

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ BÖLÜMÜ

**SÜT ve ÜRÜNLERİNDE *Listeria monocytogenes*'in  
İNSİDENSİ, SEROTİPLENDİRİLMESİ ve ANTİBİYOTİK  
DİRENÇLİLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Vet. Hek. Tahsin Onur KEVENK**

**Samsun  
Ocak-2014**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ BÖLÜMÜ

**SÜT ve ÜRÜNLERİNDE *Listeria monocytogenes*'in  
İNSİDENSİ, SEROTİPLENDİRİLMESİ ve ANTİBİYOTİK  
DİRENÇLİLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Vet. Hek. Tahsin Onur KEVENK**

**Danışman  
Doç. Dr. Göknur TERZİ**

**Samsun  
Ocak-2014**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAHSİN ONUR KEVENK tarafından Doç. Dr. GÖKNUR TERZİ danışmanlığında hazırlanan “Süt ve Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in İnsidensi, Serotiplendirilmesi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 27/01/2014 tarihinde yapılan sınav ile Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Mustafa ATASEVER, Atatürk Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Göknur TERZİ (Danışman), Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

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

.... / .... / 2014

**Prof. Dr. Süleyman KAPLAN**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde hiçbir zaman desteğini ve önerilerini esirgemeyen tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Gökür TERZİ'ye ve tez izleme komitemde yer alan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI'ya ve Sayın Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a şükranlarımı sunarım.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarım sırasında bana her zaman yardımcı olan değerli hocalarım Yrd. Doç. Ali GÜCÜKOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI'ya, Arş. Gör. Dr. Gökhan İNAT'a ve değerli çalışma arkadaşım Arş. Gör. Tolga UYANIK'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Son olarak manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme ve sevgili eşim Ferdane KEVENK'e, fakültemizin değerli öğretim üyelerinden Doç. Dr. Cenk YARDIMCI'ya, Yrd. Doç. Dr. Cenk Soner BÖLÜKBAŞ'a ve Dr. Dt. Berat Serdar AKDENİZ'e teşekkür ederim.

Bu çalışma PYO.VET-1904.11.010 kod numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### Süt ve Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in İnsidensi, Serotiplendirilmesi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

**Amaç:** Bu çalışmada Samsun bölgesinden temin edilen çiğ süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in tespiti, PCR ile doğrulanması, serotip dağılımının belirlenmesi ve antibiyotik dirençlilik profillerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Kasım 2011-Nisan 2012 tarihleri arasında Samsun Merkezi'nde kurulan semt pazarlarından, çeşitli satış noktalarından ve çevre köylerdeki yetiştiricilerden alınan toplam 210 adet süt ve süt ürünü çalışmada materyal olarak kullanıldı. *L. monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonu İMS bazlı kültür tekniği (ISO 11290-1) ile yapıldı. İdentifiye edilen *L. monocytogenes* izolatları *hlyA* ve *iap* genleri yönünden PCR ile doğrulandı ve daha sonra serotiplendirildi. İzolatların antibiyotik dirençlilik profilleri disk difüzyon yöntemi ile belirlendi ve dirençli izolatların MİK analizleri mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı.

**Bulgular:** *L. monocytogenes*, analiz edilen çiğ süt örneklerinde % 5, süt ürünü örneklerinde ise % 8,18 oranında izole edildi. İzolatların tamamının *hlyA* ve *iap* genlerini içerdiği belirlendi. Serotiplendirme sonucunda çiğ süttten elde edilen izolatların % 80'i *L. monocytogenes* 4b, % 20'si *L. monocytogenes* 1/2b olarak, süt ürünlerinden elde edilen izolatların % 22'si *L. monocytogenes* 1/2a, % 56'sı ise *L. monocytogenes* 1/2b ve % 22'si *L. monocytogenes* 1/2c olarak tespit edildi. Antibiyotik dirençlilik testleri sonucunda, izolatların % 15,3'ünün bir, % 36,5'inin de birden fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlendi ve % 48,2'sinin ise herhangi bir antibiyotiğe dirençli olmadığı tespit edildi. Daha sonra dirençli izolatların MİK değerleri ortaya konularak dirençlilik düzeyleri belirlendi.

**Sonuç:** Elde edilen bulgular sonucunda çiğ süt ve süt ürünlerinin % 6,6 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlendi. Halk sağlığının korunması amacıyla süt ve ürünlerinin üretiminde süütün pastörizasyon derecelerine kadar ısıtılması, uygun teknik ve hijyenik şartlarda satışa sunulması ve muhafaza edilmesi önerilmektedir. Ayrıca izolatların çoklu antibiyotiklere direnç göstermesi nedeniyle kontrolsüz antibiyotik kullanımının önlenmesi önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *hlyA*; *iap*; İMS; *Listeria monocytogenes*; Serotiplendirme

**Tahsin Onur KEVENK, Doktora Tezi**

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak-2014**

## ABSTRACT

### **Detection, Serotyping and Antimicrobial Diversity of *Listeria monocytogenes* in Raw Milk And Dairy Products**

**Aim:** The aim of this study to detect *Listeria monocytogenes* in raw milk and dairy products, which were obtained in Samsun province. The isolates, which gained were confirmed and serotyped by PCR technique. Afterwards, antibiotic resistance tests were performed.

**Material and Method:** Between November 2011-April 2012, a total of 210 raw milk and dairy product which obtained from local bazaars and small family farms were used as material. IMS based cultivation method (ISO 11290-1) was used for the isolation and identification of *L. monocytogenes*. The isolates were confirmed with specific *hlyA* and *iap* primers and serotyped by PCR technique. Afterwards, antibiogram tests of isolates were performed by the disc diffusion method and MIC analyses were performed to resistance isolates by micro dilution method.

**Results:** *L. monocytogenes* was found in 5 % in raw milk, 8.18 % in dairy products. All isolates were including *hlyA* and *iap* genes. After serotyping, isolates obtained from raw milk 80 % *L. monocytogenes* 4b and 20 % *L. monocytogenes* 1/2b was determined. Isolates obtained from dairy products 22 % *L. monocytogenes* 1/2a and 1/2c, 56 % *L. monocytogenes* 1/2b was determined. As a result of antibiotic resistance tests 15,3 % of isolates has one, 36,5 % of isolates has resistance to more than one antibiotic, respectively. MIC breakpoints of resistant isolates were exposed.

**Conclusion:** With this study *L. monocytogenes* was determined 6.6 % from raw milk and dairy products, which are sold in Samsun province. For protection of public health milk and dairy products have to be pasteurized before production and also consumers have to be informed for potential risks of these products. Also to be parallel of antibiogram results using under control of antibiotics has to be obstructed.

**Keywords:** *hlyA*; *iap*; IMS; *Listeria monocytogenes*; Serotyping

**Tahsin Onur KEVENK, Ph. D. Thesis**

**Ondokuz Mayıs University - Samsun, January-2014**

## SİMGELER ve KISALTMALAR

*actA*: Actin Activity (Aktin Aktivitesi)

ATCC: American Type Culture Collection (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu)

*ASPs*: Acid Shock Proteins (Asit Şok Proteinleri)

*a<sub>w</sub>*: Activity of Water (Su Aktivitesi)

BLEB: Buffered Listeria Enrichment Broth (Tamponlanmış Listeria Zenginleştirme Besiyeri)

CAMP: Christie Atkins Münch Petersen

CDC: Center for Disease Control and Prevention (Hastalıkları Kontrol ve Korunma Merkezi)

*clp*: Caseinolytic Protein (Kazeinolitik – Kazein Parçalayan Protein)

DNA: Deoxyribonucleic acid (Deoksiribonükleik Asit)

FDA: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)

FSIS: Food Safety and Inspection Service (Gıda Güvenliği Servisi)

HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları)

*hlyA*: Hemolysin A (Hemolizin A)

*htr*: Heat Resistance Proteins (Isıya Direnç Proteinleri)

*iap*: Invasion Associated Protein (İnvazyon İlişkili Protein)

IMS: Immuno Magnetic Separation (İmmuno Manyetik Seperasyon)

*InlA*: Internalin A

ISO: International Organization for Standardization (Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu)

kob: Koloni Oluşturan Birim

LLO: Listeriolysin O (Listeriolizin O)

MID: Minimal İnfeksiyon Dozu

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards (Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi)

PCR: Polimerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

*plcA - plcB*: Phospholipase A - B (Fosfolipaz A – B)

TBE: Tris/Borate/EDTA

USDA: United States Department of Agriculture (Amerikan Tarım Dairesi)

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Tarihçe.....	5
2.2 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Klasifikasyonu.....	6
2.3 <i>Listeria</i> Soyuna Ait Bakterilerin Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikleri.....	7
2.4 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Antibiyotik Dirençliliği.....	8
2.5 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Çevresel Strese Karşı Savunma Mekanizmaları..	10
2.5.1 Sıcak Şokuna Yanıtı.....	10
2.5.2 Asit Stresine Yanıtı.....	11
2.5.3 Ozmotik Strese Yanıtı.....	11
2.6 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Virulens Faktörleri.....	12
2.6.1 Yüzey Proteinleri ve İnternalinler.....	12
2.6.2 Protein p60.....	13
2.6.3 <i>ActA</i> .....	13
2.6.4 Listeriolizin O (LLO).....	14
2.6.5 Fosfolipaz ve Metalloproteaz.....	15
2.7 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Epidemiyolojisi.....	15
2.7.1 Sularda <i>Listeria monocytogenes</i> .....	16
2.7.2 Bitkilerde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	16
2.7.3 Gıda İşleme Tesislerinde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	17
2.7.4 Su Ürünlerinde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	18
2.7.5 Kırmızı Et ve Ürünlerinde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	19
2.7.6 Kanatlı Eti ve Ürünlerinde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	20
2.7.7 Süt ve Süt Ürünlerinde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	21
2.7.8 Tüketime Hazır Gıdalarda <i>Listeria monocytogenes</i> .....	24
2.7.9 Meyve ve Sebzelerde <i>Listeria monocytogenes</i> .....	25



2.7.10 İnsanlarda Listeriozis.....	26
2.8 Çalışmamızda Kullandığımız Peynirler.....	31
2.9 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	33
2.10 Korunma ve Kontrol.....	36
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>38</b>
3.1 Materyal.....	38
3.1.1 Sütlerde Isıl İşlem Tespitinde Kullanılan Kimyasallar.....	38
3.1.2 Sütlerde Antibiyotik Aranmasında Kullanılan Malzemeler.....	39
3.1.3 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in İzolasyon İdentifikasyonunda Kullanılan Malzemeler.....	39
3.1.4 <i>Listeria monocytogenes</i> İzolatlarının PCR ile Doğrulanmasında Kullanılan Kimyasallar.....	43
3.1.5 <i>Listeria monocytogenes</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Kullanılan Malzemeler.....	45
3.2 Metot.....	47
3.2.1 Sütlerde Isıl İşlem Tespiti .....	47
3.2.2 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in İzolasyonu.....	49
3.2.3 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Biyokimyasal Testleri ve İdentifikasyonu....	52
3.2.4 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in PCR ile Doğrulanması.....	56
3.2.5 Antibiyotik Dirençlilik Testleri.....	60
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>66</b>
4.1 Laboratuvara Getirilen Sütlerin Kültür Öncesi Analizleri.....	66
4.2 İMS Bazlı Kültür Tekniği Sonuçları.....	66
4.3 İzolatların PCR ile Doğrulanması.....	68
4.4 <i>Listeria monocytogenes</i> İzolatlarının Serotiplendirilmesi.....	69
4.5 <i>Listeria monocytogenes</i> İzolatlarının Antibiyotik Dirençlilik Sonuçları .....	75
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>81</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>92</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>93</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>113</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>116</b>

## 1. GİRİŞ

Süt, hayvansal proteinler içerisinde tüketiminin kolay olması ve değerli besin elementleri içermesi bakımından günlük beslenmemizin temel unsurlarından birisini oluşturmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde süt üretiminin büyük kısmının entegre tesislerden çok, aile tipi küçük işletmelerde gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Bu durum üreticilere hem düzenli ve hızlı bir maddi geri dönüş sağlamakta hem de üretimin sürdürülmesi için önemli bir kaynak olarak karşımıza çıkmaktadır (Anon, 2013a).

Süt ve süt ürünleri içerdikleri kalsiyum, fosfor, esansiyel bileşenler, vitamin ve mineraller ile yüksek besleyici değere sahip olması bakımından insan beslenmesinde oldukça önemli yer tutmaktadır. Bu denli öneme sahip bir besin maddesinin uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi, işlenmesi ve taşınması sonucu patojen mikroorganizmalar ile kontamine olmasına neden olmakta ve bu da halk sağlığı açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır (White ve ark., 1989; Le Jeule ve Rajala-Schultz, 2009).

Dünya’da 2011 yılı süt üretimi verilerine göre; 154 milyon ton ile Avrupa Birliği birinci sırada, 89 milyon ton ile Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ikinci sırada ve 49 milyon ton ile Hindistan üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye ise yıllık ortalama 12 - 13 milyon ton ile süt üretiminde ilk 10 ülke arasında yer almaktadır (Tablo 1) (Anon, 2013b).

**Tablo 1.** Türkiye, Avrupa Birliği (AB) ve Dünya’da yıllara göre süt üretimi (ton) (Anon, 2013b)

Ülkeler	2006	2007	2008	2009	2010	2011
<b>ABD</b>	82.463.000	84.189.100	86.159.600	85.859.400	87.474.400	89.015.235
<b>AB</b>	153.650.716	153.108.150	153.603.498	153.873.189	152.567.041	154.695.194
<b>Türkiye</b>	11.952.100	12.329.789	12.243.064	12.542.185	13.543.674	15.056.510

Süt, içerdiği önemli besin öğeleri nedeniyle mikroorganizmalar açısından iyi bir besi yeri olarak nitelendirilmektedir. Sütün mikroorganizmalarla kontaminasyonu sağım öncesi, sağım sırası veya sağım sonrasında şekillenebilmektedir. Sağım sonrasında sütün uygun olmayan koşullarda taşınması ve muhafazası sonucu patojen mikroorganizmalarla kontamine olmakta ve bunun sonucunda da tüberkülozis,

brusellozis ve listeriozis gibi önemli zoonoz hastalıklar açısından risk oluşturmaktadır (Le Jeule ve Rajala-Schultz, 2009).

*Listeria monocytogenes* ilk kez Murray ve ark. tarafından 1926 yılında İngiltere'nin Cambridge kentinde rodentlerden izole edilmiş ve monositozise neden olmasından dolayı *Bacterium monocytogenes* olarak adlandırılmıştır (Murray ve ark., 1926). 1927 yılında Pirie etkeni Güney Afrika'da vahşi gerbillerden izole etmiş ve isminin ünlü cerrah Lord Lister'in anısına *Listerella* olarak değiştirilmesini önermiştir (Pirie, 1927). Daha sonra yapılan sınıflandırma çalışmalarında etkenin adı *Listeria monocytogenes* olarak belirlenmiştir (Pirie, 1940). Takip eden yıllarda etkenin invaziv karakterde olduğu, önemli gıda patojenleri arasında yer aldığı ve çiğ, işlem görmemiş et, süt, sebze ve meyve gibi gıdalardan sıkça izole edildiği tespit edilmiştir.

Listeriozis, *L. monocytogenes* ile kontamine gıdaların tüketilmesi sonucu insanlarda menenjit, ensefalit, abort, sepsis ve hatta ölümlere varan ciddi enfeksiyonlara neden olan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. İntraselüler (hücre içi) bir patojen olarak nitelendirilen *L. monocytogenes*'in en çok yeni doğanlar, gebeler, yaşlı ve immun sistemi baskılanmış kişiler için risk oluşturduğu bildirilmiştir. Hastalık insanlarda akut-septik form, merkezi sinir sistemi (MSS) formu, glandular form, lokal form ve kronik septik form olmak üzere 5 farklı şekilde seyretmekte ve yüksek mortalite oranı (% 20 - 30) nedeniyle önem arz etmektedir (Gandhi ve Chikindas, 2007).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1999 yılında 2.528 kişinin listeriozis hastalığına yakalandığı belirlenmiş, bunlardan % 27,6'sının ise hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Mead ve ark., 1999). Yapılan taramalarda 2007 yılında 311 kişinin listeriozis hastalığına yakalandığı ve bunlardan 65'inin hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Hastalığa neden olan serotiplerin dağılımı % 46 4b, % 21 1/2a, % 16 1/2b ve % 17'si ise diğer serotipler tarafından oluşturduğu belirlenmiştir (CDC, 2007). ABD'de 2008 yılına gelindiğinde 349 kişi hastalığa yakalandığı ve bunlardan 57'si hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Hastalığa neden olan serotiplerin dağılımı ise % 48 4b, % 28 1/2a, % 16 1/2b ve % 9 diğer olarak belirlenmiştir (CDC 2008a). 2009 yılında ise 524 kişinin bu hastalığa yakalandığı bunlardan 83'ünün hayatını kaybettiği belirlenmiştir. Hastalığa

neden olan serotiplerin dağılımı ise % 48 4b, % 28 1/2a, % 15 1/2b ve % 9 diğer olarak bildirilmiştir (CDC 2009). ABD’inde hastalığın tedavi giderleri kişi başına 142 bin dolar olduğu bildirilmiş ve yıllık toplam 2,3 ile 2,5 milyar dolar arasında bir ekonomik yüke neden olduğu rapor edilmiştir (Raybourne ve ark., 2003; Adzitey ve Huda, 2010).

Avrupa’da ise, 2003 yılında 1.070, 2004 yılında 1.264, 2005 yılında 1.427, 2006 yılında 1.597, 2007 yılında 1.581, 2008 yılında 1.425 ve 2009 yılında 1.657 kişinin listeriozisten etkilendiği bildirilmiştir. Aynı zamanda listeriozisin en çok Fransa ve Almanya’da görüldüğü belirlenmiş ve buna ek olarak hastalığın % 58 oranında 65 yaş ve üstü bireylerde görüldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca erkeklerin kadınlara göre hastalığa daha çok yakalandığı da bildirilmiştir (Denny ve McLauclin, 2008; ECDC, 2011).

*L. monocytogenes* intraselüler bir bakteri olup, insanlarda hafif grip benzeri non-spesifik semptomlar ile başlayıp septisemi, menenjit ve abort gibi semptomlarla seyredebilmektedir. Hastalığın inkübasyon periyodunun 1 ile 70 gün arasında olduğu ve hastalık süresinin ise günlerce hatta yıllarca devam edebileceğini rapor edilmiştir (Raybourne ve ark, 2003).

Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda çiğ sütte *L. monocytogenes* insidensinin % 0 - 45,3, pastörize sütte % 0 - 21,4, aromalı sütlerde % 0,8 - 3,3, yumuşak veya yarı yumuşak peynirlerde % 0 - 61, sert peynirlerde % 0 - 9, dondurmalarda % 0,1 - 6,1 arasında olduğu bildirilmiştir (Rohrbach ve ark., 1992; Jay, 1996; Da Silva ve ark., 1998; Olarte ve ark., 1999; De Reu ve ark., 2002; Griffiths, 2003b; Manfreda ve ark., 2005; Mena ve ark., 2004; Oliver ve ark., 2005; Jararao ve ark., 2006; Harakeh ve ark., 2009; Adzitey ve Huda, 2010). Ülkemizde, çiğ sütte *L. monocytogenes* insidensinin genel olarak % 0,4 - 5 arasında olduğu belirlenmiştir (Uraz ve Yücel, 1998; Sağun ve ark., 2001; Soyutemiz ve ark., 2001; Erol ve Şireli, 2002; Uysal ve Anđ, 2003; Issa ve ark., 2010; Taşçı ve ark., 2010). Süt ürünlerinde ise *L. monocytogenes* insidensinin % 0 - 24 arasında görüldüğü yapılan çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir (Gülmez ve Güven, 2001; Aygün ve Pehlivanlar, 2006; Çolak ve ark., 2007a; Arslan ve Özdemir, 2008; Kahraman ve ark., 2010a; Çağrı-Mehmetoğlu ve ark., 2011; Güner ve Telli, 2011).

*L. monocytogenes*, düşük sıcaklık, düşük pH ve yüksek tuz konsantrasyonu gibi zorlu çevre şartlarına karşı dirençli bir bakteri olduğundan dolayı süt, süt ürünleri, et, et ürünleri, bazı sebzeler, deniz ürünleri ve balıklar gibi bir çok gıdada tespit edilmiştir (Rocourt ve Cossart, 1997). Ayrıca etkenin gıdaların depolanma ve saklanma koşullarında 4°C’de 434 güne kadar hayatta kaldığı belirlenmiştir (Griffiths, 2003a). Çeşitli ülkelerde çiğ süt, dondurma, tereyağı, yumuşak peynir, hindi eti, domuz dili, sandviç, sosisli sandviç, balık ve deniz ürünleri, çeşitli sebzeler ve yemeye hazır gıdalarda etkenin gıda kaynaklı listeriozis salgınlarına neden olduğu bildirilmiştir (Rocourt ve Bille, 1997).

Günümüzde Türkiye ve ABD’de *L. monocytogenes* ile mücadelede sıfır tolerans politikası izlenmektedir. Buna göre tüketime hazır gıdaların 25 gramında etken bulunmamalıdır. Buna ek olarak kıyma, çiğ kırmızı ve kanatlı eti ve hazırlanmış et karışımlarında *L. monocytogenes* için olan limitler tebliğden çıkartılmıştır. Benzer şekilde bu limit Avrupa ve Kanada’da işlenmemiş gıdalar için 100 kob/g, yemeye hazır gıdalar için de aynı ABD ve ülkemizde olduğu gibi sıfır tolerans olarak belirlenmiştir (Farber ve ark., 1996; Shank ve ark., 1996; EFSA, 2010).

Öne çıkan gıda patojenlerinden birisi olarak gösterilen *L. monocytogenes*’in Samsun İl Merkezi’nde kurulan semt pazarları, çevre köylerdeki yetiştiriciler ve çeşitli satış noktalarından elde edilen süt ve süt ürünlerinde tespit, tiplendirme ve antibiyotik dirençliliğini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışma dört farklı aşamada gerçekleştirilmiştir. Öncelikle ilk aşamada, alınan örneklerde İmmuno Manyetik Seperasyon (İMS) bazlı kültür tekniği ile *L. monocytogenes* insidensinin belirlenmesi, takip eden ikinci aşamada elde edilen izolatlarda PCR ile etkenin patojenitesinde önemli role sahip *hlyA* ve *iap* genlerinin tespit edilmesi ve üçüncü aşamada izolatların serotip dağılımının ortaya konulması hedeflenmiştir. Son aşamada ise elde edilen izolatların önemli halk sağlığı sorunlarından birisi olan ve kontrolsüz antibiyotik kullanımına bağlı olarak gelişen antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Tarihçe

*Listeria monocytogenes*, ilk kez 1926 yılında Murray ve ark (1926) tarafından İngiltere Cambrigde'de laboratuvar rodentlerinden izole edilmiş ve mononükleer lokositoza neden olmasından dolayı etkene *Bacterium monocytogenes* adı verilmiştir. Bakteri daha sonra Pirie (1927) tarafından, Güney Afrika'da vahşi gerbillerden izole edilmiş ve antisepsisin öncüsü ünlü İngiliz cerrah Lord Lister'in anısına etkenin adının *Listerella hepatolytica* olması önerilmiştir. Daha sonra 1940 yılında yapılan taksonomik çalışmalar ile etkenin ismi *Listeria monocytogenes* olarak değiştirilmiştir (Pirie, 1940).

*L. monocytogenes*, Bergey's Manuel'e göre ilk önce *Corynebacteriaceae* familyası içerisinde sınıflandırılmış daha sonra *Lactobacillus*, *Brochotrix* ve spor oluşturmeyen, gram pozitif çubukçuklar ile birlikte kategorize edilmiştir (Seeliger ve Jones, 1986). Günümüzde ise *Listeriaceae* familyası içinde yer almaktadır.

*L. monocytogenes*, ilk kez 1929 yılında Danimarka'da hasta insanların kanlarından izole edilmiş ve mononükleozis benzeri semptomlara neden olduğu bildirilmiştir (Nyfeldt, 1929). 1936 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) listeriozis vakaları bildirilmiş ve etkenin sepsis ve menenjitte sebep olduğu rapor edilmiştir (Gray ve Killinger, 1966).

Dünya'da tespit edilen ilk listeriozis vakaları 1966 yılında Almanya'da, 1975 ve 1976 yıllarında Fransa'da bildirilmiş olsa da 1980 yılında listeriozisin gıda kaynaklı bir hastalık olduğunun anlaşılmasından sonra listeriozis daha da önem kazanmıştır (Schlech ve ark., 1983). 1980 yılının ortalarında Avrupa ve Kuzey Amerika'da artan listeriozis vakalarına lahana salatası, süt, yumuşak peynirler ve köfte gibi gıdaların sebep olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak hastalığın sağlık ve gıda sektöründe ciddi ekonomik kayıplara yol açtığı da fark edilmiştir (Fleming ve ark., 1985; Bille ve Glauser, 1988; Linnan ve ark., 1988; McLauchlin ve ark., 1991).

## 2.2 *Listeria monocytogenes*'in Klasifikasyonu

Günümüzde Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology Second Edition (Vol III)'e göre, *L. monocytogenes* *Listeriaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Bu familya gram pozitif, spor oluşturmeyen, kapsülsüz çubukcuklardan oluşmakta ve 8 türü barındırmaktadır (De Vos ve ark., 2009). *L. monocytogenes* hem insanlar hem de hayvanlar için ve *L. ivanovii* ise sadece hayvanlar için patojen olan türler olarak bildirilmiştir. Bunların yanı sıra *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* ve *L. grayi* ise patojen olmayan türler olarak bildirilmiştir (Errebo-Larsen ve Seeliger, 1966; Seeliger, 1981; Rocourt ve Grimont, 1983; Seeliger ve ark., 1984; Seeliger ve Jones, 1986; De Vos ve ark., 2009). Yapılan genetik analizlerin sonucunda *L. grayi* ve *L. murrayi*'nin fenotipik ve genotipik olarak aynı özelliklere sahip olduğu anlaşılmış ve etkenler *L. grayi* adı altında toplanmıştır (Rocourt ve ark., 1992). Yapılan son DNA-RNA hibridizasyon çalışmalarıyla *L. rocourtiae* ve *L. marthii* adında iki adet, avirüent *Listeria* türü daha tespit edilmiş ve yeni türler olarak familyaya katılmıştır (Graves ve ark., 2010; Leclercq ve ark., 2010).

Yapılan serolojik araştırmalar sonucunda *L. monocytogenes*'in somatik (O) ve flagellar (H) antijenik yapılarına göre 13 serotipinin olduğu bildirilmiştir. Bu serotipler 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4ab, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 olarak belirlenmiştir (Seeliger ve Höhne, 1979). *L. monocytogenes* 4b, 1/2a, 1/2b ve 1/2c serotiplerinin Dünya'da meydana gelen gıda kaynaklı listeriozis olgularının % 99'una neden olduğu belirlenmiştir. Bu dört serotip içinde 4b ve 1/2b serotiplerinin ise en çok karşılaşılan serotip olduğu tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2006; Roberts ve ark., 2006). *L. monocytogenes*'in serotip ve antijenik dağılımları Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** *L. monocytogenes*'in serotip ve antijen dağılımı (Seeliger ve Hhne, 1979)

Serotip	O - antijeni	H - antijeni
1/2a	I, II	A, B
1/2b	I, II	A, B, C
1/2c	I, II	B, D
3a	II, IV	A, B
3b	II, IV	A, B, C
3c	II, IV	B, D
4a	III, V, VII, IX	A, B, C
4ab	III, V, VI, VII, IX	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* Soyuna Ait Bakterilerin Fiziksel ve Biyokimyasal zellikleri

*Listeriaceae* soyunda bulunan bütün türler gram pozitif, 0,4 - 0,5 µm genişliğinde, 1 - 2 µm uzunluğunda kısa çubukçuklar olarak tanımlanmışlardır. Bütün *Listeria* türlerinin peritrik flagellaları sayesinde hareketli olduğu belirlenmiş ve *in vitro* koşullarda 30°C'nin altında inkübe edildiklerinde hareketli fakat 35 - 37°C'de inkübe edildiklerinde ise hareketsiz oldukları tespit edilmiştir. Aerob veya fakültatif anaerob metabolizmaya sahip olan *Listeria*'ların pH 4,3 - 9 arasında, < 0 - 45°C sıcaklıklarda ve yüksek tuz konsantrasyonlarında (% 10) canlılıklarını sürdürebildikleri rapor edilmiştir. Katalaz pozitif ve oksidaz negatif olan *Listeria* türlerinin şekerleri gaz oluşturmadan fermente edebilme özelliğinde oldukları belirlenmiştir. Buna ek olarak Metil-red ve Voges-Proskauer testlerinin de pozitif olduğu, indoln ise negatif olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda *Listeria*'ların eskülini ve hippuratu hidrolize ettiği fakat üreyi hidrolize edemedikleri de bildirilmiştir (Seeliger ve Jones, 1986; Farber ve Peterkin, 1991). *Listeria* türlerinin üreme koşulları Tablo 3'de belirtilmiştir.



**Tablo 3.** *Listeria*'ların üreme koşulları (Erol, 2007)

	Min. – Maks.	Optimal
Sıcaklık (°C)	0 - 45	35 - 37
pH	4,3 - 9,6	7,0
a <sub>w</sub>	0,92 -	0,97

Bütün *Listeria* türlerinin 24 - 48 saatlik besi yerlerinde 0,5 - 1,5 mm çapında, yuvarlak, ortası konveks, yarı saydam, pigmentsiz ve eskülin reaksiyonundan dolayı siyah haleli koloniler oluşturduğu bildirilmiştir (Wagner ve McLauchlin, 2008).

*Listeria* türlerinin ayrımı için çeşitli fenotipik testler önerilmektedir. Bu testler arasında karbonhidrat fermentasyon testleri ve CAMP (Christie Atkins Munch Petersen) fenomeni tür spesifik testler olarak öne çıkmaktadır (Christie ve ark., 1944). *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri ve ayrımı Tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Wagner ve McLauchlin, 2008; Graves ve ark., 2010; Leclercq ve ark., 2011)

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. rocourtiae</i>
Gram Boyama	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -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 *Listeria monocytogenes*'in Antibiyotik Dirençliliği

Antibiyotik dirençliliği, halk sağlığı açısından giderek büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmakta ve oluşan direncin tedavi başarısızlıklarını da beraberinde getirdiği bilinmektedir. *Listeria* türlerinin birçok antimikrobiyel ajana karşı doğal olarak

duyarlı veya dirençli olduğu belirlenmiştir (Hof, 1991). Troxler ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada *Listeria*'ların tetrasiklin, aminoglikozid, penisilin, sefotaksim, sefoperazon, makrolid, linkozamid, kloramfenikol ve rifampisin grubu antimikrobiyel ajanlara karşı doğal olarak duyarlı, sefalosporin, pipemidik asit, sulfometakzol ve aztreonam grubu antimikrobiyel ajanlara karşı doğal olarak dirençli olduğunu rapor etmişlerdir.

*Listeria* türlerinde şekillenen antibiyotik dirençliliklerine başka bakteriler tarafından transfer edilen plazmidlerinde etkili olduğu anlaşılmıştır. *Enterococcus*, *E.coli*, *Streptococcus* ve *Staphylococcus* türü bakterilerin sahip olduğu dirençlilik genlerinin *Listeria* türlerine aktarıldığı çeşitli invitro çalışmalar ile bildirilmiştir (Biavasco ve ark., 1996; Charpentier ve Courvalin, 1999).

Antimikrobiyel ajanların bilinçsizce kullanımı sonucu artan direncin halk sağlığını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. ABD'de yapılan çalışmada, bir süt çiftliğinden izole edilen 38 *L. monocytogenes* izolatının sefalosporin, streptomisin, trimethoprim, ampisilin, rifampisin, florfenicol, tetrasiklin, penisilin G ve kloramfenikol grubu antimikrobiyel ajanlara karşı çeşitli oranlarda dirençli oldukları bildirilmiştir. Buna ek olarak aynı çalışmada *L. monocytogenes* izolatlarında birçok yeni antimikrobiyel dirençlilik ile ilgili gen bölgesine rastlanıldığı bildirilmiştir (Perreten ve ark., 1997; Srinivasa ve ark., 2005).

Harakeh ve ark. (2009) tarafından Lübnan'da 164 süt ürünüde (yerel peynir çeşitleri) yapılan çalışmada örneklerin % 70,6'sının *Listeria* spp. ile bulaşık olduğu belirlenmiş ve bunun % 47,72'sinin *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir. Yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının % 93,33'ünün oksasiline ve % 90'nının da penisilin G'ye direnç kazandığı belirlenmiştir.

Rahimi ve ark. (2010) tarafından İran'da süt ve süt ürünlerinde *Listeria* spp. prevalansının araştırılması amacıyla yapılan çalışmada 594 tane süt ve süt ürününün 55'inde (% 9,2) *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların % 32,7'sinin *L. monocytogenes* olduğu bildirilmiştir. İzolatların 54'ünün nalidiksik asit, siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin, vankomisin, ampisilin, penisilin ve kloramfenikol gibi çeşitli antibiyotiklere dirençli olduğu bildirilmiştir.

Günümüzde listeriozis tedavisinde ampisilin, penisilin, gentamisin veya bunların kombinasyonlarının kullanılması önerilmektedir. Ayrıca alternatif olarak eritromisin, trimetoprim ve sulfometakzol, vankomisin ve gentamisin kombinasyonlarının da tedavi amacıyla uygulanabileceği bildirilmiştir (Poros-Golchowska ve Markiewicz, 2003).

## **2.5 *Listeria monocytogenes*'in Çevresel Strese Karşı Savunma Mekanizmaları**

*Listeria*'ların düşük sıcaklık, yüksek tuz konsantrasyonu, geniş pH aralığı gibi zorlu çevre koşullarına karşı oldukça dirençli bakterilerdir (Gandhi ve Chikindas, 2007). Diğer patojenler için letal etkiye sahip gıda işleme koşullarında da *L. monocytogenes*'in hayatta kaldığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, deneysel olarak *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiş süttten yapılan beyaz peynirlerde etkenin 10°C'de, 151 gün canlılığını sürdürdüğü belirlenmiştir (De Roin ve ark., 2003).

*L. monocytogenes*'in yüksek veya düşük sıcaklık, düşük pH gibi zorlu çevre şartlarından korunmak ve bu şartlara adapte olabilmek için aşağıda açıklanan birçok stres proteini sentezlediği belirlenmiştir (Kuhn ve Goebel, 2007).

