

AYŞEN ÇOBAN

← AYŞEN ÇOBAN

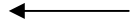
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



DOKTORA TEZİ

DOKTORA TEZİ



İSTANBUL-2018

← 2018

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KANATLI ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN *LİSTERİA*
MONOCYTOGENES SUŞLARININ VİRULENS
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

AYŞEN ÇOBAN

DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AYDIN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİMDALI
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ PROGRAMI

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ayşen Çoban



İTHAF

Uzun soluklu eğitim-öğretim hayatım boyunca bir an bile olsun yanımdan ayrılmayan, akademik çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen, sonsuz emekleri olan canım Ailem'e ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Bu süreçte öncelikle değerli danışmanım ile tanışmamda vesile olan sayın hocam Prof. Dr. Kamil BOSTAN'a, değerli danışmanım Prof. Dr. Ali AYDIN ve ailesine, çalışmalarımız boyunca her daim tecrübelerini bir an olsun tereddüt etmeden tüm içtenliğiyle paylaşan değerli hocam Uzm. Mert SUDAĞIDAN'a, TEAGASC Food Research Center'da çalışmalarımın bir kısmını birlikte yürütme imkanı bulduğum çok değerli Dr. Kieran JORDAN ve çalışma arkadaşlarına, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Harun AKSU'ya, kıymetli arkadaşlarım Dr. Gülay Merve BAYRAKAL ve Rüveyda GÜNAYDIN'a ve bu süreçte varlığıyla motive eden Cenk DİNÇSOY'a teşekkür ediyorum.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 56821

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
ÖZET	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanatlı Eti	4
2.2. Kanatlı Etinin Halk Sağlığı Açısından Önemi	4
2.3. Kanatlı Eti Özellikleri	6
2.4. <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Tarihçesi	7
2.5. <i>L. monocytogenes</i> 'in Genel Özellikleri.....	7
2.6. <i>L. monocytogenes</i> 'in Genetik Özellikleri	8
2.7. <i>L. monocytogenes</i> 'in Gelişim ve Canlılığının Devamı	9
2.7.1. Düşük ve Yüksek Sıcaklıklarda Hayatta Kalma	9
2.7.2. Membran Bileşimini Değiştirme.....	9
2.7.3. Protein İndükleme ve Gen Ekspresyonlarındaki Değişimler.....	9
2.7.4. Kryoprotektanlar Benzeri Uygun Çözünmüş Maddeler	10
2.7.5. Asit Stresi Altında Hayatta Kalma.....	10
2.7.5.1. Protein İndüksiyonu	11
2.7.5.2. pH Dengesi.....	11
2.7.5.3. Glutamat Dekarboksilaz Sistemi.....	11
2.7.5.4. İki Bileşenli Düzenleme Sistemleri.....	12
2.7.6. Osmotik Stres Altında Hayatta Kalma.....	13
2.7.6.1. Proteinlerin İndüklenmesi	13

2.7.6.2. Osmoprotetaktan Olarak Uyumlu Çözünmüş Maddeler.....	14
2.8. Listeriosis.....	14
2.8.1. Non-invaziv Listeriosis.....	15
2.8.2. İnvaziv Listeriosis.....	16
2.9. Çevrede <i>L. monocytogenes</i> Varlığı.....	18
2.10. Gıda Maddelerinde, Gıda İşletmeleri ve Çevresel Örneklerde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı ile Dayanıklılığı.....	19
2.11. <i>L. monocytogenes</i> Suşlarının Serogruplandırılması.....	24
2.12. <i>L. monocytogenes</i> Suşlarının Virulens Mekanizması.....	25
2.13. Genel Stres Sigma Faktörü (σ_B).....	32
2.14. Kanatlı İşletmelerinde <i>L. monocytogenes</i> Varlığı ve Hijyen Kontrol Testleri	34
2.14.1. Çevresel Testler (Gıda Temas Yüzeyi Olmayan).....	36
2.14.2. Gıda Temas Yüzey Testleri.....	36
2.14.3. Ürün Testleri.....	36
2.15. İşletmenin Dizaynı ve Olası Kontaminasyon Noktaları.....	38
2.16. <i>L. monocytogenes</i> Kaynaklı Ekonomik Problemler ve Kontrol.....	39
2.17. Gıda Korumasında Hedef Olarak Genel Stres Sigma Faktör Önemi.....	40
2.18. Antibiyotik Direnç ile İlgili Sorunlar.....	40
2.19. <i>L. monocytogenes</i> Suşlarının Filogenetik İlişkisinin Belirlenmesi.....	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
3.1. Kullanılan Besiyerleri.....	45
3.1.1. Fraser Broth (Oxoid CM 895).....	45
3.1.2. Half Fraser (Oxoid CM 895, Oxoid SR 0166E).....	46
3.1.2.1. Half Fraser Supplement (Oxoid SR 0166E).....	46
3.1.2.2. Fraser Supplement (Oxoid SR 0156).....	46
3.1.3. ALOA Agar (Oxoid CM 1084).....	46
3.1.3.1. Brilliance™ <i>Listeria</i> Differential Supplement (Oxoid SR 0228E).....	47
3.1.3.2. OCLA (ISO) Selective Supplement (Oxoid SR 0226E).....	47
3.1.4. %5 Koyun Kanı İlave Edilmiş Tryptic Soya Agar (Oxoid CM 131).....	47
3.1.5. Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 129).....	48
3.1.6. Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM 0337).....	48
3.1.7. Brain Heart Infusion Agar (Sigma-Aldrich, 70138).....	49
3.1.8. Moleküler Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar.....	49

3.1.9. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	50
3.2. GEREÇ	52
3.2.1. Numune Alımı.....	52
3.2.2. Mikrobiyolojik Ekim ve Klasik Kültürel İzolasyon	52
3.2.3. Biyokimyasal Testler	53
3.2.3.1. Gram Boyama	53
3.2.3.2. Katalaz Testi.....	54
3.2.3.3. Oksidaz Testi.....	54
3.2.4. CAMP Testi	55
3.2.5. Kültürel Yöntem ile <i>L. monocytogenes</i> olarak Elde Edilen Suşların PCR ile Tespiti.....	55
3.2.5.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu	55
3.2.5.2. PCR Analizleri	56
3.2.5.3. <i>L. monocytogenes</i> 'e ait Çeşitli Virulens Genlerin PCR ile Tespiti.....	57
3.2.5.4. <i>L. monocytogenes</i> için Önemli Diğer Patojenite Genlerin Tespiti.....	58
3.2.5.5. <i>L. monocytogenes</i> Suşlarının PCR ile Serogruplandırılması	59
3.2.6. Antibiyotik Duyarlılığının Tespiti	60
3.2.7. Antibiyotik Dirençli Suşların Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerlerinin Belirlenmesi	61
3.2.8. PFGE.....	61
4. BULGULAR.....	64
4.1. Mikrobiyolojik Bulgular	64
4.2. PCR Bulguları	65
4.2.1. PCR Analizleri Sonucunda Virulens Üzerine Diğer Etkili Bazı Gen Dağılımları	65
4.3. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	73
4.3.1. E-Test ve MICE Test (MIC) Sonuçları.....	75
4.4. PFGE Analizleri.....	77
5. TARTIŞMA	82
KAYNAKLAR	92
HAM VERİLER	134
FORMLAR	135
ETİK KURUL KARARI	136

PATENT HAKKI İZNİ	137
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	138
ÖZGEÇMİŞ	139



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Avrupa Birliği’nde insanlarda doğrulanan zoonoz hastalıkların bildirilen vaka-ölüm oranı ve hospitalize edilen hasta sayıları, 2014 (EFSA 2015).....	18
Tablo 2-2: 1997-2015 yılları arası gıda kaynaklı başlıca listeriosis salgınları	21
Tablo 2-3: 2012-2016 tarihleri arasında Avrupa Birliği’nde insanlarda rapor edilen invaziv listeriosis olguları (EFSA&ECDC 2017).....	23
Tablo 2-4: <i>L. monocytogenes</i> serotipleri ve antijenlerinin reaksiyonları.....	25
Tablo 2-5: İşletmelerde tavsiye edilen temizlik ve sanitizasyon sıklığı (Henning ve Cutter 2001)	37
Tablo 3-1: Kesimhanelerden numune alımı.....	44
Tablo 3-2: Market ve kasaplardan numune alımı	44
Tablo 4-3: Kesimhane numunelerinin PCR doğrulamaları	65
Tablo 4-4: Market ve kasap numunelerinin PCR doğrulamaları.....	65
Tablo 4-5: Pozitif <i>L. monocytogenes</i> suşları (n:103) için virulens değer dağılımı.....	65
Tablo 4-6: EUCAST (version 8.0, 2018-01-01) duyarlı ve dirençli suşlara ait sonuçlar	74
Tablo 4-7: EUCAST antibiyotik sonuçlarının dağılımı.....	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Yetişkin listeriosis ile ilişkili invaziv ve invaziv olmayan sendromların karakterizasyonu (Donnelly 2001).....	16
Şekil 2-2: <i>L. monocytogenes</i> infeksiyon döngüsü (NicAogáin ve O’Byrne 2016)	19
Şekil 2-3: <i>L. monocytogenes</i> LIPI-1 patojenite adası (Vazquez-Boland ve ark. 2001a)26	
Şekil 2-4: <i>Listeria</i> türlerine ait merkez virulens gen dizisinin (LIPI-1) evrimi (Vazquez-Boland ve ark. 2001a).....	27
Şekil 2-5: <i>L. monocytogenes</i> ’in bir makrofaj hücresinden diğerine giriş, gelişme, hareket ve yayılma aşamaları (saat yönü tersi yönünde) (Tilney ve Portnoy 1989)	30
Şekil 3-1: ALOA besiyerinde tipik opak hale gösteren <i>L. monocytogenes</i>	53
Şekil 4-1: CAMP test <i>Rhodococcus equi</i> ve <i>S. aureus</i> ’a göre hemoliz alanları.....	64
Şekil 4-2: <i>Hyla</i> (234 bp) genine ait PCR jel görüntüsü.....	66
Şekil 4-3: <i>İap</i> (131 bp) genine ait PCR jel görüntüsü.....	66
Şekil 4-4: <i>ActA</i> (268-385 bp) genine ait PCR jel görüntüsü.....	67
Şekil 4-5: <i>DltA</i> (1 kb) genine ait PCR jel görüntüsü	67
Şekil 4-6: <i>FlaA</i> (864 bp) genine ait PCR jel görüntüsü.....	68
Şekil 4-7: <i>Fri</i> (471 bp) genine ait PCR jel görüntüsü.....	69
Şekil 4-8: <i>Lip1-2a</i> (274 bp) genine ait PCR jel görüntüsü	69
Şekil 4-9: <i>MonoA-B</i> (400 bp) genine ait PCR jel görüntüsü	70
Şekil 4-10: <i>PlcA</i> (129 bp) genine ait PCR jel görüntüsü	71
Şekil 4-11: <i>PlcB</i> (261 bp) genine ait PCR jel görüntüsü	72
Şekil 4-12: <i>PrfA</i> (600 bp) genine ait PCR jel görüntüsü	72
Şekil 4-13: İnternalin genleri (<i>inlA</i> 800 bp, <i>inlC</i> 517 bp, <i>inlJ</i> 238 bp) multiplex PCR jel görüntüsü	73
Şekil 4-14: %5 Defibrine edilmiş at kanı içeren Mueller-Hinton agarda antibiyotik disk difüzyon testi.....	74
Şekil 4-15: 2 numaralı suşa ait MICE Meropenem petri görüntüsü, MIC 2 mg/L.....	75
Şekil 4-16: 2 numaralı suşa ait E-test Tetrasiklin petri görüntüsü, MIC 48 mg/L	76
Şekil 4-17: 128 numaralı suşa ait MICE Eritromisin petri görüntüsü, MIC 0,12 mg/L. 76	

Şekil 4-18: 139 numaralı suşa ait E-Test Trimetoprim-sulfametoksazol petri görüntüsü, MIC 0,32 mg/L	77
Şekil 4-19: ApaI restriksiyon enzimine ait PFGE jel görüntüsü	77
Şekil 4-20: AscI restriksiyon enzimine ait PFGE jel görüntüsü	78
Şekil 4-21: PFGE sonucu ApaI ve AscI enzimlerine ait dendrogram ilişkisi.....	81



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ALOA: Ottaviani ve Agosti Agar
 MIC: Minimum Inhibitory Concentration
 FDA: Food and Drug Administration
 BAM: Bacteriological Analytical Manual
 CFSPH: The Center for Food Security and Public Health
 TSA: Tryptic Soya Agar
 CDC: Center's for Disease Control of Prevention
 EFSA: European Food Safety Authority
 HACCP: Hazard Analytical Critic Control Point
 FSIS: Food Safety Inspection Service
 RTE: Ready to Eat Food
 pH: Power of Hidrogen
 USDA: United States Department of Agriculture
 ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control
ActA: Actin assembly-inducing protein
 LLO: Listeriolysin O
InlA: Internalin A
InlB: Internalin B
InlC: Internalin C
InlJ: Internalin J
FlaA: Flagellar
PrfA: Listeriolysin Positive Regulation Factor
Fri: Ferritin like protein
Prs: Putative Phosphoribosyl Pyrophos-phate Synthetase
 Bp: Base pair
 CAMP: Christie, Atkins, and Munch-Peterson
 CFU: Colony-Forming Unit
 DNA: Deoxyribonucleic Acid
 RNA: Ribo Nükleik Asit
 mRNA: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
 dNTP: Deoxynucleotide Triphosphates

dATP: Deoxyadenosine Triphosphate

dCTP: Deoxycytidine Triphosphate

dGTP: Deoxyguanosine Triphosphate

dTTP: Deoxythymidine Triphosphate

ATP: Adenozin Trifosfat

ATR: Asit Tolerans Yanıt

HylA: Hemolysin A

Hpt: Hexose Phosphate Transporter

Iap: Invasion Associated Protein

ORF: Open Reading Frames

PCR: Polymerase Chain Reaction

PFGE: Pulsed Field Gel Electrophoresis

PI-PLC: Phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC)

PC-PLC: Phosphatidylcholine-specific phospholipase C (PC-PLC)

Spp.: Subspecies

Taq: *Thermus aquaticus*

Aw: Water activity

GAD: Glutamat Dekarboksilaz Sistemi

M: Molar

Sap: Stres Uyum Protein

Ssps: Tuz Şok Proteinleri

Kob: Koloni Oluşturan Birim

μM: Mikromolar

μg: Mikrogram

NaCl: Sodyum Klorür

rRNA: Ribozomal Ribo Nükleik Asit

GtcA: Glycosylation protein

Mpl: Metalloprotease

DltA: D-alanine-Activating Enzyme

Caps: Cold Acclimation Proteins

Csps: Cold Shock Proteins

SOD: Süperoksit Dizmutaz

KDa: Kilodalton

LTA: Lipoteikoik Asit

SSOP: Sanitation Standard Operating Procedure

Mb: Mega Base Pair

Kbp: Kilo Base Pair

Kb: Kilo Base Pair

ATCC: American Type Culture Collection

G: Gram

Kcal: Kilokalori

MLST: Multilocus Sequence Typing

UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic

B-NAD: B-Nicotinamide Adenine Dinucleotide

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Ml: Mililitre

Mm: Milimetre

RPM: Revolution Per Minute

SM: Size Marker

mM: Milimolar

dH₂O: Distilled Water

s: Saniye

EC: European Commission

Et-OH: Etanol

TE: Tris-EDTA

Tris: Tris (Hydroxymethyl) methylamine

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic

FSAI: Food Safety Authority of Ireland

ÖZET

Coban, A. (2018). Kanatlı Etlerinden İzole Edilen *Listeria monocytogenes* Suşlarının Virulens Özelliklerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, Tavuk eti, PCR, Antibiyotik duyarlılık, PFGE

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 56821

Listeria monocytogenes ile kontamine kanatlı eti ürünleri, halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, Türkiye’den 500 adet kanatlı örneğinde izole edilen *L. monocytogenes* suşlarında prevalans, serogruplandırma, virülens faktör genler, antibiyotik duyarlılık ve genetik ilişkileri saptamaktır. Kültürel yöntem EN ISO 11290-1’e göre izole edilen 103 adet (%20,6) *L. monocytogenes* suşundan 100 adedi İstanbul’da satışla sunulan noktalardan, 3 adedi kesimhane kaynaklı olup suşların tümü PCR ile doğrulanmıştır. *L. monocytogenes* suşlarının, 1/2a-3a (%75,70), 1/2c-3c (%14,56), 1/2b-3b-7 (%5,82), 4a-4c (%2,91) ve 4b-4d-4e (%0,97) serogrup genlerini içerdiği saptanmıştır. Ayrıca, suşlarda virulens genleri (*hylA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *iap*, *gtcA*, *dltA*, *lip1-2a*, *fri* ve *flaA*) varlığı araştırılmış ve suşların çoğunun (%95-%100) virülens genlerinin (*hylA*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *dltA*, *fri*, *flaA*, *inlA*, *inlC* and *inlJ*) büyük kısmını içerdiği belirlenmiştir. Elde edilen suşlara EUCAST’e göre ampicilin (2 µg), meropenem (10 µg), eritromisin (10 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (25 µg), penisilin G (1U) antibiyotik duyarlılık testleri yapılmış ve dirençli suşların E-Test ve MICE testleri ile MIC değeri belirlenmiştir. Suşlarının %92’si antibiyotiklere duyarlı olup, ülkemizde ilk kez meropenem dirençli *L. monocytogenes* suşu rapor edilmiştir. AscI ve ApaI enzimleri ile yapılan PFGE analizi ile suşlar arasında >90’ın üzerinde benzer 18 adet pulsotip saptanmıştır. Sonuçta, halk sağlığının korunması amacıyla, kümes hayvanları işleme ortamlarında *L. monocytogenes*’in varlığının önlenmesi gerekmektedir.

ABSTRACT

Coban, A. (2018). Investigation of Virulence Factors of *Listeria monocytogenes* in Poultry Meat. İstanbul University, Institute of Health Science, Food Hygiene and Technology Department. Dissertation Thesis. İstanbul. 2018.

Key Words: *Listeria monocytogenes*, Poultry meat, PCR, Antibiotic susceptibility, PFGE

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 56821

The poultry meat products contaminated with *Listeria monocytogenes* are crucial for public health. The aim of this study is to investigate the prevalence, serogrouping, virulence factor genes, antibiotic susceptibility and genetic relationship of isolated strains of *L. monocytogenes* from 500 poultry in Turkey. According to the cultural method that based on EN ISO 11290-1, 103 (20,6%) *L. monocytogenes* strains which being belonged to point of sales 100 strains and slaughterhouses 3 strains were isolated and all strains were confirmed by PCR. *L. monocytogenes* strains were identified as 1/2a-3a (75,70%), 1/2c-3c (14,56%), 1/2b-3b-7 (5,82%), 4a-4c (2,91%) and 4b-4d-4e (0,97%) serogroup genes. In addition, the presence of virulence genes (*hylA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *iap*, *gtcA*, *dltA*, *lip1-2a*, *fri* ve *flaA*) were searched and determined that the majority of strains (%95-100) have mostly included virulence genes (*hylA*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *dltA*, *fri*, *flaA* *inlA*, *inlC* and *inlJ*). Antibiotic susceptibility tests of ampicillin (2 µg), meropenem (10 µg), erythromycin (10 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (25 µg) and penicillin G (1U) were performed on the obtained strains according to EUCAST and MIC values of resistant strains were determined by E-Test and MICE tests. 92% of the strains were found susceptible to antibiotics and meropenem resistant in *L. monocytogenes* strains has been firstly reported in our country. Following PFGE analysis was carried out by *AscI* and *Apal* enzymes and 18 similar pulsotypes were detected over 90% between strains. As a conclusion, the presence of *L. monocytogenes* must be prevented in poultry processing environments in order to protect public health.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanatlı eti, protein miktarı yüksek, yağ miktarı düşük, doymamış yağ asitleri miktarı uygun, beslenme yönünden büyük öneme sahip temel hayvansal gıdalardan biridir. Tavuk eti, kısa zamanda kesim ağırlığına ulaşabilen, et verimi açısından oldukça ekonomik bir canlı olmasının yanısıra istikrarsız kırmızı et üretiminden doğan açığı kapatma konusunda büyük öneme sahiptir. Ayrıca, yiyecek olarak hazırlanması ve pazarlanmasının kolay olması nedeniyle, hem ev koşulları hem de fast-food restoranlarında kullanımı oldukça yaygındır. Diğer taraftan, insan tüketimine sunulan kanatlı etlerinin çabuk bozulma ve gıda zehirlenmelerine sebep olmaları ise halk sağlığı açısından önemli bir konudur.

Tavuk etinin yüksek besleyici değere sahip kompozisyonuna ilave olarak, uygulanan kesim işlemi, pH değeri, redoks potansiyeli ve muhafaza sıcaklığı, patojen ve bozulmaya neden olan birçok mikroorganizmanın kontaminasyonu ve gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Özellikle büyük kapasiteli modern kümeslerde yetiştirilen kanatlılar, yetersiz hijyene sahip kesimhane ve parçalama tesisleri başta olmak üzere *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) gibi birçok patojen bakteri ile kontamine olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada kanatlı eti ve ürünlerinin giderek artan düzeyde başta *L. monocytogenes* olmak üzere, *Listeria* spp. ile kontamine olduğu bildirilmektedir. Kanatlılarda yüksek kontaminasyon düzeyi sebepleri arasında, intensif kanatlı yetiştiriciliğinin artması, kesim prosesi sırasında çapraz kontaminasyonun meydana gelmesi ile kanatlı ürünlerinin işleme, muhafaza ve servise hazırlama sırasında yapılan hatalı uygulamaların yer aldığı ifade edilmektedir.

L. monocytogenes çevreye geniş ölçüde yayılabilen, buzdolabı sıcaklığında gelişme özelliğine sahip, soğutma, dondurma, ısıtma ve kurutma işlemleri gibi olumsuz koşullar altında bile canlılığını koruyabilen halk sağlığı açısından önemli bir patojendir. Çevrede geniş bir alanda bulunma özelliği göstermekte su, silaj, lağım suyu, mezbaha atıkları, sağlıklı ve mastitisli ineklerin sütleri, insan ve hayvan dışkısında olduğu gibi pek çok yerden izole edilmektedir. *Listeria*'nın çevreye yayılmasının enfekte hayvandan, toprak ve yemlerin kontaminasyonuna, buradan da sebze, meyve, et ve süt hayvanlarına tekrar geçmesi şeklinde bir döngü gösterdiği ifade edilmektedir. *L.*

monocytogenes'in et ve ürünlerinde mevcudiyetinin gıda maddesi tipine, gıda maddesinin mikroflorasına, pH ile florasında bulunan mikroorganizmaların türüne ve sayısına bağlı olduğu; bunun yanında *L. monocytogenes*'in gelişimi açısından kanatlı etlerinin daha elverişli olduğu bildirilmektedir. Çiğ veya yetersiz pişirilmiş kanatlı eti ürünleri kaynaklı pek çok gıda kaynaklı enfeksiyon da rapor edilmiştir. Kontamine ürünlerin tüketimi sonrasında listeriozis genellikle grip benzeri semptomlar göstermekte, merkezi sinir sistemine yerleşmekte ve plasenta yolu ile fetusa geçebildiği için erken sancı, abortus, ölü doğum, yeni doğan bebeğin erken ölümüne veya konjenital anomali doğumlara neden olabildiği gözlenmiştir. Mortalite oranı oldukça yüksek olup, bebeklerde %50 ve diğer yaş gruplarında en az %25-30 olarak bildirilmiştir.

L. monocytogenes, hücre içi Gram (+) ve listeriozise neden olan etiyolojik ajan olup, virulensi son derece komplekstir. Koordineli intraselüler yaşam döngüsünde: konak hücre adezyonu ve invazyonu, hücre içi çoğalma ve hareketlilik ve hücrelerarası yayılım göstermektedir. Aşamaların tamamlanmasında, düzenlenen özel bakteriyel faktörlerin etkinliği ve güçlü düzenleyici mekanizması hücre enfeksiyon döngüsünü belirlemek için önem arz etmektedir. Son yıllarda, genomiklerin ortaya çıkması *Listeria* virulens faktörlerinin tanımlanması ve işlevsel karakterizasyonunda önemli rol oynamaktadır. *L. monocytogenes* suşlarında virulens özelliklerinden sorumlu genler başlıca *hylA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *iap*, *gtcA*, *dltA*, *lip1-2a*, *fri*, *flaA* olarak bilinmektedir. Serogruplarının (1/2a, 3a; 1/2b, 3b; 1/2c, 3c ve 4b, 4d, 4e) belirlenmesinde sıklıkla kullanılan *İmo0737*, *İmo1118*, *ORF2819*, *ORF2110* genleri varlığı açısından araştırılmıştır. Günümüzde çiftlik hayvanlarında (sığır, koyun, keçi, kanatlı) antibiyotik kullanımı, bu hayvanlardan izole edilen bakterilerde antimikrobiyal direncin oluşmasına ve prevalansın artmasına neden olmaktadır. Oluşan dirençli bakteriler doğrudan temas veya bu hayvanlardan elde edilen ürünlerle dolaylı yollardan insanlara geçebilmekte ve insanlarda antibiyotiklerin etkisini azaltabilmektedir. Direnç, bakteri ve diğer mikroorganizmaların bir özelliği olup, genel anlamıyla bu organizmaların antibiyotik tarafından etkilenmemesi demektir. Antibiyotik kullanımında, antibiyotiklerin antibiyogram yapılmadan ve rastgele dozlarla verilmesi, kaliteli ve etkin antibiyotikler yerine eşdeğeri olabilecek antibiyotiklerin kullanılması, insan ve hayvanlarda hastalık önleme ve kontrol stratejilerindeki eksiklikler, küresel antibiyotik kalıntı tarama ve izleme programlarındaki yetersizlikler, ulusal ve

uluslararası düzeyde kanun desteği ve işbirliği eksikliği ve yeni ürün araştırma ve geliştirilmesinde eksikliklere bağlı olarak direnç gelişebilmektedir. Hayvansal gıdalara bağlı oluşan antibiyotik direncinde EUCAST (2017) kapsamında benzilpenisilin, ampisilin, meropenem, eritromisin, trimetoprim-sulfametoksazol ön plana çıkmıştır. Çalışmanın amacı, tavuk etinin çiftlikten sofraya her aşamada doğada yaygın halde bulunan *L. monocytogenes* ile yüksek oranda kontamine olduğu ve halk sağlığı açısından büyük tehdit oluşturduğu bilinmektedir.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de İstanbul’daki satış noktaları ile Bolu ve Bandırma kaynaklı çiftliklerden temin edilen 500 adet kanatlı örneğinden kültürel yöntemle (EN ISO 11290-1) izole edilen ve PCR analizi ile doğrulanan *L. monocytogenes* suşlarının prevalans, sero Gruplandırma (1/2a, 3a; 1/2b, 3b; 1/2c, 3c; 4b, 4d, 4e ve 4a, 4c), virülens genler (*hlyA*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *plcA*, *plcB*, *prfA*, *mpl*, *actA*, *monoA-B*, *iap*, *gtcA*, *dltA*, *lip1-2a*, *fri*, *flaA*), antibiyotik duyarlılık (benzilpenisilin, ampisilin, meropenem, eritromisin, trimetoprim-sulfametoksazol) ve altın standart olan PFGE ile suşlar arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya konmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanatlı Eti

Tavuk eti, dünya çapında popüler gıda olup yüksek protein, düşük yağ, faydalı yağ asitleri içeriği ve ekonomik faktörler nedeniyle kanatlı etinin tercih edilmesi ve ekonomiye katkısı açısından önem taşımaktadır. Son zamanlarda, kalp ve damar hastalıkları başta olmak üzere obezite gibi beslenmeye dayalı hastalıkların dünya genelinde yaygınlaşması, tüketicinin günlük beslenme alışkanlıklarında beyaz ete öncelik vermesi yönündeki uyarıları dikkate alması ve kanatlı eti fiyatlarının kırmızı ete göre daha düşük olması, kanatlı eti tüketiminin hızla artmasını sağlamıştır (Civaner 2007). Tavuk eti, hazır gıda (fast-food) işletmeleri ve restoranlar tarafından geniş ölçüde tercih edilmektedir. Bununla birlikte, kanatlı eti, dünyada toplam et üretiminin 2/3'ünü oluşturmaktadır (Abd El-Aziz 2013). Kanatlı eti tüketimine ilişkin dini bir kısıtlamanın bulunmaması da dünyada kanatlı eti tüketimini arttıran önemli bir unsur olarak değerlendirilmektedir (Erol 2007).

Türkiye’de tavuk eti tüketiminin son 15 yıldaki tüketim seyri incelendiğinde, genel olarak istikrarlı bir artış görülmektedir. Bu bağlamda, kişi başına düşen tavuk eti tüketimi 2001 yılında 8,51 kg/yıl iken, 2009 yılında 15,25 kg/yıl, 2016 yılında ise 21,94 kg/yıl olarak kaydedilmiştir (BESD-BİR 2016).

2.2. Kanatlı Etinin Halk Sağlığı Açısından Önemi

Tüm dünyada besleyici, lezzetli ve ucuz olmaları nedeniyle tercih sebebi olan tavuk etinin çabuk bozulması nedeniyle hijyenik koşullarda sevkiyatının sağlanması ve tüketiciye ulaşana kadar kalitesinin muhafaza edilmesi büyük önem taşımaktadır (Uğur ve ark. 2001).

Özellikle yaz aylarında uygun muhafaza sıcaklığının, yetersiz koşullardan sağlanamaması nedeniyle kanatlı etleri kısa sürede bozulmaktadır. Bu durum, ekonomi, gıdanın tüketilebilirliğinin ortadan kalkması ve insan sağlığı açısından büyük risk oluşturmaktadır. Ayrıca, dünyanın birçok ülkesinde gıda üretiminin yeterli düzeyde olmamasının yanında, gıdaların tüketilmeden bozulması, durumu daha da olumsuz hale dönüştürmektedir. Dünya nüfusunun artması ile birlikte oluşan gıda ihtiyacında sadece gıda üretimi değil, gıda üretimi sonrası meydana gelen ve bazı ülkelerde %25’e varan

gıda bozulma oranının azaltılmasına yönelik çalışmaların desteklenmesi son yıllarda öne çıkmaktadır (Ray 2008). Ayrıca, gelişmekte olan ülkelerde, çok belirgin bir şekilde üretim zinciri ve küçük çiftliklerde gıda kayıplarının yaşandığı ifade edilmektedir. Nitekim, FAO toplam üretimin %30-40'nın uygun olmayan hammadde kullanımına bağlı hasat sonrası depolama yetersizliği, işleme ve ulaştırma imkanlarının uygun olmaması gibi problemlerden ötürü marketlere ulaşmadan önce oluştuğunu belirtmektedir (FAO 2015).

Üretim yapılan çiftlikten tüketim yapılan sofraya kadar olan aşamalarda birçok faktör kanatlı etlerinin mikroflorası üzerine etkili olmaktadır. Kanatlı etinin su, hava, rezervuar, broiler yetiştirme koşulları ile kesim amacıyla transport, boşaltma, kesim koşulları, soğutma, parçalama, paketlenme, muhafaza ve dağıtım ile satış koşulları diğer taraftan, hijyenik kalitesinin belirleyen faktörler arasında yer almaktadır (Erol 2007). Kanatlı etlerinin mikroorganizmalar tarafından kontaminasyonunun, canlı hayvanlarda görülen enfeksiyonlar da göz önüne alınarak, taşıma, kesim işlemi, haşlama, tüy yolma, iç organ çıkartma, soğutma, parçalama, paketlenme, satış koşulları (açıkta veya paketli satış) gibi kritik aşamalardaki çapraz kontaminasyonlardan kaynaklandığı ifade edilmektedir (Erol 2007; Sofos 2013).

Tavuk karkaslarında başlangıç florası genel olarak 10^2 - 10^6 kob/g'dır. Bu sayının kanatlının orijini, kümes ve proses hijyeni, proses teknolojisi ve dış sıcaklık gibi faktörler ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmektedir (Geornaras ve ark. 1995). Son zamanlarda insanların yoğun çalışma temposu, büyük şehirler başta olmak üzere yaşam zorlukları, köyden kente göç artışları ve bazı kronik sağlık rahatsızlıklar başta olmak üzere insanlar dengeli ve sağlıklı yaşam konusunda daha hassas davranmaya başlamış ve güvenilir gıda arayışına girmişlerdir. Tavuk etinin yüksek kalitede birçok besleyici özelliğinin olmasına rağmen gerek uygun olmayan iklim koşullarında gerek personel ve çevresel kaynaklı nedenlerden dolayı kolay bozulabilmesi halk sağlığı açısından risk taşıdığı bilinmektedir. Kanatlı hayvan etleri, kesim öncesi ve kesim sonrasında sıklıkla patojen mikroorganizmalar olarak bilinen başlıca *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* spp. ve *Clostridium perfringens* gibi patojenlerle kontamine olabilmektedir (Genigeorgis 1986; Reilly ve ark. 1988).

Son yıllardaki geniş araştırmalar doğrultusunda *L. monocytogenes*'in başlıca gıda işletmeleri, özellikle de tüketime hazır gıdaların üretim zorluğuna neden olması halk sağlığını tehdit etmesi nedeniyle büyük önem taşımaktadır.

L. monocytogenes uygun olmayan koşullarda bile işleme sonrasında dahi çoğalabilme yeteneği, ürünleri kontamine etme potansiyeli, çevrede hemen her yerde bulunabilme özelliği ile kanatlı ürünleri ve tüketime hazır diğer gıdaların kontrolünde ilk sıralarda olmaya devam edeceği belirtilmiştir (Tompkin 2002). Gıda patojenlerinin ölüm oranlarına bakıldığı zaman *L. monocytogenes* %20, *Salmonella enteritidis* %0,38, *Campylobacter* türleri %0,02-0,1 ve *Vibrio* türleri (%0,005-0,01) ilk sıralarda yer almaktadır (Altekruse ve ark. 1997; Mead ve ark. 1999).

2.3. Kanatlı Eti Özellikleri

Ortalama 100 g tavuk etinin (deri dahil) yenilebilir kısımlarındaki besin değerleri yaklaşık 215 kcal olup; 18,60 g protein, 0,9 mg demir, 1,31 mg çinko, 75 mg kolesterol, 20 mg magnezyum, 11 mg kalsiyum, 147 mg fosfor, 187 mg potasyum, 70 mg sodyum, 1,6 mg vitamin C, 6,8 mg niasin, 6 µg folat, 0,06 mg tiyamin, 0,31 µg vit B-12, 41 µg vit A, 0,30 mg vit E, 0,2 µg vit D, 1,5 µg vit K, toplam 4,3 g doymuş yağ asidi, 6,2 g tekli doymamış yağ asidi, 3,2 g çoklu doymamış yağ asidi ve 0,09 g trans yağ asidi ve 65 g su içerdiği bilinmektedir (USDA 2017).

Tavuk eti, diğer etlerle kıyaslandığında bazı üstün özelliklere sahiptir. Koyun ve sığır etine göre protein değeri yüksek, yağı az ve kalorisinin daha düşük olduğu bilinmektedir. Göğüs eti ve but etinin protein düzeyleri sırası ile %23,3 ve %18,4 olarak, yağ oranları ise %5,6 ve %11,4 şeklinde bildirilmiştir (Demby ve ark. 1986). Kanatlı etleri kırmızı etlere göre daha fazla doymamış yağ asidi içermekte olup, bu yağ asitlerinden başlıcaları oleik, linoleik ve palmitik asittir. Söz konusu yağ asitleri, toplam yağların %79'unu, doymamış yağ asitlerinin ise %70'ini oluşturmaktadır. Kalori düzeyi göğüs etinde 114 ve but etinde 125 kcal'dir. Tavuk etlerinde karbonhidrat düzeyi, diğer bütün etlerde olduğu gibi çok düşüktür. Inositol, glukoz ve fruktoz tavuk etinde bulunan başlıca karbonhidratlardır. Piliç eti, B vitaminleri ve özellikle niasin bakımından çok zengin bir kaynaktır. Tavuğun ana ürünleri olan tavuk eti ve yumurtanın yanı sıra, kesimhane artıkları da rendering tesislerinde değerlendirilerek et unu, tüy unu, tavuk unu gibi yan ürünler olarak kullanılmaktadır. Bu özellikleri nedeni ile dünya üzerinde

50'den fazla ülkede kanatlı eti üretimi gıda tüketiminin yanı sıra ekonomik olarak da son derece önem taşımaktadır (Roenigk 1999).

2.4. *Listeria monocytogenes*'in Tarihçesi

L. monocytogenes, tarih boyunca *Bacillus hepatis*, *Bacterium monocytogenes*, *Listerella hepatolytica*, *Listerella hominis*, *Listerella monocytogenes*, *Corynebacterium pavvulum*, *Listerella ovis*, *Erysipelothrix monocytogenes* olarak adlandırılmıştır (Gray ve Killinger 1966). Murray ve ark. (1926) tarafından, 1924 yılında Cambridge Patoloji Departman'ında hayvan yetiştirme ünitesinde 6 genç tavşanın aniden öldüğünü gözlemlmeleri sonucunda hastalık tarafından ortaya çıkan ilginç karakteristik özellikleri tanımlamaları ile 1926 yılında ilk kez literatüre girmiştir.

Listeria Alman hastaların doku örneklerinden 1981 yılında tanımlanmış olup; İsveç'te 1911 yılında tavşan karaciğerinden izole edilmiş; 1925 yılında Almanya'da koyunlarda hastalık sendromu olarak kabul edilmiştir (Gray ve Killinger 1966; McCarthy 1990; Wehr ve ark. 1987). *Listeria*, 1924 yılında kobay ve tavşanlardan epizootik nedenseli etken tanımlanmış ve küçük Gram (+) kok *Bacterium monocytogenes* olarak isimlendirilmiştir. Monocytogenes ismi, infekte tavşan hücrelerinde belirgin tek çekirdekten köken almaktadır. İnfekte hayvanların karaciğerinde 1927 yılında saptanmasından dolayı ikinci kez *Listerella hepatolytica* olarak Lord Lister'in onuruna isimlendirilmiştir (Seeliger, 1961). Sonrasında 1940 yılında yapılan taksonomik çalışmalar ile etkenin ismi *Listeria monocytogenes* olarak değiştirilmiştir (Pirie 1940). *L. monocytogenes*, Bergey's Manuel'e göre ilk önce Corynebacteriaceae familyası içerisinde sınıflandırılmış daha sonra *Lactobacillus*, *Brochotrix* ve spor oluşturmayan, Gram (+) çubukçuklar ile birlikte kategorize edilmiştir (Seeliger ve Jones 1986). Günümüzde ise Listeriaceae familyası içinde yer almaktadır.

2.5. *L. monocytogenes*'in Genel Özellikleri

L. monocytogenes Gram (+), fakültatif anaerob, kapsülsüz, spor oluşturmayan doğada yaygın ölçüde bulunan, buzdolabı sıcaklığında ve uygun olmayan şartlarda gelişebilme özelliği olan, fırsatçı ve listeriosis hastalığına neden olan bir bakteridir (Farber ve Peterkin 1991; FSAI 2011; Liu 2006; Murray ve ark. 1926).

Hücre morfolojisi kısa, yuvarlak uçlu çubuk veya kokobasil (0,5-2,0 µm uzunluğunda ve 0,4-0,5 µm eninde) şeklindedir. Optimum gelişme sıcaklığı genellikle 35-37°C olup, suşlar 1-45°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında da gelişme gösterebilmektedir (Juntilla ve ark. 1988; Norrung 2000). Peritrik flagellaları sayesinde 20-25°C'de 24 saat sonunda, kültürlerde aktif olarak hareket etme özelliği olup, 37°C'de hareket daha zayıftır. Ayrıca, halotolerant olmalarından dolayı yüksek konsantrasyonlardaki NaCl (%10-12) varlığında ve aw 0,92 (mutfak tuzunda) bile çoğalabildikleri bilinmektedir (Farber ve Peterkin 1991; Norrung 2000). *L. monocytogenes* inaktivasyonu için 60°C'de 30 dakikalık sürenin gerekli olduğu bilinmektedir (McLauchlin ve ark. 2014).

Cinslerine göre başlıca *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* ve *L. grayi* olmak üzere 6 türe ayrıldığı ve son zamanlarda tanımlanan *Listeria marthii*, *Listeria courtiae*, *Listeria fleischmannii*, *Listeria weihenstephanensis*, *Listeria floridensis*, sp. nov., *Listeria aquatic* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov., *Listeria grandensis* sp. nov., eklendiği bilinmektedir (denBakker ve ark. 2010; denBakker ve ark. 2014). Bu türlerden *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*'nin patojenik olduğu bilinmektedir (Robinson ve ark. 2000). *L. ivanovii* (önceden *L. monocytogenes* serogrup 5 olarak bilinmektedir) başlıca hayvanlarda patojen olup, nadiren insanlarda patojenite oluştururken; *L. monocytogenes* hem insan ve hayvanları infekte etmektedir (Low ve Donachie 1997).

2.6. *L. monocytogenes*'in Genetik Özellikleri

Son zamanlarda yapılan moleküler çalışmalarla *Listeria* türlerinin gen büyüklüklerinin 2,7 ile 3 milyon baz arasında değiştiği tespit edilmiştir. Toplam gen dizilimlerinin yaklaşık %89'nun kodlandığı ve bu kodlanan genlerin %62,5 oranındaki kısmının bir fonksiyonu olduğu tespit edilmiştir. *Listeria* suşları ve serogruplarının kendilerine özgü genlerinin haricinde *Listeria* türlerinin gen organizasyonlarında ve içeriklerinde yüksek bir benzerlik bulunduğu saptanmıştır. *Listeria* cinsinin başlıca patojen türü olan *L. monocytogenes*'in tüm kromozomu 2.944.528 baz çifti büyüklüğünde ve halka formunda olduğu, *L. innocua* ise 3.011.209 baz çifti büyüklüğünde gene sahip olduğu, *L. monocytogenes* geninin G+C nükleotidlerinin oranı %39, *L. innocua*'nın ise %37 olduğu, ayrıca her iki *Listeria* türünde de çevreye adaptasyonu kolaylaştıran, yüzey, sekresyon, transport proteinlerini ve transkripsiyon

düzenleyici proteinlerini kodlayan çok sayıda gen bulunduğu bildirilmektedir (Glaser ve ark. 2001; Hain ve ark. 2007).

2.7. *L. monocytogenes*'in Gelişim ve Canlılığının Devamı

L. monocytogenes'in yükseltilmiş sıcaklık ve buzdolabı sıcaklığında diğer bakteriler gelişemezken *L. monocytogenes*'in hızlı gelişebildiği, düşük pH değerini tolere ettiğini (Gandhi ve Chikindas 2007) ve pH 5,2, %25-30 NaCl ve alkol ortamında hayatta kalabildiğini bildirmiştir (Phan-Thanh ve ark. 2000).

2.7.1. Düşük ve Yüksek Sıcaklıklarda Hayatta Kalma

L. monocytogenes 2-45°C sıcaklık aralığında büyüme ve gelişme yeteneğine sahiptir. Buzdolabı sıcaklığında hayatta kalma ve büyüme özelliğinin kontrolü zor olması gıda patojeni olmasına neden olan birçok faktörden ikisidir (Recourt ve Cossart 1997).

2.7.2. Membran Bileşimini Değiştirme

Hücre membranında yağ asitleri zincirinde oluşan kısalma, komşu zincirler arasında karbon-karbon etkileşimini azaltmaktadır ve bu durum düşük sıcaklıkta gelişim için membran akışkanlığını optimum olmasını sağlamaktadır (Beales 2004).

