

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA İLİNDE TÜKETİME SUNULAN
YÖRESEL PEYNİRLERDE *LISTERIA*
MONOCYTOGENES İZOLASYONU VE
İDENTİFİKASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim Halil DENİZ

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. Serap KILIÇ ALTUN

ŞANLIURFA

2016

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA İLİNDE TÜKETİME SUNULAN
YÖRESEL PEYNİRLERDE *LISTERIA*
MONOCYTOGENES İZOLASYONU VE
İDENTİFİKASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim Halil DENİZ

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. Serap KILIÇ ALTUN

ŞANLIURFA

2016

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

İbrahim Halil DENİZ'in hazırladığı "Şanlıurfa İlinde Tüketime Sunulan Yöresel Peynirlerde *Listeria monocytogenes* İzolasyonu ve İdentifikasyonu" konulu çalışması, 01.06.2016 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak Kabul edilmiştir

Yrd.Doç.Dr. Serap KILIÇ ALTUN(Danışman)
Harran Üniversitesi
BAŞKAN

Prof.Dr. Hisamettin DURMAZ
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
ÜYE

Doç.Dr. Füsün TEMAMOĞULLARI
Harran Üniversitesi
ÜYE

ONAY
09.06.2016
Prof.Dr. Nurten AKSOY
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER.....	i
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Peynir.....	2
2.1.1.Peynirin Tarihçesi.....	2
2.1.2.Peynirin Besin İçeriği.....	2
2.1.3.Peynir Çeşitliliği.....	2
2.1.4.Peynir Üretimi.....	3
2.1.5.Peynir Tüketimi.....	4
2.1.6.Peynirin Faydaları.....	5
2.1.7.Peynirin Yapılışı.....	6
2.1.8.Peynirde Bulunabilen Patojen Bakteriler.....	7
2.2. <i>Listeria spp.</i>	8
2.2.1. <i>Listeria</i> 'nın Tarihçesi.....	8
2.2.2. <i>Listeria</i> Türlerinin Taksonomisi.....	9
2.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Bulaş Kaynakları.....	9
2.2.4. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Morfolojisi.....	10

2.2.5. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Biyokimyasal Özellikleri	10
2.2.6. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Gelişme Koşulları	11
2.2.7. <i>Listeria monocytogenes</i> Enfeksiyonunda Risk Grupları	12
2.2.8. <i>Listeria monocytogenes</i> Enfeksiyonu Semptomları	13
2.2.9.Peynirde <i>Listeria monocytogenes</i>	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Gereç.....	18
3.1.1 Kullanılan Gıda Örnekleri	18
3.1.2.Kullanılan Besiyerleri ve Alet Ekipman.....	19
3.2. Yöntem	23
3.2.1.Kültür.....	23
3.2.2.DNA İzolasyonu	25
3.2.3. Real-time PCR Yöntemi ile <i>Listeria spp.</i> İdentifikasyonu.....	27
4.BULGULAR	28
5.TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	32
7.KAYNAKLAR	33

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her konuda desteğini esirgemeyen, yüksek lisans eğitimim sürecinde yanında bulunmaktan ve çalışmaktan gurur duyduğum ve laboratuvar ile ilgili bilgi ve tecrübelerini paylaşarak tezimde büyük emeği olan Harran Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, Yrd.Doç.Dr. Serap KILIÇ ALTUN' a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında katkılarını ve yardımlarını aldığım Harran Üniversitesi öğretim üyelerinden değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Akın YİĞİN ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ziraat Yüksek Mühendisi İlyas RAT' a, Veteriner Hekim Mehmet HÜLÜL' e Veteriner Hekim Murat UZTİMUR' a, Hilvan Gıda Tarım Ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğünde çalışan mesai arkadaşlarıma, tezime yaptıkları katkı için teşekkür ederim

Tez çalışmamda bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Şanlıurfa Gıda Kontrol Laboratuvar çalışanlarına, özellikle Veteriner Hekim Mehmet SAVRUNLU' ya, teşekkürü bir borç bilirim.

Bütün eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi emekleri olan, bugüne kadar değişmeyen tek destekçim olan varlık sebebim aileme de, gösterdikleri sabır ve anlayış için saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İbrahim Halil DENİZ

2016

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Yöresel Urfa Peynir Çeşitleri	3
Şekil 2. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Kontaminasyon Kaynakları	9
Şekil 3. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Mikroskopik Görüntüsü	10
Şekil 4. ABD 2000-2004 Yıllarında Görülen Listeriozis Vakaları	12
Şekil 5. Listeriozis Döngüsü	14
Şekil 6. İnsanlarda Listeriozis Komplikasyonları	15
Şekil 7. Peynir Örnekleri	18
Şekil 8. Suplementsiz <i>Listeria</i> Enrichment Brothlarda Selektif Olmayan Ön Zenginleştirmeler.....	20
Şekil 9. Supplement İlave Edilmiş <i>Listeria</i> Brothlarda Selektif Ön Zenginleştirmeler.....	20
Şekil 10. Ekime Hazır Ön Zenginleştirilmiş Numuneler	24
Şekil 11. <i>Listeria spp.</i> nin Aloa Agardaki koloni morfolojisi.....	25
Şekil 12. DNA Nanodrop Cihazındaki Ölçümler.....	26
Şekil 13. Real-time PCR Sonucu	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1. İnek Peynir Üretimi	4
Çizelge 2. Ülkelere göre kişi başı peynir tüketim miktarları (kg/kişi/yıl)	5
Çizelge 3. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Tarihsel Gelişimi	8
Çizelge 4. <i>Listeria</i> Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri	11
Çizelge 5. <i>Listeria monocytogenes</i> ' in Gelişme Koşulları	12
Çizelge 6. Yıllara Göre Dünyada Görülen <i>Listeria monocytogenes</i> Olayları	16
Çizelge 7. Peynir Mikrobiyolojik Kriterleri.....	17
Çizelge 8. DNA Ölçümleri.....	26
Çizelge 9. Real-time PCR Sonucu <i>Listeria monocytogenes</i> 'in İzolasyon ve İdentifikasyonu ..	28

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
aw	Su Aktivitesi
CAMP	Christe Atkins Munch Peterson
cm	Santimetre
Cumh.	Cumhuriyet
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
g	Gram
H ₂ O	Su
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
HCl	Hidro Klorik Asit
Hly	Hemolizin Geni
ISO	International Standardization Organization
Kg	Kilogram
Kob	Koloni Oluşturan Birim
l	Litre
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NaCl	Tuz
NO ₂	Nitrat
PCR	Polimeraz Chain Reaction
pH	Power of Hidrojen

SİMGELER VE KISALTMALAR (Devamı)

SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
W/v	Hacimde Ağırlıkça Yüzde
WHO	World Health Organization
β	Beta
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
μmol	Mikromol

ÖZET

ŞANLIURFA İLİNDE TÜKETİME SUNULAN YÖRESEL PEYNİRLERDE *LISTERIA MONOCYTOGENES* İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU

İbrahim Halil DENİZ

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma Şanlıurfa İli ve İlçelerinde semt pazarlarında tüketime sunulan çiğ koyun ve inek sütünden yapılmış yöresel Urfa peynirlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunun varlığını ve oranını tespit ederek halk sağlığı açısından risklerini değerlendirmek amacıyla planlanmıştır.

Çalışma kapsamında semt pazarlarından toplanan 97 adet peynir örneği *Listeria monocytogenes* açısından ISO 11290-1 tekniği ile kültür ekimi ile izolasyonu yapılmış ve Real-time PCR ile identifiye edilmiştir. 97 peynir örneğinin incelendiği çalışmamızda; 3 adet (% 3.09) *Listeria monocytogenes* etkeni tespit edilmiştir.

Çalışma verileri, Şanlıurfa İli ve ilçelerinde geleneksel yöntemlerle üretilip semt pazarlarında açıkta satılan peynirlerin, *Listeria monocytogenes* ile kontamine olduğu ve bu peynirlerin halk sağlığı açısından riskli olduğu ve tehlike oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, Urfa Peyniri, ISO 11290-1, Real-time PCR, Koyun.

ABSTRACT

THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* CONSUMPTION OF LOCAL CHEESE IN SANLIURFA PROVINCE

İbrahim Halil DENİZ

Food Hygiene and Technology Department, Master Thesis

This study was conducted in order to explore and identify the existence and rate of *Listeria monocytogenes* contamination in cheese made from local cow and sheep milk and also assessing risks to public health in Şanlıurfa province.

Within the aim of study, 97 different cheese samples had been collected from local markets, isolation was done by ISO 11290-1 technique regarding *Listeria monocytogenes* and were identified by Real-time PCR. The study examined 97 cheese; 3 (3.09%) *Listeria monocytogenes* factors have been identified.

Obtained data, it was found that these traditionally made cheese and openly sold cheese in neighborhood markets is contaminated with *Listeria monocytogenes* in conclusion create a risk and danger to public health.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Urfa Cheese, ISO 11290-1, Real-time PCR, Sheep.

1. GİRİŞ

İnsanların hayatını sağlıklı ve güçlü bir şekilde idame ettirebilmesi için yeterli ve dengeli beslenmesi ve bunun içinde ihtiyaç duydukları besin maddelerini bitkisel ve hayvansal kaynaklardan karşılamaları gerekmektedir. Hayvanlardan elde edilen beslenme ürünleri, biyolojik değerlerinden dolayı diğer beslenme kaynaklarına kıyasla daha fazla öneme sahiptir (1). Yüksek kaliteli bir besin kaynağı olan, mineral, protein, karbonhidrat, yağ ve vitamin maddelerini bünyesinde barındırmanın yanı sıra bu maddelerin miktarı, yararlılık derecesi ediniminin kolay olmasıyla ölçülür. Süt, bu özelliklerin tamamını barındıran bir hayvansal gıda maddesidir (2).

Süt, hayatın tüm evrelerinde, özellikle yavru döneminde en mükemmel gıda ürünü olarak tanımlanmaktadır. Kalsiyum, fosfor, protein ve riboflavin gibi B vitaminlerini yüksek miktarda içerdiğinden, beslenme ile birlikte halk sağlığı açısından da önem teşkil etmektedir. Kapsamış olduğu antibakteriyel ajanlar, immünoglobulinler, büyüme hormonları ve enzimler gibi peptid yapılı öğeler, protein ile vitamin, mineraller ve yağ asitleri sayesinde yaşamsal önem arz etmektedir (3, 4). Ancak sütün hacimli olması, bir yerden bir yere transferinin zor olması ve çabuk bozulması gibi nedenler onun peynir gibi daha dayanıklı ürünlere işlenmesini zorunlu kılmaktadır (5).

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesinde yürütülen bu çalışmanın amaçlarını şöyle sıralamak mümkündür.

1. Şanlıurfa yöresinde mahalli olarak üretilen Urfa peynirinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunun olup olmadığını tespit etmek.
2. *Listeria monocytogenes*' in Urfa peynirlerinde halk sağlığı açısından bir tehlike oluşturup oluşturmadığını belirlemek.
3. Şanlıurfa yöresinde Urfa peynirlerindeki *Listeria monocytogenes* ile alakalı daha sonra yapılabilecek çalışmalara kaynak olması açısından örneklik teşkil etmek.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Peynir

Peynir, sütün maya veya zararsız asitlerin tesiriyle pıhtılaştırılması ve farklı yöntemlerle işlenmesi, arındırılması, şekillendirilmesi, tuzlanması, bazen tat ve aroma verici zararsız katkıları ilave edilmesi ile belirli süre ve sıcaklık derecelerinde olgunlaştırılması ile oluşturulan yüksek besin değerine sahip süt ürünüdür (6).

2.1.1. Peynirin Tarihçesi

İlk peynirin “Kanana” adında bir Arap gezginin koyun rumeninden yapılmış bir kesede muhafaza etmeye çalıştığı sütün pıhtılaşp peynirleşmesiyle oluştuğu söylene de ilk yapılaş tarihi ve yöresi kesin olarak bilinmemektedir (3,7). Fakat peynirin tarihte ilk yapılaş muhtemelen tesadüf olmuş ve daha sonra oluşum mekanizması yaygınlaşarak yapılmaya başlanmıştır (7). Bu doğrultuda 1851’ de ABD ve Avrupa’ da; 1890’ da da İngiltere’ de ilk peynir fabrikaları üretim faaliyetine geçmişlerdir (8).

