

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAYSERİ'DE SATIŞA SUNULAN PEYNİR ÖRNEKLERİNDE
***LİSTERİA MONOCYTOGENES* VARLIĞININ KÜLTÜR**
YÖNTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ

Tezi Hazırlayan
Erhan KUM

Tezi Yöneten
Yrd. Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Temmuz 2009
KAYSERİ

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

**KAYSERİ'DE SATIŞA SUNULAN PEYNİR ÖRNEKLERİNDE
LİSTERİA MONOCYTOGENES VARLIĞININ KÜLTÜR
YÖNTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Erhan KUM**

**Tezi Yöneten
Yrd. Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM**

**Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
TSY-09-735 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Temmuz 2009
KAYSERİ**

II

Yrd. Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM Danışmanlığında **Erhan KUM** tarafından hazırlanan: **“Kayseri’de Satışa Sunulan Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes* Varlığının Kültür Yöntemleri İle Belirlenmesi”** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

22 /07/ 2009

JÜRİ

İmza

Başkan : Doç. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Semih GÜMÜŞSOY

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Zafer GÖNÜLALAN'a, özverili bir şekilde çalışmamda destek olan danışman hocam Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM'a ve Araş. Gör. Nurhan ERTAŞ'a, manevi destek ve yardımlarından dolayı da ağabeyim Erkan KUM'a teşekkür ederim.

**KAYSERİ’DE SATIŞA SUNULAN PEYNİR ÖRNEKLERİNDE
LISTERİA MONOCYTOGENES VARLIĞININ KÜLTÜR YÖNTEMLERİ İLE
BELİRLENMESİ**

ÖZET

Bu çalışmada Kayseri’de lokal olarak üretilen ve açıkta satışa sunulan peynir çeşitlerinde *L. monocytogenes* varlığını ortaya koymak amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında toplam 50 adet lokal peynir örneği ISO 11290-1/A1-2004’da önerilen *Listeria* izolasyon prosedürüne göre analiz edilmiştir. Materyaller çiğ süttten üretilen peynirler (29/50) ve ısı işlemi görmüş (21/50) peynirlerden oluşmuştur. Çiğ süttten üretilen peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının (%17,2), ısı işlemi görmüş peynirlerden (%9,5) daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranı açısından en yüksek oran çömlük peynirlerinde (5/22 ve %22.7) bulunurken bunu lor (1/5 ve %20) ve tel peynirleri (1/7 ve %14,2) takip etmiştir. Öte yandan toplanan çökelek ve köy tipi tuzlu kalıp peynirlerinde *L. monocytogenes* bulunamamıştır.

Çalışmada elde edilen verilere göre, Kayseri pazarlarında açıkta satılan, gerek çiğ süttten yapılarak tüketime sunulan ve gerekse de ısı işlemi görmüş peynirlerin *L. monocytogenes* varlığı bakımından halk sağlığı açısından göz ardı edilmemesi gereken bir tehlike olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, Peynir, ISO 11290-1/A1-2004.

**DETECTION OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN CHEESE SAMPLES
RETAILED IN KAYSERI BY CULTURAL TECHNIQUES**

ABSTRACT

The present study evaluated the incidence of *L. monocytogenes* in some local cheese types of Kayseri obtained from retail outlets. Of 50 samples of various types of local cheese were examined as recommended by *Listeria* isolation protocol of ISO 11290-1/A1-2004. Cheese samples made from raw milk (29/50) and heat-treated cheese samples (21/50) were collected as material. Cheeses made from raw milk were more frequently contaminated with *L. monocytogenes* (17.2%) than heat treated cheeses (9.5%). The higher incidence of *L. monocytogenes* was observed mainly in homemade pre-cut wedge cheeses (5/22 and 22.7%), followed by lor cheeses (1/5 and 20%) and fibre type cheese (1/7 and 14.2%) whereas cokelek and village type brined cheeses contained no *L. monocytogenes*. Thus the results of this study indicate that the both raw milk cheeses and heat treated cheeses sold in retail outlets in Kayseri displayed significant risk for public health.

Key words: *Listeria monocytogenes*, Cheese, ISO 11290-1/A1-2004.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	VI
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	VIII
TABLO LİSTESİ ve ŞEKİL LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TARİHÇE	4
2.2. <i>LİSTERİA</i> TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ.....	6
2.3. <i>LİSTERİA</i> TÜRLERİNİN MORFOLOJİSİ	6
2.4. <i>LİSTERİA</i> TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ.....	7
2.5. <i>LİSTERİA</i> TÜRLERİNİN FİZYOLOJİSİ.....	10
2.5.1. Üreme Özellikleri.....	10
2.5.2. Stres Toleransı.....	12
2.5.3. Sıcaklık Stresi Cevapları	13
2.5.4. Antimikrobiyallere Karşı Duyarlılık ve Dayanıklılık.....	14
2.6. <i>LİSTERİA</i> TÜRLERİNİN ÇEVREDE DAĞILIMI	16
2.6.1. Su	16
2.6.2. Toprak	16
2.6.3. Bitkiler	17
2.6.4. Gıda işletmeleri	17
2.7. EVCİL HAYVANLARDA YAYGINLIK.....	18
2.8. GIDALARDA <i>LİSTERİA</i> TÜRLERİ.....	19
2.8.1. Deniz Ürünleri.....	20
2.8.2. Et	21
2.8.3. Sebze ve Meyveler	22
2.8.4. Tüketime Hazır Gıdalar	22

2.9. OLUŞTURDUĞU HASTALIKLAR	23
2.9.1. Listeriozis	23
2.9.2. Minimum Enfeksiyon Dozu	29
2.9.3. İnsanlarda Listeriozis	29
2.10. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE <i>L. MONOCYTOGENES</i>	30
2.10.1. Sütlerde <i>L. monocytogenes</i>	30
2.10.2. Peynirlerde <i>L. monocytogenes</i>	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. GEREÇ.....	35
3.2. YÖNTEM.....	35
3.2.1. Kültür	35
3.2.1.1. Zenginleştirme ve Biyokimyasal testler	36
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	43
6. KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATP	: Adenozin trifosfat
a_w	: Su aktivitesi
BHI	: Brain-heart infusion
CAMP	: Christie, Atkins, Munch-Peterson testi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
g	: Gram
HsPs	: Sıcaklık şoku proteini
kob	: Koloni oluşturuıcı birim
LLO	: Listeriolizin
ml	: Mililitre
NaCl	: Sodyum klorür
NaNO₂	: Sodyum nitrit
pH	: Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi, "Power of Hydrogen"
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
µm	: Mikrometre
w/w	: Weight in weight

TABLO LİSTESİ ve ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. <i>Listeria</i> türlerinin fenotipik reaksiyonları	9
Tablo 2.2. <i>L. monocytogenes</i> için tanımlanmış Hsps	14
Tablo 2.3. <i>Listeria</i> türlerinin antimikrobiyel ajanlara karşı direnç ve duyarlılıkları	15
Tablo 2.4. Gıda kaynaklı listeriozis riskini etkilen faktörler	25
Tablo 2.5. Listeriozis bulaşması ile ilişkili gıda ürünleri	27
Tablo 2.6. Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (Tebliğ No:2009/6) göre süt ve süt ürünlerinde <i>L. monocytogenes</i> varlığına ilişkin limitler.....	34
Tablo 4.1. <i>L. monocytogenes</i> pozitif peynir örneklerinin Peynir tiplerine göre dağılımı(%).....	41
Şekil 2.1. <i>L. monocytogenes</i> 'in ekolojik etkileşimi	5
Şekil 2.2. <i>L. Monocytogenes</i> 'in mikroskopik morfolojisi.....	7
Şekil 2.3. <i>Listeria</i> türlerinin selektif izolasyonu için kullanılan selektif besi yerleri A: PALCAM– <i>Listeria</i> türleri B:ALOA-Benzer medium(COMPASS)- <i>L.</i> <i>monocytogenes</i> ;C:ALOA-Benzer medium(CHROM agar)- <i>L. innocua</i> ; D:Rapid'L mono- <i>L. monocytogenes</i> ; E;Rapid'L. mono- <i>L. monocytogenes</i> (mavi-turkuaz koloniler)ve <i>L. innocua</i> (beyaz koloniler);F: Rapid' L. mono- <i>L. welshimeri</i>	11
Şekil 2.4. <i>Listeria</i> enfeksiyon döngüsü (116)	24
Şekil 3.1. Horizontal yöntem ile <i>L. monocytogenes</i> izolasyonu.ISO11290-1/A1–2004 (181)..	36
Şekil 3.2. Half fraser broth.....	37
Şekil 3.3. Fraser broth.....	37
Şekil 3.4. Oxford <i>Listeria</i> Selektiv Agar	38
Şekil 3.5. <i>Listeria</i> Chrome Agar	38
Şekil 3.6. Microbact test kiti	39
Şekil 4.1. <i>L. monocytogenes</i> pozitif peynir örneklerinin dağılımı(%)	41
Şekil 4.2. Peynir örneklerinin dağılımı(%)	42

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Listeria monocytogenes, insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde ciddi, sporadik enfeksiyonlara neden olan önemli bir etkindir. Özellikle son yıllarda bazı ülkelerde ölümle sonuçlanan çok sayıda *L. monocytogenes* kaynaklı enfeksiyon vakasının ortaya çıkması nedeniyle toplum sağlığı ile uğraşan meslek gruplarının yakından ilgilendiği önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır.

L.monocytogenes doğada yaygın olarak bulunmakta olup birçok farklı memeli ve kuş türünden izole edilebilmiştir. Koyun, keçi, sığır, kümes hayvanları, balıklar izole edildiği hayvanlar arasındadır. Toprakta, hayvan yemlerinden, sudan, çiğ süt, et ve süt ürünleri ile meyve ve sebzelerden de izole edilen bu bakteri, sağlıklı kişilerin dışkılarından %1 oranında izole edilirken, bu oranın semptomatik hastalarda %26, kesim-hanelerde çalışan işçilerde %4.8 olabildiği çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Enfeksiyonlarda en çok rol oynayan gıdalar; çiğ süt, süt ürünleri ve sebzeler olmakla birlikte et, kümes hayvanları ve deniz ürünlerinden de etken izole edilmiştir.

Etken gıda yoluyla alındığında insan vücudunda makrofajlara yerleşir ve öncelikle halsizlik, hafif ateş ve ishal gibi belirtilere neden olur. Makrofajların içinde çoğalarak bu hücreleri parçalar ve dışarıya çıkararak septisemiye neden olur. Kan yoluyla vücutta çeşitli dokulara yayılır. *L. monocytogenes*'in neden olduğu enfeksiyonlar; hamilelikte oluşturduğu hastalıklar, fetus veya yeni doğanda oluşturduğu hastalıklar, meningo ensefalit ve menenjit, septisemi ve lokal enfeksiyonlar olarak başlıca hastalık gruplarına ayrılabilir. Tedavi edilmeyen veya tedavisi geciken kişilerde menenjitin neden olduğu

ölümlerin oranı %79'lara varabilmektedir. Bu nedenle hamile kadınlar, yeni doğan bebekler, yaşlılar ve immun sistemi zayıflamış veya baskılanmış kişiler *Listeria* enfeksiyonları için risk grubunu oluşturmaktadır. Bu grubun dışında kalan kişilerde de enfeksiyon görülebilmekle birlikte oranı düşüktür.

Süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan *L. monocytogenes*'in neden olduğu enfeksiyonların risk grubunda bulunan bireylerde yaklaşık %30'lara varan ölüm oranlarına ulaşması söz konusu gıdaların önemini ortaya koymaktadır.

İngiltere'de pastörize süt tüketimine bağlı ortaya çıkan ve ardından Meksika tipi yumuşak peynir tüketimine bağlı gelişen listeriozis olguları bilim ve tıp çevrelerinin süt ürünlerinin güvenliği konusuna yönelmelerine neden olmuştur.

Genellikle listeriozis enfeksiyonlarının *L. monocytogenes*'in ürüne peynir yapımı, olgunlaştırılması, depolanması ve pazarlanması aşamalarında bulaşması sonucu şekillendiği ve önemli sağlık riskleri oluşturduğu, süt ürünlerine sıklıkla pastörizasyon sonrası bulaştığı, süt işletmelerine ise çiğ süt yoluyla girdiği belirtilmektedir.

Çiftlikte, etkenin süte; kontamine sağıcı ekipmanı, gübre ve altlık materyaliyle bulaşabileceği, insanlarda meydana gelen listeriozis olgularının ise genel olarak çiğ süt ve yetersiz pastörizasyon işlemi görmüş süttten üretilen ürün tüketimine bağlı şekillendiği belirtilmektedir. Yapılan birçok çalışmada başta yumuşak peynirler olmak üzere farklı peynir tiplerinin *L. monocytogenes* ile değişik düzeylerde kontamine olduğu belirlenmiştir. Peynir yapımında starter kültür kullanılıp kullanılmaması ve peynirin 5,5'in üzerinde pH değerine sahip olması *L. Monocytogenes*'in peynirde üreme potansiyelini önemli derecede etkilemektedir. pH 5,0 ve %10'luk NaCl'nin güçlü sinerjik etkisine maruz kalan bazı *L. monocytogenes* suşlarının üreme yeteneğini sürdürebildiği bilinmektedir, bu nedenle *L. monocytogenes* yumuşak peynirler gibi tuzlu ve asidik gıdalarda ciddi tehlikeler meydana getirebilmektedir.

Kültür teknikleri *L. monocytogenes* izolasyon ve identifikasyonu için sıklıkla kullanılmakta ve başarılı sonuçlar alınmaktadır. Söz konusu teknikler; zenginleştirme işlemi, selektif besi yerlerine ekim ve doğrulama testlerini içermektedir.

Bu çalışmada, Kayseri'de gerek ısı işlemi görmüş gerekse çiğ süttten yapılarak satışa sunulan lokal peynir örneklerinde *L. monocytogenes* varlığının kültür tekniği ile

belirlenmesi, dolayısıyla *L. monocytogenes*'in peynirlerde halk sağlığı açısından bir tehlike olarak kabul edilip edilmeyeceğinin tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

Bu alışmada, Kayseri'de yaygın olarak tüketlenen peynir örneklerinin *L. monocytogenes* ile kontaminasyonuna ilişkin literatür bilgilerine zenginlik kazandırılması da amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Gram pozitif bir bakteri olan *L. monocytogenes* (orijinal ismi ile *Bacterium monocytogenes*) ilk kez 1926 yılında Birleşik Krallık Cambridge’de monocytosis enfeksiyonu görülen laboratuvar rodentlerinde tanımlanmıştır (1). Pirie (2) 1927 yılında, bu bakteriyi Güney Afrika’da enfekte vahşi gerbillerden izole etmiş ve cins isminin cerrah Lord Lister’e atfen *Listerella* olmasını önermiştir. Murray ve Pirie aynı türden (species) bakteri ile ilgilendiklerini fark ederek isimleri birleştirmişler ve *Listerella monocytogenes* ismini oluşturmuşlardır. Daha sonra yapılan taksonomik çalışmalarla bakterinin ismi *L. monocytogenes* olarak değişmiştir (3).

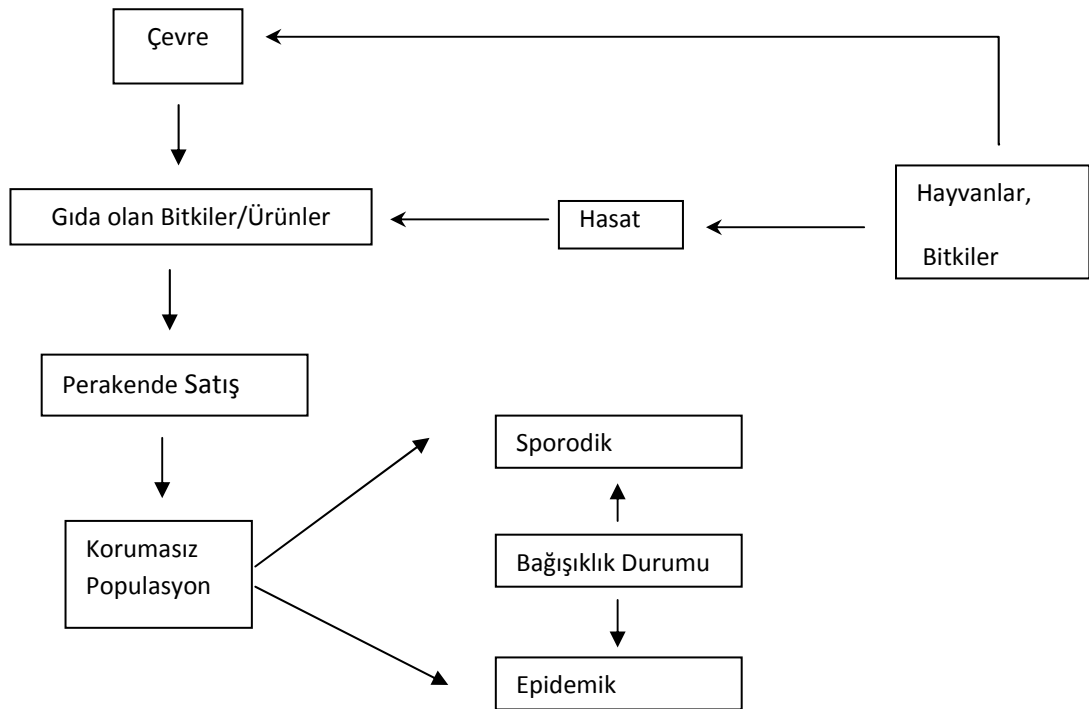
Danimarka’da, 1929 yılında Nyfeldt adlı araştırmacı mononucleosis benzeri (belirtileri nadir görülen bir hastalıktır) (4) enfeksiyon geçiren hastaların kan kültürlerinden *L. monocytogenes* izole etmiş, 1936 yılında Burn (5) Amerika Birleşik Devletleri’nde, yeni doğanlarda sepsis, yetişkinlerde meningitise neden olan hastalık semptomlarını listeriozis olarak tanımlamıştır. Muhtemel listeriozis benzeri vaka tasvirleri 1926 yılından önce yayınlanmıştır.

Bununla birlikte 1980’li yıllara kadar morbilite ve mortalitesi yüksek olan ve bulaşma kaynakları bilinmeyen insan listeriozis vakaları gizli bir hastalık halinde dikkat çekmeden devam etmiştir. Örneğin 1966 yılında Almanya’da ve 1975-76 yılları arasında Fransa’da sırasıyla 279 ve 166 insan listeriozis vakası gözlenmiştir. 1980’li yılların ortalarına Avrupa ve Kuzey Amerika’da insan ve hayvan listeriozis vakalarında

total olarak önemli bir artış göze çarpmaktadır. Kuzey Amerika ve Avrupa’da meydana gelen vakaların kontamine lahana salatası (6), süt (7), yumuşak peynir (8,9) ve pate (10) tüketimine bağlı olarak meydana geldiği ortaya konulmuştur.

1980’lerden bu yana görülen seri salgınlar, *L. monocytogenes*’in son derece tehlikeli, genellikle insan hayatını tehdit eden gıda kaynaklı hastalıklara neden olduğunu göstermiş ve bu özellikleri ile kamu sağlık kuruluşlarında ve gıda endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olduğu anlaşılmıştır (11).

Listeriozisin Amerika Birleşik Devletleri (12), İngiltere ve Galler’de (13) sırasıyla ikinci ve dördüncü en çok ölüm görülen gıda kaynaklı bulaşıcı hastalık olduğu bildirilmiştir. Listeriozisin her iki çalışmada da gıda zehirlenmesinden kaynaklanan ölümlerin yaklaşık %14-15’inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (12,13). *L. monocytogenes*’in ekolojik etkileşimi, çevre ve gıda bulaşma kaynakları ile listeriozis oluşumu şekil 2.1. de verilmiştir.



Şekil 2.1. *L. monocytogenes*’in ekolojik etkileşimi.

