunda 51 izolatın 26'sının (%51) en az bir antibiyotiğe, 13'ünün (%25,5) de birden fazla antibiyotiğe karşı

direnç gösterdiği belirlendi. Ayrıca 25 izolatın (%49) herhangi bir antibiyotiğe karşı dirençli olmadığı saptandı.



Şekil 22. Antibiyotik dirençlilik testi

Personel elinden izole edilen 8 izolatın, 1'i (%12,5) eritromisine, 2'si (%25) meropeneme, 2'si (%25) sülfametoksazol/trimetoprime dirençli bulundu. Personel elinden elde edilen izolatlarda, tetrasiklin, penisilin G'ye, ampisilin, kloramfenikol, amoksisilin/klavulanik asit, oksitetrasiklin ve vankomisin dirençliliği saptanmadı.

Bütün tavuktan elde edilen 12 izolatın 1'i (%8,3) ampisilin, penisilin G, kloramfenikol, tetrasiklin ve oksitetrasikline, 1'i (%8,3) eritromisin ve tetrasikline, 1'i (%8,3) sülfametoksazol/trimetoprim ve amoksisilin/klavulanik asite, 1'i (%8,3) tetrasiklin ve oksitetrasikline dirençli bulundu. Bütün tavuklardan elde edilen izolatlarda vankomisin ve meropeneme dirençlilik saptanmadı.

Tezgahtan elde edilen 8 izolatın 1'i (%12,5) eritromisine, 1'i (%12,5) sülfametoksazol/trimetoprime, dirençli bulundu. Tezgahtan elde edilen izolatlarda ampisilin, penisilin G, meropenem, kloramfenikol, tetrasiklin, amoksisilin/klavulanik asit, vankomisin ve oksitetrasikline dirençlilik saptanmadı.

Bıçaklardan elde edilen 5 izolatın 1'i (%20) ampisilin ve penisilin G'ye ve 1'i (%20) eritromisine dirençli bulundu. Meropenem, sülfametoksazol/trimetoprim,

kloramfenikol, tetrasiklin, vankomisin, amoksisilin/klavulanik asit ve oksitetrasikline dirençlilik saptanmadı.

Parça tavuklardan elde edilen 8 izolatın 1'i (%12,5) penisilin G'ye, 1'i (%12,5) eritromisin ve kloramfenikole, 1'i (%12,5) meropeneme, 1'i (%12,5) oksitetrasiklin ve tetrasikline dirençli bulundu. Parça tavuklardan elde edilen izolatlarda ampisilin, sülfametoksazol/trimetoprim, vankomisin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençlilik saptanmadı.

Bileycilerden elde edilen 9 izolatın 1'i (%11,1) ampisilin ve penisilin G'ye, 2'si (%22,2) tetrasiklin ve oksitetrasikline, 1'i (%11,1) eritromisin ve oksitetrasikline, 1'i (%11,1) eritromisin ve sülfametoksazol/trimetoprime, 1'i (%11,1) sülfametoksazol/trimetoprime ve kloramfenikole, 1'i (%11,1) eritromisine, 1'i (%11,1) sülfametoksazol/trimetoprime dirençli bulundu. Bileycilerden elde edilen izolatlarda, vankomisin, meropenem ve amoksisilin/klavulanik asite dirençlilik saptanmadı.

Zeminden elde edilen izolatta herhangi bir antibiyotik direnci saptanmadı.

51 izolatın antibiyotiklere karşı tespit edilen dirençlilik oranları büyükten küçüğe: sülfametoksazol/trimetoprim 8 izolat (%15,7), eritromisin 8 izolat (%15,7), tetrasiklin 6 izolat (%11,8), oksitetrasiklin 6 izolat (%11,8), penisilin G 4 izolat (%7,8), ampisilin 3 izolat (%5,9), meropenem 3 izolat (%5,9), kloramfenikol 3 izolat (%5,9), amoksisilin/klavulanik asit 1 izolat (%2) olarak tespit edilmiştir. Vankomisine direnç tespit edilememiştir.

L. monocytogenes serotiplerinin antibiyotik dirençlilikleri incelendiğinde ise; 4 *L. monocytogenes* 1/2c izolatının 1'i (%25) ampisiline ve (%25) penisilin G'ye, 1'i (%25) sülfametoksazol/trimetoprime ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli bulundu. 2 izolat (%50) herhangi bir antibiyotiğe karşı dirençlilik saptanmadı.

47 *L. monocytogenes* 1/2a izolatının 2'i (%4,3) ampisiline, 3'ü (%6,4) penisilin G'ye, 8'i (%17) eritromisine, 3'ü (%6,4) meropeneme, 7'si (%14,9) sülfametoksazol/trimetoprime, 3'ü (%6,4) kloramfenikole, 6'sı (%12,8) tetrasikline, ve 6'sı (%12,8) oksitetrasikline dirençli bulundu. 1/2a izolatlarından vankomisin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençlilik saptanmadı (Tablo 17).

Tablo 17. Antibiyotik dirençlilik testi sonuçları

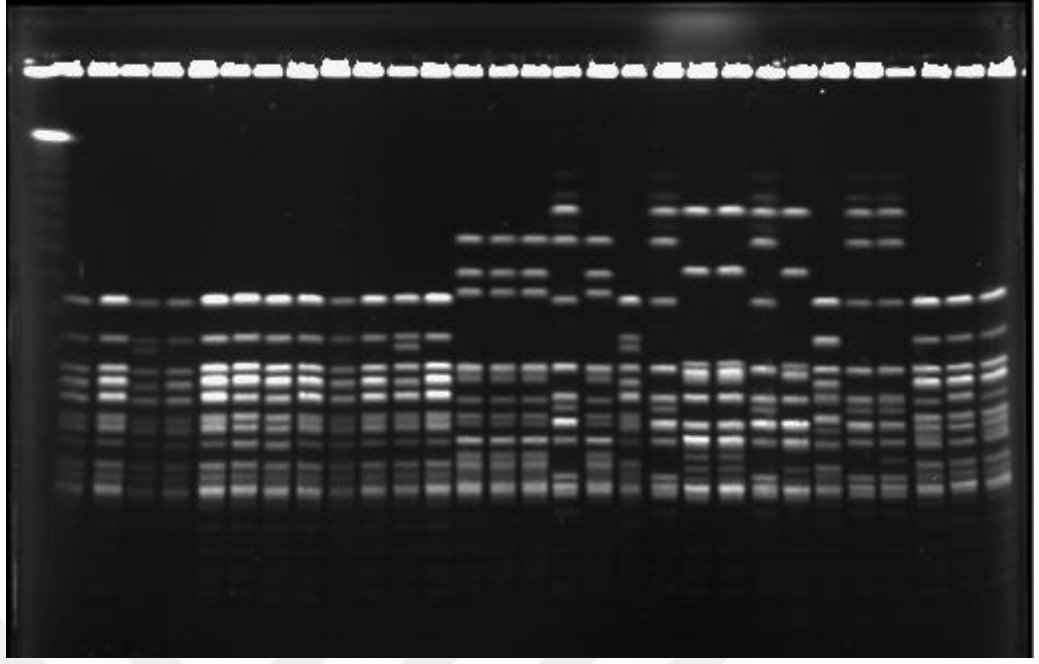
NO	<i>L. monocytogenes</i> izolatları	AMP* 2µg	PG* 1U	E* 15	MEM* 10 µg	SXT* 1,25- 23,75 µg	C 30 µg	TE 30 µg	VA 30 µg	AMC 30 µg	OT 30 µg
1	Pers. Eli 1 B1d	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
2	Pers. Eli 1 A2a	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
3	Pers. Eli 1 A2b	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	Pers. Eli 1 A2c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	Pers. Eli 1 A2e	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
6	Pers. Eli 1 D3a	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
7	Pers. Eli 1 D3b	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
8	Pers. Eli 1 D3c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9	Tezgah 1 A1a	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	Tezgah 1 A1b	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	Tezgah 1 A1c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	Tezgah 1 A1d	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	Tezgah 1 D1a	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
14	Tezgah 2 D2b	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
15	Tezgah 2 D2c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	Tezgah 2 D2d	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17	Zemin C2e	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18	Bıçak 1 A1d	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19	Bıçak 1 A1e	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	Bıçak 2 A2a	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
21	Bıçak 2 A2b	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
22	Bıçak 2 A1e	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
23	Bileyici 1 D2a	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
24	Bileyici 1 D2d	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
25	Bileyici 1 D2e	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
26	Bileyici 2 D2a	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
27	Bileyici 2 D2b	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
28	Bileyici 2 D2d	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
29	Bileyici 1 D3b	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
30	Bileyici 1 D3e	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S
31	Bileyici 2 D3a	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
32	Parça t. 2 A2a	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S

Tablo 17. Antibiyotik dirençlilik testi sonuçları (devamı)

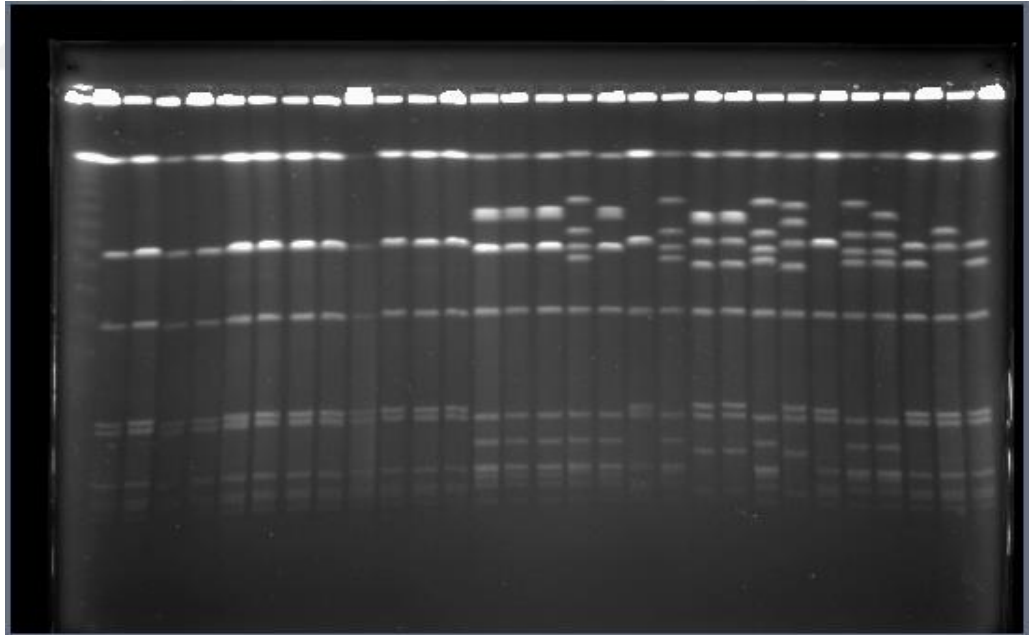
NO	<i>L. monocytogenes</i> izolatları	AMP* 2µg	PG* 1U	E* 15	MEM* 10 µg	SXT* 1,25- 23,75 µg	C 30 µg	TE 30 µg	VA 30 µg	AMC 30 µg	OT 30 µg
33	Parça t. 2 A2b	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
34	Parça t. 1 D3a	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
35	Parça t. 1 D3b	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S
36	Parça t. 1 D3c	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
37	Parça t. 2 D3c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
38	Parça t. 2 D3d	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
39	Parça t. 2 D3e	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
40	Bütün t. 1 A2b	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
41	Bütün t. 1 A2c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
42	Bütün t. 1 A2d	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	Bütün t. 1 A2e	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S
44	Bütün t. 2 A2c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
45	Bütün t. 1 D2e	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S
46	Bütün t. 1 C2c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
47	Bütün t. 2 C2c	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
48	Bütün t. 2 C2e	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
49	Bütün t. 2 D3e	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R
50	Bütün t. 1 B1e	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
51	Bütün t. 2 B1a	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R

AMP: Ampisilin, PG: Penisilin G, E: Eritromisin, MEM: Meropenem, SXT: Sülfametoksazol/Trimetoprim, C: Kloramfenikol, TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, , OT: Oksitetrasiklin, MIC: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu R: Direçli, I: Orta, S: Duyarlı

İzolatların genotiplendirmelerinde PFGE tekniği uygulandı. Örnekler ApaI ve AscI restriksiyon enzimleri ile kesildikten sonra UV transilluminatörde, elektroforezle elde edilen DNA bantları görüntüledi (Şekil 23, 24). UV transilluminatör görüntülerinin bant aralıkları BIO 1D++ jel analiz programıyla seçilerek UPGMA programıyla dendrogram analizleri yapıldı.



Şekil 23. PFGE işlemi sonucu oluşan DNA bantları (ApaI enzimi ile kesim)

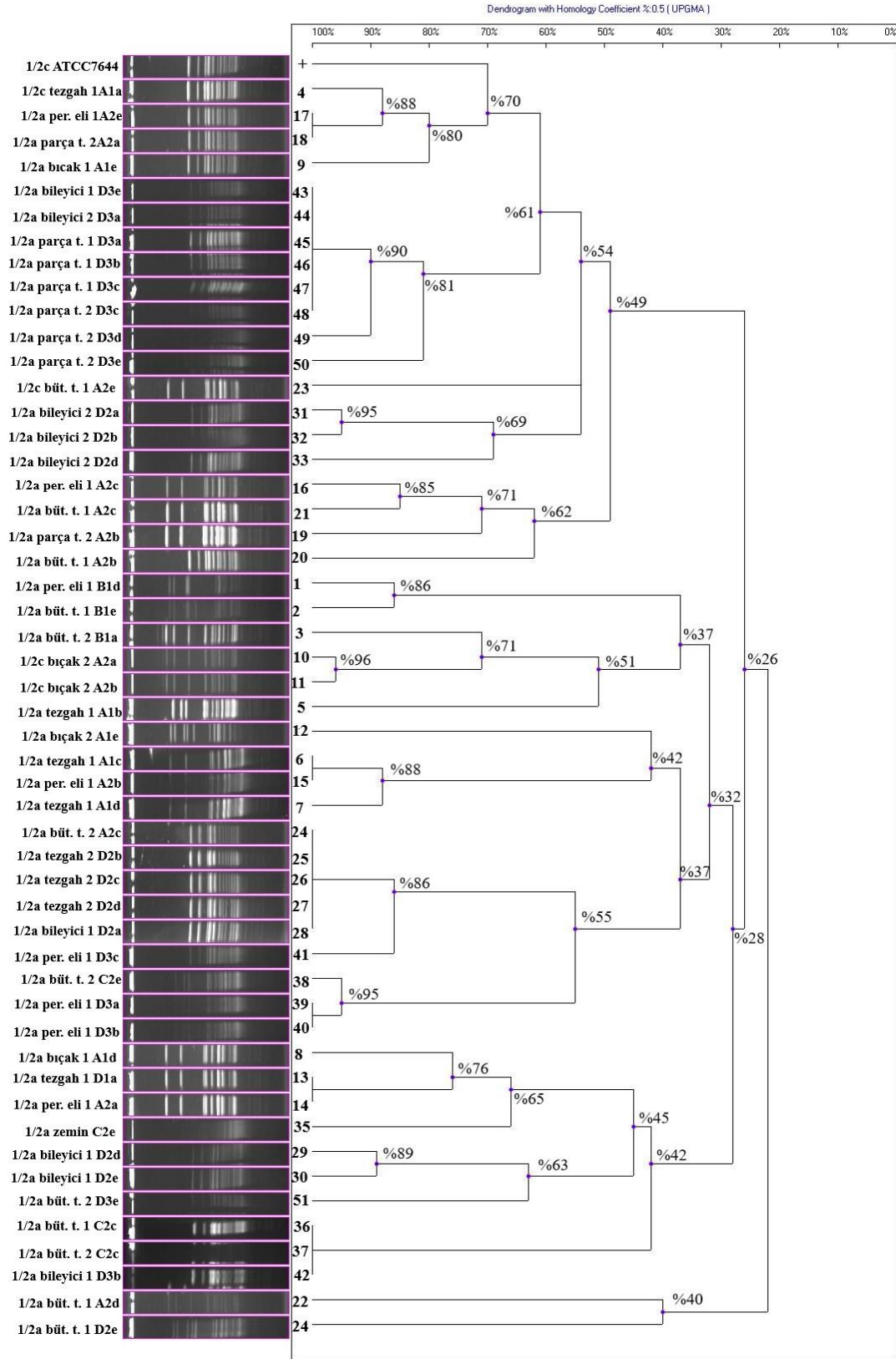


Şekil 24. PFGE işlemi sonucu oluşan DNA bantları (AscI enzimi ile kesim)