Düşük sıcaklığa yanıt olarak, sıcaklık 7°C'den aşağı düştüğü zaman, ana değişimlerden biri C15:0 oranındaki artış olup, aynı zamanda düşük sıcaklıkta gelişmenin membran akışkanlığını güçlendirmeye yardımcı olan doymamış yağ asitlerindeki artışa neden olduğu belirlenmiştir (Beales 2004). Annous ve ark. (1997) aynı zamanda 20°C'den 5°C'ye düşen sıcaklıkların yağ asitlerinde kısalmaya (C17:0'de azalma) neden olduğunu ve tersi yönde ise dallanma (i-C15:0 to a-C15:0) oluşturduğunu bildirmiştir. Yağ asidi zincirlerinin uzunluğundaki kısalmanın, hücre membranındaki komşu zincirler arasında karbon-karbon etkileşimini azalttığı ve bu durumun düşük sıcaklıklarda membran akışkanlığının optimum derecede kalmasına yardımcı olduğu açıklanmıştır (Beales 2004).

2.7.3. Protein İndükleme ve Gen Ekspresyonlarındaki Değişimler

L. monocytogenes'in düşük sıcaklık koşullarına yanıt olarak soğuk şok proteinlerini (Csps) ürettiği ve düşük sıcaklıkta büyümenin dengelenmesini soğuk şok uyum proteinleri (Caps) ile sağladığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Bayles ve ark. 1996). Ortama uyum süresi boyunca 10°C ile 37°C'de büyümeleri karşılaştırıldığı

zaman, düşük sıcaklıkta sentezlenen tanımlı RNAs'larda mikrobiyal gen ekspresyonunda değişimlerin olduğu gözlemlenmiştir. *L. monocytogenes*'in düşük sıcaklıklar altında gelişimi boyunca zarar gören proteinlerin onarılması amacıyla şaperon proteazları (GroEL, ClpP ve ClpB) üretimi için mRNA ekspresyonunun artış gösterdiği görülmüştür (Liu ve ark. 2002).

2.7.4. Kryoprotektanlar Benzeri Uygun Çözünmüş Maddeler

Hücre duvarında bulunan glisin, betanin, karnitin gibi çözünmüş aminoasitlerin soğuk stres altında kriyoprotektan olarak anahtar rol oynadığı ve bu özelliğinin buzdolabı sıcaklığında gelişimleri boyunca uygun çözünmüş maddelerin bir araya gelerek ve hücre içine alındığı saptanmıştır. Soğuk stres altında glisin betain transportu başlıca glisin betain taşıyıcı II (Gbu) tarafından yapılırken, Gbu aracılığıyla yapılan betain alımı soğuk stres altında hücrelerin büyümesini stimüle etmektedir. Glisin betain taşıyıcı I (BetL) ve karnitin taşıyıcı (OpuC) betain alımında düşük rol oynamaktadır. Soğuk stress altında donmaya karşı koruyucu etki, OpuC tarafından sağlanmaktadır (Angelidis ve Smith 2003). Gbu, ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcı olarak bilinmektedir. Osmotik basıncın artması veya sıcaklığın azalmasıyla aktive edilmektedir (Gerhardt ve ark. 2000; Ko ve Smith 1999). BetL, sodyum iyonlar ile glisin betain kotransportunda rol oynayan yüksek oranda osmotik basınçla aktive edilen ikincil taşıyıcıdır (Gerhardt ve ark. 1996; Sleator ve ark. 1999). OpuC ise ABC taşıyıcısı olup, osmotik ve soğuk strese yanıt olarak karnitini taşımaktadır (Angelidis ve ark. 2002; Fraser ve ark. 2000; Sleator ve ark. 2001). Aynı zamanda düşük sıcaklıklarda bu osmolit taşıyıcıların olmamasının *Listeria* gelişimini azalttığı görülmüştür (Raines ve ark. 1968).

2.7.5. Asit Stresi Altında Hayatta Kalma

L. monocytogenes asidik gıdalarda makrofaj fagozumu ve mide içeriği boyunca düşük pH'a maruz kalmaktadır (Cotter ve Hill 2003). Uygun olmayan bu şartlar altında, stres adaptasyon mekanizması aracılığıyla yaşam aktivitelerini sürdürmeye devam etmektedir. *L. monocytogenes* hafif asidik pH 5,5 maruz kalması durumunda asit tolerans yanıt mekanizmasını (ATR) indükleyerek, hücrenin sert asit şartlarına dirençli olmasını sağlamaktadır (O'Driscoll ve ark. 1996). Diğer taraftan, asidik pH'a patojen hücrenin maruz kalması durumunda asit yanıtı hücrede bazı değişimleri de kapsamaktadır. Yapılan çalışmalar, aside adapte edilmiş *L. monocytogenes* (pH 5,2, 2

saat) sıcak şoku (52°C), osmotik şok (%25-30 NaCl) ve alkol stresine karşı aktif rol oynadığı gözlemlenirken, aynı zamanda diğer faktörlere karşı da çapraz koruma sağladığı belirtilmiştir (Phan-Thanh ve ark. 2000).

Aside adapte edilmiş hücrelerin diğer stres faktörlerine karşı çapraz direnci gıda endüstrisinde, özellikle proses boyunca subletal asit uygulamaları ile karşılaşmasından dolayı önemli bir değer oluşturduğu düşünülmektedir (van Schaik ve ark. 1999).

2.7.5.1. Protein İndüksiyonu

Hücrenin aside maruz kalması, hücrede bazı değişimleri beraberinde getirmektedir. Letal ve letal olmayan asidik koşullarda (asit adaptasyonu) protein ekspresyonunu araştırılmıştır. Proteinlerin büyük bir kısmı lethal pH maruz bırakılan hücreleri indüklemesine rağmen, indüklenen proteinlerin büyük bir çoğunluğunun genel olarak her iki pH koşullarında aynı olduğu gözlemlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda *Listeria* gelişimi boyunca, asit stresi altında GroEL proteinin indüklendiği ve maruziyet süresince artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, indüklenen diğer proteinlerin ATP sentetaz ve farklı transkriptonal düzenleyiciler olduğu bildirilmiştir (Phan-Thanh ve Mahouin 1999).

2.7.5.2. pH Dengesi

Mikroorganizmalar hücre membranından karşıya proton transfer ederek pH homeostasis mekanizması aracılığıyla intrasitoplazmik pH'ı korumaktadır. Aerobik mikroorganizmalarda, H⁺ aktif transportu solunum sisteminde elektron sistemi ile uyumaktadır. Diğer yandan anaerobik bakteriler ATP hidrolizinden enerji kullanarak H⁺ ve ATPase molekülleri aracılığıyla H⁺ transportu yapmaktadırlar. Bu noktada, *L. monocytogenes* fakültatif anaerobik bakteri olması nedeniyle her iki pH homeostasis mekanizmasını kullanabilmesi ayrıcalık getirmektedir (Shabala ve ark. 2002).

2.7.5.3. Glutamat Dekarboksilaz Sistemi

L. monocytogenes asit stresinde mücadele ederken glutamat dekarboksilaz sistemi (GAD) kullanmaktadır. GAD sistemi üç genden oluşmaktadır: *gadA*, *gadB* ve *gadC*. Bu bağlamda, *gadA* ve *gadB* genleri iki glutamat dekarboksilaz ve *gadC* geni glutamat/γ-aminobütirat anti taşıyıcı için kodlama yapmaktadır (Cotter ve ark. 2001).

Bu durum glutamatın sitoplazmada dekarboksilazı, γ-aminobütirat üretimi ve intrasellüler protonun kullanımı ile sonuçlanmasından oluşan mekanizmanın spesifik

taşıyıcılar ile hücreye alınmasından oluşmaktadır. γ -aminobütirat hücre membranında yerleşmiş olan anti taşıyıcılar ile hücreden dışarı alınmaktadır. Hücreden proton kaybı, çevreye alkali γ -aminobütirat'ın salınımı ve sitoplazma pH'ında artış ile sonuçlandığını göstermiştir (Small ve Waterman 1998).

Cotter ve ark. (2001) tarafından sentetik insan ve domuz mide sıvısı kullanarak mide geçişi boyunca *L. monocytogenes*'in GAD sisteminin asit direncinde rolü araştırılmıştır. Araştırmacılar, glutamat ilavesinin mide sıvısında *L. monocytogenes*'in hayatta kalma süresini arttırdığını gözlemlemiştir. *gadA*, *gadB* ve *gadC* geninin uzaklaştırılması durumunda ise düşük pH altında suşların duyarlılığının arttığı görülmüştür. Bu durum, GAD sisteminin *L. monocytogenes*'in asit direnci için hayati önem taşıdığını, mide içeriğinden ve infekte bağırsak boyunca başarılı bir şekilde geçiş yapabildiğini ortaya koymuştur (Cotter ve ark. 2001).

2.7.5.4. İki Bileşenli Düzenleme Sistemleri

İki bileşenli düzenleme sistemi, sırasıyla yanıt düzenleme ve histidine kinaz kodlayan *lisR* ve *lisK* genleri *L. monocytogenes*'de tanımlanmıştır. Bu iki bileşen, sinyal aktarım sistemleri membrana ilişkili histidine kinaz aracılığıyla düşük pH, oksidatif ve etanol stress gibi değişimleri algılayabilir ve yanıt düzenleyici gen ekspresyonlarını değiştirerek yanıtın hücreye erişimini engellemektedir (Gahan ve Hill 1999).

Yapılan çalışmalarda, *LisKR* sinyal iletim sisteminin *Listeria*'da virulens gen ekspresyonlarının düzenlemesi ve düşük pH gibi streslere yanıtları kapsadığını göstermiştir (Cotter ve ark. 2001). Birçok gıdanın asidik pH gıda kaynaklı patojenlerin gelişimini önlemeye yardımcı birçok faktörden biridir. Bununla birlikte, asit tolerans yanıtı kısmen gıda prosesi boyunca ilişkili olduğu ve yumuşak asidik ortamların daha sert asidik ortamlara dirençli olabileceği düşünülmektedir. Asidik gıdaların farklılığında hayatta kalmalarını karşılaştırmak için aside adapte edilen ve edilmeyen *L. monocytogenes* kullanılmıştır (Gahan ve Hill 1999). pH 3,5'e (3 M laktik asit) uzun süreli maruz bırakılan izole edilen yapısal asit tolerant mutant, asidik gıdalarda patojenin hayatta kalmalarını araştırmak için kullanılmıştır (O'Driscoll ve ark. 1996). İlgili çalışmada, asit adapte edilmiş *L. monocytogenes* ve asit tolerant mutant laboratuvar ortamında yapılan cottage peynir ve ticari doğal yoğurtta hayatta kalmanın daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Asit tolerant mutantın çeddar peyniri gibi sert peynir

olgunlaştırma boyunca direncin güçlendiğini ve olgunlaştırmanın 70. gününden sonra hücrelerin sayısında belirgin iyileşme olduğu ifade edilmiştir (Gahan ve ark. 1996).

2.7.6. Osmotik Stres Altında Hayatta Kalma

Mikroorganizmaların hayatta kalabilmeleri için, değişen çevre şartlarını algılamaları, uyum sağlamaları, gelişimleri ve yaşam faaliyetlerini sürdürmeleri gerekmektedir. Osmotik stres şartları altında, mikroorganizma “osmoadaptasyon” olarak adlandırılan hem fizyolojik değişim hem de gen ekspresyon değişimleri geçirmektedir (Hill ve ark. 2002).

Tuz kullanımı, gıda endüstrisinde gıdaların daha uzun süre muhafaza edilmesi amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Aynı zamanda, koruyucu, baharat, renk ve tekstür koruyucu, fermentasyon düzenleyici ve mikroorganizma gelişimini engelleyici özelliktedir (Doko ve ark. 2010).

2.7.6.1. Proteinlerin İndüklenmesi

Listeria’nın tuzu tolere etme mekanizmalarından biri, farklı proteinlerin sentezini artırıp azaltarak gen ekspresyonlarını değiştirmektir (Duche ve ark. 2002a). *L. monocytogenes*’in tuz stresi ile indüklenmesinden sonra 2-D jel elektroforezis kullanarak proteinlerin ekspresyonları üzerine yoğunlaşarak, tuz stresi ile indüklenen yaklaşık 12 protein tanımlanmıştır. Benzer diğer iki çalışmada, Csp ve Cap soğuk şoka yanıt olarak indüklenen protein grupları hızlıca tuz şok proteinleri (Ssps) tanımlanmıştır. Ayrıca, kısa sürede aşırı stres uyum proteinleri (Sap) üretilmiş ve şartlar normale döndükten birkaç saat sonraya kadar üretilmeye devam etmiştir (Bayles ve ark. 1996; Duche ve ark. 2002a).

İki genel stress proteinleri (DnaK ve Ctc) *L. monocytogenes*’de indüklenen Ssps (tuz şok proteinleri) arasında tanımlanmıştır. DnaK, sıcak şok proteini ve hücre proteinlerini stabilize etme fonksiyonlarını yapmaktadır. Tanımlanan 11 Saps (stres uyum proteinleri) arasında GbuA, glisin betain taşıyıcısı için tuz stresi altında osmoprotektant rol oynamaktadır (Duche ve ark. 2002a; Duche ve ark. 2002b; Gardan ve ark. 2003). Ctc proteinin tuz stresine yanıt olarak indüklenmesinden itibaren osmotik stres altında bu proteinin rolü araştırılmıştır. Ctc geni medyumunda glisin betain ve karnitin gibi osmoprotektanların yokluğunda yüksek osmolariteye *L. monocytogenes* direnç geliştirmektedir (Gardan ve ark. 2003).

2.7.6.2. Osmoprotektan Olarak Uyumlu Çözünmüş Maddeler

Osmoadaptasyonda çözünmüş maddelerin rolü hakkında bazı çalışmalar yapılmış olup, hücre fonksiyonları etkilemeksizin hücre içine yüksek oranda çözünmüş maddenin akümüle olduğu görülmüştür. *L. monocytogenes*'de osmoprotektan olarak glisin betain, prolin betain, asetil karnitin, karnitin, Y-bütrobetain ve 3-dimetilsulfopropiyonat varlığı, osmoprotektan kullanılmaksızın baskılanmış hücrelerle karşılaştırıldığı zaman tuz ile baskılanan hücrelerin büyüme oranının 2,6 kat yüksek olduğu saptanmıştır. (Bayles ve Wilkinson 2000).

2.8. Listeriosis

Uzun yıllardan beri hayvanlar için patojen olarak bilinen *L. monocytogenes*, son zamanlarda gıda ürünlerinin kontaminasyonu sonucu gıda kaynaklı insan patojeni olarak hayati rol oynamaya başlamıştır (Fleming ve ark. 1985; Linnan ve ark. 1988; Schwarz ve ark. 1988). Listeriosis nadir görülmesine rağmen ortalama %20-30 oranından tedavi edilmeyen nörolojik hastalıklarda %70'e varan değişken yüksek mortalite oranı ile dolayı halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (CFSPH 2005; Low ve Donachie 1997; Mead ve ark. 1999).

Gıda kaynaklı listeriosis vakalarında çevresel bulaşmanın yanı sıra *Listeria* türlerinin psikrotrofik olmaları, üreme ısılarının geniş olması, besinden yoksun ortamlarda üreyebilmeleri ve düşük pH, tuz, nitrit ve aw gibi faktörlere karşı dirençli olmaları hastalığın yayılmasında etkili olmaktadır (van Schaik ve ark. 1999). Kontamine olmuş gıda tüketimi, sporadik ve epidemik insan listeriosisinde birincil infeksiyon kaynağı oluşturduğu bilinmektedir (Schleich ve ark. 1983).

L. monocytogenes ile kontaminasyonun daha çok kesimhanelerde ve gıdaların işlenmesi aşamasında şekillendiği, ayrıca kesim işlemi sonrası *L. monocytogenes* prevalansının kesim öncesine göre %70-100 arttığı bildirilmiştir (Van Der Elzen ve Snijders 1993). Özellikle kanatlı işleme tesislerinde kesim işlemi sonrası kontaminasyonun önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir (Cox ve ark. 1997; Ojeniyi ve ark. 2000). Sporadik salgınlarının %11'inin buzdolabından alınan gıdaların olduğu ve buzdolapların %64'ünün en az bir kere gıda ile kontamine olduğu bildirilmiştir (Pinner ve ark. 1992; Schuchat ve ark. 1991).

İnsanlarda listeriosis üzerine mevsimsel tablo ilişkisi için açık bir tablo olmazken; yaz sonu ve erken son baharda belirgin olarak prevalansın arttığı bilinmektedir (Kessler ve Dajani 1990; McLauchlin ve ark. 1991).

Son yıllarda, bazı Avrupa ülkelerinde listeriosis artış gösterdiği ve bu artışın başlıca 65 yaş ve üzeri yaşlı bireylerde bakteriyemik listeriosis olarak saptandığı bildirilmektedir (Allerberger ve Wagner 2010).

Koopman ve ark. (2013), *L. monocytogenes* kaynaklı meningitis vakalarının durumunu incelemesi sonucu, 1998-2002 yılında %27 oranında iken; 2006-2012 yıllarında %61'e yükseldiğini bildirmiştir.

Thonnings ve ark. (2016), Almanya'da 1997-2002 yıllarını kapsayan çalışmada bakteriyemi ve meningitise yakalanan 231 hastanın 57'sinin meningitis, 76'sının bel fonksiyonu kaybının olduğu, 174'ün bakteriyemiye yakalandığı bildirilmiştir.

2011-2015 yılları arasında Avrupa Birliği ülkelerinde 3,600 vakanın bildirildiği, doğrulamalar sonucu %71,8'nin septisemi, %19,4'ünün meningitis olduğu belirtilmiştir (EFSA 2017).

Ülkemizde ise listeriosis sıklıkla rastlanan klinik tablo ishal olmakla birlikte, bakteriyemi, menenjit, beyin absesi, endokardit, osteomyelit veya pnömoni görülmektedir. İmmün yetmezlikli hastalarda en sık (%52) bakteriyemi saptanırken, sağlıklı hastalarda ise sinir sistemi semptomları (SSS) enfeksiyonu (%64) görülmektedir (Doğanay, 2003; Kessler ve Dajani 1990). 1987-2001 yılları arasında Türkiye'den bildirilen listeriyozis tanısı konulan 32 olgunun 11'inin sağlıklı olduğu, 3'ünün çocukluk yaş grubunda ve %66'sının menenjit olduğu bildirilmiştir (Doğanay 2003). *L. monocytogenes*'e bağlı SSS tutulumu en sık menenjit, meningoensefalit, spinal kord absesi ve beyin absesi olarak bildirilmiştir (Doğanay 2003, Midi ve ark. 2005).

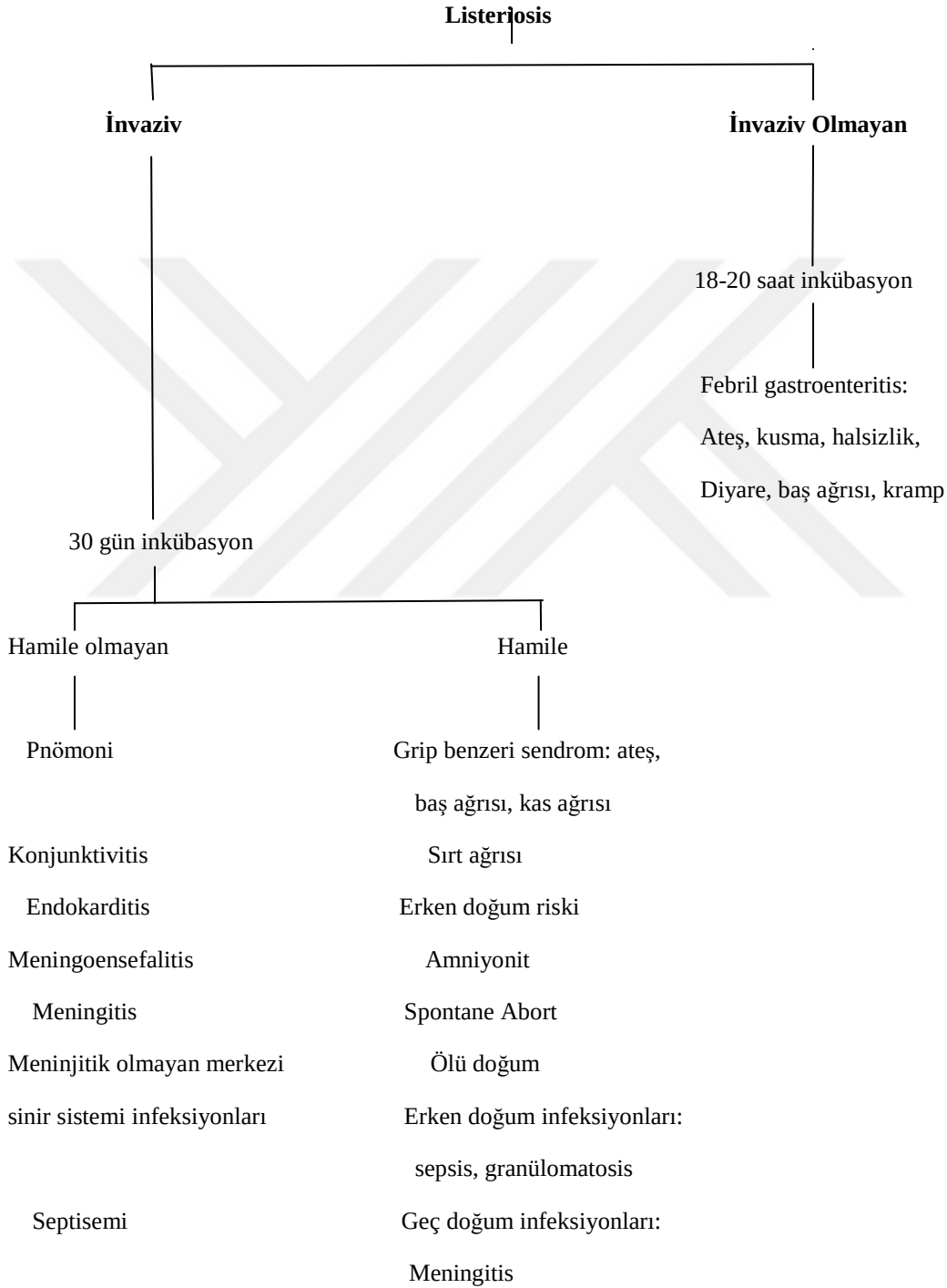
Listeriosis, invaziv listeriosis ve non-invaziv listeriosis olmak üzere iki formu bulunmaktadır (Donnelly 2001).

2.8.1. Non-invaziv Listeriosis

İnvaziv listeriosise göre semptomları daha hafif olup, gastroenteritis ile ilişkili rahatsızlık oluşturmaktadır (Schlech 1997). Etkene maruz kalmayı takiben 11 saat ile 1 haftaya varan inkübasyon sonrasında en genel semptomları ateş, diyare, kas-eklem ve baş ağrıları ile karakterizedir (Salamina ve ark. 1996).

2.8.2. İnvaziv Listeriosis

Listeriosis'e %70'den fazla maruz kalanlar ve yüksek risk grubunda bulunanlar yaşlılar, kanser hastaları, immünsüpresif terapi gören, alkol kullanan bireyler, otoimmün hastalıkları olan, karaciğer ve renal hastalıkların son evresinde olanlar, şeker hastaları ya da diyabetli hastalardan oluşmaktadır (Goulet ve ark. 2012; Mook ve ark. 2011).



Şekil 2-1: Yetişkin listeriosis ile ilişkili invaziv ve invaziv olmayan sendromların karakterizasyonu (Donnelly 2001)

Listeriosiste invazyona neden olan infeksiyon dozu kesin olarak bilinmemekle birlikte (Rocourt ve ark. 2000), gıda kaynaklı birkaç sporadik vaka ve ufak çaplı salgınlar incelenmesi üzerine, *L. monocytogenes* kontaminasyonu, şüpheli bireylerde 100 kob/g'dan daha düşük dozun infeksiyona neden olduğu (Rorvik ve ark. 2000; Swaminathan ve Garner-Smith 2007) ayrıca popülasyonun %5-10 oranında asemptomatik taşıyıcı olduğu bildirilmektedir (Minea ve ark. 2005).

Amerika Birleşik Devletleri'nde rutin görüntüleme ve sörveyans sistemi sıklıkla listerial kontaminasyonda olası tehlikeleri göz önünde bulundurarak riskli gıda ürünlerini geri çağırılmaktadır (Janakiraman 2008). Bununla ilgili olarak, 2016 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 47.112.256 pound (1 pound = 453,59237 gram) miktarında işlenmemiş bir çok ürünün *L. monocytogenes* kontaminasyonu olasılığı göz önünde bulundurularak geri çağırma yapıldığı bildirilmiştir (Machuca 2016).

Listeriosis nadir olmasına rağmen hastalık sık ve şiddetli bir şekilde yüksek oranda mortalite ve hospitalizasyon ile sonuçlanmaktadır (Tablo 2-1). Amerika Birleşik Devletler'inde her yıl gıda kaynaklı 76 milyon vakanın olduğu, 325.000 kişinin hospitalize edildiği ve 5000 kişinin hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Aynı zamanda, bu verilerin 2.500'ünü insan listeriosisinin oluşturduğu, 500 kişinin hayatını kaybettiği ve %99'nun gıda kaynaklı olduğu bilinmektedir (Mead ve ark. 1999). Avrupa Birliği ülkelerinde doğrulanan insan listeriosis vakası 2012 yılında 2011 yılına oranla %10,5 artış göstermiştir (EFSA&ECDC 2016). 2014 yılında ise 2013 yılı ile karşılaştırıldığı zaman %30 artış göstererek 2,161 olarak saptanmıştır (EFSA&ECDC 2015).

Tablo 2-1: Avrupa Birliği’nde insanlarda doğrulanan zoonoz hastalıkların bildirilen vaka-ölüm oranı ve hospitalize edilen hasta sayıları, 2014 (EFSA 2015)

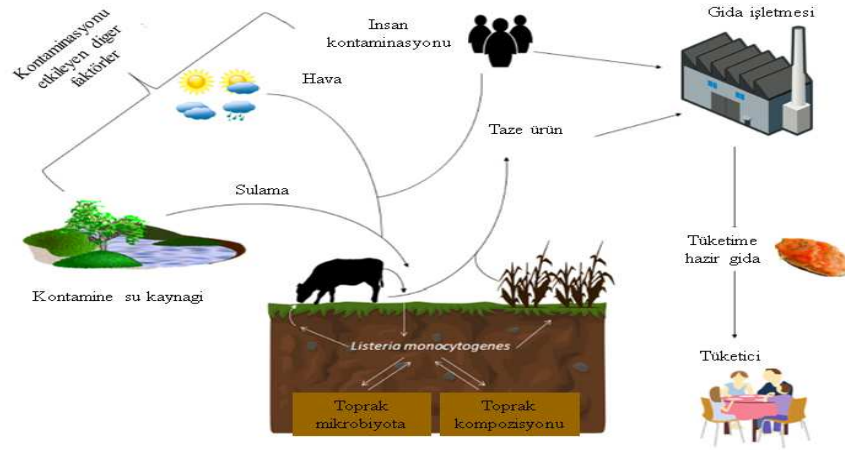
Hastalık	Hospitalizasyon (%)	Ölüm (%)
Campylobacteriosis	30,4	0,01
Salmonellosis	34,4	0,1
Yersiniosis	44	0,1
VTEC infeksiyonu	39,2	0,2
Listeriosis	98,9	15
Echinococcosis	63,5	0,5
Q-Fever	NA	0,2
Brucellosis	66,1	0
Tularaemia	40,7	0
Trichinellosis	63	0,9
West Nile Fever	94,1	13,7
Rabies	NA	100

*NA-Bu hastalıklar için toplanan bilgiler uygulanabilir değildir.

2.9. Çevrede *L. monocytogenes* Varlığı

L. monocytogenes çevrede geniş bir alanda bulunma özelliği göstermekle birlikte su, silaj, lağım suyu, mezbaha atıkları, sağlıklı ve mastitisli ineklerin sütleri, insan ve hayvan dışkısında olduğu gibi pek çok yerde mevcuttur (Farber ve Peterkin 1991).

Diğer yandan ise sıklıkla hem hayvan (balık dahil) hem de bitki orijinli çiğ gıdalarda ve işleme sonrasında kontaminasyon ile pişmiş gıdalarda da bulunabilmektedir. Bununla birlikte, çiğ ve pastörize edilmiş süt, peynir, dondurma, çiğ sebze, fermente edilmiş et ve pişirilmiş sosis, çiğ ve pişmiş kanatlı eti, çiğ et, çiğ ve dumanlanmış deniz ürünlerinden izole edildiği bilinmektedir. Ek olarak, doğada geniş yayılım göstermesi *L. monocytogenes*’in varlığı ve dayanıklılığında ve gıda işleme çevrelerinde potansiyel kontaminasyon kaynağı olarak rol oynamaktadır (Jami ve ark. 2014; Nakari ve ark. 2014; Vongkamjan ve ark. 2013).



Şekil 2-2: *L. monocytogenes* infeksiyon döngüsü (NicAogáin ve O’Byrne 2016)

Belirtilen çevrelerin hepsi taze ve hazırlanmış gıdaların *L. monocytogenes* ile kontaminasyon kaynağı olup, olası listeriosis salgınları açısından önemli derecede halk sağlığı için risk oluşturmaktadır. Bununla birlikte, üretim sonrasında da gıdayı kontamine edebilmektedir. Diğer taraftan, *L. monocytogenes*’in diğer bakterilerden farklı olarak başlıca tuzu tolere etmesi ve buzdolabı sıcaklığında yaşam aktivitelerini sürdürebilmesinden dolayı kontaminasyon için ayrı bir önem taşımaktadır (European Commission 2005; McClure ve ark. 1991).

Bazı suşlar uygun olmayan çevresel koşullarda uzun süre hayatta kalabilme özelliği gıda işleme ekipmanlarında, ilgili su giderlerinde, duvarlarda, tavanlarda ve uygun yerlerde aylarca hatta yıllarca dirençlilik gösterebilmektedir. Bunun bir nedeni olarak, birçok yüzeyde biofilm oluşturabilme özelliğine sahip olması gösterilmektedir (Kathariou 2002; Mead ve ark. 1999).

Artan nüfusun gıda ihtiyacını karşılamak amacıyla, gıda endüstrilerinde *L. monocytogenes*’in kontrolü oldukça zor olan bir bakteri olup çevre veya kontamine olmuş ham materyal yoluyla gıda işletmelerine girdiği belirtilmiştir (Uyar ve ark. 2015).

2.10. Gıda Maddelerinde, Gıda İşletmeleri ve Çevresel Örneklerde *L. monocytogenes* Varlığı ile Dayanıklılığı

L. monocytogenes sadece toprak, bitki ve hayvan atıklarında bulunmayıp, doğada geniş ölçüde bulunan saprofitik bir bakteridir (Welshimer 1960; Weis ve

Seeliger 1975). Listeriosis vakalarında sıklıkla kanatlı eti, süt ürünleri, iyi pişirilmemiş et, tütülenmiş balık, fermente edilmiş et ürünlerinin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Lambertz Thisted ve ark. 2013; Lomonaco ve ark. 2013; Todd ve Notermans 2011).

Gıda işletmelerinde *L. monocytogenes* varlığı ve dayanıklılığı iyi bilinmesine rağmen çok iyi anlaşılamamaktadır (Carpentier ve Cerf 2011; Leong ve ark. 2014; Lomonaco ve ark. 2009). Oluşan bu dayanıklılık gıda kontaminasyonunda, gıda güvenliğinin bozulmasını artıran risk faktörü olup halk sağlığını büyük ölçüde etkilemektedir (Pricope ve ark. 2013). Gıda işletmelerinde yıllardan beri sıklıkla *L. monocytogenes* dayanıklılığı görülmektedir (Tompkin 2002). Ayrıca, hem bitki hem hayvan orijinli (balık dahil) çiğ gıdalarda sıklıkla bulunduğu ve işleme aşamasında oluşan kontaminasyonlardan dolayı pişmiş gıdalarda da saptandığı bildirilmiştir (Leong ve ark. 2016). Direnç gösteren suşlar, geniş ölçüde peynir üretim işletmelerinde saptansa da (Lomonaco ve ark. 2009) aynı zamanda küçük ölçekli işletmelerde (Fox ve ark. 2011) somon balığı işletmelerinde (Vogel ve ark. 2001; Wulff ve ark. 2006), et işleme işletmelerinde (Giovannacci ve ark. 1999; Nesbakken ve ark. 1996) ve kanatlı eti üretim işletmelerinde tespit edilmiştir (Lawrence ve Gilmour 1995; Ojeniyi ve ark. 2000).

Tablo 2-2: 1997-2015 yılları arası gıda kaynaklı başlıca listeriosis salgınları

Yıl	Ülke	Vaka (ölüm)	Gıda tipi	Serogrup	Referans
2001	ABD	16	Hindi eti	1/2a	Frye ve ark. 2002
1997	İtalya	1566	Mısır ve ton balıklı salata	4b	Aureli ve ark. 2000
1986-1987	Pensilvanya	36 (%44)	Dondurma, krem peynir, salam	4b, 1/2a	Schwartz ve ark. 1989
2002	ABD	54 (8)	Hindi eti		Gottlieb ve ark. 2006
1999-2000	Fransa	26 (7)	Domuz dili	4b	Dorozynski 2000
1985	Kaliforniya	142 (48)	Meksika tipi peyniri	4b	Linnan ve ark. 1988
1987-1989	UK-İrlanda	355 (94)	Etli börek (pate)	4b	McLauchlin ve ark. 1991
1996	Güney Avusturalya	5 (1)	Dilimlenmiş tavuk		Hall ve ark. 1996
1979	Maryland	20 (3)	Çiğ sebze ve peynir	4b	Ho ve ark. 1986
2009/2010	Avusturya/Almanya/Çek Cumh.	34 (8)	Peynir (Quargel)	1/2a	Fretz ve ark. 2010
2012	14 ABD eyaleti	20 (4)	Peynir (Ricotta)		CDC 2012
2012	İspanya	2	Taze peynir	1/2a	De Castro ve ark. 2012
2013	5 ABD eyaleti	6 (1)	Peynir (farmstead)		CDC 2013
2014	Kaliforniya, Maryland	8 (1)	Süt ürünleri		CDC 2014
2014/ 2015	12 ABD eyaleti	35 (7)	Karamelli elma	4b	CDC 2015
2015	4 ABD eyaleti	10 (3)	Dondurma		CDC 2015

Yukarıda belirtilen gıda kaynaklı salgınlara ek olarak, son zamanlarda ülkemizde bu konuda geniş ölçekli yapılan çalışmalar incelendiğinde; ülkemizde kanatlı etlerinde *L. monocytogenes* varlığı çalışmalarında ise Ankara ve çevresi kasap ve süper marketlerden alınan 100 adet dana kıymada *L. monocytogenes*'in varlığı açısından %28 pozitif saptamıştır (Şireli ve Erol 1999). Taze hindi etinde (n:180) yapılan diğer bir çalışmada, *L. monocytogenes* pozitif düzeyi %12,7 olarak saptanmıştır (Bilir Ormanci ve ark. 2008). Benzer çalışmada ise, 146 adet kıyma, kanatlı ve kırmızı et olmak üzere alınan örneklerde 79 örnek *Listeria* spp. tespit edilmiş ve bunların 9 tanesi (%6,16) *L. monocytogenes* olarak saptanılmıştır (Yücel ve ark. 2005). Diğer bir çalışmada, 100 adet tüketime hazır gıdalardan toplam 4 adet *L. monocytogenes* suşu pozitif olarak elde edilmiştir (Terzi ve ark. 2015).

Siriken ve ark. (2014), 50 adet karkas ve 66 adet kanatlı eti kısımlarından alınan 116 örnek için 51 adet pozitif *L. monocytogenes* suş elde etmiştir. Bu suşların hepsini moleküler doğrulamalar sonucu 1/2a veya 3a olarak belirlenmiştir. Aras ve Ardiç (2015), Aksaray ilinden rastgele toplanan 115 adet işlem görmemiş çiğ hindi etlerinde 47 adet *Listeria* spp. suşu elde etmiş ve bu suşların %25,53'nün *L. monocytogenes* olarak bildirmiştir. Elmalı ve ark. (2015), Hatay ilinde farklı mevsimlerde toplanan 120 adet tavuk kanat örneklerinde saptanan 57 adet *Listeria* spp.'nin 54 adedini *L. monocytogenes* suşu olarak izole etmiştir.

Son zamanlarda dünya çapında *L. monocytogenes* prevalansı ile ilgili geniş ölçekli yapılan çalışmalar incelendiğinde; İrlanda Cumhuriyeti'nde 48 gıda işletmeleri ve çevrelerinden (18 adet süt, 12 adet et, 8 adet deniz ürünleri, 6 adet taze sebze ve 4 adet çok yönlü gıda işletmesi) toplamda 432 adet gıda ve 1574 adet gıda işletmesi çevre örneği toplanmıştır. Analizler sonucunda, elde edilen izolatlar serogruplandırılarak yapılan PFGE sonucunda ise işletme çevresi için pozitif *L. monocytogenes* prevalansı %4,4, gıda için %5,3 olup toplamda %4,6 olarak belirlenmiştir (Leong ve ark. 2014). Avrupa'da altı farklı ülkeden (Avusturya, İrlanda, İspanya, Romanya, Yunanistan ve Slovakya) et ve süt işletmelerinden 1446 adet gıda ve 2242 adet işletme çevrelerinden düzenli olarak alınan örneklerde sırasıyla %4,3 ve %12,6 oranında *L. monocytogenes* varlığı araştırılması sonucunda pozitif bulunmuştur (Uyar ve ark. 2015). Bununla birlikte üç yıl aralıklarla yapılan örneklemede Estonya orijinli tütülenmiş, taze ve dondurulmuş balıklarda yapılan çalışmada sırasıyla 112/2.075 (%5,4) ve 28/317 (%8,8) (Kramarenko ve ark. 2013) ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 21 farklı süt ve süt ürünleri işletmelerinden alınan 378 örnekte pozitif 99 *Listeria* spp. ve bunların 35 (%35,4)'ünü *L. monocytogenes* (Pritchard ve ark. 1995) ve İtalya'da tüketime hazır gıdalardan 105/1045 (%10) oranında pozitif *L. monocytogenes* varlığı saptanmıştır (diPinto ve ark. 2010).

2016 yılı verilerine göre Avrupa Birliği ülkelerinde rapor edilen ve doğrulanan insan listeriosis vakası 2,536 olup; 2015 yılına göre %9,3 artış göstermiştir. Listeriosis'in geniş ölçüde (>99) bilinmeyen nedenlerle ortaya çıktığı rapor edilmiştir (EFSA&ECDC 2017).

Tablo 2-3: 2012-2016 tarihleri arasında Avrupa Birliği'nde insanlarda rapor edilen invaziv listeriosis olguları (EFSA&ECDC 2017)

Ülke	2016		2015		2014		2013		2012	
	Doğrulan vaka / oran		Doğrulan vaka / oran		Doğrulan vaka / oran		Doğrulan vaka / oran		Doğrulan vaka / oran	
	Vaka	Oran	Vaka	Oran	Vaka	Oran	Vaka	Oran	Vaka	Oran
Avusturya	46	0,5	38	0,4	49	0,6	36	0,4	36	0,4
Belçika	104	0,9	83	0,7	84	0,7	66	0,6	0,8	0,8
Bulgaristan	5	0,1	5	0,1	10	0,1	3	0,04	10	0,14
Hırvatistan	4	0,1	2	0,05	4	0,1	0	0	0	0
Kıbrıs	0	0	0	0	0	0	1	0,1	1	0,1
Çekya	47	0,5	36	0,3	38	0,3	36	0,3	32	0,3
Danimarka	40	0,7	44	0,8	92	1,6	51	0,9	50	0,9
Estonya	9	0,6	11	0,8	1	0,08	2	0,1	3	0,2
Finlandiya	67	1,2	46	0,8	65	1,1	61	1,1	61	1,1
Fransa	375	0,5	412	0,6	373	0,6	369	0,6	346	0,5
Almanya	697	0,9	580	0,7	598	0,7	463	0,6	414	0,5
Yunanistan	20	0,2	31	0,3	10	0,1	10	0,1	11	0,1
Macaristan	25	0,2	37	0,4	39	0,4	24	0,2	13	0,1
İrlanda	13	0,2	19	0,4	15	0,3	8	0,1	11	0,2
İtalya	179	0,3	153	0,2	132	0,2	143	0,2	112	0,2
Letonya	6	0,3	8	0,4	3	0,1	5	0,2	6	0,2
Litvanya	10	0,3	5	0,1	7	0,2	6	0,2	8	0,2
Lüksemburg	2	0,3	0	0	5	0,9	2	0,3	2	0,3
Malta	1	0,2	4	0,9	1	0,2	1	0,2	1	0,2
Hollanda	89	0,5	71	0,4	90	0,5	72	0,4	73	0,4
Polonya	101	0,2	70	0,1	87	0,2	58	0,1	54	0,1
Portekiz	31	0,3	28	0,2	-	-	-	-	-	-
Romanya	9	0,05	12	0,06	5	0,03	9	0,05	11	0,05
Slovakya	10	0,1	18	0,3	29	0,5	16	0,3	11	0,2
Slovenya	15	0,7	13	0,6	18	0,8	16	0,7	7	0,3
İspanya ^b	362	-	206	-	161	-	140	-	109	-
İsveç	68	0,6	88	0,9	125	1,3	93	0,9	72	0,7
Birleşik Krallık	201	0,3	186	0,2	201	0,3	192	0,3	183	0,2
Avrupa Birliği (Toplam)	2,536	0,5	2,206	0,4	2,242	0,46	1,883	0,4	1,720	0,3
İzlanda	0	0	0	0	4	1,2	1	0,3	4	1,2
Norveç	19	0,3	18	0,3	29	0,5	21	0,4	30	0,6
İsviçre ^c	50	0,6	54	0,6	98	1,2	64	0,8	39	0,5

(b): Veri yok (c): İsviçre'nin direkt olarak EFSA'ya sunduğu data

Avrupa Birliği'nde 2008-2016 yılları boyunca doğrulanmış insan listeriosis olgularının mevsimsel olarak yaz aylarında yüksek, kış aylarında daha az pikler yaptığı ifade edilmiştir. 17 Avrupa Birliği ülkesinden alınan hospitalizasyon verilerine göre 2016 yılında doğrulanmış vaka oranının %38 olduğu ve gelen vakaların %97,7'sinin hospitalize edildiği bildirilmiştir. Bu durum, Avrupa Birliği inceleme çalışmaları altında

tüm zoonozlar arasında hospitalize edilen en yüksek oran olduğu ve şiddetli invaziv listeriosis infeksiyonlarının yanı sıra listeriosis için risk gruplarının ne kadar duyarlı olabileceğini de yansıtmaktadır.

2016 yılında 19 Avrupa Birliği ülkelerine ait listeriosis ölümlerinin 247 olarak bildirilmiştir. Gıda kaynaklı listeriosis vakalarına bakıldığında, 2008 yılından bu yana yıllık ortalama 187 kişinin öldüğü belirlenmiştir. Doğrulan 1.524 listeriosis vaka arasından ölüm oranının ise %16,2 olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda, listeriosis vakalarına çoğunlukla 64 yaş üstü gruplarında saptandığı belirlenmiştir. Belirtilen yaş grubunda, listeriosis 2008 yılında %52,9 iken 2016 yılında %61,9'a yükseldiği ve özellikle 84 yaş üstü gruplarda 2008 yılında %7,5 iken 2016 yılında %22 olarak belirlenmiştir (EFSA&ECDC 2017).

Bununla birlikte, vakalar arasında en büyük farklılığının ise cinsiyet ile ilgili olduğu, özellikle de 15-24 ve 24-44 yaşları arasında bayanlarda erkeklere oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır (EFSA 2017).

45 yaş üzeri tüm yaş gruplarında, bayan ve erkekler olarak karşılaştırıldığı zaman ise en yüksek oranın erkeklerde olduğu ve bu oranın ilerleyen yaşla birlikte erkeklerde daha hızlı yükseldiği görülmüştür. Her 100.000 popülasyon için erkekler için oran 3,61 bayanlar için 2,07 olarak kaydedilmiştir (EFSA&ECDC 2016).