2.2. *LISTERIA* TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ

Listeriae genusu Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de (14) çubuk şekilli, Gram pozitif, düzgün, spor oluşturmeyen 6 türden oluşmaktadır ki bunlardan iki tanesi patojen (*L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*) (15) ve dört tanesi patojen olmayan (*L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, ve *L. grayi*) türlerdir. Önceleri yedinci tür olarak genusa dahil edilen *L. murrayi*'nin cins içerisinde daha önce tanınmaktaydı, bununla birlikte DNA-DNA hibridizasyon analizleri, multilokus enzim elektroforez ve rRNA restriksiyon fragment analizleri sonucu *L. grayi*'nin bir alt türü olduğu ortaya konmuştur. (16)

Listeria 'ların somatik (O-faktör) ve flagellar (H-faktör) antijenlerinin spesifik anti serumlarla verdiği serolojik reaksiyonlara göre *Listeria* türleri serotiplere ayrılmıştır. Bunlar serovar olarak isimlendirilmiştir. Bu bağlamda *L. monocytogenes* 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 serovardan oluşmaktadır (11).

L. monocytogenes'in 4b,1/2a,1/2b ve 1/2c serovarlari insan listeriozis vakalarının %98'inden sorumlu tutulurken 4b'nin en sık rastlanan serovar olduğu belirtilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda intra gastirik uygulamalarda *L. monocytogenes*'in 4b, 1/2a,1/2b ve 1/2c'nin diğer serotiplerden daha yüksek düzeyde infektiviteye sahip olduğu, intraperitoneal uygulamalarda ise bütün serovarların farelerde ölümlere neden olduğu ortaya konulmuştur (17-19).

L. monocytogenes, *L. innocua* ve *L. welshimeri* için tamamlanmış genom sekansı bulunmaktadır. Fakat *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. grayi* için çalışmalar sürmektedir. (15,20)

2.3. *LISTERIA* TÜRLERİNİN MORFOLOJİSİ

Listeria genusunun tüm üyeleri, kısa düzgün çubuk şeklinde, 0,4-0,5 ile 1-2 µm uzunluğunda paralel yüzeyli, genellikle tek ya da kısa zincirler halinde görülür. Bu bakteriler Gram + fakat özellikle eskimiş kültürlerde gram boya alma özelliğini yitiren bakterilerdir.



Şekil 2.2 *L. monocytogenes*'in mikroskopik morfolojisi.

Listeria'nın bütün türleri 20-35°C arasında inkübe edildiğinde peritrik flagellalarıyla hareketli olmalarına karşın 37°C'de haraketsizdirler. Metabolizmaları aerobik ve fakültatif anaerobiktir. Üreme pH 5,2-9 ve 0 – 45 °C aralığında şekillenirken optimal üreme 30-37 °C arasında gerçekleşir. Glikozun anaeorobik katabolizması sonucu L(+)-laktik asit, asetik asit ve diğer son ürünler üretilir. Diğer şekerlerden ise gaz oluşturmada asit üretimi şekillenir (11).

Listeria'nın hücre duvar kompozisyonu çok katmanlı peptidoglikan mezodiamino pimelik asit (meso-DAP) yapısındadır (21).

Bütün *Listeria* türleri besi yerinde morfolojik olarak benzerlik gösterir ve *Listeria* kolonileri 24-48 saatlik inkubasyon periyodu sonunda 0,5- 1,5 mm çapında yuvarlak yarı saydam, hafif konveks, keskin kenarlı ve kristal merkezli renksiz şekilde görülürler. Bakteriyel üreme besi yeri yüzeyinden kaldırıldığında yapışkan ve agar yüzeyinde iz bırakmış halde görülür. Eskimiş kültürlerin (3-7 günlük) çapı 3-5 mm'ye kadar genişleyebilir ve daha opak bir yapı kazanır (11).

2.4. LİSTERİA TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Listeria hücre yüzeyinin diğer Gram pozitif bakterilere benzer olarak çoğunlukla peptidoglikan (hücre duvarı kuru maddesinin %35 'ni oluşturur), teikoik asit (hücre duvarı kuru maddesini %60-70 glikan yüzeye bağlı olarak bulunur), ve lipoteikoik asitlerden (yapısal ve biyolojik olarak Gram negatif bakterilerdeki lipopolisakkaritlere benzerlik gösterirler) oluştuğu bildirilmiştir. Teikoik asit bileşenlerinin hücre duvarının

%20'sini oluşturduğu gösterilmiş ve bu asidin N-asetilglukozamin, ramnoz, ribitol ve fosfor içerdiği bildirilmiştir (11).

Listeria türleri hareketliliği sağlayan flegallaya sahiptir. Bu özellik muhtemelen konak epitelyum hücrelerine invazyon ve adezyon işleminde rol almaktadır. *L. monocytogenes*' te 5-6 peritrik flagella bulunmaktadır. (11)

Hücre duvarı ve flagella oluşumuna temel teşkil edecek moleküllerin yanı sıra, *Listeria*'ların canlı kalma yeteneğini ve stres ortamında pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonu gibi faktörlere karşı dirençliliğini sağlayan, özel, amaca yönelik proteinler, (örneğin, BetL, Bsh, Lmol421, OpuB ve OpuC) sentezlediği bilinmektedir. Bu yolla *L. monocytogenes* konak hücresi içine girer, vakuollerden kaçabilir, sitozollerde replike olur ve komşu hücrelere dağılır. Örneğin *L. monocytogenes* konak epitelyum hücrelerine ve diğer hücrelere etkin bir şekilde girebilmek için sırasıyla internalin A ve B sentezler. Konak hücresi içine girdikten sonra vakuollerden kaçabilmek için LLO ve fosfolipaz C, hücre içi ve hücreler arası taşınmak için de ActA ve Mpl sentezler. Dolayısıyla bu invazyon ve virulens bağlantılı proteinler konak immun yanıtına hedef teşkil ederek *L. monocytogenes*'in vücuda giriş dozuna bağlı olarak kısmi veya total eliminasyonuna sebep olur (11).

Listeria türlerini benzer bakterilerden ayırt edebilmek için, bazı biyokimyasal reaksiyonlardan faydalanılır (Tablo 2.1). Bu reaksiyonlar şeker fermentasyon, aminoasit peptidaz, lipolitik ve hemolitik aktiviteler veya CAMP testine dayanmaktadır. Günümüze kadar binlerce gıda ve çevre izolatu analiz edilmiş olmasına rağmen şimdiye kadar alışılmışın dışında sadece birkaç tane *Listeria* fenotipi tespit edilmiştir. Örneğin *L. monocytogenes*'in çok zayıf veya negatif hemoliz, katalaz reaksiyon verdiği görülmüştür. Yine *L. monocytogenes*'in bir suş tipinin (ATCC 15313 veya NCTC 10357) non-hemolitik, CAMP testi negatif ve hareketsiz olduğu bildirilmiştir (22-24).

Tablo 2.1. *Listeria* türlerinin fenotipik özellikleri (11).

	Türler ^a					
İnVitro Karakter	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welsimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayi</i>
Gram boyama	+	+	+	+	+	+
Katalaz testi	+	+	+	+	+	+
Kanlı agarda β-hemoliz	+	++ ^c	-	-	±	-
Lipaz üretimi	+	+	-	-	+	-
Aminoasit peptidaz	-	+	+	+	+	+
Eskülin hidrolizi	+	+	+	+	+	+
β-D glikosidaz	+	+	+	+	+	+
Asit Üretimi						
D-mannitol	-	-	-	-	-	+
L-ramnoz	+	-	+	±	-	±
D-ksiloz	-	+	-	+	+	-
α-metil D-mannosit	+	-	+	+	±	±
CAMP testi^b						
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	-	-	+	-
<i>Rhodococcus equi</i>	-	+	-	-	-	-

^a + pozitif reaksiyon, - negatif reaksiyon, ±değişken yada zayıf reaksiyon

^b Hemoliz reaksiyonunda artma

^c ++ Güçlü hemolitik reaksiyon

2.5. *LISTERIA* TÜRLERİNİN FİZYOLOJİSİ

2.5.1. Üreme Özellikleri

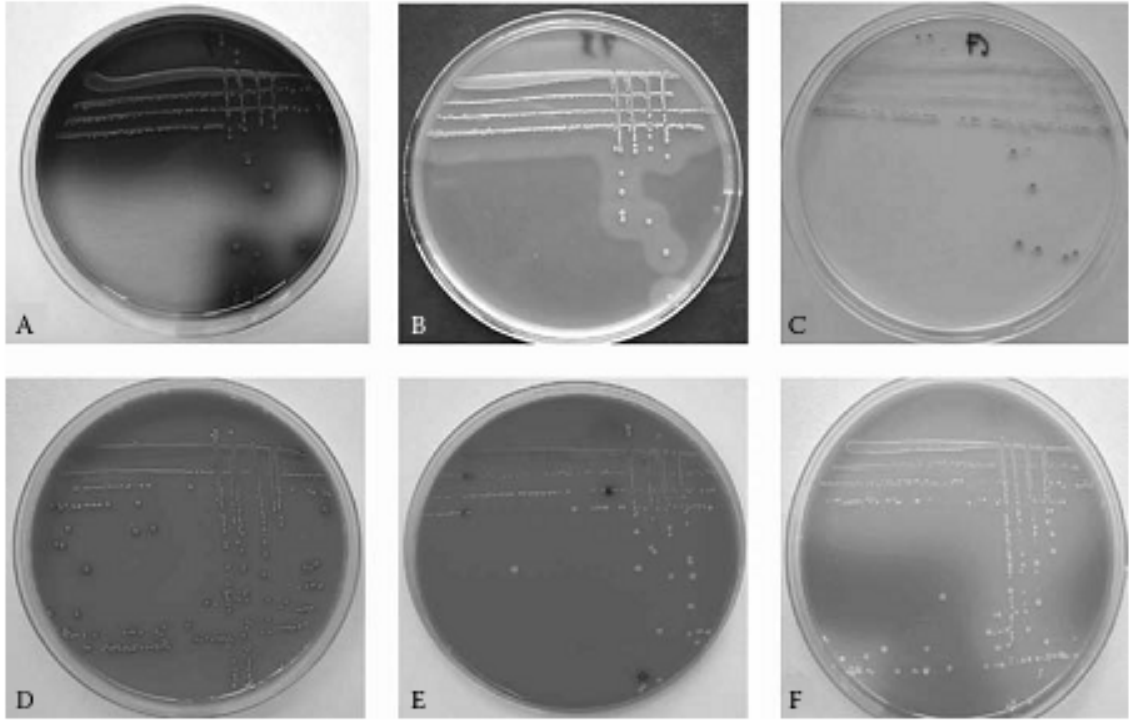
Listeria spp. optimal üreme için genellikle biotin, riboflavin, tiyamin, alfa lipoik asit ve amino asitlere (örneğin sistin glutamin, isoleusin leusin ve valin) gereksinim duyar. Karbonhidratlardan (örneğin glikoz) yan ürün olarak asitler üretilir ve bunlar *Listeria* spp.'nin çoğalması için de gereklidir. Genel olarak *Listeria* spp. selektif olmayan bazı besi yerlerinde iyi ürerler. Tryptone soy broth veya Brain-heart infusion (BHI) broth gibi selektif olmayan besi yerlerinde *Listeria* spp. hem aerobik hemde anaerobik olarak üreyebilirler; BHI broth'da 30 °C de yaklaşık 12 saat inkübasyon sonunda durağan faza geçilir. 20-25 °C arasında inkübe edilen kültürlerde takla atma hareketi gözlenir (11).

Flagella sentezini sıcaklık ve katabolizma ürünleri regüle eder ve buda abiyotik materyallere tutunma ve virulans faktörleriyle ilişkilidir (25-28). *Listeria* spp. düşük sıcaklıklara çok iyi adapte olmuş psikrotrofik organizmalardır. pH 5,2'nin altındaki değerlerde üreme durur fakat *Listeria*'ların gıdalardan eliminasyonunu sağlamaz. 0 °C nin altındaki sıcaklıklarda canlılığını sürdürür (11).

Listeria spp.'nin gıdalardan, çevresel kaynaklardan ve dışkıdan izolasyonu için günümüzde çok çeşitli selektif broth ve agarlar bulunmaktadır. ISO11290-1, 2 tarafından *Listeria* spp.'nin izolasyonu için 1996 ve 1998 yıllarında PALCAM ve OXFORD selektif agarları primer ve sekonder besi yeri olarak tavsiye edilmiştir. Söz konusu agarlarda ortası bombeli tipik üremelerin (öküz gözü veya balık gözü kolonileri) görülebilmesi mümkün olabilmektedir. Son zamanlarda *L. monocytogenes* için kromojenik substratlara dayanan selektif besiyerleri geliştirilmiştir (11).

Ottaviani ve Agosti tarafından geliştirilen *Listeria* agar, ISO11290-1, 2'ye 2004 yılında yapılan değişiklikler çerçevesinde önerilen ilk kromojenik agardır. (29,30). Bu agarın formülasyonu 5- bromo-4-kloro-3-indol-β-D-glikopiranozit, β-D- glikosidaz tarafından kullanılan enzim substrattan oluşmaktadır ki bunlar bütün *Listeria* türleri için geçerlidir. Agar yüzeyinde yaklaşık 1 mm çapında tipik mavi turkuaz renkli koloniler ürer. İkinci substrat, fosfolipaz C tarafından hidrolize edilen ve sadece 2 patojenik tür olan *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* tarafından üretilen L-α-phosphatidylinositol'dür. Tipik koloniler mavi turkuaz renkte ve etrafı beyaz zonlu presipitasyonlar halindedir. Mikrobiyolojik besiyeri üretiminde başta gelen bütün üretici firmalar orijinal ALOA formülasyonuna benzer besi yerlerini önermektedirler ki bunlar: Biolife (ALOA[®]) ,

AES (ALOA 1 gün), Oxoid (OCLA), CHROMagar (CHROMagar™), Merck (Chromoplate®)Biomérieux (OAA), and Biorad (AL). Fosfolipaz C deteksiyonuna diğer bütün kromojenik agarlarda *L. monocytogenes* mavi turkuaz renkte koloniler halinde ürerken diğer *Listeria* türleri beyaz koloniler halinde ürerler. Selektif kromojenik *L. monocytogenes* agarları *L. monocytogenes* izolasyon süresini 37 °C de 24-48 saate kadar indirebilmekle birlikte, elde edilen izolatların daha sonraki testlerle de doğrulanması gerekmektedir. Farklı *Listeria* türlerinin selektif agarda koloni üremelerine ilişkin örnekler Şekil 2.3’de gösterilmektedir. Son zamanlarda *Listeria* türlerinin gıdalardan izole edilmesi için immunoassay’lere ve polimeraz zincir reaksiyonlarına dayanan teknikler sıklıkla kullanılmaktadır (11).



Şekil 2.3. Listeri türlerinin selektif izalasyonu için kullanılan selektif besi yerleri A: PALCAM – *Listeria* türleri B:ALOA-Benzer medium (COMPASS)-*L. monocytogenes* ; C: ALOA- Benzer medium (CHROM agar)-*L. innocua*; D:Rapid'L. mono-*L. monocytogenes* ; E; Rapid'L. mono-*L. monocytogenes* (mavi-turkuaz koloniler) ve *L. innocua* (beyaz koloniler); F: Rapid' *L. monocytogenes*-*L. welshimeri*.

Listeria türleri su aktivitesi ($a_w > 0.92$) yüksek olan gıda tiplerinin birçoğunda ve ortam sıcaklığı -0.15 ila 45 °C arasında olan ortamlarda üreyebilir. Buzdolabı sıcaklıklarında üreme oldukça yavaş olmakla birlikte ve maksimum 2 katına ulaşma süresi özellikle süt

ürünlerinde 1-2 gün kadar sürebilmektedir (31). Benzer şekilde vakum pakette dilimlenmiş dana etlerinde maksimum iki katına ulaşma süresi -0.15°C de 100 saat kadar sürmektedir (32). *Listeria* türleri %10 luk NaCl ve 200 ppm NaNO_2 varlığında ve aynı zamanda gıda işletme çevrelerinde ıslak ve kuru alanlarda yıllarca canlılığını sürdürebilir. Gıdalardaki çoğalma düzeyi pH 4.3-9.4 aralığında sınırlanmaktadır (33). *L. monocytogenes* ısıya dayanıklı değildir ve sütün pastörizasyon parametrelerine dayanamamaktadır. Etkenin birçok gıda çeşidinde desimal indirgenme süresi (D değeri) 60°C de 16.7 ila 1.3 dakika, 70°C de 0.2 ila 0.06 dakika arasında değişmektedir (34).

L. monocytogenes birçok çiğ, işlem görmüş, pişirilmiş ve tüketime hazır gıdadan genellikle gramda 10 organizmanın altında değerlerde saptanmıştır. Bakterinin genel özellikleri gıda ile taşınmasına ve üremesine destekleyerek özellikle raf ömrünün sonuna kadar gıdayı ağır bir şekilde kontamine etmesine olanak vermektedir. *L. monocytogenes*'in üremesini destekleyen ve bu mikroorganizma açısından “problem” olarak nitelendirilen gıdaların başında yumuşak peynirler, süt, pate, frankfurter tipi ve diğer sosisler, pişirilmiş et ve kanatlı eti, dumanlanmış balık, su kabukluları, işlem görmüş sebzeler gelmektedir. Üreme gıda içerisinde spesifik alanlarda lokalize olmuş olabilir (kesim yüzeyinde veya temas yüzeylerinde). Bu spesifik üremeler yüksek pH alanları gibi olgunlaşmaya ve küf oluşumuna bağlı gıdanın fizikokimyasal özelliklerine göre değişiklik gösterir (11).

L. innocua'nın fizyolojisi (ısıya dayanıklılık ve temizleme rejimleri) *L. monocytogenes*'e oldukça benzerlik göstermekte ve gıdalardan sıklıkla izole edilmektedir. Bu nedenle *L. innocua*'nın varlığı son üründe *Listeria* türlerinin varlığına ilişkin ve gıda üretim çevrelerindeki hijyen yetersizliğine ilişkin indikatör organizma olarak düşünülebilir. Örneğin Viyana'da 20 yıl boyunca 9300 den fazla örnek(frotiler, tuzlusu ve peynirler) incelenmiş ve *L. grayi*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* ve *L. ivanovii* sırası ile 2, 12, 39 ve 4 örnekte tanımlanmıştır (11).

2.5.2. Stres Toleransı

Listeria spp. aşırı sıcaklık (-0.1 ile 45°C), pH(3.0-9.5) ve tuz (%10'a kadar) gibi sert çevre koşullarında hayatta kalma yeteneğine sahiptir. Diğer patojenik bakteriler gibi sıcak şoklarına tepki verirler. Isıya maruz kalma ya da düşük pH düzeyleri *L. monocytogenes*'in normalde letal olan koşullarda hayatta kalma yeteneğini artırır. Bu durumun peynir gibi çeşitli gıdaların üretim aşamalarında canlı kalabilmesi açısından

önem arz etmektedir. Örneğin feta peynirlerinde pH 4.6 değerlerinde hayatta kalma süresinin 90 günü aştığı bildirilmiştir (31). DeRoin ve ark. (35) ise bakterinin kum taneciklerinde 10°C'de 151 gün 22°C'de 73 gün canlı kalabildiğini bildirmiştir. Bakterinin düşük sıcaklıklarda üreme yeteneği *L. monocytogenes*'i özellikle proses sonrası kontaminant olarak uzun raf ömürlü soğutulmuş gıdalarda özellikle dikkat edilmesi gereken bir tehlike durumuna sokmaktadır. *L. monocytogenes*'in yaygın dağılımı, kuru ve nemli yüzeylerde hayatta kalma yeteneği nedeni ile fabrika ortamlarında hem gıdalara hem de çiğ ürünlerde üretim sonrası kontaminasyona dikkat edilmesi gerektiği bildirilmektedir (36).