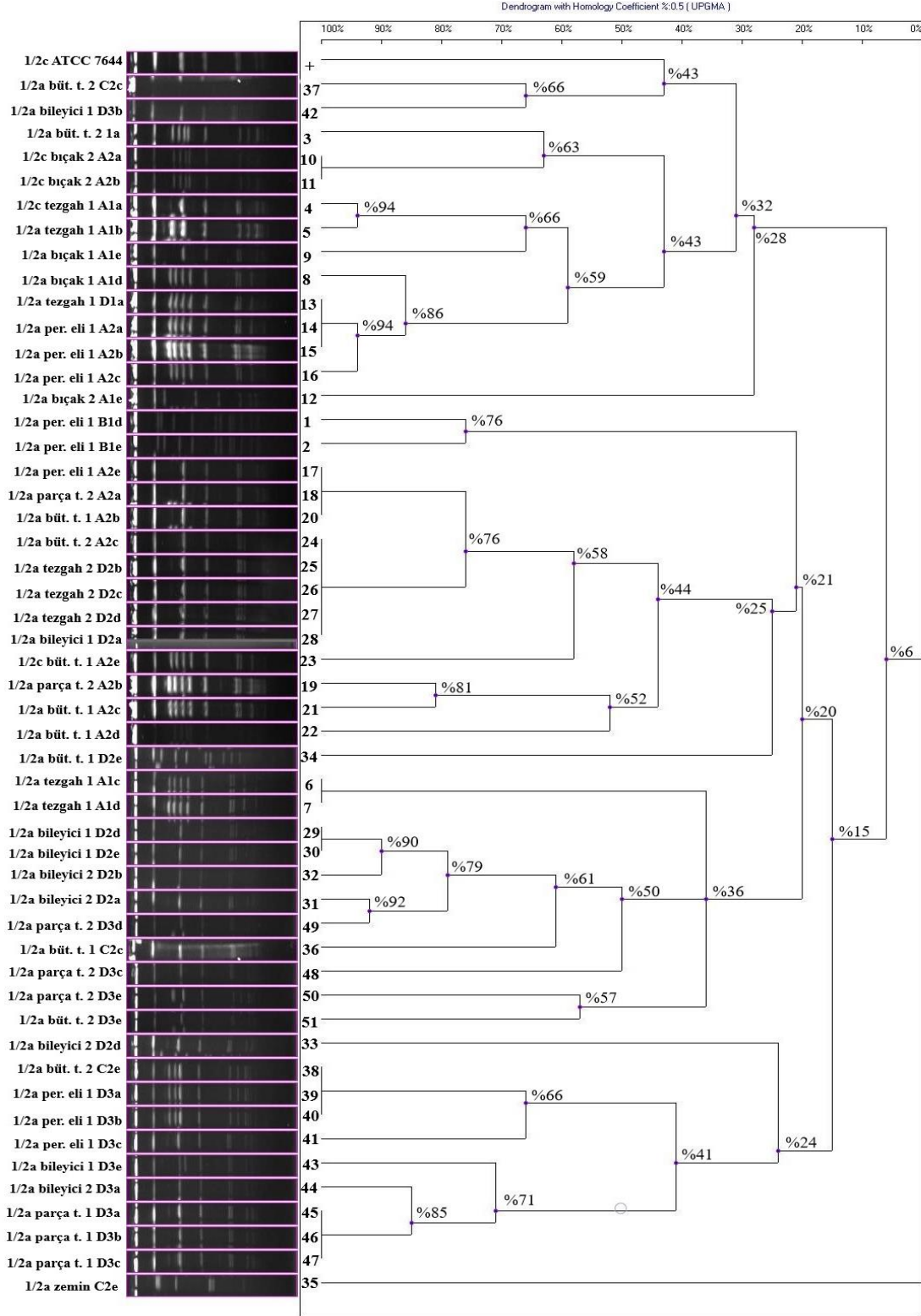
UPGMA analiz programı ile oluşturulan PFGE dendrogram profilleri, klonal ilişkileri yönünden incelenerek. İzolatların birbirleriyle ve *L. monocytogenes* ATCC referans suşuyla homolojileri değerlendirildi.

ApaI enzimi ile yapılan restriksiyon işlemi neticesinde elde edilen PFGE değerlendirilmesinde, en az %80 benzerlik gösteren 25 farklı küme ile 45 alt kümeye dağıldıkları saptandı. %100 benzerlik içeren 2 küme ve 4 alt küme (Tablo 18), %96 benzerlik içeren 1 küme, %95 benzerlik içeren 2 küme, %90 benzerlik içeren 1 altküme, %89 benzerlik içeren 1 küme, %88 benzerlik içeren 1 küme ve 1 altküme, %86 benzerlik içeren 2 küme, %85 benzerlik içeren 1 küme, %81 benzerlik içeren 1 küme ve %80 benzerlik içeren 1 küme gözlemlendi (Şekil 25).

AscI enzimi ile yapılan restriksiyon işlemi neticesinde elde edilen PFGE değerlendirilmesinde, en az %80 benzerlik esas alınarak yapılan dendrogramında izolatların ilişkili 29 farklı küme ile 36 alt kümeye dağıldıkları saptandı. %100 benzerlik içeren 4 küme ve 2 alt küme (Tablo 19), %94 benzerlik içeren 1 küme ve 1 altküme, %92 benzerlik içeren 1 küme, %90 benzerlik içeren 1 küme, %86 benzerlik içeren 1 küme, %85 benzerlik içeren 1 küme, ve %81 benzerlik içeren 1 küme olduğu gözlemlendi (Şekil 26).



Şekil 25. ApaI enzimi kullanılarak elde edilen PFGE dendrogramı



Şekil 26. Ascl enzimi kullanılarak elde edilen PFGE dendrogramı

Tablo 18. Apal enzimiyle elde edilen PFGE sonuçlarına göre %100 benzerlik gösteren izolatların serotip ve antibiyotik direçlilikleri

Küme/Alt küme	<i>L.monocytogenes</i> izolatları	Serotip	Antibiyotik direçlilik
Küme	D işletmesi 1. ziyaret 1. tezgah a izolatu	1/2a	E
	A işletmesi 2. ziyaret 1. personel eli a izolatu	1/2a	MEM
Küme	C işletmesi 2. ziyaret 2. bütün tavuk c izolatu	1/2a	-
	C işletmesi 2. ziyaret 1. bütün tavuk c izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 3. ziyaret 1. bileyici b izolatu	1/2a	SXT, C
Alt küme	A işletmesi 2. ziyaret 1. personel eli e izolatu	1/2a	E
	A işletmesi 2. ziyaret 2. personel eli a izolatu	1/2a	MEM
Alt küme	A işletmesi 2. ziyaret 2. bütün tavuk c izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 2. ziyaret 2. tezgah b izolatu	1/2a	SXT
	D işletmesi 2. ziyaret 2. tezgah c izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 2. ziyaret 2. tezgah d izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 2. ziyaret 1. bileyici a izolatu	1/2a	AMP, PG
Alt küme	D işletmesi 3. ziyaret 1. bileyici e izolatu	1/2a	E, SXT
	D işletmesi 3. ziyaret 2. bileyici a izolatu	1/2a	SXT
	D işletmesi 3. ziyaret 1. parça tavuk a izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 3. ziyaret 1. parça tavuk b izolatu	1/2a	E, C
	D işletmesi 3. ziyaret 1. parça tavuk c izolatu	1/2a	TE, OT
	D işletmesi 3. ziyaret 2. parça tavuk c izolatu	1/2a	-
Alt küme	A işletmesi 1. ziyaret 1. tezgah c izolatu	1/2a	-
	A işletmesi 2. ziyaret 1. personel eli b izolatu	1/2a	-
Alt küme*	D işletmesi 3. ziyaret 1. personel eli a izolatu	1/2a	SXT
	D işletmesi 3. ziyaret 1. personel eli b izolatu	1/2a	SXT

*Aynı numuneye ait izolatlar olduğu için alt küme sıralamasından çıkartılmıştır.

AMP:Ampisilin, PG:Penisilin G, E:Eritromisin, MEM:Meropenem, C:Kloramfenikol, TE:Tetrasiklin, SXT:Sülfametoksazol/Trimetoprim, OT: Oksitetrasiklin, VA: Vankomisin

Tablo 19. AscI enzimiyle elde edilen PFGE sonuçlarına göre %100 benzerlik gösteren izolatların serotip ve antibiyotik direçlilikleri

Küme/Alt küme	<i>L. monocytogenes</i> izolatları	Serotip	Antibiyotik direçlilik
Küme	A işletmesi 2. ziyaret 1. personel eli e izolatu	1/2a	E
	A işletmesi 2. ziyaret 2. parça tavuk a izolatu	1/2a	MEM
	A işletmesi 2. ziyaret 1. bütün tavuk b izolatu	1/2a	-
Küme	A işletmesi 2. ziyaret 2. bütün tavuk c izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 2. ziyaret 2. tezgah b izolatu	1/2a	-SXT
	D işletmesi 2. ziyaret 2. tezgah c izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 2. ziyaret 2. tezgah d izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 2. ziyaret 1. bileyici a izolatu	1/2a	AMP, PG
Küme*	A işletmesi 1. ziyaret 1. tezgah c izolatu	1/2a	-
	A işletmesi 1. ziyaret 1. tezgah d izolatu	1/2a	-
Küme	A işletmesi 2. ziyaret 2. bıçak a izolatu	1/2c	AMP, PG
	A işletmesi 2. ziyaret 2. bıçak b izolatu	1/2c	-
Küme	C işletmesi 2. ziyaret 2. bütün tavuk e izolatu	1/2a	SXT
	D işletmesi 3. ziyaret 1. personel eli a izolatu	1/2a	SXT
	D işletmesi 3. ziyaret 1. personel eli b izolatu	1/2a	SXT
Alt küme	A işletmesi 2. ziyaret 1. personel eli a izolatu	1/2a	MEM
	A işletmesi 2. ziyaret 1. personel eli b izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 1. ziyaret 1. tezgah a izolatu	1/2a	E
Alt küme	D işletmesi 3. ziyaret 1. parça tavuk a izolatu	1/2a	-
	D işletmesi 3. ziyaret 1. parça tavuk b izolatu	1/2a	E, C
	D işletmesi 3. ziyaret 1. parça tavuk c izolatu	1/2a	TE,OT
Alt küme**	D işletmesi 2. ziyaret 1. bileyici d izolatu	1/2a	TE, OT
	D işletmesi 2. ziyaret 1. bileyici e izolatu	1/2a	TE.OT

*Aynı numuneye ait izolatlar olduğu için küme sıralamasından çıkartılmıştır.

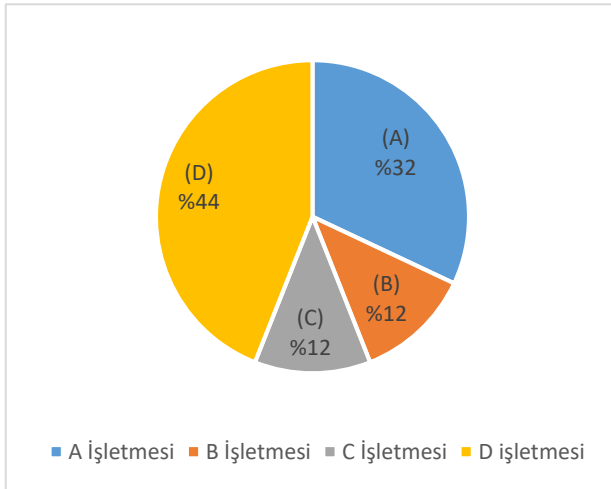
**Aynı numuneye ait izolatlar olduğu için alt küme sıralamasından çıkartılmıştır.

AMP:Ampisilin, PG:Penisilin G, E:Eritromisin, MEM:Meropenem, C:Kloramfenikol, TE:Tetrasiklin, SXT:Sülfametoksazol/Trimetoprim, OT: Oksitetrasiklin, VA: Vankomisin

5.TARTIŞMA

Kanatlı hayvanların doğal bağırsak mikrofloralarında bulunan mikroorganizmalar kanatlı eti üretimi aşamasında belirli bir risk oluştursa da çevresel faktörlerin etkisi, personel, alet ekipman gibi çapraz bulaşmaya neden olan etkenler bu riski daha da arttırmaktadır (Bailey ve ark., 1990). Çalışmamızda tavuklarda kontaminasyona neden olan *L. monocytogenes*'in dominant genotiplerinin tespiti için farklı işletmelerde tavuk parçalama prosesinin farklı bölümlerinden; klasik kültür tekniği, IMS ve PCR yöntemiyle ile identifikasyonu yapılan *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmesi PFGE metodu ile yapıldı. Ayrıca elde edilen izolatların antibiyotik direnç profilleri belirlenerek halk sağlığı açısından önemi araştırıldı.

Araştırmada, dört işletmede, parçalama prosesi ve ürünlerden 16 ayrı noktadan, 3 farklı zamanda toplanan 192 numunenin 25'inden (%13) *L. monocytogenes* izole edildi. A işletmesinde incelenen 48 örneğin 8'i (%16,7), B işletmesinde 48 örneğin 3'ü (%6,3), C işletmesinde 48 örneğin 3'ü (%6,3) ve D işletmesinde 48 örneğin 11'i (%22,9) *L. monocytogenes* ile kontamine bulundu. 24 bütün tavuk örneğinin 8'i (%33,3), 24 parça tavuk örneğinin 3'ü (%12,5), parçalama prosesinden alınan 144 örneğin 14'ünden (%9,7) *L. monocytogenes* izole edildi. *L. monoctyogenes* izole edilen 25 örnek işletme bazında incelendiğinde %32'sinin A işletmesinden, %12'sinin B işletmesinden, %12'sinin C işletmesinden ve %44'ünün D işletmesinden alındığı tespit edilmiştir (Şekil 27).