2.11. *L. monocytogenes* Suşlarının Serogruplandırılması

L. monocytogenes'i serogruplandırma, öncelikli ve öngörülen uzun zamandır kullanılan bir metottur. Sahip olduğu flagellar (H) ve somatik (O) antijenlerindeki varyasyonlara bağlı olarak serotipler de değişkenlik göstermektedir.

Günümüze kadar tanımlı en az 13 serotip (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7) var olduğu ve 4b ile 4e serotipleri arasında farklı metotlar kullanılmasına rağmen ayırım yapılmasının çok güç olduğu bilinmektedir. Çalışmalar sonucunda, sporadik salgınlara sıklıkla 1/2a ve 1/2c serotiplerinin; büyük çaplı listeriosis salgınlarının %90'ına ise 1/2b, 4b ve 4e serotiplerinin neden olduğu ortaya çıkmıştır. Gıda ve gıda işletme çevrelerinde 4b, 4e, 1/2a ve 1/2c serotiplerinin daha yaygın bulunmasına rağmen, 1/2a serotipinin en yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir (Leong ve ark. 2014; Nucera ve ark. 2010; Shen ve ark. 2013). Bununla birlikte, serogruplandırma suşlar arasında varyasyonlara ilişkin küçük bilgiler vererek (örneğin;

iki suşun aynı olup olmadığı) yanlış yorumlamaya sebep olacak nedenleri ortadan kaldırmaktadır.

Tablo 2-4: *L. monocytogenes* serotipleri ve antijenlerinin reaksiyonları

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

*Parantez içinde belirtilen antijenler farklı reaksiyonlarla sonuçlanmaktadır. O-antijen III her serotip için farklılık gösterdiği için tabloya dahil edilmemiştir.

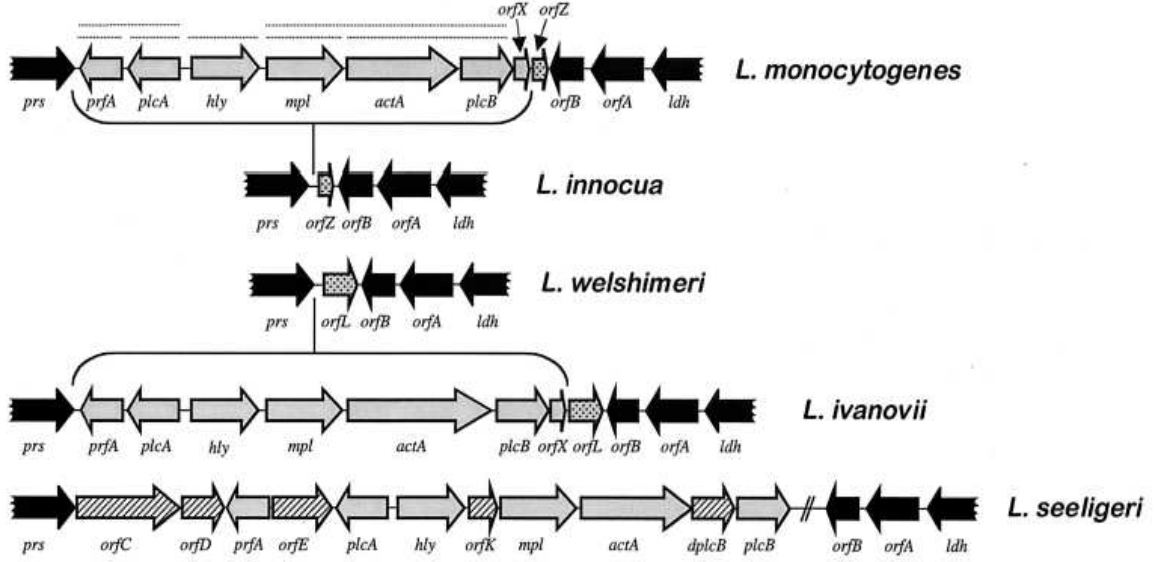
L. monocytogenes'e ait farklı gen bölgeleri içeriklerine dayanarak 3 farklı kökeni (I, II, III) her biri serovarlarla ilişkili 5 filogenetik gruba ayrılmıştır: I.1 (1/2a, 3a) I.2 (1/2c,3c), II.1 (4b, 4d, 4e) II.2 (1/2b, 3b, 7) ve III (4a,4c) (Doumith ve ark. 2004a).

2.12. *L. monocytogenes* Suşlarının Virulens Mekanizması

L. monocytogenes infeksiyonlarının üstesinden gelmek için virulens özellikleri intestinal yol boyunca tanımak, hedef insan hücrelerine tutunması, içeri alınması, gecikmeli fagozom olgunlaşması, sitoplazma içine giriş ve diğer hücreleri infekte yolunu tanımlama, toksin gibi farklı faktörlerin üretimini kontrol etmek gerekmektedir (Camejo ve ark. 2011).

Gıdalarda bulunan *L. monocytogenes* suşları patojenik olmakla birlikte, virulens özellikleri farklılık göstermektedir. Severino ve ark. (2017)'larına göre suşlar arasındaki bu farklılığın *L. monocytogenes* ana geninin farklı ekspresyon ve regülasyonundan kaynaklı olabileceğini bildirmiştir. *L. monocytogenes*'in hücre içi parazit yaşamından sorumlu ilk zamanlarda *hlyA* veya *prfA* bağımlı virulens gen dizisi olarak bilinen ve 9-kb'lık kromozomal ada ile ilişkili başlıca *prfA*, *plcA*, *hlyA*, *mpl*, *actA* ve *plcB* olmak

üzere 6 önemli virulens gen bulunmaktadır (Chakraborty ve ark. 2000; Eva Ng ve ark. 1999) ve günümüzde LIPI-1 (*Listeria* patojenite adası) olarak isimlendirilmektedir (Vazquez-Boland ve ark. 2001a).



Şekil 2-3: *L. monocytogenes* LIPI-1 patojenite adası (Vazquez-Boland ve ark. 2001a)

L. monocytogenes'in merkez virulens gen dizisinin LIPI-1 fiziksel ve transkripsiyonel yapılanması ve diğer *Listeria* spp. türlerinin lokus yapısı incelendiğinde, LIPI-1'e ait genler gri, yan lokuslar ise siyah olarak belirtilmiştir. *L. monocytogenes* LIPI-1 yukarıdaki noktali çizgiler transkript olarak ifade edilmiştir. LIPI-1, *prs* ve *ldh* tarafından sınırlandırılmış kromozomal bölgede yerleştirilmiş ve sırasıyla, fosforibozil-pirofosfat sintaz ve laktat dehidrogenaz referans genleri olarak kodlanmıştır.

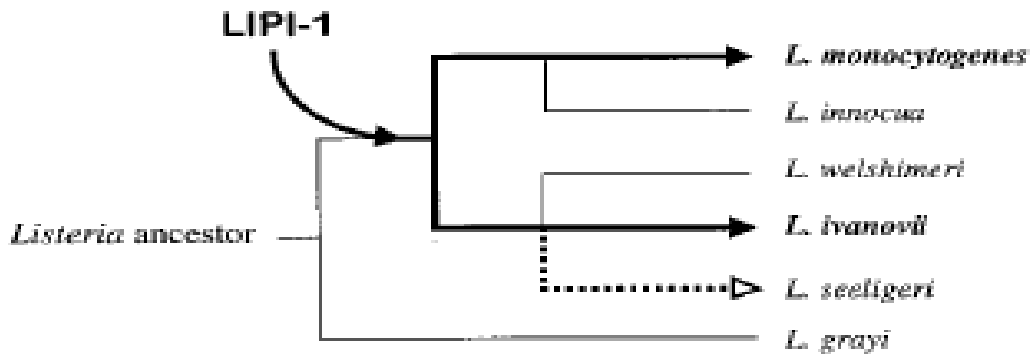
plcB-*ldh* genler arası bölgede *prs* ve *orfB* lokusları arasında LIPI-1'in yerleşim noktasını belirten, iki ORFs (*orfA* ve *orfB*) tüm *Listeria* spp. türlerinde bulunmuştur. *L. monocytogenes*'in *plcB*-*orfB* genler arası bölgede, *L. innocua*'da LIPI-1'in putative kesme noktasıyla sınırlandırılan iki küçük ORFs (*orfX* ve *orfZ* (noktali)) bulunmaktadır. *L. ivanovii*'in *plcB*-*orfB* genler arası bölgede, iki küçük ORFs, *orfX* (*L. monocytogenes*'in *orfX* ürünün homoloğu tarafından kodlanmaktadır. *OrfL* (noktali), aynı zamanda nonpatojenik *L. welshimeri* türlerinde LIPI-1'in kopma bölgelerinden sınırlandırılmakta, LIPI-1 kökensel olarak faj virulens gen aktarımı tarafından kazanıldığı savunulan, *orfZ* ve *orfL* bakteriyofaj proteinlerine önemli derecede benzer

polipeptidlerle kodlanmaktadır (sırasıyla, *Listeria* faj A511'in orf6'sı ve serin/treonin protein fosfotaz) (Chakraborty ve ark. 2000; Vazquez-Boland ve ark. 2001a).

L. seeligeri virulens gen dizisinde ek ORFs bulunmuştur (orfK ürünü fosfaditilinositol fosfolipaz *plcA* ile %39 benzer ve *dplcB plcB* geninin kesilmiş duplikasyon olduğunu göstermektedir) (Vazquez-Boland ve ark. 2001a).

Listeria'nın 16S ve 23S rRNA'nın sekans bazlı filogenetik analizlerin uzaktan ilişkili iki dala ayrıldığını, ilk dalında *L. grayi* ve ikinci dalınının kendi aralarında iki alt dala ayrılarak *L. monocytogenes* ve nonpatojenik *L. innocua*; *L. ivanovii*, ve non-patojenik *L. welshimeri*, *L. seeligeri* olmak üzere ayrıldığı belirtilmiştir (Collin ve ark. 1991; Sallen ve ark. 1996).

Virulens gen dizisinin evrilmeden önce kazanıldığını destekleyen türlerin uzak evrimsel dallarına ait farklı türlerde aynı kromozal LIPI-1 varlığını, kalın çizgiler LIPI-1 tarafından gerçekleşen evrim yolunu; içi dolu oklar *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*'nin fonksiyonel ilişkisini açıklarken; içi boş ok başı ve noktalı çizgiler *L. seeligeri*'nin virulens gen dizisinin fonksiyonel bozulmaya uğradığını, *L. innocua* ve *L. welshimeri*'nin uyumlu evrimsel dallarında LIPI-1'in kesilmesinden kaynaklandığını belirtmiştir (Collin ve ark. 1991; Sallen ve ark. 1996).



Şekil 2-4: *Listeria* türlerine ait merkez virulens gen dizisinin (LIPI-1) evrimi (Vazquez-Boland ve ark. 2001a).

L. ivanovi'nin intrasellüler yaşam siklusunun *L. monocytogenes*'e benzer olduğu (Karunasagar ve ark. 1993) ve LIPI-1'nin kopyasına sahip olduğu görülmüştür (Eva Ng ve ark. 1999; Gouin ve ark. 1994; Vazquez-Boland ve ark. 2001a).

L. monocytogenes ve *L. ivanovii*'nin LIPI-1 genetik yapılarının benzer fakat DNA sekanslarının sadece %73-78 oranında uyumlu olduğu görülmüştür (Eva Ng ve ark. 1999; Vazquez-Boland ve ark. 2001) ve genetik uzaklıklarıyla uyumlu bu farklılık iki türe ayrılmasına neden olmuştur.

L. monocytogenes virulens genleri ve doğrulanan birçok yazılım genlerinin pozitif düzenleyici faktör A (*prfA*) tarafından aktive edildiği (Kreft ve Vazquez-Boland 2001) ve *prfA* geninin memeli konak hücre çevresinde virulens genlerin düzenlenmesinden başlıca sorumlu *prfA* gen olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda, *prfA* geni *L. monocytogenes*'in internalin ailesinin bazı üyelerini kapsayan yüzey proteinleri, patojen ve konak hücre arasında etkileşim oluşması için önemli bir yere sahiptir (Bruno Jr ve Freitag 2010).

PrfA, bakterinin konak hücre sitozolüne girişinde ve hücreden hücreye yayılabilmesi için uyarıcı faktör olup, gen ekspresyonlarının oluşması için zorunlu bir gendir (Freitag ve ark. 1993; Freitag ve Portnoy 1994; Renzoni ve ark. 1997).

L. monocytogenes canlılığını koruyabilmesi için konak hücreye, internalinler olarak isimlendirilen yüzey protein familyasının desteği ile tutunmaktadır (Gaillard ve ark. 1991). Bilinen önemli iki internalin *inlA* ve *inlB* olup; *inlA* (*inlA* tarafından kodlanan 88 kDa ağırlığında bir protein) *L. monocytogenes*'in epitelyal hücrelere girmesinde rol oynayan e-kadeverin ile etkileşime girmek için; *inlB* (*inlB* tarafından kodlanan 65 kDa protein) ise konak hücrenin hepatosit, fibroblast, makrofaj ve epitelioid gibi geniş ölçüde hücrelere girmek için C1q-R (veya Met)'i etkinleştirmektedir. Konak hücreye girmeyi başaran *L. monocytogenes* hücreleri konak immüne sistemi sürveyans sistemini tahrip etmeye başlamaktadır (Vazquez-Boland ve ark. 2001b).

L. monocytogenes'in konak hücreye alınmasını takiben *L. monocytogenes* ilk olarak tek membranlı vakuole yerleşmektedir (Şekil 2-5). *L. monocytogenes* virulens ilişkili moleküller, ilk aşamada tek membranlı vakuolün lizisinden sorumlu olup ve takiben listeriolisin O (LLO) ve fosfatidilinositol-fosfolipaz C (PI-PLC) salınmasını sağlamaktadır (Portnoy ve ark. 1992).

Listeriolysin O (LLO), (*hylA* tarafından kodlanan 56-kDa sitolizin), bakterinin sitoplazmaya girişi ve fagozomdan kurtuluşunda önemli rol oynayan (Cossart ve ark. 1989), *L. monocytogenes*'in virulensi için zorunlu, thiol ile aktive edilen, belirli yapısal özellikleri olan kolestrole bağlı gözenek oluşturan bir toksin olup (Gekara ve ark. 2010),

hemolitik aktivite özelliği ile (Schuerch ve ark. 2005) por oluşumunda rol oynamaktadır (Portnoy ve ark. 1992). Bu özellik, makrofaj gibi profesyonel fagosit hücrelerinde bile hücre içi öldürme yeteneği ve bakteriyel replikasyona olanak sağlamaktadır (Cossart ve ark. 1989).

Diğer yandan, bu hemolizin geni diğer virulens gen dizilerinin içerisinde yer alan antioksidant faktör olarak rol oynayan süperoksit dizmutaz enzimi (SOD) ve katalaz üretmesine yardımcı olarak fagolizozom içerisinde bakterinin canlılığını sürdürebilmesinde, fagositik oksidatif etkilerin nötralize edilmesinde hayati rol oynamaktadır (Vazquez-Boland ve ark. 2001b).

Bakterinin epitel hücrelere invazyonu takiben bakteri hücrede vakuolle çevrenmekte ve LLO bulunduğu yerde çoğalarak hücre sıvısına girerek vakuolü parçalamaktadır. Bu lize etme mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, vakuoldeki düşük pH'ın neden olduğu LLO'nun etkisi olduğu düşünülmektedir (Meyer-Morse ve ark. 2010). LLO, T hücrelerinin sinyallerini bloke ederek T hücre aktivitesini ve enfeksiyona karşı immun yanıtı baskılamaktadır (Gekara ve ark. 2010). Aynı zamanda, LLO hücrenin doğal davranışını daha çok değiştirerek mitokondriyal parçalanmasına neden olmakta ve normal hücre immun yanıtını bozarak enfeksiyonu ilerletmektedir (Stavru ve ark. 2011).

Patojenik *Listeria* spp.'lere ait üç farklı fosfolipaz C enzimi (*plcA*, *plcB* ve *SmcL*) olup bunlardan iki tanesinin *L. monocytogenes* ile ilişkili olduğu bilinmektedir. PI-PLC, fosfaditilinositol-fosfolipaz C, (*plcA* tarafından kodlanan 33 kDa protein) ve PC-PLC, fosfatidikolin-fosfolipaz C, (*plcB* tarafından kodlanan 29 kDa protein) ile sinerjik olarak etki ederek, ilk vakuol lize edilme aşamasında LLO'a yardımcı olmaktadır. Böylelikle ilk tek membranlı vakuollerin lizisinden sonra *L. monocytogenes* hücre içi gelişim ve çoğalma için sitozole salınmaktadır (Vazquez-Boland ve ark. 2001b).

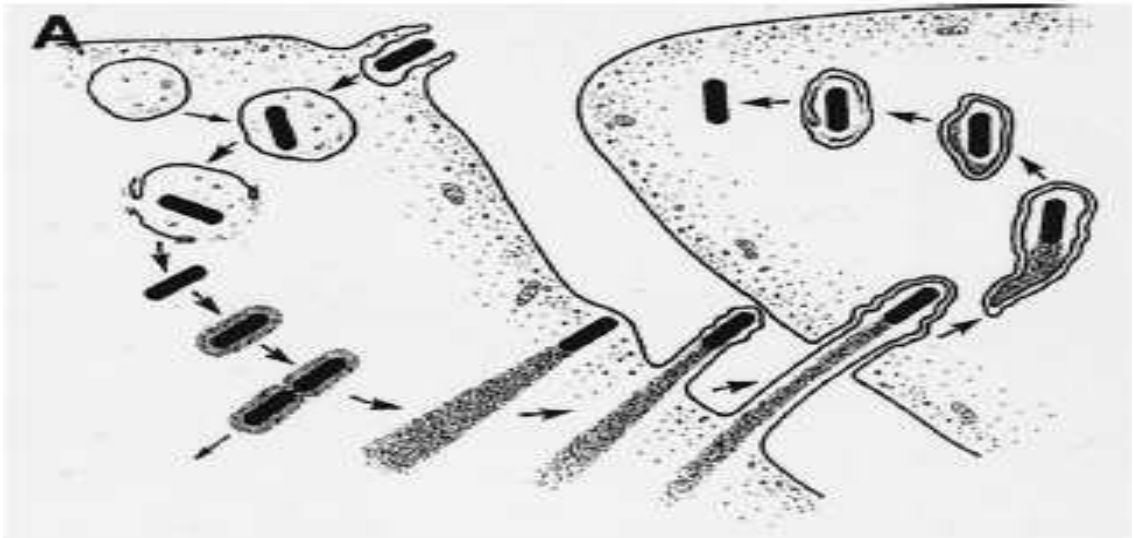
Hücre içinde daha hızlı gelişebilmesi için karbon kaynağı olarak konak hücreden hpt aracılığıyla heksoz fosfatlarını kullanmaktadır. Hpt ekspresyonu, diğer virulens genleri gibi sıkı bir şekilde merkez virulens düzenleyicisi *prfA* tarafından kontrol edilmektedir (Chico-Calero ve ark. 2011).

L. monocytogenes hücre içi hareketlilik ve hücreden hücreye yayılma için gerekli olan yüzey proteinlerinden *actA* (*actA* tarafından kodlanan 67 kDa protein),

sitoplazmik membrana doğru bakteriyi polarize aktin kuyruklarının oluşumunu sağlayarak membran boyunca bakterinin filopodium benzeri yapılar ile çevrenmesini sağlayarak, tutunduğu hücre tarafından tamamen içeri alınmaktadır (Vazquez-Boland ve ark. 2001b).

Hücreden hücreye geçişi takiben bakteri geçici olarak çift membranlı vakuolle çevrenmektedir, çevrenen bakterinin serbest kalabilmesi için bakteriyel fosfolipaz C (PC-PLC) vakuolar lizise yardımcı olmaktadır (Smith ve ark. 1995; Vazquez-Boland ve ark. 1992).

PC-PLC, 24 aminoasit propeptinin bölünmesini gerektiren aktivasyonun proenzimi olarak yapılmaktadır. Metalloproteaz geni olan, *mpl*, burada PC-PLC aktivasyonuna katkı sağlayarak *L. monocytogenes*'in yaşam siklusu boyunca PC-PLC'nin olgunlaşması için gerekliliği ile bilinmektedir (Cossart ve ark. 1989; Poyart ve ark. 1993). Çift membranlı vakuolün başarılı lizisinde *mpl* (*mpl* tarafından kodlanan 60 kDa metalloproteaz) tarafından aktive edilen PC-PLC yeni infeksiyon siklusunu başlatmasına neden olmaktadır (Vazquez-Boland ve ark. 2001b).



Şekil 2-5: *L. monocytogenes*'in bir makrofaj hücrelerinden diğerine giriş, gelişme, hareket ve yayılma aşamaları (saat yönü tersi yönünde) (Tilney ve Portnoy 1989)

Ek olarak, *L. monocytogenes*'in virulens ve patojenitesinden *iap* geni tarafından kodlanan invazyon ilişkili protein p60 varlığının da sorumlu olduğu bildirilmiştir (de Mello ve ark. 2008).

Ferritin benzeri protein kodlayan *fri* geni, soğuk ve sıcak şok durumlarına karşı korumasının yanı sıra, demir varlığı ya da yokluğunda minimum büyüme şartlarında optimal gelişmesi için gerekli olduğu bildirilmiş (Dussurget ve ark. 2005) ve ayrıca, tüm canlı hücrelerde demir-elektron transport zincirinde zorunlu protein ve geniş ölçüde de enzimler üzerinde kofaktör işlevi olan gerekli bir element olarak kabul edilmektedir (Slama ve ark. 2013).

FlaA geni, sıcaklığa göre regüle edilen *L. monocytogenes*'in gen ekspresyonunda flagellar hareketliliği göstermektedir (Liu ve ark. 2002). *Fri* ve *flaA* genlerinin dondurulmuş etlerde pozitif olması önemli olarak bilinip, dondurucu şartlarda dahi gen ekspresyonlarının devam ettiği bilinmektedir (Slama ve ark. 2013). *Prs* geni, putative fosforibozil pirofosfat sintataz proteininden sorumlu, tüm *Listeria* türlerine ait suşlar için spesifik amplifikasyon kontrolü için hedef genidir (Doumith ve ark. 2004a). *MonoA-B* geni ise tüm *L. monocytogenes* serogrupları için spesifik olduğu bildirilmiştir (Bubert ve ark. 1999). *GtcA* geni, yapı ve antijenik olarak aniyonik polimer teikoik asit Gram (+) patojen olan *L. monocytogenes*'in hücre duvarının önemli bir bileşenidir. *L. monocytogenes*'in serotipleri arasında karakteristik olarak değişkenlik gösteren glikozidik yapılar ile ribitol fosfat bileşimlerinden oluşmaktadır (Fiedler ve ark. 1984; Uchikawa ve ark. 1986). Teikoik asitteki şeker bileşimleri en büyük antijenik belirleyiciler olarak bilinmektedir (Kamisango ve ark. 1983; Ullmann ve Cameron 1969).

L. monocytogenes'in insan infeksiyonlarına en çok 4b, 1/2a ve 1/2b serotiplerin neden olduğu bilinmesine rağmen (Gellin ve Broome 1989; Farber ve Peterkin 1991; Schuat ve ark. 1991) bu konuda salgınlarda önemli *L. monocytogenes* serotip 4b'nin hücre duvarındaki teikoik asitin biyosentezinde moleküler genetik ve farklılığının aydınlık kazanılması gerektiği üzerine çalışmalar yapılmış (Promadej ve ark. 1999) ve özellikle glikoz ve galaktozun serotip 4b'de teikoik asitte serotip spesifik yapı olarak rol aldığı (Fiedler ve ark. 1984; Uchikawa ve ark. 1986) ve herhangi ikisinden birinin yokluğunda serotip spesifik monoklonal antikorların reaktivitesi önemli derece etkilendiği bildirilmiştir (Promadej ve ark. 1999).

Son zamanlarda, serotip 4b için spesifik olan glikoz ve galaktoz ile serotip 4b'nin teikoik asitin glikolizasyonu için gerekli olan *gtcA* geni karakterize edilmiştir (Promadej ve ark. 1999). *dltA*, D-alanil taşıyıcı protein olarak tanımlanan *dltC*

tarafından kataliz edilen sitoplazmik D-alanin-D-alanil taşıyan protein ligazıdır (Debadov ve ark. 2000). Gram (+) bakteri olan *L. monocytogenes*'in hücre duvarında iki farklı aniyonik polimer içeren kalın bir peptidoglikandan oluşmuş olup peptidoglikana kovalent olarak bağlı olan teikoik asit ve glikosil kalıntısı veya D-alanil (D-Ala) esterlerinden oluşan polifosfogliserol olan glikolipid yapıdaki membranında bulunan lipoteikoik asittir (Fischer ve ark. 1980; Fischer 1988; Fischer ve ark. 1990).

Lipoteikoik asit (LTA) Gram (+) bakterilerin gelişmesi ve fizyolojisinde hayati rol oynamaktadır, makroamfifil (hem yağ hem suyu seven) özellikte olan *L. monocytogenes* hücre duvarının elektromekanik özelliklerini (Ou ve Marquis 1970) enzim fonksiyonu için gerekli katyon bağlama (Archibald ve ark. 1973; Heptinstall ve ark. 1970; Hughes ve ark. 1973; Lambert ve ark. 1975) ve otoliz aktivitelerini düzenlemektedir (Fischer ve ark. 1981).

2.13. Genel Stres Sigma Faktörü (σB)

L. monocytogenes'in hayatta kalabilmesi için çevresel stres koşullarına yanıtta gen ekspresyonlarının düzenlemesi son derece önemlidir (Wu ve ark. 1997). Konak tarafından maruz kalınan stres şartları ağız yoluyla bulaşan patojenler için mide asit pH'ı ve hücre içi patojenler için konak hücre vakuollerinin oksidatif stres ve asit pH'ına maruz kalmaktadır. Gram (+) fakültatif hücre içi patojen *L. monocytogenes* gıda kaynaklı infeksiyon durumunda her iki durumdan da etkilenmektedir. Alternatif sigma faktörü hücre sinyallerinin oluşumunda yeni transkripsiyon işlemini yöneterek gen ekspresyonunda değişimler için mekanizma oluşumunu sağlamaktadır (Hermann ve Chamberlin 1988).

L. monocytogenes hastalık oluşturabilmesi için ilk önce gıda işleme, dağıtım ve hazırlama süresince maruz kaldığı çevresel stres şartları ve sonrasında konak tarafından maruz kalınan fizyolojik bariyerleri geçerek hayatta kalabilmesi gerekmektedir. Örneğin, midenin düşük pH'ı gıda kaynaklı bakteriyel patojenlere karşı etkisi savunma oluşturmada önemli rol oynamaktadır (Audia ve ark. 2001).

Letal aside maruz kalınması sonucunda, ATR farklı gıdalarda *L. monocytogenes*'in hayatta kalabilmesi için (Farber ve Peterkin 1991) ve hastalık oluşturma yeteneğinde önemli rol oynamaktadır (Marron ve ark. 1997; O'Driscoll ve ark. 1996).

L. monocytogenes, asit adaptasyonu aynı zamanda osmotik ve oksidatif stres, etanol, sıcaklık, bakteriosin ve nisine karşı çapraz koruma oluşturmaktadır (Gahan ve ark. 1996; Lou ve Yousef 1997; O'Driscoll ve ark. 1996; van Schaik ve ark. 1999).

Uyumlu ATR çapraz koruma konak tarafından maruz kalınan mide asit içeriği, safra, yarışmalı bağırsak florası, ince bağırsakta bulunan organik asit varlığı ve fagozomda oksidatif ürünler gibi zorlu engellere karşı hayatta kalmasına yardımcı olarak hastalık yapma yeteneğini güçlendirmektedir (Farber ve Peterkin 1991; Vazquez-Boland ve ark. 2001a).

Sigma B faktörü, karbon yokluğunda asit, oksidatif, düşük sıcaklık, osmolar stres gibi zorlu şartlara maruz kaldığı durumlarda yaşamsal faaliyetlerini sürdürmesine yardımcı olmakta (Becker ve ark. 1998; Becker ve ark. 2000; Ferraira ve ark. 2001), özellikle de safra baskısını tolere etme konusunda düzenleyici faktör olan sigB'nin hayati önem taşıdığı bilinmektedir (Zhang ve ark. 2011).

Wiedmann ve ark. (1998), *L. monocytogenes*'in asit varlığında hayatta kalabilmelerini σ B-bağlı proteinlerin ekspresyonu ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. SigB ve doğal fenotipik suşun ATR ve büyüme fazında aside bağlı gelişiminde σ B'ünü araştırmış, çalışmalarını gelişmelerinin farklı fazlarında asit dirençlerinin σ B-bağımlı ve σ B-bağımsız varlığında olabildiğini göstermiştir. İlave olarak, hafif asit şartlarına maruz kalmasını takiben mide sıvısında *L. monocytogenes* log-fazı direncinin artması ve hayatta kalabilmesi kısmen σ B'e bağlı olduğu görülmüştür (Ferraira ve ark. 2003). *L. monocytogenes* gen ekspresyonu regülasyonunda σ B'e bağlı uyarlanan aktifleştiriciler Kazmierczak ve ark. (2003) tarafından sağlanmıştır. Alternatif stres sigma faktör asit stresinde hayatta kalmasında *gadB* ve karnitin için soğuk şartlarda aktive edilen taşıyıcı *OpuC* ekspresyonunu düzenlemektedir. Asit stres şartları altında faaliyetlerini sürdürmek için gen regülasyonlarına ek olarak, stres sorumlu faktör σ B aynı zamanda gıda kaynaklı patojenin virulens gen ekspresyonlarını da düzenlediği bilinmektedir. *L. monocytogenes*'de osmoprotektan olarak betain ve karnitin kullanımında, genel stres sigma faktörü önemlidir. İlgili çalışmalarda genel stres sigma faktörü σ B tarafından düzenlenen genler bulunmuştur (Kazmierczak ve ark. 2003). Gardan ve ark. (2003) tarafından osmotik strese yanıtı katkıda bulunan *ctc* geninin ekspresyonunun *L. monocytogenes* genel stres faktörü σ B'de bağımlı olduğunu çalışmalarıyla doğrulanmıştır. Sigma stres faktörü uygun olmayan koşullarda *L. monocytogenes*'in

önemli bir yanıt mekanizmasıyken, serotiplerine göre farklılık gösterdiği bilinmektedir (Moorhead ve Dykes 2003).

Yukarıda bilgilere ek olarak, *prfA* (pozitif düzenleyici faktör) *L. monocytogenes*'in virulens gen ekspresyonunda önemli bir aktivatör olarak bilinirken, çalışmalar sonucunda düşük oranda da olsa stres yanıt alternatif sigma faktör B'nin de *L. monocytogenes*'in bazı virulens genlerinin yazılımına ve en az 50 gen üzerinde de stres düzenleyici olarak katkı sağladığı bilinmektedir (Begley ve ark. 2005; Kazmierczak ve ark. 2003; Kim ve ark. 2004).

2.14. Kanatlı İşletmelerinde *L. monocytogenes* Varlığı ve Hijyen Kontrol Testleri

L. monocytogenes'in yayılması ve halk sağlığını riske atması konusunda hayvan sağlığı, yetiştirme koşulları, işletme hijyeni, personel hijyeni, işleme koşulları, paketlenme öncesi ve sonrası kontaminasyon oluşumunda büyük rol oynamaktadır (Henning ve Cutter 2001). *L. monocytogenes* saprofitik yaşam tarzından dolayı gıda işletmeleri, kesimhane zeminleri, soğutucular, işleme alanları gibi soğuk, nemli ortamlarda büyüebilmekte ve işletme çevrelerinde bulunduğu ifade edilmektedir (Ferreira ve ark. 2014; Henning ve Cutter 2001).

Gıda işletmelerinde, gıdaların başlıca kontaminasyon kaynağı olarak çalışan personel, kıyafetler, eldiven, ayakkabı, uygun olmayan temizlik, alet-ekipman sanitasyonu, uygun olmayan yüzeylerde olası nem damlacıkları, çevre ve hava kaynaklı bakteriler tanımlanmıştır (Henning ve Cutter 2001). Aynı zamanda, hijyen bariyerinin eksikliği, zayıf hijyen uygulamaları, hijyenik olmayan ekipman dizaynı da gıda işletmelerinde *L. monocytogenes* kontaminasyonunu tetiklediği bildirilmiştir (Almeida ve ark. 2013; Carpentier ve Cerf 2011; Fox ve ark. 2011; Ibba ve ark. 2013; Keto-Timonen ve ark. 2007; Lomonaco ve ark. 2009). Ek olarak, *L. monocytogenes*'in işletme içinde potansiyel ürün kaynağı olarak ısıtılmış işlem görmemiş ürünler ve bileşimleri, dondurulmuş gıda, iyice kapatılmamış ürün, yeniden işleme, iade edilmiş ürünler; *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş olası ürün temas yüzey alanları dilimleme aleti, testere, soyacak, raflar, alet-ekipman tutma kısımları, taşıma kapları, eldiven, önlük, paketlenme materyalleri, paketlenme ekipmanı, tezgah, temizlik süngerleri ve fırçalar olarak belirlenmiştir. Küçük işletmelerde ise ağırlıklı olarak *L. monocytogenes*'in potansiyel rezervuarları zemin, durgun su, tavan ve borular, soğutma üniteleri, ıslak yalıtım, temizlik süngerleri, fırça ve çekçekler, taşıma arabaları, ahşap

paletler, kaldıraçlar olabileceği bildirilmiştir. *L. monocytogenes*'in gizlenmiş olabileceği bazı yerler ise şalter dolabı, bıçak kutuları, motor dairesi, paslanmış materyaller (ekipmanlar, çerçeveler, boru ve raflar), çatlamış oyuklu lastik hortumlar, kapı-pencere fitilleri, uygun bir şekilde kaplanılmayan duvar ve çatlak oluşumları, hava basınç pompası, borular ve hortumlar, buz makineleri, hava filtreleri olarak ifade edilmiştir (Henning ve Cutter 2001).

Bununla birlikte, gıda işletmelerinin *L. monocytogenes* ile kontaminasyonu ve kolonizasyonunda kontamine olmuş materyal, gıda ve gıda temas yüzeyi, uygun olmayan personel davranışları, işleme süresince özellikle biofilm oluşumunda önemli olan gıda kalıntılarının (yağ, et vb.) yeterince uzaklaştırılamaması, çevrede bulunan doğal formları (su ve toprak kaynaklı organik materyaller), uygun olmayan ürün ve iş akışı işletme boyunca yayılmasında önemli rol oynamaktadır (Alali ve Schaffner 2013; daSilva ve De Martinis 2013; Henning ve Cutter 2001; Hoelzer ve ark. 2012; Reij ve ark. 2004; Stessl ve ark. 2014; Viswanath ve ark. 2013).

İşletmelerde tüketime hazır hale gelmeden önce ortaya çıkabilecek *L. monocytogenes* risklerini kontrol için göz önünde bulundurulması gereken bazı noktaların olduğu bildirilmiştir. İlk olarak işletmeye giren ham maddenin 1/3'ü ticari olarak kanatlı eti olup ve yaklaşık %10'unun *L. monocytogenes* barındırdığı belirtilmiştir (Henning ve Cutter 2001). Kullanılan çiğ ham maddedeki yüksek bakteri prevalansının elimine edebilmek için prosesi uygun olması gerekmektedir. Diğer bir konu ise sanitasyon, tüketime hazır gıdalar için hayati derecede önem taşıyıp Sanitasyon Standart İşletme Prosedürleri (SSOPs) gibi öngereksinim programları etkili ve uygun sonuç sağlamak için kurulmuş olmalıdır. Etkili sanitasyon için, kuru temizleme-ön durulama ekipmanı- köpükleme ve ovalama-duruluma-alet ve ekipmanda gözle görülür inspeksiyon-duvar ve zemin temizliği-sanitasyon ve kurulama (kurulama aşaması, zeminde *Listeria* büyüme fırsatlarının azaltılmasında önem taşımaktadır, çünkü *Listeria* nemli yerlerde büyümeye ihtiyaç göstermektedir. Zemin mümkün olduğunca temiz su ile yıkanmış ve kurulanmış olmalıdır. Uygun işlemler sonrasında ürünlerin kontaminasyonunda olası riskleri engellemek için ürün akışı, ürün çeşidi, işletme temizliği için çevresel testler (gıda temas yüzeyi olmayan), gıda temas yüzeyi testleri ve ürün testleri için düzenli aralıklarla örnekleme planı yapılmalıdır (Henning ve Cutter 2001).

2.14.1. Çevresel Testler (Gıda Temas Yüzeyi Olmayan)

Listeria türlerinin bulunabileceği ısıtma işlemi uygulanma sonrası, paketlenme alanları, taşıma kapları, gider örnekleri kapsayacak şekilde alınmalıdır. Olası pozitif sonuçlar hava akışı, personel hijyeni (el yıkama, kirli önlükler, uygun olmayan hareket akışları) gibi sorunları işaret edebileceği düşünülmelidir (Henning ve Cutter 2001).

2.14.2. Gıda Temas Yüzey Testleri

Gıda işleme ve paketlenme sırasında temas eden yüzeyler olup başlıca dilimleyiciler, tezgahlar, soyma bıçakları ve paketlenme makineleri olacak şekilde alınmalıdır (Henning ve Cutter 2001).

2.14.3. Ürün Testleri

Ürün testlerinde amaç son üründe *L. monocytogenes* varlığını saptamaya yönelik olup alınan örneklerin en az 48 saat içinde sonuçlanacak şekilde analiz edilmesi gerekmektedir. Analizlerin yapılmasının gerekliliğinin yanı sıra, *L. monocytogenes*'in kabul görülen standartlarca belirtilen analiz süresinin uzun olması ve analiz sonuçlarının tamamlanmasına kadar ürünlerin işletmede muhafaza edilebilecek alanın olmaması son üründe *L. monocytogenes*'in kontrolünü oldukça zorlaştırmaktadır. Olası zaman kaybını ortadan kaldırmak amacıyla yerinde kontrol için analizlerin işletmelerce sağlanan ve düzenli olarak validasyon işlemleri yapılan laboratuvarlarda yapılmalıdır (Henning ve Cutter 2001). Sanitasyon etkinliği ve olası bir kontaminasyon kaynağının bulunabilmesi için hem çevresel hem temas yüzeylerinin anahat mikrobiyel testlerinin yapılması ile belirlenmiş olmalıdır. Temizlik ve sanitasyon hakkında bilgi vermesi amacıyla "aerobik plate count" ve floresans verme özelliği ile bilinen "ATP testi" gibi uygun testler uygulanmalıdır.

İşletmede kullanılan alet ve ekipmanlar kullanıldığı yere göre ayrırcı bir şekilde işaretlenerek kullanım öncesi ve sonrasında sanitize edilmesine dikkat edilmelidir. Bakterinin kolayca saklanabileceği yerlerde temizlik zor olacağından daha dikkatli yapılması gerekmektedir. Sanitasyonda daha verimli sonuçlar alabilmek için, *L. monocytogenes* karşıtı kuarterner amonyum, klorin solüsyonları ve perasetik asit içeren daha yeni ürünler kullanılmalı ve periyodik olarak değiştirilmelidir. Bunlara ek olarak, günlük alkali ve asit bazlı deterjanlarının dönüşümlü olarak kullanılması biofilm

oluşumunu önlemekte ve pH değişimini sağlayarak bakterilerin ortama adapte olmasını engellediği bilinmektedir (klorin ve asit bazlı deterjanların aynı anda kullanılması çalışan için potansiyel kimyasal tehlike oluşturduğu göz önünde bulundurulmalıdır). Etkili dezenfekte edebilmek için, uygulanacak dezenfektanın üretici firma ile birlikte ekipmanlara göre karar verilmelidir. Özellikle depolama odaları temizlenirken, zeminden kaynaklı bakteri kontaminasyonunu engellemek için ürünlerin üstüne su damlacığı sıçramamasına dikkat edilmelidir (Henning ve Cutter 2001).

Tablo 2-5: İşletmelerde tavsiye edilen temizlik ve sanitizasyon sıklığı (Henning ve Cutter 2001)

Alan	Temizleme sıklığı
Tüm işleme ekipmanı	Günlük
Zemin/gider	Günlük
Çöp konteynırı	Günlük
Depolama alanı	Günlük
Duvar	Haftalık

İşleme aşaması ve kesimhane şartlarında patojen kontrolünün sağlanması için, Amerika Birleşik Devletler’inde Food Safety & Inspection Service (FSIS) kanatlı eti ürünlerinde işleme sonrasında ve tüketime hazır gıdalarda (soyma, dilimleme, paketleme ve dağıtım, depolama ve buzdolabı sıcaklığında bile büyüme özelliği olması) kontaminasyon olabileceğinden *L. monocytogenes*’in kontrolü amaçlanmıştır (FSIS, 2003). Ayrıca, mutfak şartlarında *Listeria* gibi üreme aralığı geniş bakterilerin büyümesini limitlemek için Dünya Sağlık Örgütü ve diğer uluslararası organizasyonlar buzdolabı muhafaza sıcaklığının 5°C’den daha düşük sıcaklıklarda olması gerekliliğini bildirmiştir. Aynı zamanda, halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından *Listeria* tarafından maruz kalınan riskleri önlemek için yıl boyunca gıda zincirinde *L. monocytogenes* varlığını görüntülemek, bakterinin oluşması olası tüketime hazır gıdalar, peynir ve et türlerinde prevalans ve seviyesini değerlendirmek, gıdalarda *L. monocytogenes* varlığı ve büyümesi için risk faktörlerini analiz etmenin yararlı olacağını vurgulamıştır (EFSA 2014).

2.15. İşletmenin Dizaynı ve Olası Kontaminasyon Noktaları

Gıda amaçlı kurulan işletmelerin dizaynı ürünün işletmeye girdiği ilk andan son ana kadar büyük önem taşıdığından başta çapraz kontaminasyonu ve olası tehlikeleri engellemek için ham madde ve tüketime hazır gıda alanlarında insanların hareketi, ürün akışı ve ürünlerin depolanması itina gerektirmektedir. Bakteri geçişini engellemek için yapılması gereken ilk şey, ham madde ve tüketime hazır alanlarda trafik akışını engellemek ve tüketime hazır gıdalarla temas kurulmayacak veya işlenmemiş ürünlerle yakın olmayacak şekilde dizayn edilmelidir (Henning ve Cutter 2001).

İşleme sonrası ürünler, soğutma üniteleri ve taşıma tepsileri nem alıcı ekipmanlarla donanmış olmalıdır. Bu üniteler ürünlerden uzak tutulmalı ve düzenli olarak temizlenmelidir. Tavanlar, zemin, duvarlar düz, su geçirmez ve neme izin vermeyen malzeme ile yapılmış olmalıdır. Hava akışı kontaminantların içeri girmesini engelleyecek şekilde filtrelenmiş olmalıdır. Depolama odaları, işlenmemiş ürün alanından hava girişine mücade edilmeyecek şekilde filtre olmaksızın pozitif basınç altında olmalıdır. Işıklar, nem ve kir barındırmasına mücade etmeyecek şekilde uygun yükseklikte olmalıdır (Henning ve Cutter 2001).