Bununla birlikte *Listeria* spp. yüksek tuz konsantrasyonlarına alışılmadık bir tolerans gösterir. *L. monocytogenes* ağır çevresel streslere karşı koyma yeteneği, hızlı ve verimli çalışan stres cevap mekanizmasına bağlıdır. Çeşitli tuz streslerine tepki genleri (betL, gbuABC, opuC, opuB, lmo1421 ve bsh) tanımlanmıştır (11). *Listeria* türlerinin alkali ortamları ve yüksek basıncı iyi tolere ettiği bilinmesine karşın bu streslere dayanma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

2.5.3. Sıcaklık Stresi Cevapları

Normal hücre üremesi için gerekli olan sıcaklık aralığı üzerindeki sıcaklıklara maruz kaldığında etken hızlı bir şekilde canlılığını yitirir. *L. monocytogenes* enfeksiyon siklusunun çeşitli aşamalarında sıcaklık streslerine maruz kalmaktadır; gıdaların muhafazasında uygulanan yüksek sıcaklıklar (örneğin pastörizasyon ve sterilizasyon) Bununla birlikte *L. monocytogenes*'in konağa bir kez girdikten sonra enfeksiyonu başlattığı bildirilmiştir (11).

İçerisinde *Listeria* 'nın da bulunduğu pek çok organizma, letal ve subletal ısı stresleri ile mücadele etmek amacı ile evrimleşmişler, karmaşık mekanizmalar ve sıcaklık şoku cevapları geliştirmişlerdir. Sıcaklık şoku cevap mekanizması yüksek derecede hücresel savunma mekanizmasıdır ve sıcaklık şoku proteini (HsPs) salgılanması ve birikimi ile karakterizedir (37).

Çoğu HsPs düşük seviyeli stres koşullarında da salgılanır, fakat bakteri suni olarak uyarılarak ortam sıcaklığının yükseltilmesi ile çok kısa sürede eyleme geçer (38). HsPs lerin kendileri birer virülens faktörüdür (39), hastalığın esas ve gelişimini indirekt olarak etkilerken, konakçı savunmasına karşı bakterinin direncini artırır ya da virülens genlerini regüle ederler (40-42). Çoğu HsPs, moleküler koruyucular yada adenoazin tri

fosfat (ATP)- proteaz bağımlılar olarak iki grup içerisinde yer alırlar. Genel olarak, iyi yapılanmış proteinler dayanıklı olmakla birlikte bazı stres koşullarına maruz kalarak protein yapıları zarar görür ve hücre yüzeyinde hidrofobik kalıntılar şekillenir. (43,44). Şimdiye kadar *L. monocytogenes* için birkaç HsPs tanımlanmıştır. Bunlar; GroES, GroEL, DnaK, DnaJ, HtrA, and Clp proteinleridir.

Tablo2.2. *L. monocytogenes* için tanımlanmış HsPs

Stres Tipi	Genetik Lokus	Virülens Rolü	Referans
Sıcaklık Stresi	<i>groESL</i>	Evet	(15,45,46)
	<i>dnaK</i>	Evet	(15,46,47)
	<i>clpB</i>	Evet	(15,46,48)
	<i>clpC</i>	Evet	(15, 25,49,50)
	<i>clpE</i>	Evet	(15,51)
	<i>clpP</i>	Evet	(15,52)
	<i>htrA</i>	Evet	(33,53)

2.5.4. Antimikrobiyallere Karşı Duyarlılık ve Dayanıklılık

Listeria spp. bazı antimikrobiyel ajanlara karşı duyarlıdır. Troxler ve ark. (54) 103 *Listeria* suşunun (21 *L. monocytogenes*, 21 *L. innocua*, 21 *L. seeligeri*, 19 *L. ivanovii*, 11 *L. welshimeri*, and 10 *L. grayi*), pek çok antimikrobiyele karşı doğal olarak duyarlı bazılarına ise dikkate değer bir şekilde dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Tablo. 2.4. *L. grayi*'nin trimethoprim, co-trimoxazole, ve rifampisine karşı dirençli görüldüğünü, kinolonlardan ise kolay etkilendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca *L. ivanovii*'nin kinolonların çoğuna karşı doğal direncinin bulunduğu bildirilmiştir.

Bununla birlikte *L. innocua* ve *L. monocytogenes* fusidic asidi doğal olarak tolare edebilmektedirler (54).

L. monocytogenes'in selektif antimikrobiyel ajanları tolare edebilme yeteneği 4 süt üretim çiftliğinden izole edilen diğer bir çalışmada da bildirilmiştir. Bu çalışmada izole edilen 38 *L. monocytogenes* suşunun hepsi Sephalosporin C, streptomycin, ve trimethoprim'e dirençli bulunurken, çoğunluğunun ise ampicilin, rifampisin ve florfenikolü tolare ettiği, yarıya yakınının ise tetrasiklin, penisilin G, ve kloramfenikole dirençli olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte izole edilen 38 *L. monocytogenes* suşu özellikle amoksisilin, eritromisin, gentamisin, kanamisin, ve vankomisine karşı duyarlı

bulunmuştur. Bu *L. monocytogenes* suşlarında antibiyotiklere direnç genlerinin önemli bir bölümü floR (%66), penA (%37), strA (%34), tetA (%32), ve sulI (%16)' dan oluşmaktadır. Bununla birlikte izole edilen *L. monocytogenes* suşlarında antitetrasiklin (tetB, tetC, tetD, tetE, ve tetG) ve diğer antimikrobiyal genler (cmlA, strB, aadA, sulI, vanA, vanB, ampC, ermB, ereA, ereB) tanımlanamamıştır (55).

Tablo 2.3. *Listeria* türlerinin antimikrobiyel ajanlara karşı direnç ve duyarlılıkları (11).

Doğal duyarlı	Doğal dirençli
Tetrasiklinler Aminoglikozidler Penisilinler (oksasilin hariç) Sefalosporinler (lorakarbef, sefazolin, sefaklor) Sefotiam Sefoperazon Karbapenem Makrolidler Linkosamidler Glikopeptidler Kloromfenikol Rifampisin (<i>L. grayi</i> hariç)	Sefalosporinler Aztreonam Pipemidik asid Dalfopristin/Kinopristin Sulfametaksazol

1958-2000 yılları arasında Hollanda'da yürütülen bir çalışmada, insan kan örneklerinden ve serebrosipinal sıvılarından 106 *L. monocytogenes* suşu izole edilmiş, bu izolatların penisilin G, ampisilin, meropenem, gentamisin, sulfametaksazol, trimetoprim, eritromisin, vankomisin, linezolit, kloramfenikol, ve tetrasikline karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir (56).

Sağlanan bu veriler sadece, ampisilin ya da penisilin tek başına ya da gentamisin ile kombine edilerek kullanılması ile listeriozise karşı daha verimli tedavi edilebilmektedir. Alternatif tedavi rejiminde trimetoprim-sulfametoksol, vankomisin artı gentamisin ve belki eritromisin birleştirilmektedir. Ampisilin ve aminoglikozit (genellikle gentamicin) kombinasyonu insan listeriozis tedavisinde geniş kabul görmüştür. Normal koşullar altında, beta-laktam antibiyotiklerinin kullanımı pek mümkün değildir. İkinci seçenek olarak trimetoprim, sulfonamit ile birlikte (örneğin co-trimoxazole) kullanılabilir. Listeriozise karşı ikinci derece ajanlar erythromycin ve vankomycindir. Gram pozitif bakterilere karşı yeni bir ilaç olan linezolid de kullanılabilmektedir (57).

2.6. *LISTERIA* TÜRLERİNİN ÇEVREDE DAĞILIMI

2.6.1. Su

Listeria spp. deniz suyundan, yeraltı sularından ve yağmur sularından nadiren izole edilebilmiştir. Bununla birlikte genellikle nehir, koy, lağım sularında, endüstriyel ve çiftlik atıklarında bulunabilmişlerdir. (58-60).

Luppi ve ark. (61) kuzey İtalya'dan aldıkları 50 nehir suyu örneğinden 11 *Listeria* izolatu (%22) (içerisinde bir *L. monocytogenes*, iki *L. seeligeri*, bir *L. welshimeri* ve yedi *L. innocua* bulunan), 80 yüzey suyu örneğinden 15 *Listeria* izolatu (%19) (bir *L. monocytogenes*, 11 *L. innocua*) 98 yer altı suyu örneğinden bir *Listeria* izolatu (%1) (*L. innocua*) ve 33 şehrsel atık suyundan 14 *Listeria* izolatu (%42.4) (sekiz *L. monocytogenes*, beş *L. innocua* ve bir *L. seeligeri*) elde etmişlerdir.

Colburn ve ark. (62) Kaliforniya'daki Humboldt–Arcata koyundan aldıkları 37 tatlı ya da az tuzlu su örneklerinde 30 *Listeria* izolatu (%81) elde etmişler bunun da 19'unun (%62) *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir.

Çöküntülerden alınan 46 su örneğinde 13 (%30) *Listeria* spp. ve 5 (%17) *L. monocytogenes* bulunmuştur (62). MacGowan ve ark. (63) 115 atık su örneğinin, 108'inin (%93.9) *Listeria* spp. içerdiğini, bunun %60'nın ise (61/108) *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir. Her ne kadar Hansen ve ark (60), 14 taze su akıntısında *L. monocytogenes* tespit edemese de, balık çiftliklerindeki deniz suyu örneklerinin %2, balık çiftliği taze sularından alınan örneklerin %10, işleme tesis örneklerinin 16%, tütsüleme tesislerindeki örneklerin ise %68 oranında söz konusu bakteri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç göstermektedir ki, *Listeria* spp. nin sudaki insidensi hayvan ve insan aktivitesinin artmasına bağlı olarak şekillenen kirlilikle artmakta ve çamur ve lağım suyundaki besinler temiz suya göre *Listeria* için büyüme ortamı sağlamaktadır.

2.6.2. Toprak

Weis ve Seeliger (64) 1970'lerin başında aldıkları toprak örneklerin %20'sinden *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* izole etmişlerdir. Toprak örneklerinin içerisinde, mısır tarlası (%13 ya da 3/23), tahıl tarlası (%13.9 ya da 5/36), işlenmiş tarla (%18.7 yada 3/16), işlenmemiş tarla (%51.4 yada 20/39), otlak (%8.7 yada 4/46) ve orman (%15.2 yada 9/59) bulunmaktadır. Bütün toprak örneklerinde 1/2b ve 4b serotipleri en çok

rastlanan serotipleri olarak bildirilmektedir. Her ne kadar Van Renterghem ve ark. (65) depolanmış sıvı gübre ve gübrelenmiş toprak örneklerinde *L. monocytogenes* bulamadıklarını bildirseler de, taze domuz dışkısının %16'sının, taze inek dışkısı örneklerinin %20'sinin ve yüzey suyu örneklerinin %5'inin bu bakteri ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

MacGowan ve ark. (63) İngiltere topraklarında, 130 toprak örneğinden 20'sinin (%14.7) *Listeria* spp. içerdiğini, dışkı örneklerinde *L. monocytogenes* ve *L. innocua*'nın, ve toprak örneklerinde ise *L. ivanovii* ve *L. seeligeri*'nin dominant olduğunu belirtmişlerdir. Moshtaghi ve ark. (66) Hindistan topraklarından alınan 130 örnekte 7 *L. monocytogenes* (%5.4), 2 *L. ivanovii* (%1.5), 10 *L. innocua* (%7.7), ve 4 (%3.1) *L. welshimeri* izole etmişlerdir. *L. ivanovii* sadece hayvanların bulunduğu alanlarda izole edilmiştir, tarım alanlarında ise bulunamamıştır. *Listeria* türlerinin toprakta (ortalama %20'sinde) muhtemelen saprofit olarak bulunduğu bildirilmiştir.

2.6.3. Bitkiler

12 çiftlik ve 7 tarım alanı olmayan bölgeden alınan toprak ve bitki örtüsü örneklerinde, Welshimer ve Donker-Voet (67) 27 adet *L. monocytogenes* suşu, Welshimer (68) Virginia'da toplanan bitki örtüsünde 8 *L. monocytogenes* suşu izole etmişlerdir. Weis ve Seeliger (64) Almanya'dan alınan bitki örneklerinin %20'sinin *L. monocytogenes* içerdiğini; çalışma çerçevesinde mısır tarlalarının %9,7 (3/31), tahıl tarlalarının %13,3(4/40), işlenen alanların %12,5 (2/16), işlenmeyen alanların %44 (33/75), çayır-meraların %15 (6/38), ormanların %21.3 (13/61), ve vahşi hayvanların beslendikleri yerlerin %23,1 (9/39) oranında söz konusu etkenle kontamine olduğunu bildirmişlerdir. *L. monocytogenes*'in toprak ve bitkilerdeki geniş dağılımı *Listeria* spp. nin toprak ve bitkisel çevrelerde gelişebilen ve serbest yaşayan mikroorganizmalar olduğu fikrini güçlendirmektedir.

2.6.4. Gıda işletmeleri

L. monocytogenes gıda üretiminde kullanılan araçların yüzeylerine bağlanır ve ardından biofilm matriksi içerisinde gelişir ve kötü şartlara karşı olan direncini geliştirir (69). Bu çevrelerden özellikle *L. monocytogenes*'in 1/2a, 1/2b, ve 1/2c serotipleri sıklıkla izole edilirler ve bunlar et üretim alanlarına ve işletmeye daha iyi adapte olmuşlardır (70-73).

Norwood ve Gilmour (71) *L. monocytogenes* serotip 1/2c'nin paslanmaz çelik yüzeylere bağlanma eğiliminde olduğunu diğer serotiplerle karşılaştırarak göstermiştir.

Chambel ve ark. (74) Portekiz'de peynir üretim fabrikalarında (duvarlar, borular, raflar ve çeşitli araçlarda) 213 *Listeria* suşu izole etmiş, bunlardan 85'inin *L. monocytogenes*, 88'inin *L. innocua*, 39'inin *L. seeligeri*, ve 1'inin ise *L. ivanovii* olduğunu bildirmiştir.

Eifert ve ark. (75), ABD'de hindi işlenen fabrikalardan toplanan örneklerde *L. monocytogenes* kompleks serotip 4b (serotip 4b ve serotip 4d ve 4e ile yakın akraba) tespit etmiştir.

Listeria türlerinin insidensi, genel olarak hayvan ve insan aktivitesinin artması ile yükselmektedir. *L. monocytogenes* ve *L. innocua* sıklıkla çevreden izole edilebilmekte, bunları *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, ve *L. welshimeri* izlemektedir. Bununla birlikte *L. grayi* çevresel örneklerden nadir olarak izole edilmektedir.

2.7. EVCİL HAYVANLARDA YAYGINLIK

Hofer ve ark. (76) Brezilya'daki sağlıklı ineklerde *Listeria* spp. bulunması üzerine düzenledikleri bir araştırmada, 239 izolat elde etmişler, bunların içerisinde 96 *L. monocytogenes*, 141 *L. innocua*, bir *L. ivanovii*, ve bir *L. grayi* bulunduğunu bildirmişlerdir. İzole edilen 96 *L. monocytogenes* izolatının 7 serotipi kapsadığı (1/2a (5), 1/2b (12), 3a (1), 4a (36), 4ab (5), 4b (34), ve 4e (2) bildirilmiştir.

Antoniollo ve ark. (77) Brezilya'da bulunan kuzulardan aldıkları 35 dışkı örneğinde 7 (%20) *L. welshimeri* ve 3 (%8,6) *L. innocua* izole etmişlerdir.

Hutchison ve ark. (78) İngiltere'de çiftlik hayvanları atıklarındaki *L. monocytogenes* prevalansını araştırdıkları bir araştırmada, taze inek dışkı örneklerinden %29,8'inden (241/810), taze domuz dışkı örneklerinin %19,8'inden (24/126), taze kanatlı dışkı örneklerinin %19,4'ünden (13/67), ve taze koyun dışkı örneklerinin %29,2'sinden (7/24) *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Benzer olarak, Nightingale ve ark. (79) 52 ruminant(inek, koyun, keçi) çiftliğinden %20'sinde *L. monocytogenes*, Ho ve ark. (80) 759 süt ineği dışkı örneğinden 26 (%3,4) *L. monocytogenes* ve 112 (%14,8) *Listeria* spp. suşu izole ettiklerini ayrıca çiftlikte kullanılan araç gereçlerden alınan 674 örnekte de *L. monocytogenes* (%2,7) ve *Listeria* spp. (%13,9) bulunduğu bildirilmiştir. Bu gözlemler *Listeria* spp. nin evcil hayvanlarda ortak olarak bulunduğunu göstermektedir.

L. monocytogenes'in evcil hayvanlarda (inek, koyun, at, tavuk) çeşitli klinik hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir.

Winter ve ark. (81) iki inek ve iki koyunda *L. monocytogenes* ile ilişkili subklinik mastitis tanımlamıştır. Bunlar açık klinik işaretler vermezken, yüksek somatik hücre sayısı ve yoğun *L. monocytogenes* yayılımı şeklinde gözlemlenmiştir.

Rawool ve ark. (82) mastitli ineklerden alınan örneklerin analizi sonrasında (239 kan, 243 süt, ve 243 dışkı svap örnekleri); arasında 4 *L. monocytogenes* ve bir *L. ivanovii*'nin de bulunduğu 12 *Listeria* izolatı elde etmişlerdir.

Wagner ve ark. (83) Listeriozis salgını olduğu bildirilen 55 koyunluk bir sürüde hastalık sebebinin *L. monocytogenes* ile kontamine çayır otu silajı olduğunu bildirmişlerdir. Salgının çeşitli evrelerinde, listeriozisin çeşitli formlardaki klinik semptomları yavru atma (9 koyun), ensefalit(1 koyun) ve sepsisemi (4 koyun) gözlemlenmiştir. Sepsisemik vakalar *Listeria* 'ların beyinde değil iç organlarda biriktiğini göstermektedir fakat ensefalit geçiren koyunlarda ise, merkezi sinir sistemi semptomları gelişmiştir.

Diğer taraftan *L. monocytogenes*'den farklı olarak *L. ivanovii* koyunlarda ve ineklerde sepsisemi, enteritis ve abortların başlıca sebebidir, aynı zamanda hayvanlarda meningoensefalitise neden olur. Avustralya ve Hindistan'da koyun abortlarının *L. ivanovii* (84,85) enfeksiyonundan kaynaklandığı ve ABD ve Avustralya'da inek (86,87) abortlarının *L. ivanovii* ile ilişkilendirildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır.

L. ivanovii ile ilişkili inek abortlarının patolojik özellikleri, çoğunlukla *L. monocytogenes* kaynaklı abortlara benzemektedir (86).

Ayrıca Peters ve ark. (88) merkezi sinir sisteminde bozukluk semptomları görülen ruminantların, beyin sapından 5 *L. innocua* suşu izole etmiştir. Bununla birlikte, *L. innocua* ruminant merkezi sinir sistemi hastalıklarının patogeneziindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır.

2.8. GIDALARDA *LISTERIA* TÜRLERİ

L. monocytogenes çok çeşitli gıdaları kontamine edebilen ve her yerde bulunabilen bir bakteridir. İnsan tüketimi için imal edilen gıdalarda güvenliği sağlamak için; gıda tazeyken başlangıç mikrobiyal yükünü minimum seviyede tutacak koşulları sağlamak

gıda endüstrisi için mutlak bir gerekliliktir. Bu hedefe ulaşmak için çevresel şartların ayarlanması (örneğin sıcaklık, pH, su aktivitesi gibi) gerekmektedir (89) .

L. monocytogenes'in nutrient broth'da 7°C'de farklı çevresel faktörlerin etkisi altında (pH 5.0–6.0, su aktivitesi (a_w) 0.960–0.990, ve %0–0,8 (w/w)'lik asetik asit konsantrasyonlarında) inkübasyonunda görülmüştür ki *L. monocytogenes* suşları $a_w < 0.930$, pH < 4.3 ya da total asetik asit konsantrasyonlarının > %0,4 (w/w) olduğu ortamlarda üreme yeteneğini yitirmektedir. (90,91). Yapılan başka bir çalışmada *L. monocytogenes*'e ait farklı 5 suş karışımının 4-30 °C, pH 4.24-6.58 ve a_w 0.900-0.945 aralığında tryptic soy broth ve tryptik soy agarda 30 gün süreyle muhafaza edilmesi sonucu elde edilen veriler etkenin söz konusu broth ve agarda sırasıyla minimum 4.45 ve 5.10 pH'larda ve yine sırasıyla 0.900 ve 0.945 a_w değerlerinde üreyebildiğini ortaya koymuştur (92,93).