2.1.2. Peynirin Besin İçeriği

Peynir; kalsiyum, fosfor ve protein ile birlikte içerdiği yağ oranına göre değişen miktarlarda A, D, E ve K gibi yağda çözünen vitaminler ile B12, B2, B6 gibi suda çözünen vitaminler için kaynak oluşturmaktadır (9). Şanlıurfa’ da taze şekilde satışı yapılan Urfa peynirinin duysal ve kimyasal özelliklerinin belirlendiği araştırmada; pH’ nın 4.45-6.01, proteinin %10.77-26.39, yağın %4.10-27.80 olduğu, kuru maddenin % 27.26-47.87, titrasyon asitliğinin %0.28-1.21, tuzun %0.09-0.30, külün %1.05-2.84 aralığında değiştiği saptanmıştır (10).

2.1.3. Peynir Çeşitliliği

Birçok çeşidi yapılmakta olan peynirin dünyada 1000’ den fazla çeşidinin olduğu tahmin edilmektedir (11). Türkiye’ de de 193 peynir çeşidi bulunmaktadır (12). Peynir çeşitliliğinde sütün cinsi (inek, koyun, keçi), pıhtı oluşturma yöntemi (asit, maya), ısıl işlem görüp görmeme durumu (çiğ, pastörize), yağ oranı (yağsız, az yağlı, yağlı, tam yağlı), yapısı (çok sert, sert, yumuşak), tuz oranı (tuzlu, tuzsuz), katkı maddeleri (çeşitli ot ve baharatla, eritici tuzlar, küf gelişimi olanlar), olgunlaşma süresi (taze, yarı olgun, olgun) gibi faktörler

etkili olmaktadır (13). Türkiye’ de endüstriyel anlamda üretimi yapılan beyaz peynir, tulum ve kaşar peynirleri gibi ticari peynir çeşitlerinin dışında Urfa peyniri, çökelek peyniri, çivil peyniri, mihaliç peyniri ve otlu peynir gibi yöresel peynir çeşitleri de üretilmektedir (14). Peynirlerin sınıflandırılması kategorisine göre Urfa peyniri gözeneksiz peynirler arasında, sert ve yağlı peynirler grubuna girmektedir (Şekil 1) (15).



Şekil 1. Yöresel Urfa Peynir Çeşitleri

2.1.4. Peynir Üretimi

Dünyadaki endüstriyel peynir üretimi 20 milyon tondan fazladır. Bu üretimin % 80’ inden fazlası inek sütünden, kalan kısmı ise manda, koyun ve keçiden sağılan sütlerle yapılmaktadır. Üretilen peynirin % 70’ i Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde gerçekleştirilmektedir. Çizelge 1 ’de görüleceği üzere; 2012 yılında dünya genelindeki üretim 2011 yılına göre %2.2 artış gösterdiği; ancak, Mısır’ da azalışın olduğu gözlemlenmiştir (16).

Çizelge 1. İnek Peynir Üretimi (16)

İNEK PEYNİRİ ÜRETİMİ

	2012 (MİLYON TON)	11/12 YILLIK TOPLAM BÜYÜME (%)
AB-27	8.8	1.4
ABD	4.9	2.8
RUSYA	0.4	4.8
MISIR	0.6	-8.2
TÜRKİYE	0.6	8.7

TÜİK 2016 Şubat ayı verilerine göre; inek sütünden yapılan peynir üretimi 50 bin 885 ton ile 2015 yılının Şubat ayına göre % 0,1 azalırken; diğer sütlerden elde edilen peynir çeşitleri ise 664 ton ile 2015 yılı Şubat ayına göre % 28 azalmıştır (17). Mart ayı TÜİK verilerine göre ise; İnek peyniri üretimi 56 bin 784 ton ile 2015 yılının Mart ayına göre %1,5 artmış; koyun, keçi, manda ve bunların karışımlarından elde edilen sütlerden yapılan peynir çeşitleri ise 2 bin 94 ton ile 2015 yılı Mart ayına göre %13 azalmıştır (18).

2.1.5. Peynir Tüketimi

Çizelge 2' den anlaşılacağı üzere FAO 2009 verilerine göre; dünyada en fazla peynir tüketen ülke Yunanistan'dır. Yunanistan'ı Fransa, Danimarka, İtalya ve Avusturya takip ederken, Türkiye; dünya ülkeleri ortalamasına göre daha düşük miktarda peynir tüketmiştir (19).

Çizelge 2. Ülkelere göre kişi başı peynir tüketim miktarları (kg/kişi/yıl) (19)

Ülkeler	1990-94	2000-04	2005-08	2009	İndeks
Yunanistan	24,38	24,56	27,98	26,70	109,52
Fransa	21,78	24,18	24,20	24,60	112,95
İtalya	19,30	21,76	22,05	22,80	118,13
Avusturya	12,80	20,44	21,08	21,50	167,97
Hollanda	14,94	20,62	18,75	20,60	137,88
Almanya	17,10	19,70	20,33	20,10	117,54
İsveç	16,16	17,78	18,20	19,10	118,19
İsviçre	15,20	18,68	18,95	18,90	124,34
İsrail	16,68	17,10	18,98	17,50	104,92
Çek Cumh.	9,70	13,72	15,98	16,70	172,16
ABD	13,02	15,26	15,28	14,90	114,44
Norveç	14,38	15,26	15,10	14,80	102,92
Dünya	2,66	2,76	2,90	2,90	109,02
Türkiye	2,52	1,88	1,98	1,90	75,40

* İndeks hesaplamalarında 1990-94 dönemi 100 olarak alınmıştır.

2.1.6. Peynirin Faydaları

- Kemik gelişimini destekler ve kemik erimesini önler.
- İmmun sistemi geliştirir.
- Diyareyi önler.
- Gastroenterit rahatsızlıklarını giderir.
- Mide barsak florasını düzenler
- Gastrit ve ülseri önler.
- İyi bir enerji kaynağıdır.
- İyi bir protein kaynağıdır.
- Diş yapısını korur ve çürüklerini önler.

olarak sıralanabilir (20).

2.1.7. Peynirin Yapılışı

Peynir üretimini basamaklar halinde şöyle sıralamak mümkündür (21).

1. Çiğ Süt
2. Kaba kirlerinden arındırma (süzme)
3. Yağ yüzdesine göre standardizasyon
4. Homojenizasyon
5. Pastörizasyon (72-74°C'de 15-30 saniye)
6. Soğutma (30-32°C)
7. Starter kültür eklenmesi (1-4 g mezofilik kültür/100 g)
8. Fermentasyon (28-32°C, 75-90 dakika pıhtının şekillenmesi)
9. Teleme kesim işlemi 2-4 cm küpler halinde kesilir ve 5-10 dk dinlendirilir
10. Pıhtının suyun alınması (30-45 dakika)
11. Baskılama ve Kalıplama
12. Salamura (%12-16'lık NaCl ile 15-21°C'da 6-12 saat)
13. Paketleme (%14-16'NaCl içerisinde)
14. Olgunlaştırma (12-15°C'de 30-60 gün)
15. Depolama (4-8°C'de)

Urfa peyniri ise geleneksel olarak koyun sütü veya koyun-keçi sütü karışımlarından üretilmektedir. Ancak, küçükbaş hayvanların laktasyon sresinin kısa olması nedeniyle günümüzde inek sütü veya karışımından da yapılmaktadır. Üretim genel itibariyle geleneksel yöntem, bilgi ve maharet ile atadan kalma alet ve ekipman kullanılarak hijyenik olmayan ortamlarda, pastörize edilmeden yapılmaktadır. Yöresel olarak Urfa peynirinin yapımı řu şekildedir; Sağımdan sonra süt, kaba kirlerinden tlbent ya da süzgeçle arındırılmanın akabinde peynir mayası ile sağım sıcaklığında kap içerisinde mayalanır. Kabın etrafı bezlerle kapatılır. Mayalanma süresi, mayanın etkisine göre 3-3,5 saat arasında sürebilmektedir. Urfa yöresinde mayalanmanın tamamlanıp tamamlanmadığı; pıhtının bıçakla kesilme esnasında bıçağa yapışmasıyla ya da pıhtıya daldırılan parmağa pıhtı taneciklerinin tutunmasıyla anlaşılır. “ Parzın” denilen tlbentlere kesilen pıhtı bir kepçe ile doldurulmaktadır. Tlbent bir tahta üzerinde szlmeye bırakılır. Sonra tlbentlerin ağzı bağlanır ve üstüne tahta ve tahtanın üstüne de ağırlık bırakılarak kalıp tutması için baskı uygulanır. Kalıplar yöre halkı tarafından “deleme” olarak adlandırılan koni şekliini alır (10).

2.1.8. Peynirde Bulunabilen Patojen Bakteriler

Çiğ süt ve ürünlerinde görülen bazı patojen mikroorganizmaları řu şekilde sıralamak mümkündür;

- *Listeria monocytogenes*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Brucella spp*
- *Mycobacterium bovis*
- *E. coli*
- *Mycobacterium fortuitum*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella spp.*
- *Shigella paradysenteria*
- *Mycobacterium avinum*

Salmonella spp. suşları dondurma, süt tozu ve koyulaştırılmış süt için önem arz ederken; peynir için; *Listeria spp.*, *Brucella spp.*, *Salmonella spp.*, Enteropatojenik *E. coli* ve *Shigella spp.* bakterileri önem arz etmektedir (22).

2.2. *Listeria spp.*

Listeria spp. spor oluşturmayan, fakültatif anaerob ve mikroaerofil, Gram pozitif, basit boyamada çubuk ve kokobasil, kimi zaman Çin alfabesi harfleri gibi görülen psikrotrof bir bakteridir (23).

2.2.1. *Listeria*'nın Tarihçesi

Çizelge 3. *Listeria monocytogenes*' in Tarihsel Gelişimi (24)

Yıl	Araştırmacı	Yer	İsmlendirme	Patojen kaynağı
1891	Hayem	Fransa	-	İnsan
1893	Henle	Almanya	-	İnsan
1911	Hülpers	İsveç	<i>Bacillus hepatis</i>	Tavşan
1926	Murray ve ark.	Cambridge/İngiltere	<i>Bacterium monocytogenes</i>	Tavşan/Domuiz
1927	Pirie	Güney afrika	<i>Listerella hepatolytica</i>	Gerbil
1927	Leningham	Londra/İngiltere	<i>Listerella monocytogenes</i>	-
1929	Nyfeld	Danimarka	<i>Listerella hominis</i>	İnsan
1937	Gill	Yeni Zelanda	<i>Listerella ovis</i>	Koyun
1940	Pirie	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-

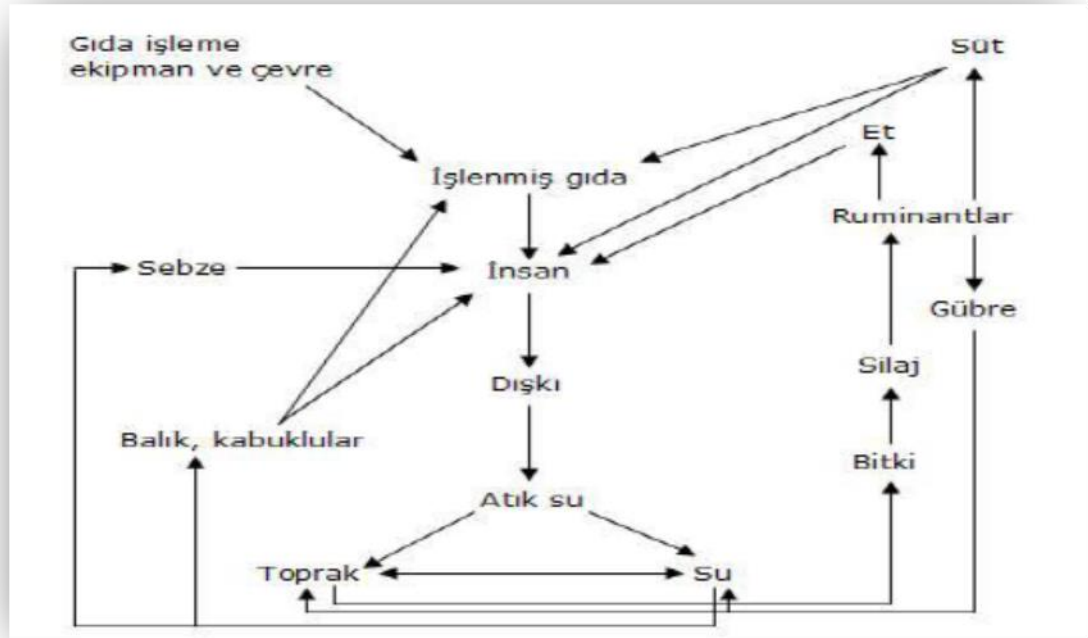
Çizelge 3' den anlaşılacağı üzere *Listeria monocytogenes*; tarihsel gelişim süreci içerisinde farklı kişiler tarafından farklı şekillerde isimlendirilmiştir (25). Örneğin Hülpers, 1911 yılında etkeni; tavşan iç organlarından izole edip *Bacillus hepatis* adıyla; Murray ve arkadaşları, 1926 yılında Cambridge' de yaban domuzlarında ve laboratuvar tavşanlarında izole ettikleri izolata *Bacterium monocytogenes* adını vermişlerdir (26, 27, 28). Son olarak Pirie, 1940 yılında etkeni *Listeria monocytogenes* olarak adlandırmış ve bu adlandırma ile son halini almıştır (24).