Konunun önemine ilişkin, Uyar ve ark. (2015) tarafından İspanya ve Romanya’da tavuk parçalama ve işleme tesislerinde kontaminasyon kaynaklarını belirlemeye yönelik çalışma yapılmıştır. İspanya’ya ait işletmenin gıda ile temas eden alanlardan alınan örneklerde kemik parçalama ünitesinde ekipman ve kesme tahtası, taşıma bantları, bıçak, personel eli, paketlenme ünitesinde ekipman-paketleme masası, taşıma kutuları, personel eli, işleme ünitesinde kıyma makinesi, personel eline ait; gıda ile temas etmeyen yüzey alanlardan alınan örneklerde iç organı çıkarma ünitesinde gider noktaları, hava soğutma, yüzey, kemik uzaklaştırma ünitesinde zemin, gider noktaları, duvar işleme ünitesinde zemin, paketlenme ünitesinde zemin, gider noktaları kesim ünitesinde gider noktaları ve duvar olarak belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada Romanya’ya ait işletmelerde gıda ile temas yüzeylerinin ekipman listesi, kesme tahtası, kıyma makinesi, et kesicileri, terazi, dilimleyici, toplama kapları, vakum paketlenme, kıyma, tüketime hazır gıdaların depoları, et çubuklarının gıda temas yüzeyi olmayan alanlarda zemin, duvar, gider noktaları, el yıkama alanının *L. monocytogenes* açısından pozitif yerler olarak belirlenmiştir. Romanya’da kontamine olmayan alanlarda yapılan çalışmada ise gıda temas yüzeylerinden kıyma makinesi, masa, kapı kolu, bıçak,

toplama kapları, taşıma kutuları gıda işleme ünitelerinden kolloidal değirmen ve gıda temas yüzeyi olmayan alanlarda paslanmaz çelik çöp kovası, el yıkama alanları, zemin, duvarlar *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlenmiştir.

2.16. *L. monocytogenes* Kaynaklı Ekonomik Problemler ve Kontrol

Halk sağlığı ve endüstri açısından son derece önemli olan *L. monocytogenes* ile ilişkili ekonomik kayıplar, başlıca salgınlar sonucu hastalık ve hospitalizasyon giderleri, düzenli görüntüleme programlarının oluşturulması, olası geri çağırım yapılan kontamine gıdaları kapsamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kaynaklı hastalık ve ölümler durumunda yasal davalar normlaşıırken, bu davalara özel hukuk firmaları ve savcılar bulunmaktadır.

Başlıca restoranlar, yiyecek kurumları, dağıtımdan sorumlu kurumlar, işleme tesisleri ve manavlar gibi işletmeleri kapsayan bu düzenleme medikal giderler, ağrı ve acı çekme durumları (fiziksel, duygusal stres ve hareketsizlik vb.), gelir kaybı, olası kazanç kaybı durumunda tazminat hakkı vermektedir. Ölüm durumunda ise cenaze masrafları, medikal giderler, olası kazanç kaybı, halk sağlığı güvenliğini ve haklarını ihlal etmekten maruz kalınan ceza durumları gibi durumları kapsamaktadır (Jordan ve ark. 2015).

Avrupa Birliği'nde *L. monocytogenes*'e karşı tüketicileri korumak için endüstriye ait regülasyon bulunmaktadır (European Regulation No 2073/2005). Bu düzenleme tüketiciyi korumak için endüstride kayda değer derecede hijyen kontrollerin uygulanması, ürün ve işletme çevresinden analiz ve olası geri çağırma masraflarını zorunlu kılmaktadır.

L. monocytogenes doğada hemen her yerde bulunabilme özelliği nedeniyle, tam olarak elimine edilebilmesi gerçekçi olmamakla birlikte kontrol daha çok pratik yaklaşımlar olup hijyen stratejileri, organizma varlığının bakteriyosin veya bakteriyofaj gibi kontrol metotlarının kullanılarak görüntülenmesi ile başarılabileceği düşünülmektedir (Leong ve ark. 2016).

Gıdalarda ve gıda işletmelerinde gıda kaynaklı *Listeria*'nın kontrolü akademi, devlet kurumları ve gıda endüstrileri *Listeria*'nın büyümesi ve gelişimini engellemek için yeni metotlar geliştirmektedir. Devlet kurumlarınca gıda kaynaklı hastalıkları daha iyi raporlama ve görüntüleme, rutin olarak gıda örnekleme ve düzenli testlerin

yapılması, HACCP sisteminin kurulması, işletmelerin izlenmesi, gıda çalışanların eğitilmesi ve tüketiciler için gıda güvenliğinde genel farkındalık oluşturabilmek için yararlı olacağı düşünülmektedir (Bryan 2002).

2.17. Gıda Korumasında Hedef Olarak Genel Stres Sigma Faktör Önemi

Gıdaların koruma kontrolünde alternatif ileri düzey koruma teknikleri, çoklu engeller teknolojisi, enkapsülasyon ve aktif paketlenme teknolojisi olarak bilinmektedir (Gandhi ve Chikindas 2007). Son zamanlarda, genomik alanda ilerlemeler genlerin, proteinlerin yapımına ve fonksiyonlarının tanımlanmasına yarar sağlamıştır. Bu bilgi doğrultusunda, patojenlerin büyümesini ve hayatta kalmasını önlemede yeni stratejilerin geliştirileceği düşünülmektedir. Gıda endüstrisinde, *Listeria*'nın kontrolü ve inaktivasyonu için alternatif sigma faktörün kullanımını değerlendirmiştir. Patojen çevresel stresi algılar algılamaz, sinyal sigma faktöre iletilir ve σB transkripsiyonu başlatılır ve üretilen proteinler stress yanıtın bir parçası olarak hücreyi koruma altına almaktadır. σB patojen üzerinde önemli rol oynadığından beri, σB aktivasyon mekanizmasındaki ince noktaların anlaşılması inaktivasyonda koruma ve kontrol amaçlı kullanılmasını ön plana çıkarmaktadır (van Schaik ve Abee 2005).

2.18. Antibiyotik Direnç ile İlgili Sorunlar

Antimikrobiyal ajanların infeksiyöz hastalıkların tedavisinde 1940'lardan beri kullanıldığı bilinmektedir (CDC 2016). Antibiyotik kullanımı, halk sağlığı açısından allerjik (Dewdney ve ark. 1991), kronik ürtiker (Dayan 1993; Ormerod ve ark. 1987) veya kan diskrazisi (Settepani 1984) gibi etkilerle sonuçlanırken; hayvan sağlığında patojenlerle kalmayıp, hayvanların endojen bakteri florasında antibiyotik dirençli bakterilerin gelişimi ile sonuçlanmaktadır.

Bilinçsiz veteriner antibiyotik kullanımı, geniş ölçüde hayvan bakteri direnci prevalansını etkilemekte ve insan patojenlerinin antibiyotik direncinin ortaya çıkmasında risk faktörü oluşturmaktadır. Hayvan kaynaklı antibiyotik direnç bakterileri çoğunlukla, infekte hayvanlara direk temas, dışkı ve gıda zinciri yoluyla insanları infekte edebilmektedir (Barton 2000; van den Bogaard ve Stobberingh 1999).

Gıda kaynaklı hastalıkların çoğu şiddetli olmayan diyare ile sonuçlanmakta ve kısa sürede iyileşmektedir. Bununla birlikte şiddetli ve uzun süreli hastalıklar *L.*

monocytogenes gibi patojenlerden dolayı oluşabilmekte ve genellikle bu durum antibiyotik tedavisi gerektirmektedir. Gıda kaynaklı patojenler arasında antimikrobiyal direnç prevalansı, antibiyotikle tedavi sonucu insanlarda potansiyel tehlike oluşturmaktadır. Gıda ile ilişkili bakteriler arasında antimikrobiyal direnç mekanizması ve yayılımı geniş ölçüde çalışılmaktadır. Hayvan sağlığında antibiyotik kullanımı ve insan patojen bakterisinde antibiyotik direnç gelişimi arasındaki ilişki son zamanlarda büyük tartışma yaratmaktadır. Antibiyotikler, bakteriyel hastalıkları kontrol ve gelişmeye destek amaçlı hayvan sağlığında kullanılmaktadır (White ve ark. 2002). Bu kullanım, gıdalar yoluyla insanlara bulaşan bir ya da çoklu direnç gelişimine neden olabilmektedir. Transpozon ve plazmidler üzerinde bulunan antibiyotik direnç genlerinin aktarımında genetik faktörler bakteriden antibiyotik direncini transferi arttırabilmektedir (Sorum ve L'Abée-Lund 2002). Uygun olmayan çevre şartlarına adapte olabilmek yeteneği direnç gelişiminde önemli bir faktördür. Çünkü antimikrobiyal ajanın sub-letal seviyesinde organizmanın maruziyeti adaptasyona, antimikrobiyal ajana daha yüksek direnç gelişimine veya diğer ajanlara çapraz dirence neden olmaktadır.

FAO verilerine göre, antibiyotik direnci kaynaklı her yıl yaklaşık 700.000 insanın öldüğü tahmin edilmektedir (FAO 2016). Dirençli bakteri hayvan ürünleri, kontamine olmuş su ve toprak, kontamine yüzeylerde hazırlanan gıdalar, hayvan dışkılarını içeren çevre ile yayılabilmektedir. Aynı zamanda, hayvan orijinli gıda işletmelerinde uygun olmayan manüplasyonlar, kontamine olmuş yetersiz ısı uygulanmış et, infekte olmuş çiftlik çalışanı, et üreticileri veya onların aileleri, doktorlar ve etkileşim içinde olan diğer bireyler de söz konusu olabilmektedir.

Kontamine olmuş yüzey, yeraltı su kaynağı, kontamine gıda tüketimi, yoğun yetiştiricilik yapılan yerlerde havayla temas veya hayvan transport boyunca salınması ve diğer taraftan hayvanların kesimi ve işleme aşamasında direnç bakterileri et ve diğer hayvansal ürünleri kontamine edebilmektedir. Bu bakteriler hayvanların dışkıları veya kontamine su ile sulanan ürünlerle de çevreye yayılabilmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde en az 2.049.442 milyon insanın antibiyotiğe direnç gösteren bakteri ile infekte olduğunu ve en az 23.000 insanın direnç infeksiyonundan birincil dereceden öldüğünü bildirmiştir (CDC 2017).

Mayrofer ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada 304 et örneği arasından (90 domuz eti, 89 tavuk eti, 21 hindi eti ve 13 kıyma eti) *L. monocytogenes* açısından

incelenerek 89 tavuk eti örneği arasından 23 pozitif *L. monocytogenes* suşu olup bunların, tetrasiklin, penisilin, gentamisin, vankomisin, cotrimoxazole, eritromisin, kloramfenikol için dirençli olurken streptomisin için dirençli olmadığı görülmüştür.

Mısır'da yapılan bir çalışmaya göre ise 160 işlem görmemiş çiğ tavuk eti 120 tüketime hazır tavuk eti ürünlerinden şüpheli elde edilen suşların sadece 29 tanesi *L. monocytogenes* pozitif olarak belirlenirken yapılan antibiyotik testleri sonucunda seçilen 17 *L. monocytogenes* suşuna belirlenen 10 antibiyotik (eritromisin, gentamisin, tilmikosin, siprofloksasin, enrofloksasin, tetrasiklin, doksasilin, kloramfenikol, amoksisilin, trimethoprim) sonucuna göre %17,6'sı tilmikosin'e, %11,8'i tetrasiklin'e ve yalnızca bir tanesi hem tilmikosin hem de tetrasiklin'e dirençli olarak bulunmuştur (Osailia ve ark. 2011).

Ülkemizde antibiyotik çalışmaları sonucunda 116 adet kanatlı eti örneklerinden elde edilen 37 adet *L. monocytogenes* suşu için antibiyotik direncini belirtilen oranlarda göstermiştir: gentamisin (1 suş, %1,96), vankomisin (4 suş, %7,84), penisilin G (6 suş, %11,76), streptomisin (9 suş, %17,64; dirençli veya orta dirençli), tetrasiklin (7 suş, %13,72) ve ampisilin (6 suş, %11,76) (Siriken ve ark. 2014). İnsanlarda direnç kontrolü, hijyen şartları altında çapraz direnç oluşumunun engellenmesi ve antibiyotik kullanımının azaltılması ile ilişkilidir. Yoğun gruplar halinde beslenen hayvanlar için direncin kontrol edilebilmesinin en uygun yollarından biri antibiyotik gerekliliğini ortadan kaldırmaktır. Aynı zamanda, hayvan bakım ve yetiştirme, gıda bileşimleri, hastalıklara karşı aşılama yöntemlerinin geliştirilmesi ile başarılabacağı düşünülmektedir. Böylelikle, halk sağlığı açısından gıda amaçlı beslenen hayvanlardan insanlara direnç genlerinin geçiş riski azaltılmış olacağı düşünülmektedir (van den Bogaard ve Stobberingh 1999).

2.19. *L. monocytogenes* Suşlarının Filogenetik İlişkisinin Belirlenmesi

L. monocytogenes karakterizasyonu için altın standart olarak kabul edilen Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) (CDC 2017) ile gıda üretimi ve dağıtım sistemlerinde olası tehlikelerin belirlenmesi güvenilir gıda tüketiminde önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte, şüpheli gıdalarda geri çağırma, tanımlama ve büyük çaplı salgınların durdurulmasına hız kazandırarak insan yaşamında hayati rol oynamaktadır. Son zamanlarda PulseNet sayesinde, gıda kaynaklı *Listeria* vakalarında sağlık giderleri,

verim kayıplarının azaltılarak yıllık 8,7 milyon dolar kazanç sağlandığı bilinmektedir (CDC 2016).

PFGE protokolü, geniş DNA moleküllerinin ayrılmasına dayalı bir metot olup, standart DNA jel elektroforezis yaklaşık 50 kb boyutuna kadar fragmentleri ayırabilirken, PFGE 10 mb'a kadar ayırabilmektedir. Örnek hazırlama haricinde analiz bakteri çeşidine göre genel olarak 2-3 gün sürmektedir (Herschleb ve ark. 2007).

PFGE spesifik enzimlerle kesilen DNA'nın agaroz jel içerisinde fragmentlerin uzun süreli akım, genellikle 21 saat uygulanarak jel elektroforez yöntemiyle ayrılması işlemine dayanmaktadır. Bu uzun süreli akım, periyodik olarak değişen akım aracılığıyla geleneksel yöntemlerle ayrılması mümkün olmayan 1,000 kbp genişliğindeki fragmentlerin ayrılmasını sağlayarak bant modellerini oluşturmaktadır. PFGE sonrası bionumerik yazılımlar ile suşlar arasında benzerlik yüzdesi belirlenmektedir. Tüm dünyada bu standardize edilmiş metodun kullanılması, bu yazılım sisteminin sağladığı sayısal analizler ve PFGE profil bilgi deposunun oluşturulması dünya çapında bakteri suşlarının karşılaştırılmasına olanak sağlamaktadır. Protokol gereğince tek bir kesim enziminin kullanılması suşlar arasında varyasyonları kapsayan DNA'nın bazı kısımlarının kayıp olma ihtimaline karşı, iki tip kesim enzimi kullanılmaktadır (Jordan 2015).

Tek bir enzimin kullanılması ise suşların benzer olarak nitelendirmenin doğru olmayacağını göstermektedir (Hurley ve ark. 2014). İki farklı kesim enziminin kullanılması, suşlar arası farklılık düzeyini en iyi şekilde vermekte (Fox ve ark. 2012) ve PFGE analizlerinin MLST ve ribotiplendirme gibi analizlerden daha titizlik isteyen detaylı bir metot olduğu belirtilmektedir (Borucki ve ark. 2004).

PulseNet tarafından öngörülen bir diğer konu, geleneksel moleküler ağırlık cetvellerinden daha çok *XbaI* kesim enzimi ile kesilen *Salmonella* Braenderup H9812'in kullanılması olup, böylelikle farklı laboratuvarlardan PFGE profilleri geniş ölçüde karşılaştırılması hedeflenmesi planlanmıştır (Hurley ve ark. 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Türkiye’de kanatlı etinin *L. monocytogenes* açısından prevalansı araştırılmıştır. İstanbul ili dışında bulunan (Bolu ve Balıkesir) iki farklı kanatlı kesimhanesinden (2014 yılında Nisan, Mayıs, Temmuz, Ağustos ve Ekim aylarında) 57 örnek ve İstanbul’da kanatlı eti satışı yapılan (Habibler, Avcılar, Şehremini, Fatih, Taksim) kasap ve marketlerden (2014 yılında Mayıs ve Ağustos; 2015 yılında Mart, Nisan, Haziran ve Ağustos aylarında) alınan farklı markalara ait but, kanat, göğüs örneklerinden 443 adet olmak üzere toplam 500 örnek temin edilmiştir.

Tablo 3-1: Kesimhanelerden numune alımı

	1. örnek alım	2. örnek alım	3. örnek alım
Kesimhane 1	Nisan (2014)	Mayıs (2014)	Ekim (2014)
	8 karkas	8 karkas	8 karkas
	1 göğüs (paketli)	1 göğüs (paketli)	1 göğüs (paketli)
	1 but (paketli)	1 but (paketli)	1 but (paketli)
	1 kanat (paketli)	1 kanat (paketli)	1 kanat (paketli)
Toplam	11 adet	11 adet	11 adet
Kesimhane 2	Temmuz (2014)	Ağustos (2014)	-
	9 karkas	9 karkas	
	1 göğüs (paketli)	1 göğüs (paketli)	
	1 but (paketli)	1 but (paketli)	
	1 kanat (paketli)	1 kanat (paketli)	
Toplam	12 adet	12 adet	

Tablo 3-2: Market ve kasaplardan numune alımı

Örnek alma	Tarih	But	Kanat	Göğüs
1	Mayıs (2014)	39	20	6
2	Ağustos (2014)	59	7	13
3	Mart (2015)	56	8	15
4	Nisan (2015)	48	29	8
5	Haziran (2015)	23	17	5
6	Haziran (2015)	45	25	20
Toplam		270	106	67

Örnekler, EN ISO 11290-1 (ISO, 2004a) standardına göre kültürel yöntemlerle izole edilerek, *L. monocytogenes* suşları kimyasal yöntemlerle identifiye edilmiş ve PCR analizi ile dsuşların doğrulanması yapılmıştır. Daha sonra suşlarda serogrup genleri

ile virulens genlerinin varlığı PCR analizleri ile araştırılmıştır. İlave olarak pozitif olan suşlara EUCAST (2017)'a göre antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır. Dirençli olan suşlarda E-test ve MICE testleri ile minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri saptanmıştır. Son olarak, suşlar arasındaki filogenetik ilişkinin ortaya konması amacıyla CDC (2013) tarafından yayınlanan altın standart olan PFGE analizi yapılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları, *S. aureus* ATCC 25923 İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı kaynaklıdır. Referans *Rhodococcus equi* suşu ATCC 6939 kullanılmıştır. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilimdalı koleksiyonundan temin edilmiştir. EN ISO 11290-1 (ISO, 2004a) tarafından önerilen standardın kısmi modifikasyonu kapsamında söz konusu analizler için kullanılmıştır.

3.1. Kullanılan Besiyerleri

3.1.1. Fraser Broth (Oxoid CM 895)

<u>Formülasyon</u>	<u>g/L</u>
Proteose peptone	5,0 g/L
Tryptone	5,0 g/L
'Lab-Lemco' powder	5,0 g/L
Yeast extract	5,0 g/L
Sodium chloride	20,0 g/L
Di-sodium hydrogen phosphate	12,0 g/L
Potassium dihydrogen phosphate	1,35 g/L
Aesculin	1,0 g/L
Lithium chloride	3,0 g/L
pH 7,2±0,2 (25°C'de),	

500 ml Fraser Broth hazırlamak için 28,7 g Fraser Broth (Oxoid CM 895) tartılarak, homojenize edildikten sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Yaklaşık 50°C'ye soğumasını takiben aşağıda belirtilen şekilde hazırlanan 1 vial Oxoid SR 0156 supplementi içerisine aseptik koşullarda eklenmiştir.

3.1.2. Half Fraser (Oxoid CM 895, Oxoid SR 0166E)

225 ml Half Fraser hazırlamak için 12,9 g Fraser Broth (Oxoid CM 895) tartılarak, homojenize edildikten sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Yaklaşık 50°C'ye soğumasını takiben aşağıda belirtilen şekilde hazırlanan 1 vial SR 0166E supplementi içerisine aseptik koşullarda eklenmiştir.

3.1.2.1. Half Fraser Supplement (Oxoid SR 0166E)

<u>Vial içerik (225 ml)</u>	<u>(Her bir vial için)</u>	<u>Litre</u>
Ferric ammonium citrate	112,5 mg	500 mg
Nalidixic acid	2,25 mg	10,0 mg
Acriflavine hydrochloride	2,8125 mg	12,5 mg

225 ml Half Fraser hazırlamak için 1 vial supplement prospektüsüne göre 1:1 oranında etanol:steril distile su ile son hacim 4 ml olacak şekilde hazırlanarak Half Fraser içerisine eklenmiştir.

3.1.2.2. Fraser Supplement (Oxoid SR 0156)

<u>Vial içerik (500 ml için)</u>	<u>Her bir vial için</u>	<u>Litre</u>
Ferric ammonium citrate	0,25 g	0,5 g
Nalidixic acid	10,0 mg	20,0 mg
Acriflavine hydrochloride	12,5 mg	25,0 mg

500 ml Fraser Broth hazırlamak için 1 vial supplement kullanma klavuzuna göre 1:1 oranında etanol:steril distile su ile son hacim 5 ml olacak şekilde hazırlanarak Fraser Broth içerisine ilave edilmiştir.

3.1.3. ALOA Agar (Oxoid CM 1084)

<u>Formülasyon</u>	<u>g/L</u>
Enzymatic digest of animal tissues	18,0 g/L
Enzymatic digest of casein	6,0 g/L
Sodium pyruvate	2,0 g/L
Glucose	2,0 g/L
Magnesium glycerophosphate	1,0 g/L

Magnesium sulphate (anhydrous)	0,5 g/L
Sodium chloride	5,0 g/L
Yeast extract	10,0 g/L
Lithium chloride	10,0 g/L
Disodium hydrogen phosphate (anhydrous)	2,5 g/L
X-glucoside chromogenic mix	0,05 g/L
Agar	12,0 g/L
pH 7.2±0.2, 25°C’de,	

34,5 g ALOA agar (Oxoid CM 1084) 480 ml distile su içerisinde eklenerek homojenize edildikten sonra 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Yaklaşık 50°C’ye soğumasını takiben aşağıda belirtilen şekilde hazırlanan 1 vial Brilliance™ *Listeria* Differential Supplement (Oxoid SR 0228E) ve 1 vial OCLA (ISO) Selective Supplement (Oxoid SR 0226E) içerisine eklenmiştir.

3.1.3.1. Brilliance™ *Listeria* Differential Supplement (Oxoid SR 0228E)

Formülasyon	1 vial (500 ml için)
Lecithin solution	20,0 ml

3.1.3.2. OCLA (ISO) Selective Supplement (Oxoid SR 0226E)

Formülasyon	1 vial (500 ml için)
Nalidixic acid	10,0 mg
Polymyxin B	38,350 IU
Ceftazidime	10,0 mg
Amphotericin	5,0 mg

500 ml ALOA agar hazırlamak için 1 vial supplement kullanma klavuzuna göre 2 ml steril distile su ile pipet yardımıyla çözündürülerek besiyeri içerisine eklenmiştir.

3.1.4. %5 Koyun Kanı İlave Edilmiş Tryptic Soya Agar (Oxoid CM 131)

Formülasyon	g/L
Tryptone	15,0 g/L

Soya Peptone	5,0 g/L
Sodium chloride	5,0 g/L
Agar	15,0 g/L

pH 7.3± 0.2, 25 °C’de,

40 g Tryptone Soya Agar (Oxoid CM 131) 1000 ml distile su içerisine eklenerek homojenize edildikten sonra 121°C de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Kanlı Agar: CAMP testi için İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde uygun koşullarda yetiştirilen sağlıklı koyunlardan sitrat içeren enjektörler yardımı ile alınan kan sterilite kontrolü yapılarak, besiyerinin yaklaşık 50°C’ye soğutulmasını takiben dikkatli bir şekilde ilave edilerek petrilere eşit miktarlarda dağıtılmıştır.

3.1.5. Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 129)

Formülasyon	g/L
Pancreatic digest of casein	17,0 g/L
Enzymatic digest of soyabean meal	3,0 g/L
Sodium chloride	5,0 g/L
Dipotassium hydrogen phosphate	2,5 g/L
Glucose	2,5 g/L

pH 7.3 ± 0.2, 25 °C’de,

30 g Tryptone Soya Broth (Oxoid CM 129) 1000 ml distile su içerisine eklenerek homojenize edildikten sonra 121°C de 15 dakika sterilize edilmiştir.

3.1.6. Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM 0337)

Formülasyon	g/L
Beef, dehydrated infusion from	300 g/L
Casein hydrolysate	17,5 g/L
Starch	1,5 g/L
Agar	17,0 g/L

pH 7.3 ± 0.1, 25 °C’ de,

38 g Mueller-Hinton Agar (Oxoid, CM 0337) 1000 ml distile su içerisinde eklenerek homojenize edildikten sonra 121°C de 15 dakika sterilize edilmiştir. Yaklaşık 50°C'ye soğuyunca içerisinde antibiyotik duyarlılık testi amacıyla alınan %5 defibrine at kanı ve 20 mg/L B-Nicotinamide Adenine Dinucleotide (β -NAD) eklenmiştir. Biyogüvenlik kabin içerisinde 25 ml'lik steril mezur ile petrilere 25 ml olacak şekilde eşit olarak dağıtılmıştır.

3.1.7. Brain Heart Infusion Agar (Sigma-Aldrich, 70138)

Formülasyon	g/L
Brain extract	7,8 g/L
Heart extract	9,7 g/L
Proteose peptone	10,0 g/L
Sodium chloride	5,0 g/L
D(+)- Glucose	2,0 g/L
Disodium hydrogen phosphate	2,5 g/L
Agar	15,0 g/L

pH 7.4 ± 0.2 , 25 °C' de,

52 g Brain Heart Infusion Agar (Sigma-Aldrich, 70138) 1000 ml distile su içerisinde eklenerek homojenize edildikten sonra 121°C de 15 dakika sterilize edilmiştir.

3.1.8. Moleküler Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar

- Glycerol (Sigma-Aldrich, G5516, Germany)
- SDS pure Ph. Eur. (AppliChem, A4259, 1000)
- B-Nicotinamide Adenine Dinucleotide (β -NAD) Biolab Inc.
NAD10025
- %3 H₂O₂
- Boric Acid (PlosOne, 500g, 17-1322-01)
- Ethidium Bromide (E1510-10ml, Sigma-Aldrich)
- Seakem® Gold Agarose (Lonza, 125 gr)

- Trizma® Base (Sigma-Aldrich, T1503, CAS no: 77-86-1)
- Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) (Thermo Fisher Scientific, 60-00-4)
(0.5 M Solution of pH 8.0 (for DNA Work))
- Phenol/Chloroform/Isoamyl Alcohol (Amresco, K169)
- 25 mM MgCl₂ (Thermo Fisher Scientific)
- 10X Tag Buffer with KCL (Thermo Fisher Scientific)
- Tag DNA Polymerase 5 U/μL, 500 U (Thermo Fisher Scientific, EP0402)
- dNTP Set (Thermo Fisher Scientific, R0182)
- Ethanol Absolute (Sigma-Aldrich, 32221)
- E-test (BioDisc, Sweden)
- MICE Evaluator Strip (Thermo Fisher Scientific, UK)
- 2- Propanol (Sigma-Aldrich, 24137)
- Lysozyme 50000U/mg (Merck, 05281)
- 10 mM Tris-HCL, pH 8,0
- Safe View Classic (ABM, G108)
- GeneRuler 100 bp DNA Ladder 0,5 μg/μl, 50 μg (Thermo Fisher Scientific, SM0241)

3.1.9. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

- Mc Farland Densitometresi (Biosan, Litvanya)
- Mikropipet (10-100-1000 Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- Vorteks karıştırıcı 2500 devir/dakika (Velp Scientifica, İspanya)
- Thermal cycler PCR cihazı (Biorad, PTC0200, Meksika)
- Pulsed-Field Jel Elektroforez cihazı (CHEF-DR II, Biorad, Fransa)

- Steril biogüvenlik kabin (Class II, Amerika Birleşik Devletleri)
- Güç kaynağı ve elektroforez sistemi (Thermo Fisher Scientific, Easycast-B1, Amerika Birleşik Devletleri)
- Etüv (Memmert, IN55, Almanya)
- Elektronik saat (Isolab, Türkiye)
- Jel görüntüleme sistemi (Viber Lourtmat, Almanya)
- Santrifüj (Hettich, Micro 120, Almanya)
- +4°C ve -20°C'li çift taraflı buzdolabı (Samsung, RSA1STSL, Güney Kore)
- Buzdolabı -20°C (Bosch)
- Faz-kontrast Mikroskop (10X, 40X ve 100X objektif, Olympus)
- Pipet-steril pipet ucu (Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- Magnetik karıştırıcı (VWR, Almanya)
- Çalkalamalı su banyosu (Memmert, Almanya)
- Stomacher (Interscience, Fransa)
- Mini santrifüj (Isolab, D1008, Almanya)
- Elektrikli pipet pompası (Isolab, Almanya)
- Terazî (RADWAG, WTB2000, Polonya)
- Hassas terazî (Sartorius, CP224S, Almanya)
- Derin dondurucu -80°C (Hettich, Almanya)
- Kuru Blok (Grant-Bio, PCH-2, İngiltere)
- Otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya)

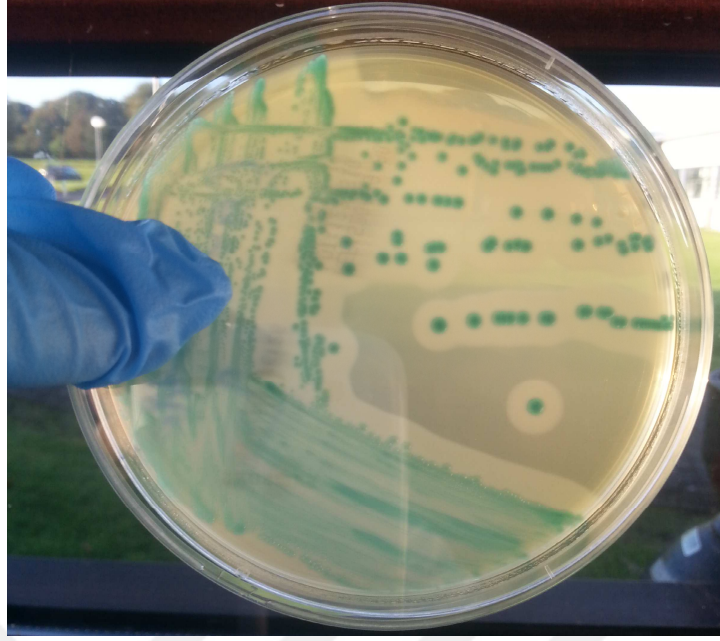
3.2. GEREÇ

3.2.1. Numune Alımı

İstanbul ilinde Avrupa yakası (ağırlıklı olarak Fatih, Habibler, Şehremini, Avcılar, Taksim) marketlerde ve kasaplarda satışa sunulan parça tavuk eti (but, kanat, göğüs) ve İstanbul ili dışında iki farklı tavuk kesimhanesinden bütün tavuk olarak steril numune poşetlerine alınarak termobox içerisinde (+4°C) İstanbul Üniversitesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilimdalı İleri Moleküler Analiz Laboratuvar'ına getirilmiştir. Örneklemeye bitimine kadar toplanan örnekler önce kısa süreli -20°C'de, takiben uzun süreli muhafaza edilmek üzere -80°C'de analiz zamanına kadar yaklaşık 6 ay dondurulmuştur.

3.2.2. Mikrobiyolojik Ekim ve Klasik Kültürel İzolasyon

L. monocytogenes izolasyonunda, EN ISO 11290-1 (ISO, 2004a) tarafından önerilen standard kapsamında işletmelerden toplanan steril poşet içindeki bütün tavuk örnekleri 500 ml %0,9'luk Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) ile rinse metod yöntemi uygulandıktan sonra sıvı kısmından 25 g alınarak ön zenginleştirme için hazırlanmıştır. Diğer taraftan but, kanat ve göğüs örnekleri için bek alevi yanında pens ve makas yardımıyla farklı noktalarından 25 g et ve deri alınmak suretiyle steril stomacher poşetine konulmuştur. Takiben, ön zenginleştirme amacıyla üzerine 225 ml Half-Fraser broth (Oxoid CM 895) ilave edilerek, stomacherde (Interscience, Fransa) yüksek hızda 3 dakika süreyle homojenize edildikten sonra 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında ön zenginleştirme kültüründen 0,1 ml alınarak 10 ml Fraser Broth (Oxoid CM 895) içerisine inoküle edilerek 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda ise Fraser Broth içerisinden 10 µl alınarak *L. monocytogenes* için selektif olan ALOA Agara (Oxoid CM 1084) inokülasyon yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda selektif agarda mavi-yeşil turkuaz renkli opak haleli olan kolonilere doğrulanması amacıyla tekrar ALOA petrilere geçilerek takiben biyokimyasal testler uygulanmıştır.



Şekil 3-1: ALOA besiyerinde tipik opak hale gösteren *L. monocytogenes*

3.2.3. Biyokimyasal Testler

Son zamanlarda *Listeria* türlerinin identifikasyonunda biyokimyasal testlerin kullanılması her zaman doğru sonuç vermediği ve genetik testlerin türlerin yeniden sınıflandırmaya neden olduğu bildirilmesine rağmen; bazı biyokimyasal testler yapılmak üzere, Tryptic Soy Agar (TSA)'a (Oxoid CM131) geçildikten sonra petriler 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilere sırası ile; Gram boyama, katalaz (%3'lik H₂O₂ ile), oksidaz ve %5'lik kanlı agarda hemoliz testleri yapılarak izolatların identifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Aznar ve Alarcon, 2002).

3.2.3.1. Gram Boyama

Gram (+) ve (-) bakterilerin ayrımı amacıyla ticari olarak alınan gram boyama seti (GBL boyama seti) ile TSA'da geliştirilen örneklerden öze yardımıyla bir koloni alınarak bek alevi yanında, steril lam üzerine bir damla %0,9 NaCl damlatılarak üzerine alınan koloni ince bir şekilde yayılarak tercihen havada yada bek alevinden 45°C'lik ağı ile geçirilerek fiziksel tespit edilmiştir.

Fikse edilen preparatlara sırasıyla;

- Kristal moru çözeltisi ile örtülerek, 1-2 dakika sonra yıkama işlemi yapılmıştır.
- Distile su ile 15 saniye yıkanmıştır.

- Lügol çözeltisi ile örtülerek, 1 dakika sonra ayıraç silkilenerek uzaklaştırılmıştır.
- Distile su ile 15 saniye yıkanmıştır.
- Denatüre alkol çözeltisi ile örtülerek, 15-20 sn. sonra silkilenerek ayıraç uzaklaştırılmıştır.
- Distile su ile 15 saniye yıkanmıştır.
- Sulu fuksin çözeltisi ile örtülerek, 15-20 saniye sonra silkilenerek ayıraç uzaklaştırılmıştır.
- Distile su ile 15 saniye yıkanmıştır.

Preparatlar kurutma kağıdı üzerinde havada kurutularak faz-kontrast mikroskopunda (Olympus) 100X objektif ile morfolojisi incelenmiştir. Mor renkli olanlar Gram (+), pembe renkli olanlar Gram (-) olarak değerlendirilmiştir. Gram (+) ve küçük kok şeklinde olan morfolojiler *L. monocytogenes* olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.2. Katalaz Testi

TSA besiyerinde üretilen taze (18-24 saatlik) bakteri kültüründen alınmış birkaç koloni temiz bir lam üzerinde birkaç damla %3'lük H₂O₂ ile karıştırılmıştır. 15 saniye içerisinde gaz oluşumu (O₂ çıkışı) gözlenen şüpheli izolatları, katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lancette ve Bennett 2001).

3.2.3.3. Oksidaz Testi

FDA-BAM'a göre hazırlanmış olan oksidaz solüsyonu, tek kullanımlık steril petri içerisine steril edilmiş kurutma kağıdı yerleştirililerek, hazırlanan oksidaz solüsyonu damlatılmış ve üzerine TSA'da geliştirilen taze koloniden öze yada tek kullanımlık kürdan yardımıyla alınarak kurutma kağıdına temas ettirilmiştir. 10 sn içinde pembeden koyu mora kadar kademeli olarak değişen sonuçlar oksidaz pozitif; renk değişimi vermez ise negatif olarak değerlendirilmiştir (US Food and Drug Administration 2013).

3.2.4. CAMP Testi

Food and Drug Administration (FDA)'a göre Bacteriological Analytical Manual (BAM)'ın önerdiği yöntem doğrultusunda hemolitik olan *L. monocytogenes*'i saptamak için %5 oranında koyun kanı içeren TSA'a paralel olarak tek çizgi şeklinde ekilen *S. aureus* ATCC 25923 ve *Rhodococcus equi* (ATCC 6939) arasına referans suşları değmeyecek şekilde 2-4 mm uzaklıkta şüpheli *L. monocytogenes* suşları ekilmiştir (FDA 2013). Ekilen petriler $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. Hemoliz oluşumunun tam şekillenmemesi durumunda *Listeria* spp. ve referans suşlarının $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de toplam inkübasyon 48 ± 2 saat olasıya kadar inkübe edilmesi tavsiye edilmektedir.

İdentifiye edilen *L. monocytogenes* suşları %20 gliserol bulunan 1 ml Tryptic Soya Broth (TSB) (Oxoid, CM 129) mikro santrifüj tüpü içerisinde tekrar kullanılacağı zamana kadar -20°C 'de bir gece bekletildikten sonra, uzun süreli muhafaza edilmek üzere -80°C 'de (Nuare, Amerika Birleşik Devletleri) dondurulmuştur.

3.2.5. Kültürel Yöntem ile *L. monocytogenes* olarak Elde Edilen Suşların PCR ile Tespiti

3.2.5.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

-80°C 'de muhafaza edilen *L. monocytogenes* izolatları 3 ml TSB içerisinde 37°C 'de 24 saat çalkalamalı etüvde inkübe edilerek dilüsyondan 500-1000 μl miktar alınması suretiyle eter kloroform yöntemi kullanılarak DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir (Liu ve ark. 2004).

Bu amaçla 5 ml TSB veya Brain Heart Infusion (BHI) içerisinde 37°C 'de 16 saat üretilen bakterilerden 1 ml olacak şekilde 14000 rpm 15 dakika'da santrifüj edilerek pellet oluşumu sağlanmıştır. Takiben 1xTE hazırlamak için: 0,1 ml 0,5 M EDTA pH 8,0'den ve 0,5 ml 1 M Tris-HCL pH 8,0'den alınarak 49,4 ml dH_2O ile tamamlanmıştır ve her bir örnek için; (4 mg/ml) lizozim (Sigma), 250 μl 1xTE içerisinde çözdürülmüştür.

- Hazırlanan 250 μl 1xTE ve 4 mg/ml lizozim karışımı, her bir örnek için elde edilen pelletlere eklenerek 30 dakika 37°C 'de su banyosunda (Memmert, Almanya) inkübe edilmiştir.

- Takiben, 50 µl %10 SDS (Applichem, Amerika Birleşik Devletleri) ve 10 µl (10 mg/ml) proteinaz K (Sigma, Almanya) eklenmiştir.
- 2 saat 56°C’de su banyosunda inkübe edilmiştir.
- Takiben 1:1 oranında Phenol/chloroform/isoamyl alcohol (Amresco, Amerika Birleşik Devletleri) eklenmiştir.
- Santrifüj sonrası üstteki aquöz faz alınarak ortadaki interfaza dokunulmadan steril yeni tüplere aktarılmıştır.
- Yaklaşık 350 µl bir hacim isopropil alkol (Sigma, Almanya) ve 50 µl 5 M NaCl eklenerek 14000 rpm 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- Elde edilen DNA, 1 ml taze hazırlanmış %70 Et-OH eklenerek vortexlenmiştir.
- 14000 rpm 10 dakika santrifüj edilir ve kuru blok (Biosan) içinde 37°C’de etanol iyice uçaşıya kadar kurutulmuştur.
- Son olarak 1xTE içinde (100 µl) eklenir, DNA zarar görmeyecek şekilde karıştırılarak -20°C’de muhafaza edilmiştir.
- Ekstraksiyonu takiben gen varlığını kontrol etmek için 5 µl genomik DNA alınarak 1-2 µl loading dye ile karıştırılarak %0,75’lik jel hazırlanarak güç kaynağı (Biorad) aracılığı ile 120 volt akımda 40 dakika koşurulmuştur.

3.2.5.2. PCR Analizleri

Genomik DNA eldesini takiben, *L. monocytogenes* suşlarının virulens genlerinin incelenmesi amacıyla *hlyA* (234 bp), *iap* (131 bp), *flaA* (864 bp), *monoA-B* (400 kb), *prs* (370 bp), *inlA* (800 bp), *inlC* (517 bp), *inlJ* (238 bp), *gtcA* (251 bp), *dltA* (1 kb), *plcA* (129 bp), *actA* (268 bp veya 385 bp civarı), *prfA* (571 bp), *plcB* (261 bp), *mpl* (1473 bp) ve *fri* (471 bp), *lip1-2a* (274 bp) gen varlıklarına özgü primerler kullanılarak ilgili genlerin mevcudiyeti PCR analizleri ile araştırılmıştır.

PCR analizleri her bir örnek için genomik DNA 5 µl, 10X reaksiyon tamponu KCl (Thermo) 5 µl, MgCl₂ (25 mM) (Thermo) 3 µl, forward primer (10 uM) 1 µl, revers primer (10 uM) 1 µl, dNTP mix (her bir dATP, dCTP, dGTP, and dTTP’den 2

mM) (Thermo) 5 µl, Taq DNA polimeraz 1 U (Thermo) (0,24 µl) olarak hazırlanarak toplam hacim 50 µl olacak şekilde steril dH₂O ile tamamlanmıştır.

3.2.5.3. *L. monocytogenes*'e ait Çeşitli Virulens Genlerin PCR ile Tespiti

L. monocytogenes suşlarının genetik olarak doğrulanması için spesifik olan *monoA-B* (400 bp) primerleri ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 95°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 95°C'de 1 dakika, 53°C'de 45 s ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a (Biorad, PTC0200, Meksika) yerleştirilmiştir (Bubert ve ark. 1999).

PrfA (571 bp) 5'-GGTATCACAAAGCTCACGAG-3' and 5'-'-CCCAAGTAGCAGGACATGCTAA- 3' başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 1 dakika, 55°C' de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz ve *mpl* (1473 bp) 5'-GGCTCATTTCACTATGACGG-3' ve 5'-GCTTCCCAAGCTTCAGCAACT-3' başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 3 dakika; bağlanma 25 döngü 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Nishibori ve ark. 1995).

Leimeister-Wachter ve ark. (1991) *plcA* (129 bp) 5'-CGAGCAAAACAGCAACGATA-3' ve 5'- CCGCGGACATCTTTTAATGT-3' primer dizaynı ile Vazquez-Boland ve ark. (1992) tarafından belirtilen *plcB* (261bp) 5'-GGGAAATTTGACACAGCGTT-3' ve 5'-ATTTTCGGGTAGTCCGCTTT-3' primer dizaynı ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 saniye, 53°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir.

HylA (234 bp) 5'- CGGAGGTTCCGCAAAAGATG-3' ve 5'-CCTCCAGAGTGATCGATGTT-3' primer dizaynına göre belirtilen PCR koşulları modifiye edilerek başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 40 döngü 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Furrer ve ark. 1991; Mengaud ve ark. 1989).

L. monocytogenes virulensitesinde hücreden hücreye yayılmasında önemli rol oynayan ve iki farklı gen büyüklüğüne sahip olan *actA* (268 bp ve 385 bp) olup

tarafından yapılan çalışmada belirtilen 5'-GACGAAAATCCCGAAGTGAA-3' ve 5'-CTAGCGAAGGTGCTGTTTCC-3' primer dizaynı ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 saniye, 51°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Jaradat ve ark. 2002).

Elde edilen DNA örneklerine, *IniA* (800 bp) için 5'-ACGAGTAACGGGACAAATGC-3' ve 5'-CCCGACAGTGGTGCTAGATT-3', *IniC* (517 bp) için 5'-AATTCCCACAGGACACAACC-3' ve 5'-CGGGAATGCAATTTTTCCTA-3', *IniJ* (238 bp) için 5'-TGTAACCCCGCTTACACAGTT-3' ve 5'-AGCGGCTTGGCAGTCTAATA-3' internalin genleri için dizayn edilen primerler kullanılarak multiplex PCR reaksiyonu aşağıda yer aldığı şekilde hazırlanmıştır. Başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 1 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Liu ve ark. 2007).