2.8.1. Deniz Ürünleri

Listeria spp., kirletilmemiş sulardan elde edilen deniz ürünlerinden nadiren izole edilmektedir. Örneğin Eklund ve ark. (94) somonlarda sümüksü maddede, deride ve karın boşluğunda *L. monocytogenes* bulamamıştır.

Draughon ve ark. (95) ABD'de marketlerde perakende satılan çeşitli taze alabalıklarda yoğun *L. monocytogenes* kontaminasyonu olduğunu bildirmiştir.

Miettinen ve Wirtanen (96) Finlandiya'daki çiftliklerde *L. monocytogenes* bulunduğunu, *L. monocytogenes* izolasyonlarının %95,6 (43/45)'inin balık solungaç örneklerinden, %4,4'nin (2/45) ise balık derisinden ya da iç organlarından izole edildiğini bildirmiştir. Ayrıca bu araştırmacılar çözündürülmüş balıkların sırası ile %14,3 ve %8,8 *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* içerdiklerini bildirmişlerdir.

Rodas-Suarez ve ark. (97), Meksika'da, 12 aylık periyodda (Haziran 2001- Mayıs 2002) toplanan 66 istiridye, 66 balık, ve 144 adet deniz suyu örneğini incelemişler, istiridyelerde *Listeria* spp. tespit edememelerine rağmen balık ve su numunelerinde sırası ile %22,7 ve %30,5 oranında *Listeria* spp. bulunduğunu, *L. monocytogenes*'in ise, 66 balık örneğinden 3'ünde (%4,5) ve 144 su örneğinden 12'sinde (%8,3) bulunduğunu bildirmişlerdir.

Chou ve ark. (98) nehir kedi balığı fletolarında *Listeria* türlerini izole etmiş, hakim olan türün %25–47 arasında *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir.

Çeşitli araştırmacılar, deniz ürünleri ile listeriozis salgınları arasında bağlantı kurmaktadır. Ericsson ve ark. (99) ve Miettinen ve ark. (100) insanlarda 5 ateşli gastroenteritis vakasını incelemiş, bu kişilerin önceden *L. monocytogenes* bulunan tütsülenmiş alabalık yediklerini belirtmişlerdir.

Yeni Zellanda Auckland'da 1992 yılında, listeriozis salgınları (17 vaka) görülmüş ve salgın nedeni hastaların *L. monocytogenes* ile kontamine tütsülenmiş midye tüketmelerine dayandırılmıştır (101).

2.8.2. Et

Tavuk eti; Luppi ve ark. (61) düzenledikleri bir araştırmada, İtalya'da 113 et örneğinde 13 (%11,5) *Listeria* izolatı elde etmiş (9 *L. monocytogenes* ve 4 *L. innocua*) ve 4 (%5,3) *Listeria* izolatının (2 *L. monocytogenes* ve 2 *L. innocua*) perakende satış yerlerinden alınan 75 donmuş gıda örneğinde bulunduğunu bildirmişlerdir.

MacGowan ve ark. (63) İngiltere'de, kanatlı ürünlerinden (21/32 ya da %65,6), sığır etinden (9/26 ya da %34,6), kuzu etinden (8/20 ya da %40), domuz etinden (9/32 ya da %28,1) ve sosisten (8/23 ya da %34,7) sıklıkla *L. monocytogenes* izole edildiğini bildirmiştir. Bununla birlikte seyrek olarak, beyin (1/40) ya da peynir örneklerinden (1/251) identifiye edildiğini bildirmiştir.

Çalışmalarında Brezilya'da kanatlı üretim tesislerindeki, tesis ortamından, su ve kanatlı ürünlerinden aldıkları 645 örnek kullanan, Reiter ve ark. (102) 230 (%35,6) örnekte *L. monocytogenes* tespit etmiş, tavuklarda göğüs etlerinin ve kanatların, but bölgelerine göre daha yüksek oranda kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Capita ve ark. (103) depolanmış taze tavuk karkaslarının *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, ve *L. ivanovii* ile kontamine olduğunu ve kontaminasyon yüzdelerinin sırasıyla %95, %32, %66, %7, %4, ve %2 olduğunu bildirmişlerdir.

Sığır eti; Samadpour ve ark. (104) Washington Seattle, perakende satış yerlerinden aldıkları 1750 sığır kıyma örneğinin 18'inin (%3,5) *L. monocytogenes* yönünden pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Bosilevac ve ark. (105) dört ülkeden (Amerika Birleşik Devletleri 487, Avusturalya 220, Yeni Zellanda 223 ve Uruguay 256) 1186 adet sığır eti örneğini analiz etmişler,

toplam 79 *L. monocytogenes* izolatu elde etmişlerdir (Amerika Birleşik Devletleri 17, Avusturalya 4, Yeni Zellanda 5 ve Uruguay 53).

2.8.3. Sebze ve Meyveler

Sebzeler ve doğranmış meyveler, *Listeria* yaşamı ve dağılımı için besin yönünden zengin ideal ortamı oluşturmaktadır. Teksas'ta 1999-2000 yılları arasında dört lahana çiftliğinde 855 örneğin incelenmesinden (425 lahana, 205 su, 225 çevresel sünger) 26 *L. monocytogenes* izole edilmiş, (%3) izolatların 20'si lahana, 3'ü su ve 3'ünün sünger örneklerinden elde edildiği bildirilmiştir (106).

İlk sebze kaynaklı gıda listeriozis salgını (23 hasta) Boston hastanesinde 1979 yılında meydana gelmiştir. Salgına neden olan *L. monocytogenes* 4b türleri ile kontamine sebzelerin tüketiminden hastane sorumlu tutulmuştur (107). Ardından Kanada'nın Maritime bölgesinde 1981 yılında kontamine lahana salatası tüketimi ile gıda kaynaklı listeriozis salgını meydana gelmiştir (6).

İtalya'da 1997 yılında, *L. monocytogenes* 4b türü ile kontamine mısır ve tuna balığı salatası tüketimi sonucu, *L. monocytogenes* ilişkili gastroenteritis (ölüm bildirilmeyen, baş ağrısı, karın ağrısı, ateş ile karakterize salgın) tespit edilmiştir (108). ABD'de son sporadik listeriozis vakalarından (169 vaka) ticari kuruluşlardaki kavun ve hummus tüketimi sorumlu tutulmuştur (109).

2.8.4. Tüketime Hazır Gıdalar

Tüketime hazır gıdalar işlem görmüş balık, et ve sebzeleri kapsamaktadır, bu gıdalar tüketimden önce ayrıca pişirme gibi işlem gerektirmemektedir. Pek çok hazır gıda, (ör soğuk tütülenmiş balık) yaklaşık %2-5 NaCl içermektedir. Her ne kadar hazır gıdalar, genellikle düşük sıcaklıklarda tutulsalar da (4 ve -20°C arasında), *L. monocytogenes* in yaşama ve gelişmesi 4°C'de depolamada dahi etkin bir şekilde engellenemediği için söz konusu hazır gıdaların *L. monocytogenes* için mükemmel üreme ortamı sağladıkları kabul edilir (11).

Van Coillie ve ark. (110), Belçika'da 252 hazır gıda üzerinde düzenledikleri çalışmada örneklerin %23,4'ünde bu bakteriye rastlamışlar, kıyma ve tütülenmiş balık örneklerinde ağır kontaminasyona rastladıklarını bildirmişlerdir. Ek olarak *L. innocua* ve *L. welshimeri* önceden hazırlanmış kıyma örneklerinde tespit edilmiştir. PCR

analizleri izole edilen *L. monocytogenes* türlerinin 1/2a (3a) serotiplerine ait olduğunu göstermiştir.

Angelidis ve Koutsoumanis (111) marketlerde satılan 209 tüketime hazır et ürünü örneklerinin (domuz pastırması ve pişirilmiş jambon) 17'sinin (%8,1) *L. monocytogenes* pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Zhou ve Jiao (112) Çin'de perakende marketlerden toplanan 844 tüketime hazır gıda örneğinin 21'inde *L. monocytogenes* izole edildiğini bildirmişlerdir.

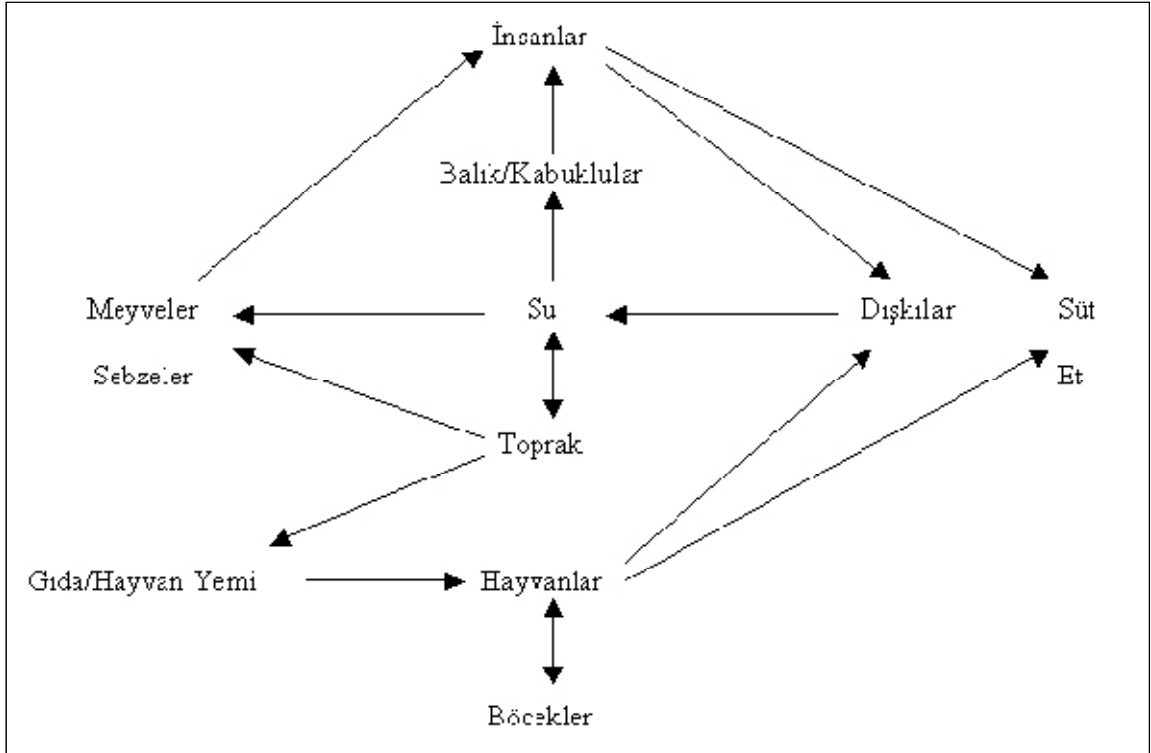
Wagner ve ark. (113) Avusturya Viyana'daki perakende marketlerden topladıkları 946 hazır gıda örneğinden 142'sinde (%13,1) *Listeria* spp., 45'inde (%4,8) ise *L. monocytogenes* olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, örnek alınan 93 tüketime hazır balık ve deniz ürününün 18'inde (%19,4), 144 tüketime hazır et sucuğunun 7'sinde (%4,9), 112 pişirilmiş et ürünü ve beyin örneğinin ise 5'inde (%4,5) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir.

Goulet ve ark. (114) ABD'de Temmuz ve Ekim 2002 arasında görülen 54 vaka ve 8 ölümlü epidemik listeriozis vakasından, hazır yemek dükkanlarında satılan hindi göğüslerinin sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

2.9. OLUŞTURDUĞU HASTALIKLAR

2.9.1. Listeriozis

Listeriozis, insanlar ve çeşitli hayvanlarda görülmekte ve sıklıkla uterusu ve gebelik dönemini, merkezi sinir sistemini ya da dolaşım sistemini etkilemektedir. Hayatı tehdit eden enfeksiyon sıklıkla fark edilir. Subklinik enfeksiyonlar da meydana gelmekte ve nadiren tanımlanmaktadır. Şekil 2.4.'de Listeriozis'e ilişkin enfeksiyon döngüsü şematize edilmiştir.



Şekil 2.4. *Listeria* enfeksiyon döngüsü (115).

Neredeyse tüm insan listeriozis vakalarının *L. monocytogenes* (116); çok nadir olarak *Listeria ivanovii* ve *Listeria seeligeri* kaynaklı olduğu bildirilmiştir (117,118). Her ne kadar koyunlarda görülen septiseminin yaklaşık %10'unun *L. ivanovii* kaynaklı olduğu bildirilse de (119) ; *L. monocytogenes* diğer hayvanlar için de major patojendir. Ek olarak sahip olduğu virülens gen kümeleri (*Listeria*' da bilinen patojenitik alan island 1 ya da LIPI-1) *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* için ortaktır. *L. ivanovii* island 2 (LIPI-2) ye sahip olması ile *Listeria* patojenitesinden ayrılır ki fosfokolinesteraz kodu ruminant eritrositlerinde bulunan fosfolipidleri daha verimli kullanmak içindir (120). Buda küçük ruminantların *L. ivanovii* enfeksiyonlarına karşı olan hassasiyetlerini açıklamaktadır. *L. monocytogenes* bulunan gıdaların tüketilmesiyle gıdalarla ilişkili listeriozis risklerini arttıran ya da azaltan faktörler Tablo 2.4.' de verilmiştir.

Tablo 2.4. Gıda kaynaklı listeriozis riskini etkilen faktörler.

	Riski Arttıran Faktörler	Riski Azaltan Faktörler
Bakteri ile ilişkili faktörler	Üretim alanlarında çiğ ürünlerin kontaminasyonu Diğer Gıdalarla çapraz kontaminasyon Gıda zincirinde büyüme esnasında daha virulent soylar ve gıda zincirine adaptasyon	<i>L. monocytogenes</i>'in gıda zincirinden dışlanması Yeterli sıcaklık ve raf ömrü kontrolü Üretim alanlarında kalite ve çevresel hijyen Kaliteli hammadde Az virulent ya da patojenik olmayan soylar Kontaminasyon ya da enfeksiyonla ilişkili soyların sınıflandırılması ve identifikasyonu
Konakçı dışındaki faktörler	Az işlenen, perakende satılan ve depolanan gıdalarda noksan denetleme	
Konakçı ile ilgili faktörler	Riskli gıdaların tüketilmesi Yaşla birlikte artan hassasiyet ya da bağışıklık baskılayıcı ajanlar ve şartlar	Riskli gıdalara yönelik bilgilendirme Bağışıklık

İnsanda, listeriozisi sıklıkla yaşlılar, hamile kadınlar, ve doğmamış, ya da yeni doğmuş bebeklerde görülmektedir. Enfeksiyon antibiyotikler ile başarılı şekilde tedavi edilmesine rağmen insan enfeksiyonlarında ölüm oranı %20-40 arasında olduğu bildirilmiştir (121) .

Evcil hayvanlarda (özellikle koyun ve keçilerde) listeriozis genellikle ensefalit, abort, ya da sepsisinin neden olduğu ekonomik kayıplar olarak ortaya çıkar (119). Prensip olarak hastalığın Kontamine gıda ve yemlerin tüketimi ile bulaştığı kabul edilmektedir. Bununla birlikte insanlarda enfeksiyonun, nadir olarak, hasta hayvanlar yada çevre ile direkt kontakt yada neonatal periyotta hastalar arasında çapraz bulaşma yolu ile yayılabildiği bildirilmiştir (122,123).

Hastalığın görülüş sıklığı yaşla birlikte artar, ortalama 55 yaşından sonradır. Genel olarak kadınlara göre 40 yaşını bitirmiş erkekler daha çok enfekte olurlar, çünkü kadınlar, çocuk doğurma yaşında enfekte olurlar, tüm cinsiyet dağılım eğilimi bağışıklığı baskı altında olan populasyonlarda yaşlı erkeklere doğru olduğu bildirilmiştir. Bağışıklık sisteminin baskılanması listeriozisin epidemik ve sporadik

formlarının her ikisinde de en büyük risk faktörüdür. İnsanlardaki virüs hastalıklarına karşı olan immun sistemdeki yetersizlik bazı ülkelerde hazırlayıcı faktördür. ABD’de daha önceki çalışmalar, 7.1 vaka/milyon insan/yılın (124,125) günümüzde 3.1’e (126) indiğini bildirilmektedir. Avrupa ülkelerinde listeriozis görülme sıklığının 1 ila 7 vaka/milyon/yıl daha az olduğu tahmin edilmektedir (127).Dünya çapında listeriozis vakalarını azaltmak için pek çok önlem alınmış olmasına karşın son dönemlerde özellikle Almanya ve İngiltere’de hastalık insidensinin arttığına yönelik raporlar yayınlanmaktadır.

En önemli gıda kaynaklı patojenler olan *Salmonella* ve *Campylobacter* ile karşılaştırıldığında listeriozis insidensi daha düşüktür. Amerika Birleşik Devletleri’nde 1996 ve 2000 yılları arasında gıdalarda *L. monocytogenes* kontaminasyonu tesbiti nedeni ile %60’dan fazla geri toplama işlemi gerçekleşmiştir (128). Dolayısıyla *L. monocytogenes* kontaminasyonunun halk sağlığı açısından, gıda üretimi, dünya üzerindeki gıda şirketlerine olan sosyoekonomik etkisi ve uluslararası ticarete olan etkiside önemlidir.

L. monocytogenes enfeksiyonları, genellikle kentsel popülasyonlarda hayvanlarla spesifik kontak olmadan görülmektedir. İnsan listeriozisi nin sezonluk olması da dikkat çekicidir. Vakalar, yaz sonu ve sonbahar aylarında pik yapmakta, buna karşın hayvanlarda ise listeriozisin göze çarpan pik dönemi ilkbahardır. İnkübasyon periyodu insanlarda kontamine gıdaların tüketiminden hastalığın klinik tanısına kadar bireysel olarak değişmekle birlikte 1-90 gün arasındadır, ortalama intrauterin enfeksiyon 30 gün civarındadır (10). Genellikle vakalar sporadik olarak görülür, bununla birlikte gıda kaynaklı salgınlar dünya genelinde özellikle Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde kaydedilmiştir (10,45,53,129-131).

Listeria spp. her ortamda (çevre) içerisinde taze su, atıksu, çamur, toprak-özellikle bitkisel materyallerin çürüyüp parçalandığı – doğal ortamlardan izole edilebilmektedir (121).

Listeria soylarının orjinlerini konu alan çalışmalarda, *Listeria* türlerinin çevrede geniş coğrafik dağılımı gösterdikleri ve doğal kaynaklarının çevre olduğu kabul edilmiştir (132).

Listeria spp. doğada çok geniş alana dağılmıştır bu yüzden gıdaların kontaminasyonu tarlada hasattan önce meydana gelebilmektedir, özellikle taze ürünlerin toprakla teması (salatalık ve diğer sebzeler) esnasında gerçekleşebilmektedir.

Hayvanlar aleminde (memeliler, kanatlılar, balıklar ve omurgasızlar) *Listeria* spp. nin hastalık hali oluşturmada dışkı ile taşındığı ve bu yüzden hayvan dışkılarıyla kontamine ortamların sıklıkla bu bakteriyi içerdiği bildirilmiştir. Bu yüzden insan gıdası olarak kullanılan hayvanlar için düzenlenmiş çevrelerde *Listeria* spp. bulunması pek sürpriz olmamalıdır. Bir çalışmada Avusturya’da bulunan ineklerin ortamından alınan saman örneklerinin %42-87’sinde bu bakterilerin bulunduğu bildirilmiştir (133). Mevsime bağlı olarak inek dışkıları ise % 5,3-45 oranında *Listeria* spp. içermektedir (134,135).