2.2.2. *Listeria* Türlerinin Taksonomisi

Listeria genusu Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de çubuk formunda, Gram pozitif, sporsuz, altı türden oluşmaktadır. Patogen olanları; *Listeria monocytogenes* ve *Listeria ivanovii* ve patojen olmayan; *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, ve *Listeria grayi*' dir. Bu grupta yedi cins (*Listeria*, *Kurthia*, *Lactobacillus*, *Brochothrix*, *Erysipelothrix*, *Renibacterium*, *Caryophanon*) bulunmaktadır. Bu grubun en belirgin özelliği düşük guanin/sitozin oranı, lipoteikoik asit varlığıdır (29). *Listeria* familyasında yalnızca *Listeria monocytogenes* insan listeriozisi ile ilişkilendirilmişse de; *Listeria seeligeri* ve *Listeria İvanovii*, ender de olsa görülmüştür (30).

2.2.3. *Listeria monocytogenes*' in Bulaş Kaynakları

Listeria monocytogenes' in bulaş kaynakları; hava, su, gübre, yem, bitki, hayvanlar, insan, toprak, kanalizasyon atıkları, işleme malzemeleri, katkı maddeleri ve paketleme materyalleridir (Şekil 2) (31, 32). Ayrıca, doğada yaygın olarak bulunduğu için gıdalarda kontaminasyon olasılığı da artmaktadır (33).

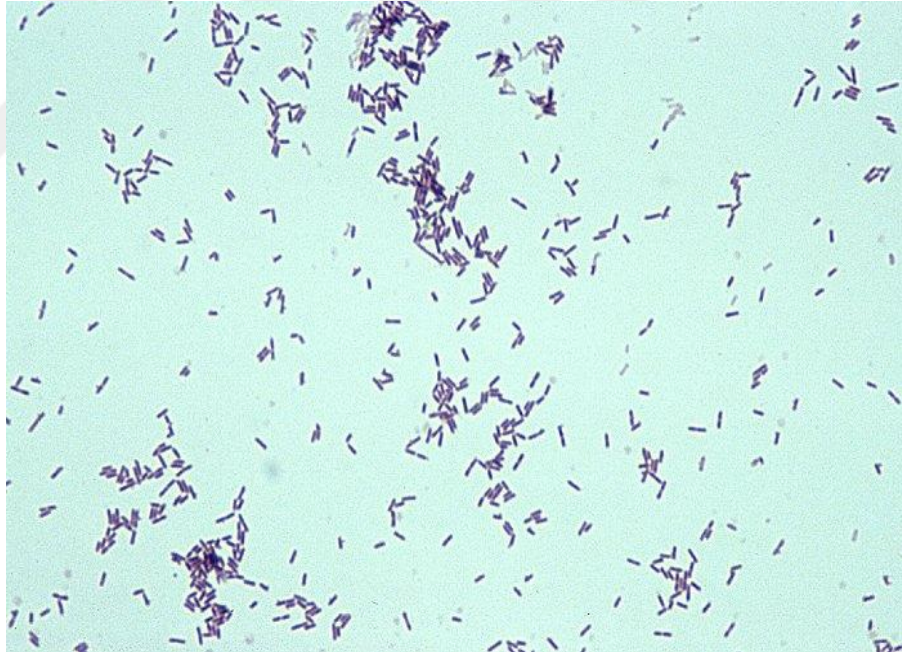


Şekil 2. *Listeria monocytogenes*' in Kontaminasyon Kaynakları (32).

Listeria monocytogenes, sığır dışkısında 16 ay, koyun dışkısında 3 ay, toprakta 2-6 ay, sütte 12 ay ve diğer gıda ürünlerinde 5-26 aya kadar canlılığını sürdürebilmektedir (34, 35).

2.2.4. *Listeria monocytogenes*' in Morfolojisi

Listeria türleri mikroskobik görüntüleri bakımından benzerlik göstermektedirler (29, 36). Şekil olarak *Listeria monocytogenes*, 0,4-0,5 µm eninde, 0,5-2 µm. uzunluğunda düzgün çubuk veya kokobasildir (24, 28). Mikroskobik muayenede, taze kültürler tek veya birkaç bakteriden oluşan kısa zincirli kokobasil olarak görülür (Şekil 3). Büyüklük olarak eski kültürlerde, 6-20 µm boyunda filamentöz yapıda görülebilirler (28, 34). Sayıları 1-5 arasında değişiklik gösteren peritrik flagellaları yardımıyla 25 °C' de hareketli olmasına rağmen, 37 °C' de flagella gelişimi yavaş şekillendiğinden hareket fark edilemeyebilir. Yarı katı besi yerinde tipik şemsiye ya da çam ağacı şeklinde görülebilirler. Faz kontrast, muayenesi mikroskopla yapıldığında, takla hareketi görülebilmektedir (27, 28, 30, 37).



Şekil 3. *Listeria monocytogenes*' in Mikroskobik Görüntüsü (24, 38).

2.2.5. *Listeria monocytogenes*' in Biyokimyasal Özellikleri

Listeria monocytogenes' in sahip olduğu çok değişken biyokimyasal aktivitesi identifikasyonda oldukça önemlidir (Şekil 4). Çoğu besi yerinde üreyebilmesine rağmen; gelişmesi için riboflavin, teikoik asit, biotin, tiamin, sistein, glutamin, löysin, izolöysin, valine

gereksinim duymaktadır. Oksidaz negatif, katalaz pozitifdir. Glikoz, maltoz, ramnoz, mannoz, salisin, dekstrin, fruktoz ve nişastayı asit oluşturarak fermente etmesine rağmen; mannitol, ksiloz, rafinoz, dulsitol, inulin, inositol, adonitolü fermente edemez. Voges-Proskauer (MR-VP) ve Metil-Red pozitif, H₂S, üre, indol, nitrat negatifdir. Eskulin' i hidrolize eder ve kanlı agarda β-hemoliz yapar (24, 28, 39).

Çizelge 4. *Listeria* Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri (24, 28).

	CAMP(S.aureus)	Mikroskopta Hareket	β- hemoliz	CAMP(R.Equi)	Katalaz	Besiyerinde Hareket	Ramnoz	Oksidaz	Glikoz	Eskulin	MR-VP	NO ₂	Mannitol	Ksiloz	Üre
<i>L.monocytogenes</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+/-	+	+/+	-	-	-	-
<i>L.grayi</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	+/-	+	+/+	-	+	-	-
<i>L.innocua</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	+/-	+	+/+	-	-	-	-
<i>L.seligeri</i>	+	+	+	-	+	+	+/-	-	+/-	+	+/+	-	-	+	-
<i>L.ivanovii</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+/-	+	+/+	-	-	+	-
<i>L.welshimeri</i>	-	+	-	-	+	+	+/-	-	+/-	+	+/+	-	-	+	-

+: pozitif reaksiyon. -: negatif reaksiyon. +/-: değişken reaksiyon. +/+ : pozitif/pozitif reaksiyon.

2.2.6. *Listeria monocytogenes*' in Gelişme Koşulları

Listeria monocytogenes aerobik, fakültatif anaerobik veya mikro aerofilik ortamlarda üreyebilir. Optimum pH aralığı 6.0-8.0 olmasına karşın geniş pH aralıklarında (3.0-9.5) gelişme gösterir. Sıcaklık değeri olarak -0.1 ile 45 °C' de gelişme gösterebilmesine rağmen gelişebilmesi için optimum sıcaklık aralıkları 30-37 °C' dir (24, 28, 37, 40).

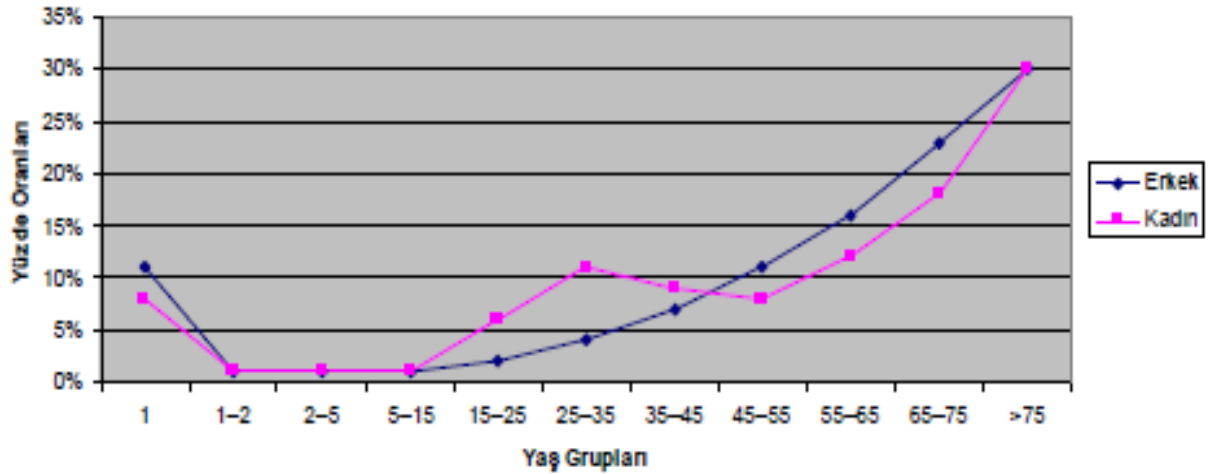
Listeria monocytogenes yüksek düzeydeki tuza dayanıklı bakteridir. Bakterinin %10-12 Sodyum Klorür’ de çoğalabildiği ve %25,5 Sodyum Klorür içeren ortamda 4°C’de aylarca yaşayabildiği saptanmıştır. Gelişebildiği su aktivitesi değerleri minimum 0,92 iken optimum 0,97’ dir (Çizelge 5) (24, 28,37).

Çizelge 5. *Listeria monocytogenes*’ in Gelişme Koşulları (24, 28, 37).

Faktör	Min.	Opt.	Max.
Sıcaklık (°C)	-0.1	30-37	45
pH	3.0	6.0-8.0	9.5
Su aktivitesi (a _w)	0.92	0.97	-

2.2.7. *Listeria monocytogenes* Enfeksiyonunda Risk Grupları

Listeriozis; hamileler, yeni doğanlar, yaşlılar, AIDS ve lenfoma gibi hastalıklar neticesinde bağışıklık sistemleri zarar görmüş kişiler, bağışıklık sistemleri immünesüpresif ilaçlarla baskılanmış transplant alıcıları ve kötü huylu tümörlü hastalar, ölüm oranının yüksek tespit edildiği risk gruplarıdır. Bunların yanı sıra yaş ve cinsiyetinde görülme sıklığını etkilediği bildirilmiştir (Şekil 4) (24, 32, 41, 42).



Şekil 4. ABD 2000-2004 Yıllarında Görülen Listeriozis Vakaları (24, 41).