3.2.5.4. *L. monocytogenes* için Önemli Diğer Patojenite Genlerin Tespiti

Lip1-2a (274 bp) için, *Lip1*: 5'- GATACAGAAACATCGGTTGGC-3' ve *Lip2a*: 5'- GTGTAACCTTGATGCCATCAGG-3' başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 45 s, 53°C'de 45 s ve 72°C'de 45 sn; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (D' Agostino ve ark. 2004).

Iap (131 bp) 5'-GGGCTTTATCCATAAAATA-3' ve 5'-TTGGAAGAACCTTGATTA-3' primer dizaynı ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 95°C'de 10 dakika; bağlanma 40 döngü 95°C'de 30 saniye, 58°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Kyoui ve ark. 2014).

GtcA (251 bp) için Promadej ve ark. (1999) tarafından belirtilen forward ve reverse primeri ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 95°C'de 10 dakika; bağlanma 40 döngü 94°C'de 45 s, 52°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 s; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de ve *dltA* (1000 bp) forward AAGTAGTGCAGTTTAGGAGAGGA ve reverse AGATTGTACCACCGGATGTC primeri ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 30 saniye, 58°C'de 30 saniye ve 72°C'de 2

dakika; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Kyoui ve ark. 2014).

Fri (471 bp) forward ATGAAAACAATCAACTCAGT reverse CTACTCTAATGGAGCTTTT ve *flaA* (864 bp) forward ATGAAAGTAAATACTAATATC reverse TTAGCTGTTAATTAATTGAGT Slama ve ark. (2013)'lerinin çalışmasına göre, başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C 5 dk; bağlanma 35 döngü 94°C 45 sn, 47°C 45 sn, 72°C 1 dk; uzama 72°C 7 dk ve 10°C'de sonsuz olarak multiplex yapılmıştır.

PCR sonucunda elde edilen ürünler, DNA büyüklük aralıklarına göre değişen yaklaşık 1-1,5'lik agaroz jelin yaklaşık 50-55°C'ye soğumasını takiben içerisine mutajen olmayan 5 µl SafeView (G468, ABM, Canada) DNA boyası eklenerek, eğim olmayacak şekilde manda gözü ile yüzey kontrolü yapılarak, kenarları bantla veya uygun bir materyalle sabitlenen temiz ve kuru jel tepsisine ve uygun örnek sayısı ve kuyucuk genişliklerine göre tarak yerleştirilmiştir. Jel döküldükten sonra jel yüzeyinde ve kuyucukların önünde baloncuk kalmayacak şekilde jel kontrol edilmiştir, varsa pipet ucu ile giderilmiştir. Oda ısısına göre yaklaşık 20-30 dakika jel buzlu cam benzeri görüntüye ulaştıktan sonra tarak yavaş bir şekilde çıkarılarak Thermo Easycast B1 elektroforez tankına yerleştirilmiş ve kuyucukları örtmeye yetecek kadar 1xTAE (0,04 M Tris-asetate ve 0,001 M EDTA) eklenmiştir. Elde edilen PCR ürününden 10 µl alınarak 1-2 µl loading dye ile karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiştir. Jelde ilk ve son kuyucuklara gen büyüklüklerine göre 100 bp (Thermo, Almanya) ya da 1 kb (Thermo, Almanya)'lık 4 µl cetvel yüklenmiştir. Yatay elektroforez sisteminde Thermo EC 300 XL güç kaynağı ile 120 volt akımda anottan katoda koşturulmuştur. Elektroforez sonunda ilgili genlerin uygun band aralıklarında olup olmadığı Vilber Lourmat Infinity Jel Görüntüleme Sisteminde görüntülenmesi ile sağlanmıştır.

3.2.5.5. *L. monocytogenes* Suşlarının PCR ile Serogruplandırılması

L. monocytogenes izolatlarının serogruplandırılması amacıyla Doumith ve ark. (2004) tarafından dizayn edilen 1/2a, 3a; 1/2b, 3b; 1/2c, 3c; ve 4b, 4d, 4e serogruplarına ait primer dizileri kullanılmıştır.

Prs (370 bp) 5'-GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG-3' ve 5'-CAAAGAAACCTTGGATTGCGG-3' primeri ile başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 3 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 0,40 saniye, 53°C'de 1 dakika 15 saniye

ve 72°C'de 1 dakika 15 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Doumith ve ark. 2004).

Serogruplandırma *İmo0737* (691 bp) 5'- AGGGCTTCAAGGACTTACCC-3' ve 5'-ACGATTTCTGCTTGCCATTC-3', *İmo1118* (906 bp) 5'-AGGGGTCTTAAATCCTGGAA-3' ve 5'- CGGCTTGTTCGGCATACTTA-3' , *ORF2819* (471 bp) 5'-, AGCAAAATGCCAAACTCGT-3' ve 5'-CATCACTAAAGCCTCCCATTG-3' *ORF2110* (597 bp) 5'-AGTGGACAATTGATTGGTGAA-3' ve 5'-CATCCATCCCTTACTTTGGAC-3' primerleri ile multipleks PCR yapılarak başlangıç denatürasyon 1 döngü 94°C'de 3 dakika; bağlanma 35 döngü 94°C'de 0,40 saniye, 53°C'de 1 dakika 15 saniye ve 72°C'de 1 dakika 15 saniye; uzama 72°C'de 7 dakika ve 10°C'de sonsuz olacak şekilde Termal Cyclers'a yerleştirilmiştir (Doumith ve ark. 2004).

Elde edilen PCR ürünleri daha önce belirtildiği gibi jele yüklenerek, görüntü alınması sağlanmıştır.

PCR sonucunda elde edilen ampikonlar elektroforez sonucunda bir izolat yalnızca *İmo0737* pozitif ise 1/2a veya 3a; hem *İmo0737* hem de *İmo1118* pozitif ise 1/2c veya 3c; yalnızca *ORF2819* pozitif ise 1/2b, 3b veya 7; hem *ORF2819* hem de *ORF2110* pozitif ise 4b, 4e veya 4d olarak değerlendirilmiştir (Doumith ve ark. 2004).

3.2.6. Antibiyotik Duyarlılığının Tespiti

Pozitif olarak elde edilen *L. monocytogenes* izolatları EUCAST (2017) standartlarına göre belirtilen metot kapsamında antibiyotik duyarlılık testine tabi tutulmuştur.

Metot çerçevesinde, %5 mekanik defibrine edilmiş at kanı ile 20 mg/L β -NAD (Biolab Inc., NAD10025) içeren Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid 337) 25 ml steril mezur ile ölçülmüştür. Takiben, petrilere eşit miktarda dökülerek disk difüzyon yöntemiyle duyarlılıkları belirlenmiştir. *L. monocytogenes*, 24 saat 37°C'de TSA'da inkübe edilerek elde edilen taze kültürlerden öze ile alınarak içinde 5 ml %0,85'lik FTS bulunan steril tüplerde süspanse edilerek McFarland densitometre cihazı (Biosan, Litvanya) ile 0,50 McFarland (10^8 kob/ml) turbiditeye ayarlanmıştır. Daha sonra bu süspanسیون MHA üzerine 90°C'lik açılarla üç yönlü sürülerek ekilmiştir. Takiben, petriler oda ısısında 5-10 dakika bekletilerek her bir petri içerisine, birbirlerine eşit

uzaklıkta olacak şekilde toplamda 5 adet antibiyotik diski $35\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübe edilmiştir. Ölçme işleminde zonların karışmaması amacıyla bir örnek için iki petri (2 ve 3 disk içeren) hazırlanmıştır.

Bu amaçla Oxoid marka antibiyotik disklerinden ampisilin (CT0002B, 2 µg), penisilin G (CT0152B, 1U), eritromisin (CT0020B, 15 µg), meropenem (CT0774B, 10 µg), trimethoprim-sulfamethoksazole (ko-trimoksazol) (CT0052B, 25 µg) antibiyotikleri kullanılmıştır. İnkubasyon sonrasında antibiyotik disklerinin etrafındaki inhibisyon zon limitleri, EUCAST (2018) standartları ile karşılaştırılarak izolatların antibiyotiklere karşı duyarlı ve dirençli olarak kesin olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.7. Antibiyotik Dirençli Suşların Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerlerinin Belirlenmesi

Çalışmamızda disk difüzyon yöntemi ile dirençli bulunan izolatların MIC değerleri E-test (BioDisc, İsveç) ve MICE stripleri (Thermo, İngiltere) ile yapılmıştır (EUCAST 2017 Version 5.0). Bu amaçla önce disk difüzyon testinde direnç saptanan, 20°C 'de muhafaza ettiğimiz izolatlar, 37°C 'de 12-18 saat çalkalamalı etüvde (Mermert, Almanya) canlandırılarak, sonrasında TSA'a çizilerek 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat süre sonunda *L. monocytogenes* izolatlarına ait TSA'da taze kültürlerden öze ile birkaç tane alınarak içinde 5 ml %0,9'luk FTS bulunan steril tüplerde süspanse edilerek McFarland densitometre cihazı (Biosan) ile 0,50 McFarland (10^8 kob/ml) turbiditeye ayarlanmıştır. Daha sonra bu süspansiyon %5 koyun kanı içeren MHA üzerine steril bir eküvyon çubuğu ile sürülerek üç defa 90°C 'lik açılarla dönülerek ekilmiştir. Takiben petriler oda ısısında 5-10 dakika kurutularak her bir petriye bek alevi yanında steril pens yardımıyla bir adet test strip yerleştirilmiştir. Petriler 37°C 'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra, elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği nokta MIC değeri olarak kaydedilmiştir. Daha sonra elde edilen sonuçlar EUCAST (2017)'de belirtilen MIC limitleri ile karşılaştırılmıştır.

3.2.8. PFGE

Çalışma kapsamında izole edilen *L. monocytogenes* izolatları arasındaki genetiksel ilişkilerin belirlenmesinde kullanılan ve CDC tarafından önerilen altın standart yöntem olan "Pulsed Field Gel Electrophoresis" kullanılmıştır. CDC tarafından önerilen *L. monocytogenes* PulseNet PFGE protokolü esas alınmıştır (CDC 2013).

Analize başlamadan önce ilk aşamada bu amaçla izole edilen ve stoklanan bakteri ve cetvel olarak standart kabul edilen *Salmonella* Braenderup H9812 suşları 10 µl tek kullanımlık öze yardımıyla BHI'a geçilerek 37°C'de 16-24 saat inkübe edilmiştir.

Birinci gün, gelişen koloniler içerisinde 3 ml TE buffer (1 M Tris, pH 8,0 ve 0,5 M EDTA, pH 8,0) bulunan steril eküvyon tüplerine aktararak dilue edilmiştir. Sonrasında, spektrofotometre (VWR V-1200) aracılığıyla optik densitesi OD₆₁₀ olacak şekilde konsantrasyonu ölçülmüştür. Konsantrasyonu *L. monocytogenes* suşları için 1,0; *Salmonella* Braenderup için 1,3 olacak şekilde TE buffer ile süspanse edilmiştir.

Takiben 400 µl alınarak steril kabin içerisinde (Class II) önceden hazırlanan steril 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüplerine transfer edilmiştir. Her bir mikro santrifüj tüplerine (*Salmonella* Braenderup H9812 hariç) hazırlanan 20 mg/ml lizozim stok solüsyonundan 20 µl eklenir, yavaşça karıştırılarak 55°C'de kuru blokta (Biosan) 10-20 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda her bir mikro santrifüj tüpüne (*Salmonella* Braenderup H9812 dahil) 20 mg/ml proteinaz K stok solüsyonundan 20 µl eklenerek yavaşça karıştırılmıştır.

Diğer taraftan plugları hazırlamak için; steril şot şişe içinde %1 Seakem Gold Agaroz (kapağı tam kapatılmayacak şekilde) homojenize olasıya kadar çözündürülür. 50-55°C'ye soğuması için önceden ayarlanan sıcak su banyosuna (Memmert, Germany) bırakılarak uygun sıcaklığa getirilmiştir.

Takiben, %1 Seakem Gold Agarozdan 400 µl alınarak mikro santrifüj tüpü içindeki bakteriye eklenerek bakteri-jel karışımı hazırlanır. Karışım, dikkatli ve hızlı bir şekilde donmadan pipet ile homojenize edilerek pluglara sayı verilerek baloncuk oluşmadan pipet (1000 µl, Thermo) yardımıyla yerleştirilmiştir.

Oda sıcaklığında 10-15 dakika veya buzdolabında ortalama 5 dakika plugların katılaşması için beklenmiştir. Bu aşamada, diğer yandan içerisinde 5 ml hücre lizis buffer solüsyonu (50 mM Tris, 50 mM EDTA, pH 8,0+%1 Sarcosyl) ve 25 µl proteinaz K stok solüsyon (20 mg/ml) karışımı bulunan 50 ml'lik tüplere pluglar aktararak, 50-55°C'de çalkamalı su banyosunda (Memmert, Germany) 2 saat inkübe edilmiştir.

Takiben, önceden ayarlanmış sıcak su banyosuna bırakılan sıcaklığı 54-55°C olan steril ultrapure su ile iki defa; dört defa oda sıcaklığındaki TE buffer ile her bir aşamada 10-15 dakika beklemek kaydıyla çalkamalı su banyosunda yıkanmıştır.

Diğer yandan dilue edilmiş 1X restriksiyon buffer hazırlanarak ve 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüplerine örnek sayıları yazılarak 200 µl aktarılmıştır. Takiben, pluglar 2-2,5 mm olacak şekilde kesilerek tüp içerisine alınmıştır. Hazırlanan pluglar birinci günün sonunda ApaI (50 U/µl) kesim enzimleri ile 30°C'de 18 saat ayarlanmış kuru bloklar (CH-100, Biosan) içerisinde kesime bırakılmıştır.

İkinci gün AscI (10 U/µl) ve standart olan *Salmonella Braenderup* H9812 için XbaI (10 U/µl) kesim enzimi ile 37°C'de 2 saat inkube edilerek kesilmiştir. Elde edilen pluglar, %1 Seakem Gold Agaroza ile hazırlanan katılaşmış jelin kuyucuklarının içerisine spatül ve yardımıyla dikkatlice yerleştirilerek PFGE cihazları (CHEF-DR II ve CHEF-DR III, Biorad, Amerika Birleşik Devletleri) başlangıç zaman şalteri 4,0 s, son zaman şalteri 40,0 s, voltaj 6V, açı 120° ve koşma zamanı 21 saat olacak şekilde ayarlanarak yerleştirilmiştir.

Üçüncü gün, süre sonunda PFGE jelleri 30 dakika ethidium bromide (Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri) ile boyama, 30 dakika deiyonize su ile yıkama işlemine tabi tutularak Alphaimager™ 3400 jel görüntüleme sistemi ile görüntülenip kaydedilerek Bionumeric Version 7,5 yazılımı ile filogenetik ilişkileri belirlenmiştir.

Bu filogenetik ağaçlar yardımıyla suşlar arasındaki genetiksel ilişkiler hakkında, aynı veya farklı kökenlerden gelip gelmedikleri konusunda bilgi sağlanmıştır.

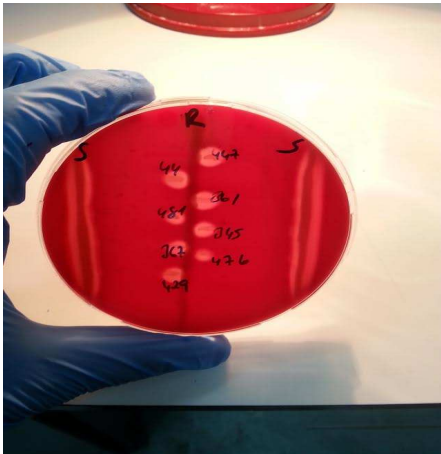
4. BULGULAR

Ana toplamda 500 adet bütün tavuk ve tavuk parça örnekleri (but, kanat, göğüs) İstanbul ili dışında bulunan iki farklı kanatlı kesimhanesi ve İstanbul Avrupa yakasında ağırlıklı Fatih, Habibler, Şehremini, Avcılar, Taksim bölgelerinde yer alan market ve kasaplardan temin edilmiştir.

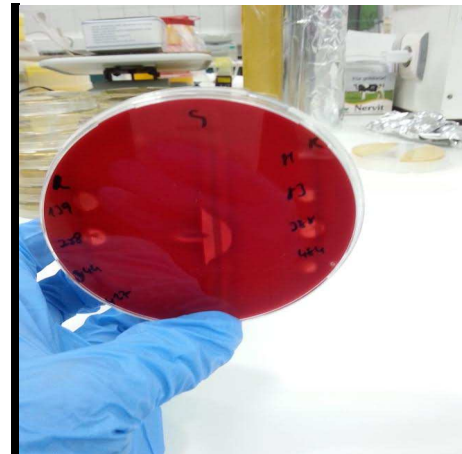
Kesimhane örnekleri, farklı tarihlerde toplamda 42 karkas ve işleme sonrası paketlenmiş 5 but, 5 göğüs, 5 kanat örnekleri olmak üzere 57 adet (Tablo 4-1); market ve kasaplardan ise toplamda farklı markalara ait 106 kanat, 270 but, 67 göğüs olmak üzere 443 adet örnek alınmıştır .

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular

Kültürel ekimler sonrasında toplamda şüpheli 105 adet *L. monocytogenes* izole edilmiştir. İzole edilen *L. monocytogenes* suşları kimyasal testler sonucunda gram boyama testinde hepsi Gram (+) çubukçuk görünümünde, katalaz pozitif ve oksidaz testi ise tüm izolatlarda (-) olup, CAMP testi sonuçları ise 91 adet suş yalnızca *R. equi* tarafında raket benzeri şekil oluşturmuş olup 2 tanesi hem *R. equi* tarafında raket; *S. aureus* tarafında da şemsiye benzeri hemoliz alanı oluşmuştur ve 12 tanesi de negatif sonuç vermiştir.



CAMP testi *R. equi*'ye göre pozitif



CAMP testi *R. equi* ve *S. aureus* pozitif

Şekil 4-1: CAMP test *Rhodococcus equi* ve *S. aureus*'a göre hemoliz alanları

4.2. PCR Bulguları

PCR sonuçlarında elde edilen *L. monocytogenes* için spesifik *monoA-B* gen sonuçlarına göre 105 suşun kesin olarak 103 (%20,6) tanesi *L. monocytogenes* olarak doğrulanmıştır.

Tablo 4-1: Kesimhane numunelerinin PCR doğrulamaları

	1. örnekleme			2. örnekleme			3. örnekleme		
	Sayı	Pozitif	Pozitif (%)	Sayı	Pozitif	Pozitif (%)	Sayı	Pozitif	Pozitif (%)
Kesimhane 1	11	1	9%	-	-	-	-	-	-
Kesimhane 2	12	2	17%	-	-	-	-	-	-

Tablo 4-2: Market ve kasap numunelerinin PCR doğrulamaları

1. Örnek Alım			2. Örnek Alım			3. Örnek Alım		
Sayı	Pozitif	Pozitif%	Sayı	Pozitif	Pozitif%	Sayı	Pozitif	Pozitif%
65	1	2%	79	6	8%	79	39	49%
4. Örnek Alım			5. Örnek Alım			6. Örnek Alım		
Sayı	Pozitif	Pozitif%	Sayı	Pozitif	Pozitif%	Sayı	Pozitif	Pozitif%
85	34	40%	45	1	2%	90	19	21%

4.2.1. PCR Analizleri Sonucunda Virulens Üzerine Diğer Etkili Bazı Gen Dağılımları

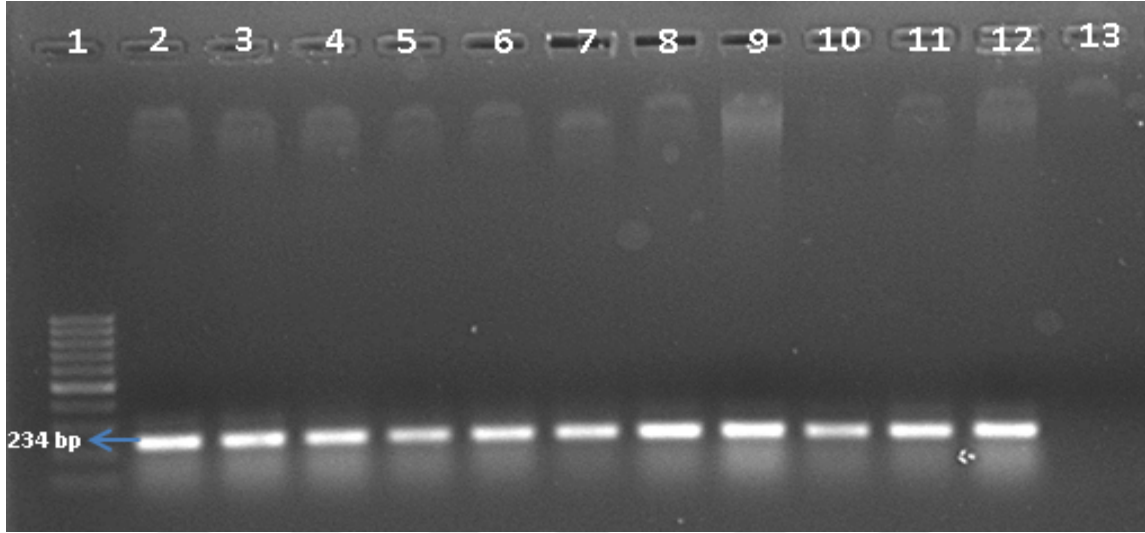
L. monocytogenes olarak izole edilen şüpheli pozitif suşlarda gen analizleri sonuçları serogruplarla ilişkili olarak aşağıda sunulmuştur (Tablo 4-5).

Tablo 4-3: Pozitif *L. monocytogenes* suşları (n:103) için virulens değer dağılımı

Virulens gen	Pozitif suş (%)	Serogrup-pozitif örnek no (%)				
		1/2a-3a	1/2c-3c	4b-4d-4e	1/2b-3b-7	4a-4c
<i>monoA-B</i>	103/103 (100)	78 (100)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>hlyA</i>	103/103 (100)	78 (100)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>inlA</i>	98/103 (95.1)	76 (97.4)	12 (80)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>inlC</i>	98/103 (95.1)	76 (97.4)	12 (80)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>inlJ</i>	98/103 (95.1)	76 (97.4)	12 (80)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>plcA</i>	103/103 (100)	78 (100)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>plcB</i>	103/103 (100)	78 (100)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>prfA</i>	101/103 (98.0)	76 (97.4)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>mpl</i>	99/103 (96.1)	74 (94.8)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>actA</i>	103/103 (100)	78 (100)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>iap</i>	103/103 (100)	78 (2.5)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>dltA</i>	102/103 (99.0)	77 (98.7)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>gtcA</i>	0/103 (0)	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

<i>lip1-2a</i>	102/103 (99.0)	77 (98.7)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)
<i>fri</i>	100/103 (97.0)	76 (97.4)	15 (100)	1 (100)	5 (83.3)	3 (100)
<i>flaA</i>	98/103 (95.1)	73 (93.5)	15 (100)	1 (100)	6 (100)	3 (100)

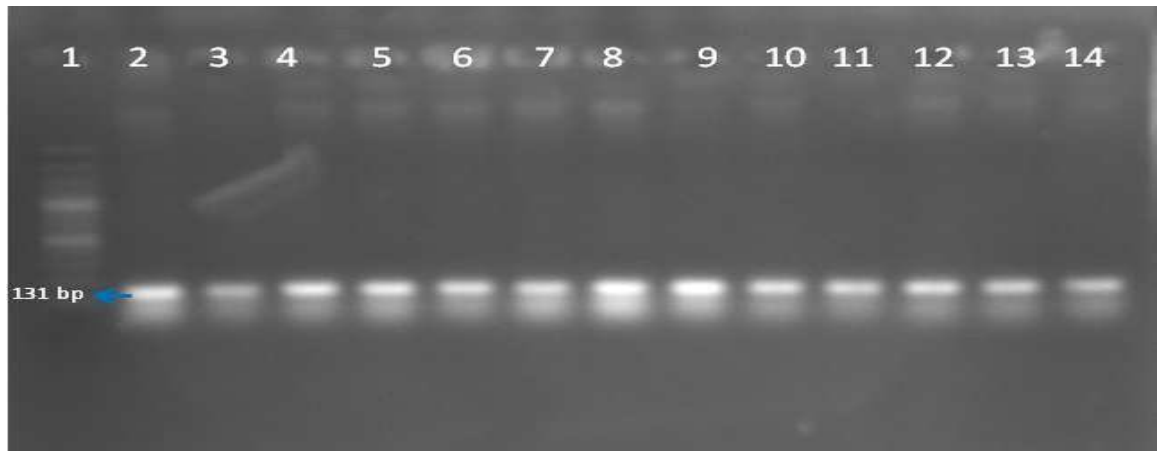
Elde edilen PCR görüntüleri ise sırasıyla aşağıda belirtilmiştir.



Şekil 4-2: *HylA* (234 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) 2. 48 3. 345 4. 78 5. 258 6. 341 7. 433 8. 483 9. 133 10. 263 11. 437 12. 481 13. Negatif kontrol (steril ultra pure su)

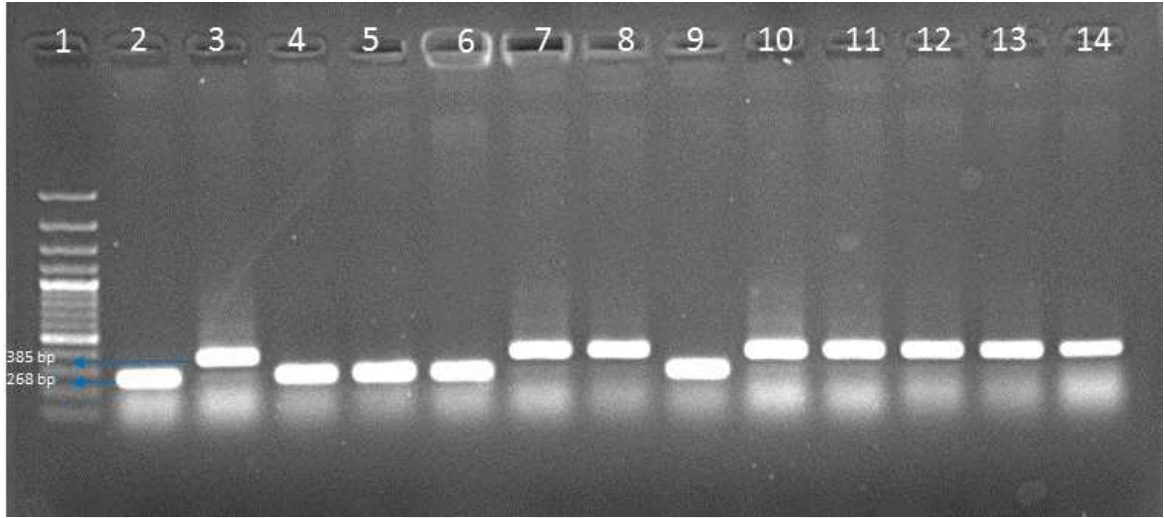
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *hylA* geni açısından hepsi pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-3: *Iap* (131 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo), 2. 224 3. 476 4. 485 5. 183 6. 488 7. 452a 8. 447 9. 472 10. 217 11. 2 12. 433 13. 395 14. 353

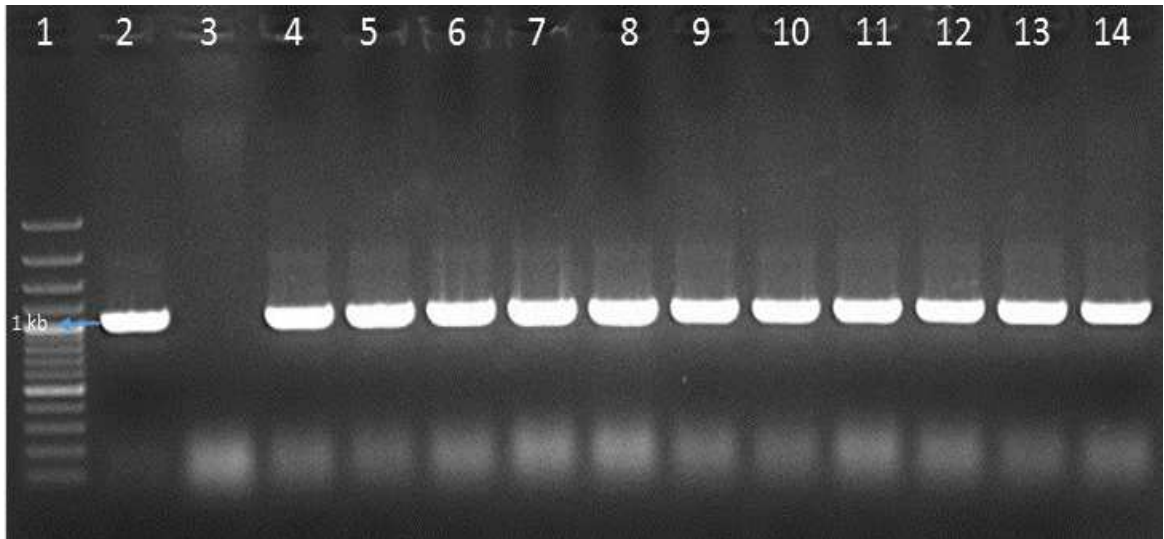
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *iap* geni varlığı yönünden hepsi pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-4: *ActA* (268-385 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) 2. 392a 3. 358 4. 310 5. 155 6. 263 7. 342 8. 413 9. 270 10. 209 11. 78 12. 224 13. 476 14. 445

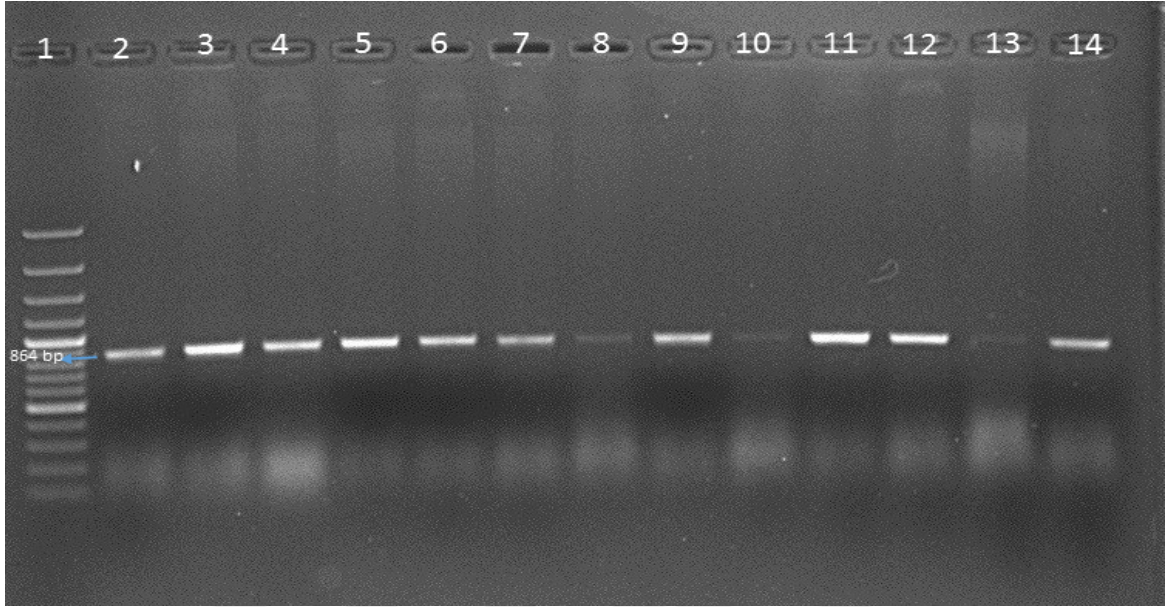
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunda, *actA* geni varlığının araştırılmasında iki farklı bağlanma noktasına sahip olup 268 bp ve 385 bp’de bağlanma göstererek hepsi pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-5: *DltA* (1 kb) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 1 kb DNA marker (Thermo) 2. 381 3. 133 4. 442 5. 69 6. 307 7. 259 8. 296 9. 423 10. 483 11. 48 12. 452 13. 353 14. 491

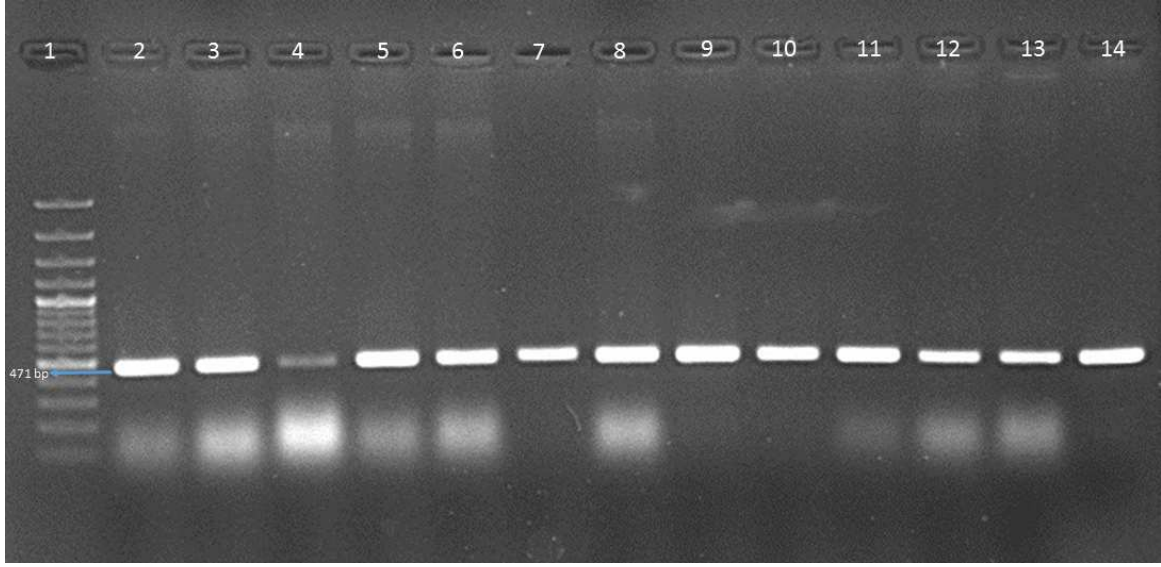
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *dltA* geni açısından 102 suş pozitif bulunmuştur. 1 negatif örnek Nisan ayında Şehremini'den alınan kanat örneği olarak belirlenmiştir.



Şekil 4-6: FlaA (864 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) 2. 26 3. 443 4. 270 5. 65 6. 209 7. 342 8. 413 9. 484 10. 358 11. 310 12. 133 13.392 14. 288

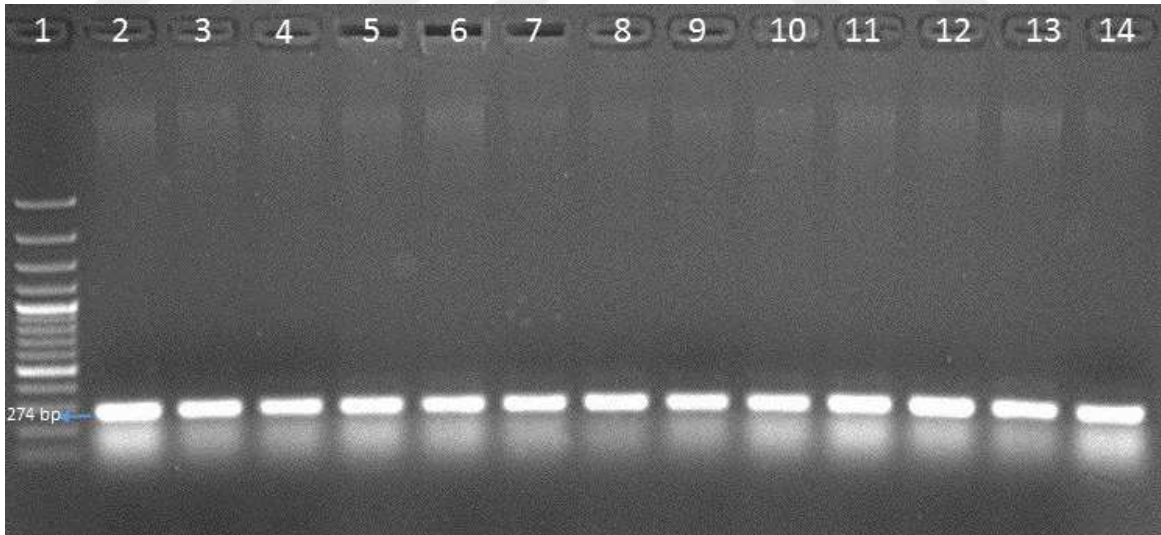
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *flaA* geni açısından 98 suş pozitif bulunmuştur. Bulunan 5 negatif örneğin Habibler ve Şehremini bölgesinden Nisan ve Haziran aylarında alınan but ve kanat örneklerinin olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4-7: *Fri* (471 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) 2.472 3. 258 4. 427 5. 423 6. 345 7. 424 8. 395 9. 444 10. 365 11. 433 12.447 13.139 14. 412

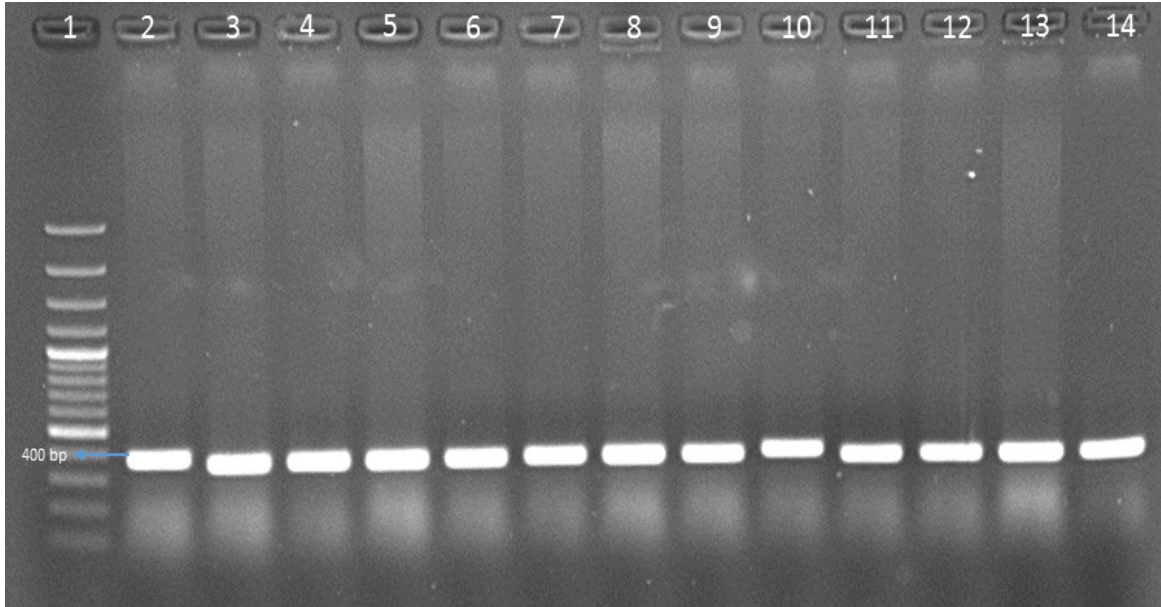
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *fri* geni açısından 100 suş pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-8: *Lip1-2a* (274 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) 2. 26 3. 288 4. 285 5. 224 6. 44 7. 485 8. 307 9. 476 10. 488 11. 447 12. 357 13. 83 14. 465

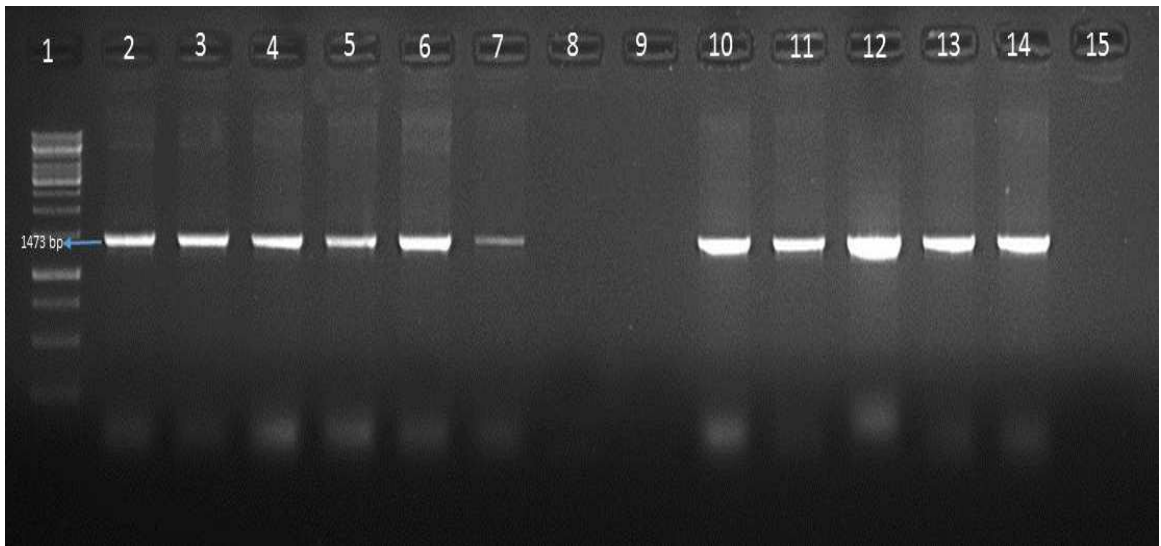
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *lip1-2a* geni açısından 102 suş pozitif bulunmuştur. Negatif bulunan bir örneğin Fatih bölgesinden Mart ayında alınan but örneği olarak belirlenmiştir.