### **2.5.1 Sıcak Şokuna Yanıtı**

Isıl işlem, gıdaları mikroorganizmalardan arındırmak için kullanılan metodların başında gelmektedir. Uygulamanın kolaylığı, ekonomikliği ve etkinliği sayesinde en çok tercih edilen metotlardan birisidir. Bakteriler, yüksek sıcaklık karşısında hayatta kalabilmek için hücre duvarı, ribozom ve genetik materyal gibi önemli makromoleküllerini korumak zorundadır (Miller ve Ordal, 1972; Earnshaw ve ark., 1995).

*Listeria monocytogenes*'in yüksek sıcaklıklarda hayatta kalabilmesi ve gerekli savunma mekanizmalarını oluşturabilmesi için sıcak şok proteinlerini (HSPs) sentezlediği bildirilmiştir (Yura ve Nakahigashi, 1999). HSPs'nin normal şartlarda düşük seviyelerde sentezlendiği fakat çevresel ısı stresinin arttığı durumlarda pik yaptığı tespit edilmiştir (Abee ve Wouters, 1999). Ayrıca bazı araştırmacılar tarafından sıcak

şok proteinlerinin bakterinin direncini arttırmasından ötürü, dolaylı yoldan virulens faktörleri arasında yer aldığı düşünülmektedir (Hanawa ve ark., 2002). Bugüne kadar *L. monocytogenes*'e ait *groESL*, *dnaK*, *clpB*, *clpC*, *clpE*, *clpP* ve *htrA* gibi pek çok sıcak şok proteininin olduğu yapılan araştırmalarla bildirilmiştir (Hanawa ve ark., 2000; Chatterjee ve ark., 2006; Joseph ve ark., 2006; Wilson ve ark., 2006).

### 2.5.2 Asit Stresine Yanıtı

Zayıf organik asitler, gıda sektöründe üretim, olgunlaştırma ve muhafaza sırasında sıklıkla kullanılan kimyasallar arasında yer almaktadır. Zayıf organik asitlerin, bakteri hücre duvarından difüzyonla kolayca geçerek sitoplazma pH'sını düşürdüğü ve bakterinin metabolik faaliyetleri üzerinde olumsuz etki oluşturduğu bildirilmiştir (Sorrels ve Enigl, 1990; Bearson ve ark., 1997).

*L. monocytogenes*'in bir çok bakteri gibi optimum olarak nötr pH'da (pH 6-7) ürediği rapor edilmiştir (Hill ve ark., 1995). Bununla beraber *L. monocytogenes*'in asit ortamlara adapte olabilmek ve sitoplazmik pH'sını korumak için çeşitli mekanizmalara sahip olduğu da tespit edilmiştir. Asit şok proteinlerinin (ASPs) düşük veya yüksek pH'larda sentezlenerek *L. monocytogenes*'in ortama adapte olmasını sağladığı belirlenmiştir. Özellikle konak savunma hücreleri olan makrofajların etkini fagosite ettikten sonra oluşturdukları vakoullerin pH'sını düşürerek yabancı hücreleri etkisiz hale getirdikleri bildirilmiştir. Bu gibi durumlarda sentezlenen ve *L. monocytogenes*'in direncini arttıran, virulens özelliği kazandıran *gadD1T1*, *gadD2T2*, *gadD3*, *arcB*, *arcD*, *arcC*, *Imo0038*, *Imo0040*, *Imo0041*, *Imo0042*, *arcA*, *argG*, *argR*, *atpI*, *atpB*, *atpE*, *atpF*, *atpH*, *atpA*, *atpG*, *atpD* ve *atpC* adlı asit şok proteinleri tanımlanmıştır (Cotter ve ark., 2001a; Cotter ve ark., 2001b).

### 2.5.3 Ozmotik Strese Yanıtı

Ozmotik stres, ortamda tuz veya şeker gibi aktif çözünen maddelerin bulunması ile artan ve buna paralel olarak su aktivitesinin düşmesi ile şekillenen bir durum olarak tanımlanmaktadır (Abee ve Wounters, 1999). Bu gibi durumlarda hücre içi ozmotik basıncın korunmasının etkenin hayatta kalması için oldukça önemli olduğu

bildirilmiştir. Genellikle hücre içi ozmotik basıncın, hücre dışına göre daha fazla olduğu bilinmektedir. Oluşan bu turgor basıncının bakterilerin bölünmesi ve genişlemesi için yardım edici etkisi olduğu tespit edilmiştir (Conska, 1989; Conska ve Hanson, 1991).

*L. monocytogenes*'in, gıdaların üretim, işleme ve muhafaza koşullarında oluşan ozmotik strese karşı çeşitli savunma mekanizmalarına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu mekanizmalar sayesinde etken yüksek tuz veya şeker konsantrasyonu içeren ortamlara kolayca adapte olduğu rapor edilmiştir (Sleator ve Hill, 2001). Ozmotik stresin arttığı durumlarda *L. monocytogenes*'in ortama adapte olmasını sağlayan *betL*, *gbu*, *opuC*, *relA*, *ctc*, *htrA*, *kdpE*, *lisRK*, *proB* ve *btlA* adlı ozmotik şok proteinleri tanımlanmıştır (Sleator ve ark., 2000; Sleator ve ark., 2001; Sleator ve ark., 2003; Wemekamp ve ark., 2002).

## **2.6 *Listeria monocytogenes*'in Virulens Faktörleri**

*L. monocytogenes*, invazyon özelliğine sahip intrasellüler bir patojen olarak tanımlanmaktadır. Etkenin, konak hücrelerinden makrofajlara, epitel hücrelerine, nötrofillere, hepatositlere, fibroblastlara, endotel ve glial hücrelerine invaze olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Etkenin virülens genlerinin transkripsiyonunun *prfA* (Positive Regulatory Factor A) geni tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Kuhn ve Goebel 1989; Kuhn ve ark., 2008).

### **2.6.1 Yüzey Proteinleri ve İnternalinler**

*L. monocytogenes*'in konak hücrelerine tutunmak için internalin olarak adlandırılan bir çok yüzey proteinine sahip olduğu bildirilmiştir. İlk tanımlanan internalin, 800 aminoasitten oluşan InlA olmuştur. Yapılan araştırmalarda internalin A (InlA) ile etken konak hücrenin hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakasına tutunmasında rol oynadığı belirlenmiş ve bu faktörün *inlA* geni tarafından kodlandığı tespit edilmiştir (Gaillard ve ark., 1991). İnternalin A'nın yanısıra internalin B, internalin C, internalin G, internalin E ve internalin H olmak üzere konak hücrelerine penetrasyonda etkili başka proteinler de tespit edilmiştir (Braun ve ark., 1997; Ooi ve ark., 2006). Konak hücrelerine penetrasyonda dominant etkinin internalin A tarafından

oluşturulduğu bildirilmiş fakat internalin B'nin de epitel, endotel, hepatosit ve fibroblast hücrelerine penetrasyonda oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (Gregory ve ark., 1997; Parida ve ark., 1998) (Şekil 1).

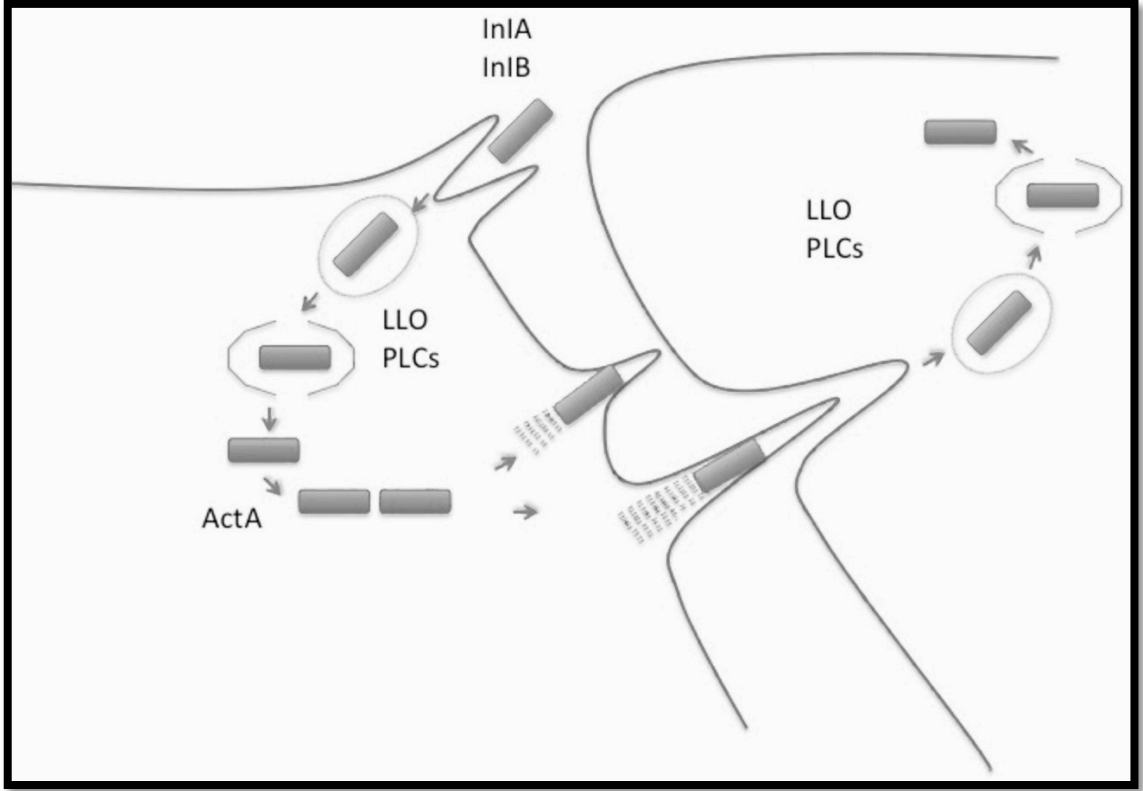
### 2.6.2 Protein p60

*L. monocytogenes*'in hücre duvarından köken alan ve lize edici özelliği olan pek çok proteine sahip olduğu belirlenmiştir. Bunların birçoğunun özelliği henüz tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte konak hücreye invazyonda rol oynadıkları belirlenmiştir (Stack ve ark., 2008).

Protein p60'ın etkenin hücre duvarından köken aldığı, invazyon ilişkili proteinlerden olduğu belirlenmiş ve elde edilen bütün *L. monocytogenes* izolatlarının protein p60 sentezlendiği tespit edilmiştir (Kuhn ve Goebel, 1989). Ayrıca bu proteinin *iap* (invasion associated protein - invazyon ilişkili protein) geni tarafından kodlandığı bildirilmiştir (Wood ve ark., 1993).

### 2.6.3 ActA

Intrasellüler bir mikroorganizma olan *L. monocytogenes*'in konak hücreleri içerisine girip çoğaldıktan sonra “aktin temelli hücre içi hareket kabiliyeti” sayesinde bir hücreden diğerine sıçrama yaparak direk geçtiği belirlenmiştir. Bu sıçrama hareketinin temeli olan aktin proteinlerinin polimerizasyonunun *actA* geni tarafından uyarıldığı rapor edilmiştir (Domann ve ark., 1992; Milohanic ve ark., 2001). *L. monocytogenes*'in hücre içi biyolojisi, virülens özellikleri ve aktin temelli hareketi Şekil 1'de gösterilmiştir. Buna göre *L. monocytogenes* birinci aşamada *InlA* ve *InlB* yardımı ile konak hücreye bir vakoul ile girer, bunu takiben *LLO* ve *PLCs* ile kendini saran vakoulü eritir ve hücre içerisinde çoğalmaya başlar. Çoğalma işlemi tamamlandıktan sonra *ActA* yardımı ile bir hücreden diğerine sıçrama benzeri hareket ile geçerek yeni hücrede biyolojisine devam eder.



**Şekil 1.** *L. monocytogenes*'in hücre içi biyolojisi, virülens özellikleri ve aktin temelli hareketi (Kuhn ve Goebel, 2007)

#### 2.6.4 Listeriolizin O (LLO)

*L. monocytogenes*'in ana virülens özelliklerinden olan listeriolizin O'nun (LLO) aynı zamanda etkenin hemolitik aktivitesi üzerine de etkili olduğu belirlenmiş ve *hlyA* geni tarafından kodlandığı bildirilmiştir (Gaillard ve ark., 1986; Cossart ve ark., 1989; Mengaud ve ark., 1989).

Konak savunma hücreleri olan makrofajlarca fagosite edilen *L. monocytogenes*'in kendisini çevreleyen bu vakuol membranından LLO yardımı ile ortam pH'sını düşürerek porlar oluşturduğu ve bu sayede konak hücre sitoplazmasına geçip yaşam döngüsüne devam ettiği bildirilmektedir (Gaillard ve ark., 1986; Cossart ve ark., 1989; Conlan ve ark., 1992) (Şekil 1).

### 2.6.5 Fosfolipaz ve Metalloproteaz

Fosfolipaz ve metalloproteaz enzimleri *L. monocytogenes*'in fagozomal membranların yapıtaşlarını parçalamak için sahip olduğu diğer proteinler olarak tanımlanmış ve çoğu zaman LLO ile birlikte sinerjizm yarattıkları tespit edilmiştir (Marquis ve ark., 1995; Smith ve ark., 1995). Bu enzimlerden fosfolipazın *plcA* ve *plcB* genleri tarafından, metalloproteazın ise *mpl* geni tarafından kodlandığı bildirilmiştir. *plcA*'nın vakulden kaçış, *plcB*'nin de hücreden hücreye geçişte rol oynadığı bildirilmiştir. Buna ek olarak metalloproteaz enziminin hücre içi proliferasyonda da rol oynadığı belirlenmiştir. Ayrıca enzimin, proteolitik aktivitesinden dolayı etkenin virulens özellikleri arasında yer aldığı rapor edilmiştir (Vazquez-Boland ve ark., 1992; Goldfine ve ark., 1993; Poyart ve ark., 1993).

### 2.7 *Listeria monocytogenes*'in Epidemiyolojisi

Listeriozis hastalığından sorumlu olan *L. monocytogenes*, hem insanlar hem de hayvanlar için patojen olan, doğada yaygın olarak bulunan (ubiquiter) fakültatif intraselüler bir patojendir (Seeliger ve Langer, 1989; Fenlon, 2007). Etkenin başta ruminantlar olmak üzere 37 memeli ve 17 kanatlı türünden izole edildiği bildirilmiştir. Etkenin çiftlik hayvanlarına başlıca bulaşma yolunun ise silaj olduğu belirlenmiştir. Büyük balyalar halinde hazırlanan kötü kaliteli silajda, yeterli pH düşüşü olmaması nedeniyle etkenin canlı kaldığı rapor edilmiştir. Buna ek olarak vahşi kuşlarında üzerleri örtülmemiş silajları kontamine edebildiği tespit edilmiş ve etkenin martı dışkısından da izole edildiği bildirilmiştir (Griffits, 2003b).

Etkenin doğada yaygın olarak bulunmasına rağmen neden olduğu gıda kaynaklı listeriozis vakaları 1980'li yıllara kadar fark edilmemiştir (Altekruse ve ark., 1997). Fakat günümüzde *L. monocytogenes* en önemli gıda patojenleri arasında yer almaktadır.

*L. monocytogenes*, her yaştaki insanlar için patojen olmakla beraber, asıl risk grubunu gebeler, çocuklar, yaşlılar ve immun sistemi baskılanmış bireyler oluşturmaktadır. Hastalığın semptomları arasında gastroenterit, üşüme, yorgunluk,



başağrısı, eklem ve kas ağrısı bulunmaktadır. Bunlara ilaveten septisemi, menenjit, ensefalit, abort ve ölüm de listeriozis vakalarında görülebilmektedir (Mead ve ark., 1999). Araştırmacılar *L. monocytogenes*'in bilinen bütün gıda patojenleri arasında % 30 ile en yüksek mortalite oranına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

ABD'nde her yıl ortalama 1600 kişinin *L. monocytogenes*'ten etkilendiği ve ortalama 250 kişinin de hayatını kaybettiği bildirilmiştir (CDC, 2008b).

### **2.7.1 Sularda *Listeria monocytogenes***

*L. monocytogenes*'in kirlenmemiş deniz suyundan, yüzey ve kaynak sularından çok nadir izole edildiği rapor edilmiştir. Fakat körfez, nehir ve kanalizasyon suları ile endüstriyel ve tarımsal atık sularının *Listeria* türleri ile yüksek oranda kontamine oldukları belirlenmiştir (Liu ve ark., 2006).

Luppi ve ark. (1988) Kuzey İtalya'daki 50 nehir suyu örneğinin % 22'sinin *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu ve elde ettikleri izolatların % 6,6'sının *L. monocytogenes* olduğunu rapor etmişlerdir.

Colburn ve ark. (1990) ise Kaliforniya'da bulunan Humboldt-Arcata Körfezinden aldıkları su örneklerinin % 62'sinde *L. monocytogenes*'in izole edildiğini bildirmişlerdir.

Hansen ve ark. (2006) ise Danimarka'da temiz su kaynaklarından aldıkları 400 örnekte *L. monocytogenes*'e rastlamadıklarını rapor etmişlerdir. Ancak *L. monocytogenes*'in sulardaki insidensinin insan, hayvan hareketlerine ve çevre kirliliğine paralel olarak arttığını bildirmişlerdir.

### **2.7.2 Bitkilerde *Listeria monocytogenes***

Bitkilerde *L. monocytogenes* varlığı ilk kez 1968 yılında Welshimer tarafından ortaya konulmuştur. ABD'nin Virginia eyaletinden alınan çeşitli bitki örneklerden 8'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir (Welshimer, 1968).

Weis ve Seeliger (1995) Almanya'da mısır, buğday tarlaları, çayır ve meralardan aldıkları bitki örneklerinin % 20'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda *L. monocytogenes*'in bitki ve toprakta serbest olarak yaşamını sürdürdüğü anlaşılmış ve doğada her yerde bulunan bir mikroorganizma olduğunu bildirmişlerdir.

### 2.7.3 Gıda İşleme Tesislerinde *Listeria monocytogenes*

*L. monocytogenes*'in gıda işleme tesislerinde yüzeylere ve ekipmanlara tutunduğu, biyofilm oluşturarak temizlik - dezenfeksiyon işlemlerini güçleştirdiği tespit edilmiştir (Blackman ve Frank, 1996). *L. monocytogenes* serotiplerinden 1/2a, 1/2b ve 1/2c'nin özellikle et üretim tesislerinden izole edildiği ve bu şartlara adapte olduğu belirlenmiştir (Thevenot ve ark., 2005). Buna ek olarak *L. monocytogenes* serotip 1/2c'nin paslanmaz çelik yüzeylere tutunmada diğer serotiplere göre daha yetenekli olduğu bildirilmiştir (Norwood ve Gilmour, 2000).

Chambel ve ark. (2007) Portekiz'de bir peynir üretim tesisin çeşitli noktalarından aldıkları 400 örneğin 213 tanesinde *Listeria* türü bakterileri izole etmişler ve bunlardan 85 tanesini de *L. monocytogenes* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Akkaya ve ark. (2008a) tarafından Afyonkarahisar ili mezbahalarında *L. monocytogenes* varlığının araştırılması amacıyla yapılan bir başka çalışmada 5 farklı mezbahanın 19'ar farklı noktasından örnekler swab yöntemi ile alınmıştır. Çalışma sonucunda çevreden alınan örneklerde *L. monocytogenes* % 4,37, ekipmanlarda % 15, çalışan personellerde % 11,42 ve sularda ise % 0 oranında olduğu tespit edilmiştir.

Kahraman ve ark. (2010a) İstanbul ilinde 8 adet et işleme tesisinde yapmış oldukları bir çalışmada, kullanılan ekipmanların yüzeylerinden ve çalışan personelin ellerinden toplam 580 örnek almışlardır. Bu örneklerin 130 tanesi işletmede kullanılan kesici aletlerden, 100 tanesi kesme tahtalarından, 50 tanesi buzdolaplarından, 100 tanesi personelin giydiği iş elbiselerinden ve 150 tanesi de personel elinden alınmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre kesici aletlerin % 9,2'sinin, kesme tahtalarının %

7'sinin, buzdolaplarının % 4'ünün, personel iş elbiselerinin % 6'sının *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu fakat personel ellerinden etkenin izole edilemediğini bildirmişlerdir.

#### **2.7.4 Su Ürünlerinde *Listeria monocytogenes***

Temiz sulardan elde edilen su ürünlerinde *L. monocytogenes*'in nadir olarak izole edildiği bildirilmesine rağmen insan yerleşimine yakın sulardan ve su ürünleri yetiştirme çiftliklerinden elde edilen ürünlerde *L. monocytogenes*'in daha yüksek oranda tespit edildiği rapor edilmiştir (Hansen ve ark., 2006).

Miettinen ve Wirtanen (2005) Finladiya'da bulunan gökkuşağı alabalık çiftliklerinden aldıkları 510 alabalığı numunesinin % 35 oranında *Listeria* türü bakterilerle kontamine olduğunu belirlemiş ve *L. monocytogenes*'i % 14,4 oranında tanımlamışlardır.

Chou ve ark. (2006) ABD'nin Misisipi eyaletinde satışa sunulan yayın balığı filetolarından *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerini izole ettiklerini rapor etmişlerdir.

Ülkemizde ise Avcıbaşı (2005) Ankara ilinde satışa sunulan dumanlanmış vakum paketli balık örneklerinin % 2,6 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmiştir.

Ayrıca Vural ve Erkan (2006) Dicle Nehri'nden avlanan balık örneklerinin % 3,92'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu belirlemişlerdir.

Dünya'da su ürünleri kaynaklı bazı listeriozis vakaları da rapor edilmiştir. Ericsson ve ark. (1997) tarafından İsveç'te, Miettinen ve ark. (1999) tarafından Finlandiya'da ve Brett ve ark. (1998) Auckland/Yeni Zelanda'da çeşitli su ürünlerinden kaynaklanan listeriozis vakaları bildirilmiştir.

Rocourt ve ark. (2000) kirli sulardan yakalan ve çiğ olarak tüketilen yumuşakçalar ve balıkların yanı sıra soğuk dumanlanmış su ürünlerinin listeriozis açısından yüksek risk grubu gıdalardan oldukları belirlenmiştir. Ayrıca araştırmacılar

tuzlanmış, kürlenmiş ve fermente olmuş balık ve havyar, ısıl işlem görerek hazırlanmış her türlü su ürününün ise listeriozis açısından düşük risk grubunda yer aldığı bildirmişlerdir.

### **2.7.5 Kırmızı Et ve Ürünlerinde *Listeria monocytogenes***

Kasaplık hayvanların *L. monocytogenes*'i kendi floralarında taşıyabildiği ve kesim işlemi sırasında hijyenik koşulların sağlanamadığı durumlarda *L. monocytogenes*'in karkasa bulaşabildiği bildirilmiştir (Farber ve Peterkin, 1991).

Ülkemizde ve dünyada *L. monocytogenes*'in kırmızı et ve et ürünlerinde bulunma oranı ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır.

Samadpour ve ark. (2006) ABD'de marketlerde satışa sunulan paketlenmiş kırmızı et örneklerinin % 3,5'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir.

Pesavento ve ark. (2010) İtalya'nın Floransa şehrinde çiğ et örneklerinin % 21,4'ünün *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu ve elde edilen izolatların % 23,6'sını da *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir.

İngiltere'de 1989 ve 1990 yıllarında toplamda 300 kişinin etkilendiği listeriozis vakasında sorumlu gıda olarak köfte bildirilmiştir. Benzer şekilde 1992 yılında Fransa'da şekillenen bir diğer listeriozis vakasında 279 kişi *L. monocytogenes* 4b'den etkilenmiş ve zehirlenmelerin domuz dilinden kaynaklandığı belirlenmiştir. ABD'de 1998 yılında 108 kişinin etkilendiği listeriozis vakasında ise sorumlu gıdanın soslu sandviç olduğu rapor edilmiştir (McLauchlin ve ark., 1991; Jacquet ve ark., 1995; Evans ve ark., 2004).

Ülkemizde ise, Yücel ve ark. (2005) Ankara'da satışa sunulan et ürünlerinde *Listeria* türlerinin prevalansını ve antibiyotik dirençliliklerini ortaya koymak için yaptıkları bir araştırmada, elde ettikleri 146 örneğin % 54,1 oranında *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen izolatların % 6,16'sının ise *L. monocytogenes* olarak tanımlanmış olduğunu rapor etmişlerdir.

Berktaş ve ark. (2006) Van ilinde satışa sunulan 100 kıyma, 50 parça et, 25 sucuk, 25 salam, 25 sosis ve 25 pastırma örneğinde *L. monocytogenes*'in prevalansını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, kıyma örneklerinin % 15,07, parça etlerin % 21,6, sucukların % 31,6, salamların % 0, sosislerin % 27,3 ve pastırmaların % 50'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Çolak ve ark. (2007b) İstanbul ilinde satışa sunulan 300 adet fermente Türk sucuğunun % 21'inin *Listeria* türleri ile bulaşık olduğunu, elde edilen izolatların da % 11,6'sının *L. monocytogenes* olarak tanımlendiğini rapor etmişlerdir.

Akkaya ve ark. (2008b) sığır karkaslarında *L. monocytogenes* prevalansının belirlenmesi amacıyla Afyonkarahisar ili kesimhanelerinde yapmış oldukları bir çalışmada, 250 sığır karkasının % 6,8 oranında *L. monocytogenes* ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

#### **2.7.6 Kanatlı Eti ve Ürünlerinde *Listeria monocytogenes***

Kanatlı eti günümüzde hızlı üretilen, ekonomik bir protein kaynağı olarak nitelendirilmektedir. Ancak kanatlı kesim hattının, yapısı gereği birçok kritik noktaya sahip olduğu da belirtilmektedir. *L. monocytogenes*'in kanatlı florasında bulunduğu ve kesim işlemi sırasında yetersiz hijyenik koşullara bağlı olarak kanatlı etine çapraz kontaminasyonla bulaştığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 2006).

Konu ile ilgili, Luppi ve ark. (1998) İtalya'da kanatlı etlerinde *L. monocytogenes* prevalansının belirlenmesi amacıyla yapmış oldukları çalışmada örneklerin % 11,5 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Capita ve ark. (2001a) İspanya'nın Leon şehrinde satılan tavuk karkaslarında *Listeria* türleri ve *L. monocytogenes* prevalansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, örneklerin % 95'inin *Listeria* türleri ile, % 32'sinin de *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Rivoal ve ark. (2010) Fransa'da yumurta ve pastörize sıvı yumurtalarda *L. monocytogenes* prevalansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, 144 yumurta ve 144 pastörize sıvı yumurtayı materyal olarak kullanmıştır. Çalışmadan elde edilen

verilere göre yumurtaların % 17,36'sının ve pastörize yumurtaların da % 2,77'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde ise Şireli ve ark. (2002) Ankara ilinde satışa sunulan tavuk kıyma, köfte ve burgerlerinde *Listeria* türlerinin varlığını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, tavuk kıymalarının % 35, tavuk köftelerinin % 20, ve tavuk burgerlerin % 26,6 oranında *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu belirlemişlerdir.

Bilir-Ormancı ve ark. (2008) Ankara ilinde satışa sunulan hindi etlerinde *L. monocytogenes* prevalansının belirlenmesi için yapmış oldukları bir çalışmada, 180 hindi eti örneğinin % 12,7 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir.

Ayaz ve ark. (2009) Ankara ilinden temin edilen tavuk karkaslarında *L. monocytogenes*'in İMS ve PCR ile belirlenmesi başlıklı çalışmalarında, 240 tavuk karkasının % 20,2 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

Ayaz ve Erol (2009) hindi etlerinde İMS bazlı kültür tekniği ile *L. monocytogenes* prevalansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, 180 hindi eti örneğinin % 17,7 oranında *L. monocytogenes* ile bulaşık olduğu bildirilmişlerdir.

### **2.7.7 Süt ve Süt Ürünlerinde *Listeria monocytogenes***

*L. monocytogenes*'in süt ve süt ürünlerindeki prevalansının geniş bir aralıkta olduğu bildirilmiştir (Waak ve ark., 2002). Dünya'da çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda sütte *Listeria monocytogenes*'in insidensinin % 2,6 ile % 28 arasında olduğu bildirilmiştir (Rohrbach ve ark., 1992; Lira ve ark., 2004; Navratilova ve ark., 2004; Oliver ve ark., 2005; Jararao ve ark., 2006). Günümüzde çiğ sütün yetersiz veya hatalı pastörizasyon işleminden sonra üretilen süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi sonucu pek çok listeriozis vakası bildirilmiştir (Waak ve ark., 2002; Moshtaghi ve Mohamadpour, 2007).

*L. monocytogenes*'in sütte  $D_{71,7^{\circ}\text{C}}$  değerinin 2,7 - 4,1 saniye olduğu bildirilmiştir. Ancak *L. monocytogenes*'in intraselüler (hücre içi) bir bakteri olmasından dolayı, pastörizasyonun hatalı yapıldığı durumlarda etkenin meme makrofaj veya somatik

hücreleri içinde saklanarak canlı kalabildiği bildirilmektedir (Swaminathan ve ark., 2007).

İsviçre’de Pak ve ark. (2002) 1990-1999 yılları arasında yaptıkları bir araştırmada 76.271 adet süt örneği incelenmiş ve 3.722 (% 4,9) adet örneğin *L. monocytogenes* pozitif çıktığını bildirilmişlerdir.

Jararao ve ark. (2006) ABD’nin Pennsylvania eyaletinde süt toplama tanklarında *L. monocytogenes*’in prevelansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir araştırmada 248 tank örneğinin % 2,2’sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Hindistan’da Kalorey ve ark. (2008) 2060 çiğ süt örneği kullanarak yaptıkları çalışmada % 5,1 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Vanegas ve ark. (2009) Kolombiya’da satışa sunulan 81 çiğ süt örneğinde *L. monocytogenes* varlığını hem klasik kültür ile hem de Real time-PCR tekniği ile araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda örneklerde klasik kültür ile % 16 oranında, Real time-PCR ile % 26 *L. monocytogenes*’i tespit ettiklerini rapor etmişlerdir.

Da Silva ve ark. (1998) Brezilya’da yapmış oldukları bir çalışmada elde ettikleri 103 peynir örneğinin % 10,68’inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

De Reu ve ark. (2002) Belçika’da yaptıkları çalışmada, 71 taze peynir örneğinin % 1,4 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir

Ülkemizde süt ve süt ürünlerinde *L. monocytogenes*’in belirlenmesi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Tümbay ve ark. (1988) İzmir ilinden temin ettikleri beyaz peynirlerde yaptıkları bir çalışmada, çeşitli satış noktalarından alınan 323 peynir örneğinin % 5,8’inin *Listeria* türü bakteriler ile kontamine olduğunu ve bunun % 3,4’ünün *L. monocytogenes* olduğunu tespit etmişlerdir.

Ünlü (1990) tarafından yapılan çalışmada Sivas ilindeki 100 çiğ süt örneğinin % 4’ünün *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirilmiştir.

Çetinkaya ve ark. (1999) 51 adet Şavak tipi tulum peyniri örneğinin bir tanesinde (% 1,96) *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Sağun ve ark. (2001) Van ilinde satışa sunulan çiğ süt ve otlu peynirlerde yaptıkları bir çalışmada, çiğ süt örneklerinde % 1,2 oranında ve otlu peynir örneklerinde % 3,93 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Aygün ve Pehlivanlar (2006) tarafından Antakya'da çiğ süt ve süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada toplam 157 süt ve süt ürünü materyal olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda çiğ sütlerin % 2,12, beyaz peynirlerin ise % 8,23 oranında *Listeria* türü bakteriler ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Ancak araştırmacılar etkeni çiğ sütte, yoğurttta ve tereyağında tespit edemediklerini bildirmiş, beyaz peynirde ise etkeni % 2,35 oranında belirlediklerini rapor etmişlerdir.

Arslan ve Özdemir (2008) tarafından Bolu ili semt pazarlarından toplanan 142 adet ev yapımı beyaz peynir örneğinin % 33,1 oranında *Listeria* türü bakteriler ile kontamine olduğu belirlenmiş ve bunlardan *L. monocytogenes*'in % 9,2 oranında identifiye edildiği bildirilmiştir.

Gönülalan ve Gönülalan (2010) tarafından Kayseri ilinde satışa sunulan dondurmalarda *L. monocytogenes* varlığının tespit edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada 25 sade ve 25 meyveli olmak üzere toplam 50 adet dondurma örneği numune olarak kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda sade dondurmaların 3 tanesinin (% 12), meyveli dondurmaların da 1 tanesinin (% 4) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir.

Kahraman ve ark. (2010b) İstanbul ilinde satışa sunulan bazı peynir türlerinde *L. monocytogenes*'in prevalansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir başka çalışmada 105 beyaz peynir, 70 krem peynir, 45 dil peyniri ve 60 kaşar peyniri olmak üzere toplamda 280 peynir örneğini numune olarak kullanmışlardır. Araştırmadan elde ettikleri verilere göre, beyaz peynirlerin % 4,8'i, krem peynirlerin % 1,4'ü, kaşar peynirlerinin % 1,7'sinin *L. monocytogenes* ile bulaşık olduğu belirlenmiş ancak dil peynirlerinde herhangi bir bulaşmaya rastlanılmadığı rapor edilmiştir.



Çağrı-Mehmetoğlu ve ark. (2011) tarafından Sakarya ilindeki iki kaşar üretim tesisinde *L. monocytogenes* varlığının incelenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, tesislerin çeşitli noktalarından, işletmeye gelen sütlerden ve üretilen kaşarlardan toplam 268 örneğin alındığı bildirilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre örneklerin % 2,61 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir.

Bu güne kadar süt ve süt ürünlerinin neden olduğu pek çok listeriozis vakası bildirilmiştir. ABD'nin Boston kentinde 1983 yılında 49 bireyin etkilendiği listeriozis olgusunda sorumlu gıdanın pastörize süt olduğu belirlenmiştir (Fleming ve ark., 1985). 1985 yılında Kaliforniya'da satışa sunulan Meksika tipi peynirlerden kaynaklanan listeriozis olgusunda ise 142 bireyin etkilendiği bildirilmiştir (Linnan ve ark., 1988). Benzer şekilde ABD'nin İllinois kentinde 1994 yılında çikolatalı süttten kaynaklanan listeriozis olgusunda ise 45 bireyin etkilendiği rapor edilmiştir (Dalton ve ark., 1997). Finlandiya'da 1998 - 1999 yılları arasında 25 kişinin etkilendiği listeriozis vakasında sorumlu gıdanın tereyağı olduğu bildirilmiştir (Lyytikainen ve ark., 2000). Ayrıca İsviçre'de 2005 yılında 122 kişinin etkilendiği olayda sorumlu gıdanın Mont d'Or peyniri olduğu belirlenmiştir (Bille ve ark., 2006).