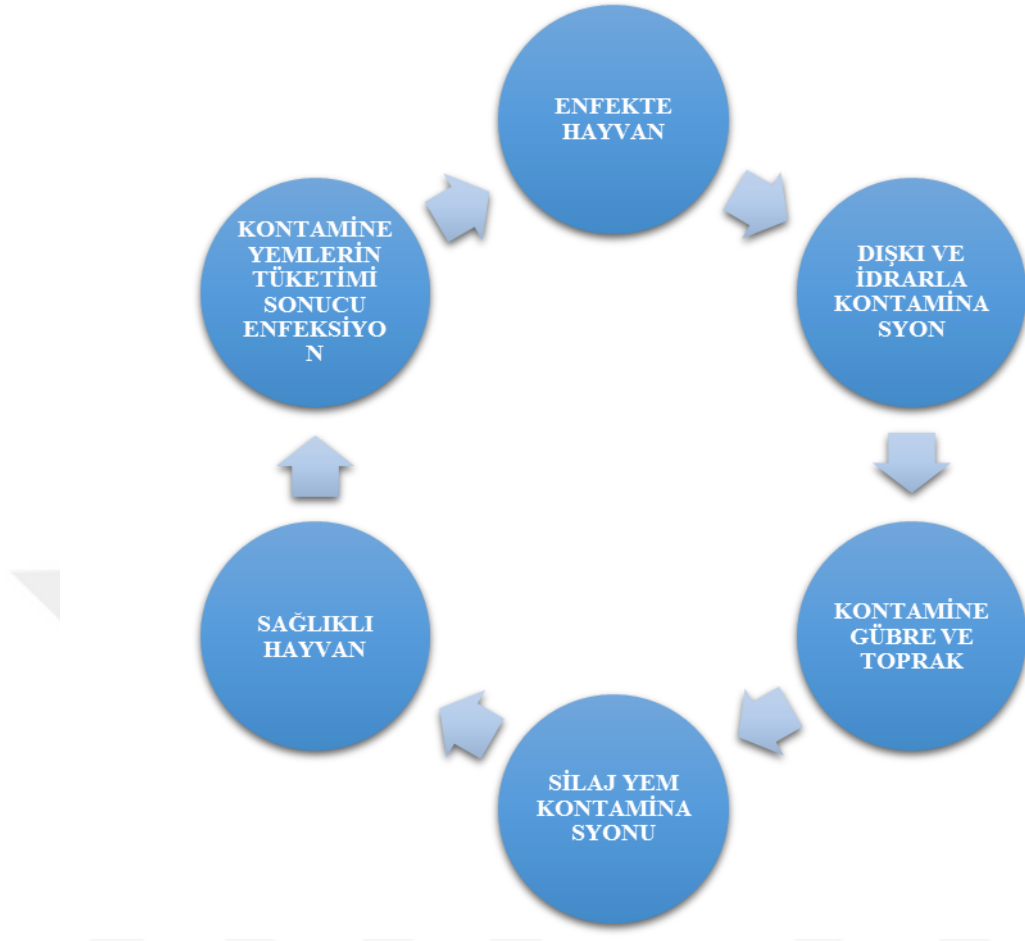
2.2.8. *Listeria monocytogenes* Enfeksiyonu Semptomları

Listeria monocytogenes; intestinal sistem dışında birçok doku ve organda oluşmasıyla; septisemi, menenjit, mastit, konjuktivit, meningoensefalit, faranjit, sinüzit, yavru atma, gelişme geriliği, siroz, karaciğer apsesi gibi semptomlar oluşturabildiği için önemlidir (43).

2.2.8.1. Hayvanlarda Listeriozis

Listeriozis sığır, koyun, keçi, manda, geyik, tavşan, tavuk, güvercin, yarası, at, köpek, domuz, kedi, tilki, balık, fare, hindi, ve sülün gibi birçok hayvan türünde görülmektedir. Hastalığın enfeksiyonunda bazı hayvanların dışkılarında *Listeria monocytogenes* tespit edilmiştir. Bakteri; hasta hayvanlar ile birlikte sağlıklı hayvan dışkılarından da izole edilebilmektedir (35). Weber ve ark. (44) sağlıklı hayvan dışkılarından *Listeria monocytogenes* izole edilmesiyle alakalı çalışmalarında; sığırdan (%33), koyundan (%8), kuşlarda (%8), domuzda (%5.9), atlarda (%4.8) ve köpekte (%0.9) oranında *Listeria monocytogenes* tespit etmişlerdir. Diğer hayvan türleriyle kıyaslandığında silajla beslenen ruminantlarda daha fazla Listeriozis olguları görülmekte ve enfeksiyonlar çoğunlukla kontaminasyona uğramış silaj tüketimine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Enfektif hayvanlar tükürük ve salgılarıyla ortamı kontamine etseler de sağlıklı hayvanlara bulaşma genellikle oral yolla gerçekleşmektedir (Şekil 5) (24).

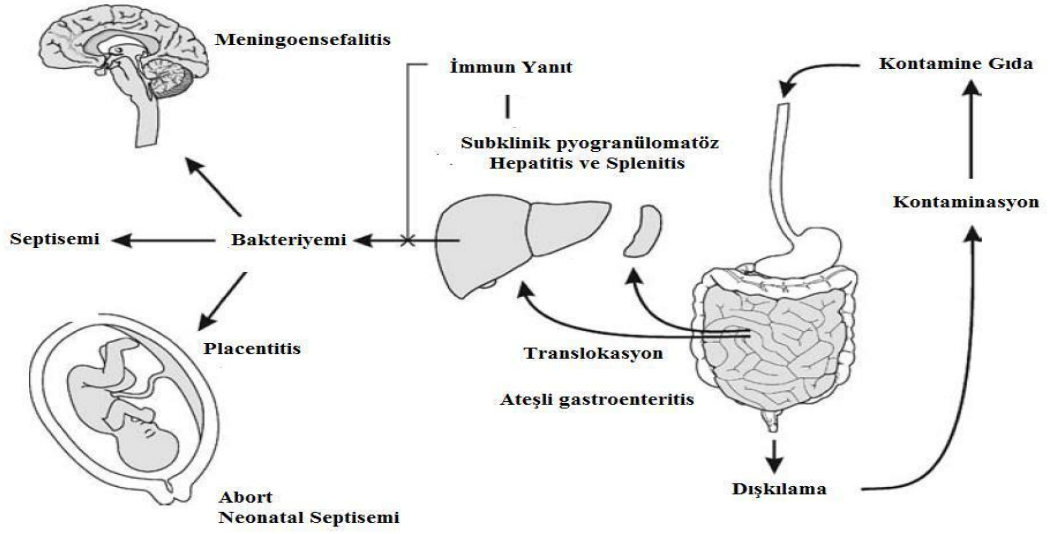
Sığır ve koyun başta olmak üzere gebe hayvanlarda; uterusun enfekte olmasıyla yavru atma, ölü doğum veya doğumdan sonra ilk ay içerisinde yavru ölümleri görülmektedir. Sığırlarda nadiren, doğumu yeni gerçekleşmiş kuzularda ise sık bir şekilde visceral ve septisemik enfeksiyonlar görülmektedir. Ayrıca, yürüme bozuklukları ve felç belirtileriyle görülen ensefalitis, hayvanları etkilemektedir. Sığır mastitisi ender görülmesine karşın tedavinin bitimine kadar bakterinin sütle salgılandığı bilinir (45).



Şekil 5. Listeriozis Döngüsü (24).

2.2.8.2. İnsanlarda Listeriozis

İnsanlarda ilk Listeriozis hadisesi, birinci dünya savaşından sonra menenjit hastalığıyla bir askerde görülmüştür. Almanya’ da 1949 yılında yeni doğan bebeklerde epidemik listeriozisin patojen özelliği kesinleşmiştir (46). *Listeria monocytogenes* insanlara; deri ve göz yoluyla direkt bulaşmakla birlikte, gıdalardan, hayvanlardan, böceklerden, topraktan ve bitkilerden de bulaşabilmektedir. Kontamine gıdaların tüketimiyle bulaşma en sık görülen yol iken; göz ve deri yoluyla bulaşma en fazla veteriner hekimlerde, laboratuvar çalışanlarında ve hayvan bakıcılarında görülmektedir (32). Listeriozis insanlarda görülme şekilleri olarak invaziv ve invaziv olmayan (hafif form) formlar olarak ikiye ayrılır. İnvaziv olmayan şekilde kısa bir inkübasyon dönemi sonunda baş ağrısı, ishal, ateş ve miyalji başlıca semptomlardır. İnvaziv form ise hamileler, malign tümörlü hastalar ve yaşlılar gibi predispoze bireylerde yüksek mortalite gösteren ve inkübasyon süresi 90 güne kadar ulaşabilen formudur(Şekil 6) (41).



Şekil 6. İnsanlarda Listeriozis Komplikasyonları (24, 47)

Listeria monocytogenes' in enfeksiyon dozu tam olarak bilinmese de enfekte insanların bağışıklık sistemi, gıdanın yapısı etkenin virülansı, gibi faktörler göz ardı edilmemesi gerekmektedir (24).

2.2.8.3. Gıdalarda Listeriozis

Listeria monocytogenes; Amerika ve Kanada' da 1980' ler de teşhis edilen ve birçok ölümle sonuçlanan salgınlardan sonra gıda patojeni olduğu anlaşılmıştır (48, 49). Gıda kaynaklı listeriozis; salmonellozis ve kampilobakteriyozis kadar yaygın olmamasına rağmen, klinik olarak daha ağır tablolar oluşturabilmektedir (34, 50). 1999 yılı Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi verilerine göre; gıda kaynaklı enfeksiyonlar arasında %20 lik mortalite oranıyla *Listeria monocytogenes* ikinci sırada yer almıştır (50). Gıdalar arasında enfeksiyon kaynakları olarak; çiğ süt, pastörize edilmiş süt, dondurma, meyve ve sebzeler, et ve et ürünleri, kanatlı etleri, çiğ yada işlenmiş balık, kabuklu deniz mahsulleri, ısıtılmış işlenmemiş süttten elde edilen taze peynirler, yumuşak peynirler, tüketime hazır endüstriyel gıdalar, ısıtılmış işlenmiş işlenmiş et ürünleri sayılabilir (24, 51, 52, 53). Değişik ülkelerde sporadik ve epidemik listeriozis vakaları Çizelge 6' da bildirilmiştir.

Çizelge 6. Yıllara Göre Dünyada Görülen *Listeria monocytogenes* Olayları (24).

Tarih	Ülke	Olay/ölüm sayısı	Gıda maddesi
2009-2010	Almanya, Avusturya Çek Cumh	34/8	Çökelek Peyniri (54)
2007	ABD	5/3	Pastörize Süt (55)
2006	Çek Cumh.	75/12	Peynir ve salata (56)
2002	Kanada	17/0	Peynir (57)
2001	Japonya	38/0	Peynir (58)
2001	İsveç	42/0	Süt ürünleri (59)
2000	ABD	13/0	Meksika tipi peynir (60)
1998-1999	Finlandiya	25/6	Tereyağı (61)
1995	Fransa	17/4	Yumuşak peynir (62)
1994	ABD	45/0	Çikolatalı Süt (63)
1992	Fransa	279/85	Jöleli domuz dili (64)
1991	Tazmanya	4/0	Midye (65)
1987-1989	İngiltere	185/129	Et ürünleri (66)
1983-1987	İsviçre	122/31	Çiğ süttten elde edilen peynir (67)
1981	Kanada	41/17	Salata (68)
1976	ABD	20/4	Çiğ Salata (62)
1966	Almanya	279/109	Süt Ürünleri (63)

2.2.9. Peynirde *Listeria monocytogenes*

Genellikle *Listeria Monocytogenes* 'in ürüne, peynir yapımı, olgunlaştırılması, depolanması ve pazarlanması aşamalarında bulaştığı ve önemli sağlık riskleri oluşturduğu, süt ürünlerine sıklıkla pastörizasyon sonrası bulaştığı, süt işletmelerine ise çiğ süt yoluyla girdiği belirtilmektedir (36, 69, 70).

Türk Gıda Kodeksi 2009 tebliğinde bazı patojenlerin ve maya-küfün peynirlerde belirtilen limitleri Çizelge 7' de belirtilmiştir (24).