Şekil 4-9: *MonoA-B* (400 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) **2.** 288 **3.** 154 **4.** 345 **5.** 133 **6.** 410 **7.** 413 **8.** 26 **9.** 298 **10.** 151 **11.** 161 **12.** 353a **13.** 494 **14.** 489

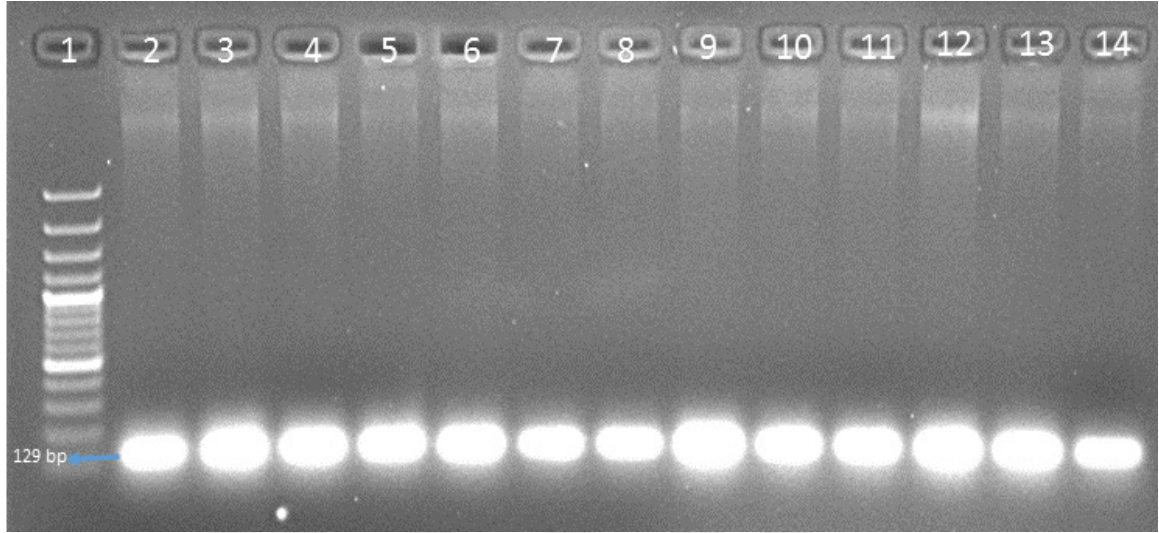
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *monoA-B* geni açısından hepsi pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-10: *Mpl* (1473 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 1 kb DNA marker (Thermo) **2.** 478 **3.** 151 **4.** 315 **5.** 78 **6.** 230 **7.** 438 **8.** 361 **9.** 489 **10.** 367 **11.** 345 **12.** 489 **13.** 296 **14.** 395 **15.** Negatif kontrol (steril ultra pure su)

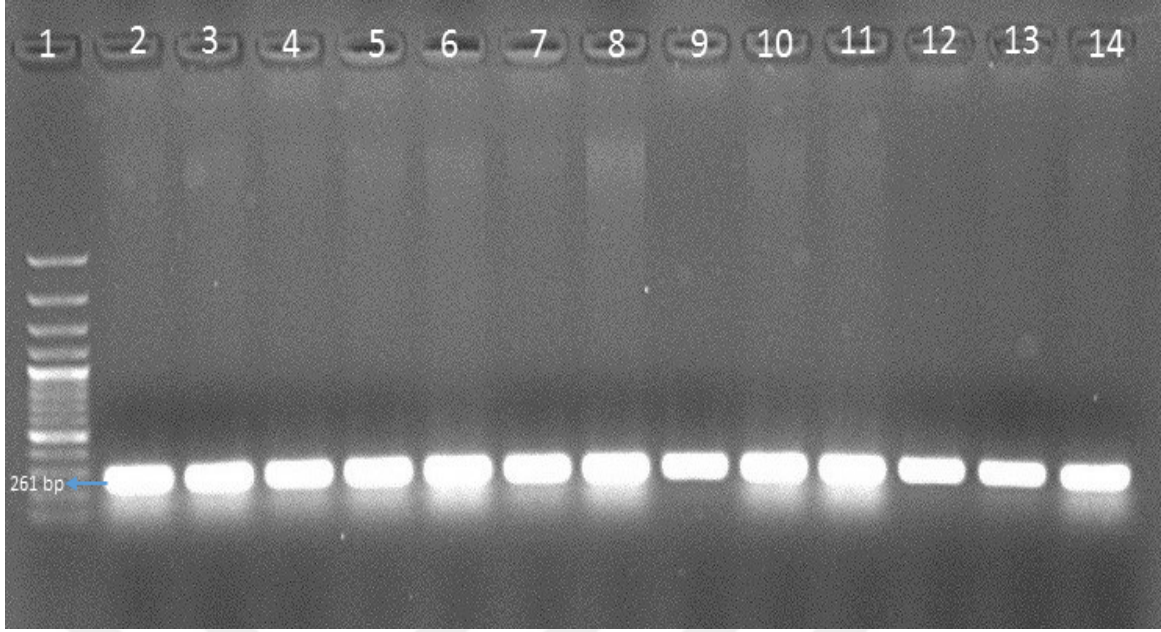
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *mpl* geni açısından 99 suş pozitif bulunmuştur. Bulunan negatif 4 örneğin Nisan ve Mart aylarında Fatih ve Habibler bölgesinden alınan but örnekleri olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4-10: *PlcA* (129 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) **2.** 342 **3.** 133 **4.** 279 **5.** 310 **6.** 429 **7.** 483 **8.** 442 **9.** 368 **10.** 423 **11.** 345 **12.** 364 **13.** 296 **14.** 353

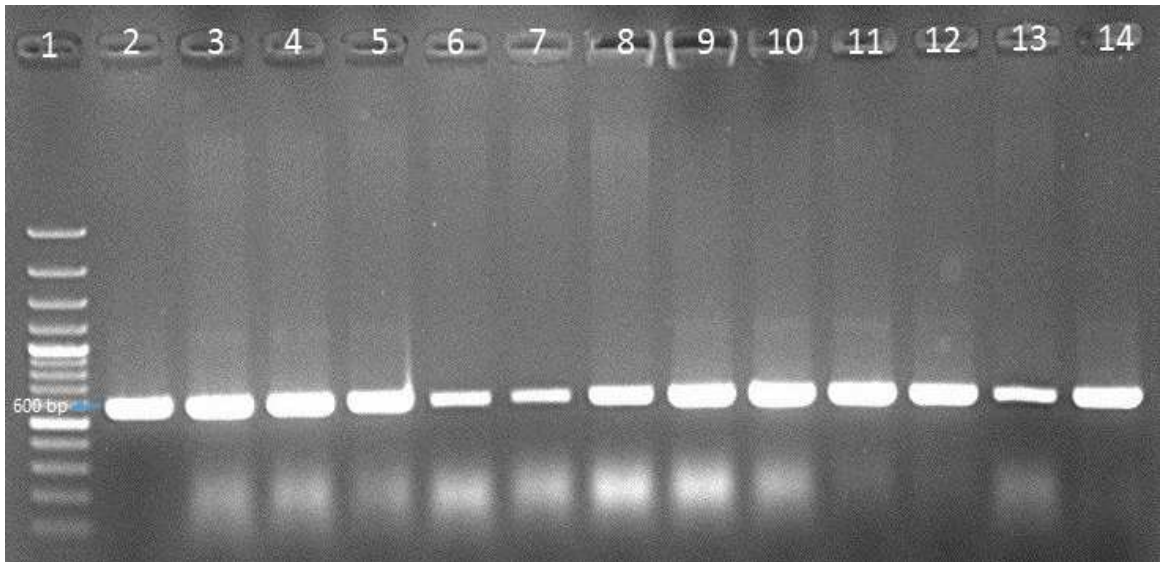
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *plcA* geni açısından hepsi pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-11: *PlcB* (261 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) **2.** 274 **3.** 296 **4.** 353 **5.** 423 **6.** 364 **7.** 155 **8.** 279 **9.** 388 **10.** 443 **11.** 209 **12.** 412 **13.** 338 **14.** 440

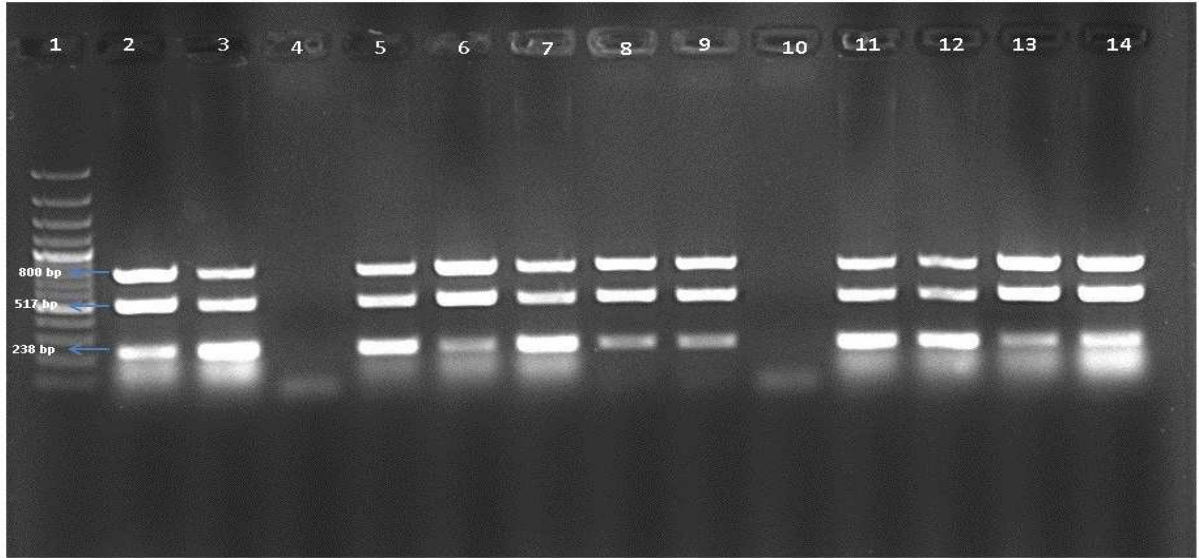
PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *plcB* geni açısından hepsi pozitif bulunmuştur.



Şekil 4-12: *PrfA* (600 bp) genine ait PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) **2.** 494 **3.** 345 **4.** 429 **5.** 423 **6.** 364 **7.** 452 **8.** 305 **9.** 296 **10.** 353 **11.** 458 **12.** 381 **13.** 155 **14.** 375

PCR doğrulamaları sonucu elde edilen 103 *L. monocytogenes* suşunun *prfA* geni açısından 101 suş pozitif bulunmuştur. Negatif bulunan iki örneğin Mart ve Nisan aylarında Fatih bölgesinden alınan but ve göğüs örnekleri olduğu belirlenmiştir.



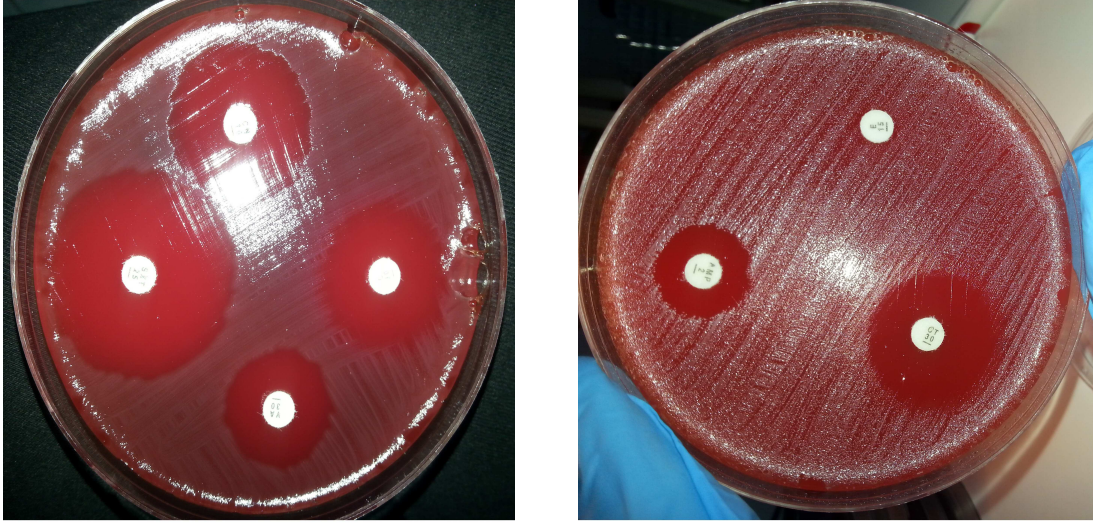
Şekil 4-13: İnternalin genleri (*inlA* 800 bp, *inlC* 517 bp, *inlJ* 238 bp) multiplex PCR jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1. 100 bp DNA marker (Thermo) 2. 133 3. 342 4. 209 5. 478 6. 440 7. 484 8. 315 9. 410 10. 230 11. 423 12. 394 13. 442 14. 368

İnternalin grubu genlerinde ise; sadece 5 örnek için hepsi negatif iken, diğer 98 örnek için hepsi pozitif olarak belirlenmiştir. Negatif bulunan örneklerin 1/2a, 3a ve 1/2c, 3c serogruplarına ait olduğu ve örnek tipleri 2 kanat, 2 but örneği olmak üzere 4 tanesinin market/kasaptan ve diğer örneğin de kesimhaneden alınan but örneği olarak belirlenmiştir.

4.3. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

L. monocytogenes izolatlarında 5 antibiyotik için antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir (Tablo 4-6). Oluşan zon çapları EUCAST 2018'te belirtilen sınır değerlere göre duyarlı ve dirençli olarak tanımlanmıştır (Şekil 4-14).



Şekil 4-14: %5 Defibrine edilmiş at kanı içeren Mueller-Hinton agarda antibiyotik disk difüzyon testi

Antibiyotik disk difüzyon testi sonuçlarına göre sonuçlar (Tablo 4-6)'da belirtildiği gibidir.

Tablo 4-4: EUCAST (version 8.0, 2018-01-01) duyarlı ve dirençli suşlara ait sonuçlar

Antibiyotik	Disk içerik (µg)	İzolat sayısı (%)	
		Duyarlı	Dirençli
Ampisilin	2 µg	102 (99,02)	1 (0,97)
Meropenem	10 µg	102 (99,02)	1 (0,97)
Eritromisin	15 µg	100 (100)	3 (2,91)
Trimethoprim-sulfamethoksazole	25 µg	97 (94,17)	6 (5,82)
Penisilin G	1 U	99 (99)	4 (3,88)

Tablo 4-5: EUCAST antibiyotik sonuçlarının dağılımı

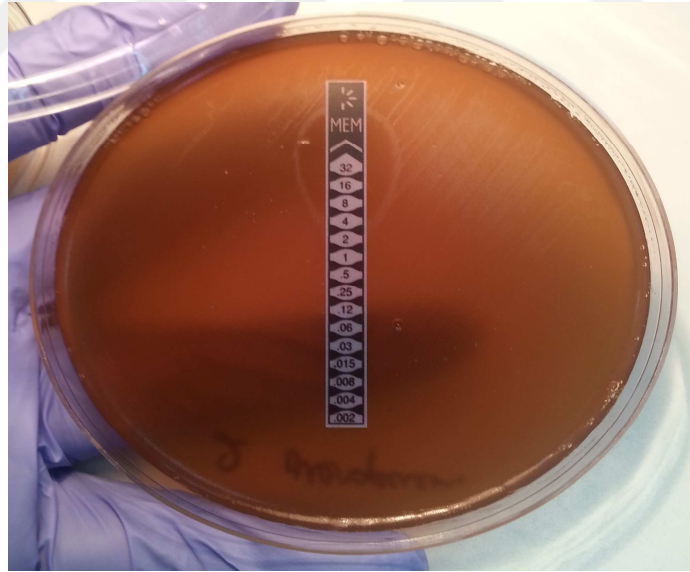
Kasap/Market Kesimhane		Amp (2 µg)	Mem 10 (µg)	E (15 µg)	TS (25 µg)	P (1U)
	Karkas	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
	But	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
	Kanat	1/15	1/15	2/15	3/15	2/15
	But	0/72	0/72	1/72	3/72	2/72
	Göğüs	0/13	0/72	0/13	0/13	0/13

*Amp: Ampisilin, Mem: Meropenem, E: Eritromisin, TS: Trimethoprim-sulfamethoksazole, P: Penisilin

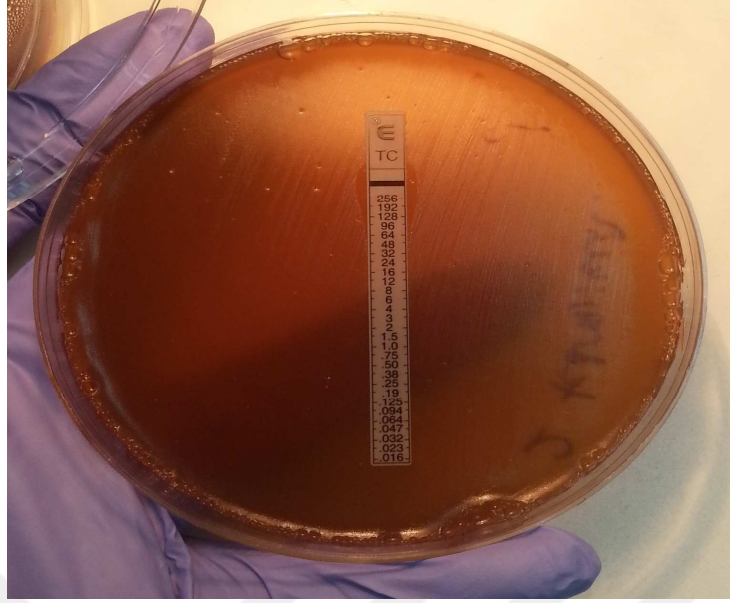
4.3.1. E-Test ve MICE Test (MIC) Sonuçları

Antibiyotik duyarlılık testinde direnç gösteren suşların minimum inhibisyonlarının belirlenmesi sonucunda minimum inhibisyonlarının oldukça düşük ve limit değer aralığında saptanmıştır.

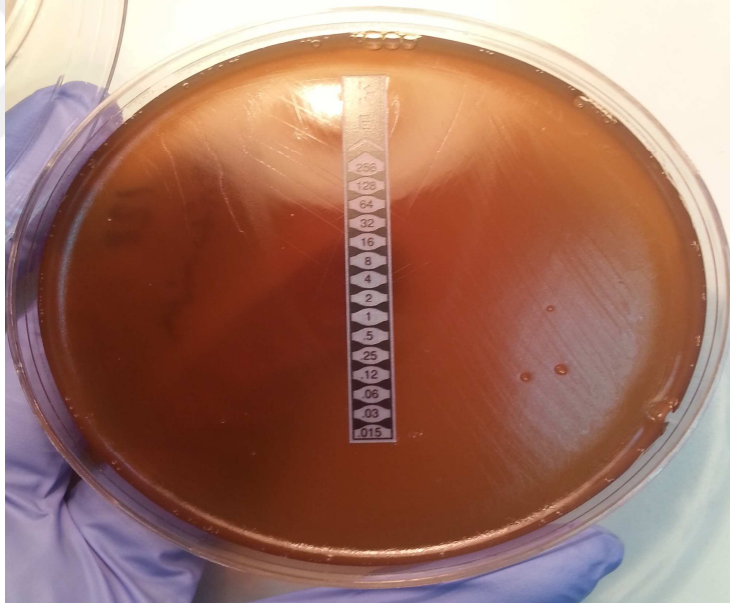
Çalışmanın antibiyotik dirençliliklerine ait MIC düzeyleri EUCAST standardına göre belirlenmiş olup; ampisilin'e dirençli izolatların tamamının MIC değerleri 1 µg/ml; penisilin G'ye dirençli 1 izolatın MIC değeri 2 µg/ml, 3 izolatın MIC değeri 0,5 µg/ml eritromisin dirençli, 1 izolatın MIC değeri 0,12 µg/ml, 1 izolatın MIC değeri 0,25 µg/ml ve 1 izolatın da MIC değeri 2 µg/ml; meropenem'e dirençli 1 izolatın MIC değeri 2 µg/ml; trimethoprim-sulfametoksazole dirençli 1 izolatın MIC değeri 0,12 µg/ml, 1 izolatın MIC değeri 0,16 µg/ml, 3 izolatın MIC değeri 0,23 µg/ml ve 1 izolatın MIC değeri 0,32 µg/ml; tetrasiklin dirençli 1 izolatın MIC değeri 48 µg/ml olarak tespit edilmiştir.



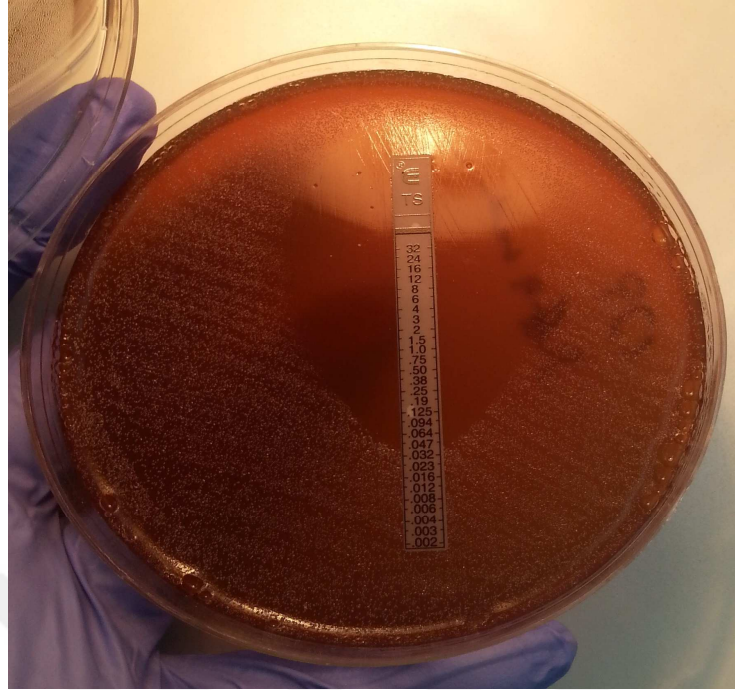
Şekil 4-15: 2 numaralı suşa ait MICE Meropenem petri görüntüsü, MIC 2 mg/L



Şekil 4-16: 2 numaralı suşa ait E-test Tetrasiklin petri görüntüsü, MIC 48 mg/L

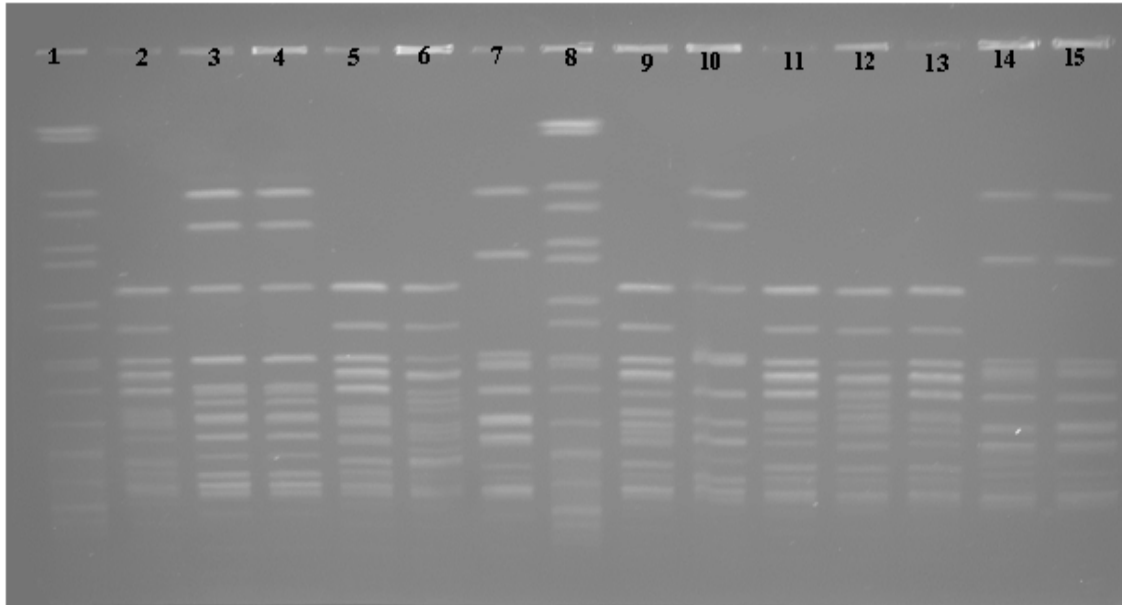


Şekil 4-17: 128 numaralı suşa ait MICE Eritromisin petri görüntüsü, MIC 0,12 mg/L



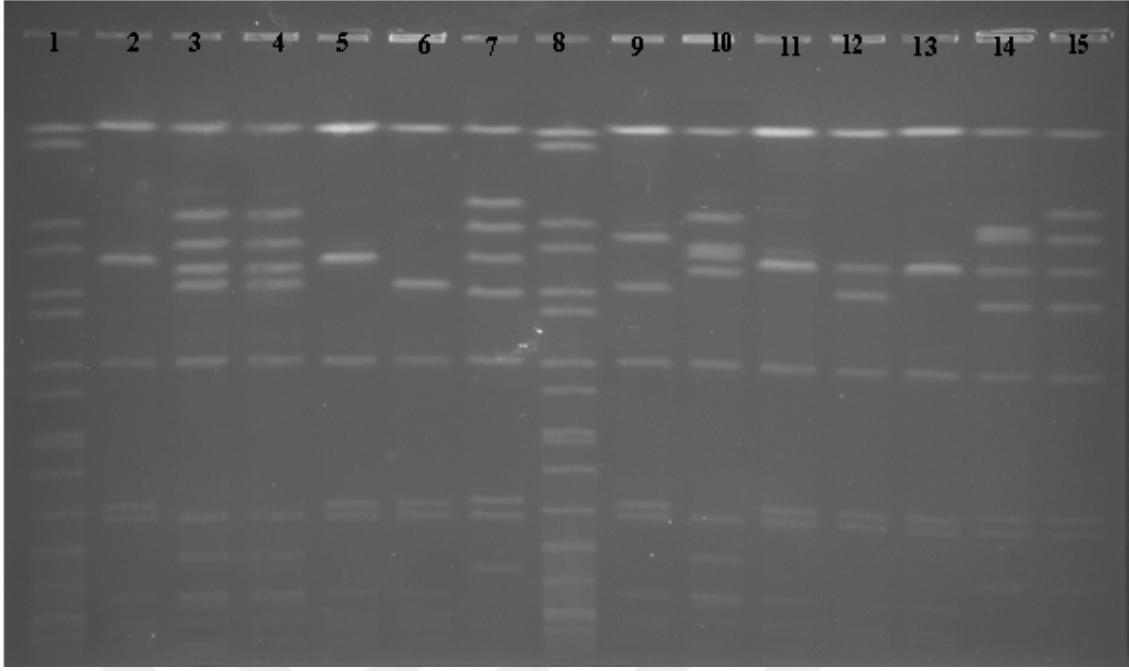
Şekil 4-18: 139 numaralı suşa ait E-Test Trimetoprim-sulfametoksazol petri görüntüsü, MIC 0,32 mg/L

4.4. PFGE Analizleri



Şekil 4-19: ApaI restriksiyon enzimine ait PFGE jel görüntüsü

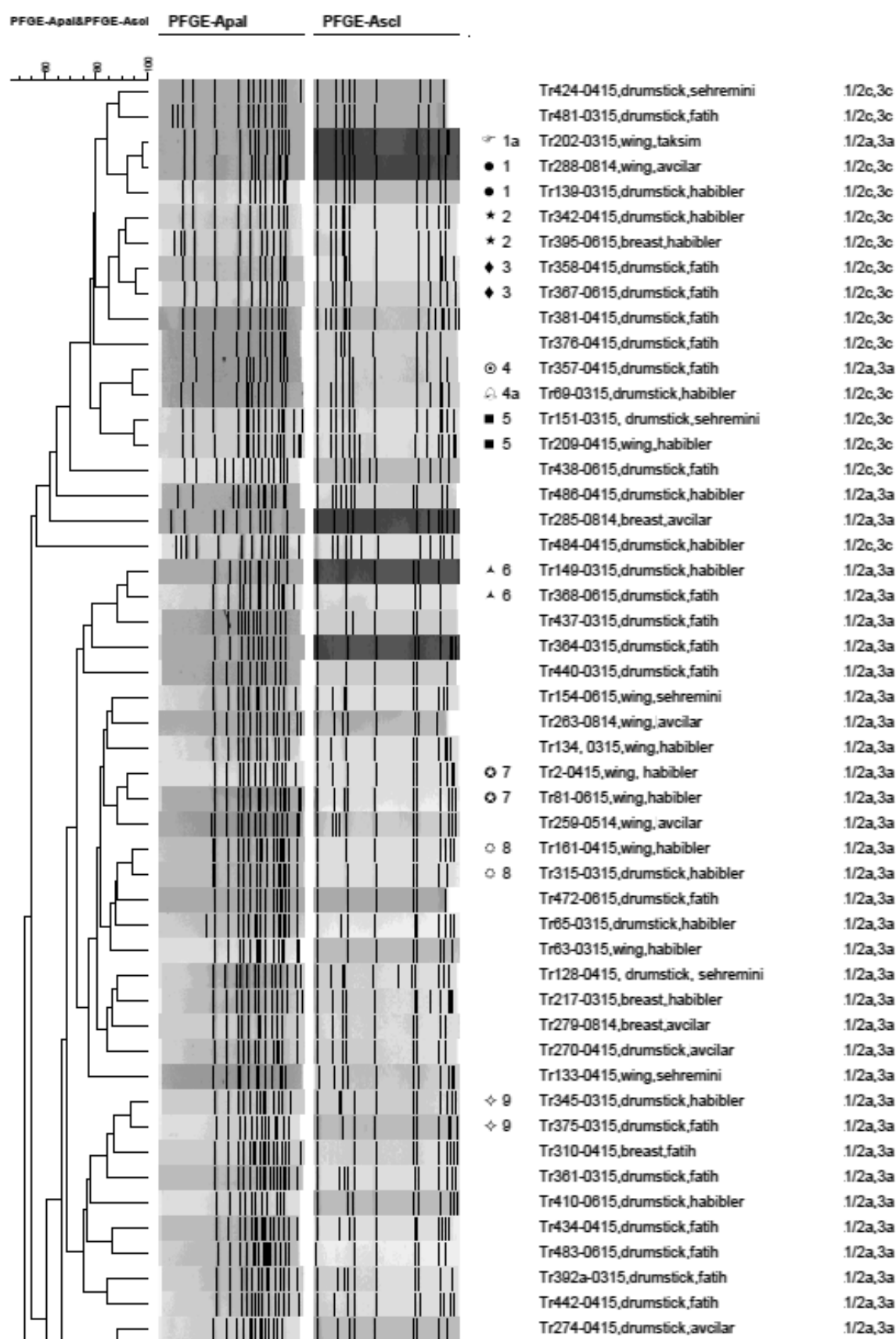
Soldan sağa sırasıyla: 1.SM (*Salmonella* Braendurup H9812), 2.2 3.151 4.209 5.279 6.310 7.311 8.SM (*Salmonella* Braendurup H9812) 9.345 10.367 11.421 12.427 13.488 14.489 15.494

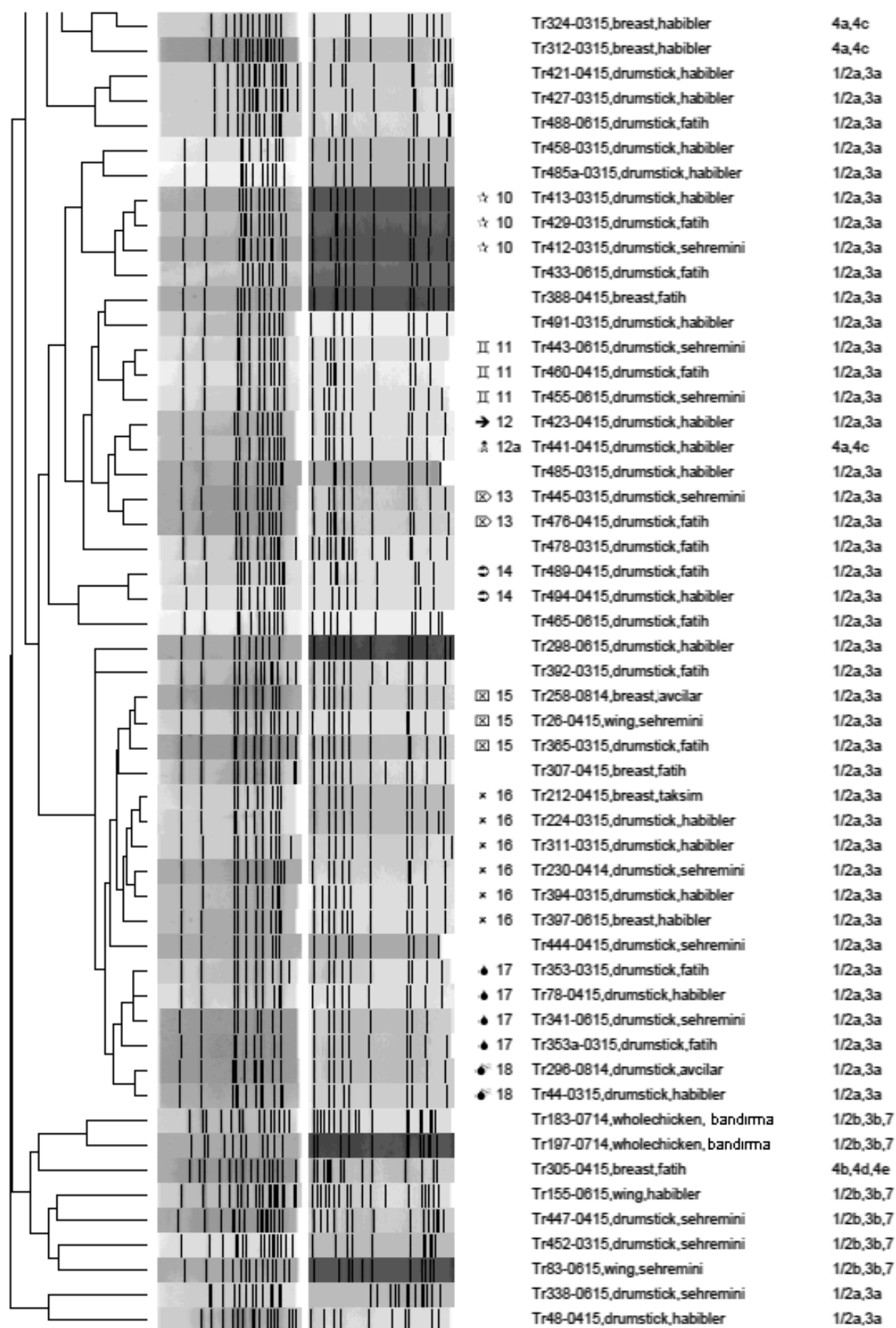


Şekil 4-20: AscI restriksiyon enzimine ait PFGE jel görüntüsü

Soldan sağa sırasıyla: 1.SM (*Salmonella* Braendurup H9812) 2.2 3.151 4.209 5.279 6.310 7.311 8.SM (*Salmonella* Braendurup H9812) 9.345 10.367 11.421 12.427 13.488 14.489 15.494

Elde edilen PFGE görüntüleri Bionumerik dendrogram sonuçları Şekil 4-21’de sunulmuştur. Dendrogram sonucu %90 ve üzeri benzerlik gösteren suşlar kendi aralarında aynı sembol ile işaretlenmiştir. Farklı kısımlara ait farklı serogrupların, farklı noktalardan alınan farklı markalar arasında filogenetik yakınlık ilişkisi saptanmıştır.





Şekil 4-21: PFGE sonucu ApaI ve AscI enzimlerine ait dendrogram ilişkisi

Elde edilen *L. monocytogenes* izolatların kökenlerine yönelik filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde PFGE tekniği kullanılmıştır. PulseNet standardına göre örnekler için ApaI ve AscI *Salmonella* Braenderup için *XbaI* restriksiyon enzimleriyle kesilerek, PFGE sonrasında elde edilen DNA bantları U.V transilluminatöründe görüntülenmiştir. UPGMA analiz programıyla oluşturulan PFGE dendrogram profilleri klonal ilişkileri bakımından incelenmiştir. ApaI ve AscI enzimiyle yapılan restriksiyon sonucu elde edilen PFGE değerlendirilmesi sonucunda en az %90 benzerlik esas alınarak yapılan dendrogramında izolatların birbiri ile ilişkili benzer 18 farklı gruba dağıldıkları saptanmıştır. Grup 1 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan kanat ve but örneklerinin farklı serogruplar olduğu belirlenmiştir. Grup 2 aynı bölgeden, farklı tarihlerde, göğüs ve but örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 3 aynı bölgeden, farklı tarihlerde alınan but örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 4 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but örneklerinin farklı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 5 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but ve kanat örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 6 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 7 aynı bölgeden, farklı tarihlerde alınan kanat örneklerinin aynı serogrup olduğu görülmüştür. Grup 8 aynı bölgeden farklı tarihlerde alınan kanat ve but örneklerinin aynı serogrup olduğu görülmüştür. Grup 9 farklı bölgelerden, aynı tarihte alınan but örneklerinin aynı serogrup olduğu görülmüştür. Grup 10 ve 14 farklı bölgelerden, aynı tarihte alınan but örnekleri aynı serogrup olarak belirlenmiştir. Grup 11 farklı bölgelerden, farklı tarihte alınan but örnekleri aynı serogrup olarak belirlenmiştir. Grup 12 aynı bölgeden, aynı tarihte alınan but örnekleri farklı serogrup olarak belirlenmiştir. Grup 13 farklı bölgelerden, farklı tarihte alınan but örnekleri aynı serogrup olarak belirlenmiştir. Grup 15 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but, kanat ve göğüs örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 16 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but, kanat ve göğüs örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 17 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür. Grup 18 farklı bölgelerden, farklı tarihlerde alınan but örneklerinin aynı serogruplar olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Kanatlı eti, üretim esnasında çevresel faktörlerden kontamine olabileceği gibi kanatlı üretim işletmelerinde sağlıklı taşıyıcılar tarafından da bulaştırılabilmekte, tüketime hazır gıdalar ise pişirme sonrası direk veya kontamine yüzeylerle, ekipmanla veya çalışanlar yoluyla çapraz kontaminasyonlardan kontamine olabilmektedir (Bailey ve ark. 1990). Bu çalışmada, tavuklarda kontaminasyona sebep olan *L. monocytogenes*'in dominant genotiplerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Temin edilen örnekler, kültürel yöntem ve PCR tanımlanan *L. monocytogenes* izolatları EUCAST 2017 standardına göre disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır. Takiben elde edilen suşlara PFGE yöntemiyle PulseNet *L. monocytogenes* standardına göre iki ayrı enzimle kesilerek, sonuçları Bionumerik Version 7,5 ile yorumlanmıştır. %90 ve üzeri benzerlik gösteren suşlar kendi aralarında gruptandırılmıştır.

Araştırmada, iki işletmenin farklı parçalama noktasından alınan 57 (42 bütün tavuk, paketli 5 but, 5 kanat, 5 göğüs) numunenin incelenmesi sonrasında 3 (%5,2)'ü *L. monocytogenes* olarak izole edilmiştir. Kesimhane 1 işletmesinden bir, kesimhane 2 işletmesinden iki tanesi pozitif; market ve kasaptan toplanan 443 parça tavuk eti numunesinin (but:270, kanat:106, göğüs:67) 100 (%22,5) tanesi *L. monocytogenes* ile kontamine bulunmuştur. Toplam 500 tavuk numunesinin 103 (%20,6)'ü *L. monocytogenes* ile kontamine bulunmuştur.

Dünyada ve ülkemizde kanatlı etlerinde *L. monocytogenes* varlığının araştırılması üzerine çeşitli araştırmalar mevcuttur. Çalışmamız bulgularından farklı olarak, Schönberg ve ark. (1989) 100 tavuk eti örneğinde %85; Rahmat ve ark. (1991) 24 karkas örneğinde %62,5; Weis (1989) 8 tavuk eti örneğinde %65,5; Kwiatek ve ark. (1992) 20 tavuk eti örneğinde %60; Farber ve ark. (1989) 16 tavuk etinde %50; Özmen (2006) dondurulmuş-poşetlenmiş 100 adet tavuk karkası ve 100 adet bağırsak içeriği örneklerinde tavuk karkasında %24 ve bağırsak içeriğinde %5; Bailey ve ark. (1989) 90 tavuk karkasında %23; Rorvik ve ark. (2003) 5 kesimhaneden alınan tavuk karkaslarında %20 ile %100 arasında değişen oranlarda *L. monocytogenes* varlığını bildirmiştir.

Indrawattana ve ark. (2011) 104 adet et ürününde %15,4; Alsheikh ve ark. (2013), 250 adet hazır tavuk ürününde %13,6; Alsheikh ve ark. (2014), 500 adet dondurulmuş tavuk örneklerinde %12,8; Genigeorgis ve ark. (1989) 160 tavuk etinde %12,5; Gilbert ve ark. (1989) tüketilmeye hazır piliç etlerinde %12; Arslan ve ark. (1999) 80 parça tavukta %10; Mahmood ve ark. (2003) 320 kanatlı eti ve ürünlerinde %9,6; Soultos ve ark. (2003) 205 adet tavuk parçasında %6,8 oranında çalışmamız sonuçlarına benzer değerlerde *L. monocytogenes* varlığını bildirmiştir.

Kahraman ve ark. (2010) et işleme tesislerinden yapmış oldukları bir çalışmada ekipmanlardan alınan toplam 130 adet numunelerden 12 (%9,23) adet pozitif *L. monocytogenes* bulmuştur.

Beumer ve Giefel (1999) tarafından yapılan benzer bir çalışmada %10, Alişarlı ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada %8,8 ve Gudbjornsdottir ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada %11,9 *L. monocytogenes* pozitif bulmuştur. Diğer yandan, Legnani ve ark. (2004) İtalya'da topladıkları 140 adet numuneden %0,71 oranında pozitif *L. monocytogenes* saptamıştır.

Wenger ve ark. (1990) gıda işletmelerinden aldıkları 41 adet numunelerden 2 (%4,87) adet *L. monocytogenes* pozitif bulmuş, Beumer ve ark. (1996) Hollanda'da, Jackson ve ark. (2007) İrlanda'da yaptıkları araştırmada *L. monocytogenes* prevalansının en yüksek karkas soğutma odalarının zemininde ve %4 oranının tespit etmiştir. Buna karşılık, Sergelidis ve ark. (1997) topladıkları 22 adet numuneden %4,5 oranında prevalans bulmuştur. Rivera-Betancourt ve ark. (2004) iki adet mezbahanın duvarından aldıkları 75 adet numunelerden sırasıyla %1,3 ve %14,7 oranında *L. monocytogenes* olduğunu bildirmiştir. Bu durum, mezbahalara çevresel kaynaklardan bulaşma olduğunu ve mezbahaların bulunduğu çevrenin de bulaşmada önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmada, örneklerden elde edilen 103 tane *L. monocytogenes* izolatının hepsinin *hlyA* genine sahip olduğu ve 284 bp'de bant verdiği tespit edilmiştir (Şekil 4-2). Aznar ve Alancon (2003) farklı gıdalardan, Dümen ve ark. (2011) süt ve ürünlerinden, Holko ve ark. (2002), çiğ süt ve peynir numunelerinde, Wieckowska ve ark. (1998), çiğ süt numunelerinde Lakicevic ve ark. (2010), bir gıda işleme tesisinden aldıkları örneklerde, Gouws ve Liedemann (2005), değişik gıdalarda kültürel

yöntemlerle izolasyon ve identifikasyonu yapılan *L. monocytogenes* izolatlarını PCR'la *hlyA* geni varlığı yönünden doğruluğunu kontrol etmiştir.

L. monocytogenes'in somatik (O) ve flagella (H) antijenik yapılarına göre 13 serotipe sahip olduğu ve 4b, 1/2a, 1/2b ve 1/2c serotiplerinin dünyada meydana gelen gıda kaynaklı listeriosis olgularının %98'ini oluşturduğu belirtilmiştir (Seeliger ve Höhne 1979; Liu 2006). Çalışmamızda elde ettiğimiz ve PCR ile doğruladığımız 103 izolatın 78 (%75,72)'i *L. monocytogenes* 1/2a, 3a, 15 (%14,56)'i *L. monocytogenes* 1/2c, 3c, 6 tanesi (%5,82) *L. monocytogenes* 1/2b, 3b, 7, 1 tanesi (%0,97) 4b, 4d, 4e ve 3 tanesi (%2,91) de 4a, 4c olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda 1/2a, 3a ve 1/2c, 3c serogruplarının dominant serogruplar olduğu görülmüştür.

Holko ve ark. (2002) çiğ süt ve peynir örneklerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının 4ab, Dümen ve ark. (2011) İstanbul ve Trakya Bölgesi'nde süt ve ürünlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının 4d, Giovannacci ve ark. (1999) domuz kesim yerlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının 1/2a, 1/2c ve 3a, Dauphin ve ark. (2001) dondurulmuş füme somon üretimi yapan üç ayrı işletmenin üretim aşamalarının farklı noktaları, işletme çevresi ve alet-ekipmandan elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b, Hofer ve ark. (2000) süt ürünü kaynaklı izolatların %58'ini *L. monocytogenes* 1/2a, %26,6'sını *L. monocytogenes* 4b, %14'ünü *L. monocytogenes* 1/2b ve %1,4'ünü *L. monocytogenes* 1/2c, Makino ve ark. (2005) peynir numunelerinde *L. monocytogenes* 1/2b serotipinin dominant olduğunu rapor etmiştir.