Silajla beslenen çiftlik hayvanları ile listeriozis gelişimi arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Özellikle ortam pH’sı 5,5’den yüksek olduğu zaman ve silaj düşük kalitede ise ya da uzun süre aerobik faaliyete maruz kalmış ise önemlidir (119). Modern uygulamalarda silaj üretiminde kullanılan büyük polietilen kaplı paketlerde (büyük balyalar) *L. monocytogenes* gelişimi geleneksel yığınlara göre daha kolay olmaktadır, bu da İngiltere’de çiftlik hayvanlarında listeriozis insidensinin artmasından kolayca anlaşılabilmektedir (118).

Tablo 2.5. Listeriozis bulaşması ile ilişkili gıda ürünleri.

Süt Ürünleri	Et	Balık	Sebze Meyve	Kompleks gıdalar
Yumuşak peynir	Piştirilmiş tavuk	Balıklar	Lahana salatası	Sandviç
Çiğ süt	Hindi Frankfurter	Kabuklu deniz ürünleri	Tuzlanmış mantar	
Dondurma-yumuşak kaymak	Sucuk-sosis	karides	Doğranmış meyveler	
Tereyağı	Kelle ve domuz kıyması	Tütsülenmiş balık	Çiğ sebzeler	
			Turşu zeytin	

Düşük kaliteli silajlarla besleme, insan gıdası olan hayvanlardaki enfeksiyon ve özellikle kış beslemesinin son haftalarında çiğ sütün kontaminasyonu insanlar için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (136). İsviçre’de bulunan sığırlar için mısır silajı *Listeria* spp. transmisyonu için en büyük risk olarak tanımlanırken, ot silajı bu tanımlamanın

içerisinde bulunmamaktadır (137). Sığırların kontamine yemlere oral olarak maruz kalması sonucu lokal meme içi enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (138-140).

Mastitis dışında, insan gıdası olmak üzere yetiştirilen hayvanlardaki sistemik enfeksiyonlar *L. monocytogenes*'in olasılık dışı olarak gıda zincirine girmesi sonucunu doğurmaktadır ki bu nedenle hasta hayvanlar tanı sonrası gıda üretiminden çıkarılmalıdır. Bununla birlikte bu hayvanlar ve çevre arasındaki yaygın çapraz kontaminasyon çiftlik gıda üretim sistemlerinde kontaminasyon meydana getirebileceği gibi ardından abortif listeriozis vakaları görülebilir (81).

Veteriner hekim ve çiftlik çalışanlarında meslek sonucu özellikle göz ya da deri enfeksiyonları halinde bulunan listeriozis, sığırlara geçerek sığır abortlarına neden olabilmektedir (122). Çiğ gıdalarda meydana gelen *L. monocytogenes* kontaminasyonunun nasıl olduğu hakkındaki yaygın kanı sağımhane yada kesimhanelerdeki zayıf hijyen dolayısı ile olduğu yolundadır. Sanaa ve ark. (141) çiğ sütte kontaminasyona neden olabilecek pek çok faktör tanımlamıştır (düşük kaliteli silaj ile besleme, ineklerin temiz olmaması, sıklıkla gezinme alanında temizlenmeleri ve uygunsuz bezlerle temizlenmeleri gibi).

Hasat sonrası, gıdalar ve gıda bileşenleri, gıda üretim prosesinin herhangi bir evresinde, perakende satış yerleri ve tüketicinin evinde kontamine olabilir, bununla birlikte listeriozis salgınlarına ait deliller kontaminasyonun önemli kaynağının gıda üretimi yapılan ortamlar olduğunu ortaya koymuştur.

Listeria'lar, özellikle hijyen bariyerleri yetersiz olan gıda üretim işletmelerine, çevreden bulaşarak, spesifik alanlara uzun süre kalıcı olarak yerleşirler. Kontaminasyonun en önemli sebebi *Listeria* kontaminasyonunun mutlak olarak engellenmesi gereken işletme alanlarında (örneğin peynir üretim işletmesinde olgunlaştırma ünitesi) yeterli koruma önlemlerinin alınmamasından kaynaklanmaktadır.

Süt üreten işletmelerde çiğ süt tanklarından alınan örneklerde *L. monocytogenes* kontaminasyon oranının düşük olduğu bildirilmiştir (142). Doğru pastörizasyon *L. monocytogenes* eradikasyonu için en güvenilir metoddur. Bununla birlikte, tehlike; işlem zincirinin sonraki aşamalarında sütün ya da süt ürünlerinin yeniden kontamine olması ya da iyi pastörize edilmemiş süt kullanımı ile yeniden ortaya çıkmaktadır.

L. monocytogenes'in tek türü ile kontaminasyon ortamı yıllar boyu etkileyebilmektedir (143). Kontaminasyon oranı, çiğ et ve et ürünleri ve benzerlerinde, süthanelerde bulunanlardan daha fazla olduğu bildirilmiştir (113). *L. monocytogenes*'in çevre koşullarına olan direnci genetik olarak tam anlaşılamamıştır, bununla birlikte model sistemlerde paslanmaz çelik ve inorganik materyallere bağlı olarak sanitizere karşı olan direncin arttığı bildirilmiştir (69,144-146).

2.9.2. Minimum Enfeksiyon Dozu

Listeriozis için minimal enfeksiyon dozu bireyler arasına farklılıklar göstermektedir. Bununla birlikte, genel olarak içerisinde 100 koloni oluşturan birim / gram (kob/gr) veya daha düşük miktarda bakteri bulunan gıda tüketildiğinde hastalık oluşturma düzeyinin oldukça düşük olduğu kabul edilmektedir. Bundan dolayı EC talimatı 2073/2005 *L. monocytogenes*'in, marketlerde bulunan yenmeye hazır gıdalarda şayet bu gıdalar, bakteri üremesini destekleyen bir ortam yaratmıyorsa ve son tüketim tarihinde de söz konusu gıdada etken sayısı 100 kob/g'ı geçmeyecek düzeydeyse bulunmasına izin vermektedir. Bununla birlikte, ABD ise 1980 lerden beri gıda proseslerinde *L. monocytogenes*'e sıfır tolerans uygulamaktadır. Enfeksiyon görülen gıdalarda, ortalama kontaminasyon seviyesi çoğu vakalarda 102–106 kob/ml/g düzeyindedir (147).

2.9.3. İnsanlarda Listeriozis

Listeria spp. güçlü bakterilerdir, pH, sıcaklık ve tuz koşulu gibi gıda üretim prosesinde uygulanan pek çok muameleye dayanabilecek yetenektedirler ve sıklıkla insanlar kontamine olan bu gıdaları tüketerek enfekte olurlar. Bazen insan midesinde, *L. monocytogenes* asidik ortamın üstesinden gelerek bağırsaklara geçer, ve vücudun diğer kısımlarına göç ederler (ör, karaciğer, dalak, beyin, fetüs ve plasentaya ait dokular gibi), burada üremeye devam ederler ve konakçıda çeşitli reaksiyonları ve klinik hastalıkları teşvik ederler. Sonuç olarak, hamile kadınlarda, listeriozis hafif grip benzeri semptomlar oluşturabilir (ateş, baş ağrısı gibi) ya da belirti vermeksizin kalabilir, sıklıkla enfekte fetüs, düşük olur (abort) ya da bebeklik döneminde neonatal listeriozis görülür (11).

Gebe olmayan ve yeterli bağışıklığı bulunmayan bireylerde, menenjit ve meningoensefalit gelişebilir. *L. monocytogenes*' in yol açtığı listeriozis yüksek oranda mortaliteye sahip olduğu bildirilmiştir (yaklaşık %30) (11) *L. monocytogenes* enfeksiyonları genellikle sporadiktir, epidemik listeriozis salgınları zaman zaman meydana gelmektedir. İnsan listeriozisinin sezonluk olmasına rağmen hazır gıdalardan

ise bakterinin sezona bağılı olmadan izole edildiğı bildirilmiştir (148). *L. monocytogenes*'in kışın kedi balıklarından, sıklıkla izole edildiğı bildirilmektedir (98).

Hamile kadınlarda, %17-24 arasında klinik listeriozis görülebilmektedir ve bu listeriozisli hamile kadınların önemli kısmında (%28'den fazla) spontan abort ya da ölü doğum (gebelikte 16-35 haftalar arasında fetal kayıp olmakta) görülebilmektedir (109). Epidemik ve sporadik listeriozis vakalarının toplam bebek ölümlerinin %20-30'sinden sorumlu tutulduğu bildirilmiştir. Enfekte anneler, belirti göstermeyebilirler ya da grip benzeri hastalığa sahip olabilirler, nadiren merkezi sinir sistemi hastalıkları gelişir. ABD'de yapılan bir çalışmada ise *L. monocytogenes* serotip 4b hamile kadınlardaki listeriozisin ortak nedeni olarak gösterilmektedir (109) .

Bebeklerde doğumu izleyen ilk 48 saatte hayatta kalan listeriozisli bebeklerde sıklıkla, ağır neonatal sepsis ve menenjit gelişir, bu durum granulomatosis infantiseptica olarak bilinir, yaygın granülomlardan oluşmuş mikroapseler ile karakterizedir ve mortalite oranı yüksektir (yaklaşık %30) (11).

Danimarka'da, 1994-2003 yılları arasında bildirilen toplam 299 listeriozis vakasında hastaların %50'sinin 70 yaşının üzerinde olduğu ve %21'inin hastalık yüzünden yaşamını kaybettiğı bildirilmiştir (149).

Finlandiya'da 1995-2004 yılları arasındaki listeriozisli tüm hastaların %57'sinin 65 yaşından büyük olduğu bildirilmiştir (150).

ABD'de yapılan bir araştırmada ise, orta yaşlılarda gebelik ile ilgili olmayan listeriozis vakalarının (141 vaka) da yaş ortalamasının 71 (1-100 aralığında) olduğu bildirilmiştir (109). Pek çok yaşlı hastanın sıklıkla bağışıklık sistemini baskılayan şartlar altında olduğu bildirilmiştir (151) .

2.10. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE *L. MONOCYTOGENES*

2.10.1. Sütlerde *L. monocytogenes*

Listeria spp, ve *L. monocytogenes* çiğ süt tanklarında ve işletme süt örneklerinde genel olarak az bulunmaktadır. (142,152). Yapılan bir çalışmada 500 çiğ süt örneğinin %2,2'sinde (11) *Listeria* spp. tespit edildiğı bildirilmiştir (sekiz *L. monocytogenes* ve üç *L. innocua*) (152).

Jararao ve ark. (153) Pensilvanya’da 248 tanktan aldıkları süt örneklerini incelemiş ve örneklerin %2,2’sinde *L. monocytogenes* tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada İsviçre’de 1990-1999 yılları arasında süt işletmelerinden alınan 76271 örnekten 3722 (%4,9)’sinde *L. monocytogenes* tanımlanmıştır (154).

Hofer ve ark. (76), Brezilya’da izole ettikleri 228 *Listeria* izolatının, 70’inin *L. monocytogenes*, 138’inin *L. innocua*, 19’unun *L. seeligeri*, ve 1’inin *L. welshimeri* ile kontamine olduğunu bildirmişler, 70 *L. monocytogenes* izolatının ise 1/2a (40), 1/2b (10), 1/2c (1), 4b (14), ve 4e (1) serovarlarını kapsadığını rapor etmişlerdir.

Pastörize sütün, Boston’da 1983 yılında 49 listeriozis vakasından sorumlu olduğu (7), çikolata sütün ise 1994’te 45 *Listeria* bağlantılı gastroenteritis vakasına karıştığı bildirilmiştir (155).

Van ve çevresinden toplanan 250 çiğ süt ve 250 otlu peynir örneği *Listeria* yönünden incelenmiş, süt örneklerinden 6’sının (%2,40) *Listeria* spp. yönünden pozitif olduğu tespit edilmiş, izolatların ise 3’ünün (%1,20) *L. monocytogenes*, 1’inin (%0,40) *L. innocua* ve 1’inin (%0,40) de *L. welshimeri* olduğu ortaya konmuştur. Otlı peynir örneklerinden 13 adedi (%5,11) *Listeria* yönünden pozitif bulunurken, izole edilen suşlardan 10 adedi (%3,93) *L. monocytogenes*, 1 adedi (%0,39) *L. ivanovii*, 1 adedi (%0,39) *L. innocua* ve 1 adedi (%0,39) de *L. welshimeri* olarak tanımlanmıştır (156).

Uraz ve ark. (157) 211 çiğ süt örneğini *L. monocytogenes* varlığı yönünden incelemişler, araştırmada çiğ sütlerden 2’sinde (%0,94) *L. monocytogenes* izolasyonu gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir.

2.10.2. Peynirlerde *L. monocytogenes*

Genellikle peynir tüketimine bağlı listeriozis enfeksiyonlarında *L. monocytogenes*’in ürüne, peynir yapımı, olgunlaştırılması, depolanması ve pazarlanması aşamalarında bulaşması sonucu şekillendiği ve önemli sağlık riskleri oluşturduğu belirtilmektedir (158-161). Etkenin süt ürünlerine sıklıkla pastörizasyon sonrası bulaştığı, süt işletmelerine ise çiğ süt yoluyla girdiği belirtilmektedir.

Çiftlikte, etkenin süte; kontamine sağımlar ekipmanı, gübre ve altlık materyaliyle bulaşabileceği (162), insanlarda meydana gelen listeriozis olgularının ise genel olarak çiğ süt ve yetersiz pastörizasyon işlemi görmüş süttten üretilen ürün tüketimine bağlı şekillendiği belirtilmektedir (163-165).

Yapılan birçok çalışmada başta yumuşak peynirler (166-170) olmak üzere farklı peynir tiplerinin (171-173) *L. monocytogenes* ile değişik düzeylerde kontamine olduğu belirlenmiştir.

Peynir yapımında starter kültür kullanılıp kullanılmamasının ve peynirin 5.5'in üzerinde pH değerine sahip olmasının *L. monocytogenes*'in peynirde üreme potansiyelini önemli derecede etkilediği belirtilmektedir(174).

Yapılan bir çalışmada peyniri yıkamada kullanılan su örneklerinin yüksek oranda pozitif (%9,5), sonuç verdiği, bunu %5.0'lik oran ile peynir yüzeyine örtülen örtülerin takip ettiği belirtilmektedir. Da Silva ve ark. (172), 103 peynir örneğini içeren çalışmalarında analiz edilen örneklerden 11'inde (%10,68) *L. monocytogenes*, 13'ünde (%12,62) *L. innocua*, 6'sında (%5,83) *L. grayi* ve 1'inde (%0,97) *L. welshimeri* izole edildiğini bildirmişlerdir.

1985 yılında Kaliforniya'da Meksika tipi peynir tüketimi, 142 adet epidemik listeriozis vakasına sebep olmuş (9), İsviçre'de, Vacherin Mont d'Or peynir 122 listeriozis vakasına neden olmuş (130) ve Fransa'da 1995-1997 yılları arasında yumuşak peynirin iki listeriozis epidemisine (toplam 51 vaka) neden olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada toplam 1708 süt ve süt ürünü örneğinin 105'inin (%6,1) *Listeria* türleri ile kontamine olduğu, bunlardan 54'ünün (%3) *L. monocytogenes* olarak tanımlanmış, peynir örneklerinin sadece birinin 10^3 kob/g düzeyinde *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirtilmektedir (175).

Yumuşak peynir, tereyağı ve çiğ süt örneklerinde *Listeria* türlerinin insidensinin araştırıldığı bir çalışmada 21 yumuşak peynir örneğinin 2'si *L. monocytogenes* ve *L. innocua* ile kontamine bulunmuştur (168).

İspanya'da bir peynir işletmesinden alınan toplam 311 örneğin 46'sının *Listeria* türleri ile kontamine olduğu, çiğ süt örneklerinin ise %20'sinin *Listeria* spp. yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir. *Listeria* türlerine üretim ve depolama odalarından alınan yüzey örneklerinde de rastlandığı belirtilmektedir (176).

Bereksi ve ark. (2002), pH 5.0 ve %10'luk NaCl'nin güçlü sinerjik etkisine maruz kalan bazı *L. monocytogenes* suşlarının üreme yeteneğini sürdürdüğünü, *L. monocytogenes*'in yumuşak peynirler gibi tuzlu ve asidik gıdalarda ciddi tehlikeler yaratabileceğini vurgulamaktadırlar (177).

Listeria enfeksiyonlarında kritik gıdalar olarak nitelendirilen yumuşak peynirler üzerine yapılan bir çalışmada, 222 örneğin 23'ünde *L. monocytogenes* varlığı ortaya konmuştur (169).

İngiltere'de yürütülen bir çalışma, pastörize veya pastörize edilmemiş sütlerden üretilen yumuşak-olgunlaştırılmış peynirlerin %8,2'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen izolatların 1/2 (%58) veya 4b serotipine ait olduğu belirlenmiştir (167).

Ennahar ve ark. (178), tarafından yapılan bir çalışma, *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu tespit edilen yumuşak ve kırmızı peynirlerin (örneğin Port Salut) kontaminasyon düzeyinin yaklaşık 10^5 kob/g düzeyinde olduğunu ortaya koymuştur. Yumuşak ve küflü peynirlerde ürünün son pH'sının (yüzeyde 5.3-7.5, merkezde 5.0-7.3) *L. monocytogenes* için inhibitörük etki yaratmayabileceği belirtilmektedir (178).

İsveç'te satışa sunulan 333 peynir örneğinin %6'sının *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu ortaya konmuştur. Çiğ süttten yapılan peynirlerin %42'sinin, ısı işlemi görmüş peynirlerin ise %2'sinin söz konusu etkenle kontamine olduğu, peynirlerin kontaminasyon düzeylerinin $<1.0 \times 10^2$ ila 1.0×10^5 kob/g arasında değiştiği, izole edilen iki izolatın 4b serogrubuna ait olmasının haricinde diğer bütün izolatların 1/2 serogrubuna ait olduğu belirtilmektedir (171).

İtalya'nın farklı bölgelerinde satışa sunulan farklı tiplerdeki yumuşak peynirlerde *L. monocytogenes* ve *Listeria* türlerinin araştırıldığı bir çalışmada toplam 164 örneğin 8'inin (%4,9) *L. monocytogenes* ile, 36'sının (%22) ise başta *L. innocua* olmak üzere diğer *Listeria* türleri ile kontamine olduğu belirlenmiştir (170).

Rio de Janeiro'da satışa sunulan peynirlerde *Listeria* türlerinin insidensinin araştırıldığı bir çalışmada, farklı peynir tiplerine ait toplam 103 peynir örneğinden 11'inin *L. monocytogenes* (% 10,68), 13'ünün *L. innocua* (% 12,62), 6'sının *L. grayi* (% 5,83), ve 1'inin *L. welshimeri* (% 0.97) ile kontamine olduğu ortaya konmuştur (172).

Copes ve ark. (166), topladıkları 35 yumuşak peynir örneğinin % 11.4'ünden *L. monocytogenes* izole ettiklerini belirtmişlerdir (166).

Erol ve Şireli (179), Ankara'da satışa sunulan toplam 510 süt ve süt ürününde *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeylerini araştırdıkları çalışmalarında süt

örneklerinin %3,9, süt ürünü örneklerinin ise %1,2'sinin *L. monocytogenes* ve *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir (179).

Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde süt ve süt ürünlerinde *L. monocytogenes*'in varlığına ilişkin olarak tespit edilmiş olan limitler tablo 2.6.'da belirtilmiştir.

Tablo 2.6. Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (Tebliğ No:2009/6) göre süt ve süt ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığına ilişkin limitler (180).