Çizelge 7. Peynir Mikrobiyolojik Kriterleri*.

	n	C	m	M
Maya ve Küf (küfle olgunlaştırılanlar hariç)	5	2	10 ²	10 ³
Staphylococcus aureus (koloni oluşturan birim-kob/g)**	5	2	10 ²	10 ³
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	0/25g-ml	
<i>Salmonella spp.</i>	5	0	0/25g-ml	
<i>Esherichia coli</i> O157:H7	5	0	0/25g-ml	

* Eritme peynir hariç diğer tüm peynirler

**Koagülaz pozitif stafilokoklar

Tebliğ verilerine göre tüm peynir numunelerinde *Listeria monocytogenes*' in izole edilmemesi gerekmektedir. Çiğ koyun sütünden üretilen şavak salamura peynirlerinde üretim anında inoküle edilen *Listeria monocytogenes* suşunun 120 gün süresince canlı kaldığı tespit edilmiştir. Bu araştırma *Listeria monocytogenes* suşunun salamura süresince peynirlerde göz ardı edilmemesi gereken bir patojen olduğunu göstermektedir (71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Gıda Örnekleri

Bu çalışmamızda; Şanlıurfa il ve ilçe merkezlerindeki semt pazarlarında yöresel olarak koyun ve inek sütünden üretilen taze peynirlerden, toplamda 97 adet peynir örneğinde *Listeria monocytogenes*' in varlığı araştırıldı (Şekil 7).



Şekil 7. Peynir Örnekleri

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Alet Ekipman

3.1.2.1. Besiyerleri

3.1.2.1.1. Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth (Base) (Merck 1.10398)

- Proteose peptone 5,0 g/L
- Esculin 1,0 g/L
- Yeast extract 5,0 g/L
- NaCl 20,0 g/L
- KH_2PO_4 1,35 g/L
- Meat extract 5,0 g/L
- Lithium chloride 3,0 g/L
- Peptone from casein 5,0 g/L
- Na_2HPO_4 12 g/L

Ön zenginleştirme aşamasında kullanılmak üzere, hazır besi yerinden 55 g tartılarak 1000 ml distile suda çözdürüldü ve pH' sı $7,0 \pm 0,2$ 'ye ayarlandıktan sonra 15 dakika otoklavda 121°C 'de sterilize edildi (Şekil 8). Otoklavdan alınan besi yeri sıcaklığı 50°C 'ye düşürüldükten sonra üzerine 5'er ml steril distile su ile süspanse edilmiş 1 ampul Ammonium İron (III) citrate (Merck 1.00092) ve 2 ampul Fraser *Listeria* Selektif Supplementten (Merck 1.00093) ilave edilerek karıştırıldı. Steril cam kavanozlara aseptik koşullarda 225 ml transfer edildi (Şekil 9).



Şekil 8. Supplementsiz *Listeria* Enrichment Brothlarda Selektif Olmayan Ön Zenginleştirmeler



Şekil 9. Supplement İlave Edilmiş *Listeria* Brothlarda Selektif Ön Zenginleştirmeler

3.1.2.1.2. Fraser *Listeria* Selektif Supplement (Merck 1.00093)

Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398) besiyeri için katkıdır. Bileşiminde Nalidixic acid 5 mg; Acriflavine 6,25 mg bulunur. Yaklaşık 1 ml su Selektif katkı şişesine ilave edilerek çözündürülür.

1/2 kuvvette Fraser Broth (Tam kuvvet) hazırlamak için 1000 ml steril Fraser Broth besi yerine 1 şişe Ammonium İron(III) supplement (Merck 1.00092) ile birlikte 1 şişe Fraser *Listeria* Selektif Supplement (Merck 1.00093) kullanıldı.

3.1.2.1.3. Fraser *Listeria* Ammonium İron(III) (Merck 1.00092)

Bileşiminde 250 mg Ammonium İron(III) citrate bulunur. Fraser *Listeria* selektive ile birlikte 1 şişe olarak katılır.

3.1.2.1.4. Chromocult *Listeria* selective Agar Base (Merck 1.00427)

Zengin bir bileşime sahip ISO 11290 standartlarına göre kromojenik besi yeri olarak kullanılır.

Tipik bileşime (g / litre),

- Peptone from meat 18,0 g/L;
- Di-Sodium hydrogen phosphate 2,5 g/L;
- Yeast extract 10,0 g/L;
- 5-bromo-4-chloro-3-indolyl - β -D-glukopiranozid 0.05 g/L;
- Magnesium Glycerphosphate 1,0 g/L
- Magnesium Sulphate 0,5 g/L;
- Sodium Chloride 5,0 g/L;
- Lithium chloride 10,0 g/L ;
- Agar-agar 13,0 g/L
- Sodium pyruvate 2,0 g/L ;
- Peptone from casein 6,0 g/L;
- Glucose 2,0 g/L

Hazırlanışı; 35 g dehidre besi yeri toplam 476 ml distile suda eritilir. Kaynar su banyosunda çözdürülür. (Bu besi yeri otoklavlanmaz.) 48-50 °C' ye kadar soğutulur supplementler eklenir ve 16-18 er ml steril petri kutularına dökülür.

3.1.2.1.5. Chromocult Listeria Agar Selective Supplement(Merck 1.00432)

Her bir şişede 5 mg Amphotericin B;20 mg Ceftazidime;20 mg Nalidixic acid Sodium salt ve 76700U Polymyxin B sulphate vardır.

Supplement şişesine 4 ml 1:1 oranında su ve etanol (%96) ilave edilir. Her şişe 500 ml besi yeri için kullanılır.

3.1.2.1.6. Chromocult Listeria Agar Enrichment Supplement (Merck 1.00439)

Her bir şişede 1 g L- α (Alfa)- Fosfatidilinositol vardır. *Listeria monocytogenes'* in diğer *listeria* türlerinden ayırt etmesi için kullanılır.

L- α (Alfa)- Fosfatidilinositol bulunan şişe benmaride 48-50 °C'ye kadar ısıtılır. 4 ml selektif katkı eklendikten hemen sonra zenginleştirme katkısı aseptik olarak agar besi yerine ilave edilir.

3.1.2.2. Alet ve Ekipmanlar

- Otoklav(ALP)
- İnkübatörler (Nüve)
- Real-time PCR Cihazı (Rotor-Gene Q)
- Analitik teraziler (0.01g hassasiyette)
- Bunzen beki
- Biyogüvenlik kabini (Esco Class II)
- Steril bıçak, pens,spatül, vb. malzemeler
- Su banyosu (80-100 °C)
- Tüp karıştırıcı
- Otomatik pipet ve steril pipet ucu
- Cam kavanoz
- Derin Dondurucu
- Plastik steril petriler (15x90mm)

- Nanodrop DNA Cihazı(Denovix)
- Cam tüpler ve tüp standları
- Erlen , mezür, beher vb. cam malzemesi
- Mikrodalga
- Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı (Wisestir)
- Isıtıcı blok Dupont
- Otomatik pipet 20-200 µl
- Otomatik pipet 5-50 µl
- Stomacher

3.2. Yöntem

3.2.1. Kültür

Bu çalışmada Şanlıurfa il ve ilçe merkezlerindeki semt pazarlarından satın alınan 97 adet taze yöresel urfa peynir örneği aseptik koşullarda soğuk zincir altında laboratuara getirildi. Örnekler analize kadar -18 °C muhafaza edildi. Daha sonra ISO 11290-1 metoduna göre analize alındı.

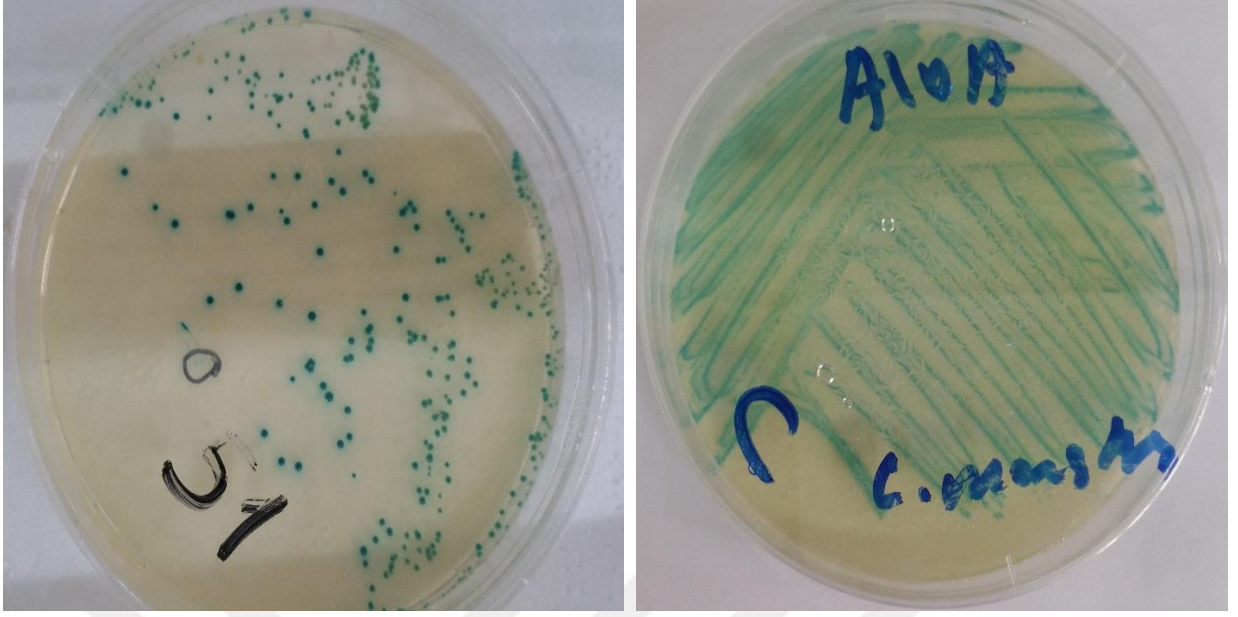
Fraser Listeria Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.00427)'den 55,0 g/L tartılarak, 1000ml distile suda çözdürüldü ve 121 °C de otoklavda 15 dk sterilize edildi. Hazırlanan besiyeri 21°C'da pH'sı 7,2 ve sarımsı kahve renkte ve berraktır. Fraser Broth besiyeri ISO 11290-1 yönteminde belirtildiği üzere ön zenginleştirme için Fraser *Listeria* Selective Supplement (Merck 1.00093) ve Fraser Listeria Ammonium İron(III) (Merck 1.00092) ilave edilerek karıştırıldı. Her numune steril stomacher torbalarına 25'er gram tartılarak içine 225 ml Fraser Listeria Selective Enrichment Broth (Merck 1.10398) ilave edildi. 2 dk. homojenize edilerek 37 °C' de 48 saat aerob ortamda inkübasyona bırakıldı (Şekil 10).



Şekil 10. Ekime Hazır Ön Zenginleştirilmiş Numuneler

Listeria Selective Agar Base (Merck 1.00427.) 35 gram 300 ml distile suda karıştırıldıktan sonra üzerine 176 ml distile su eklendi. 20-35 dk. Karıştırılıp su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra 50 °C' ye kadar soğutuldu. Septik olmayan koşullarda 4 ml steril damıtık etanol/su karışımı (1:1) ile karıştırılan Chromocult *Listeria* Agar Selective Supplement (Merck 1.00432.) besiyerine ilave edildi. Selective katkının ilavesinden hemen sonra zenginleştirme katkısı olarak 20 ml 48-50 °C de olan, 480 ml Chorocumult *Listeria* Agar Enrichment supplement (Merck 1.00439) besiyerine ilave edildi ve karıştırıldı.