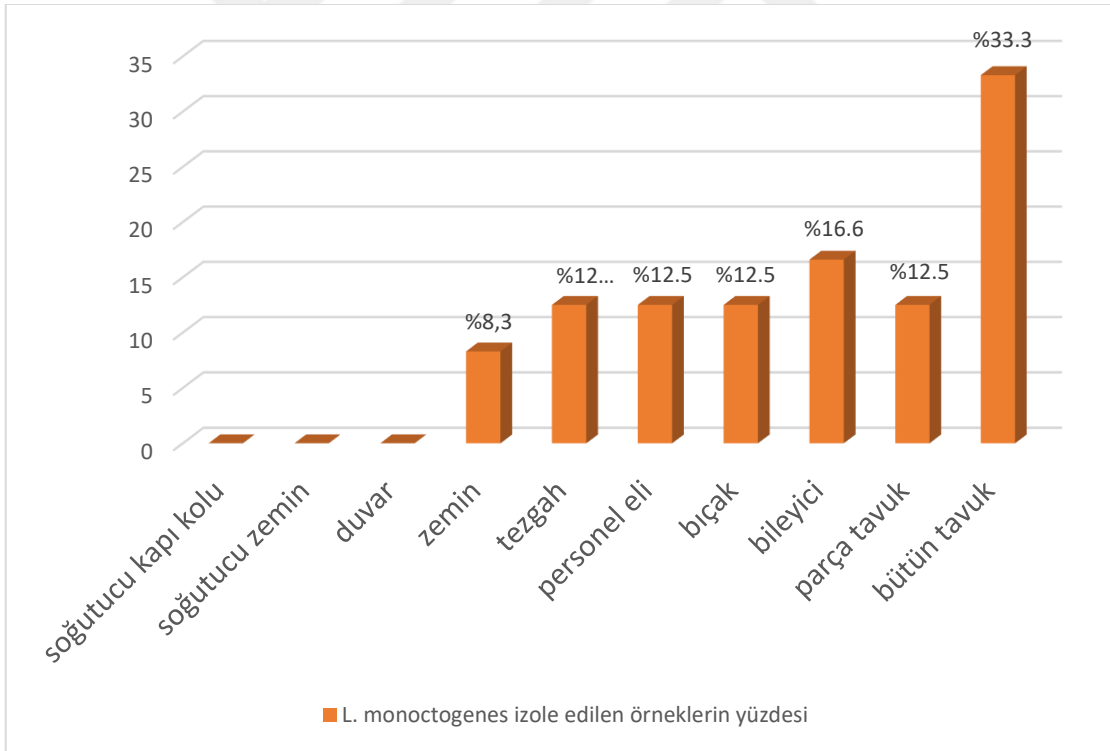


Şekil 27. *L. monocytogenes* izole edilen örneklerin işletmelere göre dağılımı

İşletmelerden alınan 24 bütün tavuk örneğinin 8'inden (%33,3) ve 24 parça tavuk örneğinin 3'ünden (%12,5) *L. monocytogenes* izole edildi. Bütün tavuk örneklerinde parça tavuk örneklerine göre daha fazla oranda *L. monocytogenes* saptanması, başlangıç kontaminasyon yükü ve bu örneklerle ön zenginleştirme aşamasında rins metodu uygulanmasıyla ilişkili olabilir. Dünyada ve ülkemizde tavuk etlerinde *L. monocytogenes* varlığının araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmamız bulgularından farklı olarak, Schönberg ve ark. (1989), 100 tavuk eti örneğinde %85; Rahmat ve ark. (1991), 24 tavuk karkası örneğinde %62,5; Weis (1989), 8 tavuk eti örneğinde %62,5; Kwiatak ve ark. (1992), 20 tavuk eti örneğinde %60; Farber ve ark. (1989b), 16 tavuk etinde %50; Rorvik ve ark. (2003), 5 farklı kesimhaneden alınan tavuk karkaslarında %20 ile %100 arasında değişen oranlarda *L.monocytogenes* varlığı tespit etmişlerdir. Bailey ve ark. (1989), 90 tavuk karkasında %23; Genigeorgis ve ark. (1989) 160 tavuk etinde %12,5; Gilbert ve ark. (1989), tüketime hazır piliç etlerinde %12; Indrawattana ve ark. (2011), 104 tavuk ürününde %15,4; Alsheikh ve ark. (2013), 250 hazır tavuk ürününde %13,6; Alsheikh ve ark. (2014), 500 dondurulmuş tavuk örneklerinde %12,8; Mahmood ve ark. (2003), 320 kanatlı eti ve ürünlerinde %9,6; Soutos ve ark. (2003), 205 tavuk parçasında %6,8; Özmen (2006), dondurulmuş-poşetlenmiş 100 tavuk karkasında %24; Yücel ve ark. (2005) 26 tavuk örneğinde %11,5; Arslan ve ark. (1999) 80 parça tavukta %10; Ayaz ve ark. (2009) 240 tavuk karkaslarında %20,2 oranında çalışmamız sonuçlarına yakın değerlerde *L. monocytogenes* varlığını bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda elde edilen değerler incelendiğinde günümüze daha yakın yapılan çalışmalarda eski çalışmalara göre *L. monocytogenes*'in daha az bulunduğu söylenebilir. Bu durumun, çiftlikler kesimhane ve et parçalama tesislerinin teknolojik olarak yenilenmesi, gıda güvenliği ile gıda hijyenine daha çok önem verilmesi neticesinde kontaminasyon kaynaklarının belirlenerek gerekli önlemlerin alınmasına bağlanabilir.

İşletmelerden 16 farklı noktadan toplanan 192 numunenin 25'inde (%13) *L. monocytogenes* tespit edildi. Bu noktalardaki kontaminasyon sıklığı; bileyici (24/4) %16,6, personel eli (24/3) %12,5, tezgah (24/3) %12,5, bütün tavuk (24/8) %33,3, parça tavuk (24/3) %12,5, zemin (12/1) %8,3 ve bıçak (24/3) %12,5 olarak tespit edildi (Şekil 28). A işletmesinden tezgah (%16,6), personel eli (%16,6), bıçak (%20,8), bütün (%20,8) ve parça tavuk (%8,3) örneklerinde, B işletmesinden personel eli (%4,1) ve

bütün tavuk (%8,3) örneklerinde, C işletmesinden zemin (%8,3) ve bütün tavuk (%12,5) örneklerinde, D işletmesinden tezgah (%16,6), personel eli (%12,5), bileyici (%37,5), bütün (%8,3) ve parça (%25) tavuk örneklerinde *L. monocytogenes* saptandı. Bıçak bileyicilerinde önemli oranda *L. monocytogenes* saptanması, etkenin pürüzlü yüzeylere daha kolay tutunmasıyla açıklanabilir. Bu tip alet ve ekipmanların temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin daha özenli yapılması olası kontaminasyon risklerini engelleyebilir. Etken psikrotrofik özelliğinden dolayı soğuk muhafaza koşullarında bile canlılığını koruyabilmesine rağmen, soğutucu kapı kolu, soğutucu zemin ve işletme duvarlarından alınan örneklerde *L. monocytogenes* bulunamadı. Bu durum işletmelerde uygulanan etkin temizlik ve dezenfeksiyon işlemleriyle ilişkili olabilir. İşletme duvarlarında kullanılan kolay temizlenebilen ve mikroorganizmaların yerleşmesini engelleyen yapıdaki pvc, fayans gibi malzemeler de etkilidir. Ayrıca soğutuculardaki çok düşük sıcaklıklar mikroorganizmaların üremelerini sınırlandırdığı söylenebilir.



Şekil 28. Alınan numunenin türüne göre elde edilen izolatların yüzdeleri

Yapılan çalışmalarda *L. monocytogenes*'in kesimhane ve gıda işleme tesislerinde yüzeylere ve ekipmanlara tutunduğu, biyofilm oluşturarak temizlik - dezenfeksiyon işlemlerini zorlaştırdığı bildirilmiştir (Blackman ve Frank, 1996; Lourenço ve ark., 2013). İşletmelerde özellikle, paketlenme ve doldurma ekipmanları, konveyör, diziciler, derin dondurucular, zemin giderleri, soğutma boruları, eldivenler ve duvarlar gibi yüzeylerde *L. monocytogenes* izole edildiği belirtilmektedir (Djordjevic ve ark., 2002).

Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak dünyada ve ülkemizde kesimhane ve et işleme tesislerinde *L. monocytogenes* varlığına ilişkin yapılan çalışmalarda, alet ekipman, personel eli, tesisin çeşitli yüzey alanları ve ürünlerde farklı oranlarda etken tespit edilmiştir.

Beumer ve Giedfel (1999), tarafından yapılan benzer bir çalışmada %10 ve Gudbjornsdottir ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada alınan örneklerin %11,9'unda *L. monocytogenes* saptamışlardır. Sammarco ve ark. (1997), mezbaha yüzeylerinin ve mezbahalarda kullanılan malzemelerin patojenler için bulaşma kaynağı olduğunu belirttikleri çalışmalarında, alet ve ekipmanlarda %1,2 oranında *L. monocytogenes* bulunduğunu tespit etmişlerdir. Barros ve ark. (2007) tarafından perakende satış yerlerindeki alet ve ekipmanlardan alınan toplam 133 numuneden 72'sinde (%54,1) *Listeria* türleri pozitif olarak tespit edilmiş, mezbahalardaki alet ve ekipmanlardan alınan toplam 15 numuneden 4 (%26,7), işletmeden alınan toplam 13 numuneden de 4'ünde (%30,8) *Listeria* türleri pozitif bulunduğunu bildirmişlerdir. Barbalho ve ark. (2005), Brezilya'da bulunan bir tavuk işletmesinde 37 işçinin ellerinden alınan örneklerin %11,8 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. Wenger ve ark. (1990), gıda işletmelerinden aldıkları 41 numunenin 2'sinde (%4,87) *L. monocytogenes* tespit etmiş, Jackson ve ark (2007), İrlanda'da yaptıkları araştırmada *L. monocytogenes* prevalansının en yüksek karkas soğutma odalarının zemininde ve %4 oranında tespit etmişlerdir. Buna karşılık Sergelidis ve ark. (1997), topladıkları 22 tüketime hazır gıda numunesinden %4,5 oranında prevalans tespit etmişlerdir. Rivera- Betancourt ve ark. (2004), iki mezbahane her birinin ihata duvarından aldıkları 75 numuneden sırasıyla %1,3 ve %14,7 oranında *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Bu durumun mezbahalara çevreden de bulaşma olduğunu gösterdiği ve mezbahanın bulunduğu çevrenin de bulaşmada önemli bir rol

oynadığı bildirilmiştir.

Akkaya ve ark. (2008), 5 farklı mezbahada 19 farklı noktadan svap yöntemi ile örnekler almıştır. Çalışma sonucunda çevreden alınan örneklerde *L. monocytogenes* %4,37, alet-ekipmanlarda %15, çalışan personellerde %11,42 oranında tespit edilmiştir. Alisharli ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada %8,8, Kahraman ve ark. (2010), et işleme tesislerinden yapmış oldukları bir çalışmada ekipmanlardan aldıkları toplam 130 numunenin 12'sinde (%9,23) *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir.

Bu çalışmalardan farklı olarak, Legnani ve ark. (2004), İtalya'da yaptıkları bir araştırmada, topladıkları 140 numuneden %0,71 oranında *L. monocytogenes* pozitif bulmuşlardır. Yeşilyurt (2010), mezbahalarda *L. monocytogenes*'in varlığının araştırılması üzerine yaptığı bir çalışmada, 36 bıçak, 36 bileyici, 72 kancadan aldığı numunelerin hiçbirinde *L. monocytogenes* tespit edememiştir.

Çalışmada, *L. monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonu amacıyla IMS bazlı kültür tekniği ile PCR kullanıldı. Ueda ve ark. (2006), çalışmalarında IMS işleminden sonra MOX agar kullanarak yaptıkları kültür tekniğinde izole ettikleri *Listeria* şüpheli kolonilerin identifikasyonunu PCR analiziyle hızlı bir şekilde yaparak *L. monocytogenes* olarak belirlemişlerdir. Böylelikle IMS bazlı kültür tekniğinden sonra yapılan PCR analizinin gıdalarda *L. monocytogenes*'in tespitinde etkin olarak kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise düşük seviyelerdeki (2 log) *L. monocytogenes*'in yalnızca PCR uygulamasıyla tespitinin mümkün olmadığı bildirilmiştir. Ön zenginleştirme yapıldıktan sonra uygulanan IMS tekniği ile aynı düzeydeki *L. monocytogenes*'in tespit edilebildiği bildirilmiştir (Hsieh ve Tsen, 2001).

Çalışmada, örneklerden elde edilen 51 *L. monocytogenes* izolatının tamamında *hlyA* geni bulunduğu ve 388 bp'de bant oluşturduğu belirlendi. Dümen ve ark. (2011), süt ve ürünlerinden, Lakicevic ve ark. (2010), gıda işleme tesisinden, Aznar ve Alarcon (2003), çeşitli gıdalardan, Holko ve ark. (2002), çiğ süt ve peynir çeşitlerinden, Wieckowska ve ark. (1998), çiğ sütlerden aldıkları örneklerde, Gouws ve Liedemann (2005), farklı gıdalarda kültürel yöntemler kullanarak yaptıkları izolasyon ve identifikasyonun ardından, elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarını PCR'la doğrulamışlardır. Araştırmacılar PCR'ın identifikasyonu doğrulamak için yüksek duyarlılığa sahip, hızlı, güvenilir ve özgül olduğunu belirtmişlerdir.

L. monocytogenes'in somatik (O) ve flagella (H) antijenik yapılarına göre yapılan sınıflandırmada 13 serotipe sahip olduğu belirlenmiş ve buna karşın dünyada meydana gelen gıda kaynaklı listeriozis vakalarının %98'ine, *L. monocytogenes* 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b serotiplerinin sebep olduğu bildirilmiştir (Maury ve ark., 2016; Seeliger ve Höhne, 1979; Liu, 2006). Çalışmamızda elde ettiğimiz ve PCR ile doğruladığımız *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplendirilmesi amacıyla Doumith ve ark. (2004) tarafından geliştirilen *Imo0737*, *Imo1118*, *ORF2819* ve *ORF2110* primer dizileri kullanılmıştır. Analizler sonucunda incelenen 51 izolatın, 47'si (%92,2) *L. monocytogenes* 1/2a, 4'ü (%7,8) *L. monocytogenes* 1/2c olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda, 1/2a serotipinin dominant serotip olduğu görülmüştür.

Holko ve ark. (2002), peynir ve çiğ süt numunelerinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının serotipini 4ab, Dümen ve ark. (2011), İstanbul ve Trakya çevresindeki süt ve süt ürünlerinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının serotipini 4d, Giovannacci ve ark. (1999), domuz kesimhanelerinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplerini 3a, 1/2a ve 1/2c olarak tespit etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada Hofer ark. (2000), süt ürünlerinden elde ettikleri izolatların %58'ini *L. monocytogenes* 1/2a, %26,6'sını *L. monocytogenes* 4b, %14'ünü *L. monocytogenes* 1/2b, ve %1,4'ünü *L. monocytogenes* 1/2c olarak tespit etmişlerdir. Japonya'da yapılan bir araştırmada da, peynir numunelerinde *L. monocytogenes* 1/2b serotipinin dominant olduğunu tespit edilmiştir (Makino ve ark., 2005). Araştırma sonuçlarına göre farklı bölgelerde farklı serotiplerin dominant olarak tespit edildiği görülmektedir. Bu da çevre faktörlerinin serotipler arasında bile farklı etkileri olduğunu göstermektedir.