Gıda	Mikroorganizma	Numune alma planı		Limitler ⁽¹⁾	
		n	c	m	M
Süt, süt ürünleri ve süt bazlı ürünler					
Krema (pastörize)	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Kaymak	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Süttozu ve krema tozu, dondurma için toz karışımlar, peyniraltı suyu tozu, yayıkaltı suyu tozu ve süt bazlı toz ürünler, kazein ve kazeinat	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Peynir (eritme peynir hariç diğer tüm peynirler)	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Eritme peynirler ve eritme peynir ürünleri	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Koyulaştırılmış süt	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Dondurma ve sütlü buz	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	

⁽¹⁾ : Aksi belirtilmedikçe limit kob/g-mL olarak değerlendirilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

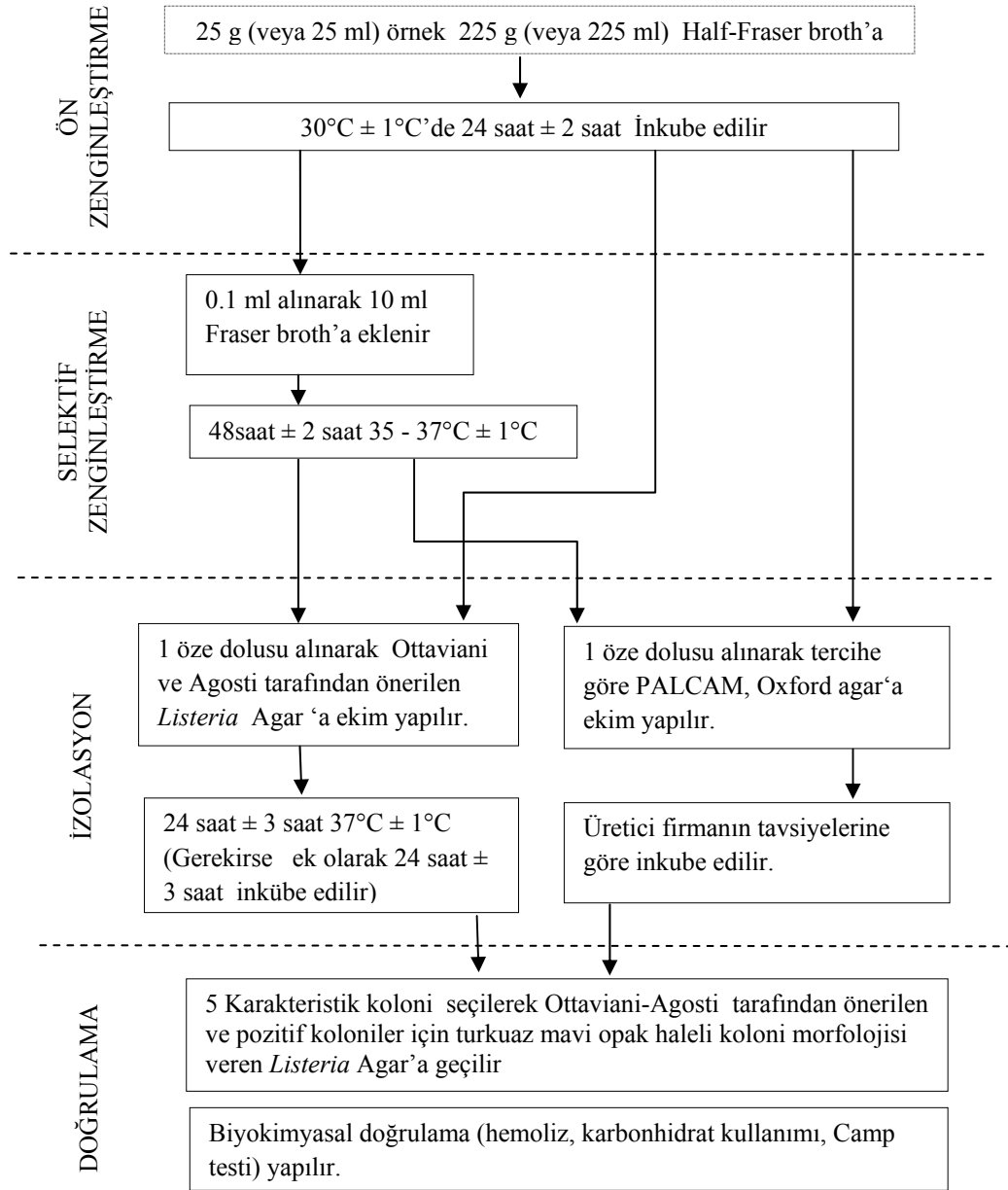
3.1. GEREÇ

Çalışmada farklı halk pazarlarında ve satış yerlerinde açıkta satışa sunulan beş farklı peynir tipine ait toplam 50 adet lokal olarak üretilmiş peynir örneği materyal olarak kullanıldı. Peynir örnekleri çömlük (22/50), tel peyniri (7/50), çökelek (9/50), salamuralı kalıp halindeki köy peynirleri (7/50) ve lor (5/50) peyniri olmak üzere toplam 29'u çiğ süttten elde edilmiş(%58, çömlük ve salamura kalıp halinde köy peyniri) ve 21'i geleneksel yapım işlemi gereği ısı işlemi görmüş (%42, tel peyniri, çökelek ve lor peynirleri) peynirlerden oluşmaktaydı. Söz konusu peynirler Kayseri halkı tarafından sıklıkla beğenilerek tüketildiği ve genellikle herhangi bir ilave işlem uygulanmadan tüketildiği için seçildi.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Kültür

Aseptik olarak alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örneklerde *L. monocytogenes*'in varlığı şekil 3.1.'de görüntülen ISO 11290-1/A1- 2004 metodu kullanılarak araştırıldı.



Şekil 3.1. Horizontal yöntemle *L. monocytogenes* izolasyonu.ISO11290-1/A1-2004 (181).

3.2.1.1. Zenginleştirme ve Biyokimyasal Testler

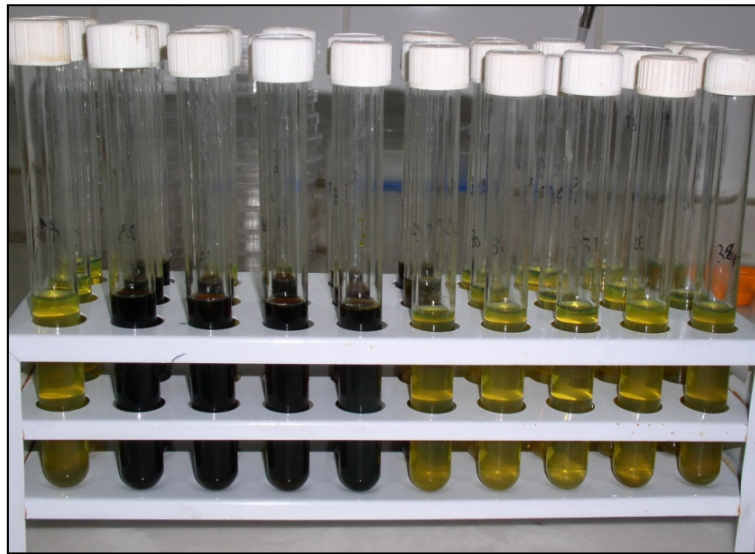
ISO 11290-1/A1-2004 metodu çerçevesinde 25g gıda örneği 225 ml ½ konsantrasyonda (inhibitörleri yarım konsantrasyonda içeren) half Fraser broth (MERCK Fraser *Listeria* Selektiv Anreicherungs Bouillon (Basis) 1.10398.0500, inhibitör Art.Nr.1.10399) besiyerinde ön zenginleştirme amacı ile 30 °C 'da 24 saat süre ile inkübe edilerek ön

zenginleştirme işlemi yapıldı. Şekil 3.2.'de ön zenginleştirme aşaması görüntülenmektedir.



Şekil 3.2. Half fraser broth

Ön zenginleştirme solusyonundan 0.1 ml alınarak 10'ar ml'lik tüplere tam kuvvette hazırlanan Fraser brothlara (inhibitörleri normal konsantrasyonda içeren) aktarıldı. Fraser brothlar 37⁰C'de 2 gün inkübe edilerek selektif zenginleştirme aşaması tüplerde gerçekleştirildi. Şekil 3.3.'de Selektif zenginleştirme amacıyla kullanılan Fraser Broth'lar gösterilmektedir.



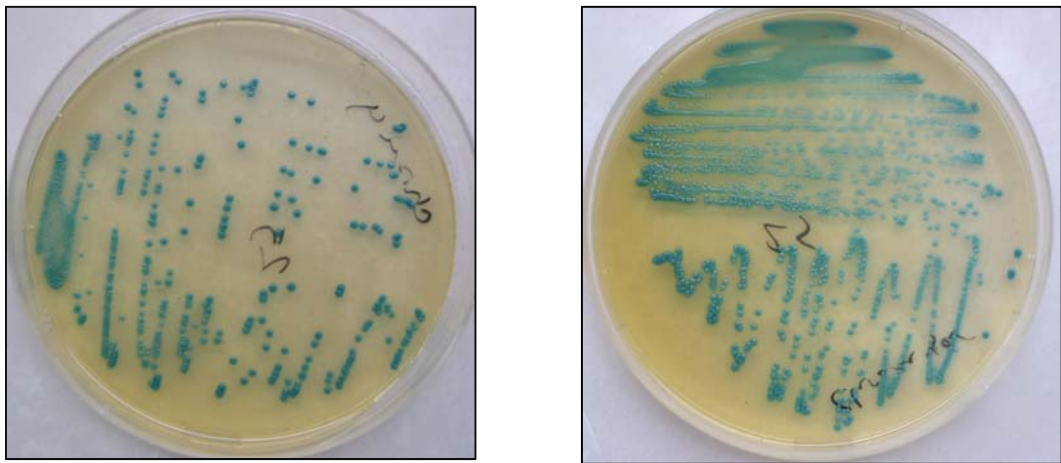
Şekil3.3. Fraser broth

Daha sonra brothlardan öze yardımıyla polymyxin - acriflavine - lithium chloride - ceftazidime - esculin – mannitol içeren Oxford agar besiyerlerine (Oxford *Listeria* Selektiv Agar (Basis) 1.07004.0500, inhibitör Art.Nr.1.07006) çizme yöntemiyle ekim yapılarak 37⁰C 'de 24 saat inkübe edildi. Şekil 3.4.'de Oxford Agarda şüpheli koloniler gösterilmektedir.



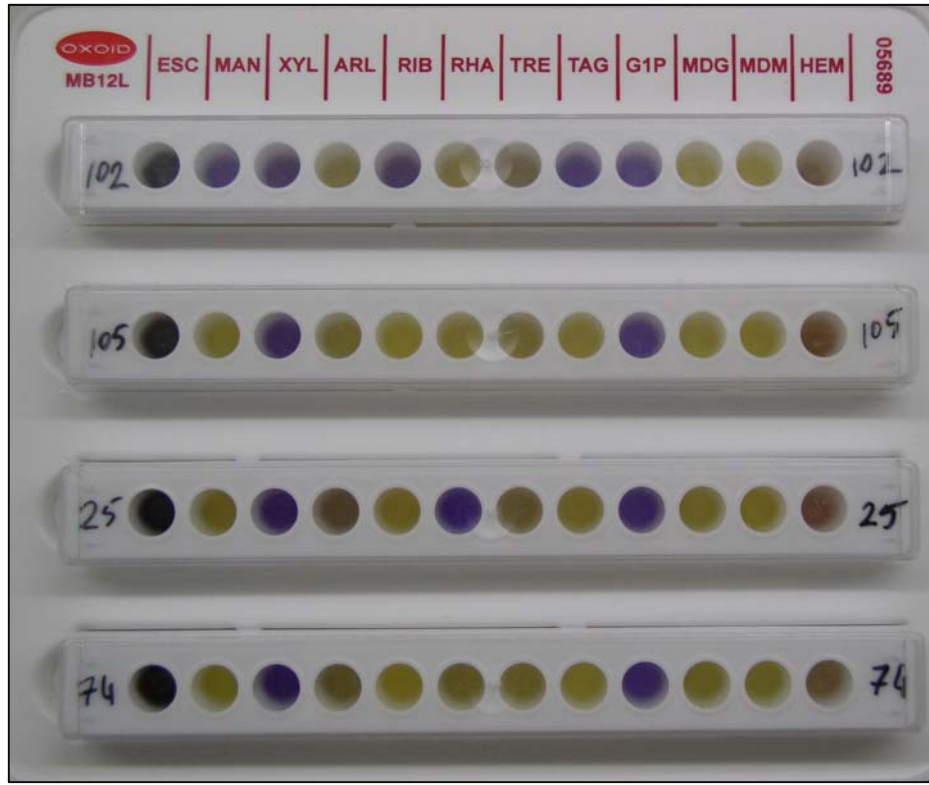
Şekil 3.4. Oxford *Listeria* Selektiv Agar

İnkübasyonun 24 ile 48. saatlerinde tipik en az 5 koloni *Listeria* Chrome Agar'a (Oxoid CM 1080 Brilliance *Listeria* Agar Base, inhibitör SR 0228E ve SR0227E) öze yardımıyla çizme plak tekniği ile geçildi. Şekil 3.5.'de Şüpheli kolonilerin Brilliance Agar'daki görüntüleri yer almaktadır.



Şekil 3.5. *Listeria* Chrome Agar

Söz konusu agarda mavi-turkuaz renk opak haleli koloniler şüpheli kabul edilerek daha sonra Microbact test kitinde (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* IDENTIFICATION SYSTEM MB1128 OXOID) biyokimyasal testler açısından analiz edilmek üzere gliserinli TSA içeren boncuklu cryobank tüplerine aktarılarak -20⁰C’de muhafazaya alındı. Çalışma sonunda elde edilen izolatlar çözündürülüp zenginleştirilerek Microbact test kitinde biyokimyasal özellikleri (Gram boyama +, Katalaz +, Oksidaz -SIM Motilite +, Beta hemoliz +, CAMP Test *S.aureus*/*R. equi* +/-, Mannitol -, L-Ramnoz +, D-Ksiloz -, Salisin +, Dulsit -, MR/VP +/+, Nitrat Red. -)açısından değerlendirildi.



Şekil 3.6. Microbact test kiti

4. BULGULAR

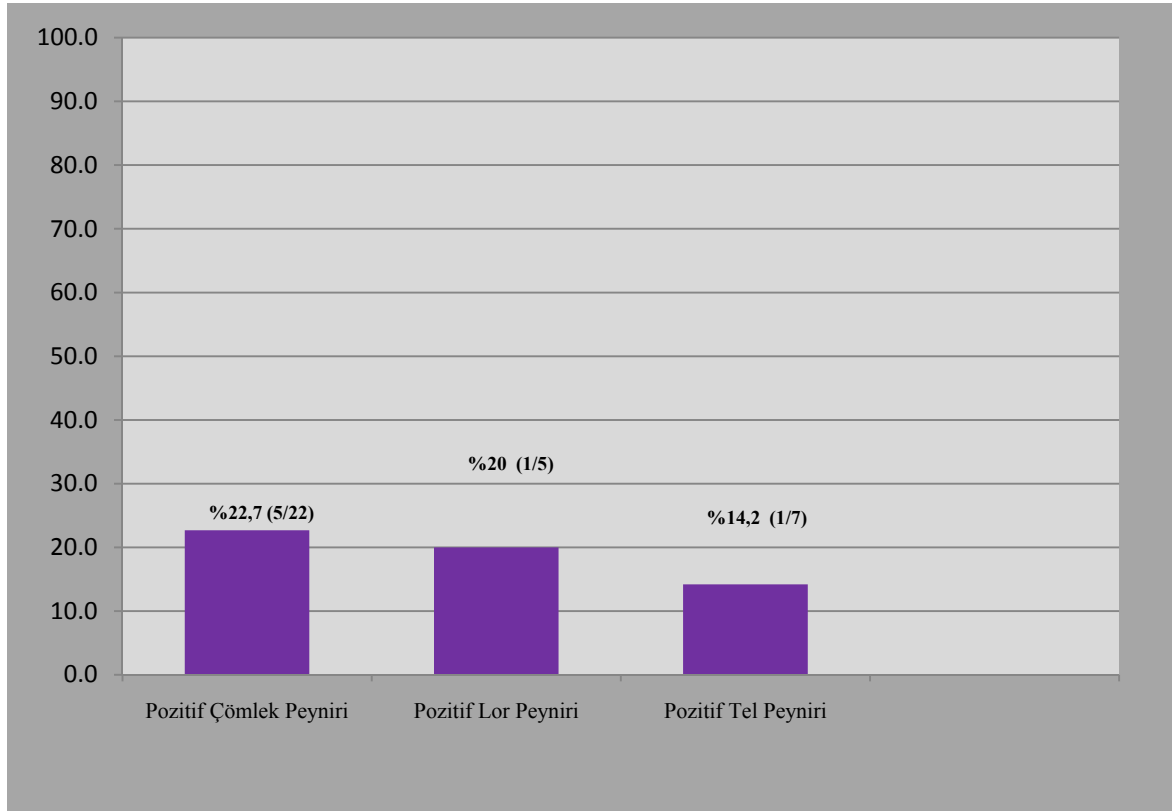
Bu çalışmada, Kayseri’de çeşitli semt pazarları, halk pazarları ve şarküteri dükkanlarında açık olarak tüketime sunulan 50 adet lokal peynir (çömlek peyniri, tel peynir, çökelek, salamura köy peyniri ve lor peyniri) örneğinde *L. monocytogenes* varlığı kültür teknikleri kullanılarak analiz edildi.

Materyaller, çiğ süttten (29/50) ve ısı işlemi görmüş (21/50) peynirlerden oluşturuldu. Çiğ süttten yapılmış olan peynirleri temsilen, 22 çömlek peynir örneğinden 5’inin (%22,7) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu saptanırken, 7 adet salamura kalıp halindeki köy peyniri örneğinin *L. monocytogenes* içermediği tespit edilmiştir. Çiğ süttten yapılan peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının %17,2 olduğu tespit edilmiştir (5/29). Geleneksel yapım tekniği gereği ısı işlemi görmüş peynirlerden 7 adet tel peynir örneğinin 1’i (%14,2) ve 5 lor peyniri örneğinin 1’i(%20) *L. monocytogenes* ile kontamine bulunurken, 9 adet çökelek peynir örneğinin hiç birinden *L. monocytogenes* izole edilememiştir. Isı işlemi görmüş peynirlerin %9,5’inin söz konusu etkenle kontamine olduğu tespit edilmiştir (2/21). Dolayısıyla çiğ süttten yapılan peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının (%17,2), ısı işlemi görmüş peynirlerden (%9.5) daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. Genel olarak incelenen örneklerin %14’ünün *L. monocytogenes* pozitif olduğu belirlenmiştir.