İtalya'da 2002 – 2005 yılları arasında araştırılan toplam 674 gıda (558), çevresel (59) ve insan (57) *L. monocytogenes* izolatından oluşan 650 (%96,4) izolatın 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b serotipleri olarak saptanmıştır. Analizler sonucu, gıda örneklerinde 1/2a (%39,1) ve 1/2c (%31,7) serotiplerinin ağırlıklı olduğu görülürken (Gianfranceschi ve ark. 2009), 1990-1999 yılları arası çalışmaya oranla İtalya'da gıda kategorilerinde serotip 1/2a'nın bulunma sıklığının aynı kaldığı bilinmektedir (Gianfranceschi ve ark. 2003).

Loura ve ark. (2004) Brezilya'da tavuk eti, karaciğer ve kanatlı işletmelerinden alınan yüzey örnekleri çalışmalarında 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b serotiplerini izole ettiklerini ve tavuk göğsü örneklerinin %40'nın *L. monocytogenes* 1/2a serotip izolatı ile kontamine olduğunu bildirmiştir.

Inoue ve ark. (2000) Japonya’da 46 tavuk kıyması örneğinin %37’inde *L. monocytogenes* olarak ettiklerini ve bu izolatların 1/2a ve 1/2b serotipleri olduklarını bildirmiştir.

10 ülkeden 26 rapordan oluşan 1971-1994 yıllarını kapsayan raporunda taze ve dondurulmuş tavuk etini de içine alan et ürünlerinin sıklıkla *L. monocytogenes* 1/2a, 1/2b ve 1/2c serotipleri ağırlıklı olduğu bildirilmiştir (Jay, 1996).

Bu çalışmadan farklı sonuçlar ise; Zhang ve ark. (2007), Florida ve Washington DC’de perakende ürünlerde saptanan toplam 167 *L. monocytogenes* izolatı serogruplandırılmıştır. Multiplex PCR sonucunda 68 (%41)’ini serogrup 1/2b, 3b; 53 (%32)’ünü serogrup 4b, 4d, 4e; 43 (%26)’ünü 1/2a, 3a; 2 (%1,2)’sini serogrup 1/2c, 3c ve 1 (%0,6)’ini serogrup 4a, 4c olarak tanımlamıştır.

Serogruplandırma sonucuna istinaden iki çalışma arasındaki farklılık, çalışma sonucumuzun doğrultusunda serogrup 1/2b, 3b ve 4b’nin baskın olmadığını ve coğrafik olarak ülkemizin bulunduğu Asya ve Avrupa arasında geçiş bölgesi olması, işletme prosesi ve analiz metot farklılıklarından kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte, Pak ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmalarda insan listeriosis infeksiyonlarında, serotip 4b ile 1/2a’nın yer değiştirmeye başladığını belirtmektedir. Diğer yandan, genel bir klinik belirti haline gelmeye başlayan meningoensefalitis olgularının serotip 4b’den daha çok serotip 1/2a ve 1/2b ile ilişkili olduğunu ve bu değişimin kan dolaşımı ile ilgili olabileceği bildirilmiştir (Swaminathan ve Gerner-Smidt 2007).

Araştırma sonuçlarındaki farklılıkların, bölgesel değişikliklere ait serogrup dağılımından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımıza benzer olarak, donmuş tavuk karkaslarında %73 oranında *L. monocytogenes* 1/2a serotipini dominant olarak belirlenmiş ve bunu 1/2b, 1/2c ve 4b’nin izlediğini rapor etmiştir (Erol ve Şireli 1999). Ayrıca hindi etlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplendirilmesi sonucu 4b (%51,4)’yi dominant olarak belirlemişler ve bunu takiben 1/2a (%27) ve 1/2b (%21) serotiplerinin izlediğini rapor etmiştir (Ayaz ve Erol 2011).

Son zamanlarda, insan listeriosis tedavisinde β -lactam antibiyotikleri (ampisilin veya penisilin) aminoglikozid (gentamisin vb.) ile kombine kullanıldığı ve β -laktama

alerjik olan veya hamile bayanlar için alternatif tedavi olarak vankomisin, eritromisin ve trimetoprim-sulfametoksazol kombinasyonunun kullanıldığı bilinmektedir (Hof 2004).

Çalışmanın antibiyotik direnç profili analizi sonucu elde edilen 103 izolattan 8 tanesinin (%7,76) en az bir antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği ve 6 izolatin trimetoprim-sulfametoksazole, 4 izolatin penisilin G'ye, 1 izolatin meropenem'e, 3 izolatin eritromisin'e, 1 izolatin tetrasiklin'e, 1 izolatin da ampisilin'e karşı dirençli olduğu bulunmuştur.

Elde edilen bulgular sonucunda, halk sağlığı açısından önemli olan *L. monocytogenes*'in daha çok markette satışa sunulan olmak üzere yüksek oranda varlığına saptanmış olup, yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde antibiyotik kullanımının olduğuna rastlanmıştır. Bu doğrultuda işletmelerde ve tüketici satış noktalarında personel hijyen eğitimleri, doğru dezenfektan personel ve alet-ekipman temizliğinde doğru dezenfektan seçimi *L. monocytogenes* varlığının kontrolü açısından kontaminasyon riskini azaltarak, araştırma-geliştirme çalışmaları ve izlenme stratejilerinin artırılması ile en aza indirgenmesinin olası olduğu düşünülmektedir.

EUCAST standartlarına göre yapılan analizlerde antibiyotik dirençli serogruplar 1/2a, 3a; 1/2b, 3b, 7 ve 1/2c, 3c olarak farklılık gösterirken; çalışmamızda izolatların direnç dağılımları sırasıyla yüksek orandan düşük orana doğru trimetoprim-sulfametoksazol için 6 (%5,82), penisilin G için 4 (%3,88), eritromisin için 3 (%2,91), meropenem için 1 (%0,97) ve ampisilin için 1 (%0,97) dirençli bulunmuştur (Tablo 4-6).

Yapılan bu çalışmada market ve kasaplarda tüketime sunulan ve mezbahalardan alınan örneklemeler sonucu elde edilen izolatlardan antibiyotik dirençli olarak ağırlıklı 1/2a, 3a serotipleri elde edilmiştir.

Benzer olarak, ülkemizde yapılan hindi etlerinden elde edilen 23 *L. monocytogenes* izolatin antibiyotik dirençlilik testlerini disk difüzyon metodu ile araştırarak penisilin G için 19 (%82,6), ampisilin için 17 (%73,9) olarak dirençli bulunmuştur (Bilir Ormanci ve ark. 2008).

Amerika Birleşik Devletleri'nde insan, çevre ve gıda kökenli *L. monocytogenes* izolatlarının antimikrobiyel direnç özelliklerini Sensititre® metodu ile araştırmaları sonucu, çalışmamıza paralel şekilde izolatların ampicilin, penisilin G, eritromisin ve

tetrasiklin karşı dirençli olduğu belirlenmiştir (Davis ve Jackson 2009). Harakeh ve ark. (2009), Lübnan'da süt ürünlerinden izole ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının %93,33'ünün oxacillin ve %90'nının da penisilin'e karşı dirençli olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, Rahimi ve ark. (2010) İran'da süt ve süt ürünlerinden izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının nalidiksik asit, siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin, ampicilin, penisilin ve kloramfenikol gibi çeşitli antibiyotiklere karşı dirençli olduğunu bildirilmiştir. Araştırmacılar tespit ettikleri bu yüksek dirençliliği farklı türler arasında meydana gelebilen genetik materyal transferlerine ve bilinçsiz ilaç kullanımına bağlanmıştır. Ülkemizde Arslan ve Özdemir (2008) ev yapımı beyaz peynirlerden elde ettikleri *Listeria* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini disk difüzyon metodu ile araştırması sonucu ve izolatlarının çalışmamızda da kullandığımız ampicilin, penisilin ve tetrasikline direnç gösterdiğini belirtmiştir.

Ayaz (2008) çalışmasında hindi etlerinden izole ettiği *L. monocytogenes* izolarının penisilin ve ampicilin'e karşı dirençli, eritromisin'e orta dirençli olduğunu, tetrasiklin, kloramfenikol ve vankomisin direnci tespit edemediklerini bildirmiştir.

Çalışmamızda ülkemizde daha önce saptanmayan meropenem direnci, MIC düzeyi ile doğrulama sonucu varlığı kesinlik kazanmıştır.

Vela ve ark. (2001) İspanya'da koyunlardan izole ettikleri 41 *L. monocytogenes* izolatının MIC değeri dağılımını ise 3 izolatta tetrasiklin için 64 µg/ml, 8 izolatta kloramfenikol için 16 µg/ml, 5 izolatta penisilin G için 16 µg/ml düzeyinde olduğu rapor etmiştir. Filioussis ve ark. (2009) Yunanistan'da çeşitli gıdalardan elde ettikleri 30 *L. monocytogenes* izolatlarının 1 tanesinin tetrasiklin karşı dirençli olduğunu ve bunun da MIC değerinin 64 µg/ml düzeyinde tespit edildiğini bildirmiştir. Buna karşın, diğer antibiyotiklere karşı herhangi bir dirençlilik tespit edemediklerini rapor etmiştir. Osailia ve ark. (2011), Ürdün'de tüketime hazır tavuk ürünlerinden elde ettikleri *L. monocytogenes* izolatlarının %11'inin tetrasiklin karşı dirençli olduğunu ve MIC değerlerinin de 16 µg/ml düzeyinde belirlendiğini bildirmişlerdir. İtalya'da çeşitli gıdalardan izole ettikleri 120 *L. monocytogenes* izolatının içlerinde penisilin G, ampicilin, eritromisin, vankomisin ve tetrasiklin de bulunduğu 19 farklı antibiyotiğe karşı MIC değerlerini VITEK2 cihazı ile araştırmıştır (Conter ve ark. 2009). Araştırmacılar çalışmamızdan farklı olarak, penisilin ve eritromisin'e karşı herhangi bir dirençlilik tespit edemediklerini bildirmiş ancak izolatlarının %2'sinin ampicilin,

%0,8'inin de tetrasiklin ve vankomisin'e karşı dirençli olduğunu rapor etmiştir. Yan ve ark. (2010), Çin'de çeşitli gıdalardan elde ettikleri 70 *L. monocytogenes* izolatının antibiyotik dirençlilik profillerini mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmıştır. Elde ettikleri bulgulara göre 14 izolatın tetrasiklin'e, 2 izolatın ampisilin, eritromisin ve kloramfenikol'e, 1 izolatın da penisilin ve vankomisin'e karşı dirençli olduğunu bildirmiştir. Okada ve ark. (2011) Japonya'da gıda, çevre, hayvan ve insanlardan izole ettikleri 201 *L. monocytogenes* izolatı üzerine yaptıkları çalışmada kloramfenikol'e dirençli buldukları 32 izolatın 31'inin 16 µg/ml, 1'inin ise 32 µg/ml düzeyinde MIC değerine sahip olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar oksitetrasiklin'e dirençli buldukları 1 izolatın MIC değerinin 64 µg/ml olduğunu belirlemiştir.

Zhang ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada Florida ve Washington, DC'ye ait tüketime hazır gıda ve tavuk karkaslarından oluşan gıdalardan izole edilen *L. monocytogenes* izolatların hiçbirinde ampisilin ve penisilin G direnç saptamamıştır.

Brezilya'da insan klinik materyallerinden elde ettikleri 4b, 1/2a ve 1/2b *L. monocytogenes* serotiplerinin hiçbirinde ampisilin, gentamisin, trimethoprim ve vankomisin direnci saptamamıştır (Lemes-Marques ve ark. 2007).

Walsh ve ark. (2001) İrlanda, Dublin'de çeşitli gıdalardan elde ettikleri 351 *L. monocytogenes* izolatının çalışmamıza benzer şekilde ampisilin, eritromisin, penisilin ve tetrasiklin karşı yüksek düzeyde dirençli olduğunu bildirmiştir.

Yapılan araştırmalarda antibiyotik direnç genlerini taşıyan enterokokal ve streptokokal plazmid ve transpozonların konjugasyon yoluyla *Listeria* türlerine transfer olduğu tespit edilmiştir. Charpentier ve Courvalin (1999) tarafından, *Streptococcus agalactiae*'da bulunan kloramfenikol, makrolid, linkozamid ve streptogramin dirençliliklerinden sorumlu olan plazmid pIP501'in *L. monocytogenes*'e invitro koşullarda transfer olabildiği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Biavasco ve ark. (1996) tarafından vankomisine dirençli *Enterokok* suşlarından *Listeria* türlerine dirençlilik geninin aktarıldığı ve *Listeria* türlerinin de vankomisin direnç kazandığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda farklı antibiyotiklere karşı tespit ettiğimiz dirençlilik, bakterilerde meydana gelen mutasyonlar ve bakteriler arasındaki etkileşim sonucu oluşan genetik materyal aktarımlarına bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmalar doğrultusunda, *L. monocytogenes* izolatlarının farklı ülkelerde, farklı serogrupların farklı antibiyotik direnç profilleri gösterebilmektedir.

PFGE analizi doğrultusunda, aynı ve farklı işletmelerden alınan numunelerle %90 homoloji göstermesi kesimhanelerde haşlama tankları, proses boyunca kullanılan kesici ekipman ve parçalama yüzeyleri, prosese bağlı hava veya su aracılığıyla soğutma teknikleri, muhafaza odalarının; kasaplarda ise tavukların açık halde satılması, personel hijyeninin göz ardı edilmesi direkt ve indirekt kontaminasyonun göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra, kanatlı yetiştiriciliğinin intensif olarak yapılması ve *L. monocytogenes*'in çevre kökenli bir bakteri olması yetiştirme süresince yetiştirildikleri toprak vb. zeminden, havalandırma koşullarından, yem ve su kaynaklı nedenlerden ileri gelebilme ihtimalini artırmaktadır.

Elde edilen bu sonuçlar ışığında ApaI enzimiyle yapılan kesimde, DNA'ların daha sık alanlarda kesildiği, daha fazla DNA fragmenti ve pulsetip oluştuğu, dolayısıyla ApaI enziminin DNA'yı küçük boyutta fragmentlere ayırarak klonal ilişkileri daha duyarlı nitelediğini göstermektedir (Şekil 4-21).

Bulguları destekler nitelikte Hamdi ve ark. (2007), Cezayir'de süt ve süt tanklarından elde ettikleri 11 *L. monocytogenes* izolatını ApaI ve AscI enzimlerini kullanarak PFGE tekniğiyle genotiplendirmiştir. Araştırmacılar, ApaI enzimiyle yapılan restriksiyon sonucu 11-19 adet fragment, AscI enzimiyle yapılan restriksiyon sonucu 9-10 adet fragment elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra ApaI ve AscI enzimleriyle yaptıkları restriksiyon sonucu elde ettikleri dendogram profillerinde, beş ve dört adet pulsetip saptadıklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Yde ve Genicot (2004), Belçika'da 2001 yılında insanlarda görülen listeriozis vakalarından elde ettikleri 48 *L. monocytogenes* izolatı arasındaki klonal ilişkileri ortaya koymak amacıyla ApaI ve AscI enzimlerini kullanarak PFGE tekniğini uygulamışlardır. Araştırmacılar, ApaI enzimiyle yapılan restriksiyon sonucu 8-21 adet fragment, AscI enzimiyle yapılan restriksiyon sonucu 6-12 adet fragment elde edildiğini, dendogram profillerinde sırasıyla 38 ve 34 adet küme saptadıklarını bildirmiştir. Araştırmacılar, bunun yanı sıra aynı çalışmada, üç yaşlı hastada görülen listeriozis olgularından elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarında, ApaI enzimiyle restriksiyon sonucu AscI'ya göre dört adet farklı bant oluştuğunu bildirmişlerdir. Neves ve ark (2008), Portekiz'de insanlardan elde ettikleri 80 *L. monocytogenes* izolatında AscI enzimiyle 7-16 adet fragment, ApaI

enzimiyle 11-16 adet fragment elde etmişlerdir. Chou ve Wang (2006), insanlar, yayın balığı ve diğer deniz ürünlerinden elde ettikleri sırasıyla 57, 35 ve 36 *L. monocytogenes* izolatında, ApaI enzimiyle elde edilen küme sayısının (sırasıyla 48, 29 ve 21), AscI enzimiyle elde edilen küme sayısından (sırasıyla 41, 28 ve 21) daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

CDC PulseNet tarafından yayınlanan *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirmeleri standart PFGE metodunda, ApaI ve AscI restriksiyon enzimlerinin kullanılması önerilmektedir. Fakat günümüze kadar PFGE ile yapılan genotiplendirme amaçlı çalışmalarda, her iki enzimle kesme işlemi yapılabildiği gibi özellikle ApaI enzimi yalnız başına ya da diğer farklı enzimlerle (örn.: EcoRI, SmaI) birlikte kullanılarak kesme işlemi yapılmıştır. Giovannacci ve ark. (1999) domuz kesim yerlerinden elde ettikleri 287 *L. monocytogenes* izolatının, Gravesen ve ark. (2000) gıdalar, klinik vakalar ve çevreden elde ettikleri 48 *L. monocytogenes* izolatının genotiplendirilmelerinde ApaI enzimini öncelikli olarak kullandıklarını belirtmiştir. Gianfranceschi ve ark. (2002) ApaI enziminin *L. monocytogenes* izolatlarının genotiplendirilmelerinde en yüksek ayırt edici nitelikteki enzim olduğunu ifade etmiştir. Senczek ve ark. (2000) bir adet et işleme tesisinin farklı işleme alanlarından ve et ürünlerinden iki yılda elde ettikleri 81 adet, Katsuda ve ark. (2000) gıdalardan, çevreden ve klinik vakalardan elde ettikleri 12 adet, Dauphin ve ark. (2001) dondurulmuş füme somon üretimi yapan üç ayrı işletmenin üretim aşamalarının farklı noktaları, işletme çevresi ve alet-ekipmandan elde ettikleri 59 adet *L. monocytogenes* izolatının genotiplendirmesini ApaI ve SmaI enzimlerini birlikte kullanarak analiz etmiştir. İnsan listeriosisinde son zamanlarda yakından bakıldığı zaman Finlandiya’da 11 yıl süresince invaziv infeksiyolardan *L. monocytogenes* izolatlarında serogrup değişimlerinin olduğu gözlemlenmiştir (Lukinmaa ve ark. 2003). Finlandiya’da 1997-1999 yılları arasında klinik vakalar ve çeşitli gıda üretim yerlerinden elde edilen 188 *L. monocytogenes* izolatının genotiplendirmelerinde ApaI enzimiyle birlikte EcoRI enzimini kullanmıştır (Lukinmaa ve ark. 2004).

Sonuç olarak, İstanbul’daki satış noktaları ile kesimhanelerden temin edilen tavuk etlerinde belirli düzeyde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. İzole suşların çoğunun, insanlarda majör sporadik enfeksiyon ile ilişkili olan serogrup IIa’ya (soy II) ait olduğu saptanmıştır. Ayrıca, *L. monocytogenes* suşlarında patojenite için belirleyici

olan virölans faktör genlerinin varlığı, gıda işleme ortamlarında bu patojenin önemini vurgulamaktadır. PFGE sonuçlarına göre, kümes hayvanları yaygın ve kalıcı *L. monocytogenes* suşları için önemli bir kaynaktır. Bu nedenle, bu gıda kaynaklı patojenin halk sağlığı açısından kontaminasyonunu önlemek için iyi hijyen koşullarının ve gıda işleme teknolojilerinin uygulanması büyük önem taşımaktadır.



KAYNAKLAR

Abd El-Aziz DM (2013). Detection of *Salmonella typhimurium* in retail chicken meat and chicken giblets. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 678-681.

Alali, W.Q. ve Schaffner, D.W. (2013). Relationship between *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. in Seafood Processing Plants. *Journal of Food Protection*, 76, 7, 1279-1282.

Alişarlı, M., Akkaya, L. ve Alemdar, S. (2003). An investigation on the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in a cattle slaughterhouse. *Fleischwirtschaft Int.* 3, 41-44.

Allerberger, F. ve Wagner, M. (2010). Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(1), 16-23.

Almeida, G., Magalhães, R., Carneiro, L., Santos, I., Silva, J., Ferreira, V. ve ark. (2013). Foci of contamination of *Listeria monocytogenes* in different cheese processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 303–309.

Alsheikh, A.D.I., Mohammed, G.E. ve Abdalla, M.A. (2013). Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Retail Broiler Chicken Ready to Eat Meat Products in Sudan. *International Journal of Animal and Veterinary Advance*, 5(1): 9-14.

Alsheikh, AD., Mohammed, GE., Abdalla, MA. ve Bakhiet, AO. (2014). First Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* Isolated from Frozen and Shock Frozen Dressed Broiler Chicken in Sudan. *British Microbiology Research Journal*, 4: 28-38.

Altekruse, S.F., Cohen, M.L. ve Swerdlow, D.L. (1997). Emerging Foodborne Diseases. *Emerging Infectious Disease*, 3(3), 285-293.

Angelidis, A.S. ve Smith, G.M. (2003). Role of the Glycine Betaine and Carnitine Transporters in Adaptation of *Listeria monocytogenes* to Chill Stress in Defined Medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7492-7498.

Angelidis, A.S., Smith, L.T., Hoffman, L.M. ve Smith, G.M. (2002). Identification of opuC as a chill-activated and osmotically activated carnitine transporter in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 2644-50.

Annous, B.A., Becker, L.A., Bayles, D.O., Labeda, D.P., Wilkinson, B.J. (1997). Critical role of anteiso-C15:0 fatty acid in the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (10), 3887–3894.

Aras, Z. ve Ardiç, M. (2015). Occurrence and Antibiotic Susceptibility of *Listeria* Species in Turkey Meats. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35 (5), 669-673.

Archibald, A.R., Baddiley, J. ve Heptinstall, S. (1973). The alanine ester content and magnesium binding capacity of walls of *Staphylococcus aureus* H grown at different pH values. *Biochimica et Biophysica Acta*, 291, 629–634.

Arslan ve Özdemir (2008). Prevalance and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in homemade white cheese. *Food Control*, 19(4), 360-363.

Arslan, A., Goniilalan, Z., Dincoglu, A.H. ve Kok, E. (1999). Investigation of *Listeria* species in chicken body parts and samples of water used for washing carcasses. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23:305-308.

Audia, J.P., Webb, C.C. ve Foster, J.W. (2001). Breaking through the acid barrier: An orchestrated response to proton stress by enteric bacteria. *International Journal of Medical Microbiology*, 291(2), 97-106.

Aureli, P., Fiorucci, G.C., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, E., Leone, L. ve ark. (2000). An Outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *The New England Journal of Medicine*, 342 (17), 1236-1241.

Ayaz, N.D. (2008). Hindi kıymalarında *Listeria monocytogenes*'in İmmuno Manyetik Seperasyon ve PCR ile tanısı ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. *Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Doktora Tezi.

Ayaz, N.D. ve Erol, I. (2011). Serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from turkey meat by multiplex PCR in Turkey. *Journal of Food Safety*, 31,149-153.

Aznar, R. ve Alarcon, B. (2002). On the Specificity of PCR Detection of *Listeria monocytogenes* in Food: a Comparison of Published Primers. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(1), 109-119.

Aznar, R. ve Alarcon, B. (2003). PCR Detection of *Listeria monocytogenes*: A Study of Multiple Factors Affecting Sensitivity. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 958-66.

Bailey, J. S., Fletcher D. L., Cox N. A. (1989). Recovery and Serotype Distribution of *L. monocytogenes* from Broiler Chickens in Southeastern United States. *Journal of Food Protection*, 52(3), 148-150.

Bailey, J.S., D.L. Fletcher ve N.A. Cox (1990). *Listeria monocytogenes* colonization of broiler chickens. *Poultry Science*, 69: 457-461.

Barton, M.D. (2000). Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*, 13, 279-299.

Bayles, D.O. ve Wikinson, B.J. (2000). Osmoprotectants and cryoprotectants for *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 23-27.

Bayles, D.O., Annous, B.A. ve Wilkinson, B.J. (1996). Cold Stress Proteins Induced in *Listeria monocytogenes* in Response to Temperature Downshock and Growth at Low Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(3), 1116-1119.

Beales, N. (2004). Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH, and Osmotic Stress: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3 (1), 1-20.

Becker, L.A., Cetin, A.S., Hutkins, R.W. ve Benson, A.K. (1998). Identification of the Gene Encoding the Alternative Sigma Factor sB from *Listeria monocytogenes* and Its Role in Osmotolerance. *Journal of Microbiology*, 180(17), 4547-4554.

Becker, L.A., Evans, S.N., Hutkins, R.W. ve Benson, A.K. (2000). Role of sB in Adaptation of *Listeria monocytogenes* to Growth at Low Temperature. *Journal of Microbiology*, 182(24), 7083-787.

Begley, M., Sleator, R.D., Gahan, C.G.M. ve Hill, C. (2005). Contribution of Three Bile-Associated Loci, bsh, pva, and btlB, to Gastrointestinal Persistence and Bile Tolerance of *Listeria monocytogenes*. *Infection and Immunity*, 73(2), 894-904.

BESD-BİR. Türkiye Kişi Başı Kanatlı Eti Tüketimi 1990-2016. Erişim 21.02.2018, http://www.besdbir.org/assets/documents/tyrkiye_kiAi_baA_kanatli_eti_tuketimi1_1.pdf.

Beumer, R. E. ve Giefel, M. C. (1999). "Pathogens in domestic kitchens: facts and fiction. Zeist, Netherlands", Food microbiology and food safety into the next millennium, Proceedings of the 17th international conference of the international committee on food microbiology and hygiene (ICFMH), Veldhoven, The Netherlands, 12-17 September 1999, 345–347.

Beumer, R. R., Giefel, M. C., Spoorenberg, E., Rombouts, F. M. (1996). *Listeria* species in domestic environments. *Epidemiology and Infection*, 117, 437–442.

Biavasco, F., Giovanetti, E., Miele, A., Vignaroli, C., Facinelli, B., Varaldo, P.E. (1996). In vitro conjugative transfer of *VanA* vancomisin resistance between *Enterococci* and *Listeriae* of different species. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease*, 15(1), 50-59.

Bilir Ormanci, F.S., Erol, I., Ayaz, N.D., Iseri, O. ve Sariguzel, D. (2008). Immunomagnetic separation and PCR detection of *Listeria monocytogenes* in turkey meat and antibiotic resistance of the isolates. *British Poultry Science*, 49(5), 560-5.

Borucki, M.K., Kim, S.H., Call, D.R., Smole, S.C. ve Pagotto, F. (2004). Selective Discrimination of *Listeria monocytogenes* Epidemic Strains by a Mixed-Genome DNA Microarray Compared to Discrimination by Pulsed-Field Gel Electrophoresis, Ribotyping, and Multilocus Sequence Typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 5270-5276.

Bruno Jr, J.C. ve Freitag, N.E. (2010). Constitutive Activation of *prfA* Tilts the Balance of *Listeria monocytogenes* Fitness Towards Life within the Host versus Environmental Survival. *PLoS ONE*, 5(12).

Bryan, F.L. (2002). Where we are in retail food safety, how we got to where we are, and how do we get there? *Journal of Environmental Health*, 65 (2), 29–36.

Bubert, A., Marcusrauch, I., Lehner, A., Yoon, B., Goebel, W. ve Wagner, M. (1999). Detection and Differentiation of *Listeria* spp. by a Single Reaction Based on Multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4688-4692.

Busch, L. A. (1971). New From the Center for Disease Control – Human Listeriosis in the United States, 1967- 1969. *Journal of Infectious Disease*. 123: 328- 332.

Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S. ve Cabanes, D. (2011). The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. *Virulence*, 2(5), 379-94.

Carpentier, B. ve Cerf, O. (2011). Review — Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 1-8.

CDC (1 Mart 2016). PulseNet Saves Lives and Money. Erişim, 25.12.2017, <https://www.cdc.gov/pulsenet/anniversary/pulsenet-saves-fact.html>.

CDC (10 Haziran 2015). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Blue Bell Creameries Products (Final Update). <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/>.

CDC (12 Şubat 2015). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Commercially Produced, Prepackaged Caramel Apples Made from Bidart Bros. Apples (Final Update). Erişim 15.12.2016. <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/caramel-apples-12-14/>.

CDC (18 Nisan 2014). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Roos Foods Dairy Products (Final Update). Erişim 15.12.2016. <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-02-14/>.

CDC (19 Eylül 2017). Examples of How Antibiotic Resistance Spreads. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/2-2013-508.pdf>, Erişim: 20.02.2018.

CDC (2016). Antibiotic/Antimicrobial Resistance. Erişim: 17.12.2016. <https://www.cdc.gov/drugresistance/index.html>.

CDC (24 Ekim 2017). Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE). Erişim 16.10.2018. <https://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens/pfge.html>.

CDC (24 Eylül 2013). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses (Final Update). Erişim 15.12.2016, <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/>.

CDC (Kasım 2012). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Imported Frescolina Marte Brand Ricotta Salata Cheese (Final Update). Erişim 15.12.2016, <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-09-12/>.

CDC(Nisan 2013). Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Listeria monocytogenes*. Erişim: 18.02.2018. <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/listeria-pfge-protocol-508c.pdf>.

Chakraborty, T., Hain, T. ve Domann, E. (2000). Genome organization and the evolution of the virulence gene locus in *Listeria* species. *International Journal of Medical Microbiology*, 290(2), 167-174.

Charpentier, E. ve Courvalin, P. (1999). Antibiotic resistance in *Listeria* spp. Antimicrobial Agents. *Chemotherapy*, 43(9),2103-2108.

Chico-Calero, I., Sua' rez, M., Gonza' lez-Zorn, B., Scortti, M., Slaghuis, J., Va' zquez-Boland, J. ve ark. (2002). Hpt, a bacterial homolog of the microsomal glucose- 6-phosphate translocase, mediates rapid intracellular proliferation in *Listeria*. *PNAS*, 99(1), 431-436.

Chou, C.H. ve Wang, C. (2006). Genetic Relatedness Between *Listeria monocytogenes* Isolates from Seafood and Humans Using PFGE and REP-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 110,135–48.

Civaner, E.Ç. (2007). Kanatlı Etleri. İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, Ankara.

Collins, M.D., Wallbanks, S., Lane, D.J., Shah, J., Nietupski, R., Smida, J., ve ark. (1991). Phylogenetic analysis of the genus *Listeria* based on reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41(2), 240-6.

COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs (Text with EEA relevance) (OJ L 338,

22.12.2005, p. 1). Erişim 16.12.2016, https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Consol_Reg2073_2005.pdf.

Commission Regulation (EC) 2005. Commission regulation (EC) no. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. European Union, Brussels, Belgium. Erişim: 22.02.2018. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:EN:PDF>.

Conter, M., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidi, S., Vergara, A., Ianieri, A. (2009). Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 497-500.

Cossart, P., Vicente, M.F., Mengaud, J., Baquero, F., Perez-Diaz, J.C. ve Berche, P. (1989). Listeriolysin O Is Essential for Virulence of *Listeria Monocytogenes*: Direct Evidence Obtained by Gene Complementation. *Infection and Immunity*, 57(11), 3629-3636.

Cotter, P.D., Gahan, C.G.M. ve Hill, C. (2001). A glutamate decarboxylase system protects *Listeria monocytogenes* in gastric fluid. *Molecular Microbiology*, 40(2), 465-475.

Cotter, P.D. ve Hill, C. (2003). Surviving the Acid Test: Responses of Gram-Positive Bacteria to Low Ph. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(3), 429-453.

Cox, N.A., Bailey, J.S. ve Berrang, M.E. (1997). The Presence of *L. monocytogenes* in the Integrated Poultry Industry. *The Journal of Applied Poultry Research*, 6(1), 116-119.

da Silva, E.P. ve De Martinis, E.C.P. (2013). Current knowledge and perspectives on biofilm formation: the case of *Listeria monocytogenes*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(3), 957-968.

D'Agostino, M., Wagner, M., Vazquez-Boland, J.A., Kuchta, T., Karpiskova, R., Hoorfar, J. ve ark. (2004). A validated PCR-based method to detect *Listeria monocytogenes* using raw milk as a food model--towards an international standard. *Journal of Food Protection*, 67(8), 1646-55.

Dauphin, G., Ragimbeau, C., Malle, P. (2001). Use of PFGE Typing for Tracing Contamination with *Listeria monocytogenes* in Three Cold-Smoked Salmon Processing Plants. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 51–61.

Davis, J.A. ve Jackson, C.R. (2009). Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, and *L. welshimeri*. *Microbial Drug Resistance*, 15(1), 27-32.

Dayan, A.D. (1993). Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man. *Veterinary Microbiology*, 35(3-4), 213-26.

de Mello, J.F., Einsfeldt, K., Guedes Frazzon, A.P., daCosta, M. ve Frazzon, J. (2008). Molecular Analysis of the *iap* Gene of *Listeria monocytogenes* isolated from cheeses in rio grande do sul, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39:169-172.

Debabov, D.V., Kiriukhin, M.Y. ve Neuhaus, F.C. (2000). Biosynthesis of Lipoteichoic Acid in *Lactobacillus rhamnosus*: Role of DltD in D-Alanylation. *Journal of Bacteriology*, 182(10), 2855-2864.

deCastro, V., Escudero, J., Rodriguez, J., Muniozguren, N., Uribarri, J., Saez, D. ve ark. (2012). Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, August 2012. *Euro Surveillance*, 17(42), 20298.

Demby, J. H. and F. E., Cunningham. (1986). Factors affecting composition of chicken meat. A literature review. *World's Poultry Science Journal*, 36:25-67.

denBakker, H. C., Cummings, A.C., Ferreira, V., Vatta, P., Orsi, H.R., Degoricija, L., ve ark. (2010). Comparative genomics of the bacterial genus *Listeria*: Genome

evolution is characterized by limited gene acquisition and limited gene loss. *BMC Genomic*, 11, 688.

denBakker, H.C., Warchocki, S., Wright, E.M., Allred, A.F., Ahlstrom, C., Manuel, C.S. ve ark. (2014). *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(6), 1882-1889.

Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service (FSIS), (6 Haziran 2003). Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat and Poultry Products. Erişim 16.11.2016, <https://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/97-013F.htm> .

Dewdney, J.M., Maes, L., Raynaud, J.P., Blanc, F., Scheid, J.P., Jackson, T. ve ark. (1991). Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential. *Food and Chemical Toxicology*, 29(7), 477-83.

diPinto, A., Novello, L., Montemurro, F., Bonerba, E. ve Tantillo, G. (2010). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods from supermarkets in Southern Italy. *New Microbiologica*, 33, 249-252.

Doganay M. listeriosis: clinical presentation. *FEMs Immunology and Medical Microbiology* 2003;35(3):173-5.

Donnelly, C.W. (2001). *Listeria monocytogenes*: A Continuing Challenge. *Nutrition Reviews*, 59(6), 183-194.

Dorozynski, A. (2000). Seven die in French listeria outbreak. *BMJ*, 320(7235), 601.

Doumith, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C. ve Martin, P. (2004a). Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(8), 3819-3822.

Duche, O., Tremoulet, F., Glaser, P. ve Labadie, J. (2002a). Salt stress proteins induced in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (4), 1491–1498.

Duche, O., Tremoulet, F., Namane, A. ve Labadie, J. (2002b). A proteomic analysis of the salt stress response of *Listeria monocytogenes*. *FEMS Microbiol. Lett.* 215 (2), 183–188.

Dussurget, O., Dumas, E., Archambaud, C., Chafsey, I., Chambon, C., He'braud, M. ve ark. (2005). *Listeria monocytogenes* ferritin protects against multiple stresses and is required for virulence. *FEMS Microbiology Letters*, 250, 253-261.

Dümen, E., Issa G., İkiz, S., Bağcıgil, F., Özgür, Y., Kahraman T. ve ark. (2011). Determining Existence and Antibiotic Susceptibility Status of *Listeria monocytogenes* Isolated from Dairy Products, Serological and Molecular Typing of the Isolates. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17, 111-119.

EFSA(2014).*Listeria*.https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/factsheetlisteria2201en.pdf . Erişim: 22.02.2018

EFSA&ECDC Scientific Report (13 Kasım 2017). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. Erişim tarihi: 14.02.2018.

EFSA (2017). *Listeria monocytogenes* contamination of ready to eat foods and the risk for human health in the EU. Erişim tarihi: 03.06.2018, <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/engage/170724-0.pdf>.

EFSA&ECDC Scientific Report (17 Aralık 2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. Erişim tarihi: 14.10.2017.

EFSA&ECDC Scientific Report (10 Mart 2016). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. Erişim: 22.02.2018.

Elmalı, M., Can, H.Y. ve Yaman, H. (2015). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat. *Food Science and Technology*, 35(4).

Erol I. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Ankara, Türkiye: Pozitif Matbaacılık Ltd Şti; 2007.

EUCAST (2017). EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing Version 6.0 (January 2017). Erişim: 18.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Version_5/Manual_v_6.0_EUCAST_Disk_Test_final.pdf.

EUCAST (2018). Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST Version 8.0, valid from 2018-01-01. Erişim: 22.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/QC/v_8.0_EUCAST_QC_tables_routine_and_extended_QC.pdf.

EUCAST (2017). Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. Erişim: 18.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Version_5/Media_preparation_v_5.0_EUCAST_AST.pdf.

EUCAST (2018). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 8.0, valid from 2018-01-01. Erişim: 21.02.2018, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf.

Eva Ng, J.K., Goebel, W. ve Vazquez-Boland, J.A. (1999). Chapter 12: Virulence Gene Clusters and Putative Pathogenicity Islands in *Listeriae*. *American Society for Microbiology*.

FAO (16.11.2016). Antimicrobial Resistance 101. Erişim 20. 11.2016, <http://www.fao.org/zhc/en/> .

Farber, J.M. Sanders, G.W. ve Johnston, M.A. (1989). A Survey of Various Food for The Presence of *Listeria* Species. *Journal of Food Protection*. 52, (7), 456-458.

Farber, J.M. ve Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological Reviews*. 55: 476-511.

Fernández-Garayzábal, J.F., Suárez, G., Blanco, M.M., Gibello, A., Domínguez, L. (1996). Taxonomic note: a proposal for reviewing the interpretation of the CAMP reaction between *Listeria monocytogenes* and *Rhodococcus equi*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(3):832-4.

Ferraira, A., O'Byrne, C.P. ve Boor, K.J. (2001). Role of B in Heat, Ethanol, Acid, and Oxidative Stress Resistance and during Carbon Starvation in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4454-4457.

Ferreira, A., Sue, D., O'Byrne, C.P. ve Boor, K.J. (2003). Role of *Listeria monocytogenes* _B' in Survival of Lethal Acidic Conditions and in the Acquired Acid Tolerance Response. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5), 2692-2698.

Ferreira, V., Wiedmann, M., Teixeira, P. ve Stasiewicz, M. J. (2014). *Listeria monocytogenes* Persistence in Food-Associated Environments: Epidemiology, Strain Characteristics, and Implications for Public Health. *Journal of Food Protection*, 1, 4-170.

Fiedler, F., Seger, J., Schrettenbrunner, A. ve Seeliger, H.P.R. (1984). The biochemistry of murein and cell wall teichoic acids in the genus *Listeria*, *Systematic and Applied Microbiology*, 5(3), 360-376.

Filioussis, G., Johansson, A., Frey, J., Perreten, V. (2009). Prevalance, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control*, 20,314-317.

Fischer, W. (1988). Physiology of Lipoteichoic Acids in Bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 29, 233-302.

Fischer, W., Mannsfeld, T. ve Hagen, G. (1990). On the basic structure of poly(glycerophosphate) lipoteichoic acids. *Biochemistry and Cell Biology*, 68(1), 33-43.

Fischer, W., Rosel, P. ve Koch, H.U. (1981). Effect of Alanine Ester Substitution and Other Structural Features of Lipoteichoic Acids on Their Inhibitory Activity Against Autolysins of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 146(2),467-475.

Fischer, W., Uwe Koch, H.U. ve Rose, P. (1980). Alanine Ester-containing Native Lipoteichoic Acids Do Not Act as Lipoteichoic Acid Carrier. *The Journal of Biological Chemistry*, 255(10), 4555-4562.

Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D. ve ark. (1985). Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *New England Journal of Medicine*, 312 (7), 404-7.

Food Safety Authority of Ireland, *Listeria monocytogenes*-Microbial Factsheet (2011). Erişim:02.10.2016,file:///C:/Users/acoban.DEVALOC/Downloads/*Listeria%20monocytogenes%20Factsheet%20FINAL.pdf* .

Food and Agricultural Organization of United Nations. Seeking end to loss and waste of food along production chain. Erişim: 19.02.2017, <http://www.fao.org/in-action/seeking-end-to-loss-and-waste-of-food-along-production-chain/en/>.

Fox, E., Hunt, K., O'Brien, M. ve Jordan, K. (2011). *Listeria monocytogenes* in Irish Farmhouse cheese processing environments. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), S39–S45.

Fox, E.M., deLappe, N., Garvey, P., McKeown, P., Cormican, M., Leonard, N. ve ark. (2012). PFGE analysis of *Listeria monocytogenes* isolates of clinical, animal, food and environmental origin from Ireland. *Journal of Medical Microbiology*, 61, 540–547.

Fraser, K.R., Harvie, D., Coote, P.J. ve O'Byrne, C.P. (2000). Identification and Characterization of an ATP Binding Cassette I-Carnitine Transporter in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 4696-4704.

Freitag, N.E. ve Portnoy, D.A. (1994). Dual promoters of the *Listeria monocytogenes* *prfA* transcriptional activator appear essential in vitro but are redundant in vivo, *Molecular Microbiology*, 12(5), 845-853.

Freitag, N.E., Rong, L. ve Portnoy, D.A. (1993). Regulation of the *prfA* Transcriptional Activator of *Listeria monocytogenes*: Multiple Promoter Elements Contribute to Intracellular Growth and Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity*, 61(6), 2537-2544.

Fretz, R., Pichler, J., Sagel, U., Much, P., Ruppitsch, W., Pietzka, A.T. ve ark. (2010). Update: Multinational listeriosis outbreak due to 'Quargel', a sour milk curd cheese, caused by two different *L.monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010. *Euro Surveillance*, 15(16), 19543.

Frye, D.M., Zweig, R., Sturgon, J., Tormey, M., LeCavalier, M., Lee, I., ve ark., (2002). An Outbreak of Febrile Gastroenteritis Associated with Delicatessen Meat Contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Clinical Infection Disease*, 35, 943–9.

Furrer, B., Candrian, U. Hoefelein, Ch. ve Luethy, J. (1991). Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by in

vitro amplification of haemolysin gene fragments. *Journal of Applied Microbiology*, 70, 372-379.

Gahan, C.G.M., O'Driscoll, B. ve Hill, C. (1996). Acid Adaptation of *Listeria monocytogenes* Can Enhance Survival in Acidic Foods and during Milk Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(9), 3128-3132.

Gahan, G.M.C., O'Driscoll, B. ve Hill, C. (1996). Acid Adaptation of *Listeria monocytogenes* Can Enhance Survival in Acidic Foods and during Milk Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(9), 3128-3132.

Gaillard, J.L., Berche, P., Frehel, C. Gouln, E.ve Cossart, P. (1991). Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci. *Cell*, 65(7), 1127-1141.

Gandhi, M. ve Chikindas, L.M. (2007). *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology*, 113, 1-15.

Gardan, R., Duche, O., Leroy-Se'trin, the European *Listeria* Genome Consortium ve Labadie, J. (2003). Role of *ctc* from *Listeria monocytogenes* in Osmotolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 154-161.

Gekara, N.O., Zietara, N., Geffers, R. ve Weiss, S. (2010). *Listeria monocytogenes* induces T cell receptor unresponsiveness through pore-forming toxin listeriolysin O. *The Journal of Infection Disease*, 202(11), 1698-707.

Gellin ve Broome (1989). Listeriosis. *JAMA*, 261(9):1313-1320.

Genigeorgis, C. (1986). Problems associated with perishible processed meat. *Food Technology*, 4, 140-154.