Çalışma sonuçlarımıza benzer olarak, Erol ve Şireli (1999), donmuş tavuk karkaslarında yaptıkları araştırmada %73 oranında *L. monocytogenes* 1/2a serotipini dominant olarak belirlemişler ve bunu 1/2b, 1/2c ve 4b'nin izlediğini bildirmişlerdir. Ayrıca Ayaz ve Erol (2011), hindi etlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplendirilmesi sonucu 4b'yi (%51,4) dominant serotip olarak belirlemişler bunu 1/2a (%27) ve 1/2b'nin (%21) serotiplerinin izlediğini rapor etmişlerdir. Brezilya'da tavuk kesimhanesinde yapılan bir çalışmada toplanan 195 tavuk örneğinin 35'inde (%17,9) *L. monocytogenes* izole edildiği ve serotip dağılımlarının 1/2a (%87), 1/2c (%8) ve 1/2b (%5) olduğu bildirilmiştir (Oliveira ve ark. 2018). Tavuk kesimhanesinde yapılan başka çalışmalarda, Chiarini ve ark. (2009b), *L. monocytogenes*'lerin %72,9'unun 1/2a yada

3a, Bouayad ve ark., (2015) ise %84.6 oranında serogrup IIa (1/2a ya da 3a) olduğunu bildirmişlerdir.

Antibiyotik direnç profili analizi sonucu elde edilen 51 izolatın 26'sının (%51) en az bir antibiyotiğe, 13'ünün (%25,5) de birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği belirlendi. Ayrıca 25 izolatın (%49) herhangi bir antibiyotiğe karşı dirençli olmadığı saptandı.

51 izolatın antibiyotiklere göre tespit edilen dirençlilik oranları büyükten küçüğe: sülfametoksazol/trimetoprim 8 izolat (%15,7), eritromisin 8 izolat (%15,7), tetrasiklin 6 izolat (%11,8), oksitetrasiklin 6 izolat (%11,8), penisilin G 4 izolat (%7,8), ampisilin 3 izolat (%5,9), meropenem 3 izolat (%5,9), kloramfenikol 3 izolat (%5,9), amoksisilin/klavulanik asit 1 izolat (%2) olarak tespit edilmiştir. Vankomisine karşı dirençlilik tespit edilememiştir.

İnsan ve hayvan hastalıklarının tedavilerinde yaygın olarak antibiyotik kullanımı *Listeria* spp. içine alan pek çok önemli bakteriyel patojenlerin dirençlilik kazanmasına yol açmaktadır (Sakaridis ve ark., 2011). Antibiyotik dirençliliğinin artması önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Dirençli bakterilerin gıdalar vasıtasıyla hayvanlardan insanlara geçebileceği yönünde çeşitli görüşler vardır (Harisberger ve ark., 2010). Buna ek olarak tavukçuluk sektöründe kullanılan büyütme faktörleri tavuk etinde dirençli suşların oluşmasında rolü olduğu bildirilmiştir. Antibiyotik direncinde görülen artışa paralel olarak Avrupa Birliği Komisyonu hayvan yemlerinde büyümeyi ve performansı destekleyici amaçla antibiyotik kullanımını 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren yasaklamıştır. Bu kararın ardından ülkemizde 21 Ocak 2006 tarihinden itibaren bu amaçla antibiyotik kullanımı yasaklamıştır (Resmi gazete sayı: 26056).

Kanatlı örneklerinden izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotiklere karşı dirençleri üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda araştırma bulgularına paralel sonuçlar bildirilmiştir. Osaili ve ark. (2011), Ürdün'de perakende tavuklardan izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının %11,8'inde tetrasikline, Alonso-Hernando ve ark. (2012) İspanya'da satışa sunulan tavuk örneklerinden elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının siprofloksasin ve gentamisine, Granier ve ark. (2011) Fransa'da 202 *L. monocytogenes* izolatının %2'sinin eritromisine, tetrasikline, trimetoprim ve tetrasiklin/trimetoprim, Sugiri ve ark. (2014) Endonezya'da tavuk karkaslarından elde edilen *L. monocytogenes*

izolatlarının %17,2'sinin penisiline, %6,9'unun ampisiline, %6,9'unun eritromisine ve %3,4'ünün ampisilin ve penisilin kombinasyonuna dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bilir Ormancı ve ark. (2008), hindi etinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik testlerini disk difüzyon metodu ile yapmışlar ve benzer şekilde elde ettikleri izolatların penisilin ve ampisiline dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Ayaz (2008), çalışmasında hindi etlerinden izole ettiği *L. monocytogenes* izolarının penisilin ve ampisiline dirençli, eritromisine orta dirençli olduğunu, tetrasiklin, kloramfenikol ve vankomisine direnç tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Walsh ve ark. (2001), İrlanda, Dublin'de çeşitli gıdalardan elde ettikleri 351 *L. monocytogenes* izolatının çalışmaya benzer şekilde ampisilin, eritromisin, penisilin ve tetrasikline karşı yüksek düzeyde dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Davis ve Jackson (2009), Amerika Birleşik Devletleri'nde insan, çevre ve gıda kökenli *L. monocytogenes* izolatlarının antimikrobiyel direnç özelliklerini Sensititre® metodunu kullanarak araştırmışlar ve çalışmaya paralel şekilde izolatların ampisilin, penisilin G, eritromisin ve tetrasikline dirençli karşı olduğunu belirlemişler. Harakeh ve ark. (2009), Lübnan'da süt ürünlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının %93,33'ünün oksasiline ve %90'ının da penisiline karşı dirençli olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde Rahimi ve ark. (2010), İran'da süt ve süt ürünlerinden izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının nalidiksik asit, siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin, ampisilin, penisilin ve kloramfenikol gibi çeşitli antibiyotiklere karşı dirençli olduğunu bildirilmiştir. Araştırmacılar tespit ettikleri bu yüksek dirençliliği farklı türler arasında meydana gelebilen genetik materyal transferlerine ve bilinçsiz ilaç kullanımına bağlamışlar. Ülkemizde Arslan ve Özdemir (2008), ev yapımı beyaz peynirlerden elde ettikleri *Listeria* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini disk difüzyon metodu ile araştırmış ve izolatlarının çalışmada da kullanılan ampisilin, kloramfenikol, penisilin ve tetrasikline direnç gösterdiğini belirlemişlerdir. Fakat amoksisilin/klavulanik asit ve vankomisine karşı herhangi bir dirençlilik belirleyemediklerini rapor etmişlerdir.

Yirminci yüzyılın ikinci yarısı içinde glikopeptit antibiyotiklere (vankomisin) karşı direnç bildirilmezken, 1980'li yıllarından itibaren stafilokok ve enterokokların aniden vankomisine direnç geliştirdikleri belirlenmiştir (Biavasco ve ark., 1996). Yapılan araştırmalarda antibiyotik direnç genlerini taşıyan enterokokal ve streptokokal plazmid ve transpozonların konjugasyon yoluyla *Listeria* türlerine transfer olduğu tespit

edilmiştir. Charpentier ve Courvalin (1999), tarafından *Streptococcus agalactiae*'da bulunan kloramfenikol, makrolid, linkozamid ve streptogramin dirençliliklerinden sorumlu olan plazmid pIP501'in, *L. monocytogenes*'e invitro koşullarda transfer olabildiği bildirilmiştir. Benzer şekilde Biavasco ve ark. (1996) tarafından vankomisine dirençli *Enterococci* suşlarından *Listeria* türlerine dirençlilik geninin aktarıldığı ve *Listeria* türlerinin de vankomisine direnç kazandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda farklı antibiyotiklere karşı tespit ettiğimiz dirençlilik, bakterilerde meydana gelen mutasyonlar ve bakteriler arasındaki etkileşim sonucu oluşan genetik materyal aktarımlarına bağlanabilir.

İzolatların genotiplendirmelerinde PFGE tekniği kullanıldı. Örnekler ApaI ve AscI restriksiyon enzimleriyle kesildi. Elde edilen DNA bantları UV transilluminatörde, Pulsed-field jel elektroforezinde görüntülendi. UPGMA analiz programı kullanılarak oluşturulan PFGE dendrogram profilleri, klonal ilişkileri yönünden incelendi. AscI enzimiyle yapılan kesme işlemi sonucunda elde edilen PFGE değerlendirilmesi neticesinde en az %80 benzerlik esas alınarak yapılan dendrogramında izolatların ilişkili 29 farklı küme ile 36 alt kümeye dağıldıkları saptandı. ApaI enzimi kullanılarak yapılan restriksiyon sonucu elde edilen PFGE değerlendirilmesi sonucunda en az %80 benzerlik esas alınarak yapılan dendrogramında izolatların ilişkili 25 farklı küme ile 45 alt kümeye dağıldıkları saptandı.

AscI enzimi ile kesim sonucu elde edilen PFGE dendrogramında %100 benzerlik içeren 4 küme ve 2 alt küme tespit edildi. 4 küme arasında A işletmesinden aynı gün alınan aynı bıçağa ait 2 ayrı izolat (B2A2a, B2A2b), D işletmesinden aynı gün alınan aynı personele ait 2 ayrı izolat ile C işletmesine ait bütün tavuk izolatı (P1D3a, P1D3b ve BT2C2e), A işletmesinden aynı gün alınan bütün tavuk, parça tavuk ve personel eline ait 3 ayrı izolat (BT1A2b, PT2A2a ve P1A2e), D işletmesinden aynı gün alınan aynı tezgaha ait 3 ayrı izolat ile aynı gün alınan bileyiciye ait 1 izolat ve A işletmesine ait bütün tavuk izolatının (T2D2b, T2D2c, T2D2d, BL1D2a ve BT2a2c) yer aldığı gözlenmiştir. 2 alt küme arasında D işletmesinden aynı gün alınan aynı parça tavuğa ait 3 izolat (PT1D3a, PT1D3b ve PT1D3c) ile A işletmesinden aynı gün alınan aynı personele ait 2 izolat ve D işletmesine ait tezgah izolatının (P1A2a, P1A2b ve T1D1a) yer aldığı gözlenmiştir. Farklı işletmelerden alınan numuneler arasında %100 benzerlik gösteren 2 küme ve 1 alt küme gözlemlendi. 2 küme arasında A ve D işletmesine ait izolatlar ile C ve D işletmesine ait

izolatların olduğu, 1 alt kümenin ise A ve D işletmesine ait izolatlar arasında olduğu gözlenmiştir. Aynı ve farklı işletmelerden toplanan alet ekipman ve personel numuneleri ile tavuklardan alınan numunelerle %100 homoloji göstermesi direkt ve indirekt kontaminasyonun göstergesi olabilir.

ApaI enzimi ile kesim sonucu elde edilen PFGE dendrogramında %100 benzerlik gösteren 2 küme ve 4 alt küme gözlemlendi. 2 küme arasında A işletmesine ait personel eli örneği ile D işletmesine ait tezgah örneği izolatları (P1A2a ve T1D1a) ve C işletmesinden aynı gün alınan 2 farklı bütün tavuk örneği ile D işletmesine ait bileyici örneği izolatlarının (BT1C2c, BT2C2c ve BL1D3b) yer aldığı gözlenmiştir. 4 alt küme arasında A işletmesinden aynı gün alınan personel eli örneği ile parça tavuk örneği izolatları (P1A2e ve PT2A2a), A işletmesinden farklı zamanlarda alınan personel eli örneği ile tezgah örneği izolatları (P1A2b ve T1A1c), D işletmesinden aynı gün alınan aynı tezgaha ait 3 izolat ile bileyici örneği ve A işletmesinden alınan bütün tavuk örneği izolatları (T2D2b, T2D2c, T2D2d, BL1D2a ve BT1A2c) ve D işletmesinden aynı gün alınan aynı parça tavuk örneğine ait 3 izolat, farklı parça tavuk örneğine ait 1 izolat ve farklı 2 bileyici örneğinden alınan izolatların (PT1D3a, PT1D3b, PT1D3c, PT2D3c, BL1D3e ve BL2D3a) yer aldığı gözlenmiştir. Farklı işletmelerden alınan numuneler arasında %100 benzerlik gösteren 2 küme ve 1 alt küme gözlemlendi. 2 küme arasında A ve D işletmesine ait izolatlar ile C ve D işletmesine ait izolatların olduğu, 1 alt kümenin ise A ve D işletmesine ait izolatlar arasında olduğu gözlenmiştir. Aynı ve farklı işletmelerden toplanan alet ekipman ve personel numuneleri ile tavuklardan alınan numunelerle %100 homoloji göstermesi direkt ve indirekt kontaminasyonun göstergesi olabilir. Ayrıca *L. monocytogenes* izolasyonunda her bir numuneye ait 3 ila 5 arası şüpheli izolat toplanması ve bu izolatların tamamının değerlendirmeye alınması sonucu, aynı örneğe ait izolatlar arasında da %100 homoloji görülmüştür.

AscI enzimi kullanılarak yapılan restriksiyon işlemi neticesinde 7-10 fragment ve 29 küme, ApaI enzimi kullanılarak yapılan restriksiyon işlemi sonucunda da 12-15 fragment ve 25 küme elde edildi. AscI enzimi ile yapılan restriksiyon sonucunda elde edilen dendrogram profillerinde, farklı noktalardan izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının homolojileri, ApaI'a oranla daha yüksek tespit edildi. AscI enzimiyle yapılan restriksiyon sonucu A işletmesinden alınan bıçak örneğinden elde edilen 2 izolat arasında (B2A2a ve B2A2b), D işletmesinden alınan bileyici örneğinden elde edilen 2 izolat

arasında (BL1D2d ve BL1D2e) ve A işletmesine ait tezgah örneğinden alınan 2 izolat arasında (T1A1c ve T1A1d) %100 homoloji gözlemlendi. Fakat ApaI enzimi ile yapılan kesimde elde edilen dendrogram profillerinde sırasıyla %96, %89 ve %88 homoloji gözlemlendi. Ortaya çıkan bu değerler, ApaI enzimi ile yapılan restriksiyonda, DNA'ların daha sık aralıklarla kesilmesinden dolayı, daha fazla ve küçük fragmentler oluştuğu gözlemlenmiştir. Fragmentlerin küçük olması, izolatlar arasındaki genetik yakınlığı AscI'a göre daha detaylı nitelendirdiğini göstermektedir. Bulgulara paralel olarak Belçika da yapılan bir çalışmada, insanlardaki listeriozis olgularından izole edilen 48 *L. monocytogenes* izolatında AscI ve ApaI enzimleriyle PFGE yöntemin uygulanarak genetik yakınlık tespit edilmiştir. Söz konusu araştırmada, ApaI enzimi kullanılarak yapılan kesimde 8-21 fragment tespit edilirken, AscI enzimi kullanılarak yapılan kesimde 6-12 fragment tespit edilmiş, ayrıca dendrogram profillerinde de sırasıyla 38-34 küme saptandığı bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada 3 yaşındaki listeriozis hastasından izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının ApaI enzimi ile restriksiyonda AscI enzimi ile restriksiyona göre dört farklı bant oluştuğu bildirilmiştir (Yde ve Genicot 2004). Başka bir araştırmada Cezayir'de süt işletmelerindeki süt tankları ve sütlerden izole edilen 11 *L. monocytogenes* izolatı ApaI ve AscI enzimleri kullanılarak PFGE yöntemiyle genotiplendirilmiştir (Hamdi ve ark., 2007). Çalışma sonucunda, ApaI enzimiyle yapılan restriksiyonda 11-19 fragment, AscI enzimiyle yapılan restriksiyonda ise 9-10 fragment elde edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada ApaI ve AscI enzimleriyle restriksiyon sonucu elde edilen dendrogram profillerinde, beş ve dört adet pulsetip saptandığı bildirilmiştir. Portekiz'de yapılan bir çalışmada insanlardaki listeriozis vakalarından izole edilen 80 *L. monocytogenes* izolatının AscI enzimi ile kesiminde 7-16, ApaI enzimi ile kesiminde 11-16 fragment oluştuğu saptanmıştır (Neves ve ark., 2008).