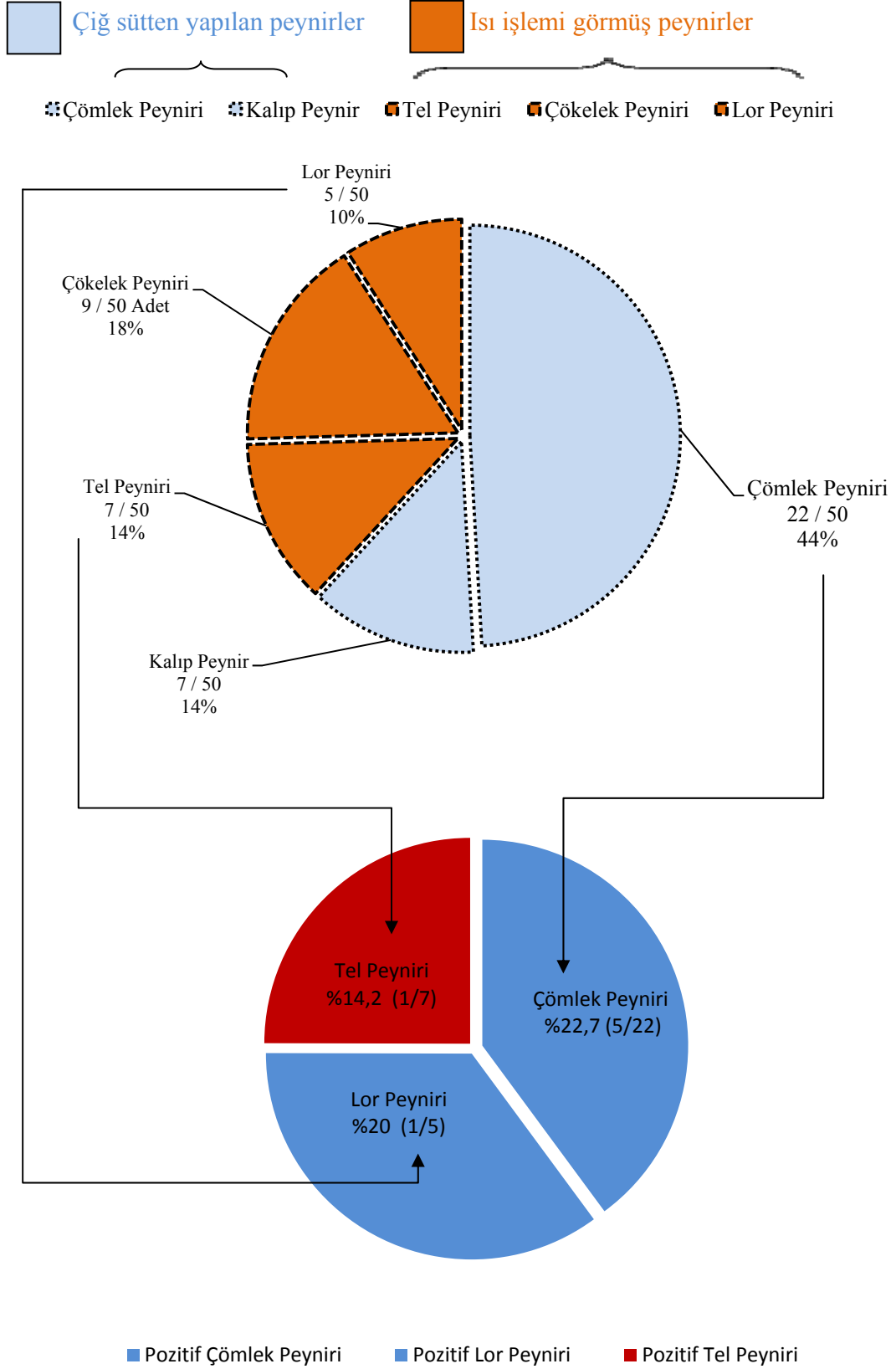
L. monocytogenes ile kontaminasyon oranı açısından en yüksek oran çömlek peynirlerinde (5/22 ve %22,7) bulunurken bunu lor (1/5 ve %20) ve tel peynirleri (1/7 ve %14,2) takip etmiştir. Öte yandan toplanan çökelek ve salamura köy tipi kalıp peynirlerinde *L. monocytogenes* bulunamamıştır.

Tablo 4.1. *L. monocytogenes* pozitif peynir örneklerinin Peynir tiplerine göre dağılımı(%).

	Çiğ süttten yapılan peynirler		Isı işleme görmüş peynirler		
	Çömlek Peyniri	Kalp Peyniri	Çökelek Peyniri	Tel Peyniri	Lor Peyniri
n/N	5/22	0/7	0/9	1/7	1/5
%	%22,7	-	-	%14,2	%20

**Şekil 4.1.** *L. monocytogenes* pozitif peynir örneklerinin dağılımı(%).

Peynir Örneklerinin Dağılımları n=50



Şekil 4.2. Peynir örneklerinin dağılımı n=50 dağılımı (%).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada analiz edilen beş farklı peynir tipinden en yüksek kontaminasyon yüzdesi çömlek peynirlerinde bulunmuştur (%22,7). Söz konusu peynir tipinde belirlenen bu yüksek oran muhtemelen bu ev tipi peynirlerin çiğ süttten ve oldukça yetersiz hijyenik koşullar altında üretilerek açık şekilde pazarlarda satışa sunulmasından ve gerek üretim gerek de pazarlama aşamasında herhangi bir denetleme işlemine maruz kalmamasından kaynaklanmaktadır. Özellikle civar köylerde bireysel olarak süt ineği yetiştiriciliği yapan köylüler tarafından ev ortamında yapılarak satışa sunulan çömlek peynirleri, geleneksel yöntemlerle yapıldığı için bu peynirlerde sabit bir pH, tuz, a_w ve kuru madde oranından bahsetmek mümkün olamamaktadır. Söz konusu peynirler çiğ süttten, herhangi bir starter kültür kullanılmaksızın, peynir mayası ve kendi mikrobiyel floralarıyla üretildikleri için son derece lezzetli olmakla birlikte üretim depolama ve pazarlama aşamasında etkenin üremesini engelleyecek belli bir uygulama olmadığı için olgunlaşma ve raf ömrü periyodunda da etkenin canlı kalabilme hatta üreyebilme potansiyeli halk sağlığı açısından önemli bir risk olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışma kapsamında lor peynirlerinde %20'lik *L. monocytogenes* kontaminasyon yüzdesi tespit edildi. Lor peynirleri peynir altı suyunun kaynamasıyla elde edilen randımanı oldukça düşük ama protein değeri oldukça yüksek olan süttün suda eriyebilen protein unsurlarının ısıyla denatürasyonu sonucu elde edilen peynirlerdir. Dolayısıyla yapım tekniği gereği pastörizasyon parametrelerinin de üzerinde ısı işlemi görmektedir. Buna rağmen tespit edilen bu oran ısı işleminin ardından üretim sonrası

kontaminasyonları, üretim ve muhafaza işlemlerinin oldukça yetersiz koşullar altında yürütüldüğünü ortaya koymaktadır.

Çalışma çerçevesinde *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranı açısından üçüncü sırada %14,2 ile tel peynirler yer almaktadır. Bu peynirler de geleneksel yöntemlerle yapılarak benzer koşullar altında halk pazarlarında, kontaminasyon açısından herhangi bir önlem alınmaksızın, açık olarak satışa sunulmaktadır. Tel peynirler yapım işlemi gereği belli bir ısı işlemi görmüş olmasına karşın yüksek düzeylerde kontamine bulunması ısı işleminin yetersizliğini, yine üretim sonrası kontaminasyonları, üretim ve muhafaza işlemlerinin oldukça yetersiz koşullar altında yürütüldüğünü ortaya koymaktadır.

Çalışmada hem ısı işlemi görmüş hem de görmemiş peynirlerdeki yüksek kontaminasyon oranları, söz konusu peynirlerin, Farber ve ark. (182) ile Rørvik ve Yndestad (183) tarafından da vurgulandığı üzere, satış yerlerinde kros kontaminasyona uğramış olmalarını da akla getirmektedir. Nitekim örneklerin satın alma aşamasında, çoğu yerde farklı peynirlerin aynı aletle alınarak tartıldığı dolayısıyla kros kontaminasyon riskinin oldukça yüksek olduğu dikkat çekmiştir. Yine satışa sunum aşamasında peynirlerin muhafazasına ilişkin herhangi bir önlem(soğutma, üzerini kapama, uygun saklama kaplarında muhafaza etme veya uygun materyallerle ambalajlama gibi) alınmadığı da vurgulanması gereken bir diğer noktadır.

Bu çalışmada tuzlu kalıp köy peynirlerinden ve çökelek peynirlerinden *L. monocytogenes* izole edilememiştir.

Bu çalışmada incelenen tüm peynirlerde *L. monocytogenes* kontaminasyon oranı %14 olarak belirlenirken yumuşak ve yarı sert peynirlerde *L. monocytogenes* varlığını belirlemek amacıyla yapılan diğer bazı çalışmalarda kontaminasyon oranı %0.5 (182), %1,24 -%1,8 (184), %2,6 (185), %3,4 (186), %6,6 (187), %10 (170), %11 (183) , %15 (188), %6 (171) olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada çiğ süttten yapılmış peynirlerdeki *L. monocytogenes* kontaminasyon oranı (%17,2), ısı işlemi görmüş peynirlerden (%9,5) daha fazla bulunsada ısı işlemi görmüş peynirlerdeki yüzdeler de oldukça fazla bulunmuştur. Bu sonuç ısı işlemi gördükten sonra şekillenen kontaminasyonların oldukça yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen bu veriler Loncarevic ve ark. (171) tarafından bulunan verilerle benzerlik göstermektedir. Buna karşın Breer ve Shopfer (187) çiğ ve pastörize süttten yapılmış

peynirlerin benzer oranlarda *L. monocytogenes* ile kontamine bulduklarını belirtmişlerdir (sırasıyla %13,9 ve %12,2).

L. monocytogenes çiğ sütte çok az miktarlarda olmuş veya pastörizasyon sonrası kontaminasyon düzeyi çok düşük olmuş olsa dahi peynirin olgunlaşması aşamasında veya uygun olmayan muhafaza ve pazarlama koşullarından dolayı son üründe sağlık riski oluşturabilecek yüksek düzeylere ulaşabilmektedir (172).

Çalışmada incelenen peynir tiplerinin hiç birinde starter kültür kullanılmamıştır. Da Silva ve ark. (172), starter kültür kullanımının *L. monocytogenes* varlığını tam olarak inhibe edemediğini, peynir yapım işlemlerinin belli düzeylerde var olan *Listeria* popülasyonunu artırıcı etki oluşturabileceğini belirtmişlerdir.

Bu peynirlerin işletme bazında kontrollü koşullar altında üretilerek olgunlaştırılması ve her ne kadar söz konusu etken buzdolabı sıcaklıklarında üreme yeteneğini sürdürse de soğuk zincir altında muhafaza edilerek satışa sunulması ve en önemlisi de halk pazarlarında açık olarak satışa sunulan bu peynirlerin denetim yetersizliği dolayısıyla hala kontrolsüz koşullar altında üretilerek satışa sunulmasının engellenmesi etkenin halk sağlığı açısından oluşturduğu risklerin önlenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu peynirlerin yapımında pastörize süt kullanılması, çiğ süttten yapılan peynirlerin ısı işlemi görmeden tüketilmemesi, peynirlerin üretim aşamalarında hijyen kurallarına uyulması bunun yanında oldukça beğenilerek tüketilen bu yumuşak ve yarı yumuşak peynirlerin hijyenik bir şekilde üretilibilmeleri için ilgili otoriteler tarafından klavuz niteliğinde el kitapçıkları yayınlanarak, üretici kitleye ulaştırılması gerekmektedir. Yine lokal peynir üreticilerinin söz konusu peynirlerin sadece *L. monocytogenes* açısından değil, diğer patojenler açısından da yarattığı sağlık riskleri hakkında bilgilendirilmesi için eğitim programları düzenlenmelidir.

Bu çalışma, Kayseri halk pazarlarında açıkta satışa sunulan hem çiğ süttten üretilen hem de ısı işlem görmüş peynirlerin *L. monocytogenes* varlığı bakımından, uygun olmayan koşullarda üretilerek satışa sunulduğunu dolayısıyla halk sağlığı açısından önemli bir tehlikenin mevcudiyetinin ortaya koymaktadır. Isı işleminin etkin bir şekilde uygulanması, işletme bazında kontrollü koşullar altında üretim yapılması, pastörizasyondan sonra kontaminasyonların engellenmesi ve gerekli denetim mekanizmalarının etkin bir şekilde uygulanması, peynirlerden kaynaklanan listeriozis olgularının önlenmesinde etkili olacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. 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: 407-439.
2. Pirie JHH. A new disease of veld rodents, "Tiger River Disease," Publ. S. Afr. Inst. Med. Res. 1927; 3: 163-186.
3. Pirie JHH. *Listeria*: Change of name for a genus of bacteria, Nature 1940; 145, 264.
4. Nyfeldt A. Etiologie de la mononucleose infectieuse, Compt. Rend. Soc. Biol. 1929; 101, 590.
5. Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and listeric infection, Bacteriol. Rev. 1966; 30, 309-382.
6. Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, et al. Epidemic listeriosis—Evidence for transmission by food, N. Engl. J. Med. 1983; 308, 203-206.
7. Fleming DW, Stephen L Cochi, Kristine L MacDonald, et al. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis, N. Engl. J. Med. 1985; 312- 404.
8. Bille J, Glauser MP. Listeriose en Suisse, Bull. B.A. Gesundheitsw. 1988 3, 28.
9. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, et al. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. N. Engl. J. Med. 1988; 319, 823-828.
10. McLauchlin J, Hall S M, Velani S K, Gilbert R J. Human listeriosis and pâté: A possible association, Brit. Med. J., 1991; 303, 773-775.

11. Lui D. Handbook of *Listeria monocytogenes*. USA : CRC Pressby Taylor & Francis Group, LLC, 2008 .
12. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness and death in the United States, *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5, 607-25.
13. Adak GK, Long SM, O'Brien SJ. Trends in indigenous food-borne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. *Gut* 2002; 51, 832-841.
14. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2 nd ed), Garrity, George M, Boone Don J Brenner, Noel R Krieg and James T. Staley. 2005.
15. Seeliger HPR, Jocelyne Rocourt, Angelika Schrettenbrunner, Patrick Ad Grimont, Dorothy Jones. *Listeria ivanovii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1984; 34: 336-337.
16. Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquet C, Piffaretti JC. Assignment of *L. grayi* and *L. murrayi* to a single species, *L. grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1992; 42, 171-174.
17. Liu D, Lawrence ML, Wiedmann M, Gorski L, Mandrell RE, Ainsworth AJ, Austin FW. *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied virulence potential. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44, 4229-4233.
18. Liu D, Ainsworth J., Austin FW, Lawrence ML. Characterization of virulent and avirulent *Listeria monocytogenes* strains by PCR amplification of putative transcriptional regulator and internalin genes. *J. Med. Microbiol.* 2003; 52, 1066-1070.
19. Liu D. *Listeria monocytogenes*: Comparative interpretation of mouse virulence assay, *FEMS Microbiol.Lett.* 2004; 233, 159-164.
20. Hain T, Steinweg C, Kuenne CT, et al. Whole-genome sequence of *Listeria welshimeri* reveals common steps in genome reduction with *Listeria innocua* as compared to *Listeria monocytogenes*. *J Bacteriol.* 2006;188, 7405-7415.
21. Schleifer KH, Kandler O. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriol. Rev.* 1972; 36, 407-477.
22. Allerberger F, Dierich M, Petranyi G, Lalic M, Bubert A. Nonhemolytic strains of *Listeria monocytogenes* detected in milk products using VIDAS immunoassay kit, *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.* 1997; 200, 189-195.
23. Bubert A, Riebe J, Schnitzler N, Schonberg A, Goebel W, Schubert P. Isolation of catalase-negative *Listeria monocytogenes* strains from listeriosis patients and their rapid identification by anti-p60 antibodies and/or PCR, *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35, 179-183.

24. Kathariou S, Pine L. The type strain(s) of *Listeria monocytogenes*: A source of continuing difficulties, Int. J. Syst. Bacteriol. 1991; 41, 328-330.
25. Grundling A, Burrack LS, Bouwerand HG, Higgins DE. *Listeria monocytogenes* regulates flagellar motility gene expression through MogR, a transcriptional repressor required for virulence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004; 101, 12318-12323.
26. Dons L, Rasmussen OF, Olsen JE. Cloning and characterization of a gene encoding flagellin of *Listeria monocytogenes*. Mol. Microbiol. 1992; 6, 2919-2929.
27. Kathariou S, Kanenaka R, Allen RD, Fok AK, Mizumoto C. Repression of motility and flagellin production at 37°C is stronger in *Listeria monocytogenes* than in the nonpathogenic species *Listeria innocua*. Can. J. Microbiol. 1995; 41, 572-577.
28. Vatanyoopaisarn S, Nazli A, Dodd CER, Rees C E D, Waites WM.. Effect of flagella on initial attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel. Appl. Environ. Microbiol. 2000; 66, 860-863.
29. Anonymous, Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes* in food- and feeding stuffs (11290:1996, Part 1). International Standardization Organization, Geneva, Switzerland 1996.
30. Anonymous, Horizontal method for the enumeration of *Listeria monocytogenes* in food- and feeding stuffs (11290:1998, Part 2). International Standardization Organization, Geneva, Switzerland 1998.
31. Ryser ET, Marth EM. *Listeria*, listeriosis and food safety. Marcel Dekker, New York, 1991.
32. Hudson JA, Mott SJ. Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* in pâté and a comparison with predictive models. Int. J. Food Microbiol. 1993; 20: 1.
33. Ottaviani F, Ottaviani M, Agosti M. Differential agar medium for *Listeria monocytogenes*. Quimper Froid Symp. Proc., June 1997.
34. Bell C, Kyriakides A. *Listeria*: A practical approach to the organism and its control in food. 2nd ed. Blackwell, Oxford, 2005.
35. DeRoin MA, Foong SCC, 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.

36. McLauchlin J. The relationship between *Listeria* and listeriosis. Food Control 1996; 7: 187-193.
37. Yura T, Nakahigashi K. Regulation of the heat-shock response. Curr. Opin. Microbiol. 1999; 2: 153-158.
38. Abee T, Wouters JA. Microbial stress response in minimal processing. Int. J. Food Microbiol. 1999; 50: 65-91.
39. Sokolovic Z, Goebel W. Synthesis of listeriolysin in *Listeria monocytogenes* under heat shock conditions. Infect. Immun. 1989; 57: 295-298.
40. Gahan CG, O'Mahony J, Hill C. Characterization of the groESL operon in *Listeria monocytogenes*: Utilization of two reporter systems (gfp and hly) for evaluating in vivo expression. Infect. Immun. 2001; 69: 3924-3932.
41. 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.
42. Stack HM, Sleator RD, Bowers M, Hill C, Gahan CGM. Role for HtrA in stress induction and virulence potential in *Listeria monocytogenes*. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71: 4241-4247.
43. Georgopoulos C, Welch WJ. Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones. Annu. Rev. Cell Biol. 1993; 9: 601-634.
44. Gottesman S. Proteases and their targets in Escherichia coli. Annu. Rev. Genet. 1996; 30: 465-506.
45. Goulet V, Jacquet C, Vaillant V, et al. Listeriosis from consumption of raw-milk cheese. Lancet 1995; 345: 1581-1582.
46. Seeliger HPR. Apathogene Listerien: *Listeria innocua* sp. nov. (Seeliger und Schoofs, 1977). Zentralbl. Bakteri. Parasit. Infekt. Hyg. Abt. 1 Reihe A 1981; 249- 487.
47. Rocourt J, Grimont F. *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 1983; 3: 866-869.
48. Feresu SB, Jones D. Taxonomic studies on Brochothrix, Erysipelothrix, *Listeria* and atypical lactobacilli. J. Gen. Microbiol. 1988; 134: 1165-1183.
49. Hartford T, Sneath PHA. Optical DNA-DNA homology in the genus *Listeria*. Int. J. Syst. Bacteriol. 1993; 43: 26-31.

50. Rocourt J, Grimont F, Grimont PAD, Seeligerw HPR. DNA relatedness among serovars of *Listeria monocytogenes* sensu lato. *Curr. Microbiol.* 1982; 7: 383-388.
51. Wilkinson BJ, Jones DA. Numerical taxonomic survey of *Listeria* and related bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 1997; 98: 399-421.
52. Collins MD, Wallbanks S, Lane DJ, et al. Phylogenetic analysis of the genus *Listeria* based on reverse transcriptase-sequencing of 16S rRNA. *Int. J. Food Microbiol.* 1991; 41: 240-246.
53. Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001; 14: 584-640.
54. Troxler R, von Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, and *L. welshimeri* strains. *Clin. Microbiol. Infect.* 2000; 6: 525-535.
55. 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.
56. Hansen JM, Gerner-Smidt P, Bruun B. Antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* in Denmark 1958–2001. *APMIS* 2005; 113: 31-36.
57. Poros-Golchowska J, Markiewicz Z. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*. *Acta Microbiol. Pol.* 2003; 52: 113-129.
58. Huss HH, Jorgensen LV, Vogel BF. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 62: 267-274.
59. Schaffter N, Parriaux A. Pathogenic-bacterial water contamination in mountainous catchments. *Water Res.* 2002; 36: 131-139.
60. 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.
61. Luppi A, Bucci G, Maini P, Rocourt J. Ecological survey of *Listeria* in the Ferrara area (northern Italy), *Zentralbl. Bakteriell. Mikrobiol. Hyg. A.* 1988; 269: 266-275.
62. Colburn KG, Kaysner CA, Abeyta Jr C, Wekell MM. *Listeria* species in a California coast estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990; 56: 2007-2011.
63. MacGowan AP, Bowker K, McLauchlin J, Bennett PM, Reeves DS. The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought food stuffs, human feces, sewage and soil from urban sources. *Int. J. Food Microbiol.* 1994; 21: 325-334.