### **2.7.8 Tüketime Hazır Gıdalarda *Listeria monocytogenes***

Tüketime hazır gıdalar, yüksek çalışma temposu ve iş hayatında, pişirmeden kaynaklanan zaman kaybının önlenmesi amacıyla pratik bir alternatif olarak günümüzde büyük miktarlarda üretilmektedirler. Genellikle ısı işlem görmüş veya ön pişirme işlemine tabi tutulmuş balık, et, sebzeler ve salatalar ayrıca çeşitli sandviçler, dönerler veya köfteler tüketime hazır gıdaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır.

Tüketime hazır gıdalar genellikle düşük sıcaklıklarda (4°C veya - 20°C) muhafaza edilmelerine rağmen *L. monocytogenes*'in psikrofil özelliğinden dolayı risk grubunda bulunmaktadır.

Van Coillie ve ark. (2004) tarafından Belçika'da satışa sunulan 252 tüketime hazır gıdada *L. monocytogenes* varlığının araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada örneklerin % 23,4 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Angelidis ve Koutsoumanis (2006) Yunanistan'da satışı sunulan 209 tüketime hazır gıdanın % 8,1 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Uyttendaele ve ark. (2009) tarafından Belçika'da yapılan bir araştırmada 1187 mayonezli salata, 90 dumanlanmış balık ve 639 et ürünü materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen verilere göre mayonezli salataların % 6,7'sinin, et ürünlerinin % 1,1'inin ve dumanlanmış balıklarında % 27,8'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir.

Fransa'da 2001-2003 yılları arasında tüketime hazır hindi göğüslü sandviçlerin tüketilmesi sonucu oluşan listeriozis vakasında 54 kişinin etkilendiği bildirilmiştir (Goulet ve ark., 2006).

Ülkemizde ise Şireli ve ark. (2008) tarafından çiğ köftede *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerine yapılmış deneysel bir çalışmada etkenin 24 saatte üründeki gelişimi takip edilmiştir. Elde edilen verilere göre 25°C'de 24 saatte etkenin 2 log/g düzeyinde arttığı belirlenmiş ve yeterli hijyenik koşullar sağlanmadığı takdirde *L. monocytogenes*'in çiğ köftelerde de halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği bildirilmiştir.

Şireli ve Gücükoğlu (2008) tarafından yapılmış bir başka çalışmada ise Ankara ilinde satışı sunulan toplam 100 adet tüketime hazır gıda (rus salatası, kadınbudu köfte, arnavut ciğeri, midye dolma ve yeşil salata) örneğinde *Listeria* türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, örneklerin % 13 oranında *Listeria* türleri ile kontamine olduğu belirlenmiş ve 2 yeşil salata ile 1 rus salatasından da *L. monocytogenes* izole edildiği bildirilmiştir.

### **2.7.9 Meyve ve Sebzelerde *Listeria monocytogenes***

Sebze ve meyveler, zengin içeriklerinden dolayı *Listeria* türlerinin üremesi ve gelişmesi için uygun olarak nitelendirilen ortamlar arasında yer almaktadır.

Prazak ve ark. (2003) tarafından ABD Teksas'da bulunan çiftliklerde yapılan bir araştırmada 855 lahana örneğinin % 3 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir.

Sebze veya meyvelerin neden olduğu listeriozis olguları pek çok kez rapor edilmiştir. 1979 yılında ABD'nin Boston şehrinde *L. monocytogenes* 4b ile kontamine sebzelerin tüketilmesi sonucu oluşan listeriozis olgusunda 23 kişinin etkilendiği bildirilmiştir (Ho ve ark., 1986).

1981 yılında Kanada'da kontamine lahanaya salatasının tüketilmesi sonucu bir başka listeriozis vakası daha bildirilmiştir (Schlech ve ark.,1983).

İtalya'da 1997 yılında *L. monocytogenes* 4b ile kontamine ton balıklı salata ve mısır tüketilmesi sonucu 1566 kişinin etkilendiği bir listeriozis vakası rapor edilmiştir (Aureli ve ark., 2000).

2011 yılında ABD'nin Kolorado bölgesinde kontamine kavunların tüketilmesi sonucu 146 kişinin listeriozisten etkilendiği belirlenmiştir (CDC, 2011).

#### **2.7.10 İnsanlarda Listeriozis**

*L. monocytogenes*'in insanlar için patojen bir etken olduğu uzun yıllardır bilinmesine rağmen gıda kaynaklı *L. monocytogenes* enfeksiyonlarına 1980 yılından sonra gereken önemin gösterildiği bildirilmektedir (Bille ve Glauser, 1988). Günümüzde, insanlarda oluşan listeriozis olgularının hemen hemen hepsinin gıda kaynaklı olduğu belirlenmiştir (Adak ve ark., 2002). Listeriozis'in, diğer gıda kaynaklı enfeksiyonlar içerisinde yüksek ölüm oranına (% 30) sahip olması nedeniyle, oldukça önemli bir enfeksiyon olduğu da vurgulanmaktadır (Mead ve ark., 1999).

*L. monocytogenes* olumsuz çevresel şartlara oldukça dirençli bir bakteridir. Etkenin, aside dirençlilik özelliği sayesinde midede hayatta kalabildiği belirlenmiş ve kısa zamanda ince bağırsaklara geçerek enfeksiyonu oluşturduğu bildirilmiştir. Daha sonra ince bağırsaklardan kan dolaşımına katılan etken, vücudun çeşitli organlarına (karaciğer, dalak, beyin ve plasenta vb.) göç ederek semptomları oluşturmaktadır. Hafif soğuk algınlığı, üşüme, diyare, kusma, ateş ve baş ağrısı gibi non-spesifik semptomlarla başlayan listeriozisin, konjunktivit, hepatit, osteomyelit, menenjit, meningoensefalit ve gebelerde abort veya neonatal listeriozis gibi çok ciddi semptomlarla seyrettiği ve % 30 gibi yüksek mortalite oranına sahip olduğu rapor edilmiştir. Hastalığın inkübasyon

periyodu 3 - 70 gün arasındadır (Voetsch ve ark., 2007). Listeriozis’de insanlarda görülen başlıca formlar Tablo 5’te gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Listeriozis’de insanlarda görülen başlıca formlar (Erol, 2007)

Form	Semptom
Akut - Septik	Yeni doğan Listeriozisi
Merkezi Sinir Sistemi	Menenjit, ensefalit, meningoensefalit
Glandular	Lenfadenit
Lokal	Deri Listeriozisi, konjuktivit
Kronik - Septik	Endokardit, apse

*L. monocytogenes* enfeksiyonları, yeni doğanlar, immun sistemi baskılanmış bireyler, hamileler ve yaşlılar gibi risk grubunu oluşturan kişilerde daha sık görülmekle beraber sağlıklı yetişkinlerde de hastalığın şekillenebileceği bildirilmiştir (Farber ve Peterkin, 1991).

*L. monocytogenes*’in hamilelerde hastalık oluşturması sonucu düşük, ölü doğum, premature doğumlar veya neonatal enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Hamileliğin her dönemi enfeksiyon açısından riskli olmasına rağmen genellikle hamileliğin üçüncü döneminde hastalığın ortaya çıktığı bildirilmiş ve hastalık nedeniyle oluşan fetal mortalitenin % 16 ile % 45 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Siegman ve ark., 2002).

*L. monocytogenes*’in invaziv formunun hamile olmayan bireylerde sepsis, menenjit veya meningoensefalit gibi semptomlara neden olduğu bildirilmiştir (Hussein ve Shafran, 2000). Hastalığın merkezi sinir sistemi formunun ateş, yorgunluk, halsizlik, koordinasyon bozukluğu (ataksi) ve kasılma nöbetleri gibi semptomlarla seyrettiği belirlenmiştir (Mylonakis ve ark., 1988).

Etkenin gıdalar ile alınması sonucunda ise salgınlara yol açtığı ve insanlarda gastrointestinal sistem semptomlarına neden olduğu bildirilmiştir (Schlech, 1997; 2000).

Brezilya, Portekiz ve ABD’nde meydana gelen listeriozis vakalarında en çok izole edilen *L. monocytogenes* serotiplerinin 4b, 1/2a ve 1/2b olduğu rapor edilmiştir (Hofer ve ark., 2000; Leite ve ark., 2006; Voetsch ve ark., 2007). Goulet ve ark. (2006)

tarafından Fransa’da 603 listeriozis vakasının serotip dağılımının belirlenmesi amacıyla 2001 - 2003 yılları arasında yapılan çalışmada 4b, 1/2a ve 1/2b serotipleri hastalardan izole edilmiştir. Çalışmaya ait detaylar Tablo 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Listeriozis’ten sorumlu *L. monocytogenes* serotipleri (Goulet ve ark. 2006)

Serotip	İzolat Sayısı (%)
4b	294/603 (% 49)
1/2a	163/603 (% 27)
1/2b	120/603 (% 20)
1/2c	22/603 (% 4)

Listeriozis’te, etkenin minimal infeksiyon dozu (MİD) kesin olarak bilinmemekle birlikte konağın immün durumuna göre  $10^2$  -  $10^4$  kob/g düzeyinde *L. monocytogenes*’in insanlarda hastalık oluşturacağı bildirilmektedir (Roberts, 1994; Mead, 1999). Nitekim, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) *L. monocytogenes* ile mücadelede “sıfır tolerans” politikasını izlemekte ve etkenin “tüketime hazır gıdalarda” hiç bulunmaması gerektiğini bildirmektedir. Buna ek olarak bazı ülkelerde işlem görececek gıdalarda *L. monocytogenes*’in kabul edilebilir düzeyi de en fazla 100 kob/g olarak belirlenmiştir (Chen ve ark., 2003). Tablo 7’de Dünya’da 1945-2012 yılları arasında bildirilen bazı listeriozis salgınları gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Bildirilen bazı gıda kaynaklı Listeriozis olguları (Griffits, 2003b)

Yıl	Ülke	Şüpheli Gıda	Etkilenen Kişi Sayısı (Ölü Sayısı)
1945 - 1952	Almanya	Çiğ süt	100
1954	Almanya	Bilinmiyor	26
1956	Rusya	Domuz eti	19
1960 - 1961	Almanya	Bilinmiyor	81
1966	Almanya	Bilinmiyor	279
1969	Yeni Zelanda	Bilinmiyor	13
1975 - 1976	Fransa	Bilinmiyor	162
1977 - 1978	Güney Afrika	Bilinmiyor	14
1978 - 1979	Avustralya	Çiğ sebze	12
1979	ABD	Çiğ sebze	20 (5)
1979 - 1980	Yeni Zelanda	Bilinmiyor	10
1980	Yeni Zelanda	Midye, çiğ balık	29 (9)
1981	İngiltere	Krema	11
1981	Slovakya	Bilinmiyor	49
1981	Kanada	Lahana salatası	41 (17)
1981 - 1982	Yeni Zelanda	Bilinmiyor	18
1983	ABD	Bilinmiyor	10
1983	Almanya	Bilinmiyor	25
1983	ABD	Pastörize süt	49 (14)
1983 - 1987	İsviçre	Mont d'Or peyniri	122
1985	ABD	Meksika tipi peynir	142 (48)
1985 - 1987	Danimarka	Bilinmiyor	35
1986 - 1987	ABD	Yumurta	33
1986 - 1987	ABD	Dondurma, salam	36 (16)
1987	ABD	Tereyağı	11
1987	İngiltere	Bilinmiyor	23
1987 - 1989	İngiltere	Pate	355 (94)
1989	ABD	Karides	9 (1)
1989 - 1990	Danimarka	Küflü peynir	26
1990	Avustralya	Et ürünü	11 (6)
1992	Fransa	Domuz dili	279 (83)
1993	Fransa	Domuz kıyması	39 (12)
1995	Fransa	Peynir	20 (4)
1997	Fransa	Peynir	14
1998 - 1999	ABD	Et ürünü	108 (21)
1999	Finlandiya	Tereyağı	25

**Tablo 7. Devam**

<b>Yıl</b>	<b>Ülke</b>	<b>Şüpheli Gıda</b>	<b>Etkilenen Kişi Sayısı (Ölü Sayısı)</b>
1999	ABD	Pate	11
1999 - 2000	Fransa	Domuz kıyması	10 (2)
1999 - 2000	Fransa	Domuz dili	32 (10)
2000	ABD	Hindi eti	30 (4)
2000	ABD	Meksika tipi peynir	13
2002	ABD	Hindi eti	54
2002	Kanada	Peynir	17
2003	ABD	Meksika tipi peynir	12
2011	ABD	Kavun	146
2012	ABD	Ricotta peyniri	22 (4)

## 2.8 Çalışmamızda Kullandığımız Peynirler

### 2.8.1 Çökelek

Çökelek, yağlı veya kısmen yağı alınmış sütün bekletilerek kendiliğinden veya herhangi bir madde (limon, yöresel otlar) ile çöktürülmesi sayesinde elde edilen peynir çeşitidir. Fiziksel görüntü itibari ile lor peyniri ile karıştırılmaktadır fakat bu peynirde, lor peynirinden farklı olarak sütün yapısındaki albümin ve kazein proteinlerinin her ikisi de bulunur. Anadolu'da çökelik, ekşimik, süt koptu, akkatık, kesik, torak, urda, süt kırması, minzi, mincili, minsi, jaji, kurçi gibi farklı adlarla anılmaktadır (Kamber, 2005).

**Yapılışı:** Normal sağılmış süt bir gece ekşimeye bırakılır. Ekşiyen süt ocak üzerinde hafif sıcaklıkta (40 - 45°C) çöktürülmeye başlanır. Oluşan tortu süzme bezleri ile süzülür. Daha sonra elde edilen tortu bez bir torbaya konularak asılır ve iyice süzülmesi sağlanır. Suyu iyice süzülen tortu, bez torbadan çıkarılarak tuzlanır ve genelde taze olarak tüketilir (Ünsal, 2009; Çakmakçı, 2011).

### 2.8.2 Köy Peyniri

Anadolu'da sepet peyniri, imansız peynir, sulu peynir veya köylü peynir olarak da bilinen köy peyniri, kabuklu, hafif sert yapılı, dışı beyaz, iç kısmı ise hafif sarı renkli, 2 – 3 mm çaplı gözenekli, hafif tuzlu, orta yağlı ve dışı basıldığı sepet veya makarna süzgecinin izlerini taşıyan bir peynirdir (Kamber, 2005; Anon, 2014).

**Yapılışı:** Süt, sağımdan sonra bir gece bekletilir. Daha sonra herhangi bir ısıtma işlemi uygulanmadan 5 – 6 katlı ince tülbentten kazana süzülerek eli yakmayacak kadar ısıtılır ve 28 – 32°C'de mayalanır. Mayalanma işlemi tamamlandıktan sonra pıhtı, kırma sopası ya da elle küçük parçalara ayrılır. Daha sonra pıhtı, 36 - 38°C'ye kadar ısıtılarak suyunu iyice bırakması sağlanır. Bu işlemi takiben ısıtılmış pıhtı sepetlere veya makarna süzgeçlerine konular ve üzerine herhangi bir ağırlık konmadan kendi ağırlığı ile süzülmesi sağlanır. Bu esnada teleme süzülürken sepetin veya süzgecin desenini alır. Peynir iyice süzülmesi için zaman zaman alt üst edilir ve bu esnada da kuru kuru tuzlanır. Yaklaşık 18 saatte peynir kalıp haline gelir. Bu aşamadan sonra tahta bir zemin



üzerine alınır ve iki günde bir toplamda da 15 gün boyunca tuzlanır ve 1 – 2 ay olgunlaştırıldıktan sonra tüketilir. (Kınık ve ark., 1999; Kamber, 2005; Ünsal, 2009; Çakmakçı, 2011)

### 2.8.3 Kuymak Peyniri

Trabzon, Artvin, Sürmene başta olmak üzere genellikle bütün Karadeniz bölgesinde üretilen yöresel bir peynirdir. Peynirin yapım şekli Diyarbakır yöresindeki örgü ve Erzurum civil peynirine benzemektedir. Limoni veya açık sarı renkte, esnek yapılı, yumuşak, telli, halat görünüşlü bir peynirdir. Karadeniz Bölgesi'nde tekne peyniri, telli peynir, telli minzi, mişon peyniri gibi isimlerle de anılmaktadır (Kamber, 2005; Anon, 2014).

**Yapılışı:** Süt mayalama sıcaklığına kadar ısıtılır ve 28 – 32°C'de mayalanır. Mayalandıktan sonra 40 – 45°C'ye kadar ısıtılarak pıhtılaşması sağlanır. Bunu takiben pıhtı cendere bezine alınarak süzülür. Süzüldükten sonra 3 – 4 gün oda sıcaklığında bekletilerek ekşitilir. Daha sonra ekşimiş peynir tuzlu su içerisinde hafif ateşte genellikle 55°C'de 3-5 dakika ısıtılır. Isıman peynir düz bir zemin üzerine alınır ve biraz soğuduktan sonra bıçakla şeritler halinde kesilir. Kesilen parçalar elle çekilip uzatılarak peynire tel şekli verilir. Bu aşamadan sonra hafifçe tuzlanarak saklanır (Kamber, 2005; Ünsal, 2009; Çakmakçı, 2011).



Şekil 2. Çalışmamızda kullandığımız peynirler. 1: Koy peyniri, 2: Kuymak peyniri, 3: Çökelek

## 2.9 *Listeria monocytogenes*'in İzolasyon ve İdentifikasyonu

*L. monocytogenes*, Triptik Soy Agar (TSA), Nutrient Agar (NA) ve Kanlı Agar (KA) gibi bir çok genel besi yerinde kültüre edilebilmektedir. Fakat etkeni selektif özelliği olmayan besi yerleri ile gıda gibi karışık floralarından izole etmenin neredeyse imkansız olduğu da belirtilmektedir. Bu amaçla selektif özelliği olan bir çok besi yeri araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir (Donnelly ve Nyachuba, 2007).

Araştırmacılar karışık floradan *L. monocytogenes*'in saflaştırılması ve diğer bakterilerin baskılanması için besi yerlerine çeşitli selektif ajanların eklenmesini önermektedirler. Bu amaçla potasyum tellürit, lityum klorit, nalidiksik asit, akriflavin, polimiksin B, moxalaktam ve seftazidim gibi kimyasallar kullanılmaktadır (Griffiths, 2003a; Donnelly ve Nyachuba, 2007). Günümüzde ise artık ticari olarak satılan çeşitli selektif besi yerleri hazır olarak temin edilebilmektedir.

Bugüne kadar gıdalardan *L. monocytogenes* izolasyonu için pek çok prosedür geliştirilmiştir. Bunlardan ilkinin Murray ve ark. (1926) tarafından geliştirilen soğuk zenginleştirme prensibine dayalı yöntem olduğu bildirilmiştir. Bu yöntemde zenginleştirme sıvısı olarak triptoz broth kullanılmış ve zenginleştirme işlemi 4°C'de 5 - 13 hafta sürede yapılmıştır. Fakat işlemin uzun süreli olması ve etkenin kabul edilebilir seviyeden çok daha az miktarda izole edilmesi nedeniyle bu yöntemin zaman içerisinde terk edilmiştir.

Günümüzde ise daha pratik ve daha güvenilir kültür teknikleri Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Amerikan Tarım Dairesi (USDA/FSIS) ve Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) tarafından bildirilmiştir. Bu kuruluşların önerdiği metodlar genellikle iki aşamalı zenginleştirme ve selektif katı besi yerine ekim basamaklarından oluşmaktadır.

FDA tarafından bildirilen metoda göre, zenginleştirme besi yeri olarak Buffered *Listeria* Enrichment Broth Base (BLEB)'i kullanırken, USDA/FSIS ise bu amaçla UVM *Listeria* Enrichment Broth'u önermektedir. Buna ek olarak ISO 11290 yönteminde ise Fraser Broth zenginleştirme için kullanılmaktadır. Ayrıca bu sıvı besi yerlerinin seçiciliğini arttırmak amacıyla çeşitli antimikrobiyel katkı maddeleri ve iki

aşamalı zenginleştirme işlemi önerilmektedir (Ralovich ve ark., 1971; Fraser ve Sperber, 1988; Lovett, 1988; Hitchins, 1998).

Waak ve ark. (1999) *L. monocytogenes* ile deneysel olarak kontamine ettikleri peynir örneklerinde ISO 11290 ve International Dairy Federation IDF 143:1990 tarafından belirlenen farklı iki *L. monocytogenes* izolasyon metodunun hassasiyetini belirlemeyi hedeflemişlerdir. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışma sonucunda ISO 11290-1 metodunun çift aşamalı zenginleştirmeyi önermesi ve Fraser Broth'un tamponlama kapasitesinin daha kuvvetli olması nedeniyle IDF metoduna göre üstün olduğunu bildirmişlerdir.

Fraser Broth ile UVM zenginleştirme sıvılarının karşılaştırılması amacıyla Capita ve ark. (2001b) tarafından yapılan bir araştırmada her iki ön zenginleştirme sıvısının da aynı oranda etkili olduğu araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur

Ön zenginleştirme ve selektif zenginleştirme işlemlerinden sonra örneklerin selektif katı besi yerlerine ekilme aşaması gelmektedir. Bu amaçla, Palcam ve Modifiye Oxford Agar (MOX) en çok tercih edilen besi yerleri olarak bilinmektedir (Carnevale ve Johnston, 1989; Netten ve ark., 1989). Bu besi yerlerinin ortak özelliği içeriklerinde eskülin ve Fe<sup>+3</sup> bulunmasıdır. Bunların yanı sıra daha hızlı teşhis ve tür ayrımı yapmak adına kromojenik besi yerleri de geliştirilmiştir.

Vlaemynck ve ark. (2000) tarafından yapılan bir araştırmada ise kromojenik ALOA agar ile PALCAM ve MOX besiyerlerinin saptama yetenekleri karşılaştırılmış ve çalışma sonunda PALCAM agarın yanlış pozitif sonuçlar ortaya koyduğunu bildirmişlerdir.

FDA metodu genellikle süt ve süt ürünleri, su ürünleri ve sebzelerden *L. monocytogenes*'in izolasyonu için kullanılan bir metod olarak bilinmektedir (Lovett ve ark., 1987). Bunun yanında USDA/FSIS tarafından geliştirilen metod ise kırmızı et ve et ürünleri ile kanatlı eti ve ürünlerinden etkenin izolasyonu için önerilmektedir (Johnson, 1998). ISO 11290 metodu ise tüm gıdalardan *L. monocytogenes*'in izolasyonu için önerilen bir metod olarak bilinmektedir (Anon, 1995).

Araştırmacıların kültür tekniklerinin daha da hassaslaşması için sürekli yeni yaklaşımlar peşinde olduklarını bildirmektedirler. Bu amaçla geliştirilen İmmuno Manyetik Seperasyon (İMS) tekniği, karışık florada hedef bakteriyi spesifik antijen-antikor reaksiyonu ile manyetik bir parçacığa bağlamak ve bir mıknatıs yardımı ile ortamdan ayırma prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla Dynabeads adı verilen etrafi *Listeria* antikorları ile kaplanmış uniform yapıda ve manyetik özellikte demir partikülleri kullanılmaktadır. Metodun 100 *Listeria*/ml hassasiyetinde olduğu üretici firma tarafından bildirilmiştir (Anon, 1996).

Bauwens ve ark. (2003) hayvanat bahçesinden elde ettikleri gaita örneklerinden *L. monocytogenes* izolasyonu için ISO 11290-1 metodu ile İMS yöntemini kombine ederek kullanmışlar ve gaita gibi karışık, yoğun bir florada bile etkeni % 20 seviyesinde izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar İMS yönteminin izolasyon prosedürüne spesifite, sensitivite ve etkinlik kazandırdığını belirterek n zenginleştirme sonrasında İMS kullanılmasını önermişlerdir.

Ayrıca günümüzde etkenin tespiti için biyokimyasal reaksiyonlar ya da genetik materyalin tespitine dayalı bazı hızlı test sistemleri de geliştirilmiştir. BAX sistemi, GENE-Trak, PROBELIA, VIDAS, VITEK, VITEK II, *Listeria* VIA, Reveal (*Listeria*), ClearView, Assurance EIA (*Listeria*), EIAFOSS *Listeria*, API, Microbact, Malthus, Microlog ve MIS hızlı sistemlere örnek olarak verilebilir.

Günümüzde klasik kültür tekniklerinin yanı sıra genetik materyal temelli moleküler tekniklerle de *L. monocytogenes*'in gıdalardan tespiti yapılabilmektedir. Bu yöntemler hassas ve hızlı olmaları nedeniyle sıklıkla tercih edilmekte, bununla birlikte kalitatif veya kantitatif sonuçlar verebilmektedir. Bu amaçla Polymerase Chain Reaction (PCR), Reverse Transcription-PCR (RT-PCR), Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Real Time PCR, Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ve Multi Locus Sequence Typing (MLST) yöntemleri kullanılabilir. Örneğin bu yöntemlerden PCR etkenin varlığı veya yokluğu hakkında bilgi verirken, Real Time PCR ise kantitatif sonuçlar vermektedir. Ayrıca izolatların tiplendirilmesi ve epidemiyolojik çalışmalar için soy ağaçlarının çıkarılması PFGE veya MLST gibi teknikler sayesinde mümkün kılınmıştır. Bu yöntemlerden PCR'ın da oldukça güvenli

ve hassas olması bakımından çalışmamızda klasik kültür ile izolasyonu ve identifikasyonu tamamlanmış izolatların doğrulanması ve serotiplerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca bu yöntemler genetik materyal temelli hızlı ve spesifik bir yöntemler olarak da tanımlanmaktadır (Aznar ve Alacron, 2003; Jantzen ve ark., 2006).

Kolombiya’da Vanegas ve ark. (2009) çiğ sütte *L. monocytogenes*’in belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir çalışmada klasik kültür yöntemi ile Real Time PCR metodunu karşılaştırmalı olarak kullanmışlar ve Real-Time PCR metodunun daha hızlı, daha hassas bir metod olduğu sonucuna varmışlardır.

Ahrabi ve ark. (1999) çiğ sütte *L. monocytogenes* varlığının PCR ile belirlenmesi başlıklı çalışmalarında örnekleri deneysel olarak çeşitli konsantrasyonlarda bakteri ile kontamine ettiklerini bildirmişler ve PCR işleminin hassasiyetini ve duyarlılığını tespit etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre ön zenginleştirme işleminden sonra etkenin teşhisi için yapılan PCR işleminin hassas, duyarlı, pratik ve zaman tasarrufu açısından önemli olduğunu rapor etmişlerdir.

## **2.10 Korunma ve Kontrol**

Günümüzde, listeriozis enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun kontamine gıdaların tüketilmesi sonucu şekillendiği bildirilmektedir. “Çiftlikten sofraya gıda güvenliği” konsepti çerçevesinde, *Listeria*’lardan arı sağlıklı hayvanların yetiştirilmesi ve etkenin gıdalarla temasının engellenmesi listeriozisten korunmanın en önemli aşaması olarak belirlenmiştir. Bu noktada, silaj hijyenik koşullarda hazırlanmalı ve pH’sı 4,0’a indirilmelidir. Meme ve sağım hijyenine özen gösterilmeli, süt pastörize edilmeli ve pastörizasyon sonrası kontaminasyon önlenmelidir. Kasaplık hayvanların kesim işlemleri hijyenik koşullar altında uygun şekilde yapılmalıdır. Buna ek olarak gıdaların pişirilmesi sırasında merkezi sıcaklığın en az 72°C, muhafaza sıcaklığının da en çok 4°C olması sağlanmalıdır. Gıda işletmelerinin temizlik ve dezenfeksiyonu düzenli olarak yapılmalı, personel hijyenine dikkat edilmeli ve portör muayeneleri düzenli olarak yapılmalıdır (Erol, 2007).

Gıda üreticileri etken ile mücadelede “sıfır tolerans” prensibini benimsemelidir. Gıda işletmelerinde işletmenin yapısına uygun olarak hazırlanmış HACCP sistemlerinin hayata geçirilmesi sağlanmalıdır. Tüketiciler risk grubu gıdalar ve gıda kaynaklı listeriosis konusunda bilinçlendirilmelidir (Erol, 2007; Kuhn ve Goebel, 2007)

*L. monocytogenes*'in gıdalardaki varlığı birçok ülkede yasal düzenlemelerle sınırlandırılmış olup ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre süt ürünlerinin 25 gramında *L. monocytogenes*'in hiç bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anon, 2011).

### **3. MATERİYAL ve METOT**

#### **3.1 Materyal**

Bu çalışmada Kasım 2011 - Nisan 2012 tarihleri arasında Samsun İl Merkezi'nden temin edilen toplam 210 adet çiğ süt ve süt ürünü materyal olarak kullanıldı. Örnekler 6 aylık süreç boyunca birer aylık periyotlarla alındı ve analiz edildi. Çalışmada kullanılan 100 adet süt örneğinin 50'si Samsun İl Merkezi'nde kurulan 9 semt pazarından, 50'si ise 8 çevre köyde bulunan 24 yetiştiriciden sağım sırasında temin edildi. Süt ürünleri ise, 20 adet beyaz peynir, 20 adet kaşar peyniri, 20 adet dondurma, 20 adet tereyağı, 10 adet çökelek, 10 adet kuymak peyniri ve 10 adet köy peyniri olmak üzere toplam 110 adet olarak çeşitli satış noktaları ve semt pazarlarından temin edildi. Temin edilen numuneler soğuk zincir altında mümkün olan en kısa sürede laboratuvara getirildi ve analizler yapıldı.

##### **3.1.1 Sütlerde Isıl İşlem Tespitinde Kullanılan Kimyasallar**

###### **Alkali Fosfataz Test Ayıraçları**

Sodyum karbonat  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Sigma, S2795, Steinheim - Almanya )

Sodyum bikarbonat  $\text{NaHCO}_3$  (Sigma, S5761)

di-sodyum-p-nitrofenilfosfat (Sigma, N2765)

**Buffer Substrat Çözeltisinin Hazırlanması:** Alkali Fosfataz Testinde kullanılmak üzere 3,5 gr saf  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ile 1,5 gr  $\text{NaHCO}_3$  1 lt saf su içinde eritildi ve buffer eriyiği hazırlandı. Daha sonra 0,15 gr di-sodyum-p-nitrofenilfosfat tartıldı ve daha önce hazırlanan buffer eriyiği ile 100 ml'ye tamamlandı.

###### **Peroksidaz Testi Ayıraçları**

Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$  - Merck, 8597, Hohenbrunn - Almanya)

1-4-*p*-Phenylenediamine ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$  - Merck, 807246)

### **3.1.2 Laboratuvara Getirilen Sütlerde Antibiyotik Aranmasında Kullanılan Malzemeler**

Charm MRL Beta test stripleri (*Charm Sciences Inc.*, Lawrence, MA - USA)

### **3.1.3 *L. monocytogenes*'in İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Malzemeler**

#### **Half Fraser Broth**

Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth (Merck, 110398)

Fraser *Listeria* Selective Supplement (Merck, 100093)

Fraser *Listeria* Amonium Iron (III) Supplement (Merck, 100092)

**Hazırlanışı:** Selektif ön zenginleştirme aşamasında kullanılmak üzere hazır besiyerinden 57,4 g tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri  $7,2 \pm 0,2$  olarak ayarlandı. Daha sonra besiyeri otoklavda  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besi yeri  $50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutuldu ve 1'er ml steril damıtık su ile sulandırılan 2 vial Fraser *Listeria* Selective Supplement ile 2 vial Fraser *Listeria* Amonium Iron (III) Supplement eklendi.

#### **Dynabeads® anti-*Listeria* (710.06 Dynal Biotec, Oslo - Norveç)**

İnvitrogen firmasından temin edilen 5 ml ve 250 testlik Dynabeads® anti-*Listeria* üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanıldı.

#### **Phosphate Buffered Saline Tween 20 (Sigma, P3563)**

NaCl 138 mM

KCl 2,7 mM

Tween 20 % 0,05 w/v pH 7,4



**Hazırlanışı:** 1 paket toz PBS-Tween 20 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü ve 121°C’de 15 dakika steril edildi. İMS işleminde kullanılmak üzere 4°C’de muhafaza edildi.

### **Modifiye Oxford Agar (MOX)**

Oxford *Listeria* Selective Agar (Merck, 107004)

Oxford *Listeria* Selective Supplement (Merck, 107006)

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 29,25 g tartılarak 500 ml distile suda çözündürüldü, pH değeri  $7,0 \pm 0,2$  olarak ayarlandı. Su banyosunda 95°C’de eritildi. Daha sonra besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 50°C’ye kadar soğutuldu. Daha sonra 2,5 ml steril damıtık su ve 2,5 ml etil alkol ile suspanse edilmiş 1 vial Oxford *Listeria* Selective Supplement eklendi. Daha sonra steril plastik petrilere döküldü ve 4°C’de muhafaza edildi.

### **Tryptic Soy Agar Yeast Extract (TSA-YE)**

Tryptic Soy Agar (Fluka, 22091, St. Gallen - İsviçre)

Yeast Extract (Oxoid, LP0021, Hampshire - İngiltere)

**Hazırlanışı:** Tryptic Soy Agar besiyerinden 20 g ve Yeast Extract’dan 3 g (% 0,6) tartıldı ve 500 ml distile suda çözündürüldü, pH değeri  $7,0 \pm 0,2$  olarak ayarlandı ve su banyosunda 95°C’de eritildi. Daha sonra besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 50°C’ye kadar soğutuldu. Steril plastik petrilere döküldü ve 4°C’de muhafaza edildi.

### **Tryptic Soy Broth Yeast Extract (TSB-YE)**

Tryptic Soy Broth (Fluka, 22092)

Yeast Extract (Oxoid, LP0021)

**Hazırlanışı:** Tryptic Soy Broth besiyerinden 15 g ve Yeast Extract'dan 3 g (% 0,6) tartıldı ve 500 ml distile suda çözüldürüldü, pH değeri  $7,1 \pm 0,2$  olarak ayarlandı ve cam tüplere 10'ar ml paylaştırıldı. Daha sonra besiyeri otoklavda  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri  $50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutuldu ve  $4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

### **Sulphate Indol Motility Medium (SIM)**

Sulphate Indol Motility Medium (Merck, 105470)

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 30 g tartıldı ve 1 litre distile suda çözüldürüldü, pH değeri  $7,0 \pm 0,2$  olarak ayarlandı ve su banyosunda  $95^{\circ}\text{C}$ 'de eritildi. Cam tüplere 10'ar ml paylaştırıldı ve otoklavda  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edildi. Tamamen soğutulduktan sonra  $4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

### **Koyun Kanlı Agar (% 5, Salubris, Türkiye)**

Salubris firması tarafından hazırlanan steril % 5'lik koyun kanlı agarları alındı ve son kullanma tarihine kadar  $4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilerek kullanıldı.