CDC PulseNet'in yayınladığı, *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmeleri için uygulanan PFGE tekniğinde, restriksiyon enzimi olarak ApaI ve AscI kullanılması tavsiye edilmektedir. Ancak bugüne kadar PFGE ile yapılan genotiplendirme çalışmalarında, her iki enzim kullanılabildiği gibi, özellikle ApaI enziminin tek başına veya diğer enzimlerle (EcoRI, SmaI) beraber kullanılmasıyla restriksiyon yapılmıştır. Gianfranceschi ve ark. (2002), *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmesinde ApaI enziminin diğerlerine göre ayırt edici özellik bakımından daha net sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Dauphin ve ark. (2001), 3 ayrı su ürünleri

işleme tesisinde yaptıkları çalışmada, farklı işleme aşamalarında ürünlerden, alet-ekipman ve işletme çevresinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirmesinde ApaI enzimiyle birlikte SmaI enzimini kullanmışlardır. Gravesen ve ark. (2000), gıda ürünleri, listeriozis vakaları ve çevreden izole ettikleri 48 *L. monocytogenes* izolatının genotiplendirilmesinde ApaI enzimini tercih ettiklerini, Senczek ve ark., (2000), Katsuda ark., (2000), gıdalar, çevre ve listeriozis olgularından izole ettikleri, Lukinmaa ve ark. (2004)'da gıda üretim işletmeleri ve listeriozis olgularından izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmesinde ApaI ve EcoRI enzimlerini birlikte kullanmışlardır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada, tavuk parçalama işletmelerinin 5 farklı noktasından, işletmelere gelen bütün tavuklarda ve işletmede parçalanan tavuk örneklerinde *L. monocytogenes* izole edilmesi sorunun çiftlikten çatala gıda güvenliği kapsamında değerlendirilmesi gerekliliğini göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz *L. monocytogenes* izolatlarının bazı antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi halk sağlığı açısından ayrı bir önem arz etmektedir. Tespit edilen antibiyotik dirençliliği, tedavide yeni ve daha etkili antimikrobiyel ajanların geliştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle sahada çalışan veteriner hekimlerin antibiyotik kullanımı konusunda bilinçlendirilmesi ileride oluşacak antibiyotik dirençliliklerin önüne geçilmesi adına atılacak önemli bir adım olacaktır. Buna ilave olarak hayvan sahiplerinin de antibiyotiklerin yasal arınma süreleri konusunda bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca kontrolsüz antibiyotik kullanımı resmi otoriteler tarafından yapılan düzenli kontroller ile önlenmelidir. PFGE ile genotiplendirme sonrası aynı ve farklı işletmelerden toplanan alet ekipman ve personel numunelerinin tavuklardan alınan numunelerle %100 homoloji göstermesi işletmede uygulanan temizlik ve dezenfeksiyonun yanında çiftlikten çatala gıda güvenliği kapsamında iyi üretim uygulamaları (GMP), HACCP vb programları çerçevesinde iyileştirilmelerin yapılması gerekliliğine işaret etmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen veriler risk değerlendirme açısından bölgesel veriler içermekle beraber gelecekte yapılacak ulusal izleme programlarında örnekleme ve analiz yöntemi seçimine yardımcı olacak bilgileri de içermektedir. Bu çalışmanın devamı, antibiyotik dirençlilik kaynaklarının belirlenmesine odaklanabileceği gibi, gıdalarda *L. monocytogenes* kaynaklarının belirlenmesi için daha hızlı tekniklerin geliştirilmesine yönelik çalışmalara da rehberlik edebilir. Bu amaçla geliştirilecek olan yöntemin moleküler teknik içermesi analizin hassasiyeti, hızı ve spesifitesi açısından katma değer sağlayacaktır. Ulusal seviyede, izolasyon için ihtiyaç duyulan hızlı yöntemler ve bunların epidemiyolojik çalışmalarda kullanımını önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Anon 2006. Control of *Listeria monocytogenes* in retail establishments. College of Agricultural Sciences, Agricultural Research and Cooperative Extension, Pennsylvania State University 2006.
- Anon 2011. Bulaşıcı Hastalıklar Surveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2007/05/20070530-9.htm> erişim tarihi 12.08.2017.
- Anon 2011a. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm> erişim tarihi 12.08.2017.
- Anon 2017. European Comissions web site. http://europa.eu/rapid/press-release_IP-05-1687_en.htm. Erişim tarihi: 19.02.2018.
- Abay S, Aydın F, Sümerkan AB. Molecular typing of *Listeria* spp. isolated from different sources. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2012;59:183-190.
- Adak GK, Long SM, O'Brien SJ. Trends in indigenous food-borne disease and deaths, England and Wales: 1992–2000. Gut. 2002;51:832-841.
- Akkaya L, Alişarlı M, Çetinkaya Z, Kara R, Telli R. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef slaughterhouse enviroments, equipment and workers. Journal of Muscle Foods 2008;19, 261-274.
- Alişarlı M, Solmaz H, Akkaya L. Süt İneklerinde Meme Bası Derilerinin Bazı Mikroorganizmalar ve Çiğ Sütlerinin de Mikrobiyolojik Kalite Yönünden incelenmesi. YYÜ Vet. Fak. Derg14 2003;(1):35-39
- Allerberger F. *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. FEMS Immunol Med Microbiol 2003;35:183-189.
- Alsheikh, ADI, Mohammed GE, Abdalla MA. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Retail Broiler Chicken Ready to Eat Meat Products in Sudan, International Journal of Animal and Veterinary Advances. 2013;5(1), 9-14.
- Alsheikh ADI, Mohammed GE, Abdalla MA, Bakhiet AO. “First Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* Isolated from Frozen and Shock Frozen Dressed Broiler Chicken in Sudan”, British Microbiology Research Journal 2014;4(1), 28-38.
- Alonso-Hernando A, Prieto M, García-Fernández C, Alonso-Calleja C, & Capita R. Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *L. monocytogenes* from poultry in Spain. Food Control 2012;23(1),37-41.

- Amagliani G, Giammarini C, Omiccioli E, Brandi G, Mangan M. Detection of *Listeria monocytogenes* using a commercial PCR kit and different DNA extraction methods. Food Control 2007;18,1137- 1142.
- Arı İ, Temizkan G, Arda N. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Üçüncü Baskı. İstanbul: Nobel Kitabevleri Ltd. Şti. 2008;p.101-09.
- Arslan A, Gönülalan Z, Dinçoğlu AH, Kök F. Tavuk karkas kısımları ve karkas yıkama sularında *Listeria* türlerinin incelenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 1999;23(2), 305-308.
- Arslan S, Özdemir F. Prevalance and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in home made white cheese Food Control 2008;19,360-363.
- Artık N, Şanlıer N, Sezgin AC. Gıda Güvenliği ve Gıda Mevzuatı. Detay Yayıncılık Ankara 2017.
- Avcıbaşı Y. Vakum paketlenmiş dumanlanmış (füme) balıklarda *Listeria* türlerinin varlığı. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 2005.
- Ayaz ND, Ayaz Y, Kaplan YZ, Doğru A, Aksoy MH. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in chicken carcasses by IMS-PCR. Annals of Microbiology 2009;59(4):741-744.
- Ayaz ND, Hindi kıymalarında *Listeria monocytogenes*'in İmmuno Manyetik Seperasyon ve PCR ile tanısı ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 2008.
- Ayaz ND, Erol İ. Serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from turkey meat by multiplex PCR in Turkey Journal of Food Safety 2011;31, 149-153.
- Aznar R, Alarcon B. PCR detection of *Listeria monocytogenes*: A study of multiple factors affecting sensitivity, Journal of Applied Microbiology 2003;95,958-66.
- Bailey JS, Fletcher DL, Cox NA. "*Listeria monocytogenes* colonization of broiler chickens", Poultry Science 1990;69, 457-461.
- Bannerman ES and Bille JA new selective medium for isolating *Listeria* spp. from heavily contaminated material. Appl Environ Microbiol 1988;54:165-167.
- Baran MS, Erkan ME, Vural A. Diyarbakır yöresinde ruminant beslenmesinde kullanılan karma yemlerin besin madde ve mikrobiyolojik kalite özellikleri. J Fac Vet Med Istanbul Univ 2008;34(1):9-19.
- Barbalho TCF, Almeida PF, Almeida RCC, Hofer E. Prevalence of *Listeria* spp. at a pultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies, Food Control 2005;16,211-216.

- Barros MAF, Nero LA, Silva LC, d'Ovidio L, Monteiro FA, Tamanini R. *et al. Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants Meat Science 2007;76 (4),pp.591-596.
- Başoğlu F. Gıda Kalite Kontrolünün Esasları ve Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri, Dora Yayıncılık Bursa 2011.
- Bertsch D, Rau J, Eugster MR, Haug MC, Lawson PA, Lacroix C, Meile L. *Listeria fleischmannii* sp. nov, isolated from cheese. Int J Syst Evol Microbiol 2013;63:526–532.
- Beumer RR, Giedfel MC. “Pathogens in domestic kitchens: facts and fiction. Zeist, Netherlands”, Food microbiology and food safety into the next millennium, Proceedings of the 17th international conference of the international committee on food microbiology and hygiene (ICFMH), Veldhoven, The Netherlands, 12-17 September 1999;345–347.
- Bhunia AK. Foodborne Microbial Pathogens. First Edition. New York, Springer Science Business Media 2008;165-82.
- Biavasco F, Giovanetti E, Miele A, Vignaroli C, Facinelli B, Varaldo PE. In vitro conjugative transfer of *VanA* vancomycin resistance between *Enterococci* and *Listeria* of different species. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15(1):50-59.
- Bilir Ormancı S, Erol İ, Ayaz ND, İşeri O, Sarıgül D. Immunomagnetic separation and PCR detection of *Listeria monocytogenes* in turkey meat and antibiotic resistance of the isolates. British Poultry Science 2008;49(5), 560-568.
- Bille J, Glauser MP. Listeriose - Situation in der Schweiz (Listeriosis in Switzerland). Bulletin des Bundesamtes für Gesundheitswesen/Bulletin de l'Office federal de la sante publique 1988;(3),28-29.
- Biologend 2017, Erişim: <https://www.biologend.com/newsdetail/2260/> Erişim tarihi: 12.10.2017
- Blackman IC, Frank JF. Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various foodprocessing surfaces. Journal of Food Protection 1996;59, 827-831.
- Bohnert M, Dilasser F, Dalet C, Mengaud J, Cossart P. “Use of specific oligonucleotides for direct enumeration of *Listeria monocytogenes* in food samples by colony hybridization and rapid detection by PCR”. Research In Microbiology 1992;143, 271-280.
- Bonardi S, Bottarelli A, Bentley S, Gorreri M, Torriani M, Maggi E. Ricerca di *Listeria* spp. in uno stabilimento di macellazione di suini pesanti (Detection of *Listeria* spp. in finishing pigs at slaughter). Atti Convegno Nazionale Associazione Italiana Veterinari Igienisti 1997;7, 163 – 167.
- Bortolussi R. Listeriosis: a primer. Can Med Assoc J 2008;179:795-797.

- Bouayad L, Hamdi TM, Naim M, Leclercq A, & Lecuit M. Prevalence of *Listeria* spp. and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from broilers at the abattoir. *Foodborne Pathogens & Disease* 2015;12(7),611-616.
- Brehm-Stecher B, Johnson EA. Rapid Methods for Detection of *Listeria*. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, Third Edition New York: CRC press 2007;p.257-81.
- Bruno JG, Phillips T, Montez T, Garcia A, Sivils JC, Mayo MW and Greis A. Development of a fluorescent enzyme-linked DNA aptamer-magnetic bead sandwich assay and portable fluorometer for sensitive and rapid *Listeria* detection. *Journal of Fluorescence* 2015;25: 173-183.
- Byun SK, Jung SC, Yoo HS. Random Amplification of Polymorphic DNA Typing of *Listeria monocytogenes* Isolated from Meat. *Int J Food Microbiol.* 2001;69: 227–35.
- Carpentier B, Cerf, O. Review-Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology* 2011;145(1), 1-8.
- CDC. PulseNet. Standardized Protocol For Molecular Subtyping of *Listeria Monocytogenes* by PFGE. http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/pulsenet_listeria_protocol%20.pdf. 2004
Son erişim tarihi:07 Ekim 2016
- CDC. Multistate outbreak of *Listeriosis* associated with Jensen Farms cantaloupe—United States, August–September 2011. *MMWR.* 2011;60:1357–1358.
- CDC. (Centers for Disease Control and Prevention). Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006–2013. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 2014;April 18, 63(15);328-332.
- Chakraborty T, Leimeister-Wachter M, Doman E, Haril M, Goebel W, Nichterlein T, Notermans S. Coordinate regulation of the virulence genes in *Listeria monocytogenes* requires the product of the *prfA* gene. *J Bacteriol* 1992;174:568-574.
- Chambel L, Sol M, Fernandes I, Barbosa, Zilhao I. “Occurrence and persistence of *Listeria* spp. in the environment of ewe and cow’s milk cheese dairies in Portugal unveiled by an integrated analysis of identification typing and spatial-temporal mapping along production cycle”, *International Journal of Food Microbiology* 2007;116(1), 52-63.
- Charlier C, Perrodeau E, Leclercq A, Cazenave B, Pilmis, B, Henry B, et al. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: The Monalisa national prospective cohort study. *The Lancet Infectious Disease* 2017;17(5), 510-519.
- Charpentier E, Gerbaud G, Rocourt J. and Courvalin P. Incidence of antibiotic resistance in *Listeria* species. *Journal of Infection and Disease* 1995; 172, 277-281

- Charpentier E, Courvalin P. Antibiotic resistance in *Listeria* spp. *Antimicro. Agents Chemo* 1999;43:2103-2108.
- Cherry WB, Moody MD. Fluorescent-Antibody Techniques in Diagnostic Bacteriology. *Bacteriol Rev* 1965;29, 2, 222-50.
- Chen BY, Pyla R, Kim TJ, Silva JL, Jung YS. Antibiotic resistance in *Listeria* species isolated from catfish fillets and processing environment. *Lett Appl Microbiol* 2010;50:626-632.
- Chiarini E, Azevedo AP, Lopes GV, Lascowski KMS, Lopes JT, Fogo1 VS, Siqueira GA, Guth BEC, Landgraf M, Destro MT, Fernandes SA, Franco BDGM. Exposure assessment to microbial pathogens in Brazilian bovine hides and carcasses. An international conference organised by ProSafeBeef, Dublin, Advancing Beef Safety through Research and Innovation 2009a;62.
- Chiarini E, Tyler K, Farber JM, Pagotto F, & Destro MT. *Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities: Manual and automatic evisceration. *Poultry Sciences* 2009b;88, 791-797.
- Chou CH, Silva JL, Wang C. Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in raw catfish fillets. *J Food Prot* 2006;69:815-819.
- Cjazka J, Batt CA. Verification of Casual Relationships Between *Listeria monocytogenes* Isolates Implicated in Food-Borne Outbreaks of Listeriosis by Randomly Amplified Polymorphic DNA Patterns. *J Clin Microbiol* 1994; 32, 5: 1280-87.
- CLSI. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline Second Edition. CLSI document M 45- A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2010.
- Conlan J. W, North RJ. Roles of *Listeria monocytogenes* virulence factors in survival: virulence factors distinct from listeriolysin are needed for the organism to survive an early neutrophil-mediated host defense mechanism. *Infect Immun* 1992;60:951-957.
- Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of Antimicrobial Resistance of Foodborne *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 2009; 128: 497-500.
- Curtis GDW. *Listeria*/Detection by Classical Cultural Techniques. In: Robinson RK, Batt CA, Patel PD, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*, First Edition, Academic Press 1999;1199- 1207.
- Czuprynski CJ, Faith NG, Steinberg H. A/J mice are susceptible and C57BL/6 mice are resistant to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation. *Infect Immun* 2003; 71:682-689.