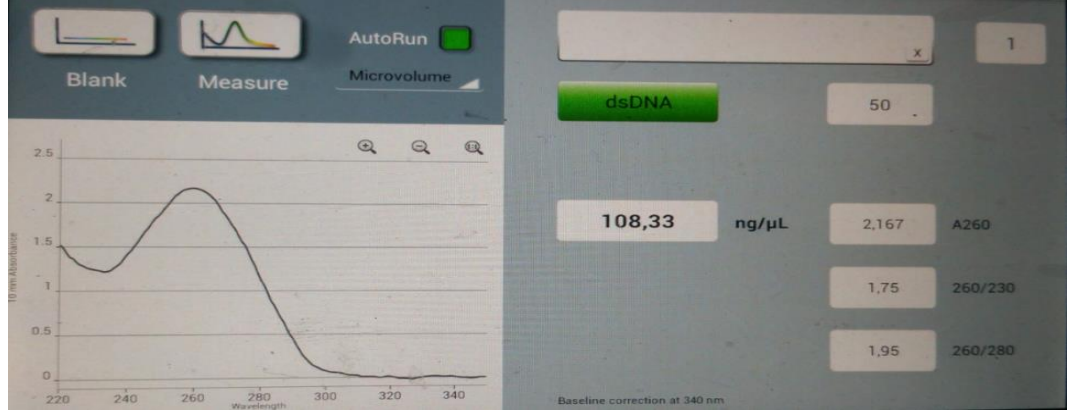
ALOA Agarlar Steril petrilere döküldü. Besiyerlerine çizgi ekimi yapıldı. 37 °C' de 24 saat inkübatörde inkübe edildi. ALOA agarda *Listeria monocytogenes* opak bir hale ile çevrili yeşil- mavi koloniler oluştu (Şekil 11). Şüpheli koloniler tespit edildi. Aynı gün içinde Real-time PCR cihazında okutuldu.



Şekil 11. *Listeria spp.* nin ALOA Agardaki koloni morfolojisi

3.2.2. DNA İzolasyonu

Şüpheli kolonilerden 5'er adet alınarak Brain Heart Infusion Brotha geçilerek 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyonu takiben sıvı besiyerleri steril 1.5 ml microsantrifüj tüpüne minimum 10^9 bakteri hücresi sayılarak alındı. Santrifüjde 8000 x g de 5 dakika çevirilerek oluşan pellet üzerine 200 µl PBS eklendi. Üzerine 20 µl lizozim enzimi eklenerek (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA pH:8.0, 0,1 %(w/v) SDS) 37°C' de 15 dakika hücre duvarını yıkmak için bekletildi. Bu lizatlardan DNA izolasyonu, High Pure PCR template DNA ekstraksiyon kitinde (11796828001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) bulunan, kültürden bakteri izolasyon prosedürü kullanılarak üretici talimatları doğrultusunda yapıldı. Elde edilen 26 adet şüpheli kolonilerin DNA'ları Nanodrop cihazı ile ölçülerek 260/280 nm saflığı ve ng/µl olarak miktarları tespit edildi (Şekil 12, Çizelge 8). İzole edilen DNA örnekleri -20 °C de Real-time PCR analizi için muhafaza edildi (72).



Şekil 12. DNA Nanodrop Cihazındaki Ölçümler

Çizelge 8. DNA Ölçümleri

Sayı	Örnek No	DNA Miktarı(ng/μl)	260/280nm
1	5	70,25	2
2	7	14,76	1,9
3	9	43,13	2,1
4	24	38,29	2
5	26	142	2
6	34	113,13	2
7	44	62,1	2
8	51	48,88	1,8
9	52	26,14	2
10	54	124	2
11	60	99,85	1,9
12	62	114	1,6
13	66	182	1,9
14	72	74,3	2
15	74	128,72	1,91
16	76	152,73	2,06
17	80	26	1,9
18	82	32,3	2
19	84	56	1,9
20	85	13,07	2,1
21	86	71	2
22	87	76,15	2
23	89	28,62	2
24	90	108,33	1,95
25	94	21,32	1,6
26	95	50,35	2,1

3.2.3. Real-time PCR Yöntemi ile *Listeria spp.* İdentifikasyonu

Listeria spp. şüpheli kolonilerden önce nükleik asid izolasyonu yapılarak elde edilen DNA'lerden *Listeria monocytogenes* identifikasyonu, Listeriolysin gen bölgesi kullanılarak Real-time PCR yöntemi ile incelendi. Tüm Real-time PCR reaksiyonlarında örnekler 2 tekrarlı çalışıldı. Real-time PCR işlemi, Rotorgene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) sisteminde Light Cycler FastStart DNA Master SYBR Green I kiti (03003230001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılarak üretici direktifleri doğrultusunda yapıldı. *Listeria monocytogenes*'in, Listeriolysin O gene (*hly*) bölgesi için spesifik dizayn edilmiş primerler kullanılarak üretici direktiflerine göre çalışma ve analiz gerçekleştirildi (73).

Listeria monocytogenes için

Düz primer (5'-GGGAAATCTGTCTCAGGTGATGT-3') ve

Ters primer (5'-CGATGATTTGAACTTCATCTTTTGC-3')

Listeria monocytogenes için PCR ürünlerinin amplifikasyonları için PCR karışımı 2 µl 10× SYBRGreen mix (Taq-polymerase içeren), 2µl 25mM MgCl₂, 12µl ddH₂O ve herbir primerden 1µl (10 µmol) ve izole edilen DNA (50ng/µl) 2 µl eklenerek hazırlandı. 95°C 30 saniye ve 45 döngü 95°C 10 saniye, 62°C'de 30 saniye tekli okuma yapıldı. Erime eğrisi analizi için 1 döngü 62°C'den erime eğrisi 95°C 0 saniye 1°C /saniye sürekli okuma yapıldı. Soğuma 40 °C de 30 saniye ile gerçekleştirildi. Real-time PCR işlemleri Rotorgene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak yapıldı (73).

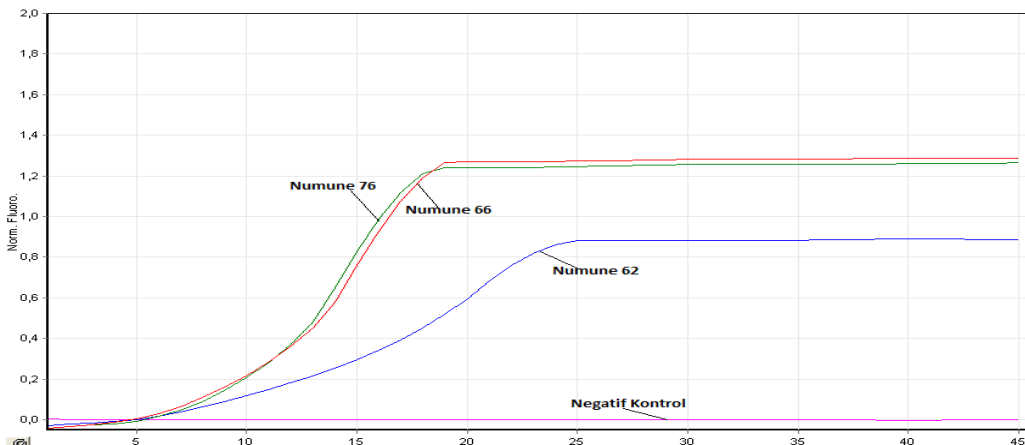
4. BULGULAR

Şanlıurfa il ve ilçe merkezlerindeki semt pazarlarında toplanan yöresel olarak koyun ve inek sütünden üretimi yapılmış Urfa peynirlerinden, toplamda 97 adet peynirde *Listeria monocytogenes*' in varlığının araştırıldı. Bu numunelerden 50 adedi koyun ve keçi peyniri olup geriye kalan 47 adet peynir örneği ise inek peyniri olarak toplanmıştır.

Çalışmada incelenen 97 adet peynir numunesinde ISO 11290-1 metoduyla yapılan *Listeria spp.* izolasyonunda 26 şüpheli koloni görülmüş, şüpheli kolonilerin *Hly* bölgesi ve Real-time PCR cihazıyla identifikasyonu yapıp 3' ünün (% 3.09) *Listeria monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen 3 örnekte İnek Peyniri olduğu belirlenmiştir (Çizelge 9, Şekil 13). Çalışma kapsamında incelenen peynirlerde *Listeria monocytogenes* oranının bazı çalışmalara göre oldukça düşük olmasına rağmen bazı çalışmalarında üzerinde bulunmuştur.

Çizelge 9. Real-time PCR Sonucu *Listeria monocytogenes*'in İzolasyon ve İdentifikasyonu

<i>Listeria monocytogenes</i> Real-time PCR			
Peynir Türü	Numune Sayısı	Negatif	Pozitif
İnek Peyniri	47	44	3
Koyun Peyniri	50	50	0



Şekil 13. Real-time PCR Sonucu

5. TARTIŞMA

Fermente bir süt ürünü olan peynir; uzun ömrü, yüksek protein değeri ve yöresel çeşitliliği ile fazlaca tüketilen hayvansal bir gıdadır. Üretimdeki hijyen hataları, ambalajlama ve muhafaza sırasında oluşan kontaminasyon, gıda kaynaklı patojenler açısından tehlike oluşturabilmektedir. Türkiye’ de ve Dünyada süt ve süt ürünlerinde ve özellikle de peynirde *Listeria monocytogenes* ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (74, 75, 76). Bu alışmamızda 97 adet şanlıurfa yöresel peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* oranı % 3.09 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen bu değer, dünya genelindeki mevcut çalışma sonuçlarının çok altındayken; bazı çalışmaların ise üzerinde olduğu grlmştir.

51 şavak peyniri üzerine yapılan bir çalışmada %1.96 *Listeria monocytogenes* kontaminasyonuna rastlanırken (74), Gülmez ve Güven’ in 2001 yılındaki çalışmalarında 40 eil peyniri rneği üzerinde 1 (%2.5) adet *Listeria monocytogenes* kontaminasyonuna rastlamışlardır (75). Kahraman ve ark. (76) 2010 yılında inceledikleri kaşar peynirlerinde % 1.7, Büyükyörük ve Göksoy (77) 2011’de 58 adet peynirde % 1.72, Telli (24) 2012 yılında % 1.56 *Listeria monocytogenes* oranları saptanmışlardır. Karadal tarafından 2013 yılında hazırlanan doktora tezinde; araştırmada kullanılan 200 peynirden 2 adet (% 1) *Listeria monocytogenes* kontaminasyonuna rastlanmıştır (78). Azak ve arkadaşlarının Erzincan tulum peynirlerinde yapmış oldukları çalışmada ise 100 tulum peyniri numune olarak kullanılmış ve araştırma neticesinde tulum peynir numunelerinin 3’ (%3) *Listeria spp.* olarak görülmüş ve izole edilen numunelerin tümü PCR ile *Listeria monocytogenes* olarak identifiye edilmiştir (79). Yavuz 2015 yılında yapmış olduğu yüksek lisans tezinde 57 adet örnek üzerindeki çalışmasında herhangi bir *Listeria monocytogenes* kontaminasyonuna rastlamamıştır (80).

Manfreda ve ark. (81) İtalya’ da Gorgonzola peyniri üzerine yaptıkları bir çalışmada *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunu %2.1 olarak tespit etmişlerdir. Gohil ve ark (82) 1995 yılında 196 adet salamura beyaz peynir örneğinin 2 (% 1.02) adet *Listeria monocytogenes* izole etmişlerdir. Wernars ve arkadaşlarının PCR tekniği ile yumuşak peynirlerde yaptıkları araştırmada bazı örneklerde 10^3 kob/0.5 g *Listeria spp.* izolasyonu için yeterli bakteri sayısı olduğunu belirlemişlerdir (83). El- Silva ve ark., Brezilyada yöreye has peynir çeşidi olan Minas peynirinin üretiminde kritik kontrol noktalarında *Listeria monocytogenes* varlığını tespit etmek için yaptıkları araştırmada 218 örnekten; 54 gıda, 107

ekipman, 22 personel ve 35 çevresel örnek üzerinde çalışıp; 13 *Listeria* spp. izolasyonu yapmış ve identifikasyonunda; 9'unun *Listeria innocua*, 2'sinin *Listeria monocytogenes* ve 2'sinin de *Listeria grayi* olarak belirtmişlerdir (84).