### **Nitrate Broth**

Nitrate Broth (Fluka, 72548)

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 9 g tartıldı ve 1 litre distile su içerisinde çözüldürüldü. Bunu takiben pH'sı  $7,0 \pm 0,2$  olarak ayarlandı ve cam tüplere 5'er ml paylaştırıldı. Otoklavda  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edildikten sonra soğutuldu ve  $4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

### **Purple Broth Base**

Purple Broth Base (HiMedia, M284, Mumbai - Hindistan )

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 15,02 g tartıldı ve 1 litre distile suda çözüldürüldü. pH değeri 6,8'e ± 0,2 ayarlandıktan sonra cam tüplere 9'ar ml paylaştırıldı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildikten sonra soğutuldu ve 4°C'de muhafaza edildi.

### **Şeker Solüsyonları**

#### **Ramnoz Solüsyonu**

**Bileşimi:** L- Rhamnose (Sigma, R3875) 5 g

Distile Su 100 ml

#### **Ksiloz Solüsyonu**

**Bileşimi:** D- Xylose (Sigma, X1500) 5 g

Distile Su 100 ml

#### **Mannitol Solüsyonu**

**Bileşimi:** Mannitol (Merck, 5980) 5 g

Distile Su 100 ml

**Hazırlanışı:** Şekerlerden 5'er g tartılarak distile su içinde % 5 oranında hazırlandı. Solusyonlar 0,45 µm por genişliğine sahip selüloz asetat enjektör ucu filtreler (Corning, MA - USA ) ile steril edildi.

### **Oksidaz Testi**

Bactidrop™ Oxidase (Remel R21540 - KS, USA)

### **Katalaz Testi**

Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Merck, 8597)

**Hazırlanışı:** Ticari % 30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den 3 ml alındı 27 ml distile su ile karıştırıldı ve % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu elde edildi.

### **3.1.4 *Listeria monocytogenes* izolatlarının PCR ile Doğrulanmasında Kullanılan Kimyasallar**

#### **Proteinase K (Sigma, P2308)**

Proteinase K 10 mg/ml

#### **Chelex 100 (Sigma, C7901)**

Chelex 100 50g/l

#### **Taq DNA Polymerase Seti (Sigma, D4545)**

Taq DNA Polymerase 500U

10X Reaction Buffer

25mM MgCl<sub>2</sub>

#### **dNTP Mix (Sigma, D7295)**

dNTP Mix 10mM

#### **Gene Ruler Set (Biolabs N 3231S)**

100 bp 500 µg/ml kullanıma hazır

#### **Primerler**

Alpha DNA, Quebec - Kanada

<b>Hedef Gen</b>	<b>Primer Dizisi</b>
<b><i>hlyA</i> (388 bp)</b>	PCRGO: 5' GAA TGT AAA CTT CGG CGC AAT CAG 3' PCRDO: 5' GCC GTC GAT GAT TTG AAC TTC ATC 3'
<b><i>iap</i> (131 bp)</b>	IAP1: 5' ACA AGC TGC ACC TGT TGC AG 3' IAP2: 5' TGA CAG CGT GTG TAG TAG CA 3'
<b><i>Imo0737</i> (691 bp)</b>	F: 5' AGG GCT TCA AGG ACT TAC CC 3' R: 5' ACG ATT TCT GCT TGC CAT TC 3'
<b><i>Imo1118</i> (906 bp)</b>	F: 5' AGG GGT CTT AAA TCC TGG AA 3' R: 5' CGG CTT GTT CGG CAT ACT TA 3'
<b><i>ORF2819</i> (471 bp)</b>	F: 5' AGC AAA ATG CCA AAA CTC GT 3' R: 5' CAT CAC TAA AGC CTC CCA TTG 3'
<b><i>ORF2110</i> (597 bp)</b>	F: 5' AGT GGA CAA TTG ATT GGT GAA 3' R: 5' CAT CCA TCC CTT ACT TTG GAC 3'
<b><i>prs</i> (370 bp)</b>	F: 5' GCT GAA GAG ATT GCG AAA GAA G 3' R: 5' CAA AGA AAC CTT GGA TTT GCG G 3'

**Hazırlanışı:** Araştırmacılar tarafından bildirilen primerler desalted saflıkta sentezletildi ve liyofilize olarak temin edildi. Daha sonra üretici firmanın önerdiği miktarlarda steril bidistile su ile 100 pmol konsantrasyonda olacak şekilde sulandırıldı.

### **TBE Solüsyonu**

Gibco 10X TBE (15581-044, NY - USA)

**Hazırlanışı:** 10X konstantrasyonda olan buffer solüsyonundan 100 ml alınarak 1 litreye tamamlandı ve analizler için 1X konstantrasyonda kullanıldı.

### **Etidium Bromide**

Applichem A1152 (10 mg/ml, GmbH)

**Hazırlanışı:** Kullanıma hazır olarak temin edilen Etidium Bromide solüsyonundan 100 ml agaroz için 6 µl alındı ve agaroz eritildikten sonra içine karıştırıldı.

### **Agarose**

Agarose (Sigma, A9539)

**Hazırlanışı:** Temiz bir erlen mayer içerisine 1,5 g agaroz tartıldı ve 100 ml 1X TBE ile sulandırıldı. Daha sonra mikrodalga fırında eritildi ve 50°C'ye kadar soğutularak içerisinde 6 µl Etidium Bromide eklendi. Son olarak elektroforez küvetine dökülerek donması için bekletildi.

### **3.1.5 *Listeria monocytogenes* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Kullanılan Malzemeler**

#### **Mueller Hinton Agar**

Mueller Hinton Agar (Oxoid CM 337)

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 19 g tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde çözündürüldü. pH değeri  $7,3 \pm 0,2$  olarak ayarlandıktan sonra su banyosunda 95°C'de eritildi. Daha sonra besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besi yeri 45°C'ye kadar soğutuldu. Steril plastik petrilere döküldü ve 4°C'de muhafaza edildi.

#### **Mueller Hinton Broth**

Mueller Hinton Broth (Merck 110293)

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 10,5 g tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde çözündürüldü. pH değeri  $7,4 \pm 0,2$  olarak ayarlandı. Daha sonra besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi.

### **Antibiyotik Diskleri**

Amoksisilin/Klavulanik asit (Oxoid CT0223)

Ampisilin (Oxoid CT0003B)

Kloramfenikol (Oxoid CT0013B)

Eritromisin (Oxoid CT0020B)

Oksitetrasiklin (Oxoid CT0041)

Penisilin G (Oxoid CT0043B)

Tetrasiklin (Oxoid CT0054B)

Vankomisin (Oxoid CT0058B)

### **MİK Testi için Kullanılan Antibiyotikler**

Amoksisilin/Klavulanik asit (Sigma A8J23)

Ampisilin Sigma (A1593)

Eritromisin (Sigma E5389)

Kloramfenikol (Sigma C1919)

Oksitetrasiklin (Sigma 1491004)

Penisilin G (Sigma P8431)

Tetrasiklin (Sigma T7660)

Vankomisin (Sigma V1130)

### **Çalışmada Kullanılan Bakteri Suşları**

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

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

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

*L. monocytogenes* RSKK 475 (serotip 4b)

*S. aureus* ATCC 26923

*R. equi* ATCC 33701

### 3.2 Metot

Laboratuvara soğuk zincir altında getirilen çiğ sütlerde önce ısıtma işlemi uygulanıp uygulanmadığının belirlenmesi amacıyla enzim deneyleri yapıldı, daha sonra antibiyotik kalıntısı varlığı araştırıldı. Çiğ süt ve süt ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığının araştırılması 3 aşamada gerçekleştirildi. Birinci aşamada *L. monocytogenes* izolasyon ve identifikasyonu için ISO 11290-1 (The International Standards Organization - Uluslararası Standartlar Organizasyonu) (Anon, 1995) ve Dynal (Anon, 1996) tarafından önerilen İMS (İmmüno Manyetik Seperasyon) bazlı klasik kültür tekniği kullanıldı. İkinci aşamada identifiye edilen *L. monocytogenes* izolatlarının PCR ile doğrulanması ve serotiplendirilmesi yapıldı. Üçüncü aşamada ise *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi amacıyla NCCLS (M31-A3/2010) (National Committee for Clinical Laboratory Standards-Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi) tarafından bildirilen disk difüzyon ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) testleri kullanıldı (Anon, 2010).

#### 3.2.1 Sütlerde Isıl İşlem Tespiti

Analiz için laboratuvara getirilen çiğ süt örneklerine ısıtma işlemi uygulanıp uygulanmadığı enzim deneyleri ile ortaya konuldu

#### Alkali Fosfataz Deneyi

Sütte fosfataz enziminin varlığını araştırmak amacıyla bir deney tüpüne 5 ml buffer substrat çözeltisi konuldu ve üzerine 1 ml süt örneği ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra 37°C'lik su banyosunda 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda sütte sarı renkli *p*-nitrofenol'lerin açığa çıkması fosfataz enzimi pozitif olarak değerlendirildi (Dokuzlu, 2004).

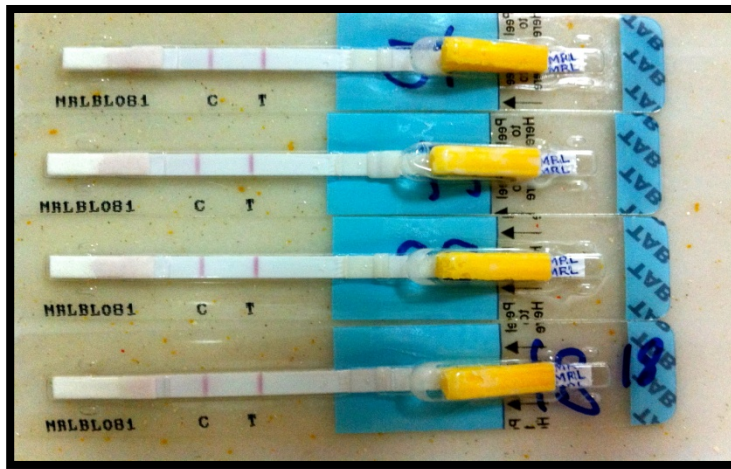


## Peroksidaz (Storch) Deneyi

Sütte peroksidaz enziminin varlığını araştırmak amacıyla bir deney tüpüne süt numunesinden 10 ml alındı ve üzerine % 0,2'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  zeltisinden 2 damla damlatıldı ve karıştırıldı. Daha sonra üzerine % 2'lik asidik *p*-fenilendiamin hidroklorür  zeltisinden 2 damla damlatılarak tekrar karıştırıldı. Sütte mavi renk oluşumu peroksidaz pozitif olarak değerlendirildi (Dokuzlu, 2004).

## Sütte Antibiyotik Varlığının Belirlenmesi

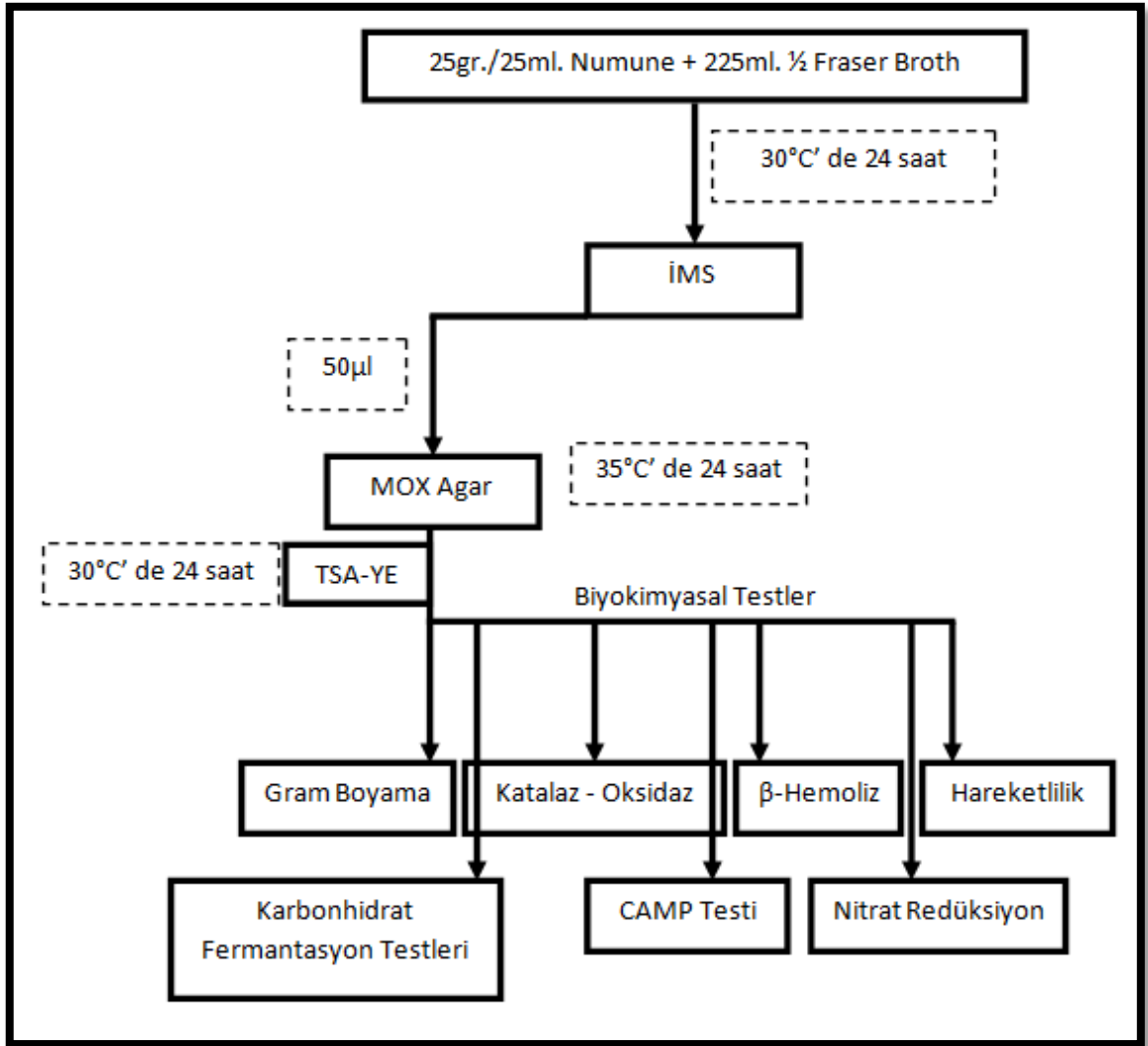
Analiz için laboratuara getirilen süt numunelerinde betalaktam grubu (amoksisilin, ampisilin, sefasetril, sefaleksim, sefalonyum, sefalozin, sefoperazon, sefkinom, seftifor, sefuroksim, sefapirin, kloksasilin, dikloksasilin ve penisilin G) antibiyotik kalıntısı varlığı Charm MRL   (MA, USA) test stripleri kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı. Bu amaçla test striplerinin haznesine 200  l numune süt mikropipet ile konuldu ve stripler inkübatöre yerleştirildi. 58 C'de 8 dakika inkübe edildi. Inkubasyonun sonunda üretici firmanın tarif ettiği şekilde, stripler  zerindeki Test (T) ve Kontrol (C) olarak işaretlenmiş noktaların her ikisinde de kırmızı şerit oluşması antibiyotik kalıntısı negatif, sadece T olarak işaretlenmiş olan kısımda kırmızı şerit oluşması ise antibiyotik kalıntısı pozitif olarak değerlendirildi (şekil 3) (Anon, 2013c).



şekil 3. Charm MRL  -Lactam test stripleri

### 3.2.2 *Listeria monocytogenes*'in İzolasyonu

Bu çalışmada süt ve süt ürünlerinde *L. monocytogenes*'in izolasyonu amacıyla ISO 11290-1 metodu (The International Standards Organization - Uluslararası Standartlar Organizasyonu) (Anon, 1995) ve Dynal (Anon, 1996) tarafından önerilen İMS bazlı kültür tekniği kullanıldı (Şekil 4).



Şekil 4. *L. monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyon şeması

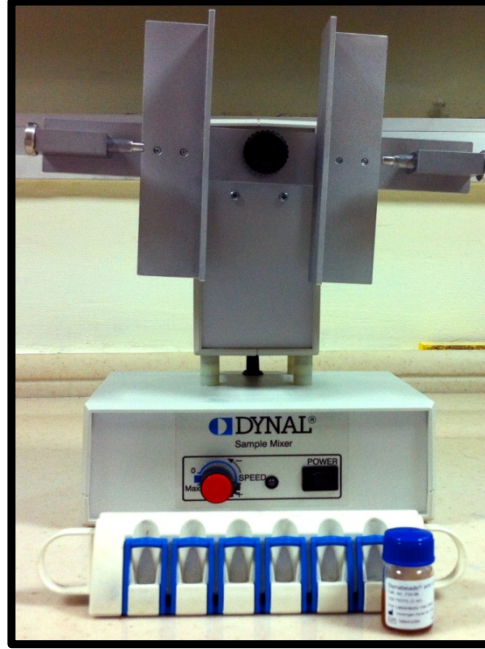
## Ön Zenginleştirme

Soğuk zincir altında ve laboratuara getirilen süt numunelerinden aseptik koşullarda 25 ml, süt ürünlerinden ise 25 gr tartılarak 225 ml Half Fraser Broth (Merck 110398, 100093, 100092) ile sulandırıldı ve stomacherde (Interscience Bagmixer 400) orta hızda 90 saniye homojenize edildi. Daha sonra ön zenginleştirme için 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

## İmmuno Manyetik Seperasyon (İMS)

Ön zenginleştirme işlemini takiben, üretici firmanın talimatları çerçevesinde, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine vorteks ile homojenize edilmiş immunomanyetik mikropartikül solüsyonundan (Dynabeads anti-*Listeria* 710.06) 20'şer µl konuldu ve tüpler manyetik çubuğu çıkartılmış Dynal manyetik parçacık portübüne (MPC-S) yerleştirildi. Daha sonra üzerine Half Fraser Broth'da (Merck 110398, 100093, 100092) ön zenginleştirilmesi yapılan homojenattan 1 ml ilave edildi ve tüplerin ağzı kapatıldı. Karışım 5 kez alt üst edikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika Dynal MX sample mixer ile orta hızda sürekli karıştırılarak inkübe edildi (Şekil 5). Bu aşamada örneklerde bulunabilecek *Listeria*'ların spesifik antijen-antikör reaksiyonu ile dynabeadslere bağlanması sağlandı. Bu işlemi takiben Dynal manyetik parçacık portübünün arka kısmına manyetik çubuk yerleştirildi ve oluşan manyetik alanın etkisiyle, *Listeria*'lar ile bağlanan dynabeadslerin mikrosantrifüj tüplerinin iç arka yüzüne yapışması sağlandı. Üç dakikalık bekleme aşamasından sonra manyetik olarak bağlanmamış olan kısım mikropipet yardımıyla dikkatlice uzaklaştırıldı. Daha sonra manyetik plak portüpten ayrıldı. Manyetik çubuğun ayrılmasından sonra tüplere 1 ml steril PBS-Tween 20 yıkama sıvısı eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika Dynal MX sample mixer ile orta hızda sürekli karıştırılarak ikinci kez inkübe edildi. Daha sonra Dynal manyetik parçacık portübünün arkasına manyetik plak tekrar takıldı ve 3 dakika beklendi. Manyetik olarak bağlanmamış olan kısım mikropipet yardımıyla dikkatlice uzaklaştırıldı. Son olarak dynabeads-*Listeria* karışımı 100 µl steril PBS-Tween 20 (pH 7,4) içinde süspansedildi ve süspansedilen bu dynabeads-*Listeria* karışımından 50 µl

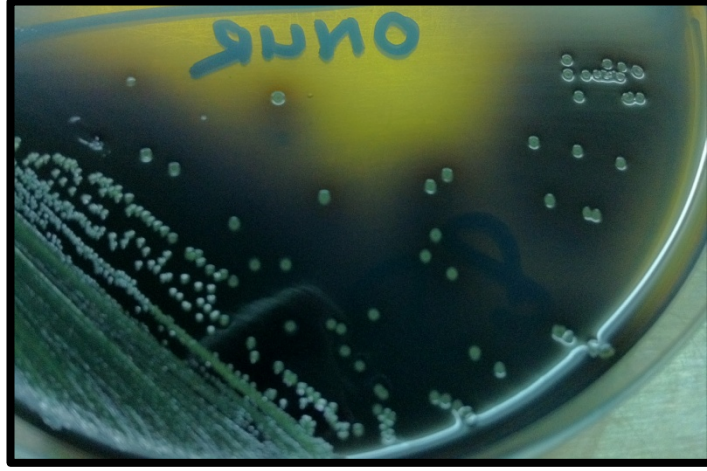
selektif katı agara Modified Oxford Agar (Merck 107004, 107006 MOX) drigalski çubuğu ile ekildi (Anon, 1996).



Şekil 5. Anti-*Listeria* Dynabeads, Dynal manyetik parçacık portübü ve Dynal MX örnek karıştırıcı

### Katı Besi Yerine Ekim

İMS işlemi sonucunda elde edilen 100 µl Dynabeads-*Listeria* kompleksinden 50 µl MOX Agara yayma plak yöntemi ile ekim yapıldı ve plaklar 35°C'de 24 - 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası MOX agarda üreyen yaklaşık 1-2 mm çaplı, orta kısmı çökük, 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 özeler kullanılarak çizme plak yöntemiyle ekildi ve plaklar 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı (Şekil 6) (Anon, 1996).



Şekil 6. *Listeria* kolonilerinin Modified Oxford Agar'da görünümü

### 3.2.3 *Listeria monocytogenes*'in Biyokimyasal Testleri ve İdentifikasyonu

TSA-YE'de üreyen şüpheli kolonilere sırasıyla non-spesifik ve spesifik biyokimyasal testler yapıldı. İlk aşamada gram boyama, katalaz, oksidaz, hareket ve indol testleri yapıldı. Biyokimyasal testler 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 identifikasyon testlerine geçildi. Bu amaçla CAMP,  $\beta$ -hemoliz ve karbonhidrat fermentasyon testleri yapıldı. Spesifik testlerin sonucunda CAMP testinde sadece *S. aureus*'a doğru üreyen, kanlı agarda  $\beta$ -hemoliz oluşturan ve şekerlerden ramnozu fermente eden, ksiloz ve mannitolu fermente etmeyen koloniler *L. monocytogenes* olarak identifiye edildi. *Listeria* türlerinin biyokimyasal testler ile ayrımı Tablo 8'de belirtilmiştir (Hitchins, 1998).

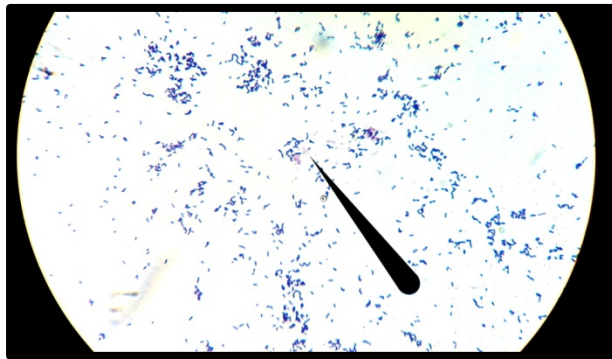
**Tablo 8.** *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Wagner ve McLauchlin, 2008; Graves ve ark., 2010; Leclercq ve ark., 2010)

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. rocourtiae</i>
Gram Boyama	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Hemoliz	+	++	-	-	±	-	-	-
Eskülin	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannitol	-	-	-	-	-	+	+	-
L-Ramnoz	+	-	±	±	-	±	+	-
D-Ksiloz	-	+	-	+	+	-	-	-
CAMP	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>	-	-	<i>S. aureus</i>	-	-	-

+: pozitif, -: negatif, ±: değişken

### Gram Boyama ve Mikroskopik Bakı

TSA-YE besiyerinde üreyen kolonilerden 1-2 tane alkol ile temizlenmiş bir lam üzerine öze ile alındı. Daha sonra steril fizyolojik tuzlu su ile homojen hale getirilerek lam üzerine yayıldı. Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra üç defa alevden geçirilerek tespit edildi. Preparatlar sırasıyla 90 sn kristal viyole, 45 sn lugol iyot, 45 sn alkol-aseton karışımı ve 30 sn sulu fuksin boya ile boyanıp yıkanıp kurutuldu. Hazırlanan preparatlar Olympus (CX 21) mikroskop ile 100X büyütmede immersiyon yağı ile incelendi. Mikroskopik bakı sonucunda mavi-mor renkli, kısa çubukçuk formunda olan bakteriler *Listeria* spp. şüpheli olarak değerlendirildi (Şekil 7) (Hitchins, 1998).



**Şekil 7.** *Listeria* türü bakterilerin mikroskopik görünümü

## **Katalaz ve Oksidaz Testleri**

TSA-YE’de üreyen kolonilerden 1-2 tane temiz bir lam üzerine öze ile alındı ve üzerlerine 2-3 damla % 3’lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatıldı. 1-2 sn içinde oluşan köpürme ve gaz çıkışı katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

Oksidaz testi için 1 cm eninde uzun şeritler halinde kesilmiş kurutma kağıtları üzerine Remel Bactidrop™ Oxidase Test (R21540) solüsyonu damlatıldı. Daha sonra TSA-YE’de üreyen kolonilerden 1-2 adet öze ile alındı ve bu kurutma kağıtlarına sürüldü. En fazla 60 saniye içinde mor-menekşe rengi oluşmaması oksidaz negatif olarak değerlendirildi (Hitchins, 1998).

## **SIM (Sulphate Indol Motility) Hareketlilik Testi**

TSA-YE’de üreyen kolonilerden 2-3 tane iğne uçlu öze ile alındı ve daha önceden tüplerde hazırlanmış SIM besiyerine dik bir şekilde batırılıp çıkartıldı. Besiyerleri 25°C’de 5 güne kadar inkübe edildi. Yapılan takiplerin sonucunda şemsiye tarzında üreme gösteren koloniler hareketli olarak değerlendirildi.

Aynı zamanda bu besiyerine Kovacs ayırıcının (Merck, 109293) damlatılması sonucu indol testi de yapıldı. Ayırıcın damlatılmasından sonra renk değişimi görülmemesi indol negatif olarak değerlendirildi (Hitchins, 1998).

## **CAMP (Christie Atkins Münch Petersen) Testi**

TSA-YE’de üreyen şüpheli *Listeria* kolonilerinin tür ayrımları için % 5’lik koyun kanlı agara birbirlerine paralel olarak *R. equi* ve *S. aureus* suşları ekildi. Daha sonra da bu referans suşların ekim hatlarına dik olacak şekilde şüpheli *L. monocytogenes* izolatları ekildi. Besiyeri 35°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda sadece *S. aureus*’a doğru hafif genişleyen dar bir hemoliz bandının oluşumu *L. monocytogenes* pozitif kabul edildi. Ayrıca kanlı agarda oluşan β-Hemoliz alanları da incelendi (Şekil 8) (Hitchins, 1998).



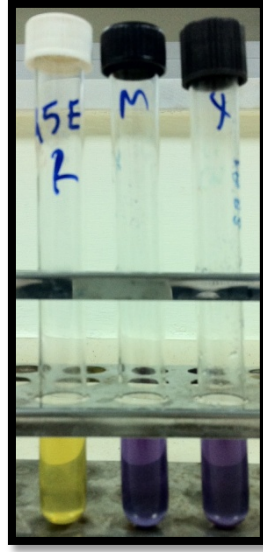
**Şekil 8.** *L. monocytogenes* izolatlarının CAMP testi görünümü  
(S: *S. aureus* ATCC 25923, R: *R. equi* ATCC 33701, 2-3-4-5-6 *Listeria* sp. şüpheli izolatlar)

### **Karbonhidrat Fermentasyon Testleri**

Karbonhidrat fermentasyon testleri için daha önceden cam tüplere 9'ar ml paylaştırılmış Purple Broth Base'ler (PBB) ve % 5 konsantrasyonda hazırlanmış karbonhidrat solüsyonları kullanıldı. Karbonhidrat solüsyonları, hazırlandıktan sonra 0,45 µm por çapına sahip tek kullanımlık enjektör ucu filtrelerden geçirilerek steril edildi. Daha sonra içinde PBB'ler bulunan tüplere 1'er ml aktarıldı.

TSA-YE'de üreyen şüpheli koloniler öze ile alınarak içerisinde karbonhidrat kaynağı olan PBB'lere ekimleri yapıldı ve 37°C'de 5 güne kadar inkübe edildi. İnkübasyon sonunda PBB'lerin renginin mordan sarıya dönmesi pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 9) (Hitchins, 1998).





**Şekil 9.** *L. monocytogenes* izolatlarının purple broth base içerisinde karbonhidrat fermentasyon testi görünümü. (Soldaki tüp ramnoz pozitif, ortadaki tüp mannitol negatif, sağdaki tüp ksiloz negatif)

### **Nitrat Redüksyon Testi**

TSA-YE besiyerinde üreyen kolonilerden öze ile bir miktar alınarak Nitrate Broth (Fluka, 72548) besiyerine ekildi ve 37°C’de 5 gün inkübasyona bırakıldı. Daha sonra besiyeri içerisine 0,2’şer ml Griess Ilosvay A ve B reaktifleri (Sigma G4410) eklendi. Tüpün dibinde kiremit kırmızısı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi. Test daha ileri seviye indirgenmelere karşı çinko tozu (Sigma 324930) ile de doğrulandı. *L. monocytogenes* nitrat negatif olup, *Listeria* türleri içerisinde nitratı nitrite indirgeme yeteneğinde olan tek türün *L. grayi* spp. *murayi* olduğu rapor edilmiştir (Hitchins, 1998).

### **3.2.4 *Listeria monocytogenes*’in PCR ile Doğrulanması**

Çalışmada biyokimyasal testler sonucu *L. monocytogenes* pozitif veya şüpheli olarak tespit edilen izolatların PCR ile doğrulanması amacıyla Bohnert ve ark. (1992) tarafından dizayn edilen *hlyA* primerleri ile Köhler ve ark. (1990) tarafından tasarlanan edilen *iap* primer çiftleri kullanıldı (Tablo 9).

**Tablo 9.** *hlyA* ve *iap* primer dizileri (Köhler ve ark., 1990; Bohnert ve ark., 1992)

Hedef gen	Primer	PCR ürünü (bp)
<i>hlyA</i>	PCRGO: GAATGTAAACTTCGGCGCAATCAG	388 bp
	PCRDO: GCCGTCGATGATTTGAACTTCATC	
<i>iap</i>	IAP1: ACAAGCTGCACCTGTTGCAG	131 bp
	IAP2: TGACAGCGTGTGTAGTAGCA	

### Genomik DNA Ekstraksiyonu

Genomik DNA elde edilmesi Amills ve ark. (1997) tarafından önerilen metoda göre ve Proteinaz K (Sigma, P2308) ile Chelex 100 (Sigma C7901, Chelating Ion Exchange Resin) kullanılarak yapıldı. -20°C’de muhafaza edilen izolatlar TSB-YE (Fluka 22092, Oxoid LP0021) ile aktive edildi. 24 saatlik taze kültürden 1 ml steril ependorf tüp içine alındı. Ependorf tüpler 12000 rpm’de 4°C’de 2 dakika santrifüj edildi (Hettich Universal 320R, Almanya) ve üstte kalan supernatant atıldı. Dipte kalan bakteri peleti üzerine % 5 konstantrasyonda 1X TE içinde hazırlanmış Chelex 100’den 200 µl ve 10 mg/ml konstantrasyonunda hazırlanmış Proteinaz K’dan 4 µl ilave edildi. Daha sonra örnekler kuru blok ısıtıcı (Biosan Bio TDB-100, Türkiye) içinde önce 56°C’de 30 dakika, bunu takiben 100°C’de 8 dakika inkübe edildi. Chelex-100’ün dibe çökmesi için elde edilen DNA-Chelex 100 karışımı 12000 rpm’de 4 °C’de 2 dakika santrifüj edildi ve üstte kalan supernatant içinde bulunan DNA başka bir ependorf tüpüne alınarak PCR işlemi yapılana kadar -20°C’de muhafaza edildi.

### PCR Amplifikasyonu ve Elektroforez

*hlyA* geni için PCR karışımı, toplam 50 µl hacimde 1X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 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 - ABD) 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)

*iap* geni için ise PCR karışımı, toplam 50 µl hacimde 1X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1 mM dNTP, 0,5 U Taq-Polymerase, her primerden 1 µM ve 5 µl DNA olacak şekilde hazırlandı. *iap* gen amplifikasyonu ise 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyon ve 35 siklus, 94°C’de 30 saniye denatürasyon, 55°C’de 45 saniye primer bağlanması, 72°C’de 45 saniye primer uzaması ve 72°C’de 5 dakika son uzama olacak şekilde programlandı (Köhler ve ark., 1990).

Elde edilen ampliconlar elektroforez işlemi için % 2’lik agaroz içinde 80 volt akımda koşturuldu. Elektroforez işlemi Bio-Rad PowerPac Basic Power Supply (CA - USA) güç kaynağı ve Bio-Rad Wide Mini Sub-Cell GT Cell (CA - USA) tankında gerçekleştirildi. Elektroforez sonunda *hlyA* ve *iap* genleri UV transilluminatörde 388 bp ve 131 bp’de görüntülendi.

### **PCR Analizi Saptama Limitinin Belirlenmesi**

PCR analizinin saptama limitinin belirlenmesi amacıyla, öncelikle *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşuna ait genomik DNA’nın konsantrasyonunu belirlendi. Bu amaçla DNA’lar UV spektrofotometre ile 260 nm’de okutuldu. 1 OD’nin 50 ng/µl miktar DNA’ya eşdeğer olmasından yola çıkarak genomik DNA konsantrasyonu (ng/µl) hesaplandı (Anon, 2012). Hesaplama sonunda elde edilen DNA’nın başlangıç konsantrasyonu 254 ng/µl olarak tespit edildi. Daha sonra konsantrasyonu bilinen DNA’lar 1/10 oranında steril deiyonize su ile dilüye edildi ve 8 dilüsyon hazırlandı. Hazırlanan DNA dilüsyonlarından 5 µl alındı ve hazırlanan PCR karışımı içine toplam hacim 50 µl olacak şekilde ilave edildi. Daha sonra *hlyA* geni için bildirilen PCR koşullarına göre amplifiye edildi. Elektroforez sonunda en son bandın görüldüğü dilüsyondaki DNA konsantrasyonu PCR testinin tespit limitini belirledi.