- Çağlar A, Tunçtürk Y, Bakırcı İ. Süt ve süt Ürünlerinde bulunan *Listeria monocytogenes*'in patojenitesi ve önemi. Süt mikrobiyolojisi ve katkı maddeleri. Tekirdağ VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Kitabı 2000;86-103.
- Çiftçioglu G, Uğur M. Kıyma sucuk ve tavuk etlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonu. İstanbul Üniv Vet Fak Derg 1992;16:33-44.
- Chou CH, Wang C. Genetic Relatedness Between *Listeria monocytogenes* Isolates from Seafood and Humans Using PFGE and REP-PCR. Int J Food Microbiol 2006;110: 135–48.
- Çolak F, Dığrak M, Aksoy Z. Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan tavuk etlerinde *Listeria* türlerinin patojenitesi'nin belirlenmesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi 2008;11, 8- 12.
- Dauphin G, Ragimbeau C, Malle P. Use of PFGE typing for tracing contamination with *Listeria monocytogenes* in three cold-smoked salmon processing plants. Int J Food Microbiol 2001;64: 51–61.
- Davis JA, Jackson CJ. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua* and *L. welshimeri*. Microbial Drug Resistance 2009;15, 27-32.
- Deegan LH, Cotter PD, Hill C, Ross P. Bacteriocins: Biological tools for biopreservation and shelf-life extension. International Dairy Journal 2006;16:1058-1071.
- Degnan AJ, Yousef AE, Luchansky JB. Use of *Pediococcus acidilactici* to control *Listeria monocytogenes* in temperature-abused vacuum-packaged wieners. J Food Protect 1992;55(2):98-103.
- De Martinis ECP, Crandall, AD, Mazzotta AS, Montville TJ. Influence of pH, salt, and temperature on nisin resistance in *Listeria monocytogenes*. J Food Protect 1997;60(4):420-423.
- Den Bakker HC, Warchocki S, Wright EM, Allred AF, Ahlstrom C, Manuel CS, Stasiewicz MJ, Burrell A, Roof S, Strawn LK, Fortes E, Nightingale KK, Kephart D, Wiedmann M. *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. Int J Syst Evol Microbiol 2014;64:1882–1889.
- Djordjevic D, Wiedmann M, McInlandsborough A. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. Appl Environ Microbiol 2002;68(6): 2950-2958.
- Donnelly CW. *Listeria monocytogenes*, guide to foodborne pathogens. John Wiley ve Sons, Inc: New York 2001;s. 99-132,

- Donnelly CW, Nyachuba DG. conventional methods to detect and isolate *Listeria monocytogenes*. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. Third Edition. New York: CRC Press; 2007;p. 215-56.
- Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. “Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR”, *Journal of Clinical Microbiology*. 2004;42(8), 3819-3822.
- Doyuk KE. Bakteriler ve dezenfektanlara direnç. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi 2007;63-69.
- Drevets DA. *Listeria monocytogenes* virulence factors that stimulate endothelial cells. *Infect Immun* 1998;66:232-238.
- Dümen E, Issa G, İkiz S, Bağcıgil F, Özgür Y, Kahraman T, Ergin S, Yeşil O. Determining existance and antibiotic susceptibility status of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy products, serological and molecular typing of the isolates Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2011;17,111-119.
- Dynal. “Cell separation and protein purification”, Technical handbook, 2nd Ed Dynal AS. Norway Printed. 1996;02 96.
- Dykes GA, Moorhead SM. Survival of osmotic and acid stress by *Listeria monocytogenes* strains of clinical or meat origin. *Int J Food Microbiol* 2000;56:161-166.
- Edyta D, Kinga W, Jacek O. Prevalence of selected pathogens on hide and carcass of cattle slaughtered in Poland. An international conference organised by ProSafeBeef, March 25th to 26th 2009, Dublin, Advancing Beef Safety through Research and Innovation 2009;64.
- EFSA (European Food Safety Authority). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA Journal* 2007;130: 1-310.
- EFSA (European Food Safety Authority). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2009. *EFSA Journal* 2011;9(3), 2090
- EFSA (European Food Safety Authority). The European Union Summary Report. Trends and Sources of Zoonoses, Zoonitic Agent and Food-borne Outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 2014;12(2):3547.
- 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;36,1-2:185-89.

- Entis P ve Lerner I. Twenty-four-hour direct presumptive enumeration of *Listeria monocytogenes* in food and environmental samples using the ISO-GRID method with LM-137 agar. *J.Food Prot.* 2000;63:354-363.
- Erol İ, Şireli, UT. Donmuş broiler karkaslarında *Listeria monocytogenes*'in varlığı ve serotip dağılımı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 1999;23(4), 765-770.
- Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi (1. Basım) Ankara: Pozitif Matbaacılık 2007.
- EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters 2017. Erişim: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.0_Breakpoint_Tables.pdf Son erişim tarihi: 16 Ekim 2017
- Faleiro ML, Andrew PW, Power D. Stress response of *Listeria monocytogenes* isolated from cheese and other foods. *Int J Food Microbiol* 2003;84(2):207-216.
- Farber JM, Sanders GW, Dunfield S, Prescott R. The effect of various acidulants on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Lett Appl Microbio* 1989a;9:181-183.
- Farber JM, Sanders GW, Johnston MA. A survey of various food for the presence of *Listeria* Species, *Journal of Food Protection* 1989b;52(7),456-458.
- Farber JM, Brown BE. Effect of prior heat shock on heat resistance of *Listeria monocytogenes* in meat. *Appl Environ Microbiol* 1990;56:1584-1587.
- Farber JM, Peterkin PI. “*Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen”, *Microbiology Reviews* 1991;55,476-511.
- FDA. Draft Interagency Risk Assessment – *Listeria monocytogenes* in retail delicatessens technical report. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/UCM35132.pdf>, 2013.
- Fernández PS, George SM, Sills CC, Peck MW. Predictive model of the effect of CO₂, pH, temperature and NaCl on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 1997;37:37-45.
- Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N Engl J Med* 1985;312:404-407.
- Fugett EB, Schoonmaker-Bopp D, Dumas NB, Corby J, Wiedmann M. Pulsed-Field gel electrophoresis (PFGE) analysis of temporally matched *Listeria monocytogenes* isolates from human clinical cases, foods, ruminant farms, and urban and natural environments reveals source-associated as well as widely distributed PFGE types. *J Clin Microbiol* 2007;45,3:865-73.

- Gahan CGM, Hill C. *Listeria monocytogenes*: survival and adaption in the gastrointestinal tract. *Front Cell Infect Microbiol* 2014; 4:9. doi: 10.3389/fcimb.2014.00009.
- Gaillard JL, Jaubert F, Berche P. The *inlAB* locus mediates the entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes in vivo. *J Exp Med* 1996;183:359-369.
- Gasnov U, Hughes D ve Hansbro PM. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. *FEMS Microbiol. Rev* 2005;29:851-875.
- Gautom RK. Rapid pulse-field gel electrophoresis protocol for typing of *E. coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in one day. *J Clin Microbiol* 1997;35:2977-2980.
- Gellin BG, Broome CV, Bibb WF, Weaver RE, Garenta S and Mascol L. The epidemiology of listeriosis in the United States, 1986. *Am J Epidemiol* 1991;133:392-401.
- Genigeorgis CA, Dutulescu D, Garayzabal JF. prevalence of *Listeria* spp. in poultry meat at supermarket and slaughterhouse level, *Journal of Food Protection* 1989;52(3), 148-150.
- Gianfranceschi M, Pourshaban M, Gattuso A, Wedell-Neergaard C, Aureli P. Characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and humans in Italy by pulsed-field Gel electrophoresis”, *Food Microbiology* 2002;19: 47-55.
- Gilbert RJ, Miller KL, Roberts D. *L. monocytogenes* and chilled foods. *The Lancet* 1989;1:383-384.
- Giovannacci I, Ragimbeau C, Queguiner S, Salvat G, Vendevre JL, Carlier V, Ermel G. “*Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants use of RAPD, PFGE and PCR-REA for tracing and molecular epidemiology”, *International Journal of Food Microbiology* 1999;53:127-140.
- Gitter M. *Listeria monocytogenes* in oven-ready poultry. *Vet Rec* 1976;99:336.
- Gottlieb SL, Newbern EC, Griffin PM, byunLM, Hoekstra RM, Baker NL, Hunter SB, Holt KG, Ramsey F, Head M, Levine P, Johnson G, Schoonmaker-Bopp D, Reddy V, Kornstein L, Gerwel M, Nsubuga J, Edwards L, Stonecipher S, Hurd S, Austin D, Jefferson MA, Young SD, Hise K, Chernak ED, Sobel J. Listeriosis outbreak working group multistate outbreak of listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in US regulatory policy. *Clin. Infect Dis* 2006;42:29-36.
- Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, De Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries, *Emerging Infectious Diseases* 2008;14(5):734-740.
- Granier SA, Moubareck C, Colaneri C, Lemire A, Roussel S, Dao T, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from food and the environment in France over a 10-year period. *Applied and Environmental Microbiology* 2011;77(8): 2788-2790.

- Graves LM, Swaminathan B, Reeves M, Hunter SB, Weaver RE, Plikaytis BD. & Schuchat A. Comparison of ribotyping and multilocus enzyme electrophoresis for subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates. J Clin Microbiol 1994;32, 2936–2943.
- Graves LM, Swaminathan B. PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. Int J Food Microbiol 2001;65:55-62.
- Graves LM, Swaminathan B, Hunter SB. Subtyping *Listeria monocytogenes*. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety, Third Edition, London, New York: CRC Press 2007;283-305.
- Graves LM, Helsel LO, Steigerwalt AG, Morey RE, Daneshvar MI, Roof SE, Orsi RH, Fortes ED, Milillo SR, den Bakker HC, Wiedmann M, Swaminathan B, Sauders BD. *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. Int J Syst Evol Microbiol 2010;60:1280–1288.
- Gravesen A, Jacobsen T, Møller PL, Hansen F, Larsen AG, Knøchel S. Genotyping of *Listeria monocytogenes*: Comparison of RAPD, ITS, and PFGE. Int J Food Microbiol 2000;57: 43–51.
- Gray ML. Listeriosis in fowls. (a review). Avian Dis 1958;2:296-311.
- Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and *Listeria* infections. Bacteriol Rev 1966;30:309-382.
- Gronstol H. *Listeria*. Thoen (Eds), Pathogenesis Of Bacterial Infections In Animals Iowa 1986.
- Gouws PA, Liedemann I. “Evaluation of Diagnostic PCR for the Detection of *Listeria monocytogenes* in Food Products”. Food Technology and Biotechnology. 2005;43(2), 201-205.
- Gudbjornsdottir B, Suihko ML, Gustavsson P, Thorkelsson G, Salo S, Sjoberg AM. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in Nordic countries, Food Microbiology 2004;21, 217-225.
- Güç D. Adezyon Molekülleri. Ankem Derg. 2004;18, 2: 158-63.
- Hamdi TM, Naim M, Martin P, Jacquet C. Identification and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated in raw milk in the region of Algiers (Algeria). Int J Food Microbiol 2007;116:190–93.
- Hansen JM, Gerner-Smidt P, Bruun B. Antibiotic Susceptibility of *Listeria monocytogenes* in Denmark 1958-2001. APMIS 2005;113,31:6.

- Hansen CH, Vogel BF, Gram L. Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in Danish aquatic and fish-processing environments. *J Food Prot* 2006;69:2113-2122.
- Harakeh S, Saleh I, Zouhairi O, Baydoun E, Barbour E, Alwan N. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy based products. *Science of the Total Environment* 2009;407,4022-4027.
- Harisberger M, Gobeli S, Hoop R, Dewulf J, Perreten V, Regula G. Antimicrobial resistance in Swiss laying hens, prevalence and risk factors. *Zoonoses Public Health* 2011;58(6):377-87.
- Harvey J, ve Gilmour A. Application of multilocus enzyme electrophoresis and restriction fragment length polymorphism analysis to the typing of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw milk, nondairy foods, and clinical and veterinary sources. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60(5): 1547–1553.
- Harvey J ve Gilmour A. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates by esterase electrophoresis. *Appl Environ Microbiol* 1996;62(4): 1461–1466.
- Harvey J, Norwood DE, Gilmour A. Comparison of repetitive element sequence-based PCR with *multilocus enzyme electrophoresis* and pulsed field gel *electrophoresis* for typing *Listeria monocytogenes* food isolates. *Food Microbiology* 2004; 21(3),305-312.
- Hitchkins AD. “*L. monocytogenes*.” Chapter 10. In: FDA bacteriological analytical manual online. <http://www.cfsan.fda.gov> . 2003. Son erişim tarihi: 07 Ekim 2016.
- Hof H. Therapeutic activities of antibiotics in listeriosis. *Infect* 1991;19(4):229-233.
- Hof H. History and epidemiology of listeriosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol* 2003;35, 199-202.
- Hofer E, Ribeiro R, Feitosa DP. Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95:615-620.
- Holko I, Urbanova J, Kantikova M, Pastorova K, Kmet V. PCR Detection of *Listeria monocytogenes* in Milk and Milk Products and Differentiation of Suspect Isolates. *Acta Vet Brno* 2002;71:125-31.
- Hsieh HY, Tsen HY. Combination of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in food samples. *J Food Protect* 2001;64:1744-1750.
- Foodsafetynews. Danish Listeria Outbreak Has Killed 15 People, 38 Have Been Sickened <http://www.foodsafetynews.com/2014/09/danish-listeria-outbreak-claims-15-victims/> erişim tarihi 02.10.2017.