Genigeorgis, C. A., Dutulescu, D. ve Garazabar, J. F. (1989). Prevalence of *Listeria* spp in poultry meat at the supermarket and slaughterhouse level. *Journal of Food Protection*, 52:618–624.

Geornaras, I., De Jesus, A., Van Zyl, E., Von Holy, A. (1995). Microbiological survey of a South African poultry processing plant. *Journal of Basic Microbiology*, 35, 73-82.

Gerhardt, P.N.M., Smith, L.T. ve Smith, G.M. (1996). Sodium-Driven, Osmotically Activated Glycine Betaine Transport in *Listeria monocytogenes* Membrane Vesicles. *Journal of Bacteriology*, 178(21), 6105-6109.

Gerhardt, P.N.M., Smith, L.T. ve Smith, G.M. (2000). Osmotic and Chill Activation of Glycine Betaine Porter II in *Listeria monocytogenes* Membrane Vesicles. *Journal of Bacteriology*, 182(9), 2544-2550.

Gianfranceschi, M., Gattuso, A., Tartaro, S. ve Aureli, P. (2003). Incidence of *Listeria monocytogenes* in food and environmental samples in Italy between 1990 and 1999: Serotype distribution in food, environmental and clinical samples. *European Journal of Epidemiology*, 18(10), 1001-1006.

Gianfranceschi, M., Pourshaban M., Gattuso A., Wedell-Neergaard C., Aureli P. (2002). Characterization of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Food and Humans in Italy by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Food Microbiology*, 19, 47-55.

Gianfranceschi, M., Pourshaban, M., Gattuso, A., Wedell-Neergaard, C., Aureli, P. (2002). Characterization of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Food and Humans in Italy by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Food Microbiology*, 19, 47-55.

Gianfranceschi, M.V., D'Ottavio, M.C., Gattuso, A., Bella, A. ve Aueli P. (2009). Distribution of serotypes and pulsotypes of *Listeria monocytogenes* from human, food and environmental isolates (Italy 2002–2005). *Food Microbiology*, 26(5), 520-526.

Gilbert, R. J., Miller, K. L. ve Roberts, D. (1989). *Listeria monocytogenes* and chilled foods. *Lancet i*, 383–384.

Giovannacci, I., Ragimbeau, C., Queguiner, S., Salvat, G., Vendeuvre, J.-L., Ermel, V. ve ark. (1999). *Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants: use of RAPD, PFGE and PCR–REA for tracing and molecular epidemiology. *International Journal of Food Microbiology*, 53 (2-3), 127-140.

Giovannacci, I., Ragimbeau, C., Queguiner, S., Salvat, G., Vendeuvre, J. L., Carlier, V. ve ark. (1999). *Listeria monocytogenes* in Pork Slaughtering and Cutting Plants use of RAPD, PFGE and PCR–REA for Tracing and Molecular Epidemiology. *International Journal of Food Microbiology*, 53, 127–140.

Glaser, P., Frangeul, L., Buchreiser, C., Rusniok, C., Amend, A., Baquero, F. (2001). Comparative Genomics of *Listeria* Species. *Science*, 294, 849-852.

Gottlieb, S.L., Newbern, E.C., Griffin, P.M., Graves, L.M., Hoekstra, M., Baker, N.L. ve ark. (2006). Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Turkey Deli Meat and Subsequent Changes in US Regulatory Policy. *Clinical Infection Disease*, 2:29–36.

Gouin, E., Mengaud, J. ve Cossart, P. (1994). The Virulence Gene Cluster of *Listeria monocytogenes* Is Also Present in *Listeria ivanovii*, an Animal Pathogen, and *Listeria seeligeri*, a Nonpathogenic Species. *Infection and Immunity*, 62(8), 3550-3553.

Goulet, V., Hebert, M., Hedberg, C., Laurent, E., Vaillant, V., De Valk H. ve ark. (2012). Incidence of Listeriosis and Related Mortality Among Groups at Risk of Acquiring Listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 54, Issue 5, 1 , Pages 652–660.

Gouws, P. A. ve Liedemann, I. (2005). Evaluation of Diagnostic PCR for the Detection of *Listeria monocytogenes* in Food Products. *Food Technology and Biotechnology*, 43(2), 201-205.

Gravesen, A., Jacobsen, T., Møller, P.L., Hansen, F., Larsen, A.G., Knøche, I. S. (2000). Genotyping of *Listeria monocytogenes*: Comparison of RAPD, ITS, and PFGE. *International Journal of Food Microbiology*, 57, 43–51.

Gray, M.L. ve Killinger, A.H. (1966). *Listeria monocytogenes* and Listeric Infections. *Bacteriological Reviews*, 30(2) 309-71.

Gudbjornsdottir, B., Suihko, M.L., Gustavsson, P., Thorkelsson, G., Salo, S., Sjöberg, A.M. (2004). The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in Nordic countries. *Food Microbiology*, 21, 217-225.

Hain, T., Chatterjee, S.S., Gha, I.R., Kuenne, C.T., Billion, A., Steinweg, C. (2007). Pathogenomics of *Listeria spp.* *International Journal of Medical Microbiology*, 297(7-8), 541-557.

Hall, R., Shaw, D., Lim, I., Murphy, F., Davos, D., Lanser, J. ve ark. (1996). A cluster of listeriosis cases in South Australia. Erişim 20.12.2016, *CDI*, 20 (21), p. 465. [https://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/1996%20issues-/\\$FILE/cdi2021b.pdf](https://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/1996%20issues-/$FILE/cdi2021b.pdf) .

Helmann, J.D. ve Chamberlin, M.J. (1988). Structure and function of bacterial sigma factors. *Annual Review of Biochemistry*, 57, 839-872.

Henning, W.R. & Cutter, C. (2001). Controlling *Listeria monocytogenes* in Small and Very Small Meat and Poultry Plants. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service.

Herschleb, J., Ananiev, G. ve Schwartz, D.C. (2007). Pulsed-field gel electrophoresis. *Nature Protocols*, 2(3), 677-84.

Hill, C., Cottera, P.D., Sleator, R.D. ve Gahan, C.G.M. (2002). Bacterial stress response in *Listeria monocytogenes*: jumping the hurdles imposed by minimal processing. *International Dairy Journal*, 12, 273-283.

Ho, J.L., Shands, K.N., Friedland, G., Eckind, P., Fraser, D.W. (1986). An Outbreak of Type 4b *Listeria monocytogenes* Infection Involving Patients From Eight Boston Hospitals. *Archives of Internal Medicine*, 146(3), 520-524.

Hoelzer, K., Pouillot, R., Gallagher, D., Silverman, M.B., Kause, J. ve Dennis, S. (2012). Estimation of *Listeria monocytogenes* transfer coefficients and efficacy of bacterial removal through cleaning and sanitation. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 267-277.

Hof, H. (2004). An update on the medical management of listeriosis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 5(8), 1727-35.

Hof, H. and J. Rocourt. (1992). Is any strain of *Listeria monocytogenes* detected in food a health risk? *International Journal of Food Microbiology*, 16:173-82.

Hofer, E., Ribeiro, R., Feitosa, D. P. (2000). Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95, 615-620.

Holko, I., Urbanova, J., Kantikova, M., Pastorova, K., Kmet, V. (2002). PCR Detection of *Listeria monocytogenes* in Milk and Milk Products and Differentiation of Suspect Isolates. *Acta Veterinaria Brunensis*, 71, 125-131.

Hughes, A.H., Hancock, I.C. ve Baddiley, J. (1973). The Function of Teichoic Acids in Cation Control in Bacterial Membranes. *Biochemical Journal*, 132, 83-93.

Hurley, D., Luque-Sastre, L., DeLappe, N., Moore, J.E., Cormican, M., Jordan, K.N. ve ark. (2014). Comparison of *Listeria monocytogenes* isolates across the island of Ireland. *Journal of Food Protection*, 77(8), 1402-6.

Ibba, M., Cossu, F., Spanu, V., Viridis, S., Spanu, C., Scarano, C. ve ark. (2013). *Listeria monocytogenes* contamination in dairy plants: evaluation of *Listeria*

monocytogenes environmental contamination in two cheese-making plants using sheeps milk. *Italian Journal of Food Safety*, 2 (2), e31.

Indrawattana, N., Nibaddhasobon, T., Sookrung, N., Chongsa-nguan, M., Tungtrongchitr, A., Makino, S. ve ark. (2011). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Raw Meats Marketed in Bangkok and Characterization of the Isolates by Phenotypic and Molecular Methods. *Journal of Health Population and Nutrition*, 29(1): 26–38.

Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T., Saito, A. ve ark. (2000). Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. *International Journal of Food Microbiology*, 59(1-2), 73-7.

Jackson, V., Blair, I. S., Mcdowell, D. A., Kennedy J., Bolton, D. J. (2007). The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. *Food Control*, 18, 346-351.

Jami, M., Ghanbari, M., Zunabovic, M., Domig, K.J. ve Kneifel, W. (2014). *Listeria monocytogenes* in Aquatic Food Products-A Review. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety*, 13:798-813.

Janakiraman V. (2008). Listeriosis in pregnancy: diagnosis, treatment, and prevention. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 1(4), 179-85.

Jaradat, Z.W., Schutze, G.E. ve Bhunia, A.K. (2002). Genetic homogeneity among *Listeria monocytogenes* strains from infected patients and meat products from two geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*, 76, 1 – 10.

Jay, J.M. (1996). Prevalence of *Listeria* spp. in meat and poultry products. *Food Control*, 7, (4–5), 209-214.

Doko, J.J., Nola, I.A., Andabaka, D. (2010). Food processing industry--the salt shock to the consumers. *Acta Med Croatica*, 64(2):97-103.

Jordan, K., Leong, D. ve Álvarez-Ordóñez, A. (2015). *Listeria monocytogenes* in the Food Processing Environment. New York: Springer. Page: 55

Juntilla, J.R., Niemela, S.I. ve Hirn, J. (1988). Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic *Listeria*. *Journal of Applied Bacteriology*. 65, 321-327.

Kahraman, T., Çetin, O., Dümen, E., Büyükkunal, S.K. (2010). Incidence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on equipment surfaces and personel hands in meat plants. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 161(3), 108-113.

Kamisango, K., Fuji, H., Okumura, H., Saiki, I., Araki, Y., Yamamura, Y. ve ark. (1983). Structure and Immunochemical Studies of Teichoic acid of *Listeria monocytogenes*. *The Journal of Biochemistry*, 93(5), 1401-1409.

Karunasagar, I., Krohne, G. ve Goebel, W. (1993). *Listeria ivanovii* Is Capable of Cell-to-Cell Spread Involving Actin Polymerization. *Infection and Immunity*, 61(1), 162-169.

Kathariou, S. (2002). *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection*, 65(11), 1811-29.

Katsuda, K., Iguchi, M., Tuboi, T., Nishimori, K., Tanaka, K., Uchida, I. ve ark. (2000). Rapid Molecular Typing of *Listeria monocytogenes* by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Research in Veterinary Science*, 69, 99-100.

Kazmierczak, M.J., Mithoe, S.C., Boor, K.J. ve Wiedmann, M. (2003). *Listeria monocytogenes* _B Regulates Stress Response and Virulence Functions. *Journal of Bacteriology*, 185(19), 5722-5734.

Kessler, S.L. ve Dajani, A.S. (1990). *Listeria meningitis* in infants and children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 9(1), 61-3.

Keto-Timonen, R., Tolvanen, R., Lundén, J. ve Korkeala, H. (2007). An 8-year surveillance of the diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in a chilled food processing plant analyzed by amplified fragment length polymorphism. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1866-73.

Kim, H., Boor, K.J. ve Marquis, H. (2004). *Listeria monocytogenes* B Contributes to Invasion of Human Intestinal Epithelial Cells. *Infection and Immunity*, 72(12), 7374-7378.

Ko, R. ve Smith, L.T. (1999). Identification of an ATP-Driven, Osmoregulated Glycine Betaine Transport System in *Listeria monocytogenes*, *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9),4040-4048.

Koopmans M.M., Brouwer M.C., Bijlsma M.W., Bovenkerk S., Keijzers W., van der Ende A. (2013). *Listeria monocytogenes* sequence type 6 and increased rate of unfavorable outcome in meningitis: epidemiologic cohort study. *Clinical Infection Disease*, 57:247–253.

Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P. ve Elias, T. (2013). *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. *Food Control*, 30, 24-29.

Kreft, J. ve Vazquez-Boland, J.A. (2001). Regulation and Virulence genes in *Listeria*. *International Journal of Medical Microbiology*, 291(2), 145-157.

Kwiatek, K., Wojton, B. ve Rola, J. (1992). The Occurence of *L. monocytogenes* in Meat Slaughter Animals, Poultry and Raw milk in Poland. 3rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications. P. 17, 1084. 1088. Berlin.

Kyoui, D., Takahashi, H., Miya, S., Kuda, T. ve Kimura, B. (2014). Comparison of the major virulence-related genes of *Listeria monocytogenes* in Internalin A truncated strain 36-25-1 and a clinical wild-type strain. *BMC Microbiology*, 14,15.

Lakicevic, B., Stjepanovic, A., Milijasevic, M., Terzic-Vidojevic, A., Golic, N., Topisirovic, L. (2010). The Presence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in a Chosen Food Processing Establishment in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 62(4), 881-887.

Lambert, P.A., Hancock, I.C. ve Baddiley, J. (1975). Influence of alanyl ester residues on the binding of magnesium ions to teichoic acids. *Biochemical Journal*, 151(3), 671-676.

Lambertz Thisted, S., Ivarsson, S., Valladares Lopez, G., Sidstedt, M. ve Lindqvist, R. (2013). Subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from retail ready-to-eat foods, processing plants and listeriosis patients in Sweden 2010. *International Journal of Food Microbiology*, 166(1), 186-192.

Lancette, G.A. ve Bennett, R.W.: Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins. In:Downes F.P., Ito, K. (Eds). 4th Edition, Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington DC, 2001; pp. 387-404.

Lawrence, L.M. ve Gilmour, A. (1995). Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolated from Poultry Products and from the Poultry-Processing Environment by Random Amplification of Polymorphic DNA and Multilocus Enzyme Electrophoresis. *Applied and Microbiology*, 61(6), 2139-2144.

Legnani, P., Leoni E., Berveglieri M., Mirolo G., Alvaro N. (2004). Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*, 15, 205-21.

Leimeister-Wachter, M., Domann, E. ve Chakraborty, T. (1991). Detection of a gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C that is co-ordinately

expressed with listeriolysin in *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 5(2), 361-366.

Lemes–Marques, E.G., Cruz, C.D. ve Destro, M.T. (2007). Pheno– and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* clinical isolates from the southwestern region of the State of São Paulo, Brazil. *Brazil Journal of Microbiology*, 38, 287-292.

Leong, D., Álvarez-Ordóñez, A., Jooste, P. ve Jordan, K. (2016). *Listeria monocytogenes* in food: Control by monitoring the food processing environment. *African Journal of Microbiology Research*, 10 (1), 1-14.

Leong, D., Alvarez-Ordorez, A., Jordon, K. (2014). Monitoring occurrence and persistence of *Listeria monocytogenes* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland. *Frontiers in Microbiology*, 5, 436.

Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S. ve Salminen, C. ve ark. (1988). Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-Style Cheese. *The New England Journal of Medicine*, 319, 823-828.

Liu, D. (2006). Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. *Journal of Medical Microbiology*, 55, 645-659.

Liu, D., Ainsworth, A.J., Austin, F.W. ve Lawrence, M.L. (2004). Use of PCR primers derived from a putative transcriptional regulator gene for species-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 91(3), 297-304.

Liu, D., Lawrence, M.L., Austin, F.W. ve Ainsworth, A.J. (2007). A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods*, 71(2), 133-140.

Liu, S., Graham, J.E., Bigelow, L., Morse II, P.D. ve Wilkinson, B.J. (2002). Identification of *Listeria monocytogenes* Genes Expressed in Response to Growth at Low Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1697-1705.

Lomonaco, S., Decastelli, L., Nucera, D., Gallina, S., Bianchi, D.M. ve Civera, T. (2009). *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola: Subtypes, diversity and persistence over time. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 516-520.

Lomonaco, S., Verghese, B., Smidt, P.G., Tarr, C., Gladney, L., Joseph, L. ve ark. (2013). Novel Epidemic clones of *Listeria monocytogenes*, United States, 2011. *Emerging Infectious Disease*, 19 (1). (www.cdc.gov/ied).

Lou, Y. ve Yousef, A.E. (1997). Adaptation to Sublethal Environmental Stresses Protects *Listeria monocytogenes* against Lethal Preservation Factors. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), 1252-1255.

Loura, C.A.C., Almeida, R.C.C. ve Almeida, P.F. (2005). The incidence and level of *Listeria* Spp. And *Listeria Monocytogenes* Contamination in processed poultry at a poultry processing plant. *Journal of Food Safety*, 25, 19–29.

Low, J.C. ve Donachie, W. (1997). A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Veterinary Journal*. 153, 9-29.

Lukinmaa, S., Aarnisalo, K., Suihko, M.L., Siitonen, A. (2004). Diversity of *Listeria monocytogenes* Isolates of Human and Food Origin Studied by Serotyping, Automated Ribotyping and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Clinical Microbiology and Infection*, 10, 562-68.

Lukinmaa, S., Miettinen, M., Nkarai, U.M., Korkeala, H., Siitonen, A. (2003). *Listeria monocytogenes* Isolates from Invasive Infections: Variation of Sero- and Genotypes during an 11-Year Period in Finland. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1694-1700.

Mahmood, M.S., Ahmed, A.N. ve Hussain, I. (2003). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Poultry Meat, Poultry Meat Products and Other Related Inanimates at Faisalabad. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (6): 346-349.

Makino, S. I., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okada, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S. ve ark. (2005). An outbreak of foodborne listeriosis due to cheese in Japan during 2001. *International Journal of Food Microbiology*, 104(2), 189-196.

Maria Machuca (11 Mayıs 2016). Ajinomoto Windsor, Inc. Recalls Meat and Poultry Products Due to Possible *Listeria* Contamination. Erişim 16.12.2016 <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/recalls-and-public-health-alerts/recall-case-archive/archive/2016/recall-040-2016-release>.

Marron, L., Emerson, N., Ghan, C.R.G. ve Hill, C. (1997). A Mutant of *Listeria monocytogenes* LO28 Unable To Induce an Acid Tolerance Response Displays Diminished Virulence in a Murine Model. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(12), 4945-4947.

Mayrhofer, S., Paulsen, P., Smulders, F.J.M. ve Hilbert, F. (2004). Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 97(1), 23-29.

McCarthy, S. A. (1990). *Listeria* in the Environment. In: *Foodborne Listeriosis*, A. J. Miller, J. L. Smith and G. A. Somkuti (eds). Elsevier: New York. pp. 25-29.

McClure, P.J., Kelly, T.M. ve Roberts TA (1991). The effects of temperature, pH, sodium chloride and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*. *International of Journal Food Microbiology*, 14(1)-77-91.

McLauchlin, J., Hall, S.M., Velani, S.K. ve Gilbert, R.J. (1991). Human listeriosis and pate: a possible association. *BMJ*, 303, 773-5.

McLauchlin, J., Rees, C.E.D. ve Dodd, C.E.R. (2014). *Listeria monocytogenes* and the Genus *Listeria*. *The Prokaryotes*, pp 241-259.

Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C. ve ark. (1999). Food-Related Illness and Death in the United States. *Emerging Infection Disease*, 5 (5), 607-625.

Mengaud, J., Vicente, M.F. ve Cossart, P. (1989). Transcriptional Mapping and Nucleotide Sequence of the *Listeria monocytogenes* hlyA Region Reveal Structural Features That May Be Involved in Regulation. *Infection and Immunity*, 57(12), 3695-3701.

Meyer-Morse, N., Robbins, J.R., Rae, C.S., Mochegova, S.N., Swanson, M.S., Zhao, Z. ve ark. (2010). Listeriolysin O Is Necessary and Sufficient to Induce Autophagy during *Listeria monocytogenes* Infection. *PLoS One*, 5(1), e8610.

Midi, İ., Ekinçi, G., Yaroğlu, S., Aktan, S. (2005). Brain abscesses due to listeria monocytogenes: case report. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(1):36-9

Minea, L., Drug, O., Cimpeanu, C., Vasilov, M., Bucsa, D., Mircea, D. ve ark. (2005). The main sources of *Listeria monocytogenes* contamination in milk processing plants. *Journal of Preventive Medicine*, 13 (3-4), 43-51.

Mook, P., O'Brien, S.J. ve Gillespie, I.A. (2011). Concurrent Conditions and Human Listeriosis, England, 1999–2009. *Emerging Infectious Disease*, 17(1): 38–43.

Moorhead, S.M. ve Dykes, G.A. (2003). The Role of the sigB Gene in the General Stress Response of *Listeria monocytogenes* Varies between a Strain of Serotype 1/2a and a Strain of Serotype 4c. *Current Microbiology*, 46(6), 0461-0466.

Murray, E.G.D., R.A Webb, ve M.B.R. Swann. (1926). A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus, *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). *Journal of Pathology and Bacteriology*. 29,407-439.

Nakari, U.M., Rantala, L., Pihlajasaari, A., Toikkanen, S., Johansson, T., Hellsten, C., ve ark. (2014). Investigation of increased listeriosis revealed two fishery production plants with persistent *Listeria* contamination in Finland in 2010. *Epidemiology and Infection*, 142, 2261-2269.

Nakazawa, M. ve Nemato, H. (1980). Synergistic hemolysis phenomenon of *Listeria monocytogenes* and *Corynebacterium equi*. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 42:603.

Nesbakken, T., Kapperud, G. ve Caugant, D.A. (1996). Pathways of *Listeria monocytogenes* contamination in the meat processing industry. *International Journal of Food Microbiology*, 31 (1-3), 161-171.

Neves, E., Lourenço, A., Silva, A.C., Coutinho, R., Brito, L. (2008). Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Analysis of *Listeria monocytogenes* Isolates from Different Sources and Geographical Origins and Representative of the Twelve Serovars. *Systematic and Applied Microbiology*, 31, 387-92.

NicAogáin, K. ve O'Byrne, C.P. (2016). The Role of Stress and Stress Adaptations in Determining the Fate of the Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes* in the Food Chain. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1865.

Nishibori, T., Cooray, K., Xiong, H., Kawamuro, I., Fujita, M. ve Mitsuyama, M. (1995). Correlation between the Presence of Virulence-Associated Genes as Determined by PCR and Actual Virulence to Mice in Various Strains of *Listeria* Spp. *Microbiology ve Immunology*, 39(5), 343–349.

Norrung, B. (2000). Microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in foods under special consideration of risk assessment approaches. *International Journal of Food Microbiology* 62, 217–221.

Nucera, D., Lomonaco, S., Bianchi, D.M., Decastelli, L., Grasi, M.A., Bottero, M.T. ve ark. (2010). A five year surveillance report on PFGE types of *Listeria monocytogenes*

isolated in Italy from food and food related environments. *International Journal of Food Microbiology*, 140 (2-3), 271-276.

O'Driscoll, B., Gahan, C.G.M. ve Hill, C. (1996). Adaptive Acid Tolerance Response in *Listeria monocytogenes*: Isolation of an Acid-Tolerant Mutant Which Demonstrates Increased Virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5), 1693-1698.

Ou, L.T. ve Marquis, R.E. (1970). Electromechanical Interactions in Cell Walls of Gram-Positive Cocci. *Journal of Bacteriology*, 101(1), 92-101.

Ojeniyi, B., Christensen, J. ve Bisgaard, M. (2000). Comparative investigations of *Listeria monocytogenes* isolated from a turkey processing plant, turkey products, and from human cases of listeriosis in Denmark. *Epidemiology&Infection*, 125(2), 303-308.

Okada, Y., Okutani, A., Suzuki, H., Asakura, H., Monden, S., Nakama, A. ve ark. (2011). Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(12), 1681-1684.

Ormerod, A.D., Reid, T.M. ve Main, R.A. (1987). Penisilin in milk--its importance in urticaria. *Clinical Allergy*, 17(3), 229-234.

Osailia, T.M., Alaboudib, A. R. ve Nesiar, E.A. (2011). Prevalence of *Listeria* spp. and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan. *Food Control*, 22(3-4), 586-590.

Özmen, G. ve Kılıç, H. (2006). Gemlik Garnizonu'nda Tüketime Sunulan Tavuk Etlerinden *Listeria* spp. İzolasyonu. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15(3) 194-197.

Pak, S.I., Spahr, U., Jemmi, T. ve Salman, M.D. (2002). Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990-1999. *Preventive Veterinary Medicine*, 53(1-2), 55-65.

Phan-Thanh, L. ve Mahouin, F. (1999). A proteomic approach to study the acid response in *Listeria monocytogenes*. *Electrophoresis*, 20, 2214-2224.

Phan-Thanh, L., Mahouin, F. ve Alige S. (2000). Acid responses of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 55 (1–3), 121–126.

Pinner, R.W., Schuchat, A., Swaminathan, B., Hayes, P.S., Deaver, K.A., Weaver, R.E. ve ark. (1992). Role of foods in sporadic listeriosis. II. Microbiologic and epidemiologic investigation. The Listeria Study Group. *JAMA*, 267(15), 2046-50.

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

Portnoy, D.A., Chakraborty, T., Goebel, W. ve Cossart, P. (1992). Molecular Determinants of *Listeria monocytogenes* Pathogenesis. *Infection and Immunity*, 60(4), 1263-1267.

Poyart, C., Abachin, E., Razafimanantsoa, I. ve Berche, P. (1993). The Zinc Metalloprotease of *Listeria monocytogenes* Is Required for Maturation of Phosphatidylcholine Phospholipase C: Direct Evidence Obtained by Gene Complementation. *Infection and Immunity*, 61(4), 1576-1580.

Pricope, L., Nicolau, A., Wagner, M. ve Rychli, K. (2013). The effect of sublethal concentrations of benzalkonium chloride on invasiveness and intracellular proliferation of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 31 (1), 230-235.

Pritchard, T.J., Flanders, K.J. ve Donnelly, C.W. (1995). Comparison of the incidence of *Listeria* on equipment versus environmental sites within dairy processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, 26(3), 375-84.

Promadej, N., Fiedler, F., Cossart, P., Dramsi, S. ve Kathariou, S. (1999). Cell Wall Teichoic Acid Glycosylation in *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Requires *gtcA*, a Novel, Serogroup-Specific Gene. *Journal of Bacteriology*, 181(2), 418-425.

Rahimi, E., Ameri, M., Momtaz, H. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*. 21,1448-1452.

Rahmat, G.R., Ibrahim, A. ve Bakar, F.A. (1991). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in retail beef and Poultry. *Pertanika*, 14(3): 249-55.

Raines, L.J., Moss, C.W., Farshtchi, D. ve Pittman, B. (1968). Fatty acids of *Listeria monocytogenes*, *Journal of Bacteriology*, 96(6), 2175-2177.

Ray, B., Bhunia, A. Fundamental Food Microbiology. 4th Edition, Boca Raton, ABD: CRC Press; 2008.

Reij, M.V. Den Aantrekker, E.D. ve ILSI Europe Risk Analysis in Microbiology Task Force. (2004). Recontamination as a source of pathogens in processed foods. *International Journal of Food Microbiology*, 91(1), 1-11.

Reilly, W.J., G.I., Forbes, J.C.M., Sharp, S.I., Obsegbulern, P.W., Collier, G.M., Paterson. (1988). Poultry-borne *Salmonellosis* in Scotland. *Epidemiology and Infection*, 101, 115-122.

Renzoni, A., Klarsfeld, A., Dramsi, S. ve Cossart, P. (1997). Evidence that *PrfA*, the Pleiotropic Activator of Virulence Genes in *Listeria monocytogenes*, Can Be Present but Inactive. *Infection and Immunity*, 65(4), 1515-1518.

Rivera-Betancourt, M., Shackelford, S. D., Arthur, T. M., Westermoreland, K. E., Bellinger, G., Rossman, M. (2004). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *Journal of Food Protection*, 67(2), 295-302.

Robinson, R. K., Batt, C. A. & Patel, P. D. (editors) (2000). *Encyclopedia of Food Microbiology*. San Diego, CA: Academic Press.

Rocourt, J. and Cossart, P. (1997): *Listeria monocytogenes*. In Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.J. eds. *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, DC.

Rocourt, J. and H. P. R. Seeliger. (1985). Classification of a Different *Listeria* species. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*, 259: 317- 330.

Rocourt, J., Jacquet, Ch. ve Reilly, A. (2000). Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62 (3), 197-209.

Roenigk, W. P. (1999). World Poultry Consumption. *Poultry Science*, 78:722-728.

Rorvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T. ve Caugant, D.A. (2000). Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in seafoods and seafood-processing plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (11), 4779-4784.

Rørvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T. ve Caugant, D.A. (2003). Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 633–640.

Salamina, G., Donne, E.D., Niccolini, A., Poda, G., Cesaroni, D., Bucci, M., ve ark. (1996). A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. *Epidemiology and Infection*, 117, 429–436.

Sallen, B., Rajoharison, A., Desvarenne, S., Quinn, F. ve Mabilat, C. (1996). Comparative analysis of 16S and 23S rRNA sequences of *Listeria* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(3),669-74.

Schlech WF (1997). *Listeria* gastroenteritis–old syndrome, new pathogen. *New England Journal of Medicine*, 336, 130-132.

Schlech, F.W., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J. ve ark. (1983). Epidemic Listeriosis — Evidence for Transmission by Food. *The New England Journal of Medicine*, 308, 203-206.

Schönberg, A., Teufel, P. ve Weise, E. (1989). Serovars of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from food. *Acta Microbiol Hungarica*, 36(2-3):249-53.

Schuchat, A., Swaminathan, B. ve Broome, C.V. (1991). Epidemiology of Human Listeriosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(2), 169-183.

Schuerch, D.W., Wilson-Kubalek, E.M. ve Tweten, R.K. (2005). Molecular basis of listeriolysin O pH dependence. *PNAS*, 102(35), 12567-12542.

Schwartz, B., Broome, C., Brown, G., Hightower, A., Ciesielski, C. ve Gavennata, S. (1988). Association of sporadic listeriosis with consumption of uncooked hot dog and undercooked chicken. *Lancet*, 2(8614), 779-82.

Schwartz, B., Hexter, D., Broome, C.V., Hightower, A.W., Hirschhorn, R.B., Porter, J.D. ve ark. (1989). Investigation of an outbreak of listeriosis: new hypotheses for the etiology of epidemic *Listeria monocytogenes* infections. *The Journal of Infection Disease*, 159(4), 680-5.

Seeliger, H. P. R. & Finger, H. (1983). Listeriosis. Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant, pp. 333-365, eds. J. S. Remington and J. Klein. Saunders.

Seeliger, H. P. R. (1961). Listeriosis. Hafner Publishing Co., Inc., New York.

Seeliger, H. P. R. ve Höhne, K. (1979). Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. *Journal of Medical Microbiology*, 13, 31-49.

Seeliger, H. P. R., and D. Jones. (1986). Genus *Listeria* Pirie 1940, 383AL, p.1235-1245. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 2. Williams&Wilkins, Baltimore.

Senczek, D., Stephan, R. ve Untermann, F. (2000). Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Typing of *Listeria* Strains Isolated from a Meat Processing Plant Over a 2-year Period. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 155-59.

Sergelidis, D., Abraham, A., Sarimvei, A., Panoulis, C., Karaioannoglou, P., Genigeorgis, C. (1997). Temperature distribution and prevalence of *Listeria* spp. in domestic, retail and industrial refrigerators in Greece. *International Journal of Food Microbiology*, 34, 171–177.

Settepani, J.A. (1984). The hazard of using kloramfenikol in food animals. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 184(8), 930-1.

Severino, P., Dussurget, O., Vencio, R.Z.N., Dumas, E., Garrido, P., Padilla, G. ve ark. (2007). Comparative Transcriptome Analysis of *Listeria monocytogenes* Strains of the Two Major Lineages Reveals Differences in Virulence, Cell Wall, and Stress Response. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(19), 6078-6088.

Sireli, U.T. ve Erol, I. (1999). Hazır kıymalarda *Listeria* türlerinin araştırılması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 23(2), 373-380.

Siriken, B., Ayaz, N.D., Erol, I. (2014). *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Turkey. *Berliner Münchner Tierärztlicher Wochenschrift*, 127 (1-2), 43-9.

Slama, R.B., Miladi, H., Chaieb, K. ve Bakhrouf, A. (2013). Survival of *Listeria monocytogenes* Cells and the Effect of Extended Frozen Storage (–20 °C) on the Expression of Its Virulence Gene. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(5), 1174-1183.

Sleator, R.D., Gahan, C.G., Abee, T. ve Hill, C. (1999). Identification and disruption of BetL, a secondary glycine betaine transport system linked to the salt tolerance of *Listeria monocytogenes* LO28. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(5), 2078-83.

Sleator, R.D., Wouters, J., Gahan, C.G., Abee, T. ve Hill, C. (2001). Analysis of the role of OpuC, an osmolyte transport system, in salt tolerance and virulence potential of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6), 2692-8.

Small, P.L.C. ve Waterman, S.R. (1998). Acid stress, anaerobiosis and gadCB lessons from *Lactococcus lactis* and *Escherichia coli*. *Trends Microbiol.* 6 (6), 214–216.

Smith, G.A., Marquis, H., Jones, S., Johnston, N.C., Portnoy, D.A. ve Goldfine, H. (1995). The Two Distinct Phospholipases C of *Listeria monocytogenes* Have Overlapping Roles in Escape from a Vacuole and Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity*, 63(11), 4231-4237.

Sofos JN, Flick G, Nychas G-J, O'Bryan CA, Ricke SC, Crandall PG. Microbial Spoilage and Public Health Concerns. Meat, Poultry, and Seafood. In: Doyle MP, Buchanan RL, editors, Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. 3rd ed. Washington, USA: American Society for Microbiology Press; 2013. pp. 111-169.

Sorum, H., L'Abee-Lund, T.M. (2002). Antibiotic resistance in food-related bacteria—a result of interfering with the global web of bacterial genetics. *International Journal of Food Microbiology*, 78 (1–2), 43–56.

Soultos, N., Koidis, P. ve Madden, RH. (2003). Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. *Letter in Applied Microbiology*, 37, 421–423.

Stavru, F., Bouillaud, F., Sartori., Ricquier, D. ve Cossart, P. (2011). *Listeria monocytogenes* transiently alters mitochondrial dynamics during infection. *PNAS*, 108(9), 3612-3617.

Stessl, B., Fricker, M., Fox, E., Karpiskova, R., Demnerova, K., Jordan, K. ve ark. (2014). Collaborative survey on the colonization of different types cheese-processing facilities with *L. monocytogenes*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(1), 8-14.

Suarez, G. ve L. Dominguez. (1995). Utility of the haemolytic phenotype in the recognition and identification of *Listeria monocytogenes*. The CAMP test, p. 9-14. In G. J. Arnold, P. S. Sutherland, and E. A. Szabo (ed.), Detection, identification and typing of *L. monocytogenes* in foods. *Listeria methods workshop manual*. Perth, Australia.

Swaminathan, B. ve Garner-Smith, P. (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, 9 (10), 1236-1243.

Terzi, G., Gücükoğlu, A., Cadırcı, Ö., Uyanık, T. ve Alişarlı, M. (2015). Serotyping and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Samsun, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 39, 211-217.

The Center Food Security and Public Health (2005). Listeriosis. Erişim 22.02.2018. <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/listeriosis.pdf> .

Tilney, L.G. ve Portnoy, D.A. (1989). Actin Filaments and the Growth, Movement, and Spread of the Intracellular Bacterial Parasite, *Listeria monocytogenes*. *The Journal of Cell Biology*, 109, 1597-1608.

Todds, E.C.D. ve Notermans, S. (2011). Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 22(9), 1484-1490.

Tompkin, R.B. (2002). Control of *Listeria monocytogenes* in the Food-Processing Environment. *Journal of Food Protection*, 65 (4), 709–725.

Thonning, S., Knudsen, J.D., Schonheyder, H.C., Sogaard, M., Arpi, M., Gradel, K.O. ve ark. (2016). Antibiotic treatment and mortality in patients with *Listeria monocytogenes* meningitis and bacteraemia. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(8), 725-730.

Uchikawa, K., Sekikawa, I. ve Azuma, I. (1986). Structural Studies on Teichoic Acids in Cell Walls of Several Serotypes of *Listeria monocytogenes*. *The Journal of Biochemistry*, 99, 315-327.

- Uğur, M., Bostan, K., Nazlı, B. Gıda Hijyeni, İstanbul, Türkiye:Teknik Yayınevi; 2001.
- Ullmann, W.W. ve Cameron, J.A. (1969). Immunochemistry of the Cell Walls of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, 98(2), 486-493.
- US Food and Drug Administration (2013). *Bacteriological Analytical Manual*. <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.html>, Erişim: 26.12.2016.
- USDA (19 Şubat 2017). Basic report: Chicken, broilers or fryers, meat and skin, raw. Erişim: 19.02.2017, <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/829?manu=&fgcd=&ds=> .
- Uyar, M.M., Dalmasso, M., Bolocan, A.S., Hernandez, M., Kapetanakou, A.E., Kuchta, T. ve ark. (2015). Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios. *Food Control*, 51, 94-107.
- van den Bogaard A.E. ve Stobberingh E.E. (1999). Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. *Drugs*, 58(4), 589-607.
- Van Der Elzen, A. M. ve Snijders, J. M. (1993). Critical points in meat production lines regarding the introduction of *Listeria monocytogenes*. *Veterinary Quaterly*, 15, 143-145.
- van Schaik, W. ve Abee, T. (2005). The role of sigmaB in the stress response of Gram-positive bacteria — targets for food preservation and safety. *Current Opinion Biotechnology*, 16 (2), 218–224.
- van Schaik, W., Gahan, C.G. ve Hill, C. (1999). Acid-adapted *Listeria monocytogenes* displays enhanced tolerance against the lantibiotics nisin and lacticin 3147. *Journal of Food Protection*, 62 (5), 536-9.

Vázquez-Boland, J.A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Dominguez-Bernal, G., Goebel, W. ve ark. (2001b). *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbiology*, 14(3), 584-640.

Vazquez-Boland, J.A., Dominguez, L., Fernandez, J.F., Rodriguez-Ferri, E.F., Briones, V., Blanco, M. ve ark. (1990). Revision of the validity of CAMP tests for *Listeria* identification. Proposal of an alternative method for the determination of haemolytic activity by *Listeria* strains. *Acta Microbiologica Hungarica*, 37(2), 2016.

Vázquez-Boland, J.A., Domínguez-Bernal, G., González-Zorn, B., Kreft, J. ve Goebel, W. (2001a). Pathogenicity islands and virulence evolution in *Listeria*. *Microbes and Infectious*, 3(7), 571-84.

Vazquez-Boland, J.A., Kocks, C., Dramsi, S., Ohayon, H., Geoffroy, C., Mengaud, J. ve ark. (1992). Nucleotide Sequence of the Lecithinase Operon of *Listeria monocytogenes* and Possible Role of Lecithinase in Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity*, 60(1), 219-230.

Vazquez-Boland, J.A., Kocks, C., Dramsi, S., Ohayon, H., Geoffroy, C., Mengaud, J. ve ark. (1992). Nucleotide Sequence of the Lecithinase Operon of *Listeria monocytogenes* and Possible Role of Lecithinase in Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity*, 60(1), 219-230.

Vela, A.I., Garayzabal, J.F.F., Latre, M.V., Rodriguez, A.A., Dominguez, L., Moreno, M.A. (2001). Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 17, 215-220.

Viswanath, P., Murugesan, L., Knabel, S.J., Verghese, B., Chikthimmah, N. ve Laborde, L.F. (2013). Incidence of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. in a small-scale mushroom production facility. *Journal of Food Protection*, 76(4), 608-15.

Vogel, B.F., Huss, H.H., Ojeniyi, B., Ahrens, P. ve Gram, L. (2001). Elucidation of *Listeria monocytogenes* Contamination Routes in Cold-Smoked Salmon Processing Plants Detected by DNA-Based Typing Methods. *Applied and Microbiology*, 67(6), 2586-2595.

Vongkamjan, K., Roof, S., Stasiewicz, M.J. ve Wiedmann, M. (2013). Persistent *Listeria monocytogenes* subtypes isolated from a smoked fish processing facility included both phage susceptible and resistant isolates. *Food Microbiology*, 35(1), 38-48.

Walsh, D., Duffy, G., Sheridan, J.J., Blair, I.S. ve McDowell, D.A. (2001). Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 517-522.

Weaver, R E. (1989). Morphological, physiological, and biochemical characterization, p. 39-43. In G. L. Jones (ed.), Isolation and identification of *Listeria monocytogenes*. Centers for Disease Control, Atlanta.

Wehr, H. M. (1987). *Listeria monocytogenes*- a current dilemma. *Journal of the Association of Official Analytical Chemistry*. 70: 769-772.

Weis, J. (1989). Vorkommen von Listerien in Hackfleisch. *Tierarztl. Umschau*, 52, (7), 456-458.

Weis, J. ve Seeliger, P.R (1975). Incidence of *Listeria monocytogenes* in Nature. *Applied Microbiology*, 30(1), 29-32.

Welshimer, H.J. (1960). Survival of *Listeria monocytogenes* in soil. *Journal of Bacteriology*, 80, 316-20.

Wenger, J. D., Swaminathan, B., Hayes, P. S., Green, S. S., Pratt, M., Pinner, R. W. (1990). *Listeria monocytogenes* contamination of Turkey franks: Evaluation of a production facility. *Journal of Food Protection*, 53, 1015-1019.

White, D.G., Zhao, S., Simjee, S., Wagner, D.D., McDermott, P.F. (2002). Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes and Infection*, 4 (4), 405–412.

Wieckowska, M., Kotlowski, R., Kur, J., Rudnicka, W. (1998). Use of PCR Methods for Identification of *Listeria monocytogenes* in Milk. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*, 50(3-4), 251-57.

Wiedmann, M., Arvik, T.J., Hurley, R.J. ve Boor, K.J. (1998). General Stress Transcription Factor sB and Its Role in Acid Tolerance and Virulence of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, 180(14), 3650-3656.

Wu, Q.L., Kong, D., Lam, K. ve Husson, R.N. (1997). A Mycobacterial Extracytoplasmic Function Sigma Factor Involved in Survival following Stress. *Journal of Bacteriology*, 179(9), 2922-2929.

Wulff, G., Gram, L., Ahrens, P. ve Vogeli, F.B. (2006). One Group of Genetically Similar *Listeria monocytogenes* Strains Frequently Dominates and Persists in Several Fish Slaughter- and Smokehouses. *Applied and Microbiology*, 72(6), 4313-4322.

Yan, H., Neogi, S.B., Mo, Z., Guan, W., Shen, Z., Zhang, S. ve ark. (2010). Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005-2007. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 310-316.

Yde, M. ve Genicot, A. (2004). Use of PFGE to Characterize Clonal Relationships Among Belgian Clinical Isolates of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Medical Microbiology*, 53, 399-402.

Yücel, N., Citak, S. ve Onder, M. (2005). Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara, Turkey. *Food Microbiology*, 22 (2-3), 241-245.

Zhang, Q., Feng, Y., Deng, L., Feng, F., Wang, L., Zhou, Q. ve ark. (2011). SigB plays a major role in *Listeria monocytogenes* tolerance to bile stress. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 238-43.

Zhang, Y., Yeh, E., Hall, G., Cripe, J., Bhagwat, A.A. ve Meng, J. (2007). Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail foods. *International Journal of Food Microbiology*, 113(1), 47-53.



HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ayşen	Soyadı	Çoban
Doğ.Yeri	Fethiye	Doğ.Tar.	11.04.1988
Uyruğu	TC	TC Kim No	59128258572
Email	coban.aysen@gmail.com	Tel	0 544 677 03 07

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	-	-
Yük.Lis.	-	-
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2012
Lise	Fethiye Süper Lisesi	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Ürün müdürü	DEVA Holding-Vetaş	2017
2.	Proje müdürü	BAYER	5 ay
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi	77	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):