### **Serotiplendirme**

*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 10).

**Tablo 10.** *L. monocytogenes* serotiplerine ait primer dizilimleri (Doumith ve ark., 2004)

Hedef Gen	Primer Dizilimi	PCR ürünü (bp)	Serotip
<i>Imo0737</i>	F: AGGGCTTCAAGGACTTACCC	691	1/2a, 1/2c, 3a, 3c
	R: ACGATTTCTGCTTGCCATTC		
<i>Imo1118</i>	F: AGGGGTCTTAAATCCTGGAA	906	1/2c, 3c
	R: CGGCTTGTTCCGGCATACTTA		
<i>ORF2819</i>	F: AGCAAAATGCCAAAACCTCGT	471	1/2b, 3b, 4b, 4e, 4d
	R: CATCACTAAAGCCTCCCATTG		
<i>ORF2110</i>	F: AGTGGACAATTGATTGGTGAA	597	4b, 4e, 4d
	R: CATCCATCCCTTACTTTGGAC		
<i>prs</i>	F: GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG	370	<i>Listeria</i> spp.
	R: CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG		

Serotiplendirme için PCR karışımı, toplam 50 µl hacimde 1X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1 mM dNTP, 0,5 U Taq-Polymerase, her primerden 1 µM ve 5 µl DNA olacak şekilde hazırlandı. Serotiplendirme de kullanılacak genler için amplifikasyon koşulları Thermal Cycler'da 94°C'de 5 dakika, 94°C'de 30 saniye, 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, *Imo0737* için 57°C, *Imo1118* için 55°C olarak ayarlandı. Amplifikasyon işlemi önce tek tek yapıldı. Daha sonra *ORF2819* ile *ORF2110* primerleri ve *Imo0737* ile *Imo1118* primerleri multiplex olarak 56°C'de amplifiye edildi. Elde edilen ampliconlar elektroforez işlemi için % 2'lik agaroz içinde 80 volt akımda koşturuldu. UV-transilluminatörde *ORF2819* geni 471 bp, *ORF2110* geni 597 bp, *Imo0737* geni 691 bp, *Imo1118* geni 906 bp ve *prs* geni ise 370 bp'de görüntülendi (Doumith ve ark., 2004).

Elektroforez sonucunda bir izolat yalnızca *Imo0737* pozitif ise 1/2a veya (3a), hem *Imo0737* hem de *Imo1118* pozitif ise 1/2c veya (3c), yalnızca *ORF2819* pozitif ise 1/2b veya (3b), hem *ORF2819* hem de *ORF2110* pozitif ise 4b veya (4e, 4d) olarak değerlendirildi (Doumith ve ark., 2004).

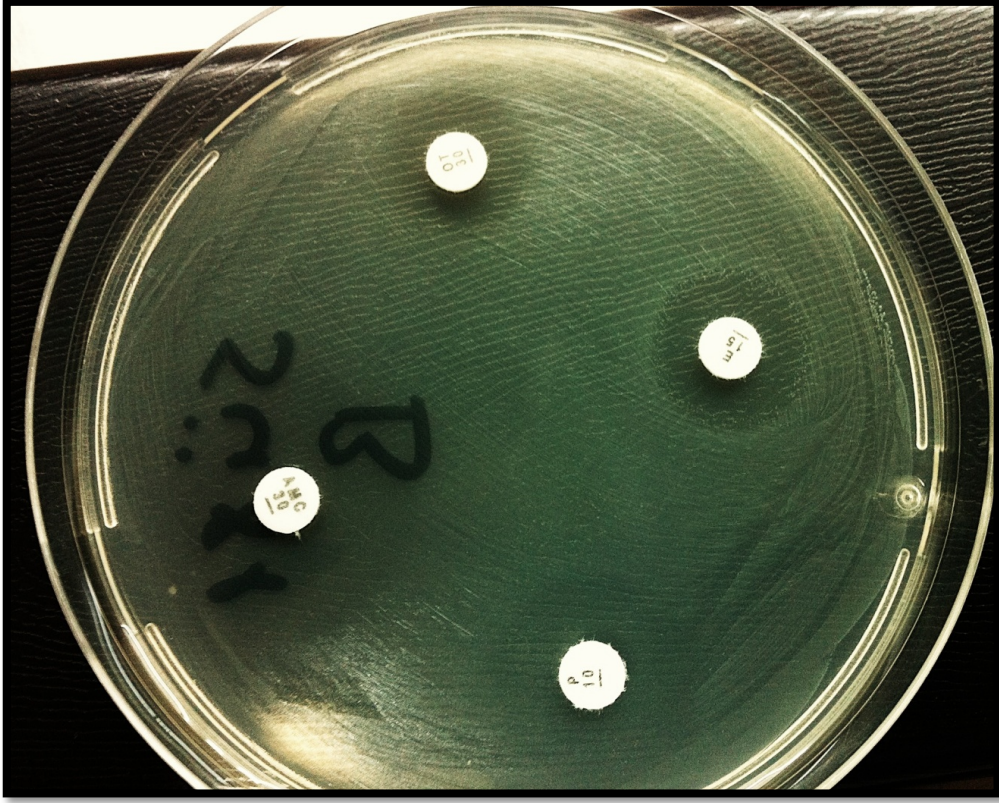
### 3.2.5 Antibiyotik Dirençlilik Testleri

#### Disk Difüzyon Yöntemi

Elde edilen izolatların antibiyotik dirençlilikleri NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, M31-A3/2010) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak belirlendi (Şekil 10). Bu amaçla önce - 20°C’de sakladığımız 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. 24 saatlik *L. monocytogenes* izolatlarına ait 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 edilerek McFarland dansitometre cihazı (Biosan) ile 0,5 McFarland ( $10^8$  kob/ml) turbitideye ayarlandı. Daha sonra bu süspansiyondan Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM337, Hampshire - İngiltere) üzerine 1 ml aktarıldı ve steril bir eküvyon çubuğu ile sürülerek ekildi. Bunu takiben petriyer oda ısısında 5-10 dakika kurutuldu ve her bir petriye birbirlerine eşit mesafede olacak şekilde 4 adet antibiyotik diski yerleştirildi. Antibiyotik disklerinin yerleştirilmesini takiben petriyer 37°C’de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda antibiyotik disklerinin etrafındaki inhibisyon zonlarının çapları kompas ile ölçüldü. Elde edilen zon çapları, NCCLS (M31-A3/2010)’deki standartlar ile karşılaştırılarak izolatların antibiyotiklere karşı duyarlı, orta dirençli veya dirençli olarak sınıflandırılması sağlandı (Tablo 11).

**Tablo 11.** Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ve dozları

Antibiyotik Diski	Sembolü	Dozu	Değerlendirme (mm)		
			R	I	S
Amoksisilin/Klavulanik asit	AMC	30 µg	13<	14-17	>18
Ampisilin	AMP	10 µg	18<	19-25	>26
Kloramfenikol	C	30 µg	12<	13-17	>18
Eritromisin	E	15µg	15<	16-20	>21
Oksitetrasiklin	OX	30 µg	14<	15-18	>19
Penisilin G	PG	10 U	20≤	-	-
Tetrasiklin	TE	30 µg	14<	15-18	>19
Vankomisin	VA	30 µg	14<	15-16	>17



Şekil 10. Mueller-Hinton agar üzerine yerleştirilmiş antibiyotik diskleri ve oluşan zonlar

### Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Testi

Çalışmamızda disk difüzyon yöntemi ile direçli bulunan izolatların MİK değerleri NCCLS (M31-A3/2010) tarafından bildirilen mikrodilüsyon yöntemine göre yapıldı (Anon, 2010).

### MİK Testi için İzolatların Hazırlanması

Bu amaçla önce  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen izolatlar Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat aktive edildi. Daha sonra Mueller Hinton Agar (MHA) üzerine çizilerek  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat üremeleri için inkübe edildi. 24 saatlik *L. monocytogenes* izolatlarına ait MHA'daki taze kültürlerden öze ile birkaç tane alındı ve içinde 5 ml % 0,09'luk Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) bulunan steril tüplerde suspense edilerek McFarland dansitometre cihazı ile 0,5 McFarland ( $10^8$  kob/ml) turbitideye ayarlandı.

## MİK Testi için Antibiyotik Stok Çözeltilerin ve Dilüsyonların Hazırlanması

Çalışmamızda kullandığımız antibiyotik solüsyonlarının ana stoğu 5120 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde 10 ml steril distile su içerisinde aşağıda belirtilen formül ve Tablo 12’de gösterilen potens değerleri kullanılarak hazırlandı ve 0,45 µm por çapına sahip enjektör ucu filtrelerden geçirilerek steril edildi.

**Tablo 12.** Antibiyotik tozları ve potens değerleri

Antibiyotik	Potens (µg/ml)
Ampisilin	128
Amoksisilin/Klavulanik asit	1000
Eritromisin	128
Kloramfenikol	128
Oksitetrasiklin	128
Penisilin G	1005
Tetrasiklin	128
Vankomisin	128

**Ana stok hazırlanması:** 5120 µg/ml konsantrasyondaki ampisilin ana stoğunu hazırlamak için aşağıda belirtilen formüle göre ilk önce istenilen ampisilin konsantrasyonu olan 5120 µg/ml ile çözücü hacmi olan 10 ml çarpıldı, daha sonra üretici firma tarafından belirtilen ampisilin potens değeri olan 128’e bölünerek tartılacak miktar olan 400 mg elde edildi. Bunu takiben 400 mg ampisilin tartıldı ve 10 ml distile su içerisinde çözüldürüldü. Diğer antibiyotiklerde aynı yöntem ile hazırlandı.

$$\text{İstenen Konsantrasyon (µg/ml)} \times \text{Çözücü Hacmi (ml)}$$

Tartılacak ilaç ağırlığı (mg): -----

$$\text{İlacın Potensi (µg/mg)}$$

**Dilüsyonların hazırlanması:** 5120 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan ana stokdan 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 ve 0,25 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyonlar Tablo 14’de belirtildiği şekilde Mueller Hinton Broth (MHB) içinde aseptik koşullarda hazırlandı.

512 µg/ml konsantrasyondaki 1. dilüsyonun hazırlaması: Bu amaçla ilk önce 5120 µg/ml konsantrasyonundaki ana stokdan 1 ml alındı ve 9 ml Mueller Hinton Broth (MHB) ile sulandırılarak (1/10 oranında) 512 µg/ml konsantrasyonundaki birinci dilüsyon elde edildi.

256 µg/ml konsantrasyondaki 2. dilüsyonun hazırlaması: Hazırlanan 512 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 5 ml MHB ile karıştırılarak (1/1 oranında) 256 µg/ml konsantrasyon olan 2. dilüsyon elde edildi.

128 µg/ml konsantrasyondaki 3. dilüsyonun hazırlaması: 512 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 15 ml MHB ile karıştırılarak (1/3 oranında) 128 µg/ml konsantrasyon olan 3. dilüsyon elde edildi.

64 µg/ml konsantrasyondaki 4. dilüsyonun hazırlaması: 512 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 35 ml MHB ile karıştırılarak (1/7 oranında) 64 µg/ml konsantrasyon olan 4. dilüsyon elde edildi.

32 µg/ml konsantrasyondaki 5. dilüsyonun hazırlaması: 64 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 5 ml MHB ile karıştırılarak (1/1 oranında) 32 µg/ml konsantrasyon olan 5. dilüsyon elde edildi.

16 µg/ml konsantrasyondaki 6. dilüsyonun hazırlaması: 64 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 15 ml MHB ile karıştırılarak (1/3 oranında) 16 µg/ml konsantrasyon olan 6. dilüsyon elde edildi.

8 µg/ml konsantrasyondaki 7. dilüsyonun hazırlaması: 64 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 35 ml MHB ile karıştırılarak (1/7 oranında) 8 µg/ml konsantrasyon olan 7. dilüsyon elde edildi.

4 µg/ml konsantrasyondaki 8. dilüsyonun hazırlaması: 8 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 5 ml MHB ile karıştırılarak (1/1 oranında) 8 µg/ml konsantrasyon olan 8. dilüsyon elde edildi.

2 µg/ml konsantrasyondaki 9. dilüsyonun hazırlaması: 8 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 15 ml MHB ile karıştırılarak (1/3 oranında) 2 µg/ml konsantrasyon olan 9. dilüsyon elde edildi.

1 µg/ml konsantrasyondaki 10. dilüsyonun hazırlaması: 8 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 35 ml MHB ile karıştırılarak (1/7 oranında) 1 µg/ml konsantrasyon olan 10. dilüsyon elde edildi.



0,5 µg/ml konsantrasyondaki 11. dilüsyonun hazırlaması: 1 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 5 ml MHB ile karıştırılarak (1/1 oranında) 0,5 µg/ml konsantrasyon olan 11. dilüsyon elde edildi.

0,25 µg/ml konsantrasyondaki 12. dilüsyonun hazırlaması: 1 µg/ml konsantrasyonda olan dilüsyondan 5 ml alındı ve 15 ml MHB ile karıştırılarak (1/3 oranında) 0,25 µg/ml konsantrasyon olan 12. dilüsyon elde edildi (Tablo 13).

**Tablo 13.** Antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması

Stok Solüsyon (µg/ml)	Antibiyotik (v*)	MHB (v)	Test Konsantrasyonu (µg/ml)	
512	1	-	512	1. dilüsyon
512	1	1	256	2. dilüsyon
512	1	3	128	3. dilüsyon
512	1	7	64	4. dilüsyon
64	1	1	32	5. dilüsyon
64	1	3	16	6. dilüsyon
64	1	7	8	7. dilüsyon
8	1	1	4	8. dilüsyon
8	1	3	2	9. dilüsyon
8	1	7	1	10. dilüsyon
1	1	1	0,5	11. dilüsyon
1	1	3	0,25	12. dilüsyon

\*v: volum

**MİK Testinin Yapılışı:** ELISA mikroplaklarına önceden hazırladığımız antibiyotik solüsyonlarına ait dilüsyonlar 100'er µl paylaştırıldı. Bunu takiben üzerlerine 0,5 McFarland konsantrasyona ayarlanmış taze bakteri kültüründen 5'er µl eklendi. Mikroplaklar 35°C'de 18 - 20 saat süre inkübasyona bırakıldı.

**MİK Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi:** İnkübasyon sonunda en son üreme görülen kuyucuklardaki antibiyotik konsantrasyonu, NCCLS (M31-A3/2010)'deki kırılma noktaları ile karşılaştırılarak izolatların MİK değerleri belirlendi (Tablo 14).

**Tablo 14.** MİK testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Antibiyotik Diski	Değerlendirme (µg/ml)		
	S	I	R
Amoksisilin/Klavulanik asit	4<	8	≥16
Ampisilin	<	2	≥
Kloramfenikol	8<	16	≥32
Eritromisin	0,5<	1	≥2
Oksitetrasiklin	4<	8	≥16
Penisilin G	2<	-	-
Tetrasiklin	4<	8	≥16
Vankomisin	4<	8	≥16

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada, Kasım 2011 - Nisan 2012 tarihleri arasında Samsun İl Merkez’inde kurulan çeşitli semt pazarlarından, satış noktalarından ve çevre köylerdeki yetiştiricilerden temin edilen toplam 210 adet çiğ süt ve süt ürünü materyal olarak kullanıldı. Temin edilen numunelerde *L. monocytogenes* varlığı İMS bazlı kültür tekniği kullanılarak araştırıldı. İzolatlar *hlyA* ve *iap* gen sekansları esas alınarak PCR ile doğrulandı. Daha sonraki aşamada PCR ile doğrulanan *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplendirilmesi ve 8 farklı antibiyotiğe karşı antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi işlemleri PCR, disk difüzyon ve MİK testleri ile yapıldı.

### 4.1 Laboratuvara Getirilen Sütlerin Kültür Öncesi Analizleri

#### 4.1.1 Antibiyotik Kalıntısı Analizi

Ticari olarak temin edilen MRL Beta test stripleri kullanılarak yapılan antibiyotik kalıntısı analizleri sonucunda 100 adet çiğ süt örneğinin hiçbirinde antibiyotik kalıntısına rastlanılmadı (Anon, 2013c).

#### 4.1.2 Isıl İşlem Tespiti

Laboratuvara getirilen süt numunelerinde ısıl işlemin varlığı alkali fosfataz ve peroksidaz testleri ile araştırıldı. Semt pazarlarından temin edilen 50 adet çiğ süt numunesinde her iki enzimin de pozitif olduğu dolayısıyla sütlere ısıl işlem uygulanmadığı kanısına varıldı. Yetiştiricilerden alınan sütler direk sağılıp alındığı için bu sütlerde alkali fosfataz ve peroksidaz enzimlerinin varlığı araştırılmadı.

### 4.2 İMS Bazlı Kültür Tekniği Sonuçları

Bu aşamada, İMS bazlı kültür tekniği ile analiz edilen toplam 100 çiğ süt örneğinin 5 tanesinin (% 5), 110 süt ürünü örneğinin 9 tanesinin (% 8,18) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlendi.

Yetiştiricilerden temin edilen 50 adet çiğ süt örneğinin yalnızca 1 tanesinden *L. monocytogenes* (% 2) identifiye edildi ve bu numuneden 5 izolat elde edildi. Semt pazarlarından elde edilen 50 adet çiğ süt örneğinin 4 tanesinden *L. monocytogenes* (% 8) identifiye edildi ve bu numunelerden 20 izolat elde edildi (Tablo 15).

**Tablo 15.** Çiğ süt numunelerinde tespit edilen *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* türü bakterilerin numune bazında dağılımı ve izolat sayıları

Örnek Tipi	Örnek Sayısı	<i>Listeria</i> spp. (+) numune/Oran	<i>Listeria</i> spp. (+) izolat sayısı	<i>L. monocytogenes</i> (+) numune/Oran	<i>L. monocytogenes</i> (+) izolat sayısı
Çiğ Süt (Pazar)	50	11 (% 22)	55	4 (% 8)	20
Çiğ Süt (Köy)	50	1 (% 2)	5	1 (% 2)	5
<b>TOPLAM</b>	<b>100</b>	<b>12 (% 12)</b>	<b>60</b>	<b>5 (% 5)</b>	<b>25</b>

Semt pazarlarından ve çeşitli satış noktalarından elde edilen 20 adet beyaz peynir örneğinin 1 tanesinde (% 5), 10 adet kuymak peyniri örneğinin 3 tanesinde (%30), 10 adet çökelek peynirinin 3 tanesinde (%30), 10 adet köy peynirinin 2 tanesinde (%20) *L. monocytogenes* izole edilirken, kaşar peynir, tereyağı ve dondurma örneklerinin hiçbirinde *L. monocytogenes* izole edilemedi. Süt ürünlerinden toplam 27 *L. monocytogenes* izolatı elde edildi (Tablo 16).

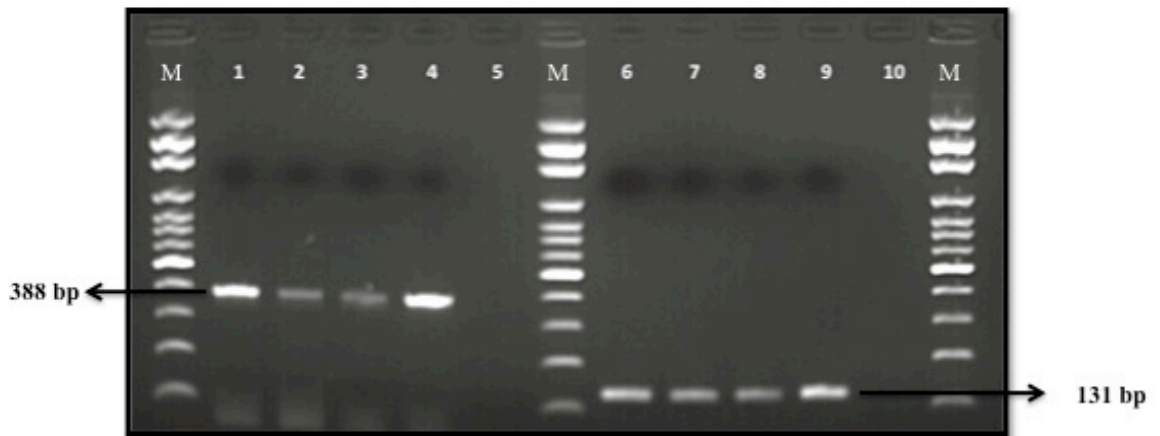
**Tablo 16.** Süt ürünlerinde tespit edilen *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* türü bakterilerin numune bazında dağılımı ve izolat sayıları, n: numune sayısı

Örnek Tipi	Örnek Sayısı	<i>Listeria</i> spp. (+) numune/Oran	<i>Listeria</i> spp. (+) izolat sayısı	<i>L. monocytogenes</i> (+) numune/Oran	<i>L. monocytogenes</i> (+) izolat sayısı
Beyaz Peynir	20	5 (% 25)	25	1 (% 5)	1
Kaşar Peyniri	20	0	0	0	0
Tereyağı	20	3 (% 15)	15	0	0
Dondurma	20	0	0	0	0
Kuymak Peyniri	10	6 (% 60)	30	3 (% 30)	10
Çökelek	10	4 (% 40)	20	3 (% 30)	7
Köy Peyniri	10	4 (% 40)	20	2 (% 20)	9
<b>TOPLAM</b>	<b>110</b>	<b>22 (% 20)</b>	<b>110</b>	<b>9 (% 8,18)</b>	<b>27</b>

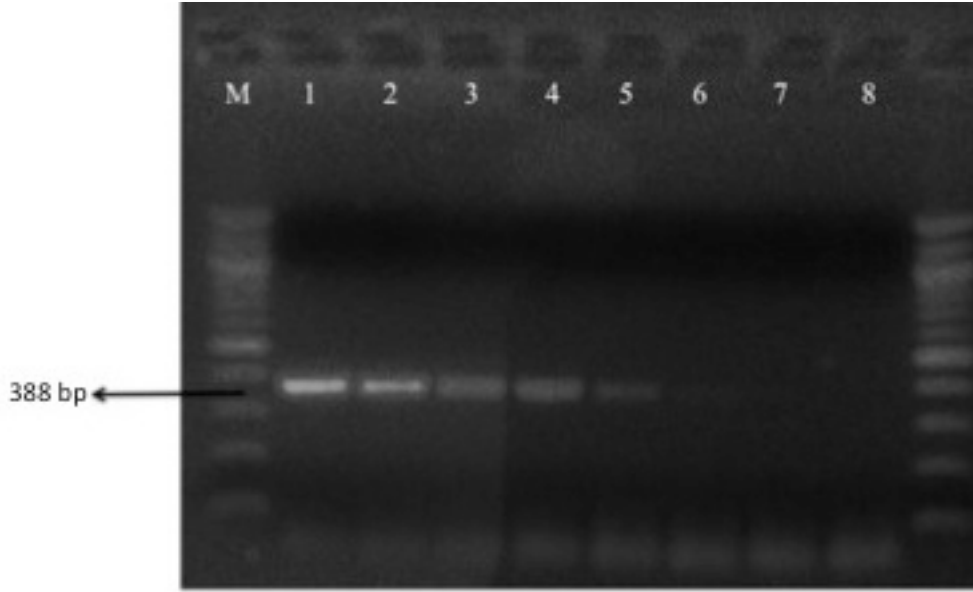
### 4.3 İzolatların PCR ile Doğrulması

Çalışmamızda, İMS bazlı klasik kültür tekniği ile *L. monocytogenes* olarak tanımlanan izolatları doğrulamak amacıyla *hlyA* ve *iap* genlerinin varlığı PCR yöntemi ile araştırıldı. Bu amaçla yapılan analizler sonucunda çiğ süt ve süt ürünlerinden elde edilen 52 *L. monocytogenes* izolatının tamamının (% 100) bu iki gene sahip olduğu belirlendi ve *L. monocytogenes* olarak doğrulandı (Şekil 11).

Çalışmamızda PCR analizinin saptama limitinin belirlenmesi için *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşundan elde edilen başlangıç konsantrasyonu 254 ng/μl olan genomik DNA örnekleri 1/10 dilüsyonlar halinde sulandırıldıktan sonra *hlyA* genine spesifik primerleri kullanılarak PCR reaksiyonuna tabi tutuldu. Yaptığımız 8 dilüsyon sonunda; Şekil 11’de görüldüğü gibi 1. dilüsyonda 25,4 ng/μl, 2. dilüsyonda 2,54 ng/μl, 3. dilüsyonda 0,254 ng/μl, 4. dilüsyonda 0,0254 ng/μl, 5. dilüsyonda 0,00254 ng/μl ve en son 6. dilüsyonda 0,000254 ng/μl konsantrasyonunda DNA örneklerimiz 388 bp’de bant verirken, 7. ve 8. dilüsyonda bant gözlenmedi. Bu durumda PCR analizimizin hassasiyeti 6. dilüsyon görülen bant göz önünde bulundurularak en az 0,000254 ng/μl olarak tespit edildi. Bu işlemler sonucunda çalışmamız sırasında PCR analizleri için kullandığımız 5 μl genomik DNA’nın saptama sınırından oldukça yüksek olduğu belirlendi (Şekil 12).



**Şekil 11.** *L. monocytogenes* izolatlarında *hlyA* (388 bp) ve *iap* (131 bp) genlerinin elektroforez görüntüleri **M:** 100 bp’lik DNA ladder, **1 ve 6:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* ATCC 7644), **5 ve 10:** Negatif kontrol, **2 – 4:** *hlyA* geni pozitif *L. monocytogenes* izolatları, **7 – 9:** *iap* geni pozitif *L. monocytogenes* izolatları



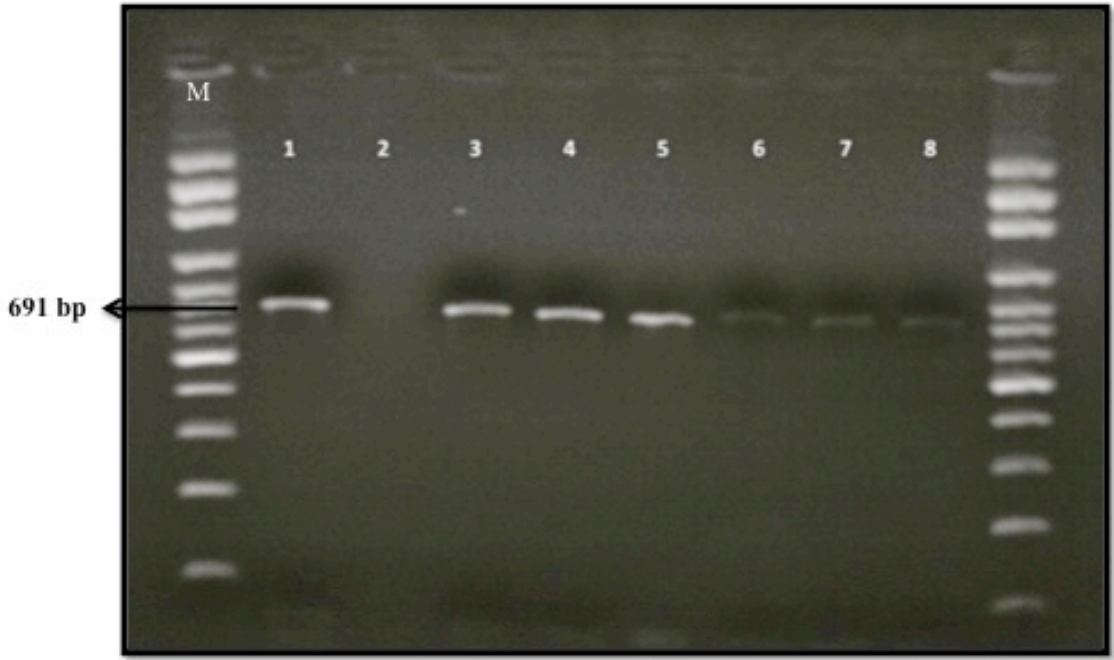
**Şekil 12.** *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşu kullanılarak *hlyA* geni (388 bp) spesifik PCR analizinin saptama limiti sonuçları **M:** 100 bp'lik DNA ladder **1 - 8:** DNA dilüsyonları (25,4  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$ 'den-0,00000254  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$ 'e kadar)

#### 4.4 *Listeria monocytogenes* İzolatlarının Serotiplendirilmesi

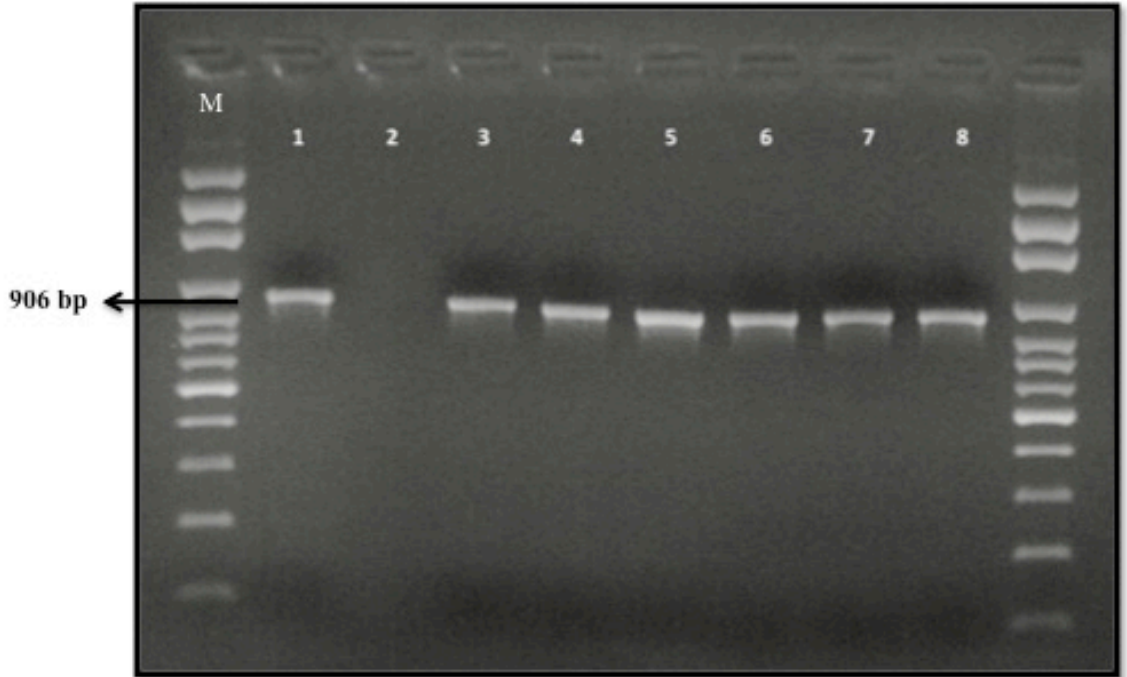
PCR ile doğruladığımız *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplendirilmesi amacıyla Doumith ve ark. (2004) tarafından tasarlanan *Imo0737*, *Imo1118*, *ORF2819*, *ORF2110* ve *prs* primer dizileri kullanıldı. İzolatların bu genleri bulundurma durumuna göre serotiplendirilmeleri yapıldı (Tablo 17). PCR işlemi sonunda elde edilen elektroforez görüntüleri Şekil 13, 14, 15, 16, 17 ve 18'de gösterildi.