Foodstandarts.<https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Listeria%20monocytogenes.pdf> 2013. erişim tarihi 02.10.2017

Indrawattana N, Nibaddhasobon T, Sookrung N, Chongsanguan M, Tungtrongchitr A, Makino S, Tungyong W, Chaicumpa W. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw meats marketed in Bangkok and characterization isolates by phenotypic and molecular methods, Journal of Health, Population and Nutrition 2011;29(1):26-38.

İşleyici Ö, Sancak YC. “Süt ve süt ürünlerinde *Listeria* problemi ve izolasyon yöntemleri”, Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu 2000;422-31, Tekirdağ.

Jackson V, Blair IS, McDowell DA, Kennedy J, Bolton DJ. The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. Food Control 2007;18:346-351.

Jacquet C, Catimel B, Brosch R, Buchrieser C, Dehaumont P, Goulet V, Lepoutre A, Veit P, Rocourt J. Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. Appl Environ Microbiol 1995;61:2242-2246.

Jadhav S, Bhawe M, Palombo EA. Methods used for the detection and subtyping of *Listeria monocytogenes*. J Microbiol Methods 2012;88:327-341.

Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Foodborne listeriosis 2005;p.591-611.

Jemmi T, Stephan R. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. revue scientifique technique (International Office of Epizootics) 2006;25, 571-80.

Jia Y, Nightingale KK, Boor KJ, Ho A, Wiedmann M, McGann P. Distribution of internalingene profiles of *Listeria monocytogenes* isolates from different sources associated with phylogenetic lineages. Foodborne Pathog Dis 2007;4,222-232.

Kahraman T, Çetin O, Dümen E, Büyükcinal SK. Incidence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on equipment surfaces and personel hands in meat plants. Revue Med Vet 2010;161(3):108-113.

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.

Kanarat S, Wongkwan J, Sukhapesna J. “Prevalence of *Listeria monocytogenes* in chicken production chain in Thailand”, Thai Journal of Veterinary Medicine 2011;41(2), 155-161.

Karunasagar I. *Listeria* in tropical fish and fishery products. Int J Food Micro 2000; 62,177-181.

Katsuda K, Iguchi M, Tuboi T, Nishimori K, Tanaka K, Uchida I, Eguchi M. Rapid molecular typing of *Listeria monocytogenes* by pulsed-field gel electrophoresis. Res Vet Sci 2000;69:99-100.

- Khen BK, Lynch OA, Carrol J, Mcdowell DA, and Duffy G. Occurrence , antibiyotic resintance and molecular characterization of *Listeia monocytogenes* in the beef chain in te Republic of Ireland. *Zoonoses Public Health* 2009;11-17.
- Kınık Ö, Gönç S, Akalın AS. Çiğ sütte patojen mikroorganizmalar. Birinci Baskı. Bornova, İzmir, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No : 527, Ege Üniversitesi Basımevi 1998.
- Kinga W, Edyta D, Jacek O. Molecular characterization of pathogens identified on hide and carcass of cattle slaughtered in Poland, An international conference organised by ProSafeBeef, Dublin. *Advancing Beef Safety through Research and Innovation* 2009;65.
- Klug SW, Cummings WR. *Concept of genetics*. Prentice Hall, New Jersey. 2000;745.
- Klump J, Loessner MJ. *Listeria* phages: Genomes, evolution and application. *Bacteriophage* 2013;3,e26861-1.
- Kuhn M, Goebel W. Molecular virulence determinants of *Listeria monocytogenes*. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, Third Edition, London, New York: CRC Press 2007;p.111-57.
- Kuhn M, Scortti M, Vazquez-Boland JA. Pathogenesis. In: Liu D, editors. *Handbook of Listeria monocytogenes*. 1st ed. New York: CRC Pres 2008;p.97-136.
- Kum E. “Kayseri’de satışa sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının kültür yöntemleri ile belirlenmesi. Kayseri, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi 2009.
- Kum E, Yıldırım Y, Ertaş N. Kayseri’de satışa sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının klasik kültür yöntemi ile belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011; 8(2): 105-109.
- Kwantes W, Isaac M. Listeria infection in West Glamorgan. Woobine M. (Ed). *Problems of Listeriosis*. Leicester University Pres, Surrey 1975;112-114.
- Kwiatek K, Wojton B, Rola J. The Occurence of *L. monocytogenes* in Meat slaughter animals, poultry and raw milk in Poland. 3 rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications, Berlin 1992;1084-1088.
- Lado B, Yousef AE Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. Ch 6 In: Ryser ET, Mar3th EH (eds) *Listeria, listeriosis and food safety*. 3rd ed, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton. 2007;157–213.
- Lai E, Birren BW, Clark SM, Simon MI, and Hood L. Pulsed field gel electrophoresis. *Biotechniques* 1989;7:34-42.

- Lakicevic B, Stjepanovic A, Milijasevic M, Terzic-Vidojevic A, Golic N, Topisirovic L. "The Presence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in a chosen food processing establishment in Serbia", Archives of Biological Sciences 2010;62(4):881-887.
- Lang Halter E, Neuhaus K, Scherer S. *Listeria weihenstephanensis* sp. nov, isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. Int J Syst Evol Microbiol 2013;63:641–647.
- Lawlor KA. Effect of modified atmosphere packaging on growth of *Listeria monocytogenes* and nonproteolytic *Clostridium botulinum* in cooked turkey. Ph D dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA 1999.
- Lawrence LM, Harvey J, Gilmour A. Development of a Random Amplification of Polymorphic DNA Typing Method for *Listeria monocytogenes*. Appl Environ Microbiol. 1993;59, 9: 3117-19.
- Lawrence LM, Gilmour A. Incidence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing environment and in poultry products and their rapid confirmation by multiplex PCR. Appl Environ Microbiol 1994;60(12):4600–4604.
- Leclercq A, Clermont D, Bizet C, Grimont PA, Le Fleche-Mateos A, Roche SM, Buchrieser C, Cadet-Daniel V, Le Monnier A, Lecuit M, Allerberger F. *Listeria rocourtiae* sp.nov Int J Syst Evol Microbiol 2010;60:2210–2214.
- Lemon KP, Higgins DE, Roberto Kolter R. Flagellar motility is critical for *Listeria monocytogenes* biofilm formation. J Bacteriol 2007;189(12):4418-4424.
- Legnani P, Leoni E, Berveglieri M, Mirolo G, Alvaro N.. Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment, Food Control 2004;15:205-211.
- Linton RH, Carter WH, Pierson MD, Hackney CR, Eifert, JD. Use of a modified gompertz equation to predict the effects of temperature, pH, and NaCl on the inactivation of *Listeria monocytogenes* Scott A heated in infant formula. J Food Protect 1995;59(1):16-23.
- Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet M, May S. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. N Engl J Med 1988;319:823-828.
- Liu D, Lawrence ML, Wiedmann M, Gorski L, Mandrell RE. *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied virulence potential. J Clin Microbiol 2006;44:4229-4233.
- Loncarevic S, Danielsson-Tham ML, Gerner-Smidt P, Sahlstrom L, Tham W. Potential Sources of Human Listeriosis in Sweden. Food Microbiol 1998; 15: 65–69.
- Louie M, Jayaratne P, Luchsinger I, Devenish J, Yao J, Schlech W, Simor A. Comparison of ribotyping, arbitrarily primed pcr, and pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Listeria monocytogenes*. J Clin Microbiol 1996;34,(1):15-19.

- Lourenco A, De Las Heras A, Scortti M, Vazquez-Boland J, Frank JF, Brito L. Comparison of *Listeria monocytogenes* exoproteomes from biofilm and planktonic state: Lmo2504, a protein associated with biofilms. *Appl Environ Microbiol* 2013;79(19):6075-6082.
- Lukinmaa S, Aarnisalo K, Suihko ML, Siitonen A. Diversity of *Listeria monocytogenes* isolates of human and food origin studied by serotyping, automated ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:562-68.
- Lunden J, Tolvanen R, Korkeala H. Human Listeriosis Outbreaks Linked to Dairy Products in Europe. *J Dairy Sci.* 2004;87: 6-11.
- Lyytikäinen O, Autio T, Maijala R, Ruutu P, Buzalski TH, Miettinen M, Hatakka M, Mikkola J, Anttila VJ, Johansson T, Rantala L, Aalto T, Korkeala H, Siitonen A. An Outbreak of *Listeria monocytogenes* Serotype 3a Infections from Butter in Finland. *J Infect Dis* 2000;181(5):1838- 41.
- MAF. Guidance for the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Part 1: *Listeria* Management, 2011.
- MacDonald PDM, Whitwam RE, Boggs JD, MacCormack JN, Anderson KL, Reardon JW, Saah JR, Graves LM, Hunter SB, Sobel J. Outbreak of Listeriosis among Mexican Immigrants as a Result of Consumption of Illicitly Produced Mexican-Style Cheese. *Clin Inf Dis* 2005;40: 677-82.
- Mahmood MS, Ahmed AN, Hussein I. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat products and other related inanimates at faisalabad. *Pakistan Journal of Nutrition* 2003;2(6):346-349.
- Makino SI, Kawamoto K, Takeshi K, Okada Y, Yamasaki M, Yamamoto S, Igimi S. An outbreak of foodborne listeriosis due to cheese in Japan during 2001, *International Journal of Food Microbiology.* 2005;104(2),189-196.
- Manfreda G, De Cesare A, Stella S, Cozzi M, Cantoni C. Occurrence and ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheeses. *Int J Food Microbiol* 2005;102:287–293.
- Marquis H, Doshi V, Portnoy DA. The broad-range phospholipase C and a metalloprotease mediate listeriolysin O-independent escape of *Listeria monocytogenes* from a primary vacuole in human epithelial cells. *Infect Immun* 1995;63:4531–4534.
- Marshall DL, Wiese-Lehigh PL, Wells JH, Farr AJ. Comparative growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken nuggets stored under modified atmospheres. *J Food Protect* 1991;54:841-843.
- Maule J. Pulsed-field gel electrophoresis. *Mol Biotechnol* 1998;9:107–126.
- Maury MM, Tsai YH, Charlier C, Touchon M, Chenal-Francois V, Leclercq A, et al. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nature Genetics* 2016;48(3):308-313.

- Maxam A, Gilbert WA. New method of sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1977;74:560-4.
- McClure PJ, Roberts TA, Oguru PO. Comparison of the effects of sodium chloride, pH, and temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* on gradient plates and in liquid medium. *Lett Appl Microbiol* 1989;9:95-99.
- Mccormick JK, Poon A, Sailer, M, Gao, Y, Roy, KL, McMullen LM, Vederas JC, Stiles ME, Vanbelkum MJ. Genetic characterization and heterologous expression of brochoicin-C, an antibotulinal, two-peptide bacteriocin produced by *Brochotrix campestris* ATCC 43754. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:4757-4766.
- McLauchlin J, Hall SM, Velani SK, Gilbert RJ. Human listeriosis and pate: A possible association. *Brit Med J* 1991;303:773-775.
- McLauchlin J. *Listeria* and Listeriosis. *Clin Microbiol Infect.* 1997; 3, 4: 484-492.
- McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis: A Review of Hazard Characterisation for use in Microbiological Risk Assessment of Foods. *Int J Food Microbiol* 2004;92: 15-33.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, Mccaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999;5:607–625.
- Medium. <https://medium.com/@MicrobeADay/listeria-monocytogenes-646c323d0039> 2015.
- Miettinen MK, Björkroth KJ, Koekeala HJ. Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol* 1999;46:187-92.
- Millet L, Saubusse M, Didiene R, Tessier L, Montel MC. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses, *International Journal of Food Microbiology* 2006;108,105-114.
- Montville TJ, Matthews KR. *Listeria monocytogenes* In: *Food Microbiology*. ASM press. 2.Edition. 2008;173-188.
- Mor-Mur M, Yuste J. Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: An Overview. *Food Bioprocess Technol* 2010;3:24-35.
- Møretrø T, Langsrud S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. *Biofilms* 2014;1:107–121
- Mounier J, Ryter A, Coquis-Rondon M, Sansonetti PJ. Intracellular and cell to cell spread of *Listeria monocytogenes* involves interaction with F-actin in the enterocytelike cell line Caco-2. *Infect. Immun* 1990; 58:1048-1058.

- Mullerat J, Klapes NA, Sheldon BW. Efficacy of salmide®, a sodium chlorite – based oxy–halogen disinfectant, to inactivate bacterial pathogens and extend shelf–life of broiler carcasse, J Food Protection 1994;57(7):596–603.
- Mullis KB. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbour Symp Quant Biol 1986;51:263-273.
- Murray EGD, Webb RE, Swann MBR. A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis caused by hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. Journal of Pathology and Bacteriology 1926;29:407-439
- Navratilova P, Schlegelova J, Sustackova A, Napravnikova E, Lukasova J, Klimova E. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in milk, meat and foodstuff of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. Vet Med Czech 2004;7:243-252.
- Neves E, Lourenço A, Silva AC, Coutinho R, Brito L. pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis of *Listeria monocytogenes* isolates from different sources and geographical origins and representative of the twelve serovars. Syst Appl Microbiol 2008;31:387-92.
- Nolan, DA, Chamblin DC, Troller JA. Minimal water activity levels for growth and survival of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. Int J Food Microbiol 1992; 16(4):323-335.
- Novak JS, Juneja VK. Effects of refrigeration or freezing on survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in under-cooked ground beef. Food Cont 2003;14(1):25-30.
- Oliveira TS, Varjão LM, da Silva LNN, Pereira RCL, Hofer E, Vallim DC, Almeida RCC. *Listeria monocytogenes* at chicken slaughterhouse: Occurrence, genetic relationship among isolates and evaluation of antimicrobial susceptibility. Food Control 2018;88:131-138.
- Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. Review: Foodborne pathogens in milk and dairy farm environment: food safety and public health implications. Foodborne Pathog Dis 2005;2:115-129.
- Orsi R. H, & Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. Applied Microbiology and Biotechnology 2016; 100(12):5273-5287.
- Osaili TM, Alaboudi AR, & Nesiari EA. Prevalence of *Listeria* spp. and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan. Food Control 2011;22(3-4):586-590.
- Osman KM, Samir A, Abo-Shama UH, Mohamed EH, Orabi A, Zolnikov T. Determination of virulence and antibiotic resistance pattern of biofilm producing *Listeria* species isolated from retail raw milk. BMC Microbiol 2016;16, 263, 10.1186/s12866-016-0880-7.

Oxoid. Rapid Food Tests. Oxoid *Listeria* Rapid Test. http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=FT0401&c=UK&lang=EN. Erişim Tarihi: 22.10.2017.

Özmen G. Gemlik garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinden *Listeria* spp. izolasyonu. Kayseri, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, Yüksek Lisans Tezi 2006.

Paillard D, Dubois V, Duran R, Nathier F, Guittet C, Caumette P, Quentin C. rapid identification of *listeria* species by using restriction fragment length polymorphism of PCR-Amplified 23S rRNA gene fragments. Appl Environ Microbiol 2003;69(11): 6386–6392.

Painter J, Slutsker L. Listeriosis in Humans. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, Third Edition, London, New York: CRC Press 2007;p.85-111.