64. Weis J, Seeliger HPR. Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. Appl. Microbiol. 1995; 30: 29-32.
65. Van Renterghem B, Huysman F, Rygole R, Verstraete W. Detection and prevalence of *Listeria monocytogenes* in the agricultural ecosystem. J. Appl. Bacteriol. 1991; 71: 211-217.
66. Moshtaghi H, Garg SR, Mandokhot UV. Prevalence of *Listeria* in soil. Indian J. Exp. Biol. 2003; 41: 1466-1468.
67. Welshimer HJ, Donker-Voet J. *Listeria monocytogenes* in nature. Appl. Microbiol. 1971; 21: 516-519.
68. Welshimer HJ. Isolation of *Listeria monocytogenes* from vegetation. J. Bacteriol. 1968; 95: 300-303.
69. Blackmann IC, Frank JF. Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various foodprocessing surfaces. J. Food Prot. 1996; 59: 827-831.
70. Jay JM. Prevalence of *Listeria* spp. in meat and poultry products. Food Control 1996; 7: 209-214.
71. 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.
72. Autio T, Lundén J, Fredriksson-Ahomaa M, Björkroth J, Sjöberg AM, Korkeala H. Similar *Listeria monocytogenes* pulsotypes detected in several foods originating from different sources. Int. J. Food. Microbiol. 2002; 77: 83-90.
73. Thevenot D, Delignette-Muller ML, Christieans S, Vernozy-Rozand. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. Int. J. Food Microbiol. 2005; 102: 85-94.
74. Chambel L, Sol M, Fernandes I, et al. 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 spatialtemporal mapping along production cycle. Int. J. Food Microbiol. 2007; 116: 52-63.
75. Eifert JD, Curtis PA, Bazaco MC, et al. Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* of the serotype 4b complex (4b, 4d, 4e) from two turkey processing plants. Foodborne Pathog. Dis. 2005; 2: 192-200.

76. 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.
77. Antoniollo PC, Bandeira FDS, Jantzen MM, Duval EH, Silva WPD. Prevalence of *Listeria* spp. in feces and carcasses at a lamb packing plant in Brazil. J. Food Prot. 2003; 66: 328-330.
78. Hutchison ML, Walters LD, Avery SM, Synge BA, Moore A. Levels of zoonotic agents in British livestock manures. Lett. Appl. Microbiol. 2004; 39: 207-214.
79. Nightingale KK, Schukken YH, Nightingale CR, et al. Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. Appl. Environ. Microbiol. 2004; 70: 4458-4467.
80. Ho AJ, Lappi VR, Wiedmann M. Longitudinal monitoring of *Listeria monocytogenes* contamination patterns in a farmstead dairy processing facility. J. Dairy Sci. 2007; 90: 2517-2524.
81. Winter P, Schilcher F, Bagò Z, et al. Clinical and histopathological aspects of mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. J. Vet. Med. (B) 2004; 51: 176-179.
82. Borucki MK, Gay CC, Reynolds J, et al. Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* strains from a high-prevalence dairy farm. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71: 5893-5899.
83. Wagner M, Melzner D, Bagò Z, et al. Outbreak of clinical listeriosis in sheep: Evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans. J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health 2005; 52: 278-283.
84. Kurazono M, Nakamura K, Yamada M, Yonemaru T, Sakoda T. Pathology of listerial encephalitis in chickens in Japan. Avian Dis. 2003; 47: 1496-1502.
85. Sergeant ES, Love SC, McInnes A. Abortions in sheep due to *Listeria ivanovii*. Aust. Vet. J. 1991; 68: 39.
86. Alexander AV, Walker RL, Johnson BJ, Charlton BR, Woods LW. Bovine abortions attributable to *Listeria ivanovii*: Four cases (1988–1990). J. Am. Vet. Med. Assoc. 1992; 200: 711-714.
87. Gill PA, Boulton JG, Fraser GC, Stevenson AE, Reddacliff LA. Bovine abortion caused by *Listeria ivanovii*. Aust. Vet. J. 1997; 75: 214.
88. Peters M, Amtsberg G, Beckmann GT. The diagnosis of *Listeria* encephalitis in ruminants using cultural and immunohistological techniques. I. Comparison of different

selective media and culture techniques for the detection of *Listeria* from ruminant brains. Zentralbl. Veterinarmed. B. 1992; 39: 410-420.

89. Standaert AR, Francois K, Devlieghere F, Debevere J, Impe JFV, Geeraerd AH. Modeling individual cell lag time distributions for *Listeria monocytogenes*. Risk Anal. 2007; 27: 241-254.
90. Gysemans KP, Bernaerts K, Vermeulen A, et al. Exploring the performance of logistic regression model types on growth/no growth data of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 2007; 114: 316-331.
91. Vermeulen A, Gysemans KPM, Bernaerts K, et al. Influence of pH, water activity and acetic acid concentration on *Listeria monocytogenes* at 7°C: Data collection for the development of a growth/no growth model. Int. J. Food Microbiol. 2007; 114: 332-341.
92. Koutsoumanis KP, Kendall PA, Sofos JN. A comparative study on growth limits of *Listeria monocytogenes* as affected by temperature, pH and aw when grown in suspension or on a solid surface. Food Microbiol. 2004; 21: 415-422.
93. Le Marc Y, Huchet V, Bourgeois CM, Guyonnet JP, Mafart P, Thuault D. Modeling the growth kinetics of *Listeria* as a function of temperature, pH and organic acid concentration. Int. J. Food Microbiol. 2002; 73: 219-237.
94. Eklund MW, Poysky FT, Paranjpye RN, Lashbrook LC, Peterson ME, Pelroy GA. Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in cold smoking fishery products and processing plants. J. Food Prot. 1995; 58: 502-508.
95. Draughon FA, Anthony BA, Denton ME. *Listeria* species in fresh rainbow trout purchased from retail markets. Dairy Food Environ. Sanit. 1999; 19: 90-94.
96. Miettinen H, Wirtanen G. Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. Int. J. Food Microbiol. 2005; 104: 135-143.
97. Rodas-Suarez OR, Flores-Pedroche JF, Betancourt-Rule JM, Quiñones-Ramírez EI, Vázquez-Salinas C. Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from oysters, fish, and estuarine water. Appl. Environ. Microbiol. 2006; 72: 7410-7412.
98. Chou CH, Silva JL, Wang C. Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in raw catfish fillets. J. Food Prot. 2006; 69: 815-819.
99. Ericsson H, Eklow A, Danielsson-Tham ML, et al. An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout. J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 2904-2907.

100. 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.
101. Brett MS, Short P, McLauchline J. A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *Int. J. Food Microbiol.* 1998; 43: 223-229.
102. Reiter MG, Bueno CM, López C, Jordano R. Occurrence of *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing plant. *J. Food Prot.* 2005; 68: 1903-1906.
103. Capita R, Alonso-Calleja C, Moreno B, García-Fernandez MC. Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 65: 75-82.
104. Samadpour M, Barbour MW, Nguyen T, et al. 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.
105. Bosilevac JM, Guerini MN, Harhay DM, Arthur TM, Koohmaraie M. Microbiological characterization of imported and domestic boneless beef trim used for ground beef. *J. Food Prot.* 2007; 70: 440-449.
106. 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.
107. 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.
108. Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, et al. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1236-1241.
109. Varma JK, Samuel MC, Marcus R, et al. *Listeria monocytogenes* infection from foods prepared in a commercial establishment: A case-control study of potential sources of sporadic illness in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44: 521-528.
110. 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.
111. 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.

112. Zhou X, Jiao X. Prevalence and lineages of *Listeria monocytogenes* in Chinese food products. Lett. Appl. Microbiol. 2006; 43: 554-559.
113. Wagner M, Auer B, Trittremmel C, Hein I, Schoder D. Survey on the *Listeria* contamination of ready-to-eat food products and household environments in Vienna, Austria. Zoon. Publ. Health 2007; 54: 16-22.
114. 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: 79-81.
115. Dillon R, Patel T, Ratnam S. Prevalence of *Listeria* in Smoked Fish. J.Food Prot. 1992; 55: 866-870.
116. McLauchlin J. The pathogenicity of *Listeria monocytogenes*: A public health perspective. Rev. Med. Microbiol. 1997; 8: 1-14.
117. Rocourt J, Hof A, Schrettenbrunner R, Malinverni J, Bille J. Meningite purulente aigue à *Listeria seeligeri* chez un adulte immunocompetent. Schweiz. Med. Wochenschr. 1986; 116: 248-251.
118. Cummins AJ, Fielding AK, McLauchlin J. *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. J. Infect. 1994; 28: 89-91.
119. Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. Vet. J. 1997; 153: 9-29.
120. Gonzalez-Zorn B, Domínguez-Bernal G, Suárez M, et al. The smcL gene of *Listeria ivanovii* encodes a sphingomyelinase C that mediates bacterial escape from the phagocytic vacuole. Mol. Microbiol. 1999; 33: 510-523.
121. Farber JM, Peterkin PI, *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiol. Rev. 1991; 55: 476-511.
122. McLauchlin J, Low C. Primary cutaneous listeriosis in adults: An occupational disease of veterinarians and farmers. Vet. Rec. 1994; 135: 615-617.
123. McLauchlin J. The relationship between *Listeria* and listeriosis. Food Control 1996; 7: 187-193.
124. Gellin BC, Broome CV. Listeriosis, JAMA 1989; 261: 1313-1320.
125. Gellin BG, Broome CV, Bibb WF, Weaver RE, Gaventa S, Mascola L. The epidemiology of listeriosis in the United States-1986. Am. J. Epidemiol. 1986; 133: 392-401.
126. Anonymous, Preliminary Food Net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food-10 states, 2006, MMWR Weekly, 2007; 56: 336-339.

127. De Valk H, Jacquet C, Goulet V, Vaillant V, Perra A, Desenclos J-C, et. al. Feasibility study for a collaborative surveillance of *Listeria* infections in Europe. Report to the European Commission, 2003; DG SANCO, Paris.
128. Wong S, Street D, Delgado SI, Klontz KC. Recalls of foods and cosmetics due to microbial contamination reported to the U.S. Food and Drug Administration. J. Food Prot. 2000; 63: 1113-1116.
129. Goulet V, Rocourt J, Rebiere I, et al. Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. J. Infect. Dis. 1998; 177: 155-160.
130. Bille J, Blanc DS, Schmid H, et al. Outbreak of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland, 2005. Euro Surveill. 2006; 11: 91-93.
131. Mead PS, Dunne EF, Graves L, et al. Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat, Epidemiol. Infect. 2006; 134: 744-751.
132. Rocourt J, Seeliger HP. Distribution of species of the genus *Listeria*, Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. (A) 1985; 259: 317-330.
133. Pless P, Deutz A, Potsch E, Adler A, Obritzhauser W, Kofer J. Influence of feed quality and milking hygiene on *Listeria* prevalence in raw milk. Proc. 10th Int. Congr. Anim. Hyg. 2000; 343-346.
134. Husu JR. Epidemiological studies on the occurrence of *Listeria monocytogenes* in the feces of dairy cattle. J. Vet. Med. 1990; 37: 276-282.
135. Unnerstad H, Romell A, Ericsson H, Danielsson-Tham ML, Tham W. *Listeria monocytogenes* in feces from clinically healthy dairy cows in Sweden. Acta Vet. Scand. 2000; 41: 167-171.
136. Fenlon DR. Rapid quantitative assessment of the distribution of *Listeria* in silage implicated in a suspected outbreak of listeriosis in calves. Vet. Rec. 1986; 118: 240-242.
137. Boerlin P, Boerlin-Petzold F, Jemmi T. Use of listeriolysin O and internalin A in a seroepidemiological study of listeriosis in Swiss dairy cows. J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 1055-1061.
138. Fedio WM, Schoonderwoerd M, Shute RH, Jackson H. A case of bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*. Can. Vet. J. 1990; 31: 773-775.
139. Gitter M, Bradley R, Blampied PH. *Listeria monocytogenes* infection in bovine mastitis. Vet. Rec. 1980; 25: 390-393.

140. Jensen NE, Aarestrup FM, Jensen J, Wegener HC. *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *Int. J. Food Microbiol.* 1996; 32: 209-216.
141. Sanaa M, Poutrel B, Menard JL, Serieys F. Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *J. Dairy Sci.* 1993; 76: 2891-2898.
142. 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.
143. Wagner M, Maderner A, Brandl E. Random amplification of polymorphic DNA for tracing and molecular epidemiology of *Listeria* contamination in a cheese plant. *J. Food Prot.* 1996; 59: 384-389.
144. Norwood DE, Gilmour A. Adherence of *Listeria monocytogenes* strains to stainless steel coupons. *J. Appl. Microbiol.* 1999; 86: 576-582.
145. Lunden JM, Miettinen MK, Autio TJ, Korkeala HJ. Persistent *Listeria monocytogenes* strains show enhanced adherence to food contact surface after short contact times. *J. Food Prot.* 2000; 63: 1204-1207.
146. Pan Y, Breidt F Jr, Kathariou S. Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006; 72: 7711-7717.
147. Dawson SJ, Evans MR, Willby D, Bardwell J, Chamberlain N, Lewis DA. *Listeria* outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop, United Kingdom. *Euro Surveill.* 2006; 11: 89-91.
148. Voetsch AC, Angulo FJ, Jones TF, et al. Reduction in the incidence of invasive listeriosis in foodborne diseases active surveillance network sites, 1996–2003. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44: 513-520.
149. Gerner-Smidt P, Ethelberg S, Schiellerup P, et al. Invasive listeriosis in Denmark 1994–2003: A review of 299 cases with special emphasis on risk factors for mortality. *Clin. Microbiol. Infect.* 2005; 11: 618-624.
150. Vit M, Olejnik R, Dhly J, et al. Outbreak of listeriosis in the Czech Republic, late 2006—Preliminary report. *Euro Surveill.* 2007; 12: E070208.1.
151. Gottlieb SL, Newbern EC, Griffin PM, et al. Multistate outbreak of listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in U.S. regulatory policy. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: 29-36.

152. Moshtaghi H, Mohamadpour AA. Incidence of *Listeria* spp. in raw milk in Shahrekord, Iran. Foodborne Pathog. Dis. 2007; 4: 107-110.
153. Jararao BM, Donaldson SC, Straley BA, Sawant AA, Hegde NV, Brown J L. 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.
154. Pak SL, Spahr U, Jemmi T, Salman MD. Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990–1999. Prev. Vet. Med. 2002; 53:55-65.
155. Dalton CB, Austin CC, Sobel J, et al. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. N. Engl. J. Med. 1997; 336: 100-105.
156. Sağun E, Sancak Y, 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.
157. Uraz G, Yücel N. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve Benzerlerinin (*Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*) Çiğ Süt Örneklerinden İzolasyonu. Tr. J. of Agriculture and Forestry 1998; 22: 463–468.
158. 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.
159. Ryser ET, ve Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of cheddar cheese. J. Food. Prot. 1987a; 50:7-13.
160. Ryser ET, ve Marth EH. Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Camembert cheese. J. Food. Prot. 1987b; 50:372-378.
161. Yousef AE, Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of Colby cheese. J. Food. Prot. (1988); 51: 12-15.
162. Arımı SM, Ryser ET, Pritchard TJ, Donnelly CW. Diversity of *Listeria* ribotypes recovered from dairy cattle, silage and dairy processing environments. J. Food. Prot. 1997; 60:811-816.
163. Stabel JR. Effective methods for postharvest intervention in dairy processing. J.Dairy Sci. 2003; 86: 10-15.
164. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, Hird DW, Yonekura ML, Hayes P, Weaver R, Audurier A, Plıkaytis BD, Fannin L, Kleks A, Broome CV. Epidemic listeriosis associated with mexican-style chees. N. Engl. J. Med, 1988; 319-823.

165. Zottola EA, Smith LB. Pathogens in cheese. Food. Microbiol. 1991; 8: 171-182.
166. Copes J, Pellicer K, Echeverria HG, Stanchi NO, Martinez C, Leardini N. Investigation of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses. Rev. Argent Microbiol. 2000; 32:49-52.
167. Greenwood MJ, Roberts D, Burden P. The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. Int J. Food Microbiol. 1991; 12:197-206.
168. Massa S, Cesaroni D, Poda G, Trovatelli LD. The incidence of *Listeria* spp. in soft cheeses, butter and raw milk in province of Bologna. J. Appl. Bacteriol. 1990; 68: 153-156.
169. Pini PN, Gilbert RJ. A comparison of two procedures for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw chickens and soft cheeses. Int. J. Food Microbiol. 1988; 7: 331-337.
170. Pinto B, Reali D. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *listerias* in Italian-made soft cheeses. Zentralbl. Hyg. Umweltmed. 1996; 199: 60-68.
171. Loncarevic S, Danielsson-Tham ML, Tham W. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft and semi soft cheeses in retail outlets in Sweden Int J Food Microbiol. 1995; 26: 245-250.
172. Da Silva MCD, Hofer E, Tibana A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. J. Food Prot. 1998; 61: 354-356.
173. Pintado CS, Felicio MTS. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in milk, cheese, cheese brine and environmental surface samples. (FEMS) Symposium ve 44, The versatility of *Listeria* species. Publication of The Turkish Microbiological Society No: 44 2002 İzmir.
174. Back JP, Langford SA, Kroll RG. Growth of *L. monocytogenes* in Camembert and other soft cheeses at refrigeration temperatures. J. Dairy. Res. 1993; 60:421-429.
175. Breer C, Schopfer K. *Listeria* in food. Schweiz Med. Wochenschr. 1989; 119: 306-311.
176. Menendez S, Godinez MR, Rodriguez-Otero JL, Centeno JA. Research note Removal of *Listeria* spp. in cheese factory. J. Food. Safety. 1997; 17: 133-139.
177. Bereksi N, Gavini F, Benezech T, Faille C. Growth, morphology and surface properties of *Listeria monocytogenes* Scott A and LO28 under saline and acid environments. J. Appl. Microbiol. 2002; 92: 556-565.
178. Ennahar S, Kuntz F, Strasser A, Bergaentzle M, Hasselmann C, Stahl V. Elimination of *Listeria monocytogenes* in soft and red smear cheeses by irradiation with low energy electrons. Int. J. Food Sci. Technol. 1994; 29: 395- 403.

179. Erol İ, Şireli UT. Ocurrence and contamination levels of *Listeria* spp. in milk and dairy products in Ankara.(FEMS) Symposium , The versatility of *Listeria* species.Publication of The Turkish Microbiological Society No: 44 2002 İzmir.
180. T.C.Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü (2009). Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği :[<http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Tebliğ/2009-6.html>], Erişim Tarihi:20 Haziran 2009.
181. Anonymous, Horizontal Method for the detection of *Listeria monocytogenes* ISO 11290 - 1 / A1 – 2004.
182. Farber JM, Johnson MA, Purvis U and Loit A, Surveillance of soft and semi-soft cheeses for the presence of *Listeria* spp. Int. J. Food Microbiol. 1987; 5: 157-163.
183. Rørvik LM and Yndestad. M. *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. Int. J. Food Microbiol. 1991;13: 97-104.
184. Gledel J. *Listeria* and the dairy industry in France. Proc. of a Symp. on Foodborne Listeriosis, Wiesbaden, FRG, Sept. 7, 1988. B. Behr's Verlag GmbH&Co., Hamburg, pp. 1988;73-82.
185. Weber A, Baumann C, Potel J and Friess H. Incidence of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in cheese. (Nachweis von *Listeria monocytogenes* und *Listeria innocua* in Käse).Berl. Münch. Tierarztl. Wschr. 1988;101: 373-375.
186. Terplan G, Schoen R, Springmeyer W, Degle I and Becker H. Occurrence, behaviour and significance of *Listeria* in milk and dairy products. (Vorkommen, Verhalten und Bedeutung von *Listerien* in Milch und Milchprodukten.) Arch. Lebensmittelhyg. 1986
187. Breer C and Schopfer K. *Listeria* and food. Lancet i 1988; 1022.
188. Beckers H, J. P, S. S, Soentoro and EHM, Delfgou-van Asch.The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat.Int. J. Food Microbiol. 1987;4:249-256.