**Tablo 17.** *L. monocytogenes* serotiplerinin sahip olduğu gen bölgeleri

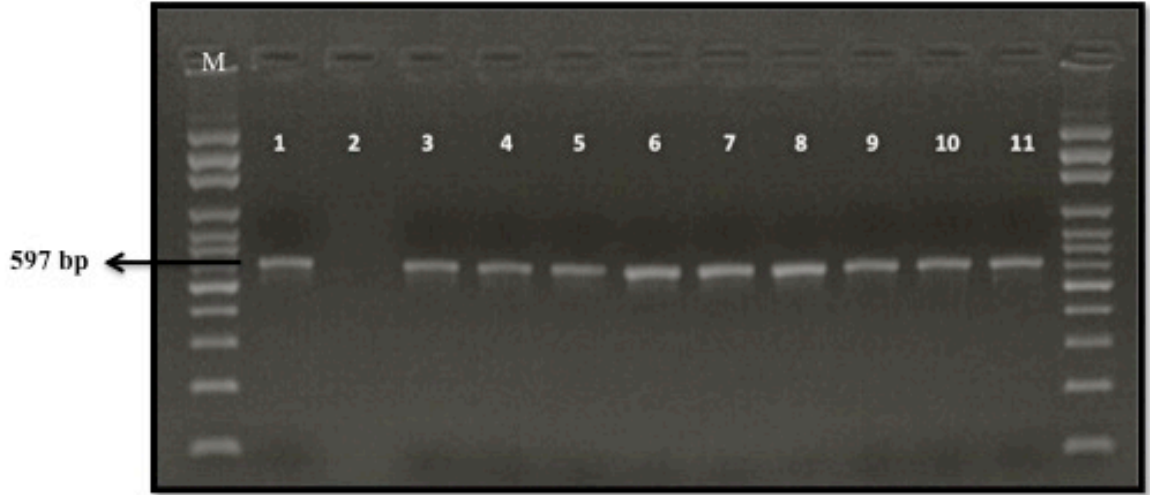
		<i>L. monocytogenes</i> serotipleri								
Hedef Gen		1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	3c	4b	4e	4d
<i>Imo0737</i>	(691 bp)	+		+	+		+			
<i>Imo1118</i>	(906 bp)			+			+			
<i>ORF2819</i>	(471bp)		+			+			+	+
<i>ORF2110</i>	(597 bp)							+	+	+
<i>prs</i>	(370 bp)	+	+	+	+	+	+	+	+	+



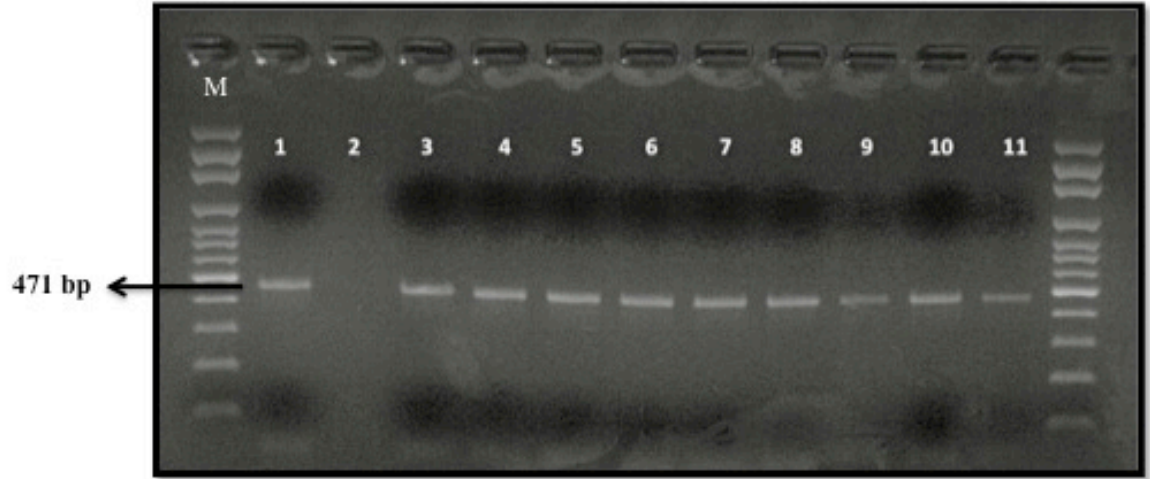
**Şekil 13.** *IMO0737* gen bölgesi (691 bp) hedeflenen PCR analizinin elektroforez sonuçları **M:** 100 bp DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* RSKK 471, serotip 1/2a), **2:** Negatif kontrol, **3 – 8:** *IMO0737* pozitif *L. monocytogenes* izolatları



**Şekil 14.** *IMO1118* gen bölgesi (906 bp) hedeflenen PCR analizinin elektroforez sonuçları **M:** 100 bp DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes*, ATCC 7644, serotip 1/2c) **2:** Negatif kontrol, **3 - 8:** *IMO1118* pozitif *L. monocytogenes* izolatları

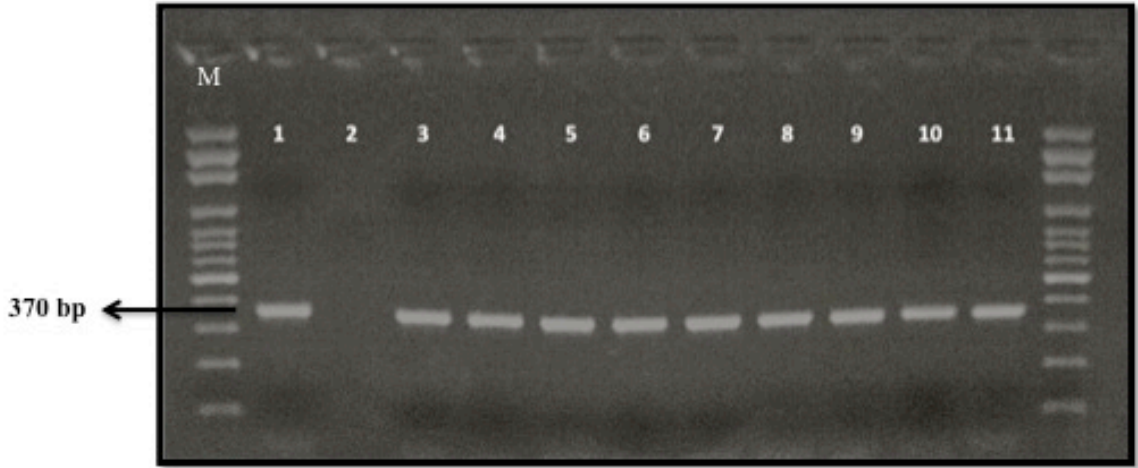


**Şekil 15.** *ORF2110* gen bölgesi (597 bp) hedeflenen PCR analizinin elektroforez sonuçları **M:**100 bp DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* RSKK 475, serotip 4b), **2:** Negatif kontrol, **3 – 11:** *ORF2110* pozitif *L. monocytogenes* izolatları

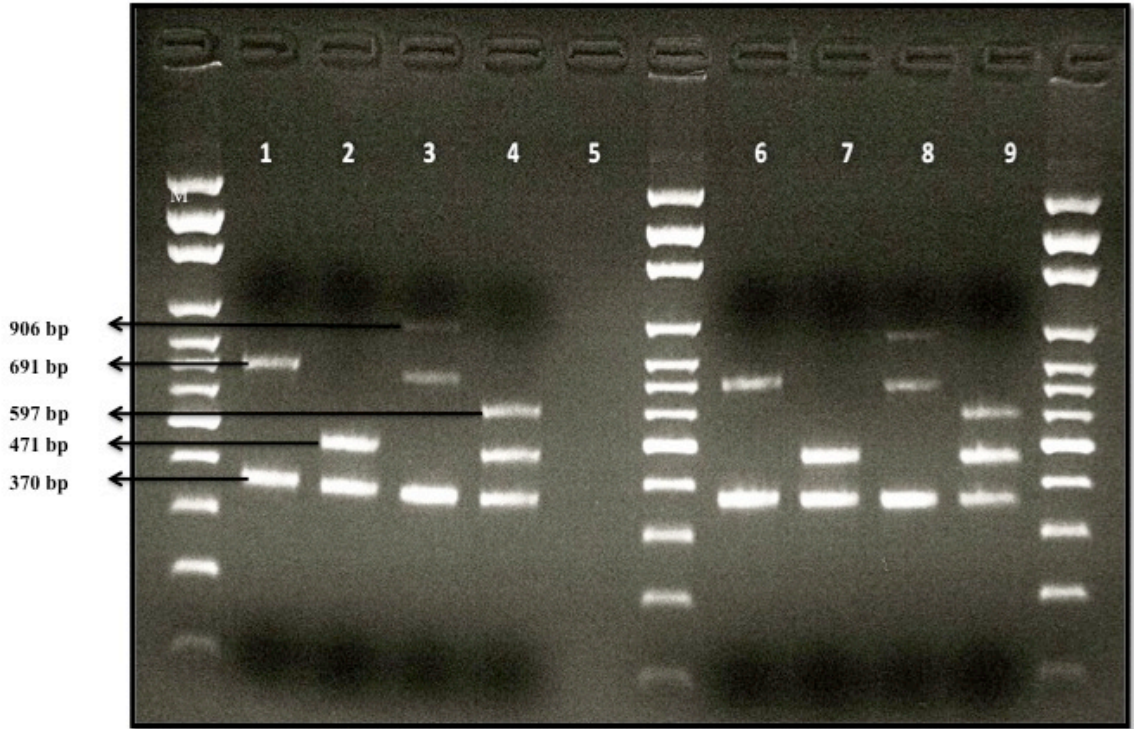


**Şekil 16.** *ORF2819* gen bölgesi (471 bp) hedeflenen PCR analizinin elektroforez sonuçları **M:**100 bp DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* RSKK 472, serotip 1/2b), **2:** Negatif kontrol, **3 – 11:** *ORF2819* pozitif *L. monocytogenes* izolatları





**Şekil 17.** *prs* gen bölgesi (370 bp) hedeflenen PCR analizinin elektroforez sonuçları **M:**100 bp DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* ATCC 7644), **2:** Negatif kontrol, **3 – 11:** *prs* pozitif *L. monocytogenes* izolatları

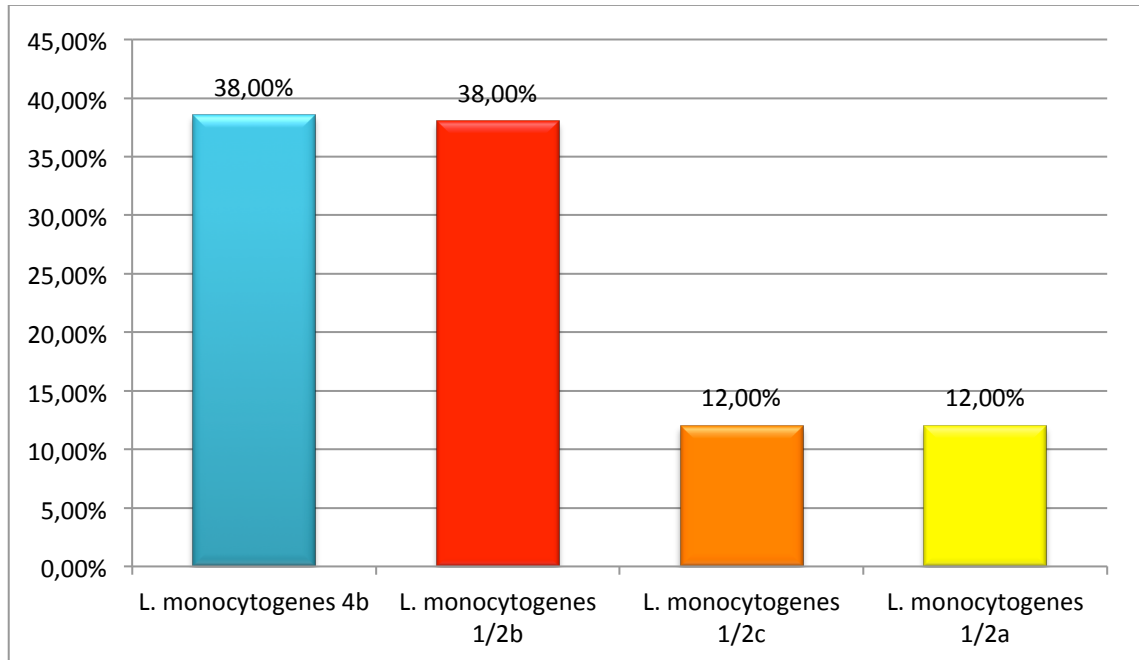


**Şekil 18.** Tüm serotiplerin aynı jel üzerindeki elektroforez görüntüsü **M:**100 bp DNA ladder, **1:** *L. monocytogenes* 1/2a (3a), **2:** *L. monocytogenes* 1/2b (3b), **3:** *L. monocytogenes* 1/2c (3c), **4:** *L. monocytogenes* 4b (4d, 4e) ve **5:** Negatif kontrol, **6 – 9:** Pozitif izolatlar

*L. monocytogenes* izolatlarının Doumith ve ark. (2004) tarafından bildirilen yöntemle göre yapılan değerlendirmesinde Şekil 17’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 çift bant veren izolatlar 1/2c (veya 3c), 471 ve 597 bp’de çift bant veren izolatlar 4b (veya 4d, 4e) olarak değerlendirildi. *Listeria* türlerinin tamamı prs geni içerdiği için tüm izolatlarda 370 bp’de bant görüntüledi.

Yapılan bu değerlendirmeler sonucunda çiğ süt ve süt ürünlerinden elde edilen toplam 52 *L. monocytogenes* izolatının 20 tanesi (% 38) *L. monocytogenes* 4b (4e, 4d), 20 tanesi (% 38) *L. monocytogenes* 1/2b (3b), 6 tanesi (% 12) *L. monocytogenes* 1/2c (3c) ve 6 tanesi (% 12) *L. monocytogenes* 1/2a (3a) olarak serotiplendirildi (Şekil 19). Bu serotiplerin süt ve süt ürünlerindeki dağılımı ise; çiğ süttten elde edilen 25 izolatın 20 tanesinin *L. monocytogenes* 4b (4e, 4d), 5 tanesinin ise *L. monocytogenes* 1/2b (3b) olduğu tespit edildi (Tablo 20, Şekil 20). Süt ürünlerinden elde edilen 27 izolatın serotip dağılımına bakılacak olursa, beyaz peynirden elde edilen 1 izolatın *L. monocytogenes* 1/2c (3c), kuymak peynirinden elde edilen 10 izolatın tamamı *L. monocytogenes* 1/2b (3b), çökelekten elde edilen izolatların 5 tanesi *L. monocytogenes* 1/2b (3b), 2 tanesi ise *L. monocytogenes* 1/2a (3a) ve köy peynirinden elde edilen izolatların 4 tanesi *L. monocytogenes* 1/2a (3a), 5 tanesi ise *L. monocytogenes* 1/2c (3c) olarak serotiplendirildi (Tablo 18, Şekil 21).

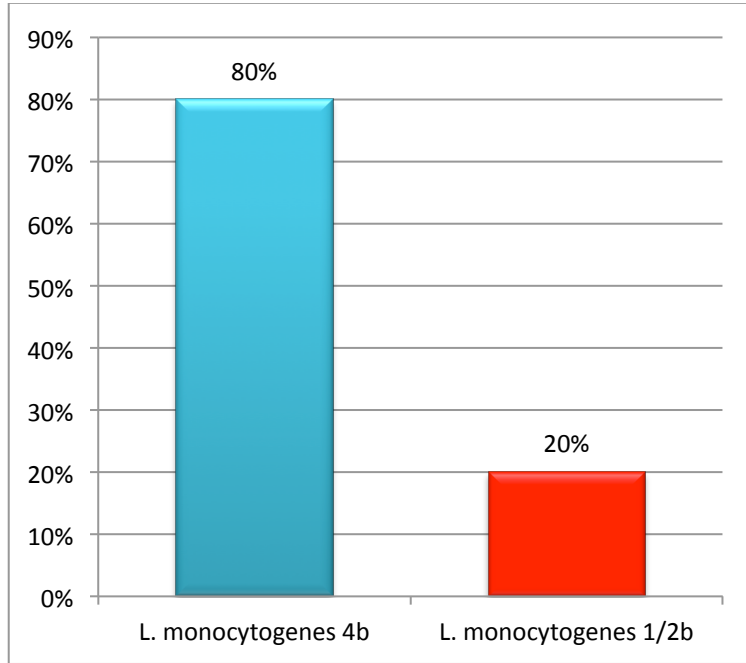


Şekil 19. *L. monocytogenes* izolatlarının serotip dağılımları

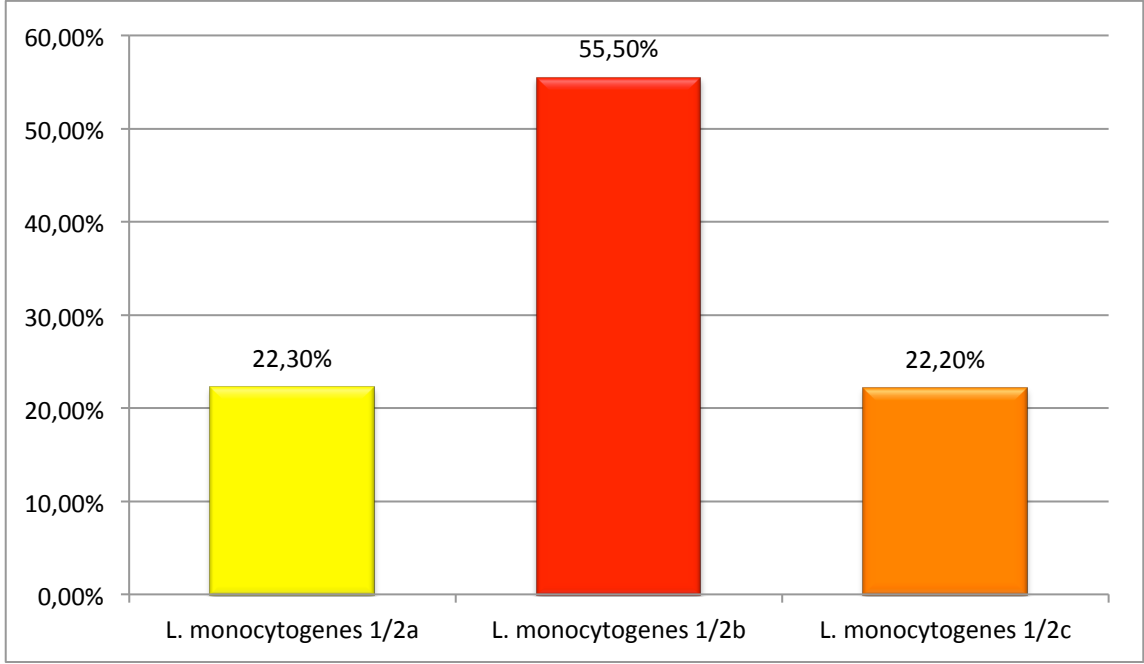
**Tablo 18.** Elde edilen izolatların serotip dağılımı

	<b>İzolat Sayısı</b>	<b>Serotip Dağılımı</b>	<b>Serotip Dağılım Oranı (%)</b>
<b>Çiğ süt</b>	20	4b (4d, 4e)	(% 38)
	5	1/2b (3b)	(% 9,6)
<b>Beyaz Peynir</b>	1	1/2c (3c)	(% 1,9)
<b>Kuymak Peyniri</b>	10	1/2b (3b)	(% 19)
<b>Çökelek</b>	5	1/2b (3b)	(% 9,6)
	2	1/2a (3a)	(%3.8)
<b>Köy Peyniri</b>	4	1/2a (3a)	(%7.6)
	5	1/2c (3c)	(% 9,6)

\*% Oranlar toplam 52 izolat üzerinden hesaplandı



**Şekil 20.** Çiğ süttten elde edilen izolatların serotip dağılımları



Şekil 21. Süt ürünlerinden elde edilen izolatların serotip dağılımları

#### 4.5 *Listeria monocytogenes* İzolatlarının Antibiyotik Dirençlilik Sonuçları

##### 4.5.1 Disk Difüzyon Testi Sonuçları

Disk Difüzyon testi sonucunda, 52 izolatın 8 tanesinin (% 15,3) bir antibiyotiğe, 19 tanesinin (% 36,5) de birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği belirlendi. Ayrıca 25 izolatında (% 48,2) herhangi bir antibiyotiğe karşı dirençli olmadığı saptandı.

Çiğ süttten elde edilen 25 izolatın, 1 tanesi (% 4) ampisiline, 6 tanesi (% 24) kloramfenikole, 3 tanesi (% 12) oksitetrasikline, 6 tanesi (% 24) penisilin G'ye, 6 tanesi (% 24) tetrasikline dirençli bulundu. Bunun yanı sıra çiğ süttten elde edilen izolatlarda amoksisilin/klavulanik asit, eritromisin ve vankomisin dirençliliği saptanmadı.

Süt ürünlerinden elde edilen 27 izolatın, 4 tanesi (% 14,8) ampisiline, 2 tanesi (% 7,4) amoksisilin/klavulanik asite, 5 tanesi (% 18,5) eritromisine, 7 tanesi (% 25,9) kloramfenikole, 7 tanesi (% 25,9) oksitetrasikline, 6 tanesi (% 22,2) penisilin G'ye, 12 tanesi (% 44,4) tetrasikline, 7 tanesi (% 25,9) vankomisine dirençli bulundu. Süt ve süt

ürünlerinden elde edilen tüm *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik sonuçları Tablo 19’da gösterildi.

**Tablo 19.** *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik sonuçları,

Antibiyotik Diski	İzolat Sayısı (% Oranı)		
	Dirençli	Orta Dirençli	Duyarlı
Amoksisilin/Klavulanik asit	2 (3,8)	-	50 (96,2)
Ampisilin	5 (9,6)	6 (11,5)	41 (78,9)
Kloramfenikol	13 (25)	14 (26,9)	25 (48,1)
Eritromisin	5 (9,6)	10 (19,2)	37 (71,2)
Oksitetrasiklin	10 (19,2)	5 (9,6)	37 (71,2)
Penisilin G	12 (23)	-	40 (77)
Tetrasiklin	18 (34,6)	2 (3,8)	32 (61,6)
Vankomisin	7 (13,4)	10 (19,2)	35 (67,3)

*L. monocytogenes* serotiplerinin antibiyotik direnç dağılımlarına bakacak olursak; çiğ süttten elde edilen 20 adet *L. monocytogenes* 4b izolatının 1 tanesi (% 5) ampisiline, 6 tanesi (% 30) kloramfenikole, 3 tanesi (% 15) oksitetrasikline, 2 tanesi (% 10) penisilin G’ye, 6 tanesi (% 30) tetrasikline dirençli bulundu. Bunun yanı sıra bu 20 *L. monocytogenes* 4b izolatında amoksisilin/klavulanik asit, eritromisin ve vankomisin dirençliliği saptanmadı. Yine çiğ süttten elde edilen 5 adet *L. monocytogenes* 1/2b izolatının 4 tanesi (% 80) penisilin G’ye dirençli bulundu. Fakat bu izolatlarda amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, eritromisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, tetrasiklin, vankomisin dirençliliği saptanmadı.

Süt ürünlerinden elde edilen 6 *L. monocytogenes* 1/2a izolatının 1 tanesi (% 16,6) eritromisine, 2 tanesi (% 33,2) oksitetrasikline, 2 tanesi (% 33,2) tetrasikline, 1 tanesi (% 16,6) vankomisine dirençli bulundu. Fakat bu izolatlarda amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, kloramfenikol, penisilin G dirençliliği saptanmadı. Elde edilen 15 adet süt ürünü orijinli *L. monocytogenes* 1/2b izolatının 1 tanesi (% 6,6) amoksisilin/klavulanik asite, 4 tanesi (% 26,4) ampisiline, 5 tanesi (% 33) kloramfenikole, 2 tanesi (% 13,2) eritromisine, 3 tanesi (% 19,8) oksitetrasikline, 4 tanesi (% 26,4) penisilin G’ye, 7 tanesi (% 46,2) tetrasikline, 6 tanesi (% 39,6) vankomisin’e dirençli bulundu. Son olarak yine süt ürünlerinden elde edilen 6 adet *L.*

*monocytogenes* 1/2c izolatının 1 tanesi (% 16,6) amoksisilin/klavulanik asite, 2 tanesi (% 33,2) eritromisine, 2 tanesi (% 33,2) kloramfenikole, 2 tanesi (% 33,2) oksitetrasikline, 2 tanesi (% 33,2) penisilin G'ye, 3 tanesi (% 50) tetrasikline dirençli bulundu. Fakat bu izolatlarda amoksisilin/klavulanik asit ve vankomisin dirençliliği saptanmadı. Süt ve süt ürünlerinden elde edilen tüm *L. monocytogenes* serotiplerinin antibiyotik direnç dağılımları Tablo 20'de gösterildi.

**Tablo 20.** *Listeria monocytogenes* serotiplerinin antibiyotik dirençlilik dağılımları

Antibiyotik Diski	1/2a (3a) n:6			1/2b (3b) n:20			1/2c (3c) n: 6			4b (4d, 4e) n: 20		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<b>Amoksisilin/Klavulanik Asit</b>	-	-	6	1	-	19	1	-	5	-	-	20
<b>Ampisilin</b>	-	-	6	4	4	12	-	2	4	1	-	19
<b>Kloramfenikol</b>	-	1	5	5	10	5	2	-	4	6	3	11
<b>Eritromisin</b>	1	1	4	2	6	12	2	-	4	-	3	17
<b>Oksitetrasiklin</b>	2	-	4	3	3	14	2	-	4	3	2	15
<b>Penisilin G</b>	-	-	6	8	-	12	2	-	4	2	-	18
<b>Tetrasiklin</b>	2	-	4	7	1	12	3	-	3	6	1	13
<b>Vankomisin</b>	1	1	4	6	5	9	-	-	6	-	4	16

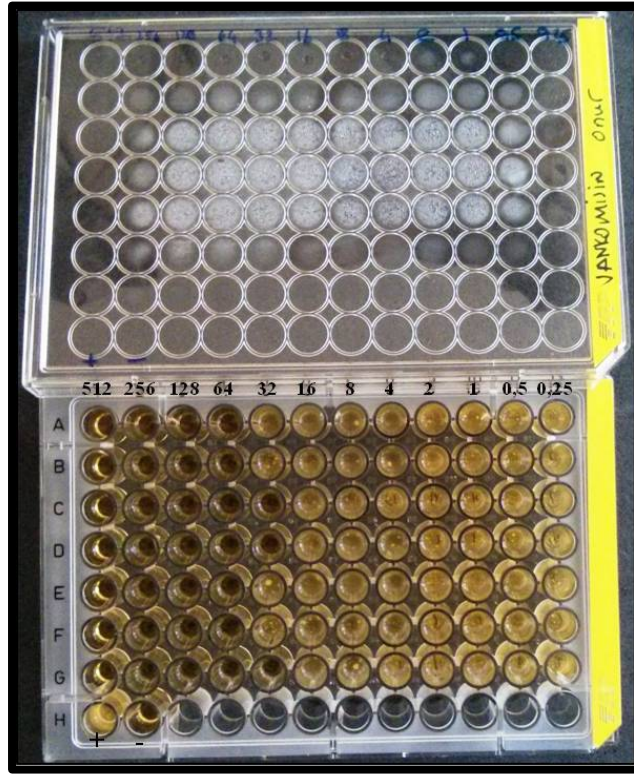
R: Dirençli, I: Orta Dirençli, S: Duyarlı, n: izolat sayısı

#### 4.5.2 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Testi Sonuçları

Çalışmamızda elde ettiğimiz 52 *L. monocytogenes* izolatının 27 tanesinin Tablo 21'de belirtilen 8 antibiyotiğe karşı tekli veya çoklu olarak dirençli olduğu disk difüzyon yöntemiyle belirlendi ve daha sonra bu izolatların MİK analizleri yapıldı (Şekil 22).

**Tablo 21.** Antibiyotiklere karşı dirençli izolat sayısı

Antibiyotik Türü	Dirençli İzolat Sayısı
Amoksisilin/Klavulanik asit	2
Ampisilin	5
Kloramfenikol	13
Eritromisin	5
Oksitetrasiklin	10
Penisilin G	12
Tetrasiklin	18
Vankomisin	7



**Şekil 22.** Vankomisin'e ait MİK analizinin ELISA mikroplağındaki görünümü

**A:** Süt ürünü 81 B (MİK değeri: 32 µg/ml, dirençli), **B:** Süt ürünü 81 C (MİK değeri: 32 µg/ml, dirençli), **C:** Süt ürünü 109 A (MİK değeri: 16 µg/ml, dirençli), **D:** Süt ürünü 109 B (MİK değeri: 16 µg/ml, dirençli), **E:** Süt ürünü 109 C (MİK değeri: 32 µg/ml, dirençli), **F:** Süt ürünü 109 D (MİK değeri: 32 µg/ml, dirençli), **G:** Süt ürünü 110 A (MİK değeri: 16 µg/ml, dirençli), **H1:** Pozitif kontrol, **H2:** Negatif kontrol

MİK testi sonuçları NCCLS (M31-A3/2010)'te belirtilen limitlere göre değerlendirildi. Bu limitler, amoksisilin/klavulanik asit (AMC) için 16 µg/ml ve üzeri, ampisilin (AMP) için 2 µg/ml üzeri, eritromisin (E) için 2 µg/ml ve üzeri, kloramfenikol (C) için 32 µg/ml ve üzeri, oksitetrasiklin (OX) için 16 µg/ml ve üzeri, penisilin G (P) için 2 µg/ml üzeri, tetrasiklin (TET) ve vankomisin (V) için de 16 µg/ml ve üzeri olarak belirlenmiştir.

Bizim çalışmamızda elde edilen izolatların MİK değerleri, NCCLS (M31-A3/2010)'de belirtilen limitlerle karşılaştırıldığında, amoksisilin/klavulanik aside dirençli izolatların tamamının MİK değerleri 32 µg/ml, ampisiline dirençli 5 izolatın 4'ünün MİK değeri 16 µg/ml, birinin MİK değeri ise 8 µg/ml, kloramfenikole dirençli izolatların tamamının MİK değerleri 32 µg/ml, eritromisine dirençli 5 izolatın 3'ünün MİK değeri 16 µg/ml, 2'sinin MİK değeri ise 8 µg/ml, oksitetrasikline dirençli 10 izolatın 8'inin MİK değeri 32 µg/ml, 2'sinin MİK değeri ise 16 µg/ml, penisilin G'ye dirençli 12 izolatın 3'ünün MİK değeri 16 µg/ml, 9'unun MİK değeri ise 8 µg/ml, tetrasikline dirençli 18 izolatın 11'inin MİK değeri 32 µg/ml, 7'sinin MİK değeri ise 16 µg/ml, vankomisine dirençli 7 izolatın 4'ünün MİK değeri 32 µg/ml, 3'ünün MİK değeri ise 16 µg/ml olarak tespit edilmiştir. MİK testine ait bulgular ve NCCLS (M31-A3/2010)'te belirtilen test limitleri Tablo 22'te gösterilmiştir.



**Tablo 22.** Süt ve süt ürünlerinden elde edilen *L.monocytogenes* izolatlarının bazı antibiyotiklere karşı MİK testi sonuçları (µg/ml)

İzolot no	Kaynak	Serotip	AMC			AMP			C			E			OX			P			TET			V				
			S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R		
			<4	8	≥16	<	2	≥	8	<	16	≥32	0.5	<	1	≥2	4	<	8	≥16	<2	-	-	<4	8	≥16	<4	8
SÜ 3 A	Köy Peyniri	1/2c			32																							
SÜ 3 B	Köy Peyniri	1/2c											8															
SÜ 3 C	Köy Peyniri	1/2c								32																		
SÜ 3 D	Köy Peyniri	1/2c												16														
SÜ 3 E	Köy Peyniri	1/2c								32																		
SÜ 81 B	Kuymak Peyniri	1/2b								32					8													32
SÜ 81 C	Kuymak Peyniri	1/2b																										32
SÜ 81 D	Kuymak Peyniri	1/2b																										16
SÜ 81 E	Kuymak Peyniri	1/2b			32																							16
SÜ 108 D	Çökelek	1/2a													16													32
SÜ 109 A	Kuymak Peyniri	1/2b								16																		32
SÜ 109 B	Kuymak Peyniri	1/2b								16																		32
SÜ 109 C	Kuymak Peyniri	1/2b								16																		32
SÜ 109 D	Kuymak Peyniri	1/2b								16																		32
SÜ 110 A	Köy Peyniri	1/2a																										16
SÜ 110 C	Köy Peyniri	1/2a																										16
Süt 26 A	Pazar yeri	1/2b																										8
Süt 26 B	Pazar yeri	1/2b																										8
Süt 26 D	Pazar yeri	1/2b																										8
Süt 26 E	Pazar yeri	1/2b																										8
Süt 29 C	Pazar yeri	4b																										32
Süt 29 D	Pazar yeri	4b																										32
Süt 29 E	Pazar yeri	4b																										8
Süt 44 B	Pazar yeri	4b																										32
Süt 44 C	Pazar yeri	4b								8																		32
Süt 44 D	Pazar yeri	4b																										32
Süt 44 E	Pazar yeri	4b																										32

\* SÜ: Süt Ürünü, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, AMP: Ampisilin, C: Kloramfenikol, E: Eritromisin, OX: Oksitetrasiklin, P: Penisilin G, TET: Tetrasiklin, V: Vankomisin. R: Dirençli, I: Orta, S: Duyarlı

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, Samsun İl Merkez'inde kurulan semt pazarlarından, çevre köylerdeki yetiştiricilerden ve çeşitli satış noktalarından toplanan çiğ süt örneklerinin % 5'inden (5/100), süt ürünü örneklerinin ise % 8,18'inden (9/110) *L. monocytogenes* izole edilmiştir.

Çalışmamızda çevre köylerdeki yetiştiricilerden alınan 50 süt numunesinin 1 tanesinde *L. monocytogenes* pozitif bulunmuştur. Yaptığımız gözlemler sonucunda sütleri temin ettiğimiz köylerdeki yetiştiricilerin barınaklarının genel hijyenik koşullarının iyi olmadığı, meme, personel ve sağım hijyenine dikkat edilmediği belirlenmiştir. Buna karşılık hayvanlarda herhangi bir klinik belirti dikkatimizi çekmemiştir. *L. monocytogenes* pozitif tespit edilen yetiştiricinin hijyenik açıdan ve genel durum itibariyle diğer yetiştiricilerden farklı olmadığı gözlemlenmiştir. Ancak *L. monocytogenes*'in tespit edilmiş olması, numunenin alındığı sağmal inekte sporadik, subklinik veya kronik bir enfeksiyonunun varlığına bağlanabilir.

Çeşitli pazar yerlerinden temin ettiğimiz 50 süt örneğinin 4 tanesinde *L. monocytogenes* pozitif bulunmuştur. Bu süt örneklerinin 2,5 litrelik pet şişelerde satışa sunulduğu görülmüş, şişelerin birden fazla kullanıldıkları hem dış görünüşlerindeki yıpranmışlıktan hem de satıcıların şişeleri geri istemelerinden anlaşılmıştır. Pazarlardan alınan süt numunelerinin ısıtılma işlemi görmeden satışa sunulduğu satıcılar tarafından ifade edilmiştir. Ayrıca yaptığımız laboratuvar analizleri sonucunda da sütlerin ısıtılma işlemi görmediği doğrulanmıştır. Satış noktalarında satıcıların sütleri soğuk zincir kurallarına uymadan tezgahların üzerinde veya önünde gün boyu ortam sıcaklığında beklettiği gözlemlenmiştir. Bu kapsamda ürünlerde mevcut mikroorganizma yükünün artabildiği göz önüne alınmalıdır.

Çalışmamızda semt pazarları ve satış noktalarından temin ettiğimiz numunelerde *L. monocytogenes* kontaminasyonunun, yetiştiricilerden temin edilen numunelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum, numunelerin üretimi, uygun olmayan şartlarda depolanması ve satışı sırasında meydana gelebilecek çapraz kontaminasyonlara bağlanabilir. Yetiştiricilerden temin edilen numunelerin sadece bir tanesinde *L. monocytogenes* kontaminasyonu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda çiğ sütte *L. monocytogenes* insidensi % 5 olup bizim bulgularımıza benzer olarak Kalorey ve ark. (2008) Hindistan'da yaptıkları çalışmada çiğ sütte *L. monocytogenes*'in insidensini % 5,1 olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde İsviçre'de 1990-1999 yılları arasında Pak ve ark. (2002) tarafından yapılan bir araştırmada 76.271 adet süt örneğinde % 4,9 oranında *L. monocytogenes* tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışma bulgularımızdan yüksek olarak Carlos ve ark. (2001) tarafından Meksika'da yapılan çalışmada ise 1300 süt örneğinin % 13 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Navratilova ve ark. (2004) tarafından Çek Cumhuriyeti'nde yapılan çalışmada ise çiğ sütte *L. monocytogenes* insidensi % 7,39 (31/419) olarak bildirmiştir. Buna ilave olarak 2002 yılında ABD'nde süt toplama tanklarından toplanan 861 çiğ süt örneğinde % 6,5 oranında *L. monocytogenes* izole edildiği rapor edilmiştir (Van Kessel ve ark., 2004). Çalışma bulgularımızdan farklı olarak ise Aygün ve Pehlivanlar (2006) ise Antakya yöresinden temin ettikleri 47 çiğ süt numunesinde *L. monocytogenes* tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, çiğ sütte *L. monocytogenes* insidensleri arasında meydana gelen farklılıklar temin edilen sütlerin hijyenik kalitesine, uygun olmayan muhafaza ve nakliye şartlarına, kullanılan analiz metoduna, coğrafi yapı ve iklimsel koşullara bağlanabilir.