Palumbo JD, Borucki MK, Mandrell RE, Gorski L. Serotyping of *Listeria monocytogenes* by enzyme-linked immunosorbent assay and identification of mixed-serotype cultures by colony immunoblotting. J Clin Microbiol 2003;41,2:564-71.

Paun O, Schönswetter P. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) – an invaluable fingerprinting technique for genomic, transcriptomic and epigenetic studies. Methods Mol Biol 2012;862: 75–87.

Pavlic M, Griffiths M. Principles, application, and limitations of automated ribotyping as a rapid method in food safety. Foodborne Pathog Dis 2009;6:1047–1055.

Peiris. *Listeria monocytogenes*, a food borne pathogen. Uppsala, Swedish University of Agricultural Sciences, Master Thesis 2005.

Perreten V, Schwarz F, Cresta L, Boeglin M, Dasen G, Teuber M. Antibiotic resistance spread in food, Nature 1997;389:801-802.

Petran RL and Zottola EA. A study of factors affecting growth and recovery of *Listeria monocytogenes* Scott A. J. Food Sci 1989; 54:458–460.

Pichhardt K. Gıda mikrobiyolojisi, gıda endüstrisi için temel esaslar ve uygulamalar. Sekin Y, Karagözlü N, editörler. 4. Basımdan Çeviri, Birinci Baskı. İstanbul: Çevik Matbaacılık, Literatür Yayıncılık Dağıtım, Pazarlama Sanayi Ticaret Ltd. Şti. 2004;185-191.

Pirie JHH. A new disease of veld rodents “Tiger River Disease.” Publ S Afr Inst Med Res 1927;(3): 163-1 86.

Pirie JHH. *Listeria*: Change of name for a genus of bacteria, Nature 1940;145:264.

- Pociecha JZ, Smith KR, Manderson GJ. Incidence of *Listeria monocytogenes* in meat production environments of a South Island (New Zealand) mutton slaughterhouse. *Int J Food Microbiol* 1991;13(4):321-327.
- Portnoy DA, Chakraborty T, Goebel W, Cossart P. Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* pathogenesis. *Infect Immun* 1992;60:1263-1267.
- Rahimi E, Ameri M, Momtaz H. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran, *Food Control* 2010;21:1448-1452.
- Rahmat GR, Ibrahim A, Abu Bakar F. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in retail beef and poultry, *Pertanika* 1991;14(3):249-255.
- Rantsiou K, Alessandria V, Urso R, Dolci P, Coccolin L. Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR, *International Journal of Food Microbiology* 2008;121:99-105.
- Reid LM, O'Donnell CP, Downey G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Sci Technol* 2006;17,7:344-53.
- Renzoni A, Cossart P, Dramsi S. *PrfA*, the transcriptional activator of virulence genes, is upregulated during interaction of *Listeria monocytogenes* with mammalian cells and in eukaryotic cell extracts. *Mol Microbiol* 1999;34:552-561.
- Resmi Gazete, Yem Katkıları ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ (Tebliğ No:2006/1), 2006;21/01/2006 tarih ve 26056 sayı.
- 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.
- Rijkelt R, Beumer, Wilma C. Hazeleger. “*Listeria monocytogenes*: diagnostic problems” *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2003;35(3):191-197.
- Rivera-Betancourt M, Shackelford SD, Arthur TM, Westmoreland KE, Bellinger G, Rossman M. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States, *Journal of Food Protection* 2004;67(2):295-302.
- Roberts D. Sources of infection: Food. *Lancet* 1990;336:859-861.
- Rocourt J, Buchrieser C. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy and identification. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. Third Edition. New York: CRC Press 2007;1-20.

- Rorvik LM, Aase B, Alvestad T, Caugant DD. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *Journal of Applied Microbiology* 2003;94:633-640.
- Roussel S, Félix B, Colanéri C, Vignaud ML, Dao TT, Marault M, Brisabois A. Semi-automated repetitive-sequence-based polymerase chain reaction compared to pulsed-field gel electrophoresis for *Listeria monocytogenes* subtyping. *Foodborne Pathog Dis* 2010;7(9):1005-12.
- Saini JK. Validating the efficacy of commercial foaming cleaner and sanitizer for controlling *Listeria innocua* (Surrogate for *Listeria monocytogenes*) in drains and potential translocation from the drain to the food contact surfaces. Master's Thesis, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India 2008.
- Sakaridis I, Soutos N, Iossifidou E, Papa A, Ambrosiadis I, Koidis P. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated in chicken slaughterhouses in Northern Greece. *Journal of Food Protection* 2011;74(6):1017-1021.
- Sammarco ML, Ripabelli G, Ruberto A, Iannitto G, Grasso GM. Prevalence of *Salmonella*, *Listeria* and *Yersinia* in the slaughterhouses environment and on work surfaces, equipment and workers, *Journal of Food Protection* 1997;60:367-371.
- Sancak YC, İşleyici Ö, Elibol C, Ekici K. Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg* 2002;13,1-2: 8-11.
- Sanger F, Nicklen, S, Coulson, AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1977;74,5463-7.
- Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, Haldane EV. Epidemic listeriosis-Evidence for transmission by food. *N Engl J Med* 1983;308:203-206.
- Schönberg A, Teufel P, Weise E. Serovars of *L. monocytogenes* and *L. innocua* from food, *Acta Microbiologica Hungarica* 1989;36(2-3):249-253.
- Schubert W D, Urbanke C, Ziehm T. Structure of internalin, a major invasion protein of *Listeria monocytogenes*, in complex with its human receptor E-cadherin. *Cell* 2002;111:6,825-836.
- Seeliger HPR, Höhne K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species, *Journal of Medical Microbiology* 1979;13:31-49.
- 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.
- Selander RK, Caugant DA, Ochman H, Musser J.M. Gilmour MN, and Whittam TS. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Appl Environ Microbiol* 1986;51:873-884.

- Senczek D, Stephan R, Untermann F. pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) typing of *Listeria* Strains isolated from a meat processing plant over a 2-year period. *Int J Food Microbiol* 2000;62:155-59.
- Sergelidis D, Abraham A, Sarimvei A, Panoulis C, Karaioannoglou P, Genigeorgis C. "Temperature distribution and prevalence of *Listeria* spp. in domestic, retail and industrial refrigerators in Greece", *International Journal of Food Microbiology* 1997;34, 171–177.
- Shahamat M, Seaman A, Woodbine M. Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentrations. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Abt. 1. Orig A Medizinische Mikrobiologie, Infektionskrankheiten und Parasitologie* 1980:246, 506–511.
- Sharif J, Willayat MM, Sheikh GN, Roy SS, Bhat SA. Prevalence and antibiogram of *Listeria monocytogenes* in cases of abortion and stillbirths in sheep of kashmir. *J Vet Pub Hlth* 2011;9(1):43-46.
- Siegman-Igra Y, Levin R, Weinberger M, Golan Y, Schwartz D, Samra Z, Konigsberger H, Yinnon A, Rahav G, Keller N, Bisharat N, Karpuch J, Finkelstein R, Alkan M, Landau Z, Novikov J, Hassin D, Rudnicki C, Kitzes R, Ovadia S, Shimoni Z, Lang R, Shohat T. *Listeria monocytogenes* infection in Israel and review of cases worldwide. *Emerg Infect Dis* 2002;8(3):305-310.
- Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, Goldfine H. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell to cell spread. *Infect Immun* 1995;63:4231-4237.
- Soultos N, Koidis P, Madder RH. Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland, *Letters in Applied Microbiology* 2003;37,421-423.
- Srinivasan V, Nam HV, Nguyen LT, Tamilselvam B, Murinda SE, Oliver SP. Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Listeria monocytogenes* isolated from dairy farms. *Foodborne Pat Dis* 2005;2:3.
- Steve H, Flint, Nikki JK. The sub-typing of *Listeria monocytogenes* isolates from food, environments surrounding food manufacturing sites, and clinical samples in New Zealand using multilocus enzyme electrophoresis *International Journal of Food Microbiology* 1996;31(1–3):349-355.
- Sugiri YD, Gölz G, Meeyam, T., Baumann, M. P. O., Kleer, J., Chaisowwong, W., et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* on chicken carcasses in Bandung, Indonesia. *Journal of Food Protection* 2014;77(8),1407-1410.
- Swaminathan B, Matar GM. Molecular typing methods in: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, editors. *Diagnostic Molecular Microbiology, Principles and Applications*. First Edition. Rochester: Mayo Foundation Pres. 1993;26-50.

- Swaminathan B, Cabanes D, Zhang W, Cossart P. “*Listeria monocytogenes*” In Doyle MP, Beuchat, LR. (ed.). Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 3rd Ed ASM Pres, Washington DC 2007;457-491.
- Şireli UT, Gücükoğlu A. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* spp. isolated from ready to eat foods in Ankara. Turk J Vet Anim Sci 2008;32(2):131-135.
- Taşçı F, Türütoğlu H, Ögütçü H. Investigations of *Listeria* species in milk and silage produced in Burdur province. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010;16:93-97.
- Troxler R, von Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. Clin Microbiol Infect 2000;(6):525–535.
- TUİK. http://www.tuik.gov.tr/basinOdasi/haberler/2016_40_20160330.pdf / erişim tarihi 08.03.2018. 2016
- Tunail, N. Gıda Mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara. Genişletilmiş 2. Baskı 2000;03-04:522.
- Ueda S, Maruyama T, Kuwabara Y. Detection of *Listeria monocytogenes* from food samples by PCR after IMS-plating. Biocontrol Sci 2006;11(3):129-134.
- USDA. Draft assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. <http://www.foodsafety.gov/~dms/lmrisk.html> 2001.
- USDA. Livestock and Poultry. World Markets and Trade. http://www.besd-bir.org/assets/documents/seylimA_ylkeler_yretim.pdf, 2016.
- Uyttendaele M, Busschaert P, Valero A, Geeraerd AH, Vermeulen A, Jacxsens L, Goh KK, De Loy A, Van Impe JF, Devlieghere F. Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise based deli salads, cooked meat products and smoked fish between 2005-2007. Int J Food Microbiol 2009;133:94-104.
- Valk H, Vaillant V, Jacquet C, Rocourt J, Querrec FL, Stainer F, Quelquejeu N, Pierre O, Pierre V, Desenclos JC, Goulet V. Two Consecutive Nationwide Outbreaks of Listeriosis in France, October 1999-February 2000. Am J Epidemiol 2001;154, 10: 944-50.
- Van Kessel JS, Karns JS, Gorski L, Perdue ML. Subtyping *Listeria monocytogenes* from bulk tank milk using automated repetitive element–based PCR. J Food Prot 2005;68:12, 2707-12.

- Voetsch AC, Angulo FJ, Jones TF, Moore MR, Nadon C, McCarty P, Shiferaw B, Megginson MB, Hurd S, Anderson BJ, Cronquist A, Vugia DJ, Medus C, Segler S, Graves LM, Hoekstra RM, Griffin PM. Reduction in the incidence of invasive listeriosis in foodborne diseases active surveillance network sites 1996–2003. *Clin Infect Dis* 2007;44:513-520.
- Waak E, Tham W, Danielsson-Tham ML. Prevalence and fingerprinting of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw whole milk in farm bulk tanks and in dairy plant receiving tanks. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:3366-3370.
- Wagner M, Bubert A. *Listeria*/Detection by commercial enzyme immunoassays. In: Robinson RK, Batt CA, Patel PD, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*, First Edition, Academic Press 1999;1207-14.
- Wagner, M., & McLauchlin, J. In D. Liu (Ed.), Chapter 1: Biology in handbook of *Listeria monocytogenes*. Boca Raton, Florida: CRC Press 2008;3
- Walsh D, Duffy G, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA. Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods, *Journal of Applied Microbiology* 2001; 90,517-522.
- Waugh R, Owell W. Using WD markers for crop improvement. *TIBTech* 1991;10:186-191.
- Weis J. Vorkommen von Listerien in hackfleisch, *Tierärztliche Umschau* 1989;52(7):456-458.
- Weller D, Andrus A, Wiedmann M, den Bakker HC. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. *Int J Syst Evol Microbiol* 2015;65:286–292.
- Welshimer HJ. Isolation of *Listeria monocytogenes* from vegetation. *J Bacteriol* 1968;95:300303.
- Wenger JD, Swaminathan B, Hayes PS, Green SS, Pratt M, Pinner RW. *Listeria monocytogenes* contamination of Turkey franks: Evaluation of a production facility, *Journal of Food Protection* 1990;53:1015-1019.
- Wieckowska M, Kotlowski R, Kur J, Rudnicka W. Use of PCR methods for identification of *Listeria monocytogenes* in milk. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia* 1998;50(3-4):251-57.
- Wiedmann M, Barany F ve Batt C.A. Detection of *Listeria monocytogenes* with a nonisotopic polymerase chain reaction-coupled ligase chain reaction assay. *Applied Environmental Microbiology*. 1993;Vol. 59, No.8. (2743-2745), ISBN:0099-2240.
- Yağcı A. Restriction fragment length polymorphism ve polimeraz zincir reaksiyon bazı tiplene yöntemleri. <http://web.inonu.edu.tr/~iozerol/rdurmaz/UygMolMikr/149.pdf>. Erişim Tarihi 2011.

- Yan H, Neogi SB, Mo Z, Guan W, Shen Z, Zhang S. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005-2007. *International Journal of Food Microbiology* 2010;144, 310-316.
- Yde M, Genicot A. Use of PFGE to characterize clonal relationships among Belgian clinical isolates of *Listeria monocytogenes*. *J Med Microbiol* 2004;53:399-402.
- Yeşilyurt C. “Aydın ili mezbahalarında *E. coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* varlığının araştırılması.” Aydın, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD. 2010.
- Yousef AE, Luchansky JB, Degnan AJ, Doyle MP. Behavior of *Listeria monocytogenes* in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactici* H or pediocin AcH during storage at 4 or 25°C. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57:1461-1467.
- Yücel N, Çıtak S, Önder M. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara, Turkey. *Food Microbiol* 2005;22:241-245.
- Zhang L, Moosekian SR, Todd ECD, Ryser ET. Growth of *Listeria monocytogenes* in different retail delicatessen meats during simulated home storage. *J Food Protect* 2012;75(5):896-905.
- Zheng W, Kathariou S. Host-mediated modification of Sau3AI restriction in *Listeria monocytogenes*: prevalence in epidemic-associated strains. *Appl Environ Microbiol* 1997;63:3085-3089.
- Zhou Q, Feng F, Wang L, Feng X, Yin X, Luo Q. Virulence regulator PrfA is essential for biofilm formation in *Listeria monocytogenes* but not in *Listeria innocua*. *Curr Microbiol* 2011;63:186-192.
- Zunabovic M, Domig KJ, Pichler I, Kneifel W. Monitoring transmission routes of *Listeria* spp. in smoked salmon production with repetitive element sequence-based PCR techniques. *J Food Prot* 2012;75(3):504-11.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Kadir Emre GİRGIN

Doğum Yeri: Havza

Doğum Tarihi: 1982

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2001-2006
Çalıştığı Kurum/ Kurumlar ve Yıl: Erzurum/Tortum İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık
Müdürlüğü, 2003-2008, Samsun/Havza İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü,
2008-2010, Samsun İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, 2010-Günümüz

E-posta: kadiremre.girgin@tarim.gov.tr

Telefon: +905466753111