Türkiye' de önceki yıllarda yapılan bazı diğer araştırmalarda süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* izolasyonu ve yaygınlığı araştırılmış ve farklı yörelere ait çalışmalar bildirilmiştir. Nitekim Akkaya ve arkadaşlarının Afyon il merkezinde bulunan pazarlardan temin ettikleri 100 adet beyaz peynir numunesinde kültür yöntemi ile yaptıkları araştırmada analiz edilen 100 adet peynir numunesinin 6' sında (%6) *Listeria monocytogenes* tespit etmişlerdir (85). İstanbul' da Uysal ve Anğ' ın kültür ve API Coryne (Bio Merieux) metodu ile yapmış oldukları bir araştırmada ise peynir örneğinin 11 tanesinde (% 4) *Listeria monocytogenes* izole etmişlerdir (86). Kara ve arkadaşlarının Erzurum' da 34 adet beyaz peynir ve 16 adet civil peynir örneğinde yapmış oldukları çalışmada ise 4 *Listeria* suşu tespit etmişlerdir (87). Yapılan çalışmaya benzer şekilde Sağun ve arkadaşlarının Van ili merkez ve çevre köylerden almış oldukları 254 Otlu peynir örneklerinden 13 adedi (%5,11) *Listeria* spp. olarak izole edilmiş olup identifikasyonunda 10 adet (%3,93) *Listeria monocytogenes*, 1 adet (%0,39) *Listeria ivanovii*, 1 adet (%0,39) *Listeria innocua* ve 1 adet (%0,39) de *Listeria Welshimeri* olarak sınıflandırılmıştır (88). Elmas' ın (89) 2014 yılında Aydın ilinde yapmış olduğu yüksek lisans çalışmasında 60 adet peynir örneğinden 3 adet (%5), Çolak ve ark., (90) 2006 yılında 250 tulum peynirinin 12 adet (% 4.8) , Ceylan ve Demirkaya (91) 2007' de yapmış oldukları çalışmada, salamura beyaz peynir numunelerinden yalnızca bir tanesinde (% 3,45) *Listeria monocytogenes* tespit ederlerken, Güner ve Telli'nin (92) 2011 yılında Urfa tulum peyniri örneklerindeki çalışmalarında *Listeria monocytogenes* prevalansı % 13.3 olarak belirtilmiştir.

Diğer bazı Ülkelerde *Listeria monocytogenes*' in insidensini ortaya koymak üzere peynirlerde yapılan çalışmalarda ise; Marrakchi ve arkadaşlarının Fas' da yapmış oldukları çalışmada 22 taze peynir numunesinin % 4.54'ünde *Listeria monocytogenes* izole etmişlerdir (93). Torres-vitela ve arkadaşlarının Meksikada panela ve adobera peynirlerinde kültür ve minividas sistemle yapmış oldukları araştırmada 200 peynir numunesinde toplam % 18 oranında *Listeria monocytogenes* izole etmişlerdir (94).

Araştırmamızdaki bulgular ile daha önceki araştırmacıların bulduğu değerler arasındaki farklılık, kullanılan farklı peynir üretim teknikleri, peynir yapımında kullanılan

sütlerdeki farklı kontaminasyon seviyeleri, semt pazarlarındaki farklı çevresel şartlar, coğrafi farklılıklar ve yetersiz hijyenik uygulamalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ayrıca Real-time ile yapılan çalışmalarda Berrada ve arkadaşlarının Real-time PCR sistemi ile *Listeria monocytogenes* çalışmalarında etkinliğinin (>%85) üzerinde olduğu aynı zamanda PCR-esaslı analizlerde doğruluğun yüzde olarak ifade edilen sapmanın %9 ile %26 arasında olduğunu, hassasiyetin yüzde olarak %9-22 olduğunu ve tüm kültür pozitif örneklerin aynı zamanda Real-time PCR sisteminde de pozitif olduğunu gösterilmişlerdir (72).

Hein ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 42 *Listeria monocytogenes* ve 33 *Listeria Innocua* iap geni kullanılarak Real-time PCR'da tanımlanmıştır. Spesifitenin doğrulanması için 22 farklı bakteri türünde çalışılarak tanımlanmadı görülmüştür. *Listeria monocytogenes* direkt olarak süttten izole edildiğinde kantitasyon ve deteksiyon yapıldığında geleneksel plate sayma metoduna göre Real-time PCR' ın çok daha hızlı ve hassasiyetinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir (95).

6. SONUÇ

Yapılan tez çalışmasında, Şanlıurfa' da tüketime sunulan toplam 97 peynir örneği ISO 11290-1 izolasyon metodu ile analiz edilerek 3 örneğin (% 3.09) *Listeria monocytogenes* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Bu durumun, yapılan hayvancılık yönteminden kullanılan yemin türüne, üretim koşullarındaki hijyen noksanlığından pazar koşullarına kadar bir çok faktörden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada bulgular değerlendirildiğinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunun az miktarda olduğu fakat az miktarda olsa dahi halk sağlığı açısından önemli riskler taşıyabileceği bulunmuştur.

Olası sıkıntıların önlenmesi açısından bu çalışmanın bulguları ile aşağıdaki maddeler önerilir.

- Hastalıklardan arı, sağlıklı hayvan yetiştirmelidir.
- Sağım aşamasında mastitislerin teşhis ve tedavisine özen gösterilmelidir.
- Sağım hijyenine dikkat edilmelidir.
- Süt pastörizasyon işlemine tabi tutulmalıdır.
- Modern işletmelerde peynir üretiminin ilk aşamasından başlanıp tüketiciye sunuluncaya kadar HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) sistemi uygulanmalıdır.
- Aile işletmelerinde üretimin tüm aşamaları için bilinçlendirme programları ve üretim hijyeni açısından eğitim programları düzenlenmeli
- Halk sağlığı açısından *Listeria monocytogenes*' in varlığı ve etkilerinin de olduğu eğitim programları düzenlenmeli ve konuyla alakalı broşür ve el kitapçıkları üretici ve de tüketicilere ulaştırılmalıdır.
- Gıda işletmelerinde temiz ve kirli sahalar birbirinden ayrılmalıdır.
- Yanlızca üretim değil muhafaza, taşıma gibi peynirlerin tüketiciye ulaşana dek tüm aşamalarda dekontaminasyonuna özen gösterilmelidir.
- *Listeria monocytogenes*, zoonoz bir patojen olduğundan dolayı işletmelerde, personel (Veteriner hekimler, hayvan bakıcıları ve ilgili kişiler) hijyeni dikkate alınmalı, düzenli portör muayeneleri yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Coşkun H. Farklı Metotlarla Üretilen Otlu Peynirlerde Olgunlaşma Süresi Boyunca Meydana Gelen Değişmeler. YYÜ Fen Bil Enst Doktora Tezi, Van. 1995.
2. Coşkun M, Akyüz N ve Bakırcı İ. Süt ve Mamüllerinin Toplumumuzun Beslenmesindeki Yeri ve Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Van. 1990; 1(1): 166-173.
3. Eralp M. Peynir Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara. 1974; 533,331.
4. Güven M. İnek, Koyun ve Keçi Sütlerinden Üretilen ve Farklı Materyallerde Olgunlaştırılan Tulum Peynirlerinin Özellikleri Üzerinden Karşılaştırmalı Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Adana. 1993.
5. Demirci M. Peynirin Beslenmedeki Yeri ve Önemi . Tekirdağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü, Tekirdağ. 1990.
6. Atasoy A.F. Farklı Tür Sütlerle Yapılan Urfa Peynirinin Nitelikleri Üzerine Değişik Pastörizasyon Normlarının ve Starter Kültürlerinin Etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı doktora Tezi, Ankara. 2004.
7. Kosikowski F. Cheese and Fermented Milk Products . Edward brothers Inc., Ann Arbor, Michigan, USA. 1977.
8. Tekinşen O.C. Süt Ürünleri Teknolojisi . Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya. 1996.
9. Kaynar P. Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi, İstanbul. 2011; 41(1): 1-8.
10. Akın MS ve Şahan N. Şanlıurfa' da Üretilen Taze Urfa Peynirlerinin Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu 21-22 Mayıs 1998 "Geleneksel Süt Ürünleri" Milli Prodüktive Merkezi Yayınları No:621 Mert Matbaası, Ankara. 1998; 282-296.
11. Akın N. Temel Peynir Bilimi-1. Konya : Damla Ofset Yayınları, 2010.
12. Çetinkaya A. Yöresel Peynirlerimiz. Kars. 2005.
13. Gün İ. Peynir Teknolojisi Ders Notları. MAKÜ Meslek Yüksekokulu, Burdur. 2006; 80.
14. Demirci M, Şimşek O ve Taşan M. Ülkemizde Yapılan Muhtelif Tip Yerli Peynirler, Her Yönüyle Peynir. Trakya Ünive Ziraat Fak Derg, Tekirdağ. 1994; 125:273-281.
15. Yıldız F. Ankara Piyasasında Satılan Urfa Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara. 2003.
16. Anonim, Ulusal Süt Konseyi, Dünyada ve Türkiyede Süt Sektör İstatistikleri . <http://www.ulusalsutkonseyi.org.tr/ana/default.asp> (Erişim Tarihi: 16.5.2016).
17. TUİK. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21643>. 2016; (Erişim Tarihi: 7.5.2016).

18. TUIİK. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21644.2016>; (Erişim Tarihi: 20.5.2016)
19. Anonim. www.Fao.org.2013; (Erişim Tarihi: 12.02.2016).
20. Anonim. http://ankaratb.org.tr/lib_upload/peynir%20eyl%C3%BCI%202013.pdf. (Erişim Tarihi: 17.5.2016).
21. Hayaloğlu AA, Güven M ve Fox PF. Microbiological, Biochemical and Technological Properties of Turkish White Cheese. *International Dairy Journal*. 2002; 12: 635-648.
22. Anonim. [http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-Analiz/Gida-Yoluyla-Bulaşan-Zoonozlar--3 86.htm](http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-Analiz/Gida-Yoluyla-Bulaşan-Zoonozlar--3%2086.htm).2016; (Erişim Tarihi: 12.5.2016).
23. Doğan HB. *Listeria monocytogenes*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Ankara. 2000; 522.
24. Telli N. *Listeria monocytogenes'* in Salamura Beyaz Peynir Üretim Hattında Kontaminasyon Kaynaklarının Belirlenmesi ve PFGE Metodu ile Genotiplendirilmesi. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Konya. 2012.
25. Gray ML ve Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and Listeric infections. *Bacteriol Reviews*, USA. 1966; 30(2): 309,71.
26. Kampelmacher EH. Fact and Fiction, Foodborne Listeriosis. In: Foodborne Listeriosis. Proceedings of a symposium Technomic Publishing, Lancaster, Pennsylvania 17604, USA. 1988.
27. Özçelik N. *Listeria monocytogenes'* in Tanımı, Bulunuşu ve Neden Olduğu Hastalıklar. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi, Isparta. 1994: 33-36.
28. Wagner M. ve McLauchilin J. Biology and Pathogenicity, Biology. In: Liu D, editors. Handbook of *Listeria monocytogenes*. 1st ed. New York: CRC Pres. 2008; 3-25.
29. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams JT, Bergey' s Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition. Baltimore, Maryland, USA, Williams & Wilkins A Waverly Company. 1994.
30. Hitchkins AD. *L.monocytogenes*. Chapter 10. In: FDA Bacteriological Analytical Manual Online. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/fda-bam-chap10.pdf>. 2003; (Erişim Tarihi: 11.5.2016).
31. Banwart GJ. Basic Food Microbiology. Third Edition. Connecticut, Avi Publishing Company. 1983.
32. Erol G. Gıda Hijyeni ve Teknolojisi. Birinci Baskı . Ankara: Pozitif Matbaacılık, 2007.
33. Uhitil S, Jaksic S, Petrak T, Medic H, Gumhalter-Karolyi L. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and the Other *Listeria* spp in Cakes in Croatia. *Food Control*. 2004; 15:213-16.
34. Koçan D ve Halkman AK. *Listeria monocytogenes* ve Listeriosis. Gıda. 2006.
35. Sauders BD ve Wiedman M. Ecology of *Listeria* Species and *L. monocytogenes* in the Natural Environment. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety. Third Edition. 2007; 21-53.