Çalışmamızda semt pazarlarından temin ettiğimiz süt ürünlerinin genellikle leğenlerde ve üzerleri naylon brandalar veya kesilmiş cam parçaları ile örtülü şekilde satıldığı gözlemlenmiştir. Pazarlardaki satıcılar ile yaptığımız görüşmeler sonucunda peynirlerin yapımı sırasında sütü ısıtma işlemi tabii tutmadıklarını, yalnızca mayalama derecesine kadar ısıtıp mayaladıklarını ifade etmişlerdir, bazıları ise bu konu hakkında bilgi sahibi olmadıklarını söylemişlerdir. Ayrıca gözlemlerimiz sonucunda süt ürünlerinin de aynı çiğ sütlerde olduğu gibi soğuk zincir kurallarına uyulmadan, ortam sıcaklığında gün boyu bekletilerek pazarlandığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda beyaz peynirde *L. monocytogenes*'in insidensi % 5 olup bulgularımıza benzer olarak Kahraman ve ark. (2010b) İstanbul'da temin ettikleri beyaz peynirlerde *L. monocytogenes* insidensini % 4,8 olarak bildirmişlerdir. Gülmez ve Güven (2001) Kars İlinden temin ettikleri taze peynirlerde *L. monocytogenes*'i % 5 oranında bulurken salamura beyaz peynirlerden etkeni izole edememişlerdir. Çalışma

bulgularımızdan yüksek olarak Akkaya ve Alişarlı (2006) Afyonkarahisar'da semt pazarlarından temin ettikleri 100 adet beyaz peynir örneğinde % 6 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışma bulgularımızdan düşük olarak ise Aygün ve Pehlivanlar (2006) Antakya'da beyaz peynirlerde *L. monocytogenes*'in insidensini % 2,35 oranında bildirirken, Ceylan ve Demirkaya (2007) Erzurum piyasasında açıkta ve ambalajsız olarak satılan beyaz peynirlerde *L. monocytogenes*'i % 3,45 oranında, Kara ve ark. (1999) ise Erzurum'da satışa sunulan beyaz peynirde *L. monocytogenes*'i % 2,94 tespit ettiklerini bildirmişlerdir. De Reu ve ark. (2002) Belçika'da çiğ süttten üretilen yarı sert peynirlerden aldıkları numunelerde % 2,80 oranında *L. monocytogenes* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmalar arasında meydana gelen bu farklılıklar, alınan numunelerin hijyenik kalitesine, semt pazarlarının hijyenik koşullarına, ürünlerin satışı ve muhafazası sırasında oluşabilecek çapraz kontaminasyonlara, üretim teknolojileri arasında olabilecek farklılıklara ve sütün ısı işlem görmeden işlenmesine bağlanabilir.

Çalışmamızda kaşar peynirlerde *L. monocytogenes* izole edilememiştir. Çalışma bulgularımızdan farklı olarak Kahraman ve ark. (2010b) İstanbul'da topladıkları kaşar peynirlerinde % 1,7 oranında, Çağrı-Mehmetoğlu ve ark. (2011) ise Sakarya'da kaşar üretim tesisinden temin ettikleri kaşar peynirlerinde % 2,61 oranında *L. monocytogenes* ile izole ettiklerini bildirilmişlerdir. Ortaya çıkan bu durum, kaşar peynirinin üretimi sırasında ısı işlem görmesine rağmen ürünlerin depolanması ve satışı sırasında meydana gelen çapraz kontaminasyonlar ile üretimde uygulanan ısı işlem sırasında meydana gelebilecek hatalara bağlanabilir.

Çalışmamızda kuymak peynirinde *L. monocytogenes* insidensi % 30 oranında bulunmuştur. Karadeniz Bölgesi'nde üretilen kuymak peyniri, yapım teknolojisi bakımından Erzurum civil peyniri ve Diyarbakır örgü peynirine benzerlik göstermektedir. Çalışma bulgularımızdan daha düşük olarak Kara ve ark. (1999) Erzurum'da satışa sunulan civil peynirlerinde *L. monocytogenes* insidensini % 6,25 oranında, Vural ve ark. (2010) ise Diyarbakır yöresinden temin ettikleri 105 örgü peynirinde *Listeria* spp. insidensini % 2,86 oranında bildirmişlerdir. Bu farklılık, kuymak peyniri yapımı sırasında sütün ısı işlem görmeden işlenmesine, peynirlerin

üretim teknolojileri arasındaki farklılıklara ve hammadde olarak kullanılan sütün hijyenik kalitesine bağlanabilir.

Çalışmamızda, çökelekte *L. monocytogenes* insidensi % 30 oranında bulunmuştur. Çalışma bulgularımızdan farklı olarak Çetinkaya ve ark. (1999) Elazığ yöresinden temin ettikleri, Kum ve ark. (2011) ise Kayseri yöresinden temin ettikleri çökelek örneklerinin hiçbirinde *L. monocytogenes* tespit edememişlerdir. Belirlenen bu durum, üretim sırasında veya sonrasında meydana gelen kontaminasyonlara, üretim aşamalarının yöresel veya bölgesel farklılıklar içerebilmesine, üretim, muhafaza ve satışın yetersiz hijyenik koşullar altında yapılmasına bağlanabilir.

Çalışmamızda köy peynirinde *L. monocytogenes* insidensi % 20 oranında bulunmuştur. Köy peyniri olarak adlandırılan peynirlerin yapım teknolojisi yöreden yöreye değişmekle birlikte Karadeniz Bölgesi'nde köy peyniri olarak satılan peynirler sepet veya imansız peynirine benzemektedir. Çalışma bulgularımızdan farklı olarak Büyükyörük ve Göksoy (2011), Aydın İli semt pazarlarında satışa sunulan ve geleneksel metodlarla üretilen köy peynirlerinde *Listeria* türü bakterileri % 12 oranında tespit ettiklerini ancak *L. monocytogenes*'i izole edemediklerini rapor etmişlerdir. Arslan ve Özdemir (2008) Bolu yöresinden temin ettikleri ev yapımı köy peynirlerinde *L. monocytogenes* insidensinin % 9,2 (13/142) oranında olduğunu bildirmişlerdir. Kum ve ark. (2011), Kayseri yöresinden temin ettikleri köy peynirinde ise etkeni izole edemediklerini bildirmişlerdir. Çalışmalar arasında tespit edilen bu farklılıklar, peynirlerin yapım aşamalarındaki yöresel farklılıklara, bazı yörelerde bu peynirlerin salamura içinde muhafaza edilmesine, geleneksel olarak ev ortamında olumsuz hijyenik koşullar altında ve starter kültür kullanılmadan üretilmelerine, hammaddenin farklı kontaminasyon düzeyleri ile semt pazarlarındaki farklı çevresel koşullara bağlanabilir.

Silva ve ark. (1998) Brezilya'da topladıkları 103 ev yapımı peynir örneğinde *L. monocytogenes*'i % 10,6 oranında izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Makino ve ark. (2005) 2001 yılında Japonya'da meydana gelen bir listeriozis salgınını takiben topladıkları 123 geleneksel peynir örneğinde *L. monocytogenes*'i % 12 oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir. Mena ve ark., (2004) Portekiz'de pastörize süttten üretilen peynirlerde etkeni % 1,6 oranında tespit etmişler ancak taze peynirlerde bu oranın % 4'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, toplanan bu örneklerin *L. monocytogenes*

ile kontamine olmasını numunelerin geleneksel yöntemler ile yeterince ısıtılma işlemi görmeden, “ev yapımı” şeklinde üretilmelerine ve uygun olmayan saklama ve pazarlama koşullarına bağlı olarak gerçekleşen çapraz kontaminasyona bağlamışlardır.

Geleneksel peynirlerle yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde, Güner ve Telli (2011) Konya’da satışa sunulan Van otlu peynirinde *L. monocytogenes* insidensini % 30, Carra peynirinde % 46,6, Konya küflü peynirinde ise % 23,3 olarak bildirmişlerdir. Gülmez ve Güven (2001) Kars İlinden topladıkları çeçil peynirinde *L. monocytogenes*’i % 2,5, Kum ve ark. (2011), Kayseri’de semt pazarlarından temin ettikleri çömlek peynirlerinde etkeni % 22,7, tel peynirlerinde % 14,2 ve lor peynirlerinde ise % 20 olarak bildirmişlerdir.

Ülkemizde Çolak ve ark. (2007a) İstanbul’da çeşitli satış noktaları ve pazarlardan temin ettikleri tulum peynirlerinde *L. monocytogenes*’in prevalansını % 4,8 (12/250) oranında bildirmişlerdir. Bu durum numunelerinin düşük mikrobiyel kaliteye sahip olmasına ve üretim sırasında sütün ısıtılma işlemi görmeden kullanılmasına bağlanabilir.

Çalışmamıza benzer şekilde Aygün ve Pehlivanlar (2006) topladıkları tereyağı numunelerinde *L. monocytogenes*’i tespit edemediklerini bildirmişler ve ortaya çıkan bu durumu numunelerin düşük asiditeye sahip olmasına bağlamışlardır. Ancak çalışma bulgularımızdan farklı olarak Lyytikäinen ve ark. (2000) Finlandiya’da ortaya çıkan bir listeriosis vakasında sorumlu gıdanın tereyağı olduğunu bildirilmişler ve etkenin yağ molekülleri içerisinde saklanarak hatalı pastörizasyondan canlı kurtulabileceğini belirtmişlerdir.

Rahimi ve ark. (2010) İran’da inceledikleri 28 dondurma numunesinde çalışmamıza benzer şekilde *L. monocytogenes*’i izole edemediklerini bildirmişler. Aynı şekilde Keskin ve ark. (2007) İstanbul’da analiz ettikleri 55 dondurma örneğinde etkeni izole edemediklerini bildirmişlerdir. Fakat çalışmamızdan farklı olarak Gönülalan ve Gönülalan (2010) Kayseri’de ambalajsız olarak açıkta satışa sunulan 50 dondurma numunesinin 4’ünde (% 8) *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu durum işlem sırasında tahrip olmuş *L. monocytogenes*’lerin zenginleştirme sırasında

çoğalamamasına bağlanabileceği gibi ürünün ham maddesinde bu mikroorganizmanın hiç bulunmamasına da bağlanabilir.

Çalışmamızda incelenen 52 izolatın, % 38'i *L. monocytogenes* 4b, % 38'i *L. monocytogenes* 1/2b, % 12'si *L. monocytogenes* 1/2c ve % 12'si *L. monocytogenes* 1/2a olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda 4b ve 1/2b serotiplerinin % 38 oranında dominant serotipler olduğu görülmüştür. Bunları % 12 oranında tespit edilen 1/2a ve 1/2c serotipleri izlemektedir. Çalışmamızda *L. monocytogenes* 4b serotipinin dominant olarak izole edilmesi bu serotipin insanlara özgü konak spesifik olmasına ve ayrıca 4b serotipinin soğuk depolama koşullarına daha dayanıklı olmasından kaynaklanmış olabilir (Buncic ve ark., 2001; Swaminathan, 2007). Carlos ve ark. (2001) 1300 süt örneğinden elde ettikleri 169 *L. monocytogenes* izolatının % 45'inin *L. monocytogenes* 4b olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Van Kessel ve ark. (2004) ABD'nin çeşitli bölgelerindeki süt toplama tanklarından izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarında benzer şekilde 1/2b ve 4b serotiplerinin dominant olduğunu tespit etmişlerdir.

Hofer ve ark. (2000) Brezilya'da 1971 - 1997 yılları arasında yaptıkları çalışmada 70 süt ürünü orijinli *L. monocytogenes* izolatında 4b serotipinin ilk sırada olduğunu bunu *L. monocytogenes* 1/2a ve *L. monocytogenes* 1/2b'nin takip ettiği bildirilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da ilk sırada *L. monocytogenes* 4b ve 1/2b izole edilmiştir.

Makino ve ark. (2005) peynir numunelerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının serotip dağılımının belirlenmesi sonucu benzer şekilde *L. monocytogenes* 1/2b serotipinin dominant olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda peynir numunelerinde 1/2b serotipi ilk sırada belirlenmiştir.

Ülkemizde, Erol ve Şireli (1999) Ankara'da satışa sunulan donmuş tavuk karkaslarında *L. monocytogenes*'i % 30 oranında izole etmişlerdir. Yaptıkları serotiplendirme çalışması sonucunda % 73 oranında *L. monocytogenes* 1/2a serotipini dominant olarak belirlemişler ve bunu 1/2b, 1/2c ve 4b'nin izlediğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ise araştırmacıların aksine 4b serotipi 1/2a'ya göre baskın tespit edilmiştir. Bu durum farklı gıda matrislerinin kullanılmasına bağlanabilir. Ayrıca, Ayaz ve Erol (2011) çalışmalarından 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. Benzer şekilde çalışmamızda ilk sırada 4b serotipi tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, elde ettiğimiz izolatların 18 tanesi (% 34,61) tetrasikline, 13 tanesi (% 25) kloramfenikole, 12 tanesi (% 23,07) penisilin G'ye, 10 tanesi (% 19,2) oksitetrasikline, 7 tanesi (% 13,4) vankomisine, 5 tanesi (% 9,6) ampisiline, 5 tanesi (% 9,6) eritromisine ve 2 tanesi (% 3,8) amoksisilin/klavulanik aside karşı direnç kazandığı belirlenmiştir.

Walsh ve ark. (2001) İrlanda, Dublin'de yaptıkları çalışmada, elde ettikleri 351 *L. monocytogenes* izolatının çalışmamıza benzer şekilde ampisilin, eritromisine, penisilin ve tetrasikline karşı yüksek düzeyde dirençli olduğunu fakat vankomisine karşı ise düşük düzeyde dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Davis ve Jackson (2009) Amerika Birleşik Devletleri'nde yaptıkları çalışmada, elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının antimikrobiyel direnç özelliklerini Sensititre® metodunu kullanarak araştırmışlar ve çalışmamıza paralel şekilde izolatların ampisilin, penisilin G, eritromisin ve tetrasikline dirençli karşı olduğunu belirlemişlerdir.

Harakeh ve ark. (2009) Lübnan'da süt ürünlerinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının % 93,33'ünün oksasiline ve % 90'nının da penisiline karşı dirençli olduğu belirtilmiştir. Aynı 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. Çalışmamızda benzer şekilde süt ürünlerinden elde ettiğimiz izolatlarda ampisilin, penisilin oksitetrasiklin, tetrasiklin, eritromisin ve kloramfenikole karşı dirençli izolatlar tespit edilmiştir..

Ülkemizde Arslan ve Özdemir (2008) ev yapımı beyaz peynirlerden elde ettikleri *Listeria* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini disk difüzyon metodu ile araştırmış ve izolatlarının çalışmamızda da kullandığımız ampisilin, kloramfenikol, penisilin ve tetrasikline direnç gösterdiğini belirlemişlerdir. Fakat amoksisilin/klavulanik asit ve vankomisine karşı herhangi bir dirençlilik



belirleyemediklerini rapor etmişlerdir. Ancak farklı olarak çalışmamızda beyaz peynirden izole ettiğimiz izolatın kullandığımız bütün antibiyotiklere duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Bilir Ormancı ve ark. (2008) çalışmalarında elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının benzer şekilde penisilin ve ampisiline dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

Ayaz (2008) çalışmasında izole ettiği *L. monocytogenes* izolarının penisilin ve ampisiline dirençli, eritromisine orta dirençli olduğunu bildirmiştir. Ancak çalışmamızdan farklı olarak tetrasiklin, kloramfenikol ve vankomisine direnç tespit edemediğini rapor etmiştir.

Vela ve ark. (2001) İspanya’da elde ettikleri 41 *L. monocytogenes* izolatının başta penisilin G, amoksisilin/klavulanik asit, eritromisin, vankomisin, tetrasiklin ve kloramfenikol olmak üzere toplam 14 antibiyotiğe karşı dirençliliklerini araştırdıkları çalışmalarında, MİK testi sonuçlarına göre izolatlarının MİK değeri dağılımının, 3 izolatta tetrasiklin için 64 µg/ml, 8 izolatta kloramfenikol için 16 µg/ml, 5 izolatta penisilin G için 16 µg/ml düzeyinde olduğu rapor edilmiştir. Bizim bulgularımızdan farklı olarak ise araştırmacılar amoksisilin/klavulanik asit, eritromisin ve vankomisine karşı herhangi bir dirençlilik tespit edilmediğini ve bu izolatların MİK değerlerinin NCCLS (M23-A2/2001) limitlerinin altında kaldığını bildirmişlerdir.

Brezilya’da De Nes ve ark. (2010) izole ettikleri 19 *L. monocytogenes* izolatının ampisilin, eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ve vankomisine karşı MİK testlerini gerçekleştirmişler fakat izolatların çalışma bulgularımızdan farklı olarak bu antibiyotiklere karşı dirençli olmadıklarını bildirmişlerdir.

Filioussis ve ark. (2009) Yunanistan’da elde ettikleri 30 *L. monocytogenes* izolatının amoksisilin/klavulanik asit, kloramfenikol, eritromisin, penisilin G, tetrasiklin ve vankomisine karşı dirençliliklerini araştırmışlar ve antibiyotiklerin MİK değerlerini mikrodilüsyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Araştırmacılar izolatlarının 1 tanesinin tetrasikline karşı dirençli olduğunu ve bunun da MİK değerinin 64 µg/ml düzeyinde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Buna karşın diğer antibiyotiklere karşı herhangi bir dirençlilik tespit edemediklerini rapor etmişlerdir. Osaili ve ark. (2011) Ürdün’de elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının % 11’inin tetrasikline karşı dirençli olduğunu ve

MİK değerlerinin de 16 µg/ml düzeyinde belirlendiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda yukarıdaki araştırma bulgularına benzer şekilde tetrasikline dirençli 7 izolatın MİK değeri 16 µg/ml, 11 izolatın ise 32 µg/ml düzeyinde olduğu tespit edilmiştir.

Conter ve ark. (2009) İtalya'da çeşitli gıdalardan izole ettikleri 120 *L. monocytogenes* izolatının içlerinde penisilin G, ampisilin, eritromisin, vankomisin ve tetrasiklinin de bulunduğu 19 farklı antibiyotiğe karşı MİK değerlerini VITEK2 cihazı ile araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmamızdan farklı olarak penisilin ve eritromisine karşı herhangi bir dirençlilik tespit edemediklerini bildirmiş ancak izolatlarının % 2'sinin ampisiline, % 0,8'inin de tetrasikline ve vankomisine karşı dirençli olduğunu rapor etmişlerdir.

Yan ve ark. (2010) Çin'de çeşitli gıdalardan elde ettikleri 70 *L. monocytogenes* izolatının antibiyotik dirençlilik profillerini mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmışlar ve elde ettikleri bulgulara göre 14 izolatın tetrasikline, 2 izolatın ampisilin, eritromisin ve kloramfenikole, 1 izolatın da penisilin ve vankomisine karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Okada ve ark. (2011) Japonya'da izole ettikleri 201 *L. monocytogenes* izolatlarının kloramfenikol ve oksitetrasikline dirençli olduğunu fakat eritromisin ve vankomisine karşı ise dirençli olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar kloramfenikole dirençli buldukları 32 izolatın 31'inin 16 µg/ml, 1'inin ise 32 µg/ml düzeyinde MİK değerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kloramfenikole dirençli bulduğunuz 13 izolatın tamamı 32 µg/ml düzeyinde MİK değerini sahip olduğu görülmüştür. Araştırmacılar oksitetrasikline dirençli buldukları 1 izolatın MİK değerinin 64 µg/ml olduğunu belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise farklı olarak oksitetrasikline dirençli 8 izolatın 32 µg/ml düzeyinde, 2 izolatın ise 16 µg/ml düzeyinde MİK değerine sahip olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda PCR ile serotiplendirdiğimiz izolatların antibiyotik direnç dağılımlarına baktığımızda *L. monocytogenes* 1/2a'ların eritromisin, oksitetrasiklin, tetrasiklin ve vankomisine, *L. monocytogenes* 1/2b'lerin çalışmamızda kullandığımız bütün antibiyotiklere, *L. monocytogenes* 1/2c'lerin ampisilin ve vankomisin hariç

çalışmamızda kullandığımız bütün antibiyotiklere, ve *L. monocytogenes* 4b'lerin de amoksisilin/klavulanik asit, eritromisin ve vankomisin hariç hepsine ayrı ayrı dirençli olduğu belirlenmiştir.

Ayaz ve Erol (2010) çalışmaları sonucunda elde ettikleri ve Doumith ve ark. (2004) tarafından bildirilen metot ile serotiplendirdikleri *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik direnç profillerini de disk difüzyon yöntemi ile ortaya koymuşlardır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, *L. monocytogenes* 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b serotiplerinin tamamının sadece ampisilin ve penisiline dirençli olduğunu bildirmişler. Ayrıca *L. monocytogenes* 1/2a, 1/2c ve 4b serotiplerinin ise eritromisine karşı orta düzeyde dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda farklı olarak ampisilin, penisilin ve eritromisine karşı direncin yanı sıra amoksisilin/klavulanik asit, kloramfenikol, oksitetrasiklin, tetrasiklin ve vankomisine de dirençli izolatlar tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının vankomisine dirençli olmadığı belirtilirken (Rahimi ve ark., 2010). Farklı olarak çalışmamızda elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının 7 tanesi vankomisine direnç kazanmış olarak bulunmuştur. Bizim çalışma bulgularımızla benzer olarak Walsh ve ark. (2001) hazır tüketilen gıdalardan elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının 8'inin vankomisine dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca benzer şekilde Yan ve ark. (2010) Kuzey Çin'de yaptıkları bir çalışmada elde ettikleri izolatlarda vankomisin dirençliliğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun hayvancılıkta kontrolsüz antibiyotik kullanımının artmasına paralel olarak patojenlerde gelişen antibiyotik dirençliliğine bağlanabileceğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda yapılan çalışmalarla *L. monocytogenes*'in *in vivo* ve *in vitro* koşullarda antibiyotik dirençliliğinden sorumlu plazmid veya transpozonları diğer türlerle etkileşime girerek kendine transfer edebildiği de belirlenmiştir (Wang ve ark., 2006; Yan ve ark., 2010).

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.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Samsun İl Merkezi'nde kurulan semt pazarlarından, çeşitli satış noktalarından ve çevre köylerdeki yetiştiricilerden temin edilen 100 çiğ süt örneğinin 5'inin (% 5), 110 süt ürünü örneğinin de 9'unun (% 8,18) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz *L. monocytogenes* 4b ve 1/2b serotipleri insanlarda en sık hastalık oluşturan serotipler olması bakımından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda semt pazarlarından temin edilen çiğ sütler ile geleneksel metodlarla üretilen köy peyniri, kuymak peyniri ve çökelek *L. monocytogenes* açısından daha riskli bulunmuştur. Bu bağlamda pazarlarda açıkta satışa sunulan ve pastörizasyon kurallarına dikkat edilmeden üretilen bu tip ürünlerin halk sağlığı açısından tehlike oluşturabileceği anlaşılmakta ve tüketicilerin de bu tip ürünlerden kaynaklanabilecek sağlık riskleri hakkında bilinçlendirilmesi önerilmektedir.

Çalışmamızda, 52 *L. monocytogenes* izolatının antibiyotik dirençlilik testleri sonucunda 8 tanesinin (% 15,3) tek antibiyotiğe, 19 tanesinin (% 36,5) de birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Tespit edilen antibiyotik dirençliliği, tedavide yeni ve daha etkili antimikrobiyel ajanların geliştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır. Bu noktada direnç gelişmesini önlemek ve halk sağlığını korumak amacıyla hayvanlarda profilaktik amaçlı antibiyotik uygulamaları sonrasında ilacın vücuttan atılma süreleri dikkate alınarak yasal bekleme sürelerine uyulması gerekmektedir. Ayrıca bu konuda yürürlükte olan mevcut düzenlemelerin takip edilmesi önem taşımaktadır.

Son olarak, süt ürünlerinin üretilmesi sırasında hammadde olarak kullanılacak çiğ sütün etkin bir şekilde pastörize edilmesi, üretimin hijyenik kurallara bağlı kalınarak yapılması ve ürünlerin uygun depolama koşullarında muhafaza edilerek satışa sunulması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abee T, Wouters JA. Microbial stress response in minimal processing. *Int J Food Microbiol.* 1999;50:65-91.
- 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.
- Adzitey F, Huda N. *Listeria monocytogenes* in foods: Incidences and possible control measures. *African J Microbiol Res.* 2010;4(25):2848-2855.
- Ahrabi SS, Köseoğlu Ö, Kocagöz T, Ergüven S, Günalp A. Detection of *Listeria monocytogenes* in milk by the polymerase chain reaction. *Zent Bakteriöl.* 1999;289:31-36.
- Akkaya L, Alişarlı M. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* varlığının belirlenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg.* 2006;17(1-2):86-91.
- Akkaya L, Alişarlı M, Çetinkaya Z, Kara R, Telli R. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef slaughterhouse environments, equipment and workers. *J Muscle Foods.* 2008(a);19:261-274.
- Akkaya L, Çetinkaya Z, Alişarlı M, Telli R, Gök V. The prevalence of *E.coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on bovine carcasses in Turkey. *J Muscle Foods.* 2008(b);19:420-429.
- Altekruse SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging foodborne diseases. *Emerg Infect Dis.* 1997;3:285-293.
- Amills M, Francino O, Jansa M, Sanchez A. Isolation of genomic DNA from milk samples by using Chelex® resin. *J Dairy Res.* 1997;64:231-238.
- Angelidis AS, Koutsoumanis K. Prevalence and concentration of *Listeria monocytogenes* in sliced ready-to-eat meat products in the Hellenic retail market. *J Food Prot.* 2006;69:938-942.
- Anon. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* -- Part 1: Detection method. ISO11290-1, 1995
- Anon. Cell separation and protein purification. Technical handbook. 2nd Ed. Dynal A.S., Norway Printed: 02 96.  
[http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/710%2006.Dynabeads%20anti%20Listeria\(rev004\).pdf](http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/710%2006.Dynabeads%20anti%20Listeria(rev004).pdf), 1996

- Anon. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard Eighth edition M31-A3. Wayne, PA, USA, 2010.
- Anon. Türk Gıda Kodeksi. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği.  
<http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.aspx?MevzuatKod=7.5.15690&sourceXmlSearch=gıda&MevzuatIliski=0>, 2011.
- Anon. Using spectrophotometer to quantitate DNA and RNA.  
[http://www.mc.vanderbilt.edu/root/pdfs/mclaughlin\\_lab/dna\\_and\\_rna\\_with\\_a\\_spectrophotometer.pdf](http://www.mc.vanderbilt.edu/root/pdfs/mclaughlin_lab/dna_and_rna_with_a_spectrophotometer.pdf), 2012.
- Anon. Food And Agriculture Organization Milk production.  
<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-production/en/#.UqrwzJHWtDI2013a>.
- Anon. Faostat. Food And Agriculture Organization of The United Nations  
<http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>, 2013b.
- Anon. Charm MRL Beta-lactam test for milk.  
<http://www.charm.com/en/products/rosa-milk/beta-lactams/eu-mrl-levels/mrl/mrl-learn-more.html>, 2013c.
- Anon. Samsun yöresindeki çeşitli pazarlarda satış yapan köylülerle söyleşi, 2014.
- Arslan S, Özdemir F. Prevalance and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in home made white cheese. Food Control. 2008;19:360-363.
- Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, Marchiaro G, Novara O, Leone L, Salmaso S. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. N Engl J Med. 2000;342:1236-1241.
- Avcıbaşı Y. Vakum paketli dumanlanmış (füme) balıklarda *Listeria* türlerinin varlığı. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 2005.
- 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, Ayaz Y, Kaplan YZ, Kasımoğlu A, Aksoy MH. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in chicken carcass by IMS-PCR. Ann Microbiol. 2009;59(4):741-744.
- Ayaz ND, Erol İ. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in ground turkey by IMS-PCR. J Rapid Meth Auth Mic. 2009;17:214-227.

- Ayaz ND, Erol İ. Relation between serotype distribution and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from ground turkey. *J Food Protect.* 2010;73(5):967-972.
- Ayaz ND, Erol İ. Serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from turkey meat by multiplex PCR in Turkey. *J Food Safety.* 2011;31:149-153.
- Aygün O, Pehlivanlar S. *Listeria* spp. in raw milk and dairy products in Antakya/Turkey. *Food Control.* 2006;17:676-679.
- Aznar R, Alarcon B. PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of multiple factors affecting sensitivity. *J Appl Microbiol.* 2003;95:958-966.
- Bauwens L, Vercammen F, Hertsens A. Detection of pathogenic *Listeria* spp. in zoo animal faeces: use of immuno magnetic separation and chromogenic medium. *Vet Microbiol.* 2003;91:115-123.
- Bearson S, Bearson B, Foster W. Acid stress responses in enterobacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 1997;147:173-180.
- Berktaş M, Bozkurt EN, Bozkurt H, Alişarlı M, Güdücüoğlu H. Et ve et ürünlerinden *Listeria monocytogenes*'in izolasyonu. *Van Tıp Dergisi.* 2006;13(2):36-41.
- Biavasco F, Giovanetti E, Miele A, Vignaroli C, Facinelli B, Varaldo PE. In vitro conjugative transfer of *VanA* vancomycin resistance between *Enterococci* and *Listeriae* of different species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15(1):50-59.
- Bilir Ormancı S, Erol İ, Ayaz ND, İşeri O, Sarıgüzel D. Immunomagnetic separation and PCR detection of *Listeria monocytogenes* in turkey meat and antibiotic resistance of the isolates. *Brit Poultry Sci.* 2008;49(5):560-568.
- Bille J, Glauser MP. Listeriose en Suisse, *Bull. B.A. Gesundheitsw.* 1988;3:28-29.
- Bille J, Blanc DS, Schmid H, Boubaker K, Baumgartner A, Siegrist HH, Tritten ML, Lienhart R, Berner D, Anderau R, Treboux M, Ducommun JM, Malinverni R, Genne D, Erard P, Waesepi U. Outbreak of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland, 2005. *Euro Surveill.* 2006;11:91.
- Blackman IC, Frank JF. Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various foodprocessing surfaces. *J Food Prot.* 1996;59:827-831.
- Braun L, Dramsi S, Dehoux P, Bierne H, Lindahl G, Cossart P. InlB: An invasion protein of *Listeria monocytogenes* with a novel type of surface association. *Mol Microbiol.* 1997;25:285-294.
- Brett MS, Short P, McLauchlin J. A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *Int J Food Microbiol.* 1998;43:223-229.



- 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. *Res Microbiol.* 1992;143:271-280.
- Buncic S, Avery SM, Rocourt J, Dimitrijevic M. Can food related environmental factors induce different behavior in two key serovars, 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*? *Int. J. Food Microbiol.* 2001;65:201–212.
- Büyükyörük S, Göksoy EÖ. Aydın İlinde satışı sunulan köy peynirlerinde *Listeria* varlığının araştırılması. *Uludağ Univ J Fac Vet Med.* 2011;1:9-12.
- Capita R, Calleja CA, Moreno B, Fernandez MC. Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. *Int J Food Microbiol.* 2001(a);65:75-82.
- Capita R, Calleja CA, Prieto M, Fernandez MC, Moreno B. Comparison of PALCAM and modified Oxford platin media for isolation of *Listeria* species in poultry meat following UVMII or Fraser secondary enrichment broths. *Food Microbiol.* 2001(b);18:555-563.
- Carlos VS, Oscar RS, Irma QRE. Occurrence of *Listeria* species in raw milk in farms on the outskirts of Mexico City. *Food Microbiol.* 2001;18(2):177-181.
- Carnevale RA, Johnston RW. Method for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from meat and poultry products. U.S. Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Laboratory Communication No. 57, Revised May 24. USDA, Washington, D.C 1989.
- CDC 2007. Centers for Disease Control and Prevention National Enteric Disease Surveillance. *Listeria* Annual Summary, 2012  
<http://www.cdc.gov/listeria/surveillance.html>
- CDC 2008a. Centers for Disease Control and Prevention National Enteric Disease Surveillance. *Listeria* Annual Summary, 2012.  
<http://www.cdc.gov/listeria/surveillance.html>
- CDC 2008b. Centers for Disease Control and Prevention Listeriosis. March 27, 2012  
[http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease\\_listing/listeriosis\\_gi.html](http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease_listing/listeriosis_gi.html)  
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4950a1.htm>
- CDC 2009. Centers for Disease Control and Prevention National Enteric Disease Surveillance. *Listeria* Annual Summary, 2012.  
<http://www.cdc.gov/listeria/surveillance.html>
- CDC 2011. Centers for Disease Control and Prevention Outbreaks, 2012.  
<http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>

- Ceylan ZG, Demirkaya AK. Erzurum piyasasından temin edilen salamura beyaz peynirlerde *Listeria monocytogenes* varlığı ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. Atatürk Univ Ziraat Fak Derg. 2007;38(2):137-141.
- Chambel L, Sol M, Fernandes I, Barbosa M, 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. Int J Food Microbiol. 2007;116(1):52-63.
- Charpentier E, Courvalin P. Antibiotic resistance in *Listeria* spp. Antimicrobial Agents Chemo. 1999;43(9):2103-2108.
- Chatterjee SS, Hossain H, Otten S, Kuenne C, Kuchmina K, Machata S, Domann E, Chakraborty T. Intracellular gene expression profile of *Listeria monocytogenes*. Infect Immun. 2006;74:1323-1338.
- Chen Y, Ross WH, Scott VN, Gombas DE. *Listeria monocytogenes*: Low levels equal low risk. J Food Protect. 2003;66:570-577.
- Chou CH, Silva JL, Wang C. Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in raw catfish fillets. J Food Prot. 2006;69:815-819.
- Christie R, Atkins NE, Munch-Peterson E. A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci. Aust J Exp Biol Med Sci. 1944;22:197-200.
- Colburn KG, Kaysner CA, Abeyta C, Wekell MM. *Listeria* species in a California coast estuarine environment. Appl Environ Microbiol. 1990;56:2007-2011.
- Conlan JW, 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.
- Conska LN. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. Microbiol Rev. 1989;53:121-147.
- Conska LN, Hanson AD. Prokaryotic osmoregulation: Genetics and physiology. Annu Rev Microbiol. 1991;45:569-606.
- Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidi S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol. 2009;128:497-500.
- Cossart P, Vicente MF, Mengaud J, Baquero F, Perez-Diaz JC, Berche P. Listeriolysin O is essential for virulence of *Listeria monocytogenes*: Direct evidence obtained by gene complementation. Infect Immun. 1989;57:3629-3636.

- Cotter PD, O'Reilly K, Hill C. Role of the glutamate decarboxylase acid resistance system in the survival of *Listeria monocytogenes* LO28 in low pH foods. *J Food Prot.* 2001(a);64:1362-1368.
- Cotter P, Gahan CGM, Hill C. A glutamate decarboxylase system protects *Listeria monocytogenes* in gastric fluid. *Mol Microbiol.* 2001(b);40:465-475.
- Çağrı-Mehmetoğlu A, Yaldırak G, Bodur T, Şimşek M, Bozkır H, Eren NM. Incidence of *Listeria monocytogenes* and *E. coli* O157:H7 in two kaşar cheese processing environment. *Food Control.* 2011;22:762-766.
- Çakmakçı S. Türkiye Peynirleri In Hayaloğlu AA, Özer B. Editör. *Peynir Biliminin Temelleri.* 1. Baskı, Sidas Medya, İzmir, 2011;585:614.
- Çetinkaya B, Ertuş HB, Muz A. Süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. *Fırat Üniv. Sağlık Bil Derg.* 1999;13(2):21-25.
- Çolak H, Hampikyan H, Bingöl EB, Ulusoy B. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* in Tulum cheese. *Food Control.* 2007(a);18:576-579.
- Çolak H, Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB. Presence of *Listeria monocytogenes* in Turkish style fermented sausage (sucuk). *Food Control.* 2007(b);18:30-32.
- Da Silva MC, Hofer E, Tibana A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. *J Food Prot.* 1998;61:354-356.
- Dalton CB, Austin CC, Sobel J. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *New Engl J Med.* 1997;336:100-5.
- Davis JA, Jackson CJ. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua* and *L. welshimeri*. *Microb Drug Resist.* 2009;15:27-32.
- De Reu K, Debeuckelaere W, Botteldoorn N, De Block J, Herman L. Hygienic parameters, toxins and pathogen occurrence in raw milk cheeses. *J Food Safety.* 2002;22:183-196.
- De Roin MA, Fong SC, Dixon PM, Dickson JS. Survival and recovery of *Listeria monocytogenes* from ready-to-eat meals inoculated with a desiccated and nutritionally depleted dust-like vector. *J Food Prot.* 2003;66:962-969.
- De Nes F, Riboldi GP, Frazzon APG, d'Azevedo PA, Frazzon J. Antimicrobial resistance and investigation of molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* in dairy products. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(4):382-385.
- De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB. *Bergey's manual of systematic bacteriology volume three the firmicutes.* Second edition. Springer ABD. 2009;244-268.

- Denny J, McLauchlin J. Human *Listeria monocytogenes* infections in Europe - An opportunity for improved European surveillance. *Euro Surveill.* 2008;13:1-3.
- Dokuzlu C. Gıda analizleri Bursa, 1. Baskı, 2004;47-48.
- Domann E, Wehland J, Rohde M, Pistor S, Hartl M, Goebel W, Wachter M, Wuenscher M, Chakraborty T. A novel bacterial virulence gene in *Listeria monocytogenes* required for host cell microfilament interaction with homology to the proline-rich region of vinculin. *Embo J.* 1992;11:1981-1990.
- Donnelly CW, Nyachuba DG. Conventional methods to detect and isolate *Listeria monocytogenes*. In Ryser, ET, Marth, EH. (eds). *Listeria, Listeriosis and 2nd ed.* New York. 2007;215-249.
- Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004;42(8):3819-3822.
- Earnshaw RG, Appleyard J, Hurst RM. Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *Int J Food Microbiol.* 1995;28:197-219.
- EFSA. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. The EFSA Journal 2010.
- Ericsson H, Elöw A, Tham MLD, Loncarevic S, Mentzing LO, Persson I, Unnerstad H, Tham W. An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2904-2907.
- Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. 1. Baskı, Ankara, Pozitif Matbaacılık, 2007.
- Erol İ, Şireli T. Incidence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* in frozen broiler carcasses. *Turk J Vet Anim Sci.* 1999;23:765-770.
- Erol İ, Şireli T. Occurrence and contamination levels of *Listeria* spp. in milk and dairy products in Ankara. *FEMS Symposium on the Versatility of Listeria Species.* 2002;44:44-45.
- Errebo-Larsen H, Seeliger HPR. A mannitol fermenting *Listeria*: *Listeria grayi* sp. n. *Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Symp. Listeriosis, Biltoven, The Netherlands,* 1966;35-39.
- ECDC Surveillance Report: Annual epidemiological report. 2011;97-100.
- Evans MR, Swaminathan B, Graves LM, Altermann E, Klaenhammer TR, Fink RC, Kernodle S, Kathariou S. Genetic markers unique to *Listeria monocytogenes* serotype 4b differentiate epidemic clone II (hot dog outbreak strains) from other lineages. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70:2383-2390.

- Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol Rev.* 1991;55:476-511.
- Farber JM, Ross WH, Harwig J. Health risk assessment of *Listeria monocytogenes* in Canada. *Int J Food Microbiol.* 1996;30:145-156.
- Fenlon DR. *Listeria monocytogenes* in the natural environment. In Ryser, ET, Marth, EH. *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, New York, 2nd ed., 2007; 21-37.
- 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.
- Fraser JA, Sperber WH. Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculin hydrolysis. *J Food Prot.* 1988;51:762-765.
- Filioussis G, Johansson A, Frey J, Perreten V. Prevalance, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control.* 2009;20:314-317.
- Gaillard JL, Berche P, Sansonetti PJ. Transposon mutagenesis as a tool to study the role of hemolysin in the virulence of *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* 1986;52:50-55.
- Gaillard JL, Berche P, Frehel C, Gouin E, Cossart P. Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci. *Cell.* 1991;65:1127-1141.
- Gandhi M, Chikindas ML. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *Int J Food Microbiol.* 2007;113:1-15.
- Gasanov U, Hughes D, Hansbro PM. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. *FEMS Microbiol Rev.* 2005;29:851-875.
- Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and *listeria* infection. *Bacteriol Rev.* 1966;30:309.
- Graves LM, Helsel LO, Steigerwalt AG, Morey RE, Dneshvar MI, Roof SE, Orsi RH, Fortes ED, Milillo SE, Bakker HC, Wiedmann M, Swaminathan B, Sauders BD. *Listeria marthii* sp. nov. isolated from natural enviroment, Finger Lakes Natural Forest. *Int J Syst Micr.* 2010;60:1280-1288.
- Gregory SH, Sagnimeni AJ, Wing EJ. Internalin B promotes the replication of *Listeria monocytogenes* in mouse hepatocytes. *Infect Immun.* 1997;65:5137-5141.
- Griffiths MW. Detection. In: Trugo LC, Finglas PM. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.* Academic Press 2003(a);3573-3582.

- Griffiths MW. *Listeria* Properties and Occurrence. In: Trugo LC, Finglas PM. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Academic Press 2003(b);3562-3573.
- Goldfine H, Johnston NC, Knob C. Nonspecific phospholipase C of *Listeria monocytogenes*: activity on phospholipids in Triton X-100-mixed micelles and in biological membranes. J Bacteriol. 1993;175:4298-4306.
- Goulet V, Jacquet C, Martin P, Vaillant V, Laurent E, de Valk H. Surveillance of human listeriosis in France, 2001–2003. Euro Surveill. 2006;11:79.
- Gönülalan S, Gönülalan Z. Kayseri ilinde satışı sunulan dondurmaların *Listeria monocytogenes* açısından incelenmesi. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2010;19(3):191-195.
- Gülmez M, Güven A. Beyaz ve çeçil peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* türlerinin araştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2001;7(2):155-161.
- Güner A, Telli N. A survey on the presence of *Listeria monocytogenes* in various semi-hard cheeses from different regions of Turkey. J Anim Vet Adv. 2011;10(14):1890-1894.
- Hanawa T, Kai M, Kamiya S, Yamamoto T. Cloning, sequencing, and transcriptional analysis of the *dnaK* heat shock operon of *Listeria monocytogenes*. Cell Stress Chaperones. 2000;5:21-29.
- Hanawa T, Yamanishi S, Murayama S, Yamamoto T, Kamiya S. Participation of *dnaK* in expression of genes involved in virulence of *Listeria monocytogenes*. FEMS Microbiol Lett. 2002;214:69-75.
- 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. Sci Total Environ. 2009;407:4022-4027.
- Hill C, O'Driscoll B, Booth I. Acid adaptation and food poisoning microorganisms. Int J Food Microbiol. 1995;28:245-254.
- Hitchins AD. *Listeria monocytogenes*. In Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. AOAC International, 1998;1001–1013
- Ho JL, Shands KN, Friedland G, Eckind P, Fraser DW. An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospitals. Arch Intern Med. 1986;146:520-524.
- Hof H. Therapeutic activities of antibiotics in listeriosis. Infect. 1991;19(4):229-233.

- 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.
- Hussein AS, Shafran SD. Acute bacterial meningitis in adults. Medicine. 2000;79(6):360-368.
- Issa G, Kahraman T, Kahraman B. Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 in raw milk. İstanbul Univ Vet Fak Derg. 2010;36(1):57-63.
- 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.
- Janzten MM, Navas J, Korujo A, Moreno R, Lopez V, Martinez-Suarez V. Review. Specific detection of *Listeria monocytogenes* in foods using commercial methods: from chromogenic media to real time PCR. Spanish J Agri Res. 2006;4(3):235-247.
- Jararao BM, Donaldson SC, Straley BA, Sawant AA, Hegde NV, Brown JL. A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. J Dairy Sci. 2006;89:2451-2458.
- Jay JM. Prevalence of *Listeria* spp. in meat and poultry products. Food Control. 1996;7:209-214.
- Johnson JL. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from meat, poultry and egg products. In USDA-FSIS microbiology laboratory guidebook. ABD, 3rd ed., 1998.
- Joseph B, Przybilla K, Stühler C, Schaurer K, Slaghuis J, Fuchs TM, Goebel W. Identification of *Listeria monocytogenes* genes contributing to intracellular replication by expression profiling and mutant screening. J Bacteriol. 2006;188:556-568.
- Kahlmeter G, Brown DF, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Odenholt I, Rodloff A, Soussy CJ, Steinbakk M, Soriano F, Stetsiouk O. European Committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) technical notes on antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Infect. 2006;12:501-503.
- Kahraman T, Çetin O, Dümen E, Büyükcinal SK. Incidence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on equipment surfaces and personnel hands in meat plants. Revue Med Vet. 2010(a);161(3):108-113.
- Kahraman T, Özmen G, Özinan B, Göksoy EO. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in different cheese types produced in Turkey. Brit Food J. 2010(b);112(11):1230-1236.

- Kalorey DR, Warke SR, Kurkure NV, Rawool DB, Barbuddhe SB. *Listeria* species in bovine raw milk: A large survey of Central India. *Food Control*. 2008;19(2):109-112.
- Kamber U. Geleneksel Anadolu Peynirleri. 1. Baskı, Ankara, Miki Matbaacılık, 2005.
- Kara AA, Algur ÖF, Kaya M. Erzurum piyasasından temin edilen beyaz ve civil peynirlerinden *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu. *Tr J of Biology*. 1999;23:331-337.
- Keskin Y, Başkaya R, Özyaral O, Kıyan P. Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelemesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2007;37(1):51-58.
- Kınık Ö, Ergüllü E, Akbulut N. Sepet peyniri üretimi ve kimi özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda*. 1999; 24(3):151-161.
- Köhler S, Leimeister-Wachter M, Chakraborty T, Lottspeich F, Goebel W. The gene coding for protein p60 of *Listeria monocytogenes* and its use as a specific probe for *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun*. 1990;58(6):1943-1950.
- Kuhn M, Goebel W. Identification of an extracellular protein of *Listeria monocytogenes* possibly involved in the intracellular uptake by mammalian cells. *Infect Immun*. 1989;57:55-61.
- Kuhn M, Goebel W. Pathogenesis of *Listeria monocytogenes*, In Ryser, ET, EH. Marth, *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, New York, Marcel Dekker, Inc. 2007;97-130.
- Kuhn M, Scotti M, Vazquez-Boland JA. Pathogenesis In: Liu D. *Handbook of Listeria monocytogenes*. CRC Press. 2008;97-135.
- Kum E, Yıldırım Y, Ertaş N. Kayseri’de satışa sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının klasik kültür yöntemi ile belirlenmesi. *Erciyes Univ Vet Fak Derg*. 2011;8(2):105-109.
- Le Jeule JT, Rajala-Schultz P. Unpasteurized milk: A continued public threat. *Food Safety*. 2009; 48: 93-100.
- Leclercq A, Clermont D, Bizet C, Grimont PAD, Mateos ALF, Roche SM, Buchrieser C, Daniel VD, Monnier AL, Leuit M, Allerberger F. *Listeria rocourtiae* sp. nov. *Int J Syst Evol Micr*. 2010;60:2210-2214.
- Leclercq A, Francisque VC, Dieye H, Cantinelli T, Drali R, Brisse S, Lecuit M. Characterization of the novel *Listeria monocytogenes* PCR serogrouping profile IVb-v1. *Int J Food Microbiol*. 2011;147:74-77.
- Leite P, Rodrigues R, Ferreira M, Ribeiro G, Jacquet C, Martin P, Brito L. Comparative characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from Portuguese farmhouse ewe’s cheese and from humans. *Int J Food Microbiol*. 2006;106:111-121.



- Lemes-Marques EG, Cruz CD, Destro MT. Pheno and ghenotypic characterization of *Listeria monocytogenes* clinical isolates from the south-western region of Sao-Paulo Brazil. *Braz J Microbiol.* 2007;38:287-292.
- 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.
- Lovett J. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. *J Assoc Off Anal Chem.* 1988;71:658-660.
- Lovett J, Francis DW, Hunt JM. *Listeria monocytogenes* in raw milk: Detection, incidence, and pathogenicity. *J Food Prot.* 1987;50:188-192.
- Luppi A, Bucci G, Maini P, Rocourt J. Ecological survey of *Listeria* in the Ferrara area (Northern Italy). *Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene.* 1988;269:266-275.
- Lyytikäinen O, Autio T, Maijala R, Ruutu P, Buzalski TH, Miettinen M, Hatakka M, Mikkola J. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J Infect Dis.* 2000;181:1838-1841.
- 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. *Int J Food Microbiol.* 2005;104(2):189-196.
- Manfreda G, De Cesare A, Stella S, Cozzi M, Cantoni C. Occurrence and ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheese. *Int J Food Microbiol.* 2005;102(3):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.
- McLauchlin J, Hall SM, Velani SK, Gilbert RJ. Human listeriosis and pate: A possible association. *Brit Med J.* 1991;303:773-775.
- 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.
- Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiol.* 2004;21:213-216.

- Mengaud J, Vicente MF, Cossart P. Transcriptional mapping and nucleotide sequence of the *Listeria monocytogenes hylA* region reveal structural features that may be involve in regulation. *Infect Immun.* 1989;3695-3701.
- Miettinen M, Bjorkroth KJ, Korkeala HJ. Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol.* 1999;46:187-192.
- Miettinen H, Wirtanen G. Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. *Int J Food Microbiol.* 2005;104:135-143.
- Milohanic E, Jonquieres R, Cossart P, Berche P, Gaillard JL. The autolysin ami contributes to the adhesion of *Listeria monocytogenes* to eukaryotic cells via its cell wall anchor. *Mol Microbiol.* 2001;39:1212-1224.
- Miller LL, Ordal ZJ. Thermal injury and recovery of *Bacillus subtilis*. *Appl Microbiol.* 1972;24:878-884.
- Moshtaghi H, Mohamadpour AA. Incidence of *Listeria* spp. in raw milk in Shahrekord, Iran. *Foodborne Pathog Dis.* 2007;4:107-110.
- Murray EGD, Webb RA, Swann MBR. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. *J Path Bacteriol.* 1926;28:407.
- Mylonakis E, Hohmann EL, Calderwood SB. Central nervous system infection with *Listeria monocytogenes* 33 Years' experience at a general hospital and review of 776 episodes from the literature. *Medicine.* 1988;77:313-336.
- 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.
- Netten P, Perales I, Van de Moosdijk A, Curtis GDW, Mossel DAA. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. *Int J Food Microbiol.* 1989;8:299-316.
- Norwood DE, Gilmour A. The growth and resistance to sodium hypochlorite of *Listeria monocytogenes* in a steady-state multispecies biofilm. *J Appl Microbiol.* 2000;88:512-520.
- Nyfeldt A. Etiologie de la mononucleose infectieuse, *Compt Rend Soc Biol.* 1929;101:590.
- Okada Y, Okutani A, Suzuki H, Asakura H, Monden S, Nakama A, Maruyama T, Igimi S. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. *J Vet Med Sci.* 2011;73(12);1681-1684.

- Olarte C, Sanz S, Fandos EG, Torre P. Microbiological and psychochemical characterization of Cameros cheese. *Food Microbiol.* 1999;16:615-621.
- 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.
- Ooi A, Hussain S, Seyedarabi A, Pickersgill RW. Structure of internalin C from *Listeria monocytogenes*. *Acta Cryst.* 2006;62:1287-1293.
- 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;22:586-590.
- Pak SL, Spahr U, Jemmi T, Salman M. Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990–1999. *Prev Vet Med.* 2002;53:55-65.
- Parida SK, Domann E, Rohde M, Muller S, Darji A, Hain T, Wehland J, Chakraborty T. Internalin B is essential for adhesion and mediates the invasion of *Listeria monocytogenes* into human endothelial cells. *Mol Microbiol.* 1998;28:81-93.
- Pirie JHH. A new disease of veld rodents, “Tiger River Disease,” *Publ S Afr Inst Med Res.* 1927;3:163.
- Pirie JHH. *Listeria*: Change of name for a genus of bacteria, *Nature.* 1940;145: 264.
- Perreten, V, Schwarz, F, Cresta, L, Boeglin, M, Dasen, G, Teuber, M. Antibiotic resistance spread in food. *Nature* 1997;389:801-802.
- Pesavento G, Ducci B, Nieri D, Comodo N, Lo Nostro A. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. isolated from raw meat and retail foods. *Food Control.* 2010;21:708-713.
- Poros-Golchowska J, Markiewicz Z. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*. *Acta Microbiol Pol.* 2003;52:113-129.
- Poyart C, Abachin E, Razafimanantsoa I, Berche P. The zinc metalloprotease of *Listeria monocytogenes* is required for maturation of the phosphatidylcholine phospholipase C: Direct evidence obtained by gene complementation. *Infect Immun.* 1993;61:1576-1580.
- Prazak AM, Murano EA, Mercado I, Acuff GR. Prevalence of *Listeria monocytogenes* during production and postharvest processing of cabbage. *J Food Prot.* 2003;65:1728-1734.

- 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.
- Ralovich B, Forray A, Mero E, Malovics H, Szazados I. New selective medium for isolation of *L. monocytogenes*. *Zentralbl Bakteriologie*. 1971;216:88-91.
- Raybourne RB, Williams KB, Roberts T. Economic Implications In: Trugo LC, Finglas PM. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Academic Press. 2003;2672-2682.
- Rivoal K, Queguiner S, Boscher E, Bougeard S, Ermel G, Salvat G, Federighi M, Jugiau F, Protais J. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized liquid whole eggs and characterization by PFGE. *Int J Food Microbiol*. 2010;138:56-62.
- Roberts D. *Listeria monocytogenes* and food: The UK approach. *Dairy Food Env Sanit*. 1994;14:202-204.
- Roberts A, Nightingale K, Jeffers G, Fortes E, Kongo JM, Wiedmann, M. Genetic and phenotypic characterization of *Listeria monocytogenes* lineage III. *Microbiology*. 2006;152:685-693.
- Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquet C, Piffaretti JC. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. *Int J Syst Bacteriol*. 1992;42:171-174.
- Rocourt J, Bille J. Foodborne listeriosis. *World Health Stat*. 1997;50(1-2):67-73.
- Rocourt J, Cossart P. *Listeria monocytogenes*. In: Doyle MP, Buechat LR, Montville TJ, *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology (ASM) press, Washington DC. 1997;337-352.
- Rocourt J, Grimont F. *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1983;3:866-869.
- Rocourt J, Jacquet C, Reilly A. Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *Int J Food Microbiol*. 2000;62:197-209.
- Rohrbach BW, Draughton FA, Davidson PM, Oliver, S.P. Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella* in bulk tank milk: risk factors and risk of human exposure. *J Food Prot*. 1992; 55:93-97.
- Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K. Van ve çevresi süt ve otlu peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. *Turkish J Anim Sci*. 2001;25(1):15-19.

- Samadpour M, Barbour W, Nguyen T, Cao M, Buck F, Depavia GA, Mazengia E, Yang F, Alfi D, Lopes M, Stopford JD. Incidence of enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in retail fresh ground beef, sprouts and mushrooms. *J Food Prot.* 2006;69:441-443.
- Schlech WF. *Listeria* gastroenteritis old syndrome, new pathogen. *New Engl J Med.* 1997;336:130-132.
- Schlech WF. Foodborne listeriosis. *Clin Infect Dis.* 2000;31:770-775.
- Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, Haldane EV. Epidemic listeriosis-Evidence for transmission by food. *N Engl J Med.* 1983;308:203-206.
- Seeliger HPR. Apathogene *Listeria*: *Listeria innocua* sp. nov. *Zentralbl Bakteriol Parasit Infekt Hyg Abt.* 1981;249:487.
- Seeliger HPR, Höhne K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. *Met Microbiol.* 1979;13:31-49.
- Seeliger HPR, Rocourt J, Schrettenbruner A. *Listeria ivanovii*, *Int J Syst Bacteriol.* 1984;34:336-337.
- Seeliger HPR, Jones D. *Listeria*. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. vol 2, 9th ed. Baltimore, Sneath PHA, Williams & Wilkins, 1986;1235-1245.
- Seeliger HPR, Langer B. Serological analysis of the genus *Listeria*. Its values and limitations. *Int J Food Microbiol.* 1989;8:245-248.
- Shank FR, Elliot EL, Wachsmuth IK, Losikoff ME. US position on *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Control.* 1996;7:229-234
- 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.
- Silva MCD, Hofer E, Tibana A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. *J Food Protect.* 1998;61(3):354-356.
- Sleator RD, Gahan CGM, O'Driscoll B, Hill C. Analysis of the role of betL in contributing to the growth and survival of *Listeria monocytogenes* LO28. *Int J Food Microbiol.* 2000;60:261-268.
- Sleator RD, Hill C. Bacterial osmoadaptation: The role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol Rev.* 2001;26:49-71.
- Sleator RD, Wouters J, Gahan CG, Abee T, Hill C. Analysis of the role of OpuC, an

- osmolyte transport system, in salt tolerance and virulence potential of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67:2692-2698.
- Sleator RD, Francis GA, O'Beirne D, Gahan CG, Hill C. Betaine and carnitine uptake systems in *Listeria monocytogenes* affect growth and survival in foods and during infection. *J App. Microbiol.* 2003;95:839-846.
- 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.
- Sorrels KM, Enigl DC. Effect of pH, acidulant, sodium chloride and temperature on the growth of *L. monocytogenes*. *J Food Safety.* 1990;11:31-37.
- Soyutemiz E, Çetinkaya F, Özakın C, Gedikoğlu S. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw milk samples from West Anatolia. *Turkish J Inf.* 2001;15(1):5-9.
- Srinivasa V, Nam HM, Nguyen LT, Tamilselvam B, Murinda SE, Oliver SP. Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Listeria monocytogenes* isolated from dairy farms. *Foodborne Pathog Dis.* 2005;2:201-211.
- Stack H, Hill C, Gahan CGM. Stress Responses In: Liu D. *Handbook of Listeria monocytogenes*. CRC Press. 2008;62-85.
- Swaminathan B, Cabanes D, Zhang W, Cossart P. *Listeria monocytogenes*. In Doyle MP, Beuchat LR. (eds) *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 3rd Ed. ASM Press, Washington, D.C. 2007;457-491.
- Şireli UT, Erol İ, Şahin S, Terzi G. Tavuk kıyım, köfte ve burgerlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeylerinin belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci.* 2002;26:1271-1276.
- Şireli UT, Göncüoğlu M, Pehlivanlar S. Growth of *Listeria monocytogenes* in çiğ köfte. *Ankara Univ Vet Fak Derg.* 2008;55:83-87.
- Şireli UT, Gücüoğlu 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, Öğütçü H. Investigations of *Listeria* species in milk and silage produced in Burdur province. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2010;16:93-97.
- Thevenot D, Delignette-Muller ML, Christieans S, Rozand C. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. *Int J Food Microbiol.* 2005;102:85-94.

- Troxler R, Graevenitz A, Funke G, Wiedermann 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.
- Tümbay E, Seeliger HPR, İnci R, Coşar G, Langer B. Isolation of *Listeria* from Cheese in Turkey. Turkish J Infect. 1988;2(4):593-598.
- Uraz G, Yücel N. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve benzerlerinin çiğ süt örneklerinden izolasyonu. Turk J Agri Forestry. 1998;22:463-468.
- Uysal HK, Anđ O. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Listeria* türleri. Türk Mikrobiol Cem Derg. 2003;33:163-169.
- Uyttendaele M, Van Hoorde I, Debevere J. The use of immuno-magnetic separation as a tool in a sample preparation method for direct detection of *L. monocytogenes* in cheese. Int J Food Microbiol. 2000;54:205-212.
- 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.
- Ünlü G. Sivas Yöresindeki Çiğ Sütlerde *L. monocytogenes* ve diğer Türlerin Aranması.. Cumhuriyet Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas. Uzmanlık Tezi 1990.
- Ünsal A. Süt Uyuyunca. 5. Baskı, İstanbul, Yapı Kredi Yayınları, 2009.
- 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.
- Van Coillie E, Werbrouck H, Heyndrickx M, Herman L, Rijpens N. Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food products on the Belgian market. J Food Prot. 2004;67:2480-2487.
- Van Kessel JS, Karns JS, Gorski L, McCluskey BJ, Perdue ML. Prevalence of *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes* and fecal coliforms in bulk tank milk of US dairies. Am Dairy Sci Assoc. 2004;87:2822-2830.
- Vanegas MC, Vásquez E, Martinez AJ, Rueda AM. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw whole milk for human consumption in Colombia by real-time PCR. Food Control. 2009;20(4):430-432.
- Vasconcelos RM, Almeida AECC, Hofer E, Matias da Silva NM, Marin VA. Multiplex PCR serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from human clinical specimens. Mems Intz Oswaldo Cruz. 2008;103(8):836-838.

- Vazquez-Boland JA, Kocks C, Dramsi S, Ohayon H, Geoffroy C, Mengaud J, Cossart P. Nucleotide sequence of the lecithinase operon in *Listeria monocytogenes* and possible role of lecithinase in cell-to-cell spread. *Infect Immun*. 1992;60:219-230.
- Vela AI, Garayzabal JFF, Latre MV, Rodriguez AA, Dominguez L, Moreno MA. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. *Int J Antimicrob Ag*. 2001;17:215-220.
- Vlaemynck G, Lafarge V, Scotter S. Improvement of the detection of *Listeria* by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. *J Appl Microbiol*. 2000;88:430-441.
- 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.
- Vural A, Erkan ME. Diyarbakır nehrindeki Dicle nehri balıklarında Mikrobiyolojik kalite parametreleri. *Dicle Tıp Dergisi*. 2006;33(3):153-156.
- Vural A, Erkan ME, Giran HŞ. The examination of the microbiologic quality in örgü cheese samples. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2010;16:53-58.
- Yan H, Neogi SB, Mo Z, Guan W, Shen Z, Zhang S, Li L, Yamasaki S, Shi L, Zhong N. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005-2007. *Int J Food Microbiol*. 2010;144:310-316.
- Yura T, Nakahigashi, K. Regulation of the heat-shock response. *Curr Opin Microbiol*. 1999;2:153-158.
- Waak E, Tham W, Danielsson-Tham ML. Comparison of the ISO and IDF methods for detection of *L. monocytogenes* in blue veined cheese. *Int Dairy J*. 1999;9:144-155.
- 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, McLauchlin J. Biology In: Liu D. Handbook of *Listeria monocytogenes*. CRC Press. 2008;3-27.
- Walsh D, Duffy G, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA. Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. *J Appl Microbiol*. 2001;90:517-522



- Wang HH, Manuzon M, Lehman M, Wan K, Luo H, Wittum TE, Yousef A, Bakaletz LO. Food commensal microbes as a potential important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;254:226-231.
- Weis J, Seeliger HPR. Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. *Appl Microbiol.* 1995;30:29-32.
- Welshimer HJ. Isolation of *Listeria monocytogenes* from vegetation. *J Bacteriol.* 1968;95:300-303.
- Wemekamp HH, Wouters J, Sleator R, Gahan CG, Hill C, Abee T. Multiple deletions of the osmolyte transporters BetL, Gbu and OpuC of *Listeria monocytogenes* affect virulence and growth at high osmolarity. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68:4710-4716.
- White DG, Harmon RJ, Matos JE, Langlois BE. Isolation and identification of coagulase-negative *Staphylococcus* species from bovine body sites and streak canals of nulliparous heifers. *J Dairy Sci.* 1989;72:1886-1892.
- Wilson RL, Brown LL, Watts DK, Warren TK, Lund SA, King DS, Jones KF, Hruby DE. *Listeria monocytogenes* 10403S HtrA is necessary for resistance to cellular stress and virulence. *Infect Immun.* 2006;74:765-768.
- Wood S, Maroushek N, Czuprynski CJ. Multiplication of *Listeria monocytogenes* in a murine hepatocyte cell line. *Infect Immun.* 1993;61:3068-3072.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Tahsin Onur KEVENK

**Doğum Yeri:** Ankara

**Doğum Tarihi:** 04-11-1982

**Medeni Hali:** Evli

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

**Eğitim Durumu (Kurum/Yıl):**

TED Zonguldak Koleji	1988-2001
Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi	2001-2007
OMÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2007-2014

**Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:**

OMÜ Veteriner Fakültesi (Arş. Gör.–50/d)	2007-2012
Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı VKMAE	2012-.....

**İletişim Bilgileri:**

**Adres:**

hVeteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

Ahmet Şefik Kolaylı Cad. No: 23 06020 Etlik - ANKARA

**e-posta:**

[o.kevenk@gmail.com](mailto:o.kevenk@gmail.com)

[tokevenk@merkezvet.gov.tr](mailto:tokevenk@merkezvet.gov.tr)

**Telefon:**

0 312 326 00 90 – 172

Ek 1. Çiğ sütlerden izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının kaynağı, virülens faktörleri, serotip dağılımları ve antibiyotik direnç profilleri.

Numune	<i>L. monocytogenes</i> pozitif numune sayısı	İzolat Kodu	AMP	P	AMC	E	OX	TET	C	V	<i>hlyA</i>	<i>iap</i>	Serotip	
Süt (Pazar yeri) (n=50)	Süt (Pazar yeri 1)	S 26 A	-	R	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b	
		S 26 B	-	R	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		S 26 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		S 26 D	-	R	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		S 26 E	-	R	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
	Süt (Pazar yeri 2)	S 29 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 29 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 29 C	-	-	-	-	-	-	R	R	-	+	+	4b
		S 29 D	-	-	-	-	-	-	R	R	-	+	+	4b
		S 29 E	-	R	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
	Süt (Pazar yeri 3)	S 44 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 44 B	-	R	-	-	-	R	R	R	-	+	+	4b
		S 44 C	R	-	-	-	-	-	R	R	-	+	+	4b
		S 44 D	-	-	-	-	-	R	R	R	-	+	+	4b
		S 44 E	-	-	-	-	-	R	R	R	-	+	+	4b
	Süt (Pazar yeri 4)	S 45 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 45 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 45 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 45 D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 45 E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
Süt (Köy) (n=50)	Süt (Pelitköy)	S 79 A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b	
		S 79 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 79 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 79 D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b
		S 79 E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4b

\* S: Süt, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, AMP: Ampisilin, C: Kloramfenikol, E: Eritromisin, OX: Oksitetrasiklin, P: Penisilin G, TET: Tetrasiklin, V: Vankomisin. R: Dirençli, *hlyA*: Listeriolizin O Geni, *iap*: İnvazyon İlişkili Protein Geni

**Ek 2.** Süt ürünlerinden izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının kaynağı, virülens faktörleri, serotip dağılımları ve antibiyotik direnç profilleri.

Numune	<i>L. monocytogenes</i> pozitif numune	İzolat Kodu	AMP	P	AMC	E	OX	TET	C	V	<i>hlyA</i>	<i>iap</i>	Serotip	
Köy Peyniri (n=10)	(n=2)	SÜ 3 A	-	R	R	-	-	R	-	-	+	+	1/2c	
		SÜ 3 B	-	-	-	R	R	R	-	-	+	+	1/2c	
		SÜ 3 C	-	R	-	-	-	R	-	R	-	+	+	1/2c
		SÜ 3 D	-	-	-	R	-	-	-	-	+	+	1/2c	
		SÜ 3 E	-	-	-	-	-	R	R	-	+	+	1/2c	
		SÜ 110 A	-	-	-	-	-	-	-	-	R	+	+	1/2a
		SÜ 110 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2a
		SÜ 110 C	-	-	-	-	-	R	R	-	-	+	+	1/2a
		SÜ 110 D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2a
Çökelek (n=10)	(n=2)	SÜ 42 A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b	
		SÜ 42 B	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b	
		SÜ 42 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		SÜ 42 D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		SÜ 42 E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		SÜ 90 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2a
		SÜ 108 D	-	-	-	R	R	R	-	-	-	+	+	1/2a
Beyaz Peynir (n=20)	(n=1)	SÜ 64 E	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2c	
Kuymak Peyniri (n=10)	(n=3)	SÜ 81 A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b	
		SÜ 81 B	-	R	-	R	R	R	R	R	R	+	+	1/2b
		SÜ 81 C	-	-	-	-	-	-	-	-	R	+	+	1/2b
		SÜ 81 D	-	R	-	-	-	R	R	-	-	+	+	1/2b
		SÜ 81 E	-	R	R	-	-	-	R	-	-	+	+	1/2b
		SÜ 100 D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	1/2b
		SÜ 109 A	R	-	-	-	-	R	R	R	R	+	+	1/2b
		SÜ 109 B	R	R	-	R	R	R	R	R	R	+	+	1/2b
		SÜ 109 C	R	-	-	-	-	-	R	R	R	+	+	1/2b
SÜ 109 D	R	-	-	-	-	-	R	R	R	+	+	1/2b		
Tereyağ (n=20)	(n=0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Dondurma (n=20)	(n=0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kaşar peyniri (n=20)	(n=0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

\* SÜ: Süt Ürünü, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, AMP: Ampisilin, C: Kloramfenikol, E: Eritromisin, OX: Oksitetrasiklin, P: Penisilin G, TET: Tetrasiklin, V: Vankomisin. R: Dirençli, *hlyA*: Listeriolizin O Geni, *iap*: İnvazyon İlişkili Protein Geni