36. Kum E. Kayseri ' de Satışa Sunulan Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes* Varlığının Kültür Yöntemleriyle Belirlenmesi. Kayseri Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 2009.
37. Gailuna KM. Use of Ultraviolet Light for the Inactivation of *Listeria monocytogenes* and Lactic Acid Bacteria Species in Recycled Chill Brines, Blacksburg VA. Virginia Polytechnic Institute and State University Master of Science in Food Science and Technology. 2003.
38. Bacterioweb. <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/fphoto.html>. (Erişim Tarihi: 15.5.2016)
39. Hampikyan H. Fermente Sucuklarda Nisin Kullanımının *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul. 2006.
40. Rocourt J ve Buchrieser C. The Genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic Position, Taxonomy and Identification. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. Third Edition. New York: CRC Pres. 2007; 1-20.
41. Painter J ve Slutsker L. Listeriosis in Humans. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety, Third Edition, London, New York: CRC Press. 2007; 85-111.
42. Liu D. Epidemiology. In: Liu D, editors. Handbook of *Listeria monocytogenes*. 1st ed. New York: CRC Pres. 2008; 27-60.
43. Gönç S ve Kılıç S. Beyaz Peynirlerde *L. monocytogenes* Patojeninin aranması üzerine Bir Araştırma. Gıda. 2002; 27(5): 425-29.
44. Weber A, Potel J, Schafer-Schmidt R, Prell A, Datzmann C. Investigation on the occurrence of *L. monocytogenes* in Fecal Samples of Domestic and Companion Animals. Zentrabl Hyg Umweltmed. 1995; 198:117-23.
45. Kınık Ö, Gönç S ve Akalın AS. Çiğ sütte Patojen Mikroorganizmalar. Birinci Baskı. Bornova, İzmir : Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Ege Üniversitesi Basımevi, 1998.
46. Hof H. History and Epidemiology of Listeriosis. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003; 35: 199-202.
47. Kuhn M, Scortti M ve Vazquez-Boland JA. Pathogenesis, In: Liu D, editors. Handbook of *Listeria monocytogenes* 1st edition. New York: CRC Pres. 2008; 97-136.
48. Hibi K, Abe A, Ohashi E, Mitsubayashi K, Ushio H, Hayashi T, Ren H, Endo H. Combination of Immunomagnetic Separation With Flow Cytometry for Detection of *Listeria monocytogenes*. Anal Chim Acta. 2006; 573-574.
49. Samelis J ve Metaxopoulos J. Incidence and Principal Sources of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes* contamination in Processed and a Meat Processing Plant. Food Microbiol. 1999.
50. FDA. *Listeria monocytogenes* Risk Assessment: Executive Summary. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm185292.htm>. 2003; (Erişim Tarihi: 6.5.2016).
51. Sergelidis D ve Abraham A. Adaptive Response of *Listeria monocytogenes* to Heat and its Impact on Food Safety. Food control. 2009; 1-10.

52. Molla B, Yilma R ve Alemayehu D. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* Species in Retail Meat and Milk Product in Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiop J Health Dev.* 2004.
53. Berктаş M, Bozkurt EN, Bozkurt H, Alişarlı M, Güdücüoğlu H. Et ve Et Ürünlerinden *Listeria monocytogenes*' in İzolasyonu. *Van Tıp Derg.* 2006; 13(2): 36-41.
54. Fretz R, Pichler J, Sagel U, Much P, Rppitsch W, Pietzka AT, Stöger A, Huhulescy S, Heuberger S, Appl G, Werber D, Stark K, Prager R, Flieger A, Karpiskova R, Pfaff G, Allerberger F. Update: Multinational Listeriosis Outbreak Due to "Quargel", a Sour Milk Curd Cheese, Caused By Two Different *L. monocytogenes* Serotype 1/2a Strains, 2009-2010. *Euro Surveill.* 2010; 15: 19543.
55. Anonymous. CDC. Outbreak of *Listeria monocytogenes* Infection Associated with Pasteurized Milk from a Local Dairy. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep, Massachusetts.* 2007; 57: 1097-1100.
56. Vit M, Olejnik R, Dlhy J, Karpiskova J, Castkova V, Prikazsky M, Prikazska C, Benes C, Petras P. Outbreak of Listeriosis in the Czech Republic, Late 2006. Preliminary Report *Euro Surveil.* 2007; 12: E070208.1.
57. Gaulin C, Ramsay D, Ringuette L, Ismail J. First Documented Outbreak of *Listeria monocytogenes* in Quebec, 2002. *Can Commun Dis Rep.* 2003; 29: 181-186.
58. Makino SI, Kawanmoto K, Takeshi K, Okada Y, Yamasaki M, Yamamota S, Igimi S. An Outbreak of Food-Borne Listeriosis Due to Cheese in Japan, During 2001. *Int J Food Microbial.* 2005; 104: 189-196.
59. Swaminathan B ve Gerner-Smidt P. The Epidemiology of Human Listeriosis. *Microbes and Infect.* 2007; 9: 1236-1243.
60. MacDonald PDM, Whitwam RE, Boggs JD, MacCormack JN, Anderson KL, Reardon JW, Saah JR, Graves LM, Hunter SB, Sobel J. Outbreak of Listeriosis Among Mexican Immigrants as a Result of Consumption of Illicitly Produced Mexican-Style Cheese. *Clin Inf Dis.* 2005; 40: 677-82.
61. Lyytikäinen O, Autio T, Majjala R, Ruutu P, Buzalski TH, Miettinen M, Hatakka M, Mikkola J, Antilla VJ, Johanson T, Rantala L, Aalto T, Korkeala H, Siitonen A. An Outbreak of *Listeria monocytogenes* Serotype 3a Infections from Butter in Finland. *J Infect Dis.* 2000; 181(5): 1838-41.
62. McLauchlin J. *Listeria* and Listeriosis. *Clin Microbial Infect.* 1997; 484-492.
63. McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis: A Review of Hazard Characterisation for Use in Microbiological Risk Assessment of Foods. *Int J Food Microbial.* 2004; 15-33.
64. Valk H, Vaillant V, Jacquet C, Rocourt J, Querrec FL, Stainer F, Quelguejeu N, Pierre O, pierre V, Desenclos JC, Goulet V. Two Consecutive Nationwide Outbreaks of Listeriosis in France. October 1999-February 2000. *Am J Epidemiol.* 2001; 154-10: 944-950.
65. Mitchell DL, Misrachi A, Watson AJ, Coleman D. A case Cluster of Listeriosis in Tasmania. *Listeria* in Smoked Mussels in Tasmania. *Commun Dis Intel.* 1991; 15: 427.

66. Farber JM ve Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a Fodd Borne Pathogen. Am Soc Microbiol, Microbiol Rev. 1991; 55(3): 476-511.
67. Lunden J, Tolvanen R ve Korkeala H. Human Listeriosis Outbreaks Linked to Dairy Products in Europe. J Dairy Sci. 2004; 87: 6-11.
68. Czajka J ve Batt CA. Verification of Casual Relationship Between *Listeria monocytogenes* Isolates Implicated in Food-Borne Outbreaks of Listeriosis by Randomly Amplified Polymorphic DNA Patterns. J Clin Microbiol. 1994; 32(5): 1280-87.
69. Maisnier-Patin S, Deschamps N, Tatini SR, Richard J. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert Cheese Made with a Nicin Producing Starter. Lait. 1992; 72: 249-263.
70. Yousef AE ve Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* During the Manufacture and Storage of Colby Cheese. J. Food. Prot. 1988; 51:12-15.
71. Patır B ve Güven AM. Şavak Salamura Beyaz Peynirinin Olgunlaşması Sırasında *Listeria monocytogenes*' in Yaşam Süreleri Üzerine Araştırmalar. Tr J Vet Anim Sci. 1999; 23 (Ek Sayı 2): 317-27.
72. Berrada H, Sariano JM, Pico Y, Manes J. Quantification of *Listeria monocytogenes* in Salads by Real Time. International Journal of Food Microbiology. 2006;107:202-206.
73. Rodriguez-Lazaro D, Hernandez M, Scortti M, Esteve T, Vazquez-Boland JA, Pla M. Quantitative Detection of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by Real Time PCR: Assessment of hly, iap and lin02483 Targets and AmpliFlour Technology. Applied and Environmental Microbiology. 2004; 70(3): 1366-1377.
74. Çetinkaya B, Ertas HB ve Muz A. Süt Ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi Elazığ. 1999; 13: 21-25.
75. Gülmez M, Güven A. Beyaz ve Çeçil Peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* Türlerinin Araştırılması. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2001; 72(2):155-161.
76. Kahraman T, Gürsel Ö, Özınan B, Göksoy EÖ. Prevalance of *Salmonalle* spp. and *Listeria monocytogenes* in Different Cheese Types Produced in Turkey. British Food Journal. 2010; 112: 1230-1236.
77. Büyükyörük S, Göksoy EÖ. Aydın ilinde satıŖa sunulan köy peynirlerinde *Listeria* varlığının araştırılması. Uludag University Journal Faculty Veterinary Medicine. 2011; 30 (1): 9-12
78. Karadal F. Niğe'de SatıŖa Sunulan Çiğ Sütten YapılmıŖ Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes* Varlığının, Serotip Dağılıminın ve Antimikrobiyal Dirençlilik Profilinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. 2013.
79. Azak MG, Kılıç H, Hızlısoy H, Abay S. Erzincan İli Tulum Peynirlerinde *Listeria Spp.* İzolasyonu ve İdentifikasyonu. J Fac Vet Med Univ Erciyes. 2012; 9(3): 149-156.
80. Yavuz N, Kütahya İlinde Tüketime Sunulan Gıdalarda *Listeria monocytogenes* Varlığının araştırılması. Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Kütahya. 2015.

81. Manfreda G, De Cesare A, Stella S, Cozzi M, Cantoni C. Occurance and Ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola Cheeses. Int J Food Microbial. 2005; 102: 287-293.
82. Gohil VS, Ahmed MA, Davis R, Robinson RK. Incidence of *Listeria* spp. in Retail Foods in The United Arab Emirates. Journal Food Protection.1995; 58: 102-104.
83. Wernars K, Heuvelman CJ, Chakraborty T, Notermans SHW. Use of The Polymerase Chain Reaction For Direct Detection of *Listeria monocytogenes* in Soft Cheese. Journal of Applied Microbiology. 1991.
84. Silva IMM, Almedia RCC, Alves MAO, Almedia PF. Occurance of *Listeria* Spp. in Critical Control Points and The Environment of Minas Frescal Cheese Processing. Int J Food Microbiol. 2003; 25; 81(3):241-248.
85. Akkaya L ve Alişarlı M. Afyonkarahisar' da Tüketime Sunulan Peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* Türlerinin Varlığının Belirlenmesi. YYÜ Vet Fak Derg. 2006; 17: 87-91.
86. Uysal HK ve Anğ Ö. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Listeria* Türleri. Türk Mikrobiyal Cem Derg, İstanbul. 2003; 33: 163-169.
87. Kara A, Algur Ö.F ve Kaya M. Erzurum Piyasasında Temin Edilen Beyaz ve Çivil Peynirlerden, *Listeria* Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu. Tr. J. of Biology. 1999; 23: 331-337.
88. Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K. Van ve Çevresi süt ve otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. Turk J Vet Anim Sci. 2001; 25: 15-19.
89. Elmas S. Aydın İlindeki Semt Pazarlarında Satışa Sunulan Beyaz, Tulum ve Lor Peynirlerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella Spp.* Varlığının Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Aydın. 2014.
90. Çolak H, Hampikyan H, Bingöl EB, Ulusoy B. Prevalance of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum Cheese. Food Control. 2007; 8:576-579.
91. Ceylan ZG, Demirkaya AK. Erzurum Piyasasından Temin Edilen Salamura Beyaz Peynirlerde *Listeria monocytogenes* Varlığı ve Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2007; 38 (2), 137-141.
92. Güner A ve Telli N. A Survey on Presence of *L. monocytogenes* in Various Semi-hard Cheeses From Different Region of Turkey. J Anim Vet Adv 2011; 10: 1890- 1984.
93. El-Marrakchi A, Hamama A ve Othmani F. Occurence of *L.monocytogenes* in Milk and Dairy Products Produced or Imported into Morocco. J Food Prot. 1993; 56: 256-259.
94. Torres-Vitela MR, Mendoza-Bernardo M, Castro-Rosas J, Gomez-Aldapa CA, Garay-Martinez LE, Navarro-Hidalgo V, Villarruel-Lopez A. Journal of Food Protection. 2012; 79-84.
95. Hein I, Klein D, Lehner A, Bubert A, Brandl E,Wagner M. Detection and Quantification of the *iap* gene of *Listeria monocytogenes* and *listeria inocua* by a new Real Time Quantitative PCR assay. Res Microbio. 2001; 152(1): 